



**UNIVERSIDAD DE ESPECIALIDADES ESPÍRITU SANTO  
FACULTAD DE ARTES LIBERALES Y CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN  
ESCUELA DE CIENCIAS AMBIENTALES**

TITULO:

**PREVALENCIA E INCIDENCIA DEL FENÓMENO IMPOSEX EN  
GASTERÓPODOS DEL GÉNERO *THAIS* (PHYLUM MOLUSCA, FAMILIA  
*MURICIDAE*) EN EL GOLFO DE GUAYAQUIL.**

Trabajo de Investigación que se presenta como requisito para obtener el  
Título de Ingeniero en Gestión Ambiental

AUTOR:

Carlos Alberto Cruz Cordovez

TUTOR:

René Oscar Rodríguez Grimón, MSc.

Samborondón, Agosto, 2013

## **DEDICATORIA**

A Dios, por permitirme cumplir esta meta de mi vida brindándome la paciencia y concentración necesaria. A mi madre Lorena, por haberme apoyado en todo momento, por los consejos, y por la motivación a ser un hombre de bien. A mi padre Carlos, por toda la sabiduría y guía durante estos años de estudio. Finalmente, a mi abuelita Elena, por todo el apoyo incondicional, sobre todo por el amor más puro que puedo recibir.

## **RECONOCIMIENTO**

Primero que nada, agradezco a Dios por la vida que me ha dado, por las bendiciones, la protección durante todo mi camino y las fuerzas para vencer los obstáculos de la vida.

A mi padres, con su demostración de padres ejemplares y más que todo por ser más que padres, mis mejores amigos.

A mis amigas Katherine y Melanie, por toda la confianza, apoyo incondicional, por una amistad verdadera, y por ser las mejores compañeras de muestreo.

Al MSc. René Rodríguez, director de tesis, por sus conocimientos, por la oportunidad de participar en el proyecto, y su valiosa guía y asesoramiento en la realización de la misma.

Gracias a todas las personas que ayudaron directa e indirectamente en la realización del proyecto.

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	II
RECONOCIMIENTO.....	III
ÍNDICE DE TABLAS .....	VII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VIII
RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN .....	2
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	5
1.1. ANTECEDENTES.....	5
1.2. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA .....	6
1.3. ALCANCE Y LIMITACIÓN DEL OBJETO.....	8
1.4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN .....	9
1.5. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS .....	9
1.5.1. General .....	9
1.5.2. Específicos.....	9
1.6. JUSTIFICACIÓN.....	10
CAPÍTULO II: MARCO REFERENCIAL.....	13
1.2. MARCO TEÓRICO .....	13
1.2.1. PINTURAS ANTIINCRUSTANTES EN LA INDUSTRIA NAVIERA	

1.2.2. TRIBUTIL DE ESTAÑO: BIOCIDA PRESENTE EN PINTURAS ANTIINCRUSTANTES DE COMPUESTOS ORGANOESTÁNNICOS...	18
1.2.3. BIOINDICADORES ACUÁTICOS .....	24
1.2.4. IMPOSEX COMO INDICADOR DE CONTAMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGANOESTÁNNICOS EN GASTERÓPODOS MARINOS.....	29
1.2.5. TBT: DISRUPTOR ENDOCRINO EN ESPECIES DE GASTERÓPODOS.....	36
1.2.6. PHYLUM MOLLUSCA, CLASE GASTERÓPODA, FAMILIA MURICIDAE, GÉNERO THAIS. ....	39
1.3. MARCO CONCEPTUAL.....	51
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA .....	56
3.1. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS .....	56
3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	56
3.2.1. Tipo de Investigación .....	56
3.2.2. Novedad y viabilidad .....	56
3.2.3. Conceptualización y Operacionalización de las variables .....	57
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	58
3.4. INSTRUMENTOS, HERRAMIENTAS Y PROCEDIMIENTOS DE LA INVESTIGACIÓN .....	59
3.4.1. Instrumentos .....	59
3.4.2. Herramientas.....	59
3.4.3. Procedimientos de la Investigación .....	61

CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	67
4.1. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA POR FACTOR SALINIDAD .....	68
4.2. PREVALENCIA E INCIDENCIA DE IMPOSEX .....	70
4.3. ÍNDICE RPLI.....	74
4.4. SENSIBILIDAD RELATIVA A LA EXPOSICIÓN DE TBT .....	75
CONCLUSIONES .....	78
RECOMENDACIONES.....	82
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
ANEXOS.....	93

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Materiales y equipos utilizados en campo y laboratorio.....	59
Tabla 2. Georreferenciación de los sitios de muestreo dentro del Golfo de Guayaquil.....	62
Tabla 3. Resultados obtenidos de las especies <i>T. kiosquiformis</i> , <i>T. biserialis</i> , <i>T. brevidentata</i> , y <i>T. melones</i> en los cinco puntos de muestreo dentro y en las áreas de influencia del Golfo de Guayaquil. Tamaño de la muestra (n), proporción de sexos (♂/♀) tamaño de la concha (LC; ápice hasta canal sifonal), índices de imposex: prevalencia (I%), incidencia (RPLI, FPLI), Sd (desviación estándar).....	67

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquematación del biocida en la matriz resinosa de la pintura antiincrustante y su lixiviación en el agua. OMI (1999).....	14
Figura 2. Esquematación del sistema copolímero, donde el proceso de lixiviación del biocida ( ) y el copolímero ( ) es de un tiempo de 60 meses. OMI. (1999).....	15
Figura 3. Formula estructural del compuesto organoestánnico Tributíl de Estaño TBT unidos por enlace covalente. Rodríguez, J. (2008). ....	19
Figura 4. Proceso de debutilación secuencial del TBT transformado a dibutil de estaño (DBT), luego a monobutil de estaño (MDT). Rodríguez, J. (2008).....	22
Figura 5. Mayores concentraciones de tributíl de estaño identificadas en los sedimentos de Sudamérica, en comparación a concentraciones a nivel mundial. Castro, I. (2012).....	24
Figura 6. Evaluación de áreas de incidencia de imposex en gasterópodos y contaminación de sedimentos y mamíferos por compuestos organoestánnicos en las costas de Sudamérica. Castro, I. (2012).....	36
Figura 7. Morfología externa de los caracteres sexuales de machos y hembras de gasterópodos. Rodríguez. J. (2008).....	45
Figura 8. Estructuras externas de la clase Gastrópoda. Frocelli, D. (2000).....	55
Figura 9. Puntos de muestreos (Playas, Guayaquil, Posorja, Puerto Bolívar e Isla Puna) y puertos marítimos dentro del Golfo de Guayaquil; escala 1:100000 mapa izquierdo y 1:1000000 mapa derecho. ....	61
Figura 10. (A) Colecta de las especies en el sustrato rocoso. (B). Uso de las pinzas metálicas en la colecta de organismos en las uniones de rocas. ....	63
Figura 11. Narcotización y fijación de las muestras colectadas.....	63



Figura 12. Medición de la longitud de la concha con calibrador vernier (0,01 mm).	64
Figura 13. (A) Extracción del tejido blando del espécimen. (B) Tejido blando del organismo, visto en el estereoscopio.	65
Figura 14. (A) Observación de las características sexuales del espécimen en el estereoscopio. (B) Gónada femenina, apreciación de los óvulos.	65
Figura 15. Medición del Largo del Pene de una hembra mediante el uso del papel milimetrado, observar el pene en el recuadro.	66
Figura 16. Distribución geográfica de las especies en el área de estudio por la salinidad. Guayaquil (16% ups), Puerto Bolívar (28% ups), Posorja (24% ups), Isla Puna (30% ups), Playas (34% ups).	69
Figura 17. CLUSTER de la distribución de las especies del género <i>Thais</i> en los puntos de muestreo relacionadas por el factor salinidad.	70
Figura 18. Mapa de las estaciones de muestreo con los resultados de prevalencia (I%) e incidencia (RPLI%) del fenómeno de imposex y los puertos marítimos del Golfo de Guayaquil.	71
Figura 19. Porcentaje de hembras afectadas por el fenómeno de imposex e Índice Relativo al Largo del Pene (RPLI) en la especie <i>Thais kiosquiformis</i> .	72
Figura 20. Porcentaje de hembras afectadas por el fenómeno de imposex e Índice Relativo al Largo del Pene (RPLI) en la especie <i>Thais biserialis</i> .	73
Figura 21. Porcentaje de hembras afectadas por el fenómeno de imposex e Índice Relativo al Largo del Pene (RPLI) en la especie <i>Thais brevidentata</i> .	74
Figura 22. Análisis comparativo de los índices RPLI y FPLI en las especies <i>T. kiosquiformis</i> , <i>T. biserialis</i> y <i>T. brevidentata</i> .	77

## RESUMEN

En el presente estudio se determina la prevalencia e incidencia del fenómeno de imposex que afecta a moluscos gasterópodos del género *Thais* en el Golfo de Guayaquil. Los índices de imposex (I%) y tamaño relativo del pene en hembras (RPLI) permitieron identificar el grado de prevalencia e incidencia del fenómeno en cinco puntos de muestreo. Las especies encontradas pertenecientes a la familia *Thais* en el Golfo de Guayaquil fueron: *Thais kiosquiformis*, *Thais biserialis*, *Thais brevidentata* y *Thais melones*. La especie *T. kiosquiformis* fue colectada en sitios con influencia de agua estuarina con salinidad entre 16 y 28 ‰, mientras que las demás especies fueron colectadas en sitios con mayor influencia de agua salina oceánica con salinidad entre 24 y 34 ‰. En todos los sitios muestreados se detectó el fenómeno imposex en al menos una especie. La mayor prevalencia del fenómeno imposex se detectó en moluscos colectados cerca de los puertos mercantes de alto tráfico naviero (Puerto de Guayaquil, Puerto Bolívar y Puerto de Posorja), llegando a alcanzar prevalencias de hasta el 100%. Los menores registros de prevalencia de imposex se asociaron a sitios con menor presencia de barcos como lo es el balneario Playas. La incidencia del fenómeno imposex fue variable entre sitios y no mostró una correlación directa con el nivel de prevalencia para cada sitio. *T. biserialis* resultó ser la que aparentemente mostraba mayor sensibilidad, mientras que *T. brevidentata* se presentó como la especie de menor sensibilidad aparente al momento de manifestar el fenómeno imposex.

## **INTRODUCCIÓN**

Los ecosistemas marinos-costeros son de vital importancia debido al uso de sus recursos naturales renovables y no renovables en diversas actividades antrópicas, siendo fundamental para el desarrollo del ser humano. El manejo inequívoco de los ecosistemas conlleva a su deterioración y posterior manejo apropiado. Según Marigómez (2013) los objetivos claves en el manejo de los ecosistemas marinos-costeros son: proveer la información necesaria para mantener la biodiversidad y integridad de las comunidades biológicas, limitar la influencia del ser humano en los recursos biológicos, proteger hábitats frágiles y salvaguardar la vida del ser humano. Para lo cual, los bioindicadores han sido una herramienta clave y en aumento en los distintos programas de monitoreo para indicar el estado de contaminación y/o advertir de la posible contaminación en los ecosistemas marinos-costeros (Marigómez, 2013).

Los macroinvertebrados han sido utilizados como indicadores de contaminación de los ecosistemas por más de 100 años (Springer, 2010), en programas de biomonitoreo principalmente en ecosistemas acuáticos. Dentro de la amplia gama de macroinvertebrados, es el Phylum Mollusca el segundo grupo más numeroso con aproximadamente 93.000 especies. Morabito (2009) establece que los moluscos, con énfasis en la clase Gastrópoda son bioindicadores eficientes. Por tal razón, la Convención para la Protección del Medio Ambiente Marino del Nordeste del Atlántico (OSPAR, por sus singlas en inglés) recomienda, en un mandato a los países signatarios, que utilicen los gasterópodos como herramienta en programas de biomonitoreo para la

determinación y/o seguimiento del fenómeno de imposex como indicador de contaminación por compuestos organoestañosos (Morabito, 2009).

El fenómeno de imposex es descrito por primera vez en 1970 por Blader, como la superimposición de caracteres sexuales masculinos no funcionales (pene y/o vaso deferente) en hembras de gasterópodos. El fenómeno imposex fue asociado a la contaminación por tributil de estaño (TBT) en ecosistemas marinos-costeros por Smith en los años ochenta (Matthiessen y Gibbs, 1998). La principal fuente de contaminación de TBT son las pinturas antiincrustantes aplicadas a buques, puertos marítimos e infraestructura marítima (Radke, 2008).

El fenómeno de imposex en gasterópodos está presente en 200 especies distribuidas en 28 familias, siendo la familia Muricidae la más afectada (Vasconcelos, 2010). La mayoría de las costas del mundo exhiben el fenómeno, presentando mayor incidencia en zonas de tráfico naviero y/o infraestructura portuarias, en Sudamérica las investigaciones están focalizadas en la costa Atlántica en los países de Brasil y Argentina. En el caso de Ecuador existe un estudio puntual en el Golfo de Guayaquil publicado en el año 2010 por Castro y Arroyo, presentando resultados elevados de prevalencia e incidencia del fenómeno imposex.

Los propósitos del estudio son determinar el estado actual de la prevalencia e incidencia del fenómeno de imposex en el Golfo de Guayaquil e identificar la prevalencia e incidencia del fenómeno en el lado oeste de la Isla Puna, detallar los avances científicos del fenómeno e identificar las medidas de acción aplicadas para prevenir y mitigar el fenómeno. La

metodología del presente estudio consiste en un enfoque cuantitativo al aplicar los índices de prevalencia e incidencia del fenómeno de imposex aplicados internacionalmente, RPLI, FPLI, I%. Los dos primeros índices determinan la incidencia del fenómeno, por otro lado, el último índice exhibe la prevalencia del imposex dentro de las poblaciones de organismos sensibles al contaminante Tributyl Estaño (TBT).

## **CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

### **1.1. ANTECEDENTES**

En 1970 el científico Blader observa anomalías sexuales en las hembras de la especie de la familia Muricidae, *Nucella lapillus*, describiendo una malformación en forma de pene, posterior al tentáculo derecho. Al año siguiente el científico Smith reporta anomalías similares en la especie *Ilyanassa obsoleta* en las costas de Connecticut - Estados Unidos, donde identifica la presencia del vaso deferente (ducto de espermatozoides, característico del sexo masculino) y el gonoducto deformado en las hembras de la especie (Matthiessen y Gibbs, 1998). Smith denominó al fenómeno como imposex (LeBlanc, 2005). No es hasta el año 1981, que el científico Smith asocia la presencia del fenómeno de imposex en zonas portuarias contaminadas por TBT; suposición confirmada por resultados de experimentos de exposición de TBT a la especie *Ilyanassa obsoleta* (Matthiessen, 1998).

La idea del uso del TBT como biocida en las pinturas antiincrustantes nace de la efectividad del compuesto al eliminar una especie de gasterópodos en África para erradicar un parasito portado por el caracol (Dobson, 1990). En las décadas posteriores la producción de TBT destinada a la elaboración de pinturas antiincrustantes aumentó en distintos países costeros.

El fenómeno imposex ha sido observado en la mayoría de los países costeros, específicamente en sitios relacionados a las actividades portuarias

(EPA, 2003). Estudios en las costas europeas (Harding, 1999), indias (Morabito, 2009), americanas (Castro, 2008), orientales (Fujinaca, 2006) y Australia (Rees, 2001) registran dicho fenómeno en zonas de actividad portuaria, y establecen a los compuestos organoestánicos como causa.

El tema de contaminación por TBT en zonas costeras es discutido por primera vez en el Comité de Protección de Medio Marino (CPMM), de la Organización Marítima Internacional (IMO, por sus siglas en inglés) en 1988 (OMI, 1999). En el 2001, la Organización Marítima Internacional adopta el Convenio Internacional sobre el Control de los Sistemas Antiincrustantes Perjudiciales en los Buques (AFS, por sus siglas en inglés) (Showalter, 2005). No obstante, entra en vigor el diecisiete de septiembre del 2008 (OMI, 2013); dicho marco regulador prohíbe el uso de pinturas antiincrustantes en base al tributil de estaño en los países asignatarios y cualquier buque nacional o extranjero que opere en sus instalaciones (Showalter, 2005).

El estudio realizado por Castro y Arroyo (2011) en la costa centro-sur ecuatoriana concluyó que todas las áreas con influencia de tráfico naviero presentaron el fenómeno de imposex, en las tres especies del género *Thais* (*T. kiosquiformis*, *T. biserialis*, *T. brevidentata*) con niveles de prevalencia de 100%. Adicional, las muestras de sedimentos del Golfo de Guayaquil obtuvieron concentraciones de compuestos organoestánicos: tributil de estaño, dibutil de estaño y monobutil de estaño, siendo los puertos de Guayaquil, Bolívar y Posorja los de mayor concentración de TBT ( $> 35 \text{ ng Sn g}^{-1}$ ).

## **1.2. DESCRIPCIÓN DEL PROBLEMA**

El transporte por vía marítima es vital para la economía de regiones costeras, debido a que mueve el 90% del comercio a nivel mundial, según la

Organización Marítima Internacional (2012). La clave para su importancia son los bajos costos en comparación a otras vías de transporte. Adicional, la actividad marítima desempeña un papel clave en la lucha contra la pobreza, puesto que genera una alta tasa de empleo y es una fuente importante de ingresos (OMI, 2012).

Los organismos incrustantes en cascos de botes aumentan la resistencia en el desplazamiento de los botes incidiendo en un mayor consumo de combustible y mayor mantenimiento en astilleros, encareciendo las labores de transporte marítimo (Radke, 2008). La utilización de pinturas antiincrustantes con base en compuestos organoestánicos es una alternativa para la protección de los cascos de los barcos y buques, además de estructuras marítimas: muelles, puertos, boyas, entre otros (Dobson, 1990).

Los ecosistemas marinos-costeros a nivel mundial son sometidos a diversos impactos por el desarrollo de las actividades antrópicas, sean desde la tierra o el mar, lo cual afecta al equilibrio natural de los ecosistemas. Las especies de moluscos son claves en los ecosistemas y cualquier perturbación o impacto negativo en la especie genera una reacción en cadena en el ecosistema (Ramírez, 2009).

En la actualidad se ha demostrado que los compuestos organoestánicos son uno de los principales agentes químicos que ha afectado a los ecosistemas marino-costeros, siendo el tributil de estaño el más tóxico. La principal fuente de contaminación son las pinturas antiincrustantes (Randke, 2008).

El fenómeno imposex es la respuesta a la contaminación de TBT en los ecosistemas marinos – costeros, relacionados a puertos marítimos. El



imposex es considerado irreversible (Castro, 2011) y puede disminuir las comunidades de especies afectadas al punto de extinguirlas. En las costas europeas existen registros de poblaciones de especies de caracoles (*Nucella lapillus*, *Littorina littorea*) y ostras (*Ostrea edulis*) que presentaron hembras infértiles, hecho atribuido a la presencia de tributil de estaño en las costas europeas (Matthissen, 1998).

Ecuador continental no consta de regulaciones pertinentes al uso de las pinturas antiincrustantes con base en el compuesto de tributil estaño, además en el informe de la OMI (2013) no aparece como asignatario al convenio Internacional sobre el Control de los Sistemas Antiincrustantes Perjudiciales en los Buques, por lo tanto, el uso de pinturas antiincrustantes libre de TBT queda a la elección del usuario en astilleros, de tal modo las flotas navieras ecuatorianas podrían constituir un foco de contaminación constante para el agua y sedimentos del perfil costero, afectando la estabilidad de los ecosistemas marinos - costeros.

### **1.3. ALCANCE Y LIMITACIÓN DEL OBJETO**

El presente estudio busca detallar la información actualizada del fenómeno de imposex, las medidas tomadas para prevenir y mitigar dicho fenómeno. A nivel local pretende arrojar información del estado actual del fenómeno de imposex en el Golfo de Guayaquil al evaluar los puertos marítimos mercantiles, pesqueros y artesanales.

Dentro de las principales limitaciones del estudio está el acceso libre a los puertos mercantes, quienes presentan un alto tráfico de barcos de alto calado. A nivel de especie, la identificación de ciertas estructuras morfológicas debido a la similitud de las estructuras con el cuerpo blando del espécimen y la conservación de los especímenes recolectados son las

principales limitaciones. Adicional, la aplicabilidad del índice de la Secuencia de Vaso Deferente (VDSI) presenta inconvenientes por la dificultad de observación del vaso deferente en los individuos.

#### **1.4. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

¿Existen regulaciones sobre el uso de pinturas antiincrustantes en base al compuesto tributil de estaño TBT?

¿Las especies seleccionadas estarán en todos los puntos de muestreo?

¿Cuál será la prevalencia y la incidencia del fenómeno imposex en el Golfo de Guayaquil?

¿Cuál es la especie dentro del género *Thais* de mayor presencia y abundancia en el Golfo de Guayaquil?

¿Cuáles de las especies colectadas en el Golfo de Guayaquil presentaron mayor sensibilidad, indicado por la incidencia del imposex?

#### **1.5. OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS**

##### **1.5.1. General**

- Determinar la prevalencia e incidencia del fenómeno imposex en gasterópodos del género *Thais* colectados en el Golfo de Guayaquil.

##### **1.5.2. Específicos**

- Comprender el impacto de la contaminación ambiental en la diversidad de organismos, y del imposex como manifestación de los moluscos gasterópodos sensibles ante la contaminación por compuestos organoestánicos en ambientes marino y costero.
- Identificar la prevalencia de imposex en organismos sensibles del género *Thais* colectados en el Golfo de Guayaquil.
- Determinar la intensidad de imposex en organismos sensibles del género *Thais* colectados en el Golfo de Guayaquil.

## **1.6. JUSTIFICACIÓN**

Los dos principales puertos mercantes ubicados dentro del Golfo de Guayaquil (Puerto Bolívar y Puerto de Guayaquil) representan el 73% del movimiento de naves de tráfico internacional en puertos públicos del Ecuador, de un total de 2.379 barcos en el 2011 (Subsecretaría de Puertos y Transporte Marítimo y Fluvial, 2011), resulta de vital importancia establecer un monitoreo de la contaminación por compuestos organoestañosos en tales sitios. El fenómeno atribuido a la contaminación por TBT (contenido en las pinturas antiincrustantes utilizadas en los cascos de los buques, boyas e infraestructuras marítimas) ha sido descrito como una herramienta altamente sensible y eficiente para el establecimiento del un plan de monitoreo de regiones marino y costeras.

Los resultados obtenidos del fenómeno de imposex en puertos marítimos sirven como una evaluación del estado del ecosistema respecto al contaminante (TBT) (Morabito, 2009), lo cual permite a las entidades regulatorias de control del Estado tomar medidas puntuales de control y mitigación del fenómeno. Además, el estudio es un recordatorio de la

existencia del fenómeno en el Golfo de Guayaquil y probable presencia del fenómeno a lo largo de la costa ecuatoriana. Por último, la investigación es un llamado al estado ecuatoriano a ser asignatario al convenio internacional sobre el control de los sistemas antiincrustantes perjudiciales en los buques (AFS, por sus siglas en inglés), que hasta el informe de la Organización Marítima Internacional del 2013, no formaba parte del presente convenio.

El ecosistema de manglar es muy representativo en el perfil costero dentro del Golfo de Guayaquil. Los manglares son uno de los ecosistemas más productivos por su excepcional flora y fauna (Nfotabong, 2009), albergando numerosas especies comerciales de peces y mariscos. Este ecosistema es de importancia socio-económica y ecológica para el ser humano, debido a los beneficios directos e indirectos que genera. Acorde a Souza (2011) & Sanchirico (2009) los manglares brindan recursos naturales (ej. peces, madera, mariscos) para el consumo humano y servicios (ej. barrera natural contra desastres naturales, barrera biogeoquímica para metales pesados).

El Golfo de Guayaquil al igual que golfos en distintas partes del mundo, soporta diversos impactos antropogénicos (ej. deforestación, pesca intensiva, descarga de efluentes industriales y domésticos, camaroneras, establecimiento de poblaciones en los linderos, entre otros), los cuales deterioran dicho ecosistema clave (ej. por ser un espacio de desove, protección de especies juveniles). Adicional, el Golfo de Guayaquil suministra de recursos naturales (ej. peces, mariscos, madera) para las comunidades y ciudad aledañas al Golfo y permite el tránsito naviero de buques de gran calado, debido a la importancia socio-económica y ecológica del Golfo de Guayaquil es esencial establecer un manejo o gestión adecuado del ecosistema.

Los programas de biomonitorio son fundamentales en el manejo para determinar el estado del ecosistema y el establecimiento de áreas críticas de contaminación, por lo cual es crucial establecer planes de biomonitorio de imposex para identificar el grado de contaminación por TBT en el Golfo de Guayaquil para evitar la transferencia del contaminante en la cadena trófica, pudiendo afectar al ser humano.

## **CAPÍTULO II: MARCO REFERENCIAL**

### **1.2. MARCO TEÓRICO**

#### **1.2.1. PINTURAS ANTIINCRUSTANTES EN LA INDUSTRIA NAVIERA**

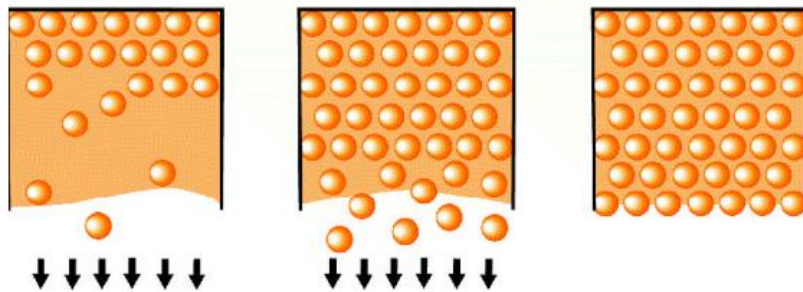
El transporte por vía marítima es vital para la economía de regiones costeras, debido a que mueve el 90% del comercio a nivel mundial, según la Organización Marítima Internacional (2012). La clave para su importancia son los bajos costos en comparación a otras vías de transporte. Adicional, la actividad marítima desempeña un papel clave en la lucha contra la pobreza, puesto que genera una alta tasa de empleo y es una fuente importante de ingresos (OMI, 2012).

Las pinturas antiincrustantes tiene la función de impedir o disminuir la fijación de organismos acuáticos (incrustantes) en los cascos de las embarcaciones (buques, barcos) e infraestructura marítima (redes, boyas, jaulas de peces, entre otros) (Rodríguez, 2008). Dobson (1990) presenta una definición similar: los cuales tienen la funcionalidad de proteger, disminuir y eliminar los organismos adherentes a las infraestructuras portuarias y/o de fines marítimos. Un barco desprotegido (sin pintura antiincrustante) presenta un mayor consumo de combustible debido a la fricción creada por los organismos acuáticos adheridos al casco, y la aceleración de la degradación del casco (Rodríguez, 2008). “Un barco que no está protegido con pintura antiincrustante puede coleccionar 150 Kg/m<sup>2</sup> de organismos marinos durante seis meses en el mar.” (Radke; 2008). Según Rodríguez (2008) la acumulación puede ser hasta de 100 kg de biota por metro cuadrado.

Los beneficios del uso de las pinturas antiincrustantes son: menor consumo de combustible, menos emisiones de gases de efecto invernadero, mayor espaciamiento de las entradas en dique seco, y minimizar el mantenimiento del casco permitiendo mayor disponibilidad del buque. Adicional, las pinturas antiincrustantes son aplicadas a otro tipo de cascos, es el caso de: instalaciones de extracción petrolera, centrales eléctricas, en la acuicultura, instrumentos oceanográficos, entre otros (Rodríguez, 2008).

#### 1.2.1.1. Tipos de Pinturas Antiincrustantes

Las primeras pinturas antiincrustantes son de asociación libre, lo cual significa que la adhesión del biocida tributil de estaño (TBT) es completamente física (Dobson, 1990), agregando el mismo a la matriz resinosa de la pintura (OMI, 1999). Los dos principales inconvenientes son la rápida lixiviación en el agua del biocida (ver Figura 1), y la corta vida útil del producto (Dobson, 1990), entre 18 y 24 meses (OMI, 1999).



*Figura 1.* Esquemmatización del biocida en la matriz resinosa de la pintura antiincrustante y su lixiviación en el agua. OMI (1999).

El sistema copolímero consiste en la unión del biocida TBT a través de enlaces químicos a la cadena principal del polímero que forma la matriz (Dobson, 1990). La lixiviación del biocida es el mismo a lo largo de la vida

útil, lo cual no permite un desprendimiento acelerado del TBT, al mismo tiempo prolonga la vida del producto a 60 meses (OMI, 1999). La lixiviación ocurre al momento que la capa superficial del casco del buque tiene contacto con el agua, luego de agotarse la capa superficial, la disolución del biocida comienza con la nueva capa que entra en contacto con el agua (ver Figura 2), (OMI, 1999).

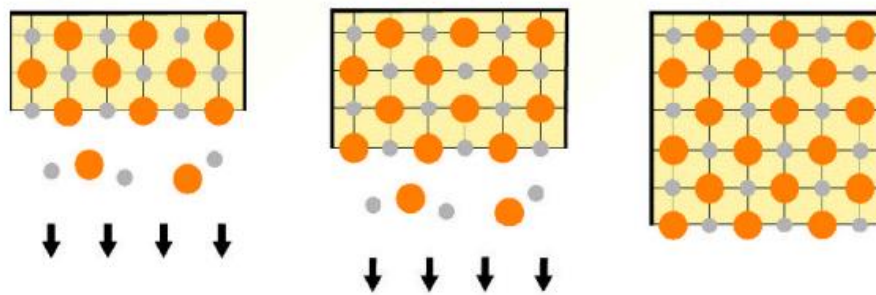


Figura 2. Esquematación del sistema copolímero, donde el proceso de lixiviación del biocida (●) y el copolímero (○) es de un tiempo de 60 meses. OMI. (1999).

Otro tipo de pinturas son las antiincrustantes elastoméricos y copolímero acrílico. La primera consiste en la impregnación del biocida en la goma de neopreno. Este sistema permite una menor disolución del TBT, es más, la mayor cantidad de biocida es mantenido en la matriz de la goma, así la efectividad de la pintura se prolonga en el tiempo (Dobson, 1990). La segunda, el TBT está unido a la cadena polimérica principal mediante cadenas de éster, donde el polímero es soluble en el agua marina. Las características de la pintura permiten prolongar la vida útil a más de 7 años a una lixiviación anual de  $4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$  de TBT al mar (Castro, 2012).



Por último, dado los efectos nocivos del TBT a la biota marina se han implementado pinturas con biocidas alternativos y menos contaminantes. Por ejemplo, Diuron, Zineb (biocidas orgánicos), óxidos de cobre, zinc (biocidas inorgánicos) y antiincrustantes naturales. Los compuestos más usados son los óxidos de cobre (cobre elemental, óxido de cobre y tiocianato de cobre) y son reforzados con biocidas como Ingarol 1051 y Kathon 5287 (ATSDR, 2005).

#### **1.2.1.2. Entidad de Control y Marco Regulatorio del uso del TBT en Pinturas Antiincrustantes**

A nivel mundial los problemas de contaminación con tributil de estaño son tratados por primera vez en el Comité de Protección de Medio Marino (CPMM), de la Organización Marítima Internacional (IMO, por sus siglas en inglés) en 1988 (OMI, 1999). En abril del mismo año la CPMM establece un grupo de trabajo con la finalidad de elaborar un marco regulatorio sobre el uso de pinturas antiincrustantes con bases en el biocida TBT (OMI, 1999).

En el 2001, la Organización Marítima Internacional adopta el Convenio Internacional sobre el Control de los Sistemas Antiincrustantes Perjudiciales en los Buques (AFS, por sus siglas en inglés) (Showalter, 2005). El mismo que entra en vigencia doce meses después a la ratificación no menor de veinticinco países, que representen como mínimo el veinticinco por ciento del tonelaje de la marina mercante mundial (NOAA, 2012).

El convenio entra en vigor el diecisiete de septiembre del 2008 (OMI, 2013), el cual establece la prohibición del TBT en las pinturas antiincrustantes, además crea los mecanismos para prevenir el uso de sustancias peligrosas en los sistemas antiincrustantes futuros (Morabito, 2009). Los países asignatarios al convenio deben prohibir o restringir el uso

de los compuestos organoestánicos en las pinturas antiincrustantes en los buques que tengan sus banderas, barcos externos que utilicen sus instalaciones portuarias y buques que no lleven la bandera del país asignatario pero trabaje para el país (Showalter, 2005).

La certificación internacional de sistemas antiincrustantes en los buques depende del tonelaje de los mismos, así para barcos con tonelajes mayores a 400 toneladas de arqueo bruto de navegación internacional deberán ser examinados y la ratificación del certificado es realizada cada cambio del sistema antiincrustante. Para buques mayores a 24 metros de longitud y menores a 400 toneladas de arqueo bruto, constarán de una declaración del sistema antiincrustante y probar el cumplimiento del convenio con recibos de la compra de la pintura o facturas del contratista (Showalter, 2005).

Por último, acorde con el informe “Status of multilateral Conventions and instruments in respect of which the International Maritime Organization or its Secretary-General performs depositary or other functions” de la Organización Marítima Internacional del presente año (abril del 2013), los países asignatarios al convenio suman un total de 65, que conforman el 82,25% del tonelaje de la marina mercante mundial. En la región Sudamérica, los países asignatarios son: Brasil, Venezuela y Uruguay.

A nivel nacional, el 22 de mayo del presente año (2013), la Dirección del Parque Nacional Galápagos mediante Resolución 050 resuelve establecer los estándares ambientales para la operación de embarcaciones en la reserva marina de Galápagos. El título III Mitigación de Impactos al Ambiente, en su artículo 15 establece la prohibición del uso de pinturas antiincrustantes con trazas de plomo, estaño u otro tipo de metales pesados perjudicial para la vida marina, y los artículos 23 y 24 son las directrices para

el uso de pinturas antiincrustantes sin contenido de plomo, estaño u otro metal pesado y las certificaciones de dichas pinturas.

### **1.2.2. TRIBUTIL DE ESTAÑO: BIOCIDA PRESENTE EN PINTURAS ANTIINCRUSTANTES DE COMPUESTOS ORGANOESTÁNNICOS**

El descubrimiento de la utilidad de los compuestos organoestánnicos como biocidas tiene origen en Holanda en los años cincuenta, donde identificaron que el compuesto tributil de estaño es el más tóxico de todos. Su toxicidad es reflejada en una amplia gama de organismos marinos, bacterias Gram positivas y hongos (Dobson, 1990).

La década posterior (60s) es el inicio de la aplicabilidad del TBT como biocida en la pintura antiincrustante, dado a los positivos resultados como biocida en especies de caracoles dulceacuícolas en África, específicamente por parte de dos compuestos puntuales (óxido de TBT y fluoruro de TBT). En la misma década, compuestos de TBT son utilizados como conservante de madera (Dobson, 1990).

#### **1.2.2.1. Características físico-químicas del tributil de estaño**

Los compuestos organoestánnicos son el resultado del enlace covalente entre átomos de carbono más un átomo de estaño, entre los compuestos están: tributil de estaño, trifenil de estaño, entre otros (ATSDR, 2005). El tributil de estaño TBT acorde con Rodríguez (2008), consiste en la unión de tres grupos butilo con un átomo de estaño mediante enlaces covalentes (ver Figura 3). La fórmula general de los compuestos triorganoestánnicos es  $(n - C_4H_9)_3 Sn-X$ , donde X puede ser un anión o un grupo unido covalentemente (Dobson, 1990).

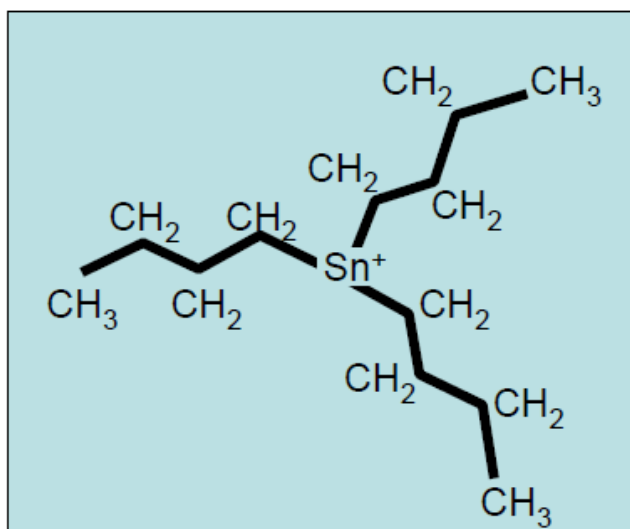


Figura 3. Fórmula estructural del compuesto organoestánico Tributil de Estaño TBT unidos por enlace covalente. Rodríguez, J. (2008).

La solubilidad del TBT en el agua marina depende de ciertos factores ambientales: pH, potencial de oxidación-reducción, temperatura, fuerza iónica, y la composición y concentración de la materia orgánica disuelta (EPA, 2003). En el caso del grupo de óxido de tributil de estaño el rango de solubilidad en el agua es muy variable, entre mayores a uno y menores a cien miligramos por litro. No obstante el óxido de TBT es soluble en lípidos y altamente soluble en solventes orgánicos, como etanol, éteres, entre otros (Dobson, 1990).

El óxido de tributil de estaño (grupo específico de compuestos triorganoestánicos) es inflamable, sin embargo no forma mezclas explosivas con el aire, además es un agente oxidante, su punto de ebullición es 173 °C, y su punto de congelamiento es mayor a - 45 °C (Dobson, 1990).

Según la EPA (2003), la toxicidad de los compuestos organoestánicos está relacionada con el número de compuestos orgánicos enlazados al estaño y el número de átomos de los compuestos orgánicos. Acorde con lo expuesto la toxicidad en los organismos acuáticos por compuestos organoestánicos incrementa hasta alcanzar tres grupos orgánicos, desde el cuarto la toxicidad disminuye, por lo cual los compuestos triorganoestánicos son los más tóxicos.

#### **1.2.2.2. Producción de compuestos organoestánicos**

En 1976 el consumo mundial de estaño es de 200.000 toneladas, de las cuales 28.000 toneladas son de compuestos organoestánicos. Estados Unidos consumió el 40% del total de ese año. Cuatro años después (1980), el Departamento de Ambiente del Reino Unido reporta un consumo mundial de 30.000 toneladas de compuestos organoestánicos, donde las cantidades de consumo para conservantes de madera y pinturas antiincrustantes es de  $3-4 \times 10^3$  toneladas y  $2-3 \times 10^3$  toneladas, respectivamente. (Dobson, 1990).

La producción total al año estimada de compuestos organoestánicos es de 50.000 toneladas entre 1990 y 2003 (Castro, 2012), dentro del 15 al 20% atañe a la producción de biocida (EPA, 2003). En 1999, aproximadamente el 70% de los barcos comerciales a nivel mundial utilizaban pinturas antiincrustantes en base a TBT, reduciendo los costos de consumo de combustible y otros gastos alrededor de 2.400 millones dólares al año (Castro, 2012).

En la década de los ochenta, la cantidad de compuestos organoestánicos para ser utilizados en la producción de pinturas antiincrustantes aumentó en distintos países costeros, así es el caso de

Alemania con una producción anual de 2.000 toneladas de óxido de TBT, donde del total de consumo nacional (30%) el 60% es destinando a la elaboración de pinturas antiincrustantes. Otro caso puntual es Japón con una producción de 1.300 toneladas en 1987, donde dos terceras partes son destinadas a las pinturas antiincrustantes, y una tercera parte en sistemas antiincrustantes en las redes para la acuicultura marina (Dobson, 1990).

Acorde con Castro (2012) las pinturas antiincrustantes en base a tributil de estaño son usadas ampliamente en varios países, especialmente en países en desarrollo. En Sudamérica la aplicación de las pinturas con TBT es registrado en países tales como Argentina y Brasil, en el caso de Brasil el acceso libre a compuestos de cloruro y óxido de tributil de estaño facilita la elaboración de diferentes fórmulas de pinturas antiincrustantes de TBT por amateurs como son pescadores y propietarios de botes para uso recreacional en pequeños astilleros y puertos privados.

### **1.2.2.3. Contaminación por TBT en ecosistemas marino-costeros**

El foco de contaminación principal de tributil de estaño a los ecosistemas marinos-costeros son los puertos marítimos e infraestructuras marinas, debido a la disolución del compuesto de las pinturas antiincrustantes (Rodríguez, 2008). Adicional, Radke (2008) sostiene que las pinturas antiincrustantes son la principal fuente de contaminación por TBT y la mayor parte de la descarga del contaminante ocurre en el mantenimiento de la flota naviera en los puertos navieros. Según Morabito (2009), en el mantenimiento de los barcos en los puertos, el tributil de estaño es descargado accidentalmente al mar de las siguientes maneras:

- Limpieza de diques secos o áreas confinadas mediante aire comprimido (técnica “Blasting”).

- Lixiviación o transporte por corrientes de viento de los desechos del proceso de limpieza “chorro de arena” (sandblasting) en las áreas de almacenamiento temporal no confinadas.
- Barrido o limpieza con agua de los desechos de la limpieza con chorro de arena, hacia el agua.
- Sumergir los diques secos que contiene desechos de arena con óxido.

La biodegradación del tributil de estaño en el medio marino ocurre por la cantidad de microorganismos presentes en el medio y la concentración del compuesto (Dobson, 1990). Existe una amplia gama de organismos, especialmente bacterias que degradan el TBT, a través del proceso de debutilación secuencial. Durante el proceso el TBT es transformado a dibutil de estaño (DBT), luego a monobutil de estaño (MBT) y finalmente a estaño inorgánico (Sn) (ver Figura 4). Adicional, la fotólisis también degrada al tributil de estaño (Rodríguez, 2008).

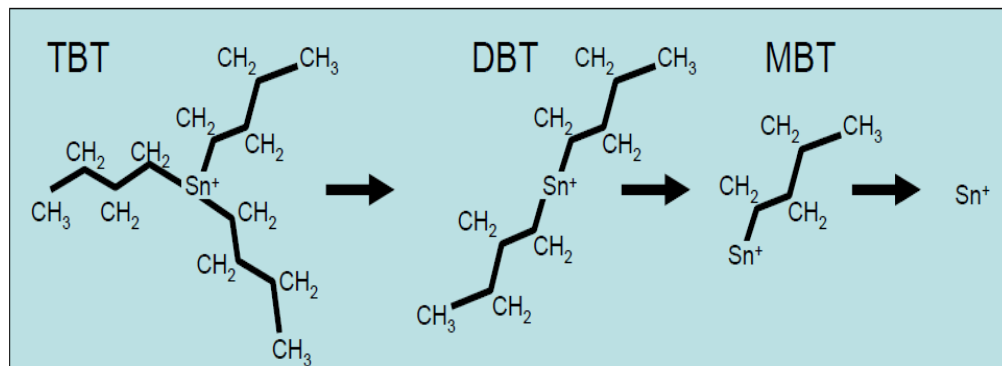


Figura 4. Proceso de debutilación secuencial del TBT transformado a dibutil de estaño (DBT), luego a monobutil de estaño (MDT). Rodríguez, J. (2008).

El rango de tiempo necesario para que las concentraciones de TBT se reduzcan a la mitad, proceso llamado vida media, depende de las

condiciones ambientales. En promedio en el agua es de pocos días a varias semanas (Rodríguez, 2008), por otro lado en el sedimento puede durar hasta un año (EPA, 2003) y en condiciones de anoxia puede prolongarse a décadas. Un sedimento de carácter poroso y en condiciones aeróbicas acelera el mecanismo de degradación (EPA, 2003).

La disposición final de tributil de estaño en los sedimentos marinos es explicada por Rodríguez (2008) de la siguiente manera: al TBT liberarse de las pinturas antiincrustantes hacia el agua, y debido al carácter hidrofóbico y carga negativa, el tributil de estaño se adhiere a las partículas en suspensión. Dichas partículas tienden a depositarse en el lecho marino (fondo marino) aumentando las concentraciones del compuesto en los sedimentos. El porcentaje de partículas de TBT en los sedimentos depende de factores ambientales como: número de partículas en suspensión, relación superficie/volumen, contenido de materia orgánica, salinidad y pH (Rodríguez, 2008).

Zonas costeras con influencia de aguas estuarinas con alto contenido de materia orgánica y con características hidrodinámicas favorables al proceso de sedimentación de partículas suspendidas, son susceptibles a altos niveles de contaminación por TBT, haciendo a los puertos marítimos principales puntos de contaminación (Rodríguez, 2008).

En Sudamérica existen numerosos estudios de contaminación del sedimento por compuestos organoestánicos focalizados principalmente en las costas de Brasil y Argentina, e investigaciones puntuales en Ecuador y Chile. Las zonas mayor contaminadas por tributil de estaño identificadas hasta ahora son Mar del Plata, Argentina (rango de <80 hasta 6.500 ng Sn g<sup>-1</sup> en peso seco) y Bahía de Paranagúa, Brasil (valores hasta 2.800 ng Sn g<sup>-1</sup> en peso



seco), dichos valores son similares a las concentraciones de TBT en las costas de países desarrollados o industrializados (ver Figura 5).

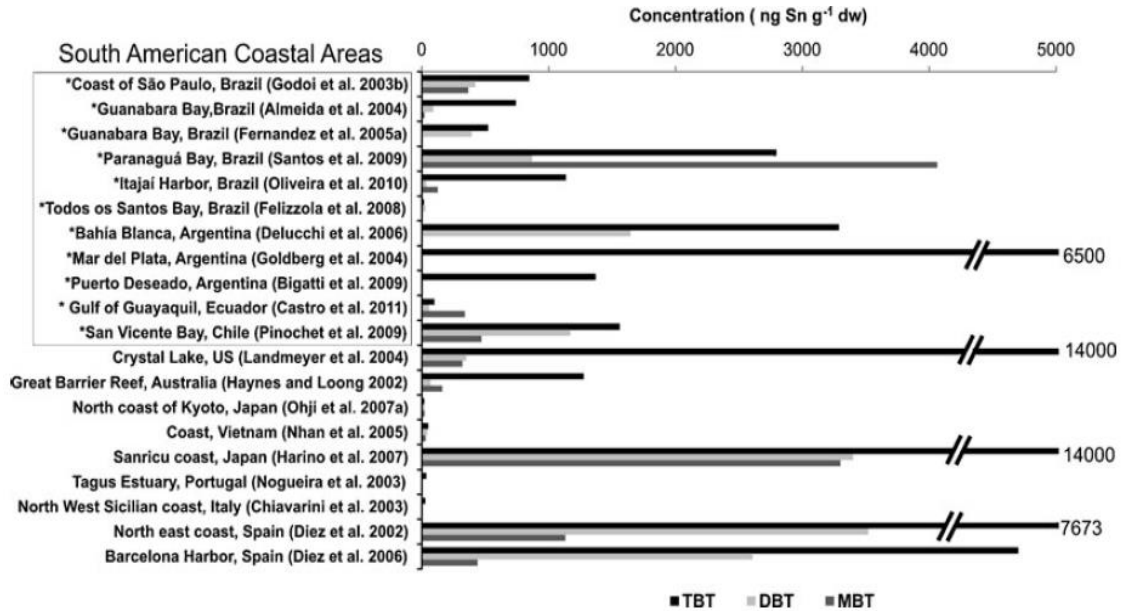


Figura 5. Mayores concentraciones de tributil de estaño identificadas en los sedimentos de Sudamérica, en comparación a concentraciones a nivel mundial. Castro, I. (2012).

### 1.2.3. BIOINDICADORES ACUÁTICOS

Según Gamboa (2008), una especie bioindicadora de calidad de agua se define como: especie o grupo de especies que poseen requerimientos particulares con relación a uno o al conjunto de variables físicas y/o químicas, tal que los cambios de presencia/ausencia, número, morfología o de conducta de esa especie en particular, indiquen que las variables físicas o químicas consideradas, se encuentran cerca de sus límites de tolerancia

Acorde con Springer (2010), las investigaciones con bioindicadores utilizan dos tipos de enfoques, el primero llamado diagnostico o evaluación rápida, el cual consiste en un muestreo puntual en el espacio y tiempo

siendo utilizado típicamente en estudios comparativos (ej. comparación de la cuenca alta y baja de una cuenca hídrica). El segundo enfoque es biomonitorio donde se desarrolla un conjunto de muestreos de manera periódica en un tiempo prolongado (usualmente un año); su función principal son programas de vigilancia o de control de calidad. Finalmente, en ambos enfoques es vital la determinación de un punto de referencia, siendo espaciales (sitio sin o mínima contaminación) y/o temporales (muestreo pre-actividad antrópica).

#### **1.2.3.1. Macroinvertebrados**

En Europa los macroinvertebrados son aplicados como indicadores de contaminación por más de 100 años (Springer, 2010), siendo los macroinvertebrados bentónicos los bioindicadores de calidad de agua por excelencia (Gamboa, 2008). Acorde con Springer (2010), el biomonitorio a diferencia de los análisis químicos-físicos establece tendencias a través del tiempo, lo cual faculta la comparación de las condiciones del ecosistema en distintos momentos.

Existen varias metodologías de calidad de agua aplicando los macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores, las mismas que son clasificadas dentro de dos grupos principales: cualitativas y cuantitativas (Springer, 2010). Los métodos cuantitativos son basados en mediciones numéricas y análisis estadísticos para establecer patrones de comportamiento; por otro lado, los métodos cualitativos realizan una recolección de datos, sin análisis numéricos, por ejemplo índices de presencia y ausencia de especies. Adicional, estudios convencionales determinan un tamaño mínimo de 500  $\mu\text{m}$  para pertenecer a los macroinvertebrados acuáticos (Ribera, 2004).

El modo de vida de las especies de macroinvertebrados acuáticas es caracterizado por cuatro tipos: neuston que viven sobre la superficie del agua logrando movilizarse a través de la misma, necton que nadan en la columna de agua, y por último, bentos que hábitat en el fondo, adheridos a diversos sustratos (rocas, troncos). El último grupo es caracterizado por los órdenes mollusca, díptera, megaloptera, trichoptera, plecoptera, entre otros (Álvarez, 2005).

Según Springer (2010) y Gamboa (2008), utilizar los macroinvertebrados como indicadores de contaminación de la calidad de agua en ecosistemas acuáticos presenta varias ventajas sobre otros grupos taxonómicos (ej. ictiofauna) al usarlos en programas de biomonitoreo; tales ventajas son:

- Amplia distribución a nivel geográfico y de diversidad de ecosistemas.
- Diversidad taxonómica, lo cual permite una amplia gama de respuesta ante perturbaciones en los ecosistemas.
- Mayoría de las especies son sedentarias permitiendo estudios espaciales de los efectos adversos, a largo plazo dentro del hábitat.
- Métodos de muestreo sencillos y de bajo costo.
- Demuestran con mayor rapidez alteraciones en el ambiente mediante cambios en la estructura de la población.
- Especies abundantes y de recolección sencilla debido a la fácil identificación en campo.
- Los sedimentos son el nicho principal de los macroinvertebrados, donde se almacenan los compuestos tóxicos que a su vez son absorbidos por los organismos bentónicos, para posterior continuidad en la cadena trófica.

- Son sensibles a perturbaciones en el ambiente y presentan efectos adversos a los contaminantes, tanto en el sedimento como la columna de agua.

Adicional Gamboa (2008), establece dos desventajas específicas. La primera son las variaciones estacionales y/o dinámicas poblacionales pudiendo inferir en la interpretación y/o en estudios comparativos, la segunda es la heterogeneidad del grupo y el desconocimiento de ciertas taxas. Además, Springer (2008) explica que los macroinvertebrados tienen limitaciones en la determinación de la calidad de agua para consumo humano, debido a la poca detección de patógenos presentes o concentraciones químicas potencialmente tóxicas para el consumo humano.

#### **1.2.3.2. Moluscos**

El phylum Mollusca es el segundo grupo más numeroso y diverso luego del phylum Artrópoda, con un número de especies aproximado de 93.000. Los moluscos tienen una distribución geográfica amplia, abarcando la mayoría de ecosistemas dulceacuícolas y terrestres del globo terráqueo con énfasis en los ecosistemas marino-costero; la amplia distribución del phylum es debido a las diversas adaptaciones morfológicas (Ramírez, 2009).

Dentro del phylum Mollusca, la clase Gastrópoda es la más importante con un 80% del total de las especies del phylum. Dada su importancia ecológica y amplia distribución el phylum Mollusca, con énfasis en la clase Gastrópoda son bioindicadores y/o biomonitores eficientes, los cuales presentan las siguientes características como bioindicadores descritos por Ramírez (2009).

- La mayoría de los moluscos son especies claves en los ecosistemas, entonces cualquier perturbación o impacto a la especie desarrolla un efecto cadena en el ecosistema.
- Moluscos presentan una amplia extensión localizándose en el interior y/o entre los continentes, lo cual faculta estudios a grandes escalas geográficas.
- Los moluscos tienen diferentes métodos reproductivos, exhibiendo variaciones en sus ciclos de vida, especialmente en su longevidad, característica favorable a estudios a largo plazo.
- Los moluscos presentan una ausencia de exoesqueleto, lo cual permite tener un contacto directo con los agentes contaminantes del medio a través del tegumento o vías respiratorias, sin contar el ingreso en la dieta de la especie.
- El sistema excretor u órganos excretores de los moluscos son de limitada capacidad de eliminación, por consiguiente pueden acumular altas concentraciones de contaminantes en comparación a otros phylum.
- El phylum Mollusca es altamente sensibles a perturbaciones o impactos ambientales.
- Los gasterópodos están ampliamente distribuidos en los ecosistemas marinos, dulceacuícolas y terrestres.
- La gran mayoría de los gastrópodos son de locomociones reducidas o sésiles de adultos, reflejando la realidad del hábitat.
- Los gasterópodos poseen un tamaño aceptable para la manipulación y son de cuerpo blando, lo cual facilita la captura, manipulación, y análisis en laboratorio.
- Los gastrópodos en su mayoría presentan una morfología e histología de fácil caracterización y el conocimiento de su ecología y biología ha aumentado en los últimos años.

- Los efectos nocivos del estrés ambiental y a los compuestos xenobióticos son reflejados en diferentes niveles de organización biológica (molécula hasta comunidad).

#### **1.2.4. IMPOSEX COMO INDICADOR DE CONTAMINACIÓN DE COMPUESTOS ORGANOESTÁNNICOS EN GASTERÓPODOS MARINOS**

El fenómeno imposex es observado en la mayoría de los países costeros, específicamente en sitios relacionados a las actividades portuarias (EPA, 2003). Estudios en las costas europeas (Harding, 1999), índicas (Morabito, 2009), americanas (Castro, 2008), orientales (Fujinaca, 2006) registran dicho fenómeno en zonas de actividad portuaria, y establecen a los compuestos organoestánnicos como causa.

En 1970 el científico Blader observa anomalías sexuales en las hembras de la especie de la familia Muricidae, *Nucella lapillus*, describiendo una malformación en forma de pene, posterior al tentáculo derecho. Al año siguiente el científico Smith reporta anomalías similares en la especie *Ilyanassa obsoleta* en las costas de Connecticut, donde identifica la presencia del vaso deferente (ducto de espermatozoides, característico del sexo masculino) y el gonoducto deformado en las hembras de la especie (Matthiessen, 1998). Smith denomina al fenómeno como imposex (LeBlanc, 2005).

El fenómeno de imposex o pseudohermafroditismo es "...a masculinising phenomenon characterized by the development and superimposition of non-functional male sexual characters (penis and/or vas

deferens) onto females of prosobranch gastropods<sup>1</sup>” (Vasconcelos, 2010). En casos severos de contaminación por compuestos organoestánicos, las hembras afectadas registran un cambio morfológico del oviducto adquiriendo una forma parecida a la vesícula seminal de los machos (LeBlanc, 2005), lo cual no permite la expulsión de los huevos encapsulados al exterior.

Otra manera de impedir el libre acceso de los huevos por el oviducto según Matthiessen (1998) es el desarrollo del vaso deferente desde la parte inferior del pene hasta cubrir la papila genital bloqueando la vulva e invadiendo el oviducto. Hembras con tal nivel de deformación son estériles produciendo la declinación poblacional de la especie. No obstante, la hembra afectada continúa con la producción de huevos los cuales son acumulados en las paredes del oviducto, llegando a romper la misma, tal efecto es letal para el espécimen porque lo conduce a la muerte.

#### **1.2.4.1. Índices de Imposex en Gasterópodos Marinos**

En el biomonitoreo de compuestos organoestánicos (ej. TBT), la funcionalidad de los índices consiste en determinar el grado de contaminación en el medio (Vasconcelos, 2010). Para la medición del fenómeno de imposex los índices más confiables y aceptados internacionalmente entre otros son: Índice Relativo del Largo del Pene (RPLI), Índice Relativo del Tamaño del Pene (RPSI), e Índice de la Secuencia de Vaso Deferente (VDSI) (Vasconcelos, 2010), y índice Largo del Pene de Hembras (FPLI) (Castro, 2011).

---

<sup>1</sup> “...es un fenómeno de masculinización caracterizado por el desarrollo y superimposición de características sexuales masculinas no funcionales (pene y/o vaso deferente) en las hembras. de la subclase Prosobranchia”. (traducción propia)

Los índices RPLI y RPSI expresan el relativo desarrollo del pene en hembras y machos, en términos de longitud y/o volumen. El índice VDSI indica la capacidad reproductiva de la población (Vasconcelos, 2010). El índice RPLI es igual a la (media del largo del pene de hembras/ media del largo del pene machos) \* 100 (Castro, 2011). El índice de RPSI es igual (media del PI de hembras/ media del PI de machos) \* 100, donde PI (índice del pene) es igual (peso del pene/peso del tejido blando)\*100 (Fujinaga, 2006). El índice RPLI es utilizado con mayor frecuencia en poblaciones de gasterópodos afectados con estadios iniciales del fenómeno de imposex, en cambio el índice RPSI es aplicado en niveles de imposex altos (Castro, 2012).

Los índices RPLI y RPSI presentan una relación directa con la variable longitud del pene (LP). En contraste, la exactitud de la medición del LP puede ser afectada por: características del órgano reproductor masculino (variación en el tamaño ante el estímulo táctil), por las variaciones del tamaño del pene dependiendo de la temporada (pre apareamiento, apareamiento y post apareamiento), por una constante manipulación, aplicación de químicos (ej. formol), congelamiento y descongelamiento de especímenes (Vasconcelos, 2010). Sin embargo Vasconcelos (2010) recomienda que especies con variación temporal del tamaño del pene debido al ciclo reproductivo, se debe obtener muestras homogéneas (en los mismos meses o estadios del ciclo reproductivo).

El índice RPLI es más sensible que el índice VDSI, en parte se debe al uso de especímenes adultos que son poco susceptibles a cambios del estado de VDSI (Castro, 2011). Anteriormente Harding (1999) sostuvo que el índice VDSI es considerado como el más confiable para determinar la intensidad del fenómeno de imposex, al evaluar la capacidad reproductiva de



la población actual y el potencial reproductivo de los juveniles de la población.

#### **1.2.4.2. Especies de Gasterópodos sensibles al fenómeno de Imposex**

El fenómeno de imposex es evidenciable en un sin número de especies de gasterópodos en todas las costas del mundo (Vasconcelos, 2010), siendo la familia *Muricidae* la más empleada, como bioindicadores de tributil de estaño (Fujinaga, 2006) El fenómeno imposex ha sido hallado en especies de zonas costeras y de aguas profundas, no obstante el fenómeno presenta mayor incidencia en el perfil costero, debido a la cercanía de la fuente contaminante.

Casos de presencia del fenómeno de imposex en especies de gasterópodos aumenta constantemente, en el 2010 se identificaron un promedio de 200 especies afectadas distribuidas en 28 familias, la familia *Muricidae* es la más abundante con 66 especies mermadas por el fenómeno (Vasconcelos, 2010). Adicional, Castro (2011) comenta que todos los estudios de imposex en especies de la familia *Muricidae* presentan dicho fenómeno. Por último, las especies *T. kiosquiformis*, *T. biserialis*, y *T. brevidentata* son identificadas como exhibidoras de imposex en Panamá, Costa Rica e India, siendo especies sensibles al imposex (Castro, 2011).

Diversos estudios de imposex en especies de gasterópodos identificaron la capacidad de desarrollar una reacción dosis-respuesta ante la biodisponibilidad de tributil de estaño, facultándolos como herramientas claves de organizaciones internacionales en el biomonitoreo de ecosistemas marinos-costeros (Rodríguez, 2008). Además, son herramientas obligatorias para ciertas regulaciones internacionales tales como: Convención para la

Protección del Medio Ambiente Marino del Nordeste del Atlántico (OSPAR, por sus siglas en inglés) (Morabito, 2009).

La especie *Nucella lapillus* presenta una reacción dosis-respuesta muy evidenciada, a concentraciones de 1 a 3 ng/L de TBT la hembra afectada desarrolla un pene similar al tamaño de los machos y extensión del vaso deferente desde el pene hasta la papila genital (no afecta la capacidad reproductiva), concentraciones mayores a 5 ng/L de TBT provoca la extensión del vaso deferente sobre la papila genital invadiendo el oviducto (impide la reproducción y puede llegar a matar al espécimen) (Matthiessen, 1998). Por último, hembras en estado larval expuestas a concentraciones de 25 ng/L de TBT presentan una inhibición de la ovogénesis y desarrollo de la espermatogénesis (Matthiessen, 1998).

Morabito (2009) establece tres ventajas en el uso de gasterópodos como bioindicadores de tributil de estaño, posterior a la prohibición del tributil de estaño en las pinturas antiincrustantes. Las ventajas son las siguientes:

- Indica las áreas con alta concentración de tributil de estaño en los fondos marinos que actúan como nuevas fuentes de contaminación.
- Variables para el establecimiento de modelos de dispersión de sistemas antiincrustantes en base al TBT
- Medio verificador de la eficiencia de la prohibición internacional del TBT.

#### **1.2.4.3. Estudios de Imposex a Nivel Mundial y en Sudamérica**

Investigaciones específicas en especies de gasterópodos muestran cierta variación de la masculinización en las hembras afectadas con imposex por la presencia de TBT. Las especies *Nassarius reticulatus* y *Ilyanassa*

*obsoleta* desarrollan un pene y vaso deferente (conducto seminal), sin interferir en mayor medida el proceso reproductivo de la especie. Por otro lado, las especies *Nucella lapillus*, *Ocenebra erinacea*, *Urosalpinx cinérea* presentan modificaciones más severas (cambios en el oviducto) que no permiten la reproducción, lo cual conlleva a la declinación poblacional y en casos extremos a la extinción de la especie (Matthiessen, 1998).

Estudio en 1999 en las costas europeas en los países de Dinamarca, Alemania, Reino Unido, Noruega, Bélgica, Holanda, Francia y Suecia, presenta el fenómeno de imposex en la especie *Nucella lapillus*. El estudio demuestra que los puntos más alejados a las fuentes de contaminación de tributil de estaño presentan valores menores (0,8% y 2,7 RPSI y VDSI respectivamente) en Dinamarca en Norre Voupor; también en Francia con 0,4% y 3,2, y Reino Unido 0,04% y 1,8, en cambio puntos cercanos (Vadoy, Noruega 41,4% y 5.1 RPSI y VDSI, respectivamente, Fraserburgh, Reino Unido 30,0% y 4,1, Havre, Francia 25,1% y 4.3.) poseen valores altos, dichos sitios desarrollan actividades e infraestructuras marinas (acuicultura, muelles, terminales marítimos, puertos pesqueros, etc). Los sitios más afectados fueron por donde navegaban buques de gran tamaño y envergadura (Harding, 1999).

En Victoria, Australia el estudio de imposex en la bahía Port Phillip en la especie *Thais orbita*, compara la prevalencia e incidencia del fenómeno de imposex previa y posterior regulación del tributil de estaño. Los datos exponen una reducción de los niveles de imposex de 19,5 a 7,3 RPS y 12,1 a 0,8 RPS en dos puntos puntuales de la bahía: Queenscliff y Sandringham, respectivamente. La disminución de la incidencia de imposex en la bahía Port Phillip va acorde a la evidencia internacional de disminución de imposex luego de las restricciones del uso del tributil de estaño (Rees, 2001).

En Sudamérica (ver Figura 6) las investigaciones de imposex en gasterópodos están presentes en la costa este (Atlántico) y oeste (Pacífico), siendo la costa del Atlántico la más estudiada principalmente por los países de Brasil (16 estudios aproximadamente) y Argentina (16 estudios aproximadamente). En la costa del Pacífico, Chile y Perú contemplan más de dos estudios y los países Ecuador y Colombia exhiben un estudio cada uno. La mayoría de los estudios en ambas costas son localizados en bahías o puertos marítimos (Castro, 2012).



*Figura 6. Evaluación de áreas de incidencia de imposex en gasterópodos y contaminación de sedimentos y mamíferos por compuestos organoestánicos en las costas de Sudamérica. Castro, I. (2012).*

### **1.2.5. TBT: DISRUPTOR ENDOCRINO EN ESPECIES DE GASTERÓPODOS**

El sistema endocrinológico de los moluscos es poco estudiado, sin embargo presenta cierto grado de similitud al sistema de los vertebrados, específicamente lo que respecta a hormonas sexuales (similitud química) (Matthiessen, 2008).

“Los disruptores endocrinos son compuestos químicos que pueden afectar directa o indirectamente al sistema hormonal, y puede ser activo a bajas concentraciones. En otras palabras, son sustancias exógenas que causan efectos adversos sobre la salud de un organismo o su progenie como consecuencia de cambios en la función endocrina mediante interferencia con la síntesis, transporte, secreción, unión o eliminación de hormonas naturales en el cuerpo responsables del mantenimiento de la homeostasis, desarrollo, reproducción, y/o comportamiento” (Rodríguez, 2008).

La disrupción endocrina es considerado el proceso por el cual el tributil de estaño desarrolla el fenómeno de imposex en especies de gasterópodos (Vasconcelos, 2010), no obstante el mecanismo de acción de dicho proceso se desconoce. Estudios establecen hipótesis del mecanismo de acción del TBT como disruptor endocrino (Matthiessen, 2008). Según LeBlanc (2005) un mecanismo neuroendocrino estimula el desarrollo de características masculinas, siendo dos las hormonas más relacionadas al dicho proceso: APGWamide y testosterona.

La hormona APGWamide es una molécula neuropéptida que contribuye a la activación del músculo retractor del pene y los músculos relacionados a la eyaculación, y en el comportamiento del apareamiento en los machos, la hormona es segregada por el ganglio cerebral derecho, ganglio pedal y gonoducto. Estudio en la especie *Ilyanassa obsoleta* muestra que la hormona APGWamide estimula el desarrollo del pene en hembras (LeBlanc, 2005).

Por otro lado, los estudios sugieren que la hormona testosterona tiene un rol dentro de la diferenciación sexual y reproducción en los moluscos (LeBlanc, 2005). Experimentos de administración de testosterona en hembras de las especies *Nucella lapillus*, *Hinia reticulate*, y *Ilyanassa obsoleta*, muestran el desarrollo del pene y vaso deferente por la estimulación de la hormona; en la especie *Theba pisana* estimula la espermatogénesis (Matthiessen, 2008). Los resultados sugieren que el desarrollo de imposex es resultado de la elevación de los niveles de testosterona causado por el TBT, sin embargo para aceptar la premisa anterior, dos suposiciones deben ser aceptadas: la testosterona es una hormona de diferenciación sexual y el tributil de estaño afecta un componente del mecanismo regulador de testosterona causando la acumulación anormal (LeBlanc, 2005).

#### **1.2.5.1. Testosterona como hormona de masculinización**

La primera suposición es basada en los estudios de la biosíntesis de la testosterona, LeBlanc (2005) sostiene que el rol como hormona de masculinización depende de la existencia de una proteína receptora que retransmita la señal de la hormona andrógena (testosterona), la existencia de dicha proteína no es determinada ha dicho año, sin embargo la existencia

de un receptor de estrógeno aumenta las posibilidades y expectativas de la existencia del receptor de andrógeno.

Los estudios del ciclo reproductivo de la especie *Pomacea paludosa* presenta un incremento de los niveles de testosterona en los machos previo al estado inicial de desovación, el mismo que disminuye progresivamente a lo largo de la fase de reproducción e incrementa nuevamente al final. No obstante, en la especie *Ilyanassa obsoleta* los aumentos de niveles de testosterona en el estadio inicial de la etapa de desovación no influye al crecimiento del pene, al contrario ocurre antes del aumento del nivel de testosterona; por lo tanto el aumento del nivel de testosterona en machos y hembras puede estar estimulado por algún componente del sistema reproductivo de la especie. Además es posible que la función de la hormona testosterona es la estimulación rápida y el desarrollo completo del órgano copulador (LeBlanc, 2005).

#### **1.2.5.2. Posibles mecanismos de acumulación anómala de testosterona**

Existen dos hipótesis acerca del proceso por el cual el tributil de estaño estimula la acumulación anómala de testosterona (Matthiessen, 2008). La primera es la inhibición de la enzima aromatasa (Oehlmann, 2007) y la segunda es la esterificación de la testosterona (LeBlanc, 2005).

La enzima aromatasa cumple la función de transformar las hormonas de testosteronas a estradiol (hormona estrógena) (Matthiessen, 2008). En la especie *Nucella lapillus* la exposición de TBT produce un aumento del nivel de testosterona. No obstante, estudios de otras especies contradicen la hipótesis al no presentar cambios significativos en el metabolismo de la testosterona por la inhibición de la aromatasa (LeBlanc, 2005).

La esterificación de la testosterona consiste en la transformación de testosterona libre en esteres de ácido grasos, los cuales sirven como reservorio de testosterona. Mediante la suposición que la enzima ATAT genera el proceso de esterificación de la testosterona libre, se establece la hipótesis que al inhibir la enzima aumenta los niveles de testosterona libre. Sin embargo, la hipótesis es invalidada por la experimentación de la enzima ATAT a altas concentraciones de TBT con resultados indicando que el tributil de estaño no disminuye los niveles de la enzima ATAT. Por último, los datos corroboran el aumento del nivel de testosterona al suprimir la retención de los mismos en estado de esteres de ácido graso por la acción del tributil de estaño, el aspecto sin descifrar es el mecanismo de acción del TBT (LeBlanc, 2005).

Para finalizar, es clara la acción del tributil de estaño como disruptor endocrino en especies de gasterópodos, es la forma de accionar del TBT la cual aún se desconoce, pudiendo ser todos los mecanismos simultáneamente o por la variabilidad del sistema endocrino de las especies de gasterópodos cada una posiblemente presenta una reacción distinta al TBT (Matthiessen, 2008).

#### **1.2.6. PHYLUM MOLLUSCA, CLASE GASTERÓPODA, FAMILIA MURICIDAE, GÉNERO THAIS.**

El phylum Mollusca es el segundo grupo con mayor número de especies de invertebrados luego de los artrópodos, presentando una alta abundancia (Barnes, 1989). Se han registrado un total de 93.000 especies (Ramírez, 2009), Barnes (1989) describió 35.000 especies fósiles (data del Cámbrico). El phylum dentro del reino animal, es uno de los más importantes en aspectos económicos y ecológicos (Frocelli, 2000).



El phylum Mollusca posee una amplia variedad y diversidad de especies, siendo sistematizadas en varias clases, órdenes, familias y géneros, no obstante todas las especies presentan cinco partes fundamentales: manto, cabeza, pie, saco visceral, y valva. Son siete las clases de este phylum: Aplacophora, Bivalva, Poliplacophora, Scafopoda, Monoplacophora, Cefalopoda y Gasterópoda (Frocelli, 2000).

Los dos principales modos de vida de las especies de moluscos son: pelágicos y bentónicos. Los pelágicos son aquellos que hábitat en los distintos estratos de la columna de agua sin situarse en el fondo, cuentan con una subdivisión: epipelágicos (de superficie), mesopelágico (agua intermedias) y batipelágicos (aguas profundas). Por otro lado los bentónicos son aquellos que se localizan en los fondos, adicional la mayoría de las especies de moluscos son bentónicas (Frocelli, 2000).

Según Frocelli (2000) existe una división adicional del modo de vida de los moluscos, dicha división es vertical caracterizada por dos grupos principales: litoral y profundo. El sistema litoral está relacionado con la incidencia solar y presencia de algas, a su vez el sistema litoral es dividido en: zona supralitoral (encima de las pleamares de cuadratura y alcanzado por las mareas de sicigia y fuertes oleajes), zona mesolitoral (área de pleamar y bajamar), zona infralitoral (inicia en el nivel más bajo de la marea y termina en la ausencia de monocotiledóneas marinas), y la zona circalitoral (comienza donde termina la zona anterior y termina en el área con ausencia de algas). La mayoría de las especies de moluscos son localizadas en las dos últimas zonas.

#### **1.2.6.1. Clase Gastrópoda**

Dentro del phylum, son la clase de mayor importancia y numerosa con más de 80.000 especies (Frocelli, 2000). Barnes (1989) expresa la identificación de 15.000 especies fósiles de gasterópodos que data del Cámbrico. El amplio dominio de la clase en los diversos ecosistemas permite deducir el éxito evolutivo de los gastrópodos, logrando habitar en numerosos tipos de fondos marinos e incluso la vida pelágica. Además, la habilidad evolutiva de la clase permite establecerse en ecosistemas dulceacuícolas y terrestres (Barnes, 1989).

#### **1.2.6.2. Características Generales**

La evolución de los gasterópodos es descrita por Barnes (1989) como tres cambios adaptativos principales: el primero es el desarrollo de una cabeza, segundo la transformación de la concha (forma asimétrica con órganos impares), último y tercero la torsión visceral.

En los gasterópodos actuales, el cuerpo puede ser seccionado en cuatro partes fácilmente identificadas, la cabeza que en la mayoría de casos emerge de la parte anterior de la concha (Fischer, 1995), un pie desarrollado, en ocasiones presenta una estructura calcárea o córnea en la parte posterior llamada opérculo, que cumple una función protectora (Frocelli, 2000). La masa visceral, que ocupa dorsalmente la espira de la concha y el manto; y un tegumento a modo de cuello que secreta y reviste internamente la concha y forma una cavidad (cavidad paleal), que generalmente aloja las branquias o órganos respiratorios de las especies acuáticas (Fischer, 1995).

#### **Concha y Manto**

La concha en su mayoría es una espiral cónica formada por volutas tubulares que contiene la masa visceral del espécimen (Barnes, 1989), también puede estar desprovista de ella (Frocelli, 2000). Acorde a la descripción de Barnes (1989), en el ápice (cima de la concha) están las volutas más viejas y pequeñas, las volutas siguientes son dispuestas al eje central, el cual es llamado columela. La última voluta es la más voluminosa terminando en el orificio o abertura de la concha y es llamada voluta del cuerpo. Por último, las volutas por encima del cuerpo constituyen la espiral (Barnes, 1989).

La espiralización de la concha ocurre de dos formas, la primera en sentido del reloj, llamada dextrógira y la segunda en sentido contrario a la manecilla del reloj, llamada sinistrógira. La mayoría de los gasterópodos tienen una disposición dextrógira, adicionalmente existen casos de especies que presentan ambas características (Barnes, 1989).

La coloración de la concha es a través de los pigmentos presentes en el Periostraco o en las capas calcáreas. El crecimiento es por intervalos siendo observados por líneas de crecimiento. La concha en los adultos consta de una sola voluta expandida y espaciosa (Barnes, 1989).

La locomoción de los gasterópodos es realizada mediante un pie plano que cumple una función reptante. “La superficie de contacto del pie llamada suela, es ciliada y posee abundantes células glandulares, la cual secreta una sustancia mucosa que permite al individuo desplazarse por el sustrato” (Barnes, 1989). El músculo de la columela trabaja en el movimiento de retracción de la cabeza y el pie para ocultarlos en la concha. Ciertas especies de la subclase Prosobranchia desarrollaron un mecanismo de arado y anclaje, al adaptar su pie muscular (desarrollo de la própoda) (Barnes, 1989).

## **Nutrición**

Acorde al libro Zoología de los Invertebrados en el capítulo Los Moluscos (1989), los hábitos alimenticios son variados encontrándose especies carroñeras, carnívoras, herbívoras, parasitarias, consumidoras de material orgánico en suspensión o en depósitos. A pesar de la variedad alimenticia, los gasterópodos presentan generalidades de las mismas: usualmente poseen una rádula, en todos los casos la digestión es, en parte, extracelular, en la mayoría de las especies las enzimas digestivas se desarrollan en las glándulas salivales, sacos esofágicos, divertículos digestivos, o una combinación de las estructuras, el estómago es el sitio de digestión extracelular, por la torsión el estómago giro 180°.

Según Barnes (1989), la estructura radular se ha convertido en parte fundamental para la sobrevivencia en la mayor parte de los gasterópodos, debido a las distintas funciones que cumple (raspar, sujetar, cepillar, cortar, limar o servir de banda transportadora). “La rádula es una estructura calcárea de pequeños dientes que trabajan en forma de lima para roer el alimento” (Frocelli, 2000).

La subclase Prosobranchia (especialmente orden Neogasterópoda) es considerado de hábitos carnívoros, puesto a la alta cantidad de especies de dichas características alimenticias. Los neogasterópodos poseen una rádula con solo tres dientes (a veces uno) por hilera transversal, no obstante son dientes anchos y con varias cúspides, los dientes más externos tienen forma de gancho pudiendo recolectar el alimento desgarrado de la presa (Barnes, 1989).

Algunas especies desarrollaron una estructura mandibular, la parte principal es la proboscis (extensible), la cual permite al individuo alcanzar y penetrar las áreas vulnerables de la presa. La proboscis contiene el esófago, cavidad bucal y rádula; en el proceso de alimentación la proboscis se extiende gracias a la presión sanguínea y el espécimen encuentra a la presa mediante la detección de proteínas específicas emanadas por la presa, que son identificadas a través de la corriente ventiladora (Barnes, 1989).

### **Aparato Reproductor**

La mayoría de las especies de la subclase Prosobranchia son dioicas, quiere decir que constan de gónadas masculinas (testículo) o femeninas (ovario) y no ambas a la vez; la gónada es localizada en las espirales de la masa visceral embebida en la glándula digestiva. El gonoducto probablemente tiene una estructura simple o compleja, y usualmente está ligado con el nefridio derecho (Barnes, 1989).

El aparato reproductivo de las especies modernas es más complejo, comenzando por el cambio de una cópula y fecundación externa (especies antiguas) a una interna. En las especies modernas, el nefridio derecho se ha degenerado con excepción de una zona que funciona como parte del gonoducto. En los machos (ver Figura 7) el conducto paleal sirve de almacenamiento del semen, mientras que en las hembras forma la membrana de los huevos (cápsula); por último, el poro genital es encontrado en la abertura de la cavidad del manto (Barnes, 1989).

“En los machos el gonoducto entero consta de un tubo enrollado (conducto deferente) que comienza en el testículo, cumple las funciones de almacenamiento y transporte de espermatozoides. El conducto deferente paleal, que contiene una

próstata, corre por el piso de la cavidad del manto y luego va a un tentáculo en forma de pene, localizado por detrás del tentáculo cefálico derecho” (Barnes, 1989).

En la hembra (ver Figura 7), la sección paleal del oviducto esta modificada para formar una glándula albumina y una enorme glándula gelatina o glándula de la cápsula, siendo los huevos encerrados en las cápsulas (Barnes, 1989).

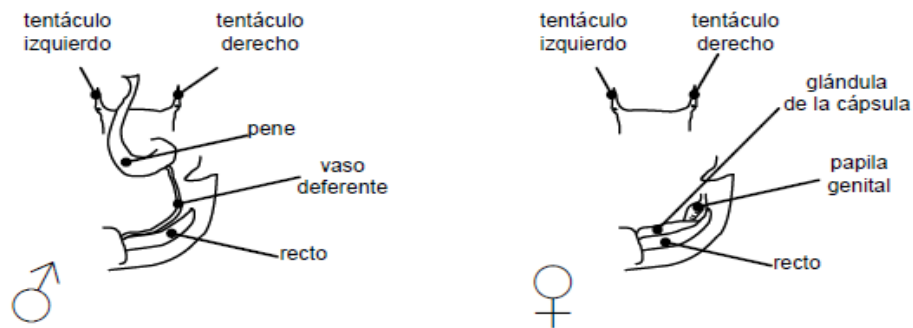


Figura 7. Morfología externa de los caracteres sexuales de machos y hembras de gasterópodos. Rodríguez. J. (2008).

## **Embriogenia**

Acorde con Barnes (1989), en los estadios larvales de las especies del orden Neogasterópoda, los especímenes recién eclosionados son pequeños caracoles con todas las estructuras. Los huevos son cubiertos por una masa albúmina rodeada por la cápsula.

La madurez sexual y adultez en la mayoría de gasterópodos es alcanzada en un rango de 6 meses a 2 años, no obstante las especies están en constante crecimiento a un ritmo pausado (adultos), por lo cual individuos de gran tamaño les toma años lograr esas dimensiones. La longevidad es

variable encontrando especies con un promedio de vida de 5 a 16 años o de 1 a 2 años. De los especímenes juveniles solo unos cuantos alcanzan la madurez sexual, por ejemplo de 1.000 huevecillos producidos anualmente por especies del género *Thais*, familia *Muricidae*, solo 10 llegan a la madurez sexual (Barnes, 1989).

#### **1.2.6.3. Clasificación**

Frocelli (2000) & Barnes (1989) clasifican a la clase Gasterópoda en tres subclases. La primera es Prosobranchia los cuales respiran mediante las branquias y constan de la cavidad del manto, clara identificación de la torsión del cuerpo; es la subclase con el mayor número de especies con un total de 18.000 ejemplares según Barnes (1989) y de mayor importancia comercial en el Pacífico centro-oriental (Fischer, 1995). La segunda es Pulmonata donde se encuentran los caracoles terrestres, estas especies evolucionaron al eliminar las branquias y transformar la cavidad del manto en un pulmón (Barnes, 1989); la tercera es Opisthobranchia “con la cavidad paleal en posición lateral derecha o posterior y con una sola branquia por detrás del corazón, o sin branquias” (Fischer, 1995), las liebres y babosas de mar son especies características de la subclase (Barnes, 1989). Sin embargo Fischer (1995) agrega una subclase más, llamada Gymnomorpha en la cual no cuenta con la concha, ni cavidad paleal.

#### **1.2.6.4. Subclase Prosobranchia**

De las 18.000 especies de la subclase, la mayor parte está concentrada en los órdenes mesogasterópodos y neogasterópodos (Barnes, 1989). Entre las estructuras típicas de la subclase están la rádula, opérculo, sifón, canal sifonal, además presenta el sistema de circulación de agua y

estructura branquial más primitiva de la clase gasterópoda (Fischer, 1995 & Barnes, 1989).

#### **1.2.6.5. Familia Muricidae**

El estudio “Species Checklist of *Muricidae* in the South China Sea” realizado por Tan (2000), registro un rango de 500 a 600 especies de la familia *Muricidae*. Las estructuras típicas y características que permiten diferenciarla con las demás familias son: la presencia de varices, tubérculos o espinas, terminal de masa bucal en el interior de la proboscis.

Poseen hábitos alimenticios carnívoros siendo sus principales presas: lapas, balanos y bivalvos. Los *Muricidae* han implementado un mecanismo de perforación de las conchas de sus presas facilitando la alimentación, la adaptación ha sido mayor estudiada en especies de barrenos (Barnes, 1989).

“Las especies barrenos presentan en la suela anterior del pie una glándula eversible, la cual se aplica contra la superficie que va a horadar. La secreción ácida de la glándula degrada la base orgánica y desmineralizan la concha, siendo el proceso de penetración glandular y no radular. Se ha observado horadaciones de hasta 5 mm. Finalizada la horadación, el depredador introduce la proboscis en el interior de la presa por el agujero y comienza a desgarrar con la rádula los tejidos blandos de la presa” (Barnes, 1989).

#### **1.2.6.6. Género Thais**



El género *Thais* aparece alrededor del comienzo del Mioceno, en la actualidad presenta una distribución amplia abarcando ecosistemas de la zona tropical y boreales, debido a su excelente capacidad adaptativa (Koch, 1996). El género presenta "...formas variables, sólidas, espira corta, escultura carente de varices pero con nudos prominentes o ligeramente espinosos. Canal anterior corto y ranura ampliamente abierta. Opérculo córneo" (López, 2009). Adicional, las especies secretan un líquido de color verde, escarlata o púrpura y especies de almejas pequeñas y percebes son parte de su dieta, los mismos que son cazados en el sustrato rocoso (López, 2009).

El género *Thais* es altamente resistente a condiciones adversas en su hábitat en la zona intermareal; entre los mecanismos de resistencia está la selección de la presa acorde al gasto energético que le representa (dependiendo de la abundancia de la presa); otro mecanismo es limitar el tamaño (dimensiones) de la especie dependiendo de factores como: disponibilidad de alimento, refugio, depredadores, desecación. Un caso puntual es la variación del espesor de la concha para protegerse de los depredadores (Koch, 1996).

### **Especie *Thais kiosquiformis***

La distribución geográfica comprende la línea costera de los océanos Pacífico y Atlántico (Koch, 1996), desde Baja California hasta el norte de Perú (Cruz, 1992) en la zona intermareal (Koch, 1996). Acorde a Cruz (1992) la especie habita en ecosistemas estuarinos en el sustrato rocoso o en los mangles, no obstante Koch (1996) menciona que la especie está en zonas de salinidad de 5 a 30 por ciento, en el sustrato rocoso, en las raíces del mangle, y árboles en descomposición.

El estudio de Koch (1996) en los manglares costarricenses determinó el patrón distribucional de la especie donde los especímenes juveniles dominan el área interna del manglar, por otro lado los especímenes adultos son más abundantes en los linderos (bordes) del ecosistema manglar. Koch (1996) explica que el patrón probablemente está directamente relacionado con el gradiente de depredación y desecación, debido al alto grado de depredación e irradiación en los bordes del manglar.

Posee un hábito alimenticio carnívoro, característico de especies de la familia *Muricidae* (Barnes, 1989). Dentro de su dieta se encuentran especies de ostiones (Cruz, 1995), ostras (*Crassostrea rhizophorae*), cirrípedos (*Balanus sp*) (Klinger, 2009). El estudio de los manglares costarricenses determinó que “...the population of *T. kiosquiformis* consumes approx. 2.5 g flesh weight/m<sup>2</sup> per day<sup>2</sup>” (Koch, 1996). Adicional, ensayos de laboratorio para identificar la presa de preferencia por la especie, arrojó como resultado a las especies de la familia *Littorinidae*, sin embargo el resultado no son representativos en la vida silvestre, donde se observa fuerte preferencia a especies de balánidos (Koch, 1996).

La especie puede crecer aproximadamente unos 50 a 55 milímetros de longitud de concha, la madurez sexual la logra en un tamaño aproximado de 24 a 32 milímetros. La coloración de la concha es marrón fangoso, posee tubérculos o espinas fuertemente desarrolladas y es caracterizada por una concha fuerte (Koch, 1996). Por último, la especie es resistente a la desecación, dado que cierra la abertura a través del opérculo y cambia a un sistema de respiración anaeróbico, logrando resistir a la desecación por más de nueve días (Koch, 1996).

---

<sup>2</sup> “La población de *Thais kiosquiformis* consume aproximadamente 2,5g peso fresco/m<sup>2</sup> por día”. (traducción propia)

### **Especie *Thais biserialis***

Su hábitat comprende el sustrato rocoso en la franja infralitoral y áreas más profundas, aunque se han encontrado en zonas expuestas a la bajamar (González, 2005). La distribución altitudinal comprende "...Mediterráneo, el oeste de África, Uruguay y el oeste Atlántico; y desde isla Cedros en Baja California hasta Valparaíso en el Pacífico Oriental" (Guzmán, 1998).

Su estructura externa principalmente la comprende una concha sólida de color café oscuro aunque presenta variaciones de café claro y anaranjado, también puede tener un color verde oliváceos (Guzmán, 1998). La espiral comprende de 5 a 6 vueltas, la espira es relativamente corta y tuberculosa (González, 2005), los tubérculos son redondeados (Guzmán, 1998). La abertura es oval, de color anaranjado, el extremo posterior del labio es angulado; las costillas espirales son bandas alternadas de color café y blanco, las mismas que son fácilmente observables en la parte interna del labio. La columela presenta una coloración de naranja a café (Guzmán, 1998). Por último, la talla máxima es 8 cm, común hasta 5 cm. (Fischer, 1995).

### **Especie *Thais brevidentata***

Especie perteneciente anteriormente al género *Acanthina*, de gran abundancia en ciertas regiones de la costa del Pacífico desde México hasta Perú. El ecosistema rocoso en la zona intermareal es el hábitat de la especie. La estrategia de alimentación consiste en forrajear en bajamar en días nublados y en la tarde – noche del día cuando el sustrato está húmedo. Además, es considerada presa de peces (Gravel, 2006).

### **Especie *Thais melones***

Presenta una concha sólida, que alcanza longitudes de 48 mm. Tienen la habilidad de mantenerse aferrado al sustrato, especialmente en presencia de corrientes fuertes y con las presas que reaccionan a su ataque desplazándose. Observaciones del comportamiento de la especie en marea alta y baja muestran mayor actividad de la especie cuando están sumergidas y en periodos nocturnos; para evitar el estrés del calor y desecación la especie *T. melones* se desplaza hacia los agujeros de las rocas en marea baja (West, 1988). La distribución de la especie es desde el Golfo de Tehuantepec, México hasta Callao, Perú y Las Islas Galápagos (West, 1988).

Observaciones del comportamiento de caza de la especie determinan varias técnicas de ataque, usualmente perforan partes específicas de las diversas morfologías de la concha de su presas, además West (1988) observó el transporte de la presa a un agujero para comenzar a alimentarse. La especie *T. melones* genera sustancias que destruyen la concha de la presa. El tiempo que toma consumir la presa es de varias horas a más de un día, dependiendo del tamaño, tipo de especie de la presa, y tamaño del cazador. Su hábitat alimenticio es variado consumiendo bivalvos, gasterópodos, poliquetos, percebes y quitones (West, 1988).

### **1.3. MARCO CONCEPTUAL**

**Biodiversidad:** Es la variedad de formas en las que se expresa la vida del planeta. Comprende varios niveles de organización: los genes, las especies y los ecosistemas (Valverde, 2005).

**Prevalencia:** Es la frecuencia con la que se presenta un determinado fenómeno en una población, entendiendo este término en un sentido estadístico (Tapia, 1995).

**Incidencia:** Es una magnitud que cuantifica la dinámica de ocurrencia de un determinado evento en una población dada (Tapia, 1994).

**Lixiviación:** Proceso mediante el cual se lava una sustancia pulverizada con el objetivo de extraer de ella las partes que resulten solubles en el agua (Snmpe, 2007).

**Bioindicadores:** Son organismos que presentan cambios en su ecología por las perturbaciones ambientales dentro del ecosistema mermado (Gamboa, 2008).

**Pseudohermafroditismo:** Es la superimposición de caracteres masculinos (vaso deferente y pene) no funcionales en hembras (Vasconcelos, 2010).

**Compuestos organoestánicos:** Es el resultado de la reacción química del estaño más el carbono, perteneciendo al grupo de sustancias órgano metálicas (ATSDR, 2005).

**Disrupción endocrina:** Es la interferencia del funcionamiento normal de las hormonas esteroideas por compuestos exógenos al organismo (Vasconcelos, 2010).

**Glosario de términos de estructuras externas (ver Figura 8) de Gasterópodos** (Fischer, 1995).

**Abertura:** Abertura de la concha en la vuelta del cuerpo; es una concha espiral, el margen de la abertura más cercano al eje se llama labio interno, y el margen opuesto, labio externo.

**Anterior:** Dirección en la cual apunta la cabeza cuando el animal está en movimiento; es una concha espiral corresponde a la parte de la abertura más lejana del ápice.

**Apical:** Pertinente al ápice.

**Ápice:** Cima de la concha, correspondiente a las vueltas más antiguas donde comenzó el crecimiento.

**Axial:** véase escultura

**Base:** Parte inferior de la concha, anterior con respecto a la periferia de la vuelta del cuerpo.

**Callo:** Grueso depósito secundario de calcio, generalmente lustroso y aporcelanado.

**Canal Posterior** (o seno): Muesca o tubo en o cerca del extremo posterior de la abertura.

**Canal Sifonal:** Extensión acanalada o tubular de la parte anterior de la abertura que aloja un sifón carnoso.

**Cancelado:** véase estructura.

**Cavidad Paleal (o del manto):** Cavidad formada por el manto y aloja las branquias.

**Columela:** Eje enroscado de una concha, formando la parte ventral del labio interno.

**Concéntrico:** Paralelo a las líneas de crecimiento en una concha en forma de cono.

**Escultura:** Patrón de relieve de la superficie de la concha; los elementos esculturales pueden ser espirales (paralelos a las curvas de las vueltas) o axiales (paralelas al eje enroscado); el entrecruzamiento de elementos axiales y espirales da origen a una escultura “cancelada”.

**Espira:** Todas las vueltas de la concha, excepto la última o vuelta del cuerpo.

**Espiral:** véase escultura.

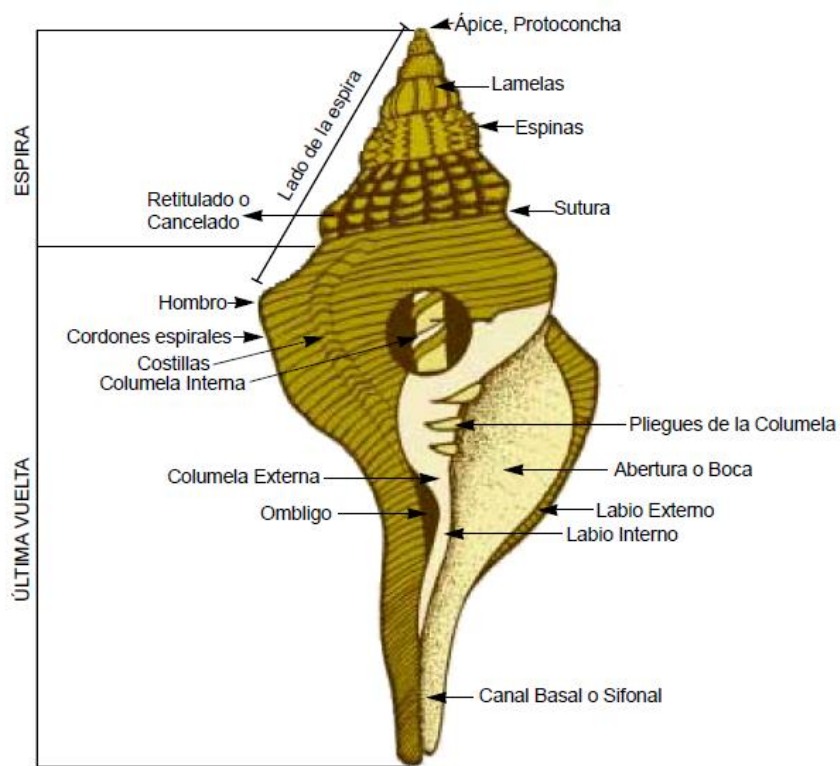


Figura 8. Estructuras externas de la clase Gastrópoda.  
 Frocelli, D. (2000).



## **CAPÍTULO III: METODOLOGÍA**

### **3.1. FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS**

Los puertos y sitios de tráfico naviero localizados en el Golfo de Guayaquil mantienen la prevalencia e incidencia del fenómeno de imposex en los organismos del género *Thais*, familia *Muricidae*.

### **3.2. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

#### **3.2.1. Tipo de Investigación**

La investigación fue de tipo analítico descriptivo la cual consistió en la especificación de las características, propiedades y rasgos importantes de las variables investigadas y descripción de cómo se encontraron en el Golfo de Guayaquil.

El enfoque escogido para la investigación fue cuantitativo, debido a la utilización de índices medibles y comprobables basados en los datos recogidos a través de la aplicación de técnicas de recolección de datos estandarizados y reconocidos por la comunidad científica. Se hace uso de la estadística descriptiva con la presentación de tablas y gráficos de las variables morfométricas e índices de imposex calculados.

#### **3.2.2. Novedad y viabilidad**

La investigación identificó la presencia e incidencia del fenómeno de imposex, en nuevos puntos relacionados a puertos marítimos (mercantes y

pesqueros artesanales) dentro del Golfo de Guayaquil. Adicionalmente, ratifican los resultados de prevalencia elaborados por Castro (2012) en el estudio “Butyltin Compounds and Imposex Levels in Ecuador”.

A nivel regional, el estudio permitió incrementar la información del fenómeno de imposex en la costa del Pacífico de Latinoamérica, puesto que acorde a Castro (2012) existe escases de estudios, identificándose investigaciones puntuales en Chile, Colombia y Ecuador, a diferencia con la costa Atlántica que presenta mayor número de estudios.

Los mayores rubros de la investigación fueron el transporte, permitiendo realizar el estudio sin mayores inconvenientes económicos. En todos los puntos de muestreo fueron hallados especies del género *Thais* y completando en la mayoría los treinta individuos acorde con la metodología seleccionada.

### 3.2.3. Conceptualización y Operacionalización de las variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional
Puertos – Tráfico naviero	Áreas con estructuras de muelles que reciben embarcaciones de mediano y alto calado.	División de los puertos en base a la actividad que realizan: pesqueros, astillero-navales, deportivos y mercantes.
Fenómeno de imposex	Fenómeno de masculinización caracterizado por el desarrollo y superimposición de características sexuales masculinas, no funcionales en las hembras	Análisis de laboratorio, aplicación del índice relativo del largo del pene (RPLI), porcentaje de imposex presente en las muestras.

### 3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

El universo de la investigación fue las comunidades del género *Thais*, familia *Muricidae* dentro del Golfo de Guayaquil, Se escogió el género debido a la presencia y representatividad a lo largo del perfil costero ecuatoriano, el Golfo de Guayaquil fue seleccionado debido a las actividades marítimas de abundante tráfico naviero que se presentan en él.

La colecta de los organismos se realizó al azar hasta completar una cantidad máxima optima de 30 individuos (Blackmore, 1999), número que, según Arroyo y Castro (2011) nos garantiza representatividad de la muestra para la población en cada una de las especies que se puedan coleccionar.

El proceso de selección de sitios para muestreo inició en la identificación de puertos mercantes, pesqueros industriales y pesqueros artesanales dentro del Golfo de Guayaquil. Se considero en cada sitio un área aproximada a 500 metros a ambos lados del punto georeferenciado.

La colecta de los organismos se realizo de manera manual con ayuda de pinzas, en la región intermareal encima de sustratos rocosos por excelencia, ver Figura 10. Para una mayor facilidad de colecta los muestreos comenzaron antes de la cota máxima de bajamar según los datos publicados por el Instituto Oceanográfico de la Armada del Ecuador (INOCAR: <http://www.inocar.mil.ec/mareas/mareas.php>) para el perfil costero ecuatoriano.

Los muestreos fueron realizados entre junio del 2012 a febrero del 2013, los puntos Playas y Posorja fueron tomados en junio, Guayaquil en julio, Puerto Bolívar en septiembre, finalmente el punto Isla Puna en febrero del 2013. El cronograma de muestreo del estudio se acoplo al cronograma

de la investigación “Imposex como Indicador de Contaminación por Compuestos Organoestánicos en las Costas Ecuatorianas” realizada por la Universidad de Especialidades Espíritu Santo.

### 3.4. INSTRUMENTOS, HERRAMIENTAS Y PROCEDIMIENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.4.1. Instrumentos

*Tabla 1. Materiales y equipos utilizados en campo y laboratorio.*

<b>Instrumentos de Campo</b>	<b>Instrumentos de Laboratorio</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Frascos plásticos (1 Litro)</li> <li>• Pinzas metálicas (20 cm)</li> <li>• Refractómetro (0 – 50 ups)</li> <li>• GPS (Garmin)</li> <li>• Cloruro de Magnesio (solución potable)</li> <li>• Alcohol al 75%</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Calibrador Vernier (0,01 mm)</li> <li>• Microscopio Estereoscopio</li> <li>• Caja de Petri</li> <li>• Kit de disección</li> <li>• Papel milimetrado</li> <li>• Tornillo de banco</li> <li>• Cámara Fotográfica</li> </ul>

#### 3.4.2. Herramientas

El programa Excel fue la plataforma para calcular los índices de prevalencia e incidencia del fenómeno de imposex dentro del Golfo de Guayaquil. Los índices utilizados son detallados a continuación:

Índice Relativo del Largo del Pene (RPLI): [(media del largo del pene de hembras/ media del largo del pene machos) \* 100].

Índice de imposex en especímenes femeninos (I%): Porcentaje de las hembras afectadas por el fenómeno de imposex.

Índice Largo del Pene de Hembras (FPLI): media del largo del pene de las hembras de la población, contabilizando los valores cero.

Los datos para el cálculo de los índices fueron obtenidos del análisis de los especímenes en el laboratorio, donde se midió el largo de la concha, diferenciación por sexos (sexados), largo del pene de hembras imposexadas y machos, que luego fueron tabulados, segregando la información de los machos y hembras para cada especie en distintas tablas.

Los distintos mapas temáticos (mapa de los puntos muestreados, salinidad, índices de imposex, especies halladas) del presente estudio fueron realizados mediante el programa público Quantum GIS (Geographical Information System).

El programa Primer – 7 permitió identificar la similitud entre los puntos de muestreo dependiendo de las variables: especies presentes y salinidad del lugar, además permitió conocer la distribución de las especies por el factor abiótico salinidad.

La referencia bibliográfica se obtuvo mediante el método de recolección de información primaria y/o secundaria, utilizando herramientas tecnológicas tales como: base de datos UEES, journals. Adicional, información primaria de la malacología fue adquirida de libros de texto clásicos en la materia.

### 3.4.3. Procedimientos de la Investigación

#### 3.4.3.1. Metodología en Campo

Primera fase – Localización de los puntos de muestreo: El criterio de elección fue basado en la presencia de puertos marítimos (mercantes, pesqueros industriales y artesanales), debido a la relación directa entre los compuestos de TBT y las infraestructuras marítimas. Fueron cinco los sitios seleccionados dentro del Golfo de Guayaquil (ver Figura 9): Puerto Bolívar, Puerto Guayaquil, Posorja, Playas e Isla Puna.

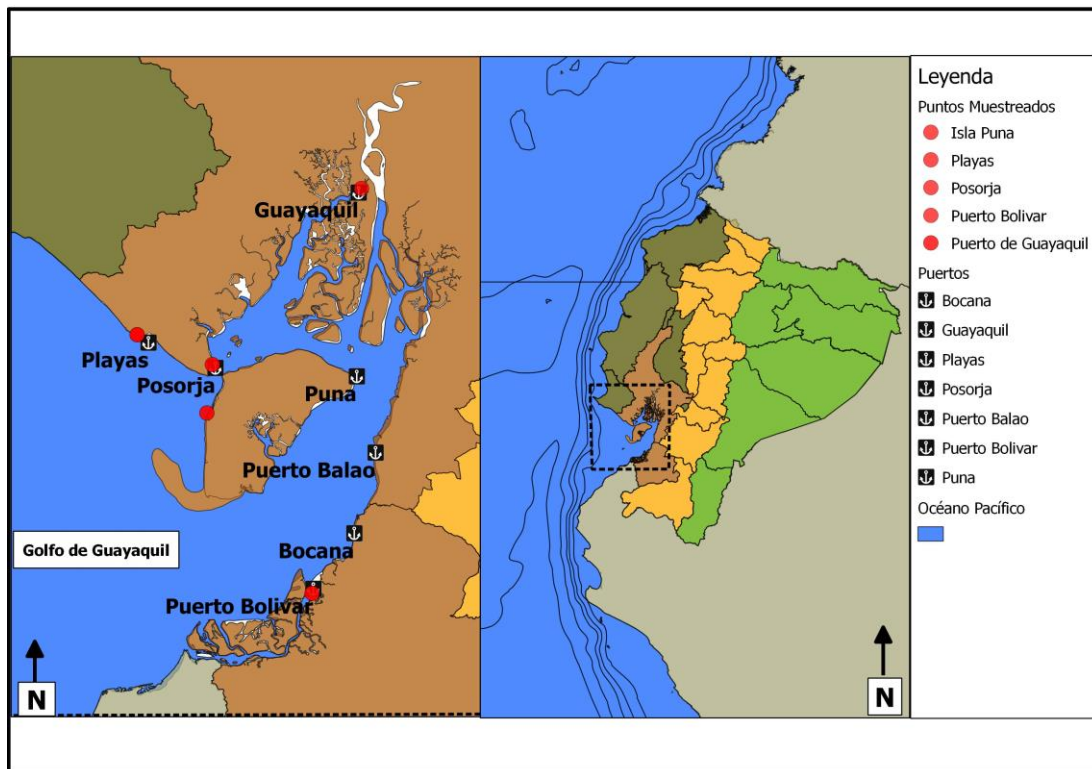


Figura 9. Puntos de muestreo (Playas, Guayaquil, Posorja, Puerto Bolívar e Isla Puna) y puertos marítimos dentro del Golfo de Guayaquil; escala 1:100000 mapa izquierdo y 1:1000000 mapa derecho.

Segunda fase – Determinación del momento de muestreo: Utilizando la tabla de mareas del Instituto Oceanográfico de la Armada (<http://www.inocar.mil.ec/mareas/mareas.php>), se coordinaba la fecha de muestreo más adecuada considerando los máximos niveles de la bajamar, lo cual favoreció a la posterior recolección de los especímenes.

Tercera fase – Registro de la salinidad y georreferenciación de los puntos: Previa recolección de los especímenes, se procedió a tomar la medida de salinidad del agua utilizando el refractómetro. Los puntos fueron georreferenciados en coordenadas UTM WGs84 (ver Tabla 1)

*Tabla 2. Georreferenciación de los sitios de muestreo dentro del Golfo de Guayaquil.*

<b>Puntos</b>	<b>Coordenadas (X - Y)</b>		<b>Sitio</b>
<b>P1</b>	610826	9638863	Puerto Bolívar
<b>P2</b>	624059	9747352	Puerto de Guayaquil
<b>P3</b>	584140	9700153	Posorja
<b>P4</b>	564009	9708153	Playas
<b>P5</b>	582671	9687176	Isla Puna

*Nota:* DATUM WGS84 UTM ZONA 17S.

Cuarta fase – Colecta de especímenes: El inicio del muestreo fue una hora antes del máximo nivel de la bajamar. Los especímenes eran colectados (ver Figura 10) sobre el sustrato rocoso, arbóreo (tallos de mangle) e infraestructura antrópica (pilares de muelles), la colecta finalizaba al completar los treinta individuos de manera aleatoria por especie identificada.



Figura 10. (A) Colecta de las especies en el sustrato rocoso. (B). Uso de las pinzas metálicas en la colecta de organismos en las uniones de rocas.

Quinta Fase –Narcotización y fijación de las muestras colectadas: Al completar los treinta individuos de las especies halladas, se procedía a narcotizarlos mediante la aplicación de cloruro de magnesio ( $MgCl_2$ ) en el envase de un litro, posterior a dos horas, las muestras eran almacenadas con alcohol al 75% y rotuladas para posterior análisis de laboratorio (ver Figura 11).



Figura 11. Narcotización y fijación de las muestras colectadas.



### 3.4.3.2. Metodología en Laboratorio

Fase I – Medición de la concha de los especímenes: Las conchas eran medidas (ver Figura 12) desde el ápice (punta superior, al final de la espiral) hasta el canal sifonal (punta inferior, al final de la abertura). Se utilizó el Calibrador Vernier electrónico de 0,01 mm de error.



*Figura 12.* Medición de la longitud de la concha con calibrador vernier (0,01 mm).

Fase II – Observación del tejido blando de los especímenes: Mediante el tornillo de banco se rompía la concha (ver Figura 13) de los individuos para poder acceder a la observación de la morfología externa (tejido blando).



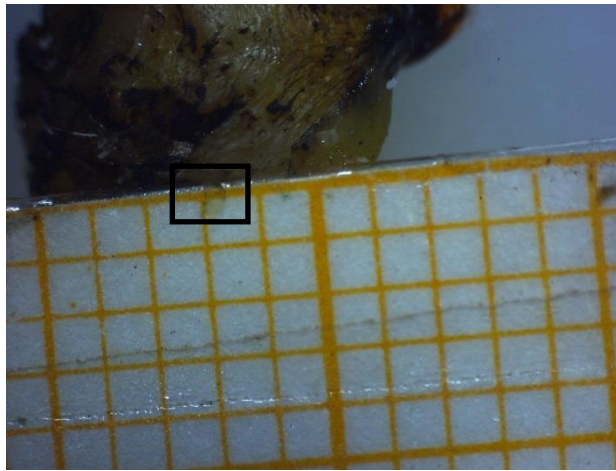
Figura 13. (A) Extracción del tejido blando del espécimen. (B) Tejido blando del organismo, visto en el estereoscopio.

Fase III – Identificación del sexo: La diferenciación de sexo (ver Figura 14) se basó en la identificación de los caracteres reproductivos masculinos (vesícula seminal, pene y gónadas) y femeninos (vulva, oviducto paleal y gónadas).



Figura 14. (A) Observación de las características sexuales del espécimen en el estereoscopio. (B) Gónada femenina, apreciación de los óvulos.

Fase IV – Medición de la longitud del pene de machos y hembras afectadas: En el estereoscopio se identificó el pene localizado en el extremo derecho inferior del tentáculo derecho del espécimen. Luego, el pene extendido era medido sobre papel milimetrado registrando la medida en la tabla de datos (ver Figura 15, el recuadro muestra el tamaño del pene de la hembra imposexada).



*Figura 15.* Medición del Largo del Pene de una hembra mediante el uso del papel milimetrado, observar el pene en el recuadro.

## CAPÍTULO IV: ANÁLISIS DE RESULTADOS

La presente sección expone y analiza los resultados de la prevalencia e incidencia del fenómeno de imposex (I% y RPLI%, respectivamente), obtenidos del muestreo en 5 puntos dentro del Golfo de Guayaquil. El muestro realizado entre los meses de junio del 2012 hasta febrero del presente año (2013) obtuvo un total de 272 individuos recolectados, comprendidos en 4 especies del género *Thais*, familia *Muricidae*: *Thais kiosquiformis*, *Thais biserialis*, *Thais brevidentata* y *Thais melones* (ver Tabla 3). De los 272 especímenes colectados 90 son de la especie *Thais kiosquiformis*, 116 de *T. biserialis*, 60 de *T. brevidentata*, y 6 son *T. melones*. Los rangos del tamaño de la concha observados en las poblaciones de *T. kiosquiformis*, *T. biserialis* y *T. brevidentata* son de 30,10 mm a 52,89 mm, 24 mm a 52,60 mm, y 21,66 mm a 36,94 mm, respectivamente.

Tabla 3. Resultados obtenidos de las especies *T. kiosquiformis*, *T. biserialis*, *T. brevidentata*, y *T. melones* en los cinco puntos de muestreo dentro y en las áreas de influencia del Golfo de Guayaquil. Tamaño de la muestra (n), proporción de sexos (♂/♀) tamaño de la concha (LC; ápice hasta canal sifonal), índices de imposex: prevalencia (I%), incidencia (RPLI, FPLI), Sd (desviación estándar)

SITIO	n	♂/♀	LC ± SD (mm)	I%	RPLI %	FPLI ± SD
<b><u>Guayaquil</u></b>						
<i>T. kiosquiformis</i>	30	13/17	42,85 ± 5,43	94	9,9	1,48 ± 2,00
<b><u>Posorja</u></b>						
<i>T. kiosquiformis</i>	30	12/18	34,26 ± 3,52	100,00	5,7	0,26 ± 0,48
<i>T. biserialis</i>	30	10/20	34,10 ± 3,73	100,00	55,5	2,44 ± 2,35
<b><u>Isla Puna</u></b>						

<i>T. biserialis</i>	30	8/22	32,54 ± 5,07	32,00	27,0	1,18 ± 1,79
<i>T. brevidentata</i>	30	11/19	27,18 ± 1,49	16	14,5	0,58 ± 1,39
<b><u>Puerto Bolívar</u></b>						
<i>T. kiosquiformis</i>	30	15/15	40,87 ± 3,71	100,00	21,8	3,20 ± 1,42
<i>T. biserialis</i>	26	11/15	40,73 ± 4,68	100,00	15,6	2,21 ± 1,68
<b><u>Playas</u></b>						
<i>T. biserialis</i>	30	2/28	28,08 ± 2,17	32,00	29,4	1,30 ± 2,16
<i>T. brevidentata</i>	30	2/28	25,85 ± 3,86	0,00	0,0	0,00
<i>T. melones</i>	6	2/4	24,00 ± 5,25	0,00	0,0	0,00

#### 4.1. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA POR FACTOR SALINIDAD

La distribución de las especies dentro del Golfo de Guayaquil (ver Figura 16) fue limitada por la salinidad de la zona, donde la especie *T. brevidentata* estuvo en los puntos de mayor influencia de corrientes marinas (30 ups y 34% ups, Puna y Playas, respectivamente) y la especie *T. melones* se halló en el punto Playas, por otro lado, la especie *T. kiosquiformis* se encontró en los puntos con una mayor influencia de aguas estuarinas (16%, 24%, y 28% ups, Guayaquil, Posorja, y Puerto Bolívar, respectivamente). Finalmente, la especie *T. biserialis* estuvo presente en ambientes de baja y alta salinidad, siendo la de mayor presencia en los puntos de muestreo (Posorja, Puerto Bolívar, Playas e Isla Puna). Desde el punto de vista de biomonitorio, la especie *Thais biserialis* fue la especie de mayor representatividad dentro del género.

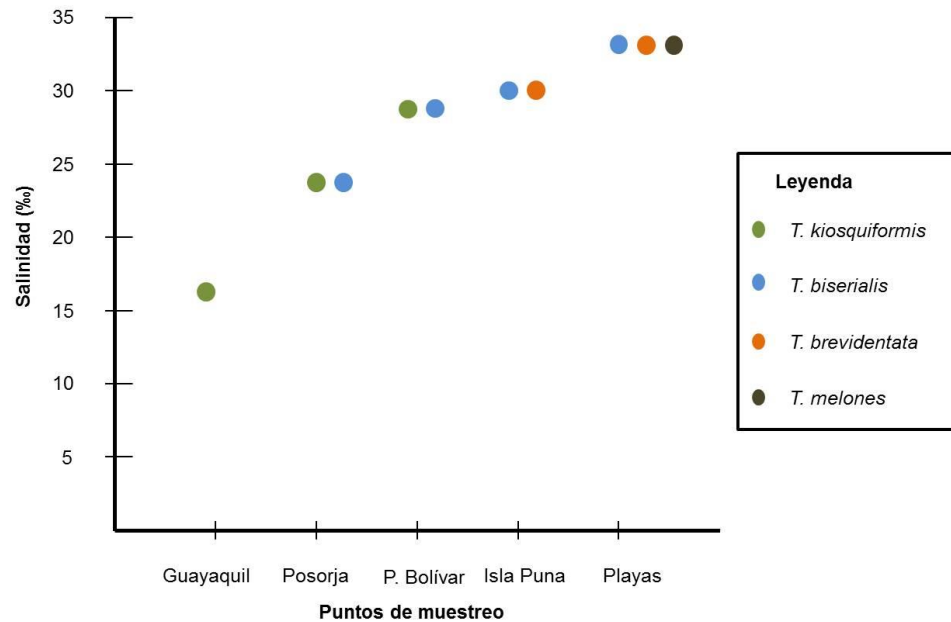


Figura 16. Distribución geográfica de las especies en el área de estudio por la salinidad. Guayaquil (16% ups), Puerto Bolívar (28% ups), Posorja (24% ups), Isla Puna (30% ups), Playas (34% ups).

Las cuatro especie (*T. kiosquiformis*, *T. brevidentata*, *T. melones* y *T. biserialis*) halladas en el muestreo, no estuvieron presentes en todos los puntos de colecta, la especie *T. biserialis* estuvo en 4 de los 5 puntos (ver Figura 16). La especie *T. kiosquiformis* se encuentra en ambientes con una salinidad de 5 a 30% ups, en mayor medida en ecosistemas de mangle (Koch, 1996), sin embargo en el presente estudio fue hallada en salinidades que oscilaron entre 16 a 28, probablemente no fue encontrada en el punto Isla Puna (30% ups) debido a la ausencia de mangle, ecosistema preferente de la especie.

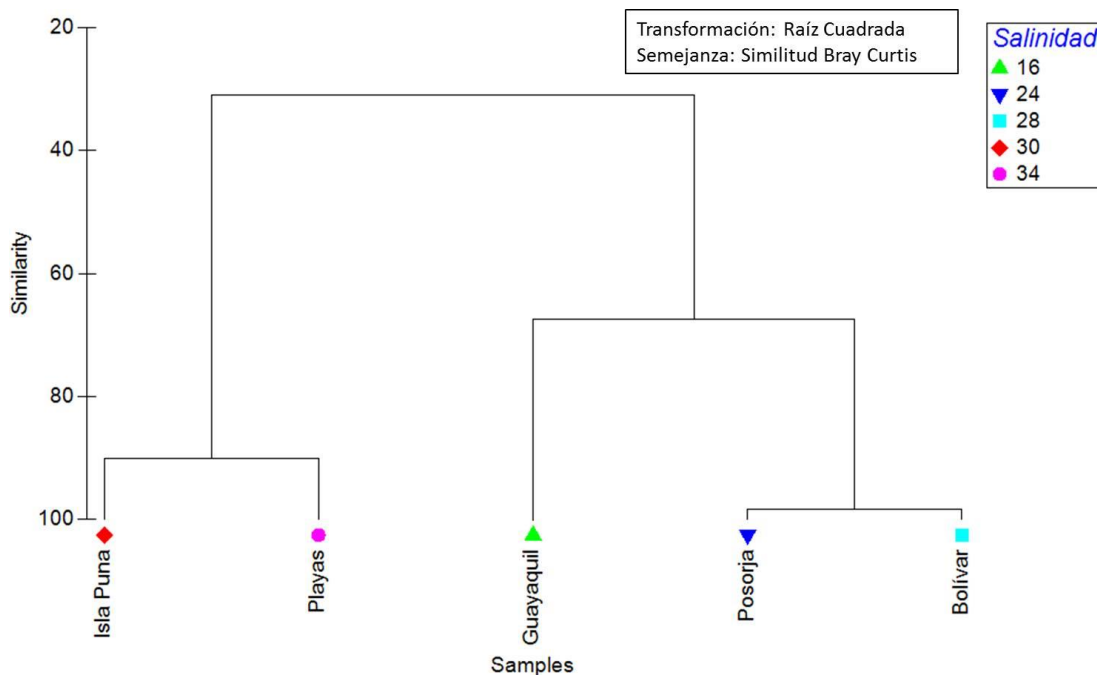


Figura 17. CLUSTER de la distribución de las especies del género *Thais* en los puntos de muestreo relacionadas por el factor salinidad.

La figura 17 agrupa los puntos de muestreo según el grado de similitud que existió entre ellos. Es evidente la relación de los puntos por las especies halladas y grado de salinidad, donde los puntos Posorja, Guayaquil y Puerto Bolívar estaban caracterizados por las mismas especies, por otro lado los dos puntos restantes presentaron la dominancia de la especie *T. brevidentata*. Probablemente la ausencia o presencia de las especies en los puntos se debió a las concentraciones de salinidad, como se observa en la figura 16.

#### 4.2. PREVALENCIA E INCIDENCIA DE IMPOSEX

Acorde a Castro (2011), Rodríguez (2008), Rees (2001) zonas cercanas o de influencia a actividades portuarias muestran mayor grado de afectación de imposex en los neogasterópodos. Adicional actividades portuarias dentro o en el área de influencia de ecosistemas estuarinos (ej.

Golfo de Guayaquil) potencializan la contaminación por TBT, que puertos en mar abierto (Rodríguez, 2008). Los resultados (ver Figura 18) corroboran las premisas anteriores, al presentar mayor prevalencia del fenómeno en los puntos cercanos a los puertos marítimos en las zonas internas del Golfo de Guayaquil (Posorja, Guayaquil, Puerto Bolívar).

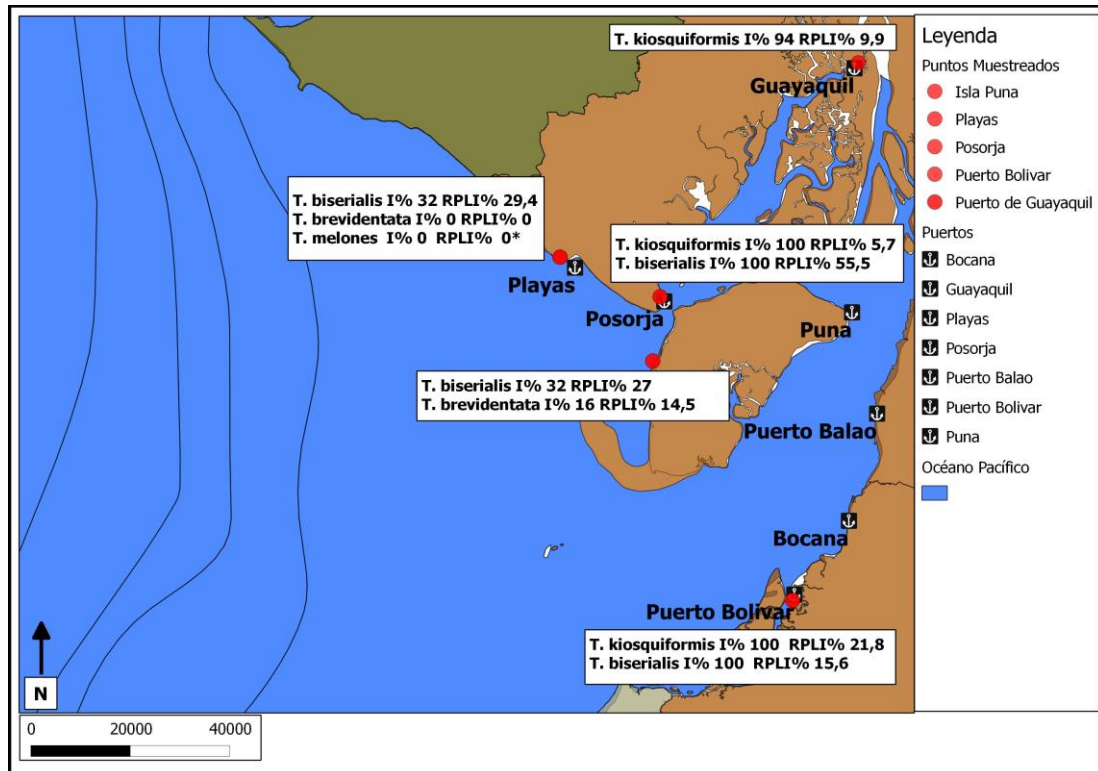


Figura 18. Mapa de las estaciones de muestreo con los resultados de prevalencia (I%) e incidencia (RPLI%) del fenómeno de imposex y los puertos marítimos del Golfo de Guayaquil.

La especie *Thais kioskiformis* fue registrada en 3 de los 5 puntos de recolecta (Guayaquil, Posorja y Puerto Bolívar) presentando el 100% de las hembras el fenómeno de imposex (I%), en 2 de los puntos (Posorja y Puerto Bolívar) y 94% en el punto faltante. El índice RPLI (ver Figura 19) en las tres estaciones de muestreo presentaron valores relativamente bajos (Guayaquil



9,9, Posorja 5,7, Puerto Bolívar 21,8). El índice representa el grado o magnitud del fenómeno de imposex (Rees, 2001; Rodríguez, 2008).

Los altos porcentajes de prevalencia del fenómeno de imposex en la especie, es debido principalmente por la alta actividad portuaria de las zonas de muestreo caracterizado por puertos para barcos de gran calado en el caso de Guayaquil y Puerto Bolívar, en el caso de Posorja presenta un puerto pesquero grande y puerto pesquero artesanal. Más las características propias de ecosistemas estuarinos que magnifican la posible contaminación de tributil de estaño en dichos ecosistemas.

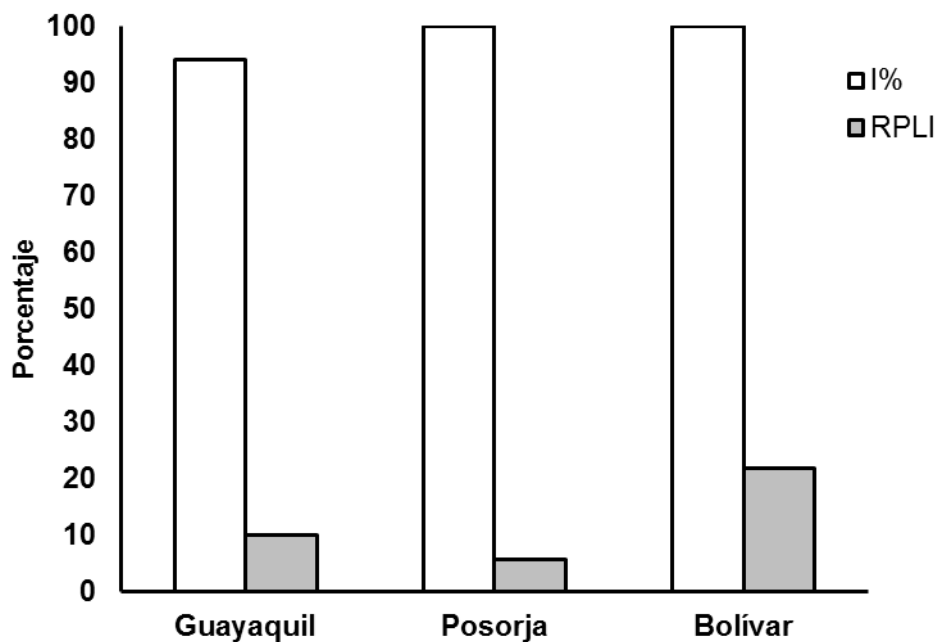


Figura 19. Porcentaje de hembras afectadas por el fenómeno de imposex e Índice Relativo al Largo del Pene (RPLI) en la especie *Thais kiosquiformis*.

Los resultados de la especie *Thais biserialis* representa la mayor parte del área de estudio, debido a su presencia en los 4 puntos (ver Figura 18), donde en todos demuestra porcentaje de prevalencia de imposex. Los puntos que reciben mayor influencia del ecosistema estuarino (Puerto Bolívar

y Posorja) y mayor tráfico naviero presentan porcentajes de 100%, mientras que los puntos localizados en mar abierto y con puertos turísticos y/o artesanales tienen valores de 32%, siguiendo la tendencia de los resultados de la especie *T. kiosquiformis*.

La incidencia del fenómeno de imposex en la especie *T. biserialis* no presentó una correlación con la tráfico naviero de los puntos de muestreo, debido a la diferencia de los valores en los puntos Playas e Isla Puna (29,4% y 27%, respectivamente) en contraste al punto Puerto Bolívar (15,7%), siendo el punto Bolívar de mayor tráfico naviero (ver Figura 20). Por otro lado, el punto Posorja fue el mayor valor de incidencia dentro del Golfo de Guayaquil.

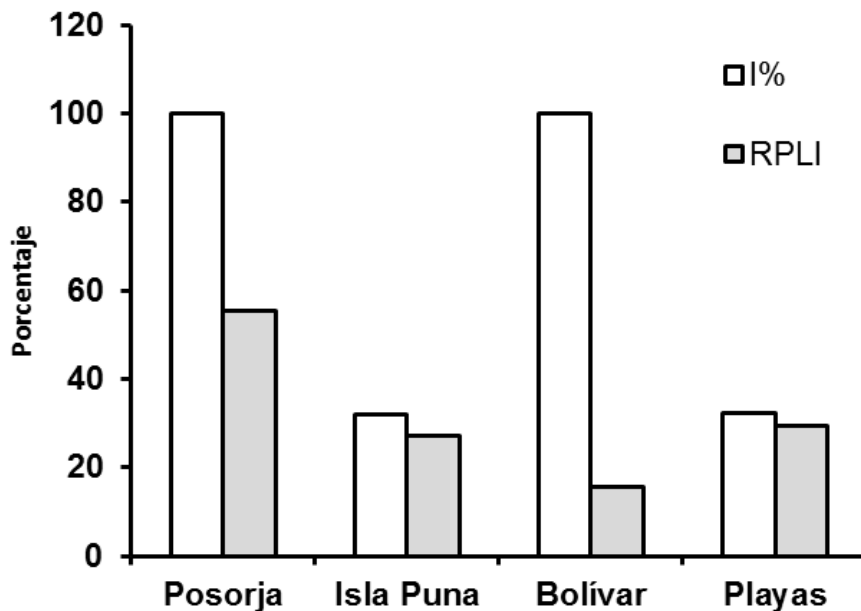


Figura 20. Porcentaje de hembras afectadas por el fenómeno de imposex e Índice Relativo al Largo del Pene (RPLI) en la especie *Thais biserialis*.

*Thais brevidentata* estuvo en los puntos más alejados del Golfo de Guayaquil y de mayor salinidad, presentado imposex solo en Puna (16% de casos de hembras afectadas) y un índice de RPLI de 14,5% (ver Figura 21).

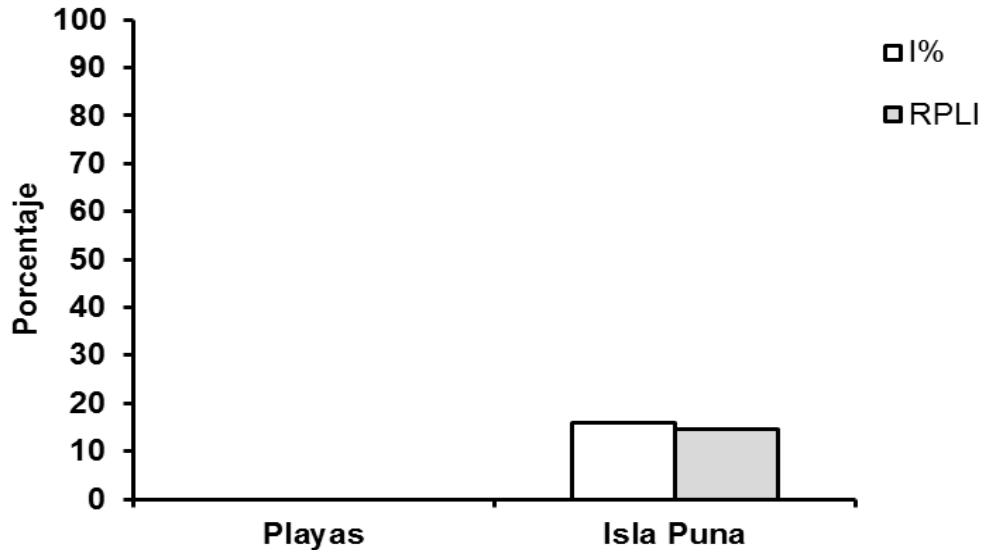


Figura 21. Porcentaje de hembras afectadas por el fenómeno de imposex e Índice Relativo al Largo del Pene (RPLI) en la especie *Thais brevidentata*.

La especie *T. melones* fue hallada en Playas únicamente, sin presentar anomalías sexuales en ninguna de las hembras, sin embargo el número de especímenes colectados de 6, no fue representativo para estimar el estado de la población.

#### 4.3. ÍNDICE RPLI

Las especies obtuvieron valores de RPLI en un rango de 5,7 a 55% (ver Figura 18). En el caso de los puntos de Puerto Bolívar y Guayaquil localizados en zonas cercanas a los puertos de Guayaquil (2.480 m aprox. al oeste del punto.) y Puerto Bolívar (113 m aprox. al norte del punto), presentaron valores de 21,8% y 9,9% (*T. kiosquiformis*) y 15,6% (*T.*

*biserialis*). Por otro lado el punto Puna caracterizado por un puerto pesquero comunal, donde el valor fue de 27% y 14,5% (*T. biserialis* y *T. brevidentata*, respectivamente), por lo tanto los resultados de incidencia mayoritariamente no presentaron una correlación con el tráfico naviero característico de cada punto.

Acorde al estudio de Vasconcelos (2010) de imposex en la especie *Bolinus brandaris* (familia Muricidae) existe una variación temporal del tamaño del pene de los machos (variable directa del índice RPLI) relacionado al ciclo reproductivo, aumentando de tamaño en la temporada de copulación y un efecto contrario en temporadas post-copulación. Por lo cual, la variabilidad del índice de RPLI en el estudio puede ser afectado por dicho fenómeno al obtener las muestras en distintos meses, mostrando valores mayores en puntos como Playas en comparación al punto Puerto Bolívar (*T. biserialis*). Adicional, es importante considerar la sensibilidad al TBT de las especies, debido a la variabilidad de respuesta del desarrollo del largo del pene de las especies a distintas concentraciones del compuesto tributil de estaño, siendo algunas especies más sensibles presentando mayores valores del índice RPLI a las mismas concentraciones de TBT que otras especies. Por lo tanto, es crucial determinar la variación mensual del tamaño del pene del macho para realizar comparaciones de tipo espacial y temporal del grado de severidad o incidencia del fenómeno de imposex.

#### **4.4. SENSIBILIDAD RELATIVA A LA EXPOSICIÓN DE TBT**

Es crucial para programas y/o estudios de biomonitorio utilizar varias especies para abarcar una mayor área geográfica y distintos ecosistemas, no obstante es mandatorio conocer la sensibilidad relativa de las especies al fenómeno para la correcta evaluación y análisis de los datos obtenidos. El

estudio obtuvo por lo menos 2 especies en 4 (Playas, Posorja, Isla Puna y Puerto Bolívar) de las 5 estaciones de muestreo.

La apreciación preliminar de la sensibilidad relativa de las especies al fenómeno de imposex fue alcanzada en la investigación, mediante los niveles de RPLI y FPLI (ver Figura 22) basándose en la suposición que todos los organismos fueron expuestos de igual manera a compuestos organoestánicos. Suposición aplicada por Castro (2011) en el estudio "Butyltin Compounds and Imposex Levels in Ecuador". Los resultados (ver Figura 22) indican que la especie *Thais biserialis* es la más sensible a la exposición al TBT, seguida por las especies *Thais kiosquiformis* y *Thais brevidentata*. Considerando las ventajas de los moluscos como bioindicadores (Ramírez, 2009), las especies *Thais biserialis* y *Thais kiosquiformis* probablemente son las mejores para próximos estudios dentro del Golfo de Guayaquil por su sensibilidad a compuestos organoestánicos y su distribución. Sin embargo, los resultados son datos preliminares debido a que son basados en un análisis puntual, por lo cual estudios de bioacumulación y respuestas fisiológicas de las especies deben realizarse.

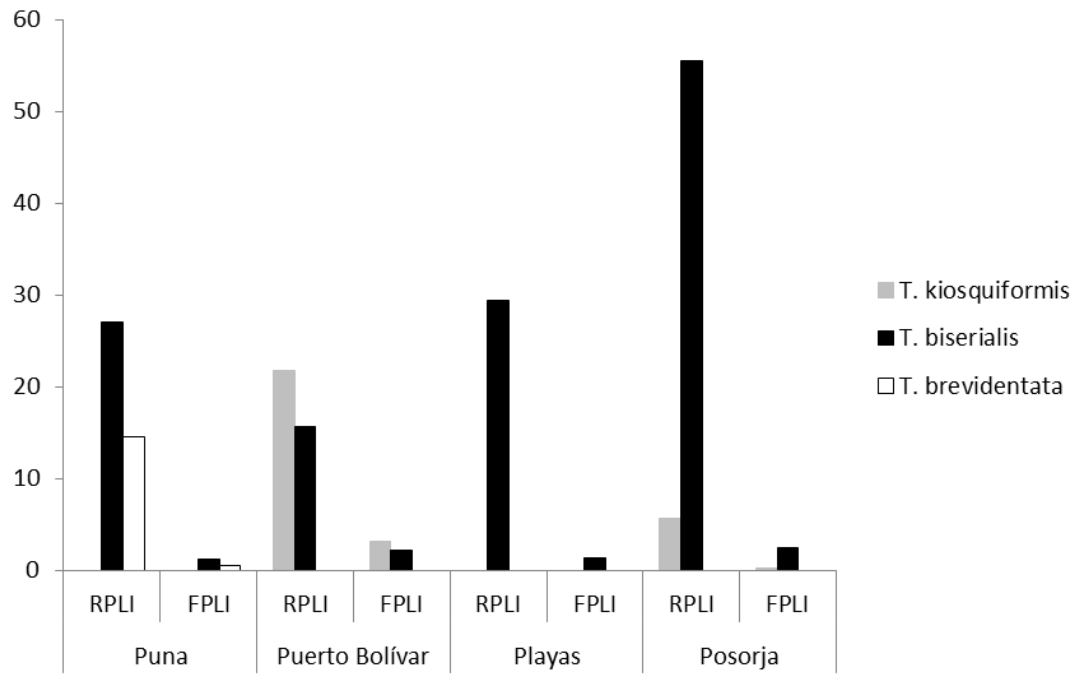


Figura 22. Análisis comparativo de los índices RPLI y FPLI en las especies *T. kiosquiformis*, *T. biserialis* y *T. brevidentata*.

## CONCLUSIONES

Las manifestaciones de disrupción endocrina en gasterópodos sensibles al contaminante TBT son el desarrollo de caracteres masculinos (pene, y/o vaso deferente) en hembras, presentando una relación al contaminante de dosis-respuesta. Dicha característica provoca que en poblaciones de gasterópodos sensibles al contaminante TBT que se localicen en sitios con alto grado de contaminación, presenten riesgos de extinción local, por la esterilización de las hembras imposexadas debido a los efectos del fenómeno de imposex.

Todos los puntos de muestreo en el Golfo de Guayaquil se encontraron en la cercanía de puertos marítimos de abundante tráfico naviero, donde fueron hallados de 1 a 3 especies del género *Thais* por punto, las especies halladas en el Golfo de Guayaquil fueron: *Thais kiosquiiformis*, *Thais biserialis*, *Thais brevidentata* y *Thais melones*; exceptuando el balneario de Playas que es un espacio más abierto al mar y con embarcaciones de pesca artesanal.

La especie *Thais biserialis* tuvo fue la de mayor representatividad dentro del Golfo de Guayaquil, al presentarse en 4 de los 5 sitios muestreados. Importante considerar de que el único punto en donde no fue colectada (Puerto de Guayaquil) fue debido a la salinidad baja de 16 ups.

La prevalencia e incidencia del fenómeno imposex fue observado en las especies: *Thais kiosquiiformis*, *Thais biserialis* y *Thais brevidentata*

(considerar que la sp *Thais melones* no cumplió el número de especímenes necesario en la muestra para generalizar a toda la población en el sitio), el rango de prevalencia del fenómeno (I%) fue de 32% a 100% y el rango de incidencia fue 5,7% a 55,5% (RPLI).

La salinidad fue un factor que incidió en la ausencia o presencia de las especies en los sitios de muestreo dentro del Golfo de Guayaquil, encontrándose la especie *Thais kiosquiformis* en lugares de menor salinidad con mayor incidencia de aguas estuarinas. Por otro lado, las especies *Thais brevidentata* y *Thais melones* estuvieron relacionados con aguas marinas de salinidades mayores a 33 ups.

Los más altos valores de prevalencia del fenómeno estuvieron en los puntos Guayaquil, Posorja y Puerto Bolívar (94%, 100% y 100%, respectivamente), los cuales se localizaban en zonas navieras de abundante tráfico mercante como es el caso, de los puertos de Guayaquil y Puerto Bolívar que representan el 73% del movimiento de naves de tráfico internacional en puertos públicos del Ecuador de un total de 2.379 barcos en el 2011 (Subsecretaría de Puertos y Transporte Marítimo y Fluvial, 2011). En contraste los valores más bajos fueron determinados en los puntos Playas e Isla Puna, los mismos que estaban relacionados a puertos pesqueros artesanales y/o turísticos.

La incidencia del fenómeno medida a través del RPLI para cada especie no presentó un patrón relacionado a la prevalencia de imposex (I%), debido a la variabilidad de los resultados entre los puntos de muestreo en cada especie. Esto se debe a que el valor del indicador RPLI se ve influenciado por las estación de madurez de cada especie. Por tales razones, el índice RPLI fue una evaluación puntual del sitio de muestreo, sin realizar



un análisis comparativo de las muestras, a diferencia de la prevalencia del fenómeno.

Dentro de las especies encontradas, la que presentó una mayor sensibilidad relativa ante el contaminante TBT fue *Thais biserialis* al presentar los valores más altos de los índices RPLI y FPLI en la mayoría de los puntos muestreados donde se encontraron como mínimo 2 especies y pudo realizarse la comparación, seguida por la especie *Thais kiosquiformis* y *Thais brevidentata*.

El estudio de monitoreo del fenómeno imposex es factible económicamente debido a que la metodología de procesamiento y análisis de muestras no necesita de mayores recursos en cuanto a equipamiento ni logística, los mayores gastos fueron los correspondiente a los traslados y la logística dentro de los puntos ubicados en el Golfo de Guayaquil.

El estado ecuatoriano no forma parte de los países asignatarios al convenio Internacional sobre el Control de los Sistemas Antiincrustantes Perjudiciales en los Buques (AFS, por sus singlas en inglés), el cual prohíbe el uso de pinturas antiincrustantes en base al tributílo de estaño, sin embargo el Parque Nacional Galápagos presentó una iniciativa de control de la contaminación por TBT al desarrollar la normativa pertinente para la prohibición de trazas de estaño, plomo u cualquier elemento perjudicial al ambiente en las pinturas antiincrustantes aplicadas en los cascos de los barcos.

Los resultados hallados corroboran la hipótesis del presente estudio (Los puertos y sitios de abundante tráfico naviero en el Golfo de Guayaquil mantienen prevalencia e incidencia del fenómeno de imposex en los organismos del género *Thais*, familia *Muricidae*), acontecimiento dado

posiblemente por el desconocimiento de las características perjudiciales de las pinturas antiincrustantes en base al TBT y/o por la ausencia de un marco regulador estatal, lo cual permite el libre acceso y uso de las pinturas en la flota naviera ecuatoriana.

## RECOMENDACIONES

Las recomendaciones para el presente trabajo fueron elaboradas sobre la base del cumplimiento de los objetivos específicos de la investigación, haciendo énfasis en aspectos a tener en consideración para próximos estudios que generen mayor conocimiento en relación al comportamiento de los organismos al contaminante y de la dinámica del contaminante en el medio natural. A continuación se presentan las más relevantes:

Profundizar en el estudio del comportamiento fisiológico de los gasterópodos sensibles ante el TBT y de la dinámica del contaminante en el medio marino y costero, mediante la revisión de trabajos en revistas científicas especializadas en contaminación marina-costera, bioindicadores marinos, disruptores endocrinos.

Estandarizar una metodología para la medición del largo del pene de los especímenes en laboratorio y posterior estimación de los índices de incidencia del imposex.

Realizar un estudio de la variación estacional del tamaño del pene en las especies del género *Thais*, familia *Muricidae*, con la idea de planificar de la mejor manera los momentos de muestreo y poder realizar comparaciones de sensibilidad relativa entre especies y correlación entre índices de imposex.

Realizar estudios de reacción dosis - respuesta en las especies siendo expuestas a distintas concentraciones de TBT, con la finalidad de conocer los niveles específicos que generan los distintos grados de afectación de imposex. Incluir variables física y químicas del entorno.

Utilizar metodologías de análisis de muestra “no destructiva” durante el sexado y medición de estructuras características de la manifestación del imposex.

Adherirse al convenio internacional Control de los Sistemas Antiincrustantes Perjudiciales en los Buques (AFS, por sus singlas en inglés).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez, L. (2005). *Metodología para la evaluación de los macroinvertebrados acuáticos como indicadores de los recursos hidrobiológicos*. Instituto Alexander Von Humboldt. Medellín, Colombia. En <http://www.humboldt.org.co/download/andes/IAVH-00624.pdf>.
- ATSDR. (2005). *Estaño y Compuestos de Estaño*. Departamento de Salud y Servicios Humanos. División de Toxicología. Atlanta, EE.UU. [http://www2.udec.cl/matpel/toxfaq\\_espanol/ESTANO.pdf](http://www2.udec.cl/matpel/toxfaq_espanol/ESTANO.pdf)
- Barnes, R. (1989). "Los Moluscos". *Zoología de los Invertebrados*. Nueva Editorial Interamericana McGraw-Hill. Quinta Edición. México. Pp. 369-423.
- Blackmore, G. (2000). *Imposex in Thais clavigera (Neogastropoda) as Indicator of TBT (Tributyltin) Bioavailability in Coastal Waters of Hong Kong*. Journal of Molluscan Studies. Vol. 66, Pp. 1-8. China. En <http://mollus.oxfordjournals.org/content/66/1/1.full>.
- Castro, I. Arroyo, M. Gomes, P. Fillmann, G. (2011). *Butylin Compounds and Imposex Levels in Ecuador*. Arch Environ Contam Toxicol Journal, Vol. 62, Pp. 68-77. Ecuador. En <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00244-011-9670-2?LI=true>.
- Castro, I. Perina, F & Fillmann, G. (2012). *Organotin Contamination on South American Coastal Areas*. Environmental Monitoring Assessment Journal, Vol. 184, Pp. 1781 – 1799. En <http://link.springer.com/article/10.1007/s10661-011-2078-7>.

- Cruz, M. (1992). *Estado Actual del Recurso Malacológico (Bivalvos y Gasterópodos) de la Zona Infralitoral del Golfo de Guayaquil*. Acta Oceanográfica del Pacífico, Vol. 7. N°1. Ecuador. En [www.inocar.mil.ec/download.php?uniqid=266&t=&id\\_exists=1](http://www.inocar.mil.ec/download.php?uniqid=266&t=&id_exists=1).
- Dirección Parque Nacional Galápagos. (2013). *Resolución 050: Estándares Ambientales para la Operación de Embarcaciones en la Reserva Marina Galápagos*. Ministerio del Ambiente. Ecuador. En [http://www.galapagospark.org/documentos/resoluciones/2013/Resolucion\\_0050\\_22052013\\_Estandares\\_ambientales\\_embarcaciones\\_RMG.pdf](http://www.galapagospark.org/documentos/resoluciones/2013/Resolucion_0050_22052013_Estandares_ambientales_embarcaciones_RMG.pdf).
- Dobson, S. Cabridenc, D. (1990). *Tributyltin Compounds*. World Health Organization, Environmental Health Criteria; 116. Geneva, Suiza. [http://whqlibdoc.who.int/ehc/WHO\\_EHC\\_116\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/ehc/WHO_EHC_116_eng.pdf).
- EPA. (2003). *Ambient Aquatic Life Water Quality Criteria for Tributyltin (TBT) – Final*. United States Environmental Protection Agency, Office of Water, CAS register number. EE.UU. En [http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/aqlife/tributyltin/upload/2004\\_01\\_05\\_criteria\\_tributyltin\\_tbt-final.pdf](http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/aqlife/tributyltin/upload/2004_01_05_criteria_tributyltin_tbt-final.pdf)
- Fischer, W. Krupp, F. Schneider, W. Sommer, C. Carpenter, K & Niem, V. (1995). “Gasterópodos”. *Guía para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca. Pacífico centro-oriental. Volumen I: Plantas e Invertebrados*. FAO. Roma. Pp. 223 – 297.
- Frocelli, D. (2000). *Guía de los Moluscos de la Patagonia y del Sur de Chile Parte I*. Editorial Vazquez Mazzini, 987-43-1565-2. Chile. En [http://www.neuquen.gov.ar/ma/site\\_02/f\\_f/libros/molusco.pdf](http://www.neuquen.gov.ar/ma/site_02/f_f/libros/molusco.pdf).
- Fujinaga, K. Silano, A. Nomura, H. Miranda, R. Nakao, S. (2006). *Present state of imposex in neptune whelk Neptunea arthritica inhabiting*

- shallow waters around Hokkaido, Japan*. Fisheries Science, Vol. 72: 995-1003. Japan. En [http://www.cienaustral.cl/wp-content/uploads/2011/11/rmiranda\\_fs2.pdf](http://www.cienaustral.cl/wp-content/uploads/2011/11/rmiranda_fs2.pdf)
- Gamboa, M. Reyes, R. & Arrivillaga, J. (2008). *Macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores de salud ambiental*. Boletín de Malariología y Salud Ambiental, Vol. 48, No. 2. Venezuela. En <http://www.bo.usb.ve/profesores/rreyes/macroinvertebrados.pdf>.
- González, L. (2005). *Guía ilustrada de los gasterópodos marinos de la Bahía de Tenacatita, Jalisco, México*. Revista Scientia Cucba, Vol. 7. No. 1. Universidad de Guadalajara, México. En [http://www.cucba.udg.mx/sites/default/files/scientia\\_cucba\\_pdf/scientia\\_2.pdf](http://www.cucba.udg.mx/sites/default/files/scientia_cucba_pdf/scientia_2.pdf).
- Gravel, P. Johanning, K. McLachlan, J. Vargas, J & Oberdörster, E. (2006). *Imposex in the intertidal snail Thais brevidentata (Gastropoda: Muricidae) from the Pacific coast of Costa Rica*. Revista de Biología Tropical, Vol. 54, N° 1, Pp. 21 – 26. Costa Rica. En <http://www.latindex.ucr.ac.cr/rbt024-02.php>.
- Guzmán, N. Saá, S & Ortlieb, L. (1998). *Catálogo Descriptivo de los Moluscos Litorales (Gasterópoda y Pelecypoda) de la Zona de Antofagasta, 23° Chile*. Editorial Estudios Oceanológicos, Vol. 17, Pp. 17 - 86. Antofagasta, Chile. En [http://www.uantof.cl/recursos\\_mar/pdf/vol17/vol17\\_17.pdf](http://www.uantof.cl/recursos_mar/pdf/vol17/vol17_17.pdf).
- Harding, M. Davies, I. Bailey, S. & Rodger, G. (1999). *Survey of Imposex in Dogwhelks (Nucella lapillus) from North Sea Coasts*. Applied Organometallic Chemistry Journal, Vol. 13, Pp. 521 – 538. FRS Marine Laboratory. Scotland, UK. [http://www.researchgate.net/publication/230373602\\_Survey\\_of\\_imposex\\_in\\_dogwhelks\\_\(Nucella\\_lapillus\)\\_from\\_North\\_Sea\\_coasts](http://www.researchgate.net/publication/230373602_Survey_of_imposex_in_dogwhelks_(Nucella_lapillus)_from_North_Sea_coasts)
- Klinger, W. & Obando, N. (2009). *Estado de los Ecosistemas de Manglar*. Revista Bioetnia, Vol. 6 N° 2. Pp. 103- 109. En

<http://iiap.org.co/revistas/BIOETNIA%20Voumen%206%20N%C2%B02,%20Julio-Diciembre%202009.pdf>

- Koch, V & Wolff, M. (1996). *The Mangrove Snails Thais Kiosquiformis Duclos: A Case of Life History Adaptation to an Extreme Environment*. Journal of Shellfish Research, Vol. 15. N° 2. Pp. 421 – 432. Alemania. En <http://www.biodiversitylibrary.org/pdf2/002467400022068.pdf>.
- Lahbib, Y. Abidli, S. Chiffolleau, J. Averty, B & El Menif, N. (2010). *Imposex and butyltin concentrations in snails from the lagoon of Bizerta (Northern Tunisia)*. Marine Biological Research, Vol. 6, N° 6, Pp. 600 – 607. Túnez. En <http://www.tandf.co.uk/journals/>.
- LeBlanc, G. Gooding, M & Sternberg, R. (2005). *Testosterone-Fatty Acid Esterification: A Unique Target for the Endocrine Toxicity of Tributyltin to Gastropods*. Integrative and Comparative Biology Journal, Vol. 45, N° 1, Pp. 81-87. EE.UU. En <http://www.bioone.org/doi/pdf/10.1093/icb/45.1.81>.
- López, A & Urcuyo, J. (2009). *Moluscos de Nicaragua II: Gasterópodos*. Ministerio del Ambiente y Los Recursos Naturales (MARENA) – ARAUCARIA – AECID. Nicaragua. En [http://www.aecid.org.ni/files/doc/1266521822\\_Moluscos%20Nicaragua.%20Gastr%C3%B3podos.pdf](http://www.aecid.org.ni/files/doc/1266521822_Moluscos%20Nicaragua.%20Gastr%C3%B3podos.pdf).
- Marigómez, I. Garmendia, L. Soto, M. Orbea, A. Izagirre, U & Cajaraville, M. (2013). *Marine ecosystem health status assessment through integrative biomarkers índices: a comparative study after the Prestige oil spill “Mussel Watch”*. Ecotoxicology Journal, N° 22, Pp. 486-505. España. En <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10646-013-1042-4.pdf>.
- Matthiessen, P & Gibbs, P. (1998). *Critical Appraisal of the Evidence for Tributyltin- Mediated Endocrine Disruption in Mollusk*. Environmental Toxicology and Chemistry Journal, Vol. 17, N°1, Pp. 37-43. EE.UU. En <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/etc.5620170106/full>.



- Matthiessen, P. (2008). *An Assessment of Endocrine Disruption in Mollusks and the Potential for Developing Internationally Standardized Mollusk Life Cycle Test Guidelines*. Integrated Environmental Assessment and Management Journal, Vol. 4, N°4, Pp. 274-284. Reino Unido. En [http://www.bioone.org/doi/full/10.1897/IEAM\\_2008-003.1](http://www.bioone.org/doi/full/10.1897/IEAM_2008-003.1).
- Morabito, R. Sonak, S. Bhosle, N. Chaudhury, R. Gipperth, L. Van Der Velde, G & Mukherjee, A. (2009). *TBT Impacts: Towards Improved management of organotin compounds*. The Energy and Resources Institute, European Comission. Tiswadi, Goa. En <http://www.teriin.org/teri-wr/projects/impactsnewsletter.pdf>
- Nfotabong, A. Din, N. Longonje, S. Koedam, N & Dahdouh-Guebas, F. (2009). *Commercial Activities and Subsistence Utilization of Mangrove Forest around the Wouri Estuary and the Douala-Edea Reserve (Cameroon)*. Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine, Vol. 5, N° 35, Pp. 1- 14. Cameron. En <http://link.springer.com/content/pdf/10.1186%2F1746-4269-5-35.pdf>.
- NOAA. (2012). *Marine Pollution: International Convention on the Control of Harmful Anti-Fouling Systems on Ships, 2001*. NOAA Office of the General Counsel. U.S Department of Commerce. U.S.A. En [http://www.gc.noaa.gov/gcil\\_mp\\_antifouling.html](http://www.gc.noaa.gov/gcil_mp_antifouling.html)
- Oehlmann, J. Di Benedetto, P. Tillmann, M. Duft, M. Oetken, M & Schulte-Oehlmann, U. (2007). *Endocrine disruption in prosobranch molluscs: evidence and ecological relevance*. Ecotoxicology Journal, Vol. 16, Pp. 29-43. Alemania. En <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs10646-006-0109-x.pdf>.
- OMI. (1999). *Sistemas Antiincrustantes: hacia una solución no tóxica*. Organización Marítima Internacional. Londres, Inglaterra. [http://www.imo.org/blast/blastDataHelper.asp?data\\_id=2319&filename=Antifoulingspanish.pdf](http://www.imo.org/blast/blastDataHelper.asp?data_id=2319&filename=Antifoulingspanish.pdf)

- OMI. (2012). *La Contribución de la OMI al Desarrollo Marítimo Sostenible. Organización Marítima Internacional*. Londres, Inglaterra. En <http://www.imo.org/OurWork/TechnicalCooperation/documents/brochure/spanish.pdf>
- OMI. (2013). *Status of multilateral Conventions and instruments in respect of which the International Maritime Organization or its Secretary-General performs depositary or other functions. Sustainable Development: IMO's Contribution Beyond RIO+20*. En <http://www.imo.org/About/Conventions/StatusOfConventions/Documents/Status%20-%202013.pdf>.
- Radke, B. Staniszevska, M. Wasik, A. Namiesnik, J. Bolalek, J. (2008). *Organotin Compounds in Marine Sediments*. Journal of Environmental Studies, Vol. 17, No. 5, Pp. 643 – 654. Polonia. <http://www.pjoes.com/pdf/17.5/643-654.pdf>
- Ramírez, R. (2009). “Introducción General: 2. Moluscos como bioindicadores”. *Moluscos gasterópodos como bioindicadores en el Archipiélago Canario: de procesos naturales a causas antrópogenicas*. Tesis Doctoral. Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria, Universidad de las Palmas de Gran Canaria. Archipiélago Canario. En [acceda.ulpgc.es/bitstream/10553/3958/1/0598497\\_00000\\_0000.pdf](http://acceda.ulpgc.es/bitstream/10553/3958/1/0598497_00000_0000.pdf).
- Rees, C. Brady, B & Fabris, G. (2001). *Incidence of Imposex in Thais orbita from Port Phillip Bay (Victoria, Australia), Following 10 Years of Regulation on Use of TBT*. Marine Pollution Bulletin, Vol. 42, N° 10, Pp. 873 – 878. Australia. En <http://202.114.89.60/resource/pdf/1950.pdf>.
- Ribera, A. (2004). *Estructura y Composición de la Comunidad de Macroinvertebrados Bentónicos en Ríos de Páramo y Zonas Boscosas, en los Andes Venezolanos*. Trabajo Especial de Grado,

Licenciatura en Biología, Universidad de los Andes, Departamento de Biología. Mérida, Venezuela. En [http://tesis.ula.ve/pregrado/tde\\_arquivos/1/TDE20060921T04:22:30Z209/Publico/Regulo%20Rivera.pdf](http://tesis.ula.ve/pregrado/tde_arquivos/1/TDE20060921T04:22:30Z209/Publico/Regulo%20Rivera.pdf).

Rodríguez, J. Franco, J. Borja, A & Valencia, V. (2008). *Estudio de la Contaminación por TBT (Tributil de Estaño) en la Costa Vasca*. AZTI-Tecnalia, Departamento del Medio Ambiente y Ordenación del Territorio. Pp. 70. Eusko Jaurlaritza - Gobierno Vasco. En [http://www.uragentzia.euskadi.net/u81-0003/es/contenidos/informe\\_estudio/convenio\\_ura\\_azti/es\\_docu/adjuntos/ESTUDIO\\_DE\\_LA\\_CONTAMINACION\\_POR\\_TBT\\_COSTA\\_VASCA.pdf](http://www.uragentzia.euskadi.net/u81-0003/es/contenidos/informe_estudio/convenio_ura_azti/es_docu/adjuntos/ESTUDIO_DE_LA_CONTAMINACION_POR_TBT_COSTA_VASCA.pdf)

A.pdf

Sanchirico, J & Mumby, P. (2009). *Mapping ecosystem functions to the valuation of ecosystem services: implications of species-habitat associations for coastal land-use decisions*. Theoretical Ecological Journal, Vol. 2, Pp. 67 – 77. EE.UU. <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs12080-008-0034-0.pdf>.

Showalter, S. Savarese, J. (2005). *Restrictions on the Use of Marine Antifouling Paints Containing Tributyltin and Copper*. Sea Grant Law Center. California, EE.UU. En <http://nsglc.olemiss.edu/Advisory/Antifouling.pdf>

Sociedad Nacional de Minería, Petróleo y Energía. (2007). *La Lixiviación*. Informe Quincenal de la snmpe. Perú. En <http://www.snmpe.org.pe/informes-y-publicaciones-snmpe/informes-quincenales/sector-minero/la-lixivacion-publicado-agosto-2007.html>.

Souza, F & Ramos, C. (2011). *Ecological and Economic Valuation of the Potengi Estuary Mangrove Wetlands (NE, Brazil) Using Ancillary Spatial Data*. Journal of Coastal Conservation, Vol. 15, Pp. 195 – 206.

- Brasil. En <http://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs11852-010-0133-0.pdf>.
- Springer, M. (2010). *Biomonitoreo Acuático*. Revista Biología Tropical, Vol. 58, Pg. 53 – 59. Costa Rica. En <http://www.biologiatropical.ucr.ac.cr/attachments/suppls/sup58-4-macroinvertebrados/07-Springer-Monitoreo.pdf>.
- Subsecretaría de Puertos y Transportes Marítimos y Fluvial. (2011). *Boletín Estadístico Portuario Año 2011*. Ministerio de Transporte y Obras Públicas. Ecuador. [http://www.obraspublicas.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/09/SPTMF\\_Boletin\\_Estadistico2011.pdf](http://www.obraspublicas.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/09/SPTMF_Boletin_Estadistico2011.pdf).
- Tan, S. (2000). “Introduction”. *Species Checklist of Muricidae in the South China Sea*. The Raffles Bulletin of Zoology, Supplement No. 8, National University of Singapore. Singapur. En <http://rmbn.nus.edu.sg/rbz/biblio/s8/s08rbz495-512.pdf>.
- Tapia, J. (1994). *Incidencia: Concepto, Terminología y Análisis Dimensional*. Medicina Clínica, Vol. 103, Pp. 140 – 142. EE.UU. En <http://ferran.torres.name/edu/sp/download/articulos/incidencia.pdf>.
- Tapia, J. (1995). *Medidas de prevalencia y relación incidencia – prevalencia*. Medicina Clínica, Vol. 105, N° 6, Pp. 216 – 218. EE.UU. En <http://ferran.torres.name/edu/sp/download/articulos/prevalencia.pdf>.
- Valverde, T. Cano-Santana, Z. Meave, J & Carabias, J. (2005). “Conservación y Manejo de los Recursos Naturales de Nuestro Planeta. El Tránsito a un Desarrollo Sostenible”. *Ecología y Medio Ambiente*. Pearson Educación (1<sup>era</sup> ed.), Pp. 133-160. México.
- Vasconcelos, P. Moura, P. Barroso, C. Gaspar, M. (2010). *Size matters: importance of penis length variation on reproduction studies and imposex monitoring in *Bolinus brandaris* (Gastropoda: Muricidae)*. Springer Science + Business Media B.V, Vol. 661, Pg. 363 – 375.

<http://connection.ebscohost.com/c/articles/55613108/size-matters-importance-penis-length-variation-reproduction-studies-imposex-monitoring-bolinus-brandaris-gastropoda-muricidae>.

West, L (1988). *Prey Selection by the Tropical Snail Thais melons: A Study of Interindividual Variation*. Ecological Society of America Journal, Vol. 69, N° 6, Pp. 1839 – 1854. EE.UU. En <http://www.jstor.org/discover/10.2307/1941161?uid=3737912&uid=2134&uid=381101083&uid=2&uid=70&uid=3&uid=381101073&uid=60&purchaseType=article&accessType=none&sid=21102160910773&showMyJstorPss=false&seq=4&showAccess=false>.

## ANEXOS

Tabla 14. Resumen del movimiento de naves de tráfico internacional en Puertos Públicos

Puertos Públicos	Nº. Naves	%Participación
Autoridad Portuaria de Esmeraldas	287	12
Autoridad Portuaria de Manta	359	15
Autoridad Portuaria de Guayaquil	1.254	53
Autoridad Portuaria de Puerto Bolívar	479	20
<b>TOTAL</b>	<b>2.379</b>	<b>100</b>

Nota: Número en unidades, Boletín Estadístico Portuario Año: 2011. SPTMF. (2011).

Tabla 85. Autoridad Portuaria Guayaquil - Naves Arribadas de Tráfico Internacional Según su Calado.

	2004		2005		2006		2007		2008		2009		2010		2011	
Calado al Arribo (Metros)	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>Menor 8,2 M</b>	762	48	831	52	663	47	644	48	593	46	621	48	511	43	557	44
<b>Entre 8,21 y 9 M</b>	312	20	274	17	285	20	280	21	271	21	255	20	198	17	274	22
<b>Entre 9,01 y 9,76 M</b>	513	32	486	31	475	33	424	31	412	32	419	32	473	40	423	34
<b>Mayor a 9,77</b>	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	3	0	0	0
<b>TOTAL</b>	<b>1589</b>	<b>100</b>	<b>1591</b>	<b>100</b>	<b>1423</b>	<b>100</b>	<b>1348</b>	<b>100</b>	<b>1277</b>	<b>100</b>	<b>1296</b>	<b>100</b>	<b>1185</b>	<b>100</b>	<b>1254</b>	<b>100</b>

Nota: Número en unidades, Boletín Estadístico Portuario Año: 2011. SPTMF. (2011).

Tabla 107. Autoridad Portuaria Puerto Bolívar - Naves Arribadas de Tráfico Internacional Según su Calado.

	2004		2005		2006		2007		2008		2009		2010		2011	
Calado al Arribo (Metros)	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<b>Menor 8,2 M</b>	487	98	461	100	484	99	502	99	512	92	484	97	501	93	449	94

Entre 8,21 y 9 M	9	2	1	0	2	0	7	1	44	8	13	3	24	4	26	5
Entre 9,01 y 9,76 M	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	10	2	1	0
Mayor a 9,77	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
<b>TOTAL</b>	496	100	462	100	488	100	509	100	557	100	500	100	536	100	477	100

*Nota:* Número en unidades, años: 2004 – 2011. Boletín Estadístico Portuario Año: 2011.  
SPTMF. (2011)

**Tabla 1. Formato de registro de datos**

Especie \_\_\_\_\_ Coordenadas \_\_\_\_\_  
Fecha \_\_\_\_\_  
Salinidad \_\_\_\_\_ Sexo \_\_\_\_\_

Número	Concha (mm)	Pene (mm)	Observaciones
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			

21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			