

**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS “MANEJO SUSTENTABLE DE
RECURSOS BIOACUÁTICOS Y EL MEDIO AMBIENTE”**

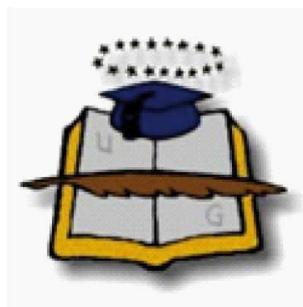
**TESIS DE GRADO
MAGÍSTER EN CIENCIAS**

**“IMPOSEX EN *Thais brevidentata*,
Thais kiosquiformis, *Thais biserialis* (MOLLUSCA:
GASTROPODA: MURICIDAE) DEL PERFIL
CENTRO-SUR DE LA COSTA ECUATORIANA,
UNA INDICACIÓN DE CONTAMINACIÓN POR
COMPUESTOS ORGANOESTAÑOSOS”**

MARÍA FERNANDA ARROYO OSORIO

GUAYAQUIL- ECUADOR

2010



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS “MANEJO SUSTENTABLE DE
RECURSOS BIOACUÁTICOS Y EL MEDIO AMBIENTE”**

**Tesis de Grado para la obtención del Título de Magíster en Ciencias con Énfasis
en Manejo Sustentable de Recursos Bioacuáticos y el Medio Ambiente**

**IMPOSEX EN *Thais brevidentata*, *Thais
kiosquiformis*, *Thais biserialis* (MOLLUSCA:
GASTROPODA: MURICIDAE) DEL PERFIL
CENTRO-SUR DE LA COSTA ECUATORIANA,
UNA INDICACIÓN DE CONTAMINACIÓN POR
COMPUESTOS ORGANOESTAÑOSOS”**

BLGA. MARÍA FERNANDA ARROYO OSORIO

GUAYAQUIL- ECUADOR

2010

CERTIFICACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DIRECTOR DE MAESTRÍA

DECANA

DEDICATORIAS

La presente tesis está dedicada a:

- La memoria de **Silvia** y **Zoila Osorio Almeida** (+), mis tías madrinas. Mujeres de sobrada inteligencia, fuertes y emprendedoras, maestras de toda una vida...de propios y ajenos, pese a que ya no están entre nosotros la cosecha continúa, y en esta ocasión es un honor para mí ofrecer este presente a ellas “mis dos grandes mujeres”: mi tesis de maestría.
- A **Edelina** y **Juan**, mis amados padres, como una retribución por todo el amor, esfuerzo, dedicación y apoyo incondicional para alcanzar mis logros. Gracias Señor!, por tenerlos a mi lado.
- A mi querido esposo **René**, quien se involucró totalmente en todo este proceso, brindándome su apoyo y ayuda constante para alcanzar esta meta.
- A mis tíos **María Patricia** y **Diógenes**, por contar con ustedes en todo momento.
- A **mis primos** (Vera Osorio) y **sobrinos** (Arroyo Guerrero, Sánchez Vera y Félix Vera), como un ejemplo a seguir.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profunda gratitud al **Supremo Hacedor**, porque al implorarlo me escuchó, y puso en mi camino a las siguientes personas que con tanta generosidad me ayudaron a salir adelante con la presente investigación:

- Al **MSc. ITALO BRAGA DE CASTRO**, mi tutor, quien de manera abierta e incondicional puso todos sus conocimientos, experiencias e investigaciones a mi entera disposición y que pese a la distancia siempre me hizo sentir su presencia para brindarme su perenne apoyo y colaboración.
- Al **Dr. LUIS MUÑIZ VIDARTE**, poseedor de un don de gentes y carisma excepcional. Quien con su franca sonrisa y espontaneidad me ofreció consejos, guía y toda la ayuda oportuna para la estructuración de mi tesis. De manera especial por aquel literal que tanto me favoreció.
- A mi esposo **MSc. RENÉ RODRÍGUEZ GRIMÓN**, por el constante apoyo moral, por ser mi compañero de campo y de laboratorio, por aprender juntos, por corregir, examinar y analizar cual minucioso profesor mi tesis, por ser mi ejemplo.
- A mis colegas biólogos **JORGE CAMPOS, JAIME SALAS y ANTONIO TORRES**, quienes me colaboraron en trámites, logística, mapas y préstamo de materiales.

INDICE

INDICE DE TABLAS	vi
INDICE DE FIGURAS	vii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	6
2.1. Invertebrados Bioindicadores de Contaminación Ambiental.....	6
2.2. Toxicidad de los Compuestos Orgánicos de Estaño (COEs)	9
2.3. Técnicas Bioindicadoras de Contaminación: Imposex.....	12
2.4. Murícidos del Género <i>Thais</i> en el Perfil Costero Ecuatoriano.....	16
2.5. Áreas Portuarias y Playas Monitoreadas	21
3. MATERIALES Y MÉTODOS	33
3.1. Área de Estudio	33
3.2. Procedimiento de Laboratorio	36
3.3. Identificación de Imposex en <i>T. brevidentata</i> , <i>T. biserialis</i> y <i>T. kioquiformis</i>	37
4. RESULTADOS.....	43
4.1. Descripción de Imposex en Tres Especies de Murícidos	43
4.2. Diferencias de Sensibilidad entre los Murícidos Estudiados.....	47
4.3. Niveles de Imposex en el Perfil Costero Ecuatoriano	49
5. DISCUSIÓN	53
5.1. Descripción de Imposex en Tres Especies de Murícidos	53
5.2. Diferencias de Sensibilidad entre los Murícidos Estudiados.....	55
5.3. Niveles de Imposex en el Perfil Costero Ecuatoriano	56
6. CONCLUSIÓN	58
7. RECOMENDACIONES	60
8. BIBLIOGRAFÍA	61
9. ANEXOS	72

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Índices bióticos usados para estimar la tolerancia del bentos a los contaminantes (Leiva, 2004).	14
Tabla 2.	Estaciones monitoreadas en áreas de influencia y terminales portuarias de Ecuador, con sus respectivos datos de colecta, latitud y longitud.	35
Tabla 3.	Prevalencia de imposex en <i>Thais biserialis</i> , <i>Thais brevidentata</i> y <i>Thais kiosquiformis</i> , en diferentes puntos del perfil costero ecuatoriano. Sombreadas las celdas correspondientes a lugares con dos especies diferentes.	48
Tabla 4.	Longitud promedio del pene, longitud relativa del pene (RPL) e intensidad de imposex para hembras de <i>Thais biserialis</i> (A), <i>Thais brevidentata</i> (B) y <i>Thais kiosquiformis</i> (C), en diferentes puntos del perfil costero ecuatoriano.	51

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Ciclo de los Compuestos Organoestánicos en el Medio Marino (Fernández, 2002)	10
Figura 2.	Estructura química del Tributilestaño (TBT) y sus derivados más comunes, (Castro, 2005)	11
Figura 3.	Ejemplar de <i>Thais brevidentata</i> .	19
Figura 4.	Ejemplar de <i>Thais biserialis</i> .	19
Figura 5.	Ejemplar de <i>Thais kiosquiformis</i> .	20
Figura 6.	Plano de la Autoridad Portuaria de Guayaquil.	22
Figura 7.	Instalaciones de los muelles de Puerto Bolívar.	23
Figura 8.	Vista panorámica de Puerto López.	24
Figura 9.	Malecón de Ballenita.	25
Figura 10.	Puerto La Libertad	26
Figura 11.	Playa de Punta Carnero.	26
Figura 12.	Puerto Pesquero de Chanduy.	27
Figura 13.	General Villamil Playas.	28
Figura 14.	Puerto de Posorja.	29
Figura 15.	Vista del Cantón Balao.	30
Figura 16.	Muelle de Jambelí.	31
Figura 17.	Vista de un muelle de la Isla Puná.	32
Figura 18.	Puntos de Muestras (n=13), localizados en playas y puertos del Ecuador.	33
Figura 19.	Colectando a <i>Thais kiosquiformis</i> .	34
Figura 20.	Moluscos adheridos a los pilares de los muelles.	34
Figura 21.	Moluscos depositados en frascos de boca ancha.	35
Figura 22.	Medición y registro de datos.	36
Figura 23.	Medición de la longitud de <i>T. kiosquiformis</i> mediante un calibrador digital.	36
Figura 24.	Ruptura de una concha mediante el uso de la prensa.	36
Figura 25.	Obtención de las partes blandas de los organismos.	36
Figura 26.	Examen de partes blandas.	36
Figura 27.	Medición del pene en un macho de <i>T. kiosquiformis</i> .	37
Figura 28.	Estructuras anatómicas de un organismo perteneciente al género <i>Thais</i> .	38

Figura 29.	Hembra con pene (indicación de imposex), P: pene, Rs: receptáculo seminal (Castro, 2002).	38
Figura 30.	Ejemplar macho donde P: pene, T: tentáculos oculares y R: rábula.	39
Figura 31.	Se presenta coloración diferencial de las gónadas para A) hembra y B) macho.	39
Figura 32.	Estadíos de desarrollo del pene y vaso deferente (VDSI) propuesto por Gibbs <i>et al</i> (1987) para <i>Nucella lapillos</i> .	42
Figura 33.	Localidades donde fueron colectados los ejemplares de <i>T. brevidentata</i> , y el porcentaje de imposex en hembras.	44
Figura 34.	Grados de imposex presentados en hembras de las tres especies de murícidos colectados en costas ecuatorianas.	45
Figura 35.	Grados de Imposex del I al IV en <i>Thais kioquiiformis</i> . A: Grado I, B: Grado II, C: Grado III y D: Grado IV.	46
Figura 36.	Indicadores de imposex (RPLI y VDSI) para hembras de las tres especies.	47
Figura 37.	Resultados del monitoreo realizado en el perfil costero ecuatoriano para las especies <i>T. brevidentata</i> , <i>T. biserialis</i> y <i>T. kioquiiformis</i> . Prevalencia de imposex (%), RPLI (%) y VDSI.	52
Figura 38.	Regresión lineal simple entre la longitud promedio de la concha en hembras con imposex y la longitud promedio del pene, para las especies <i>T. brevidentata</i> , <i>T. biserialis</i> y <i>T. kioquiiformis</i> .	55

RESUMEN

La presente investigación constituye el primer reporte de imposex en Ecuador y de la costa pacífica sudamericana para las especies *Thais kiosquiformis* y *Thais biserialis*. El estudio incluyó además a la especie *Thais brevidentata* (Mollusca: Gasteropoda: Muricidae). Se muestrearon puertos mercantes, pesqueros y playas del perfil costero, indicando la presencia de imposex en doce de las catorce localidades muestreadas. *T. kiosquiformis* fue la única especie que se presentó en el ambiente estuarino del Golfo de Guayaquil mostrando, en todas las hembras colectadas, imposex con los mayores valores en índices de RPLI (40,7%) y VDSI (Grado V) en comparación con *T. brevidentata* (2,8% y Grado I) y *T. biserialis* (26,1% y Grado III) que se presentaron en el perfil costero de aguas oceánicas. *T. kiosquiformis* fue la más sensible para áreas estuarinas mientras que *T. biserialis* lo es para aguas marinas de mayor salinidad y pueden ser utilizadas como bioindicadores de contaminación por compuestos organoestañosos. Con base en estos resultados se puede decir que los sitios estudiados presentan contaminación por organoestañosos una vez que el imposex sólo ocurre en moluscos expuestos a estos compuestos. Se recomienda incrementar el número de especies de gasterópodos a monitorear en el perfil costero y realizar estudios experimentales a escala de laboratorio para determinar la sensibilidad de los organismos ante el tributilestaño (TBT).

Palabras Claves: Bioindicador; Tributilestaño; Imposex; Murícidos; *Thais* sp; Ecuador

ABSTRACT

The present investigation constitutes the first imposex report in Ecuador and Pacific South American coast for species *Thais kiosquiformis* and *Thais biserialis*. In addition this study included the species *Thais brevidentata* (Mollusca: Gasteropoda: Muricidae). The monitoring was accomplished in merchant and fishing ports and beaches of the Ecuador coast line, indicating the imposex presence in twelve of fourteen sampled localities. *T. kiosquiformis* was the only species observed in the estuarine environments inside the Gulf of Guayaquil. This species show, in all the collected females, high values of RPLI's (40,7 %) and VDSI (Degree V) in comparison with *T. brevidentata* (2,8 % and Degree I) and *T. biserialis* (26,1 % and Degree the III) that appeared in the coastal oceanic waters. *T. kiosquiformis* was most sensitive species for estuarine areas than *T. biserialis*. In other hand *T. biserialis* was a good organotin pollution bioindicator for marine coastal waters. With base in these result could to conclude that the studied areas present organotin contamination due observed imposex levels. For the future studies recommends to increase the species number of gasteropods to monitoring in Ecuador coastal waters and to realize experimental studies to laboratory scale to determine the sensibility of the organisms to the tributyltin (TBT).

Key Words: Bioindicator, Tributyltin; Imposex; Muricids; *Thais* sp; Ecuador

Produce una inmensa tristeza pensar que la naturaleza habla mientras el género humano no oye.

Víctor Hugo

1. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas acuáticos mantienen una gran diversidad de organismos, incluso mayor a los terrestres, por lo que los impactos como la contaminación inducen a cambios en la estructura de las comunidades, la función biológica de los sistemas acuáticos y al propio organismo, afectando su ciclo de vida, crecimiento y su condición reproductiva (Bartram y Ballance, 1996). Por este motivo, algunos organismos pueden proporcionar información de cambios físicos y químicos en el agua, ya que a lo largo del tiempo revelan modificaciones en la composición de la comunidad (Vázquez, *et al.*, 2006).

El uso de bioindicadores se está proponiendo como una nueva herramienta para conocer la calidad del agua, esto no quiere decir que desplace al método tradicional de los análisis fisicoquímicos. Su uso simplifica en gran medida las actividades de campo y laboratorio, ya que su aplicación solo requiere de la identificación y cuantificación de los organismos basándose en índices de diversidad ajustados a intervalos que califican la calidad del agua (Arce, 2006).

En general, todo organismo es indicador de las condiciones del medio en que se desarrolla, ya que de cualquier forma su existencia en un espacio y momentos determinados responden a su capacidad de adaptarse a los distintos factores ambientales. Sin embargo, en términos más estrictos, un indicador biológico acuático se ha considerado como aquél cuya presencia y abundancia señalan algún proceso o estado del sistema en el cual habita. Los indicadores biológicos se han asociado directamente con la calidad del agua más que con procesos ecológicos o con su distribución geográfica. Es pertinente aclarar que más que a un organismo, el indicador biológico se refiere a la población de individuos de la especie indicadora, y en el mejor de los casos al conjunto de especies que conforman una comunidad indicadora. El concepto de organismo indicador se refiere a especies seleccionadas por su sensibilidad o tolerancia (normalmente es la sensibilidad) a varios parámetros. Usualmente los biólogos emplean bioindicadores de contaminación debido a su especificidad y fácil monitoreo (Vázquez *et al.*, 2006).

Un contaminante o cualquier otro evento particular que perturbe las condiciones iniciales de un sistema acuático provocarán una serie de cambios en los

organismos, cuya magnitud dependerá del tiempo que dure la perturbación, su intensidad y su naturaleza. La acción puede ser indirecta (cambios en el medio) o directa (ingestión o impregnación). Los efectos sobre la fauna acuática cuando es sometida a la descarga de una sustancia tóxica; a medida que transcurre el tiempo se pasa de respuestas individuales (bioquímicas y fisiológicas) a respuestas poblacionales, comunitarias y ecosistémicas (Arce, 2006).

Entonces un indicador biológico será aquel que logre soportar los efectos ocasionados por el elemento perturbador, es decir, que muestre algún tipo de respuesta compensatoria o tolerante. Estas respuestas significan para la especie mantener el funcionamiento normal a expensas de un gran gasto metabólico (Arce, 2006).

Dentro de los mencionados efectos, no sólo se incluyen aquellos contaminantes con propiedades tóxicas, sino también la contaminación térmica, microorganismos patógenos, residuos sólidos, materiales en suspensión, nutrientes, entre otros. Entre las actividades humanas que introducen sustancias químicas al ambiente marino se puede citar el uso de los anti-incrustantes empleados en pinturas para estructuras marinas y para los cascos de navíos, evitando que algas, mejillones u otros organismos se aferren a estas embarcaciones, convirtiéndose en un dilema tanto en lo ambiental como en lo económico (Castro *et al*, 2000). El rol de los anti-incrustantes es prevenir o a primera instancia reducir la colonización de estos organismos en estructuras sumergidas. Entre las ventajas financieras se puede citar el ahorro en mantenimiento del buque, en cuanto a reparar y pintar y el bajo consumo de combustible por parte de las embarcaciones al haber menos fricción del casco con el mar. En cuanto a la parte ambiental se tiene que debido al uso eficiente del combustible se producen menos emisiones de gases de efecto invernadero, por otra parte, los anti-incrustantes reducen el riesgo de que el casco del barco actúe como un vector para el transporte de especies invasivas (Kotrikla, 2009). Mas, sin embargo, los anti-incrustantes presentan propiedades negativas debido a su inherente toxicidad. Los ecosistemas pueden estar en riesgo, cuando las concentraciones de sustancias tóxicas en el ambiente empiezan a ser letales trayendo consigo perjuicios económicos como, por ejemplo, los cultivos de ostras. Los compuestos

organoestañosos, principalmente el Tributilestaño (TBT), presenta muchos atributos como anti-incrustante, con una amplia gama de propiedades biocidas, efectiva para evitar a los organismos colonizadores. Por eso este compuesto fue utilizado en la mayoría de los buques producidos en el mundo durante la década de 1980 (Almeida, 2007). Es uno de los contaminantes más tóxicos para la vida marina conocido hasta los actuales momentos, su contaminación se ha extendido ampliamente a través de los puertos y áreas de intensa actividad marina. Siendo esta una contaminación a nivel global debido a los múltiples usos que se le ha dado al TBT, pero particularmente, en las pinturas anti-incrustantes aplicadas a los cascos de los buques, (Fent, 2006). En la última década, se ha podido comprobar que este tipo de polución se ha extendido en países en vías de desarrollo y que la mayor parte de los estudios que se han realizado sobre la ocurrencia de los efectos del TBT han sido desarrollados principalmente en países del hemisferio norte, tales como España, Francia, Inglaterra y Estados Unidos (Horiguchi *et al.*, 1997a).

El predominio de pinturas basadas en TBT cambió la manera en que los anti-incrustantes fueron vistos y usados, debido a que numerosas investigaciones confirmaron la distribución del TBT a lo largo del medioambiente marino (agua y sedimento) y en organismos de todos los niveles tróficos desde bacterias, fitoplancton, peces y cetáceos. El TBT fue rápidamente reconocido como agente causal de numerosos deterioros biológicos, con dos impactos de considerable notoriedad: El primero, la malformación de las valvas en los cultivos de ostras en la Bahía Arcachon, Francia, con una pérdida de producción estimada en USD 147 millones y el segundo, el fenómeno denominado Imposex, que consiste en la masculinización de hembras de gasterópodos. Varios estudios ecotoxicológicos demostraron que muchos moluscos son sensibles al TBT, pese a que un amplio rango de organismos exhibieron efectos no letales a concentraciones comunes en el medioambiente marino (Shi *et al.*, 2005).

Los compuestos orgánicos estañosos (COEs), se caracterizan por bioconcentrarse en organismos acuáticos, los mismos que han sido detectados a través de ensayos químicos de cromatografía de gases en una serie de muestras de tejidos de invertebrados marinos de la zona costera (Carrier-Pinasseau *et al.*, 1997;

Davidson *et al.*, 1986; Cima *et al.*, 1996). Este tipo de contaminación fue también observada en organismos de mar profundo (Takahashi *et al.*, 1997, 1998 y 1999b; Terllizi, *et al.*, 1998) demostrando que el problema no está restringido a áreas costeras netamente.

En algunos animales acuáticos los efectos de la contaminación por TBT son aún desconocidos, pero está demostrado que actúan como fuente de contaminación para los niveles tróficos superiores, que los consumen como alimento (Ide *et al.*, 1997).

Regulaciones y leyes restringiendo el uso del TBT como un agente anti-incrustante en pinturas marinas fueron desarrolladas gradualmente entre 1980 y 1990. Estos primeros controles generaron polémica a nivel científico-internacional. En 1996 el Comité de Protección de Ambiente Marino de las Naciones Unidas (MEPC), sugirió la retirada gradual de las tintas a base de TBT en los próximos 10 años, esta propuesta fue exhaustivamente discutida por diversos países quedando suspendida hasta el año 2008. Algunos países como Japón, Nueva Zelanda y Francia se adelantaron y prohibieron terminantemente la utilización de estos compuestos en embarcaciones de sus territorios. Países como Canadá, EEUU, África del Sur y la mayoría de los países de la Unión Europea limitaron la utilización de COEs en embarcaciones de tamaño superior a los 25 m (Champ, 2000).

La Organización Marítima Internacional (OMI), adoptó un tratado internacional titulado “The International Convention on the Control of Harmful Anti-Fouling Systems on Ships”, el cual entró en rigor el 17 de septiembre del 2008. En este tratado la OMI prohibió la utilización del TBT en pinturas anti-incrustantes del mundo.

Después de haberse usado por décadas el TBT, las diversas regulaciones y la Convención Global iniciaron la búsqueda de compuestos alternativos, es así, que actualmente las pinturas anti-incrustante están basadas en Cobre, pero se les ha incorporado sustancias tóxicas adicionales, generalmente llamados “propulsores biocidas”, que mejoran su efectividad. Estos compuestos varían en su modo de operar, su persistencia en el medioambiente y propiedades toxicológicas,

desconociéndose su distribución actual, destino e impacto de su permanencia en el medio ambiente marino, pero ninguno a diferencia del TBT muestra evidencia de ser un “disruptor endócrino”, (Arai *et al.*, 2009).

La implicación práctica de esta investigación es la de implementar una técnica de verificación de contaminación ambiental denominada “Imposex” aplicada en moluscos gasterópodos como bioindicadores. El imposex ha demostrado ser una herramienta útil en estudios de seguimiento de calidad ambiental principalmente dentro del desarrollo industrial de determinadas zonas costeras (Morcillo & Porte, 1998). Tomando en consideración que concentraciones de 1 ng/l son suficientes para inducir impactos sobre poblaciones de organismos marinos (Castro *et al.*, 2007), otra aplicación es que la mencionada técnica, puede ser tomada en consideración por autoridades ambientales como una herramienta referencial para establecer límites permisibles de contaminación por compuestos orgánicos del estaño en ambientes marinos, e implantar una regulación respecto al uso de estos compuestos, lo cual sería un avance para el Ecuador, dado que hasta los actuales momentos se desconocía al TBT y los impactos generados por éste.

El objetivo principal del presente estudio es verificar la presencia de imposex en moluscos gasterópodos de la familia Muricidae en la parte del perfil costero ecuatoriano que se encuentre bajo la influencia de terminales pesqueros y portuarios. Como segundo punto, este estudio pretende hacer una comparación entre las especies exhibidoras de imposex en el perfil costero estudiado, para determinar aquellas que sean más sensibles, las mismas que serán empleadas en las salidas de campo. Finalmente, se programarán muestreos que permitirán cuantificar los niveles de imposex a lo largo de la costa ecuatoriana, y de esta forma, evaluar el nivel de impacto provocado por compuestos organoestañosos.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Invertebrados Bioindicadores de Contaminación Ambiental.

Por bentónicos entendemos aquellos organismos que habitan en el fondo marino, ya sea durante todo su ciclo vital o parte de él (en los que en la fase adulta es terrestre y la fase larvaria es acuática). Se denominan “macroinvertebrados”, los especímenes que alcanzan a lo largo de su ciclo de vida un tamaño superior a 0,200 mm, lo que los puede hacer visibles a simple vista (Rosenberg y Resh, 1993). Esta comunidad se caracteriza por una elevada diversidad taxonómica, así como, de una alta variedad de adaptaciones morfológicas y de comportamiento para poder aprovechar los diferentes recursos tróficos que ofrece un ecosistema, haciendo de estas comunidades unos buenos indicadores de la calidad ecológica de los ambientes acuáticos, ya que ofrece un amplio espectro de respuestas a las diferentes perturbaciones ambientales. Esto, sumado a la relativamente escasa capacidad de desplazamiento de los mismos, permite un efectivo análisis espacial de la contaminación, que unido a los largos ciclos de vida de algunos grupos (existen especies de plecópteros que pueden permanecer hasta 2 años en fase larvaria), facilita también el análisis temporal de las perturbaciones (Rosenberg y Resh, 1993).

El concepto de bioindicador aplicado a la evaluación de calidad de agua, es definido como: “especies que poseen requerimientos particulares con relación a uno o a un conjunto de variables físicas 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” (Rosemberg & Resh, 1993). Es decir, que un bioindicador es aquel cuyas respuestas biológicas son observadas frente a una perturbación ecológica y están referidos como organismos o sistemas biológicos que sirven para evaluar variaciones en la calidad ambiental.

Los bioindicadores de contaminación, calibran la calidad del ecosistema a través de información que es recogida en el agua, en la atmósfera o en el suelo, y permiten identificar, dentro de un marco de calidad, el nivel de deterioro ambiental

(Arenas, 1993). Para poder evaluar el deterioro ambiental de un ecosistema acuático debido a un contaminante es necesaria la selección de una comunidad bioindicadora de calidad y el conocimiento previo de la biota que caracteriza la zona de estudio. En el agua uno de los grupos de los organismos más utilizados para el monitoreo de calidad, son los macroinvertebrados de la comunidad bentónica.

Entre las ventajas que posee cualquier macroinvertebrado acuático como grupo bioindicador, Zúñiga *et al.*, (1993) menciona las siguientes:

- La naturaleza sedentaria de muchas especies facilitan la evaluación espacial de efectos adversos a largo plazo en la comunidad.
- Presentan ciclos de vida relativamente cortos comparados con los peces y reflejan con mayor rapidez las alteraciones del medio ambiente mediante cambios en la estructura de sus poblaciones y comunidades.
- Son de amplia distribución y abundantes lo que favorece los estudios comparativos.
- Por su tamaño que los hace visibles a simple vista, son de fácil recolección.
- Viven y se alimentan en o sobre los sedimentos donde tienden a acumularse las toxinas, las cuales se incorporan a la cadena trófica a través de ellos.
- Son sensibles a los factores de perturbación y responden a las sustancias contaminantes presentes tanto en el agua como en los sedimentos.
- La taxonomía de muchos grupos esta bien estudiada

Los moluscos (en especial los gasterópodos) absorben la mayoría de los estudios sobre biomarcadores en el medio marino debido a su facilidad de muestreo, por ser sedentarios, por su tamaño y morfología y porque muchos de ellos son

especies cultivables. En los moluscos, se destaca la existencia de numerosos biomarcadores que permiten evaluar el potencial genotóxico o letal de los contaminantes, los efectos sobre la reproducción, cuantificar el grado de exposición a sustancias químicas, así como, sus efectos biológicos subletales.

Entre esos efectos la Disrupción Endócrina (ED) o interferencia de compuestos ambientales sobre el normal comportamiento del sistema endócrino afecta claramente a las poblaciones de moluscos gasterópodos. Existen hidrocarburos capaces de mimetizar las hormonas de invertebrados y vertebrados alterando su funcionamiento, el fenómeno imposex es utilizado en este sentido y sobre el cual se han realizados bastos estudios (Carballeira, 2001). Así, el Imposex ha sido observado en varias especies de gasterópodos en la costa de la India (*Cronia konkanensis* – Vishwa-Kiran & Anil, 1999); Nueva Zelanda (*Lepsiella scobina*, *Thais orbita*, *Haustrum haustorium*, *Xymene ambiguus*, *Taron dubius*, *Cominella virgata*, *Amalda (Baryspira) australis* – Stewart *et al.*, 1992); Australia (*Lepsiella vinosa* – Nias *et al.*, 1993; *T. orbita*– Foale, 1993); Tailandia (*Thais distinguenda*, *Thais bitubercularis*, *Morula musiva* –Bech, 1999a, 1999b; *Phalium bisulcatum*, *Distorsio reticularis*, *Murex occa*, *Murex trapa*, *Murex tribulus*, *Chicoreus capucinus*, *Thais gradata*,– Swennen *et al.*, 1997); Indonesia (*Thais kieneri*, *Thais savignyi*, *Vasum turbinellus*– Evans *et al.*, 1995); Malasia (*T. gradata*, *C. capucinus*, *T. clavigera*, *Thais jubilaea*, *T. bitubercularis* – Tan, 1997, 1999); Japón (*Thais clavigera*- Horiguchi *et al.*, 1997) y Hong Kong (*T. clavigera* – Blackmore, 2000). En América del Sur, la incidencia de imposex se reporta en las siguientes especies chilenas *Chorus giganteus*, *Xanthochorus cassidiformis*, *Nucella crassilabrum* (Gooding *et al.*, 1999); *Acanthina monodon* (Osorio & Huaquín, 2003); Brasil *Thais rustica* (Carrillo *et al.*, 2004); *Thais haemastoma*, (Castro *et al.*, 2000; Fernandez *et al.*, 2002); *Stramonita haemastoma* (Lima *et al.*, 2006); *Nassarius reticulatus* (Stroben *et al.*, 1992a; Barreiro *et al.*, 2001; Barroso *et al.*, 2002); *Leucozonia nassa* (Meirelles *et al.*, 2007); *Olivancillaria vesica* (Caetano & Absalão, 2003), y en Costa Rica *Thais brevidentata* (Gravel *et al.*, 2006).

El esfuerzo investigativo realizado sobre esta técnica para Latinoamérica es aún incipiente, ya que poco se sabe sobre del comportamiento de los compuestos organoestéánicos en ambientes marinos tropicales.

2.2. Toxicidad de los Compuestos Orgánicos del Estaño (COEs)

Desde 1950 se utilizó el tributilestaño o TBT con diversos fines, destacando su empleo como principio activo en las pinturas anti-incrustantes aplicadas a los barcos para retrasar la presencia y desarrollo de organismos adheridos a su superficie (de Mora, 1996). Estas pinturas prolongaban la conservación y facilitaban el movimiento de las embarcaciones, fueron utilizadas por un 70 a 80% de la flota mercante mundial, siendo las preferidas por sus beneficios en ahorro de combustible, menor mantenimiento e intervalos entre operaciones de repintado más largos (Champ, 2000). Se estima que hasta el 2003, cerca de 50 000 t de estos compuestos eran producidos anualmente (Swennen *et al.*, 1997; Godoy *et al.*, 2003).

Desde mediados de los sesenta la producción de este tipo de pintura consumía un 70% de la producción mundial del TBT, constituyendo la principal vía de entrada del TBT al medio acuático (OMI, 1999). Las fuentes contaminantes potenciales de los compuestos orgánicos del estaño (COEs), tales como TBT, para ambiente marino, son áreas donde el flujo de embarcaciones es intenso, principalmente terminales portuarios, marinos, estructuras costeras como ductos y estructuras destinadas a la acuicultura (Bryan & Langston, 1992; Clark *et al.*, 1998). De un modo general, estos compuestos son liberados a partir de estas estructuras y llegan al medio marino donde sufren procesos de naturaleza física, química y biológica. Estos procesos interfieren directamente sobre las concentraciones de compuestos organoestánicos encontrados en la columna de agua y en los sedimentos marinos (Figura 1).

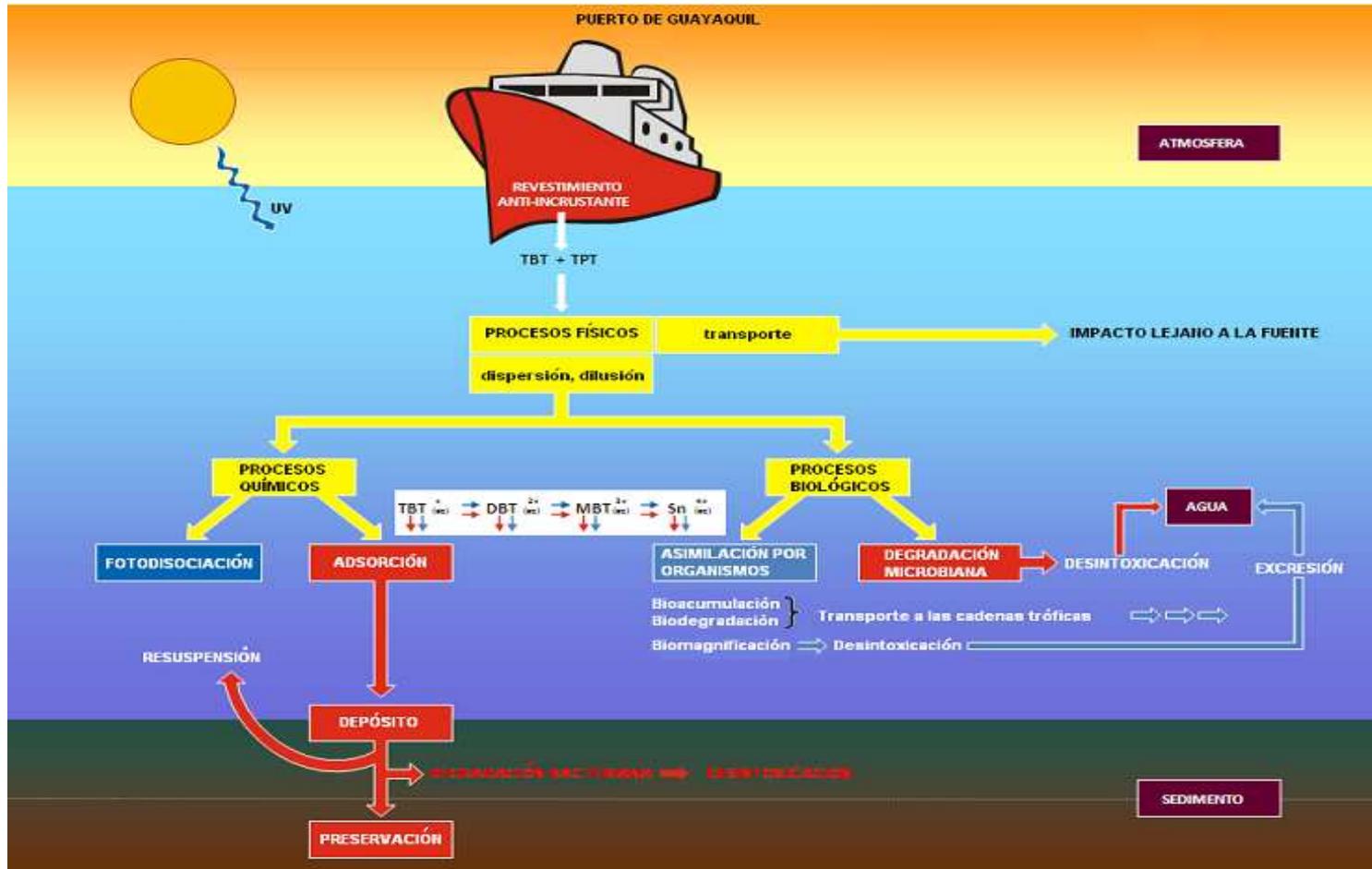


Figura 1. Ciclo de los Compuestos Organoestánicos en el Medio Marino (Fernández, 2002).

Entre los procesos de naturaleza física, podemos resaltar el transporte, la dispersión y la dilución. El transporte dependerá, principalmente, de los patrones de circulación, observados en el área y pueden ser los responsables de la presencia de estos compuestos en áreas relativamente distantes de la fuente. Varios factores abióticos como la radiación, UV, radiación gamma, la temperatura y los factores bióticos tales como la biodegradación bacteriana, son los responsables de la desbutilación de los compuestos organoestáñicos originando progresivamente compuestos más simples y menos tóxicos como el DBT (dibutilestano) o MBT (monobutilestano) a partir del TBT, la última etapa del proceso sería la formación de estaño inorgánico que prácticamente no es tóxico tal como se puede apreciar en la Figura 2, (Clark *et al.*, 1988).



Figura 2. Estructura química del Tributilestano (TBT) y sus derivados más comunes, (Castro, 2005).

El TBT presenta una degradación rápida (10 a 15 días), quedando en la columna de agua pero dada su hidrofobicidad que facilita su adsorción al material particulado en suspensión (de Mora, 1996), es que puede ser retirado rápidamente de la columna de agua para acumularse en el sedimento, donde se ha medido un amplio rango de concentraciones (desde <0.2 ng/g hasta varios miles de ng/g), según la proximidad a fuentes de este contaminante (Batley, 1996). En el sedimento, el TBT puede persistir durante años incluso décadas (Sarradin *et al.*, 1991), convirtiéndose en un depósito natural y consecuentemente una fuente potencial de este compuesto para la columna de agua (Dowson *et al.*, 1996; Mora & Phillips, 1997; Clark *et al.*, 1998), que puede plantear problemas (durante los dragados), que se acostumbran a

realizar en las zonas portuarias a fin de facilitar el acceso de las embarcaciones a los muelles.

Otro punto a destacar del TBT, es su carácter fuertemente lipofílico que facilita una alta bioconcentración en organismos acuáticos tales como bivalvos y gasterópodos (Fent, 1996), y se ha comprobado que estos compuestos organoestánicos tienen propiedades inmunotóxicas y teratogénicas también en mamíferos (Kergosien y Rice 1998), además el TBT puede provocar daños tanto mortales como subletales en grupos taxonómicos diversos y a distintos niveles de organización, desde alteraciones bioquímicas hasta extinciones a escala local (Fent, 1996). Según la OSLO-PARÍS Commission, (2000), se lo considera el compuesto organoestánico más peligroso, capaz de provocar efectos dañinos a concentraciones extremadamente bajas, con umbrales tóxicos en los grupos más sensibles (ej. fito, zooplancton y ostras) por debajo de 1 ppt (Alzieu, 1996). Recientemente, Kumasaka *et al.*, (2002) ha descrito efectos tóxicos en el desarrollo testicular en ratones. La importancia de la exposición humana a compuestos organoestánicos a través del consumo de mariscos contaminados han llevado a considerar la inmunotoxicidad en humanos de estos compuestos como un efecto parámetro (Belfroid *et al.*, 2000). Aunque el marisco continúa siendo probablemente la fuente predominante de exposición a compuestos organoestánicos para muchos consumidores, la exposición a través de productos de consumo que los contengan también puede ser significativa.

2.3. Técnicas Bioindicadoras de Contaminación: Imposex

Existen índices bióticos que suelen ser específicos para un tipo de contaminación y/o región geográfica, y se basan en el concepto de organismo indicador. Permiten la valoración del estado ecológico de un ecosistema acuático afectado por un proceso de contaminación, para ello a los grupos de invertebrados de una muestra se les asigna un valor numérico en función de su tolerancia a un tipo de contaminación, los más tolerantes reciben un valor numérico menor y los más sensibles un valor numérico mayor, la suma de todos estos valores nos indica la calidad de ese ecosistema. Aunque en un principio se desarrollaron índices bióticos en los cuales era necesario una identificación taxonómica de los macroinvertebrados

hasta el nivel de género o especie (como por ejemplo el índice de Chandler, 1970), o una estimación cuantitativa de sus abundancias (como por ejemplo el índice de Hilsenhoff (1977, 1987)), se ha comprobado posteriormente que los índices más prácticos son aquellos en los que solo son necesarios datos cualitativos (presencia o ausencia) y una identificación taxonómica hasta el nivel de familia. Dentro de este tipo de índices bióticos caben destacar: el índice para valorar la contaminación orgánica en las Islas Británicas Biological Monitoring Working Party (BMWP), su variante para la Península Ibérica Iberian Biomonitoring Working Party (IBMWP) y el índice biótico de calidad del agua para la Península Ibérica Biological Monitoring Water Quality (BMWQ) (Tabla 1) (Armitage *et al.*, 1983; Alba-Tercedor y Sánchez-Ortega, 1988; Camargo, 1993; 1994; Alba-Tercedor y Pujante, 2000; Alba-Tercedor *et al.*, 2002). Estos índices han tenido una amplia difusión debido a que simplifican las complejas respuestas de una comunidad en un valor numérico que es fácilmente comprensible e interpretable, además de no requerir un elevado conocimiento taxonómico ni una cuantificación de los individuos de cada taxón. No obstante, para estudiar esta comunidad y aplicar los índices bióticos es necesario recolectar los macroinvertebrados del bentos. La facilidad y casi nulo costo económico de los mismos se une a las ventajas antes citadas para el empleo de esta comunidad en la biovaloración fluvial (Rosenberg y Resh, 1993; Alonso y Camargo, 2005).

Tabla 1. Índices bióticos usados para estimar la tolerancia del bentos a los contaminantes (Leiva, 2004).

Índice	Nombre Extendido	Fundamento	Utilidad
BMWP	Biological Monitoring Working Party.	Otorga valores de 1 al 10 a las diferentes familias de macroinvertebrados, los más tolerantes a la contaminación reciben valores menores y los más sensibles valores mayores. La suma total de valores nos indica la calidad biológica de la comunidad.	Valoración de la contaminación por materia orgánica en las Islas británicas. Permite: la determinación de invertebrados presentes, la calificación ambiental de la familia taxonómica, la valoración cuantitativa del medio.
IBMWP (Antes BMWP)	Iberian Monitoring Working Party.	Adaptación del BMWP a la Península Ibérica.	Valoración de la contaminación por materia orgánica en la Península Ibérica.
BMWQ	Biological Monitoring Water Quality.	El mismo fundamento que el anterior pero con valores del 1 al 15.	Valoración de la contaminación por materia orgánica en la Península Ibérica.
IBF	Índice Biótico de la Familia	IBF: $1/N \sum ni ti$ Dónde: N: número total de individuos en la muestra (Estación). ni: número de individuos en una familia. Ti: puntaje de tolerancia de cada familia.	Presenta una alta sensibilidad en la calidad del agua. Los resultados hacen posible clasificar las estaciones en clases de calidad de agua, las cuales se representan en un mapa de calidad de agua.
Riqueza EPT	Riqueza de taxas pertenecientes a los grupos de Efemerópteros, Plecópteros y Tricópteros	Las especies de estos grupos de insectos son sensibles a las perturbaciones humanas.	Contaminación en general y alteraciones del hábitat.
Porcentaje de Raspadores	Porcentaje de individuos de la comunidad pertenecientes al grupo trófico de los raspadores.	El incremento en nutrientes aumenta la producción primaria lo que favorece a este grupo.	Eutrofización fluvial.
Abundancia de Chironomidae	Abundancia de individuos de la Familia Chironomidae.	Este grupo es muy tolerante a la contaminación por materia orgánica.	Contaminación por materia orgánica.

El bien estudiado efecto de contaminación por compuestos orgánicos del estaño es el Imposex (Smith, 1971). Fue descubierto alrededor de 1970 al detectarse en distintas partes del mundo hembras de gasterópodos con pene (Bryan *et al.*, 1993). Esta anomalía se caracteriza por el surgimiento de estructuras sexuales masculinas, tales como pene y vaso deferente en hembras de gasterópodos prosobranquios, sobretodo neogastrópodos y mesogastrópodos (Gibbs & Bryan, 1986).

Estudios posteriores demostraron que en algunas especies (ej. *Nucella lapillus*), el Imposex podía impedir la reproducción de las hembras llevando a la desaparición de la especie a escala local y regional por falta de reclutamiento (Bryan *et al.*, 1986; Gibbs y Bryan, 1986). Actualmente, el Imposex se conoce en unas 150 especies de gasterópodos llamando la atención su carácter casi universal (Matthiessen y Gibbs, 1998). No todas las especies sufren el mismo grado de masculinización, de manera que no todas se ven esterilizadas (Gibbs *et al.*, 1997), tampoco todas son igual de sensibles, el Imposex muchas veces se induce a concentraciones por debajo de 2 ng/l, destacando los casos de especies particularmente sensibles ej. *Nucella lapillus*, donde aparece con 0.5 ng/l o menos (Bryan *et al.*, 1987). Motivo por el que el Imposex en estas especies se considera la respuesta biológica más sensible a este contaminante (Gibbs y Bryan, 1996). Estas diferencias de sensibilidad hacen posible que el Imposex en diferentes especies pueda servir de biomarcador de distintos niveles de contaminación.

Este fenómeno corresponde al más bien conocido efecto de desregulación endócrina y ocurre porque la presencia de pene y vaso deferente en gasterópodos son características sexuales secundarias controladas por el nivel de hormonas sexuales encontrados en esos animales (Morcillo & Porte, 1999). En algunos animales, incluidos los moluscos, el metabolismo de sustancias endógenas y exógenas es realizado a través de un sistema multienzimático llamado Citocromo P 450 (Morcillo & Porte, 1999; Morcillo & Porte, 1998; Morcillo *et al.*, 1999; Morcillo *et al.*, 1998 y Kim *et al.*, 1998a). Entre otras actividades el Citocromo P 450 participa en la conversión de la hormona andrógena testosterona en estradiol que es una hormona de hembras. Se acredita que el TBT es un potente inhibidor del Citocromo, provocando una desregulación endócrina (Depledge & Billinghamurst, 1999). De manera general,

pequeñas concentraciones del compuesto disruptor son ya suficientes para provocar efectos devastadores en el animal, pues como se mencionó anteriormente estos compuestos actúan sobre sitios metabólicos específicos (Matthiessen & Gibbs, 1998). Estudios recientes comprobaron que los compuestos orgánicos del estaño (COEs) activan neuropéptidos, como la APGWamida, que inducen el imposex en moluscos prosobranquios (Oberdorster & McClellan-Green, 2000). Tales reacciones son altamente específicas y ocurren cuando los animales son expuestos a este tipo de contaminación (Matthiessen & Gibbs, 1998).

La desregulación hormonal generada por el TBT provoca la masculinización en hembras de diversas especies, llegando inclusive a provocar en algunos animales un cambio total y radical del sexo como en el caso de dos crustáceos copépodos *Paramphiascella hyperborea* y *Stenhelia gibba* (Depledge & Billinghamurst, 1999).

Existen otras técnicas bioindicadoras para determinar la contaminación en ambientes marinos y estuarinos por compuestos orgánicos de estaño tal como “Shell Trickness Index”, que es un índice que mide la deformación de las valvas de la ostra del pacífico o japonesa *Crassostrea gigas*, al ser expuestas a estos compuestos, cuyo resultado final es un animal completamente deformado con una cavidad corporal relativamente pequeña y sin aprovechamiento comercial. Este índice es calculado a partir de la relación entre la longitud y espesor de las valvas del molusco. (Alzieu, 1986).

2.4. Murícidos del Género *Thais* en el Perfil Costero Ecuatoriano

2.4.1. Familia Muricidae

Los moluscos murícidos son gasterópodos con una concha provista de costillas o crestas espiriladas, la apertura es pequeña, ovalada, con un canal sifonal a menudo largo, y que en muchas especies de mayor tamaño forma un tubo; a menudo el labio superior está engrosado y presenta dientes en las conchas de tamaño notorio, rasgo característico de la familia. El opérculo es córneo y ovalado, su núcleo en el extremo anterior (apical) en muchos, pero hay algunos de tipo "purpúreos", en la que

el núcleo se ha movido lateralmente hacia la derecha. La rádula parece ser la estructura base, mediante la cual se puede de manera coherente, dividir los diferentes grupos, especialmente las subfamilias. En todos los murícidos cada fila de dientes de la rádula tiene un diente central con varias cúspides, este diente, está flanqueado por un gancho-unicúspide lateral que actúa como palanca o cuña de separación de las valvas de mejillones o almejas. Las cápsulas ovígeras son depositadas en las rocas, poseen forma de vaso y son consideradas estructuras distintivas, pero más útiles en la clasificación de Género en vez de los niveles más altos. Los miembros de esta familia han sido mal llamados "conchas taladradoras", esto se debe a que el pie tiene un órgano perforador en el extremo anterior; al encontrar una presa con concha, la perfora en una acción combinada de este órgano y la rádula. Fructíferos estudios sobre este mecanismo han sido realizados por el Dr. Melbourne Carriker en el Laboratorio de Biología Marina, Woods Hole, Massachusetts, en 1960, la experimentación demostró que la perforación es en gran parte facilitada por el uso de enzimas para ablandar el cemento orgánico de la concha de la presa, de modo que los dientes de la rádula puedan raspar de manera continua.

Los murícidos presentan conchas de notable apariencia, que pronto atrajeron la atención de los coleccionistas y descriptores, pero malas interpretaciones en algunas de las ilustraciones y los errores en cuanto a localidad, complicaron el problema de agregar el nombre correcto dando como resultado una confusión en la literatura. De igual manera las diferencias de ideas entre los autores en cuanto al grado de subdivisión del género *Murex*, también han llevado a la confusión. Muchos autores no toman en cuenta las variaciones y otros las ignoran o no son conscientes de la labor anterior. La clasificación de la familia Muricidae sigue en revisión debido a nuevos conocimientos en cuanto a las relaciones, hecho que es posible por colecciones frescas de material tomado en vivo las cuales se han hecho cada vez más disponibles. El desarrollo paralelo de formas casi parecidas, pero que provienen de reservas básicamente sin ningún tipo de relación, por la evolución rápida que tuvo la familia durante el período terciario, ha añadido complicaciones para interpretar el parentesco, debiéndose esperar los ajustes adicionales requeridos antes de que un esquema estable sea realmente calculado. Cinco subfamilias son reconocidas en la Provincia Panámica, una de las cuales, la Typhinae - con espinas tubulares abiertas -

puede ser definida sólo por los caracteres de la concha. Las diferencias básicas para el estudio de las otras cuatro implica el análisis de la rádula (Keen, 1971).

2.4.2. Subfamilia Muricinae

Presentan conchas de tamaño mediano a grandes, várices bien desarrolladas en series regulares de tres, seis o más por vuelta. El opérculo tiene un núcleo apical en la mayoría de las especies de la subfamilia, pero hay excepciones. La rádula es considerada como una base estable para determinar el parentesco: esta tiene un diente central con cinco cúspides de tamaño desigual. Las cápsulas ovígeras tienden a ser puestas en grandes masas, cápsulas individuales tienen una plataforma en la parte superior e inferior que se sueldan a las cápsulas adyacentes en un patrón distintivo de la red, recordando una estructura modular de la arquitectura moderna (Keen, 1971).

2.4.3. Género *Thais* (Roding, 1798)

Se los encuentra en sustrato rocoso, aparentemente son capaces de utilizar la rádula para taladrar agujeros en la concha de la presa, más no siempre recurren a esta, pues las evidencias demuestran que poseen una secreción proveniente de unas glándulas bien desarrolladas, y que se la emplea para narcotizar o inmovilizar a la presa. Esta secreción es un fluido lechoso al ser expulsado pero que se torna de color púrpura al estar en contacto con el aire y fue la base de la conocida tintura de tirio, famosa en el Mediterráneo (Keen, 1971).

2.4.4. Especie *Thais brevidentata* (Wood, 1828)

Sinónimos: *Purpura cornigera* (Blainville, 1832), *P. ocellata* (Kiener, 1835-36), *Monoceros maculatum* (Gray, 1839).

Concha parda oscura a grisácea, con un diente blanco tipo púa en el labio externo justo sobre el canal sifonal (el que puede ser usado como cuña para forzar las valvas de las presas de moluscos bivalvos). Los grandes lunares blancos coinciden

con los romos nódulos espirales, las rayas finas espirales que están entre estos bultos blancos, suelen desaparecer a medida que la concha se desgasta. La abertura es blanca a blanca azulada con dentículos fuertes. El margen del labio externo es negro con liraciones, una de ellas se extiende y produce el diente tipo púa. Se encuentran en la zona intermareal tanto en rocas como en pozas así como en el submareal somero (Figura 3). Distribución: Mazatlán, México a Paita, Perú e Islas Galápagos (Hickman *et al.*, 1999).



Figura 3. Ejemplar de *Thais brevidentata*

2.4.5. *Thais (Stramonita) biserialis* (Blainville, 1832)

Sinónimo: *Purpura haematura* (Valenciennes, 1846).



Figura 4. Ejemplar de *Thais biserialis*

Aunque una reciente monografía (Clench, 1947) haría que esta y la similar forma Caribeña sean sinónimo con la especie atlántica oriental *T. (S.) haemastoma*, (Linnaeus, 1767), pero hay una ligera diferencia de color y de forma que parece ser suficiente razón para justificar la separación. Los especímenes de la Provincia Panámica

no tienen la coloración naranja-roja de la verdadera *Thais haemostoma* sino que son, como los especímenes del Caribe, más de color marrón terracota en el margen interno de la abertura y más claro por dentro. Ninguno de los especímenes examinados en colecciones de la costa oeste tenían los nodos redondeados o llenos de protuberancias evidentes en el hombro de conchas mediterráneas y de África Occidental. *T. biserialis*, presenta una concha fuerte de forma romboidal de color gris oscuro. Muestra dos filas de tubérculos en cada vuelta, la abertura es ovalada de coloración rosada y con finas dentaciones en su borde externo (Figura 4). Son depredadores de ostras. Tiene una altura aproximada de 43 mm, la relación altura-diámetro es de 1.5. Se encuentra en playas rocosas de la zona intermareal, ocasionalmente en sustratos duros, y sobre rocas en la parte externa de los manglares. Distribución: Isla Cedros, Baja California, a través del Golfo hasta Chile y también en las Islas Galápagos (Keen, 1971).

2.4.6. *Thais kiosquiformis* (Duclos, 1832)

Sinónimos: *Purpura kiosquiformis* (Duclos 1832) y *Purpura delessertiana* (Orbigny, 1841).

La concha es de forma romboidal, de color pardo verdoso. Su consistencia es gruesa, con finas estrías transversales. La sutura está cubierta de finas laminillas axiales, la abertura ovalada es blanquecina, con tubérculos espinosos en las espiras. El labio externo es dentado, la columela lisa y el canal sifonal es corto (Figura 5).

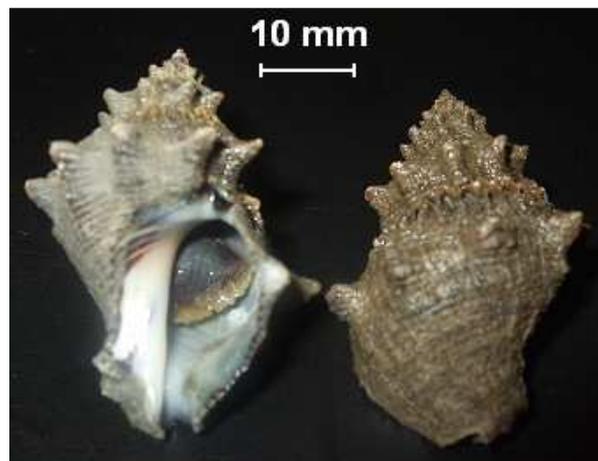


Figura 5. Ejemplar de *Thais kiosquiformis*

Los especímenes más grandes llegan a medir hasta 43 mm de altura. Las conchas vacías de este gasterópodo son ampliamente utilizadas por el cangrejo ermitaño *Clivanarius panamensis*, debido principalmente a que su fuerte concha protege mejor al cangrejo que otras conchas frecuentes en el ecosistema de manglar.

T. kioquiformis es un depredador común de ostras, almejas, cirripedios y otros gasterópodos con quienes habita en los ecosistemas de manglar. Se reproduce utilizando cápsulas ovígeras tubulares, el número de cápsulas por ovoposición varía entre 40 y 10 000. Su altura es de 43 mm y la relación altura- diámetro es de 1.65.

Se localiza en la parte externa del bosque sobre raíces o troncos, así como también en los playones mareales de la zona estuarina. Distribución: Bahía de Magdalena, Baja California a través del Golfo hasta Perú (Cruz *et al.*, 1994).

2.5. Áreas Portuarias y Playas Monitoreadas

2.5.1. Puerto Marítimo de Guayaquil

La Autoridad Portuaria de Guayaquil, fue creada en el año 1958 bajo el Gobierno Constitucional de Camilo Ponce Enríquez, su creación contemplaba la construcción de un Puerto Nuevo cerca de Guayaquil para impulsar el desarrollo económico del Ecuador.

El puerto marítimo de Guayaquil está localizado en la costa occidental de América del Sur, en un brazo de mar, el Estero Salado, a diez kilómetros al sur del centro comercial de la ciudad del mismo nombre.

Ecuador es un país equidistante entre los dos extremos occidentales del continente americano. Guayaquil, su principal puerto comercial, está ubicado dentro del Golfo del mismo nombre; siendo éste el más importante punto geográfico de la costa oeste de Sudamérica, donde se moviliza el 70% del comercio exterior nacional.

El proceso de modernización en que ha estado inmerso el Puerto de Guayaquil, al igual que su privilegiada ubicación geográfica, le ha permitido convertirse en uno de los puertos más competitivos de la región, lo cual ha facilitado el camino para alcanzar mayores índices en la movilización del comercio exterior.

Tiene una infraestructura moderna que le permite brindar servicios a todo tipo de naves, así como manipular y almacenar contenedores o cualquier tipo de carga seca o refrigerada. Las principales características del puerto son:

- Área total del Puerto: 200 hectáreas
- Longitud total del área de los muelles: 1.625 metros.

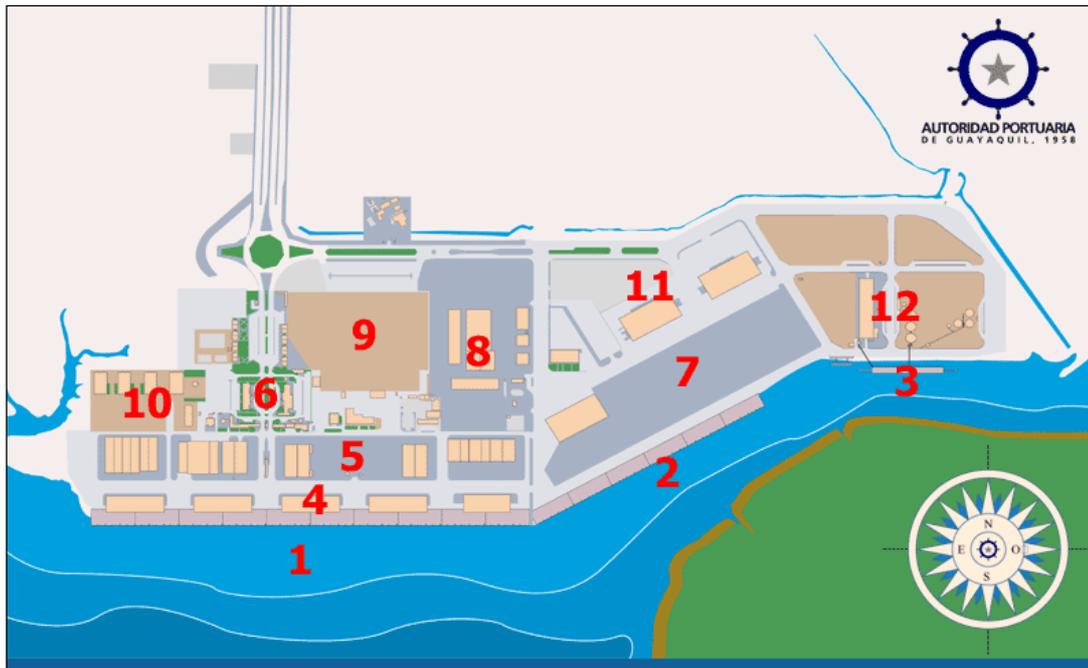


Figura 6. Plano de la Autoridad Portuaria de Guayaquil. Leyenda: 1,2,3 zona de atracaderos y muelles; 4 y 5 zona de bodegas; 6, zona administrativa;7,8,9 zona de contenedores; 10, zona de bodega para carga peligrosa.

2.5.2. Puerto Bolívar, Provincia de El Oro

La necesidad de contacto comercial entre las hoy provincias del Guayas y El Oro principalmente, hizo que se estableciese la ruta marítima entre la ciudad de Guayaquil y Puerto Bolívar, en esta última se desarrollaba la producción bananera y su exportación, iniciándose embarques de fruta a buques que fondeaban en la rada de Puerto Bolívar. Alrededor de 1946, se construye un amarradero de madera en tanto que el desarrollo bananero continuaba, haciéndose indispensable contar con un

muelle. Esta inquietud es transmitida a las autoridades centrales, y éstas autorizan a la Junta de Fomento a realizar los estudios oportunos.

Entre 1964 y 66 se realiza la construcción del muelle de Espigón y en 1968 se terminan las obras complementarias. En 1970 se crea la Autoridad Portuaria de Puerto Bolívar, para que se encargue de la administración y operación del Puerto, bajo el Gobierno Constitucional del Dr. José María Velasco Ibarra.

La ampliación del Puerto comienza en Noviembre de 1974 con la construcción del muelle marginal en una extensión de 360 m, obra que se termina en 1981, incluidas sus obras complementarias. De esta manera se amplía la capacidad del Puerto a cuatro atracaderos.

Las instalaciones presentan las siguientes características:

ATRAQUES	1 Espigón con 2 atraques	
	1 Marginal con 2 atraques	
	1 Espigón de Cabotaje	

Figura 7. Instalaciones de los muelles de Puerto Bolívar.

2.5.3. Puerto López, Provincia de Manabí

El cantón Puerto López se encuentra ubicado en el suroeste de la provincia de Manabí, cuenta con una superficie de 411,69 km² y cerca de 50 km. lineales de franja costera.



Figura 8. Vista Panorámica de Puerto López

Inicialmente fue un pequeño y rústico caserío de pescadores llamado La Ensenada, perteneciente en esa época a la parroquia Machalilla, hasta que por resolución publicada en el Registro Oficial No. 737 del 16 de marzo de 1923, fue creada como parroquia rural del cantón Jipijapa y se la inauguró de manera oficial el 24 de mayo de 1924, durante el gobierno del Dr. José Luis Tamayo.

Situada al suroeste de la provincia, en uno de los parajes más hermosos de la costa ecuatoriana, esta población -cuyos habitantes se dedican de manera especial a labores de pesca marina y algo de agricultura- logró en los últimos años un importante desarrollo turístico y comercial.

2.5.4. Ballenita, Provincia de Santa Elena

Pequeño pero importante puerto de pescadores situado en la Península de Santa Elena, a orillas del Océano Pacífico.



Figura 9. Malecón de Ballenita

En sus playas desembarcó el Capitán Francisco Pizarro el 18 de agosto de 1526, cuando descubrió la península, y le dio ese nombre por existir en sus aguas gran cantidad de esos cetáceos.

2.5.5. La Libertad, Provincia de Santa Elena

La Libertad es uno de los tres cantones / municipios que se encuentran en la Península de Santa Elena, los mismos que conforman la Provincia de Santa Elena, en Ecuador.

Según los descubrimientos arqueológicos, estuvo poblada desde la prehistoria, los asentamientos encontrados datan de 100.000 años A.C.



Figura 10. Puerto de La Libertad

A finales del siglo XIX y a principios del siglo XX, la población nativa de La Libertad estuvo asentada al filo del mar. Se trata de pequeños grupos de pescadores artesanales con una tradición que se ha conservado a lo largo de los últimos cien años. Pero fueron las personas que vinieron desde otras partes del Ecuador (además de inmigrantes chinos, jamaquinos y americanos), quienes inspirados por las posibilidades de trabajo que brindaba la petrolera inglesa Anglo Ecuatorian Oilfields (AEO), que fundaron la capital comercial de la actual provincia de Santa Elena

2.5.6. Punta Carnero, Provincia de Santa Elena



Figura 11. Playa de Punta Carnero

Punta Carnero es una playa ubicada en la parroquia José Luis Tamayo del cantón Salinas, Provincia de Santa Elena. Se denomina así por la punta rocosa del mismo nombre situada al extremo sureste de la playa.

Entre las actividades económicas del sector se destacan el turismo y la producción de sal, pudiéndose encontrar varios pozos productores en dirección a la playa de Mar Bravo. Hasta hace algunos años, se podía ver máquinas automáticas extractoras de petróleo en los terrenos secos y desolados comprendidos entre la playa y la ciudad de La Libertad. Pasando Punta Carnero, existen piscinas de camarones y ciertos laboratorios.

2.5.7. Chanduy, Provincia de Santa Elena



Figura 12. Puerto Pesquero de Chanduy

Parroquia rural del cantón Santa Elena. El poblado original ya existía antes de la llegada de los españoles, y era habitado por los indios Chanduyes, Puneños y Colonchis, íntimamente vinculados a la milenaria cultura Valdivia

Por el año 1650 constituía ya -junto a Santa Elena, El Morro, Chongón y Colonche- una de las cinco parroquias de la tenencia de Santa Elena.

La economía de Chanduy se basa principalmente en la pesca, y ha logrado un importante desarrollo ya que tiene como anexo su puerto pesquero, industrial y comercial -que es uno de los principales del país- donde tienen sus asentamientos varias industrias procesadoras de pescado.

2.5.8. General Villamil Playas, Provincia del Guayas



Figura 13. General Villamil Playas

El cantón General Villamil -de la provincia del Guayas- tiene su cabecera en el populoso y tradicional balneario de Playas. En época de la colonia fue un puerto de pescadores asentado sobre antiguas poblaciones indígenas en el Golfo de Guayaquil.

Poco a poco el pequeño poblado fue desarrollándose, no sólo por el incremento de su actividad pesquera sino porque se convirtió en el principal balneario de la costa. Entonces, debido a su crecimiento, el Gral. Eloy Alfaro dispuso su parroquialización, que se cumplió el 9 de marzo de 1910.

Playas está situada a solo 97 km de Guayaquil, este cantón es de territorio plano hacia el perfil costero y muy sinuoso en la parte noreste, donde existen elevaciones entre los 50 y 100 metros de altura sobre su base.

Las principales actividades económicas del cantón son el turismo, la pesca artesanal, el comercio y la elaboración de artesanías.

2.5.9. Posorja, Provincia del Guayas



Figura 14. Puerto de Posorja

Parroquia rural del cantón Guayaquil de la provincia del Guayas. Situada en el canal del Morro, frente a la isla Puná, en el Golfo de Guayaquil, la población se levanta sobre antiguos asentamientos indígenas que existían mucho antes de la llegada de los españoles.

Para el año 2009, Posorja no solo era uno de los principales puertos pesqueros de la provincia del Guayas sino que a partir del 2010, se dará inicio la construcción del nuevo y magnífico puerto de aguas profundas del Ecuador.

2.5.10. Balao, Provincia del Guayas

Cantón de la provincia del Guayas.

La población -que es una de las más antiguas de la región y ya existía cuando los españoles iniciaron la conquista- nació oficialmente en el año de 1837. A la llegada de los españoles se le dio el nombre de San Antonio de Balao.



Figura 15. Vista del Cantón Balao

Fue uno de los primeros puertos pesqueros que existieron entre Guayaquil y Machala, en una época en la que aún no se había construido la carretera entre estas dos ciudades.

Desde 1884 fue parroquia rural del cantón Guayaquil, condición que mantuvo hasta el 17 de noviembre de 1987, en que el Plenario de las Comisiones Legislativas Permanentes dictó el decreto de su cantonización.

La ciudad de Balao está situada al sur de la provincia del Guayas, cuya aparición como poblado data desde 1835, años en que se destacaba por su abundante y excelente producción de cacao, que se comercializaba por vía marítima con Puná y Guayaquil, con quienes estableció ampliamente el comercio de productos agropecuarios y pesqueros. Actualmente, ocupa una importante zona de producción agrícola y ganadera. El Playón es su principal atracción turística, un sitio hermoso al que se llega por medio de pequeñas

embarcaciones, en donde se puede admirar a los diestros pescadores artesanales de la zona.

2.5.11. Jambelí, Provincia de El Oro



Figura 16. Muelle de Jambelí

Parroquia rural del cantón Santa Rosa de la provincia de El Oro.

Fue creada el 15 de octubre de 1859, cuando Santa Rosa integraba la provincia del Guayas. Posteriormente, al crearse la Provincia de El Oro por decreto del 23 de abril de 1884, pasó a formar parte de esa nueva jurisdicción.

Su cabecera está situada en la Isla Tembleque y la parroquia está constituida principalmente por el pequeño archipiélago de su mismo nombre.

Jambelí es uno de los balnearios de playa más visitado al sur del Ecuador.

2.5.12. Isla Puná, Provincia del Guayas

Puná, es una isla del Cantón Guayaquil, forma parte de la provincia de Guayas. Tiene 919 km² de extensión. Está situada en el Golfo de Guayaquil, frente a la formación deltaica del Estero Salado y del río Guayas, es la tercera isla más grande del país tras Isabela y Santa Cruz.



Figura 17. Vista del muelle de la Isla Puná

Se originó por las acumulaciones de materiales recientes sobre un núcleo más antiguo, formado por rocas volcánicas. Ubicada en la misma embocadura del golfo, entre la punta del Morro y la costa de la provincia de El Oro, está separada de tierra firme por el canal de Jambelí, al sureste, y por el más estrecho canal del Morro, al noroeste. La isla cuenta con un clima tropical seco, por influencia de la corriente de Humboldt. La localidad más importante es Puná, localizada en el noreste de la isla. La pesca es uno de sus principales recursos.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Área de Estudio

Se tomaron 14 muestras de un total de 13 localidades del perfil costero, del Golfo de Guayaquil y proximidades, que incluye puertos marítimos y áreas con actividad naval relevante como se muestra en la figura 18.

El trabajo de campo se extendió por un período de 8 meses, el mismo que comprendió los meses de agosto del 2009 a marzo del 2010.

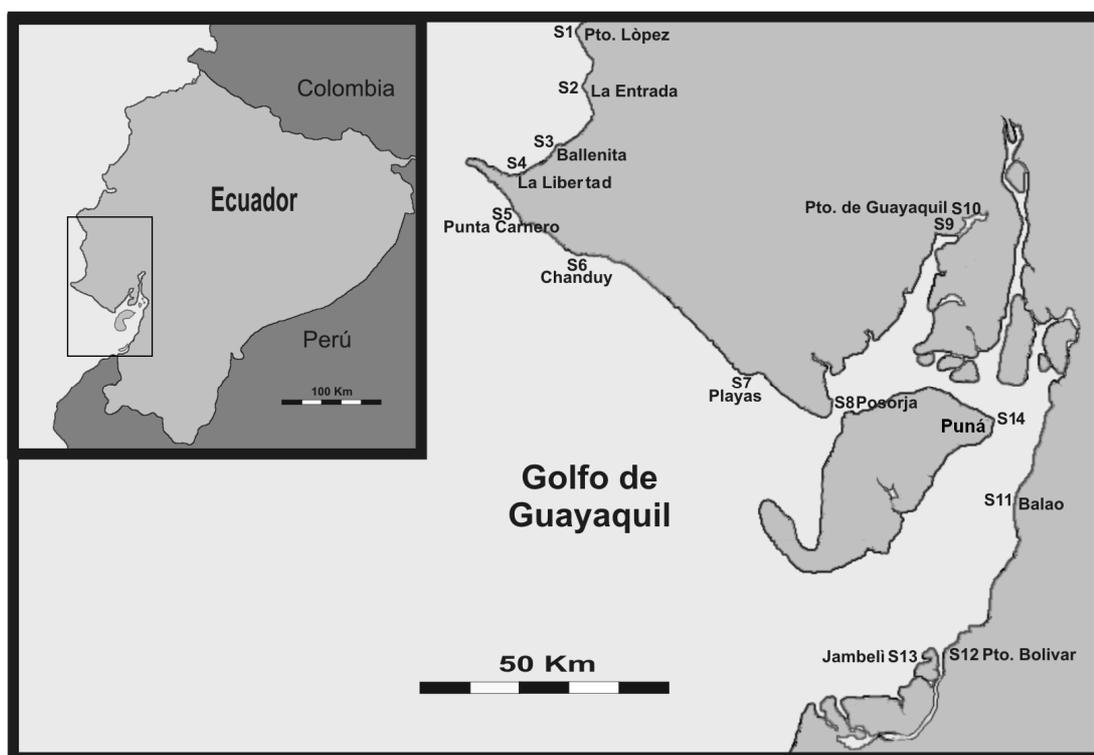


Figura 18. Puntos de muestreos (n=13), localizados en playas y puertos del Ecuador

La definición de los puntos se hizo basado en la observación directa y aparición de las poblaciones de moluscos ubicadas en áreas definidas de la zona intermareal rocosa de puertos y playas con actividad naval o pesquera.

Se trabajó con tres especies del género *Thais* sp. (*T. brevidentata*, *T. biserialis* y *T. kiosquiiformis*) que, según Ramasamy *et al.* (2002), son buenos indicadores de contaminación por TBT para aguas tropicales. En cada estación se tomaron en lo posible hasta 30 ejemplares de cada especie de Murícidos, el cual es un número confiable para aplicar y obtener los índices y frecuencia de imposex, (Bech, 2007). La identificación de los mismos fue “*in situ*” con base en Keen (1971). La colecta de los especímenes se realizó manualmente, en zonas rocosas, pilares de muelles, tuberías y otras superficies duras donde habitan normalmente las especies de este género.

Todas las estaciones de colecta fueron geográficamente referenciadas utilizando un GPS eTREX Summit GARMIN y los respectivos puntos ploteados en un mapa (Fig. 18 y Tab. 2).

Una vez colectados los organismos fueron depositados en frascos plásticos de 500 y 800 ml de boca ancha y llenados con agua de mar, para aplicar la técnica de narcotización y posterior análisis de laboratorio (Figs. 19, 20, 21).



Figura 19. Colectando a *Thais kiosquiiformis*

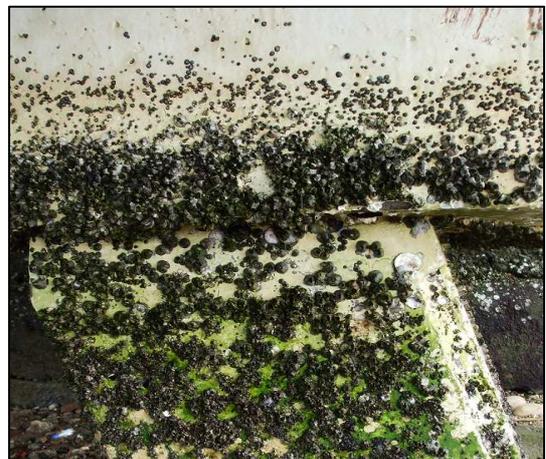


Figura 20. Moluscos adheridos a los pilares de los muelles



Figura 21. Moluscos depositados en frascos de boca ancha

Tabla 2. Estaciones monitoreadas en áreas de influencia y terminales portuarias de Ecuador, con sus respectivos datos de colecta, latitud y longitud

Muestreo (Sitios)	Puerto/Playa	Provincia	Coordenadas
S1	Puerto López	Manabí	S 1° 33.6556' W 80° 49.222'
S2	La Entrada	Manabí	S 1° 43.8777' W 80° 47.0958'
S3	Ballenita	Santa Elena	S 2° 11' 55'' W 80° 41' 31.2''
S4	La Libertad	Santa Elena	S 2° 13' 0.82'' W 80° 54' 21''
S5	Punta Carnero	Santa Elena	S 2° 17' 25.4'' W 80° 54' 43.4''
S6	Chanduy	Santa Elena	S 2° 24' 25.5'' W 80° 41' 31.2''
S7	Playas	Guayas	S 2° 38' 32.4'' W 80° 24' 19.5''
S8	Posorja	Guayas	S 2° 42' 09.1'' W 80° 14' 38.4''
S9	Puerto de Guayaquil	Guayas	S 2° 16' 40.4'' W 80° 54' 21''
S10	Puerto de Guayaquil	Guayas	S 2° 17' 01.2'' W 79° 53' 56.4''
S11	Balao	Guayas	S 2° 55' 28.7'' W 79° 51' 06.3''
S12	Puerto Bolívar	El Oro	S 3° 10' 14.7'' W 80° 00' 13.7''
S13	Jambelí	El Oro	S 3° 14' 33.7'' W 80° 02' 56.2''
S14	Puná	Guayas	S 2° 44' 28.11'' W 79° 54' 69.4''

3.2. Procedimiento de Laboratorio

Las muestras fueron transportadas hasta el Laboratorio de Macrobentos del Instituto de Investigaciones de Recursos Naturales (IIRN) de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil, en el cual se llenaron las hojas de registros con los datos de campo y laboratorio (Figura 22). Luego, los gasterópodos fueron depositados en bandejas y narcotizados por un período de 2 a 4 horas, en una solución de cloruro de magnesio al 3,5% (Huet *et al.*, 1995), preparada en agua de mar. Pasado este tiempo se procedió a medirlos desde la punta del canal sifonal anterior hasta el ápice con la ayuda de un vernier o pie de rey (Figura 23). Empleando una prensa y pinzas punta gruesa y fina, se procede a romper las conchas, examinar las partes blandas (Figs. 24, 25, 26) y medir el pene en machos y hembras con imposex (Fig. 27).



Figura 22. Medición y registro de datos



Figura 23. Medición de la longitud de *T. kiosquiformis* mediante un calibrador digital



Figura 24. Ruptura de una concha mediante el uso de la prensa

Figura 25. Obtención de partes blandas de los organismos

Figura 26. Examen de partes blandas



Figura 27. Medición del pene en un macho de *T. kiosquiformis*

3.3. Identificación de Imposex en *T. brevidentata*, *T. biserialis* y *T. kiosquiformis*

La determinación sexual fue a través de la presencia del receptáculo seminal presente únicamente en hembras así como lo es la próstata en los machos, también se tomó en consideración para el sexado la coloración de las gónadas (Figs. 30, 31). Los animales que presenten receptáculo seminal y pene o vaso deferente, fueron considerados hembras con algún grado de imposex (Figs. 28, 29). Los penes de los machos y las hembras con imposex fueron medidos utilizando una lámina milimetrada, tal como se muestra en la Fig. 27(Castro, 2005).

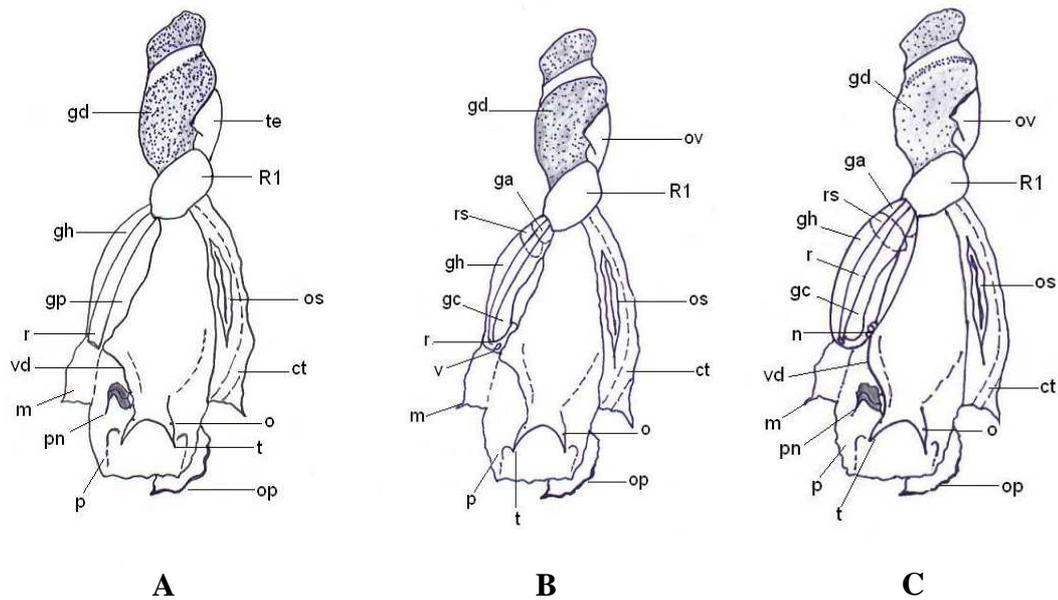


Figura 28. Estructuras Anatómicas de un organismo perteneciente al género *Thais*, según Horiguchi *et al.*(1994). Leyenda: (A) Macho, (B) Hembra, (C) Imposex grado III/IV. ct, ctenidio; ga, glándula del albúmen; gc, glándula de la cápsula; gd, glándula digestiva; gh, glándula hypobranquial; gp, glándula prostática; m, manto; n, nódulo; o, ojo; op, opérculo; os, osfradio; ov, ovario; p, pie; pn, pene; r, recto; rs, receptáculo seminal; R1, riñón; t, tentáculo; te, testis; v, vulva; vd, vaso deferente.

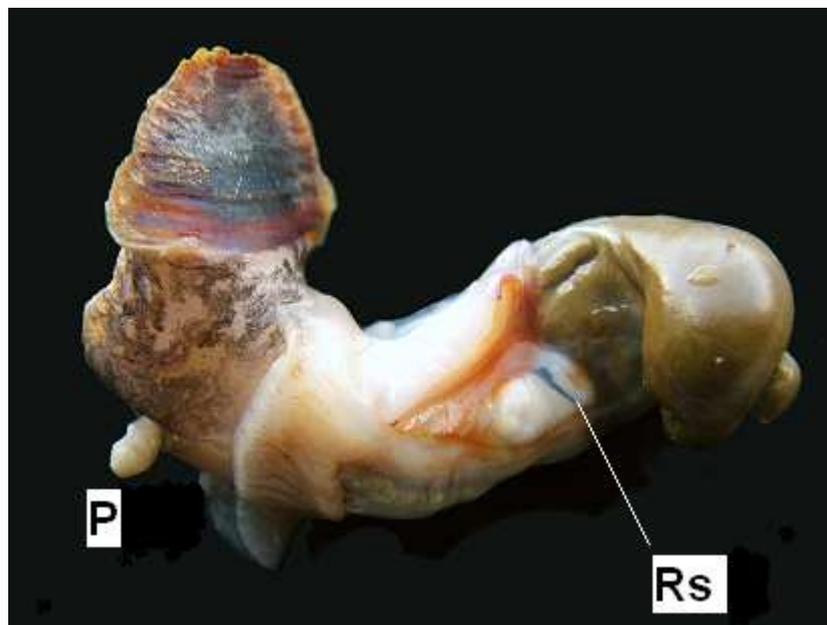


Figura 29. Hembra del Género *Thais* con pene (indicación de imposex), P: pene; Rs: receptáculo seminal (Castro, 2002).

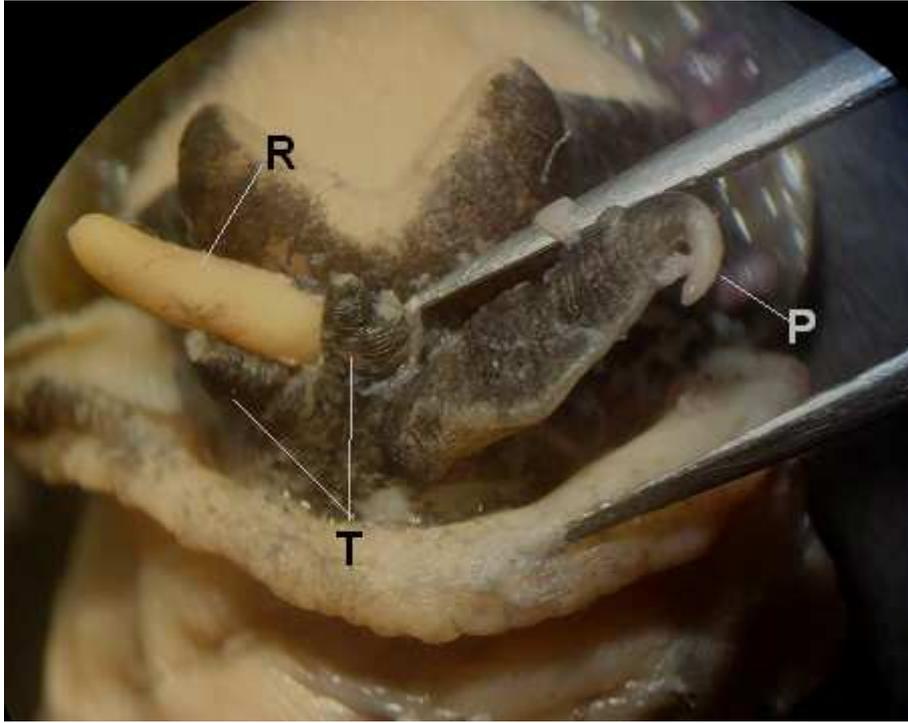


Figura 30. Ejemplar macho, donde P: pene; T: tentáculos oculares y R: rádula.

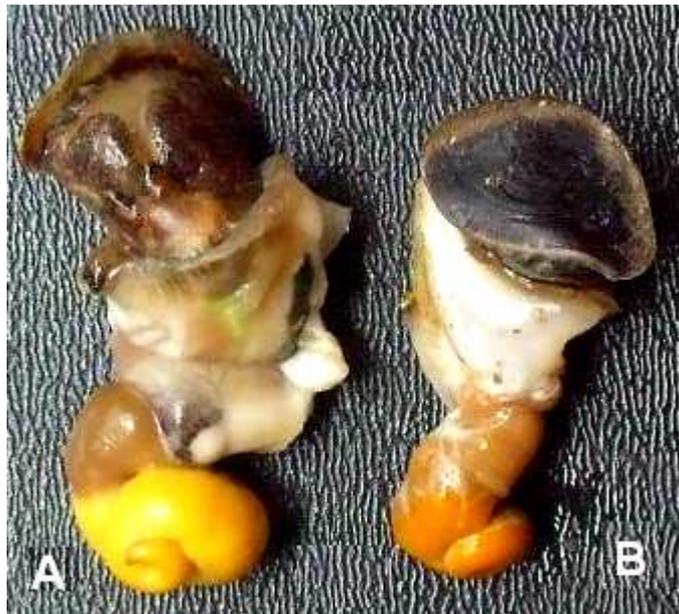


Figura 31. Coloración diferencial de las gónadas en Hembras (A) y Machos (B)

3.3.1. Indicadores de Imposex

Para hacer una cuantificación de los niveles de imposex se emplearon tres indicadores: Prevalencia de imposex, Relative Penis Length Index (RPLI) (Tan, 1997) y Vas Deferens Sequence Index (VDSI). Las formulaciones de los índices calculados se presentan a continuación.

$$\text{Prevalencia del imposex} = \frac{\text{hembras con imposex}}{\text{Total de hembras}} \times 100$$

$$\text{RPLI} = \frac{\text{Longitud media pene de machos}}{\text{Longitud media pene de hembras}} \times 100$$

El índice de la Secuencia de Desarrollo del Vaso Deferente (VDSI) propuesto por Gibbs y Bryan (1987) determina, mediante una escala que consta de 6 estadios, la secuencia de desarrollo del imposex en cada uno de los animales estudiados. Este índice se basa en el tamaño del pene y la formación del conducto deferente de cada hembra observada (Fig. 32).

El VDSI, es considerado como el mejor índice de biomonitoreo de contaminación por TBT al proveer de información sobre la capacidad reproductiva de la población. El reconocimiento de los diferentes estadios de desarrollo del vaso deferente confiere un método más sensitivo para categorizar la intensidad de la expresión del imposex (Ramasamy *et al* 2002).

Las seis etapas o grados de imposex son los siguientes:

Estadio 1. Hembra mostrando la pronta formación de un conducto deferente en la región ventral de la papila genital. No hay formación de pene.

Estadio 2. Se observa el inicio del desarrollo del pene, cerca del tentáculo derecho y el crecimiento del vaso deferente.

Estadio 3. Pequeño pene completamente formado y el conducto deferente creciendo en dirección al mismo.

Estadío 4. El conducto deferente se conecta con el pene ya más desarrollado. Esta es la última etapa en la que la hembra sigue siendo capaz de reproducir.

Estadío 5. El epitelio que forma el conducto deferente crece bloqueando la abertura genital de la hembra, causando fracaso reproductivo de la misma debido a la obstrucción de la abertura genital.

Estadío 6. La hembra sigue produciendo cápsulas que no pueden ser eliminadas debido a la obstrucción de la abertura de su genital, estas cápsulas abortadas se acumulan provocando la muerte del animal.

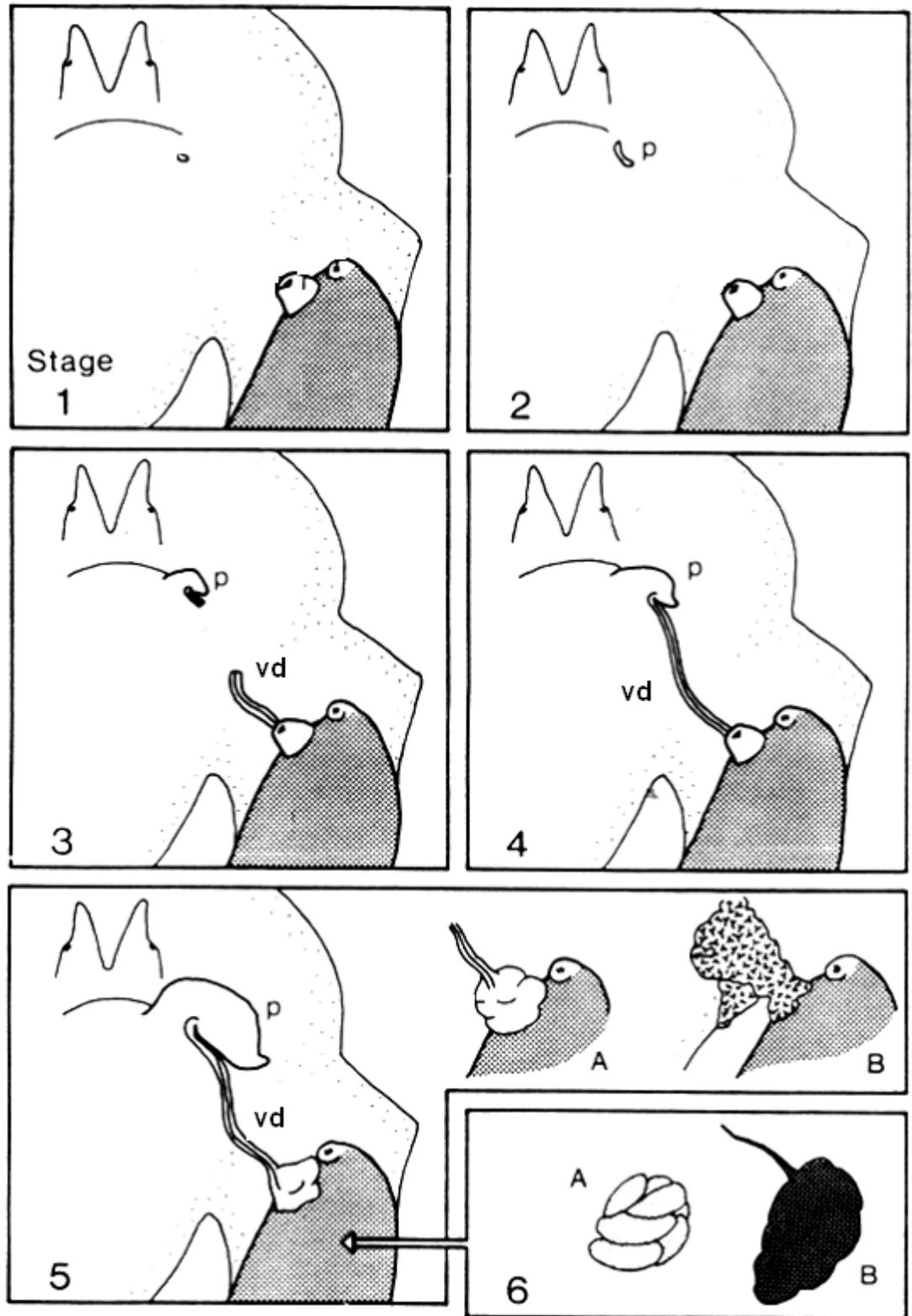


Figura. 32. Estadíos de desarrollo del pene y vaso deferente (VDSI) propuesto por Gibbs *et al* (1987) para *Nucella lapillus*.

4. RESULTADOS

4.1. Descripción de Imposex en Tres Especies de Murícidos

Se muestrearon 14 localidades diferentes desde la región sur hasta el centro del perfil costero ecuatoriano, de las cuales 2 no presentaron ocurrencia de imposex (La Entrada y Punta Carnero). Fueron colectados y analizados un total de 467 organismos pertenecientes a tres especies (*Thais biserialis*, *T. brevidentata* y *T. kiosquiformis*), de ellos 235 fueron hembras (50,3 %) y 232 ejemplares fueron machos (49,7 %), la proporción hembra-macho tuvo tendencia a la unidad (1:1). La ocurrencia de imposex reflejado en el total de hembras colectadas fue alto, llegando a una prevalencia del 79,6 %.

Los resultados que se muestran a continuación describen como se manifestó el imposex por especies colectadas a lo largo del perfil costero ecuatoriano.

4.1.1. *Thais brevidentata*

Se colectaron un total de 204 ejemplares en ocho localidades diferentes ubicadas en el litoral oceánico de las costas ecuatorianas (Fig. 33), del total de organismos el 56% eran hembras y el restante 44% pertenecían a machos. La diferenciación sexual se hizo con la identificación del receptáculo seminal presente únicamente en hembras así como lo es la próstata en machos, también se tomó en consideración para el sexado la coloración de las gónadas (Fig. 31). Las hembras que presenten receptáculo seminal y pene o vaso deferente, fueron consideradas hembras con algún grado de imposex. Del total de hembras muestreadas el 57,9 % mostraron imposex.

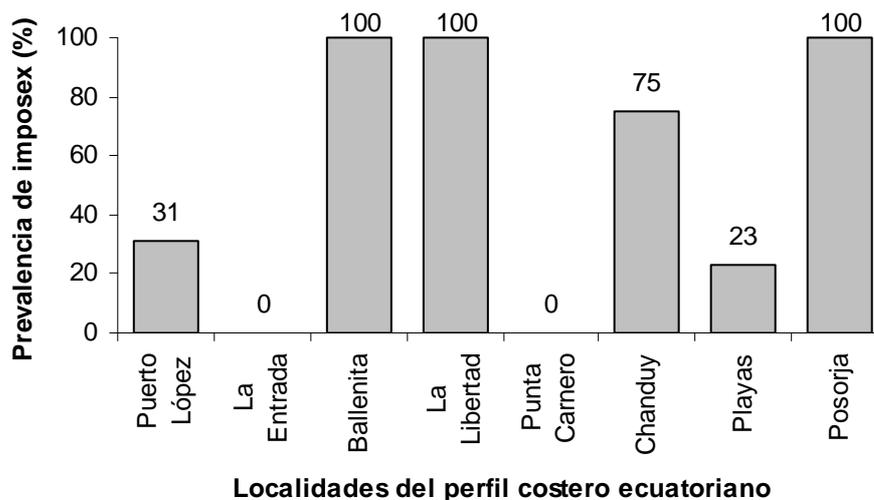


Figura 33. Localidades donde fueron colectados los ejemplares de *T. brevidentata*, y el porcentaje de imposex en hembras.

El análisis del imposex, respecto al grado de intensidad mostrado, indicó que todas las hembras afectadas presentaron una pequeña papila (0,1 mm) como inicio de la formación de un pene ubicada en la parte posterior del tentáculo derecho, lo que caracteriza al VDSI Grado I, comportamiento típico del género *Thais* (Fig. 35 A).

4.1.2. *Thais biserialis*

Se colectaron un total de 42 ejemplares solo en dos localidades (La Libertad y Chanduy) de las catorce monitoreadas, y coincidentemente a lo ocurrido con *T. brevidentata*, fueron localidades bañadas directamente con agua de mar oceánica. Los sexos estuvieron repartidos en un 50%, cada uno. Para la diferenciación sexual se verificaron las mismas variables (presencia de pene, receptáculo seminal, coloración de gónadas), que en *Thais brevidentata*. La prevalencia de imposex en hembras fue del 100%, mientras que la intensidad del imposex se presentó en un rango comprendido entre los Grados I y III. Siendo los Grados II y III los de mayor abundancia entre la población de moluscos con un 43% y 38%, respectivamente (Fig. 34). Tal como se presenta en la Figura 35 B y 35 C, la caracterización del Grado II es

por el desarrollo de un pene cerca del tentáculo derecho, así como el crecimiento del vaso deferente y la del Grado III por la presencia de un pene pequeño completamente formado con un vaso deferente creciendo en dirección al pene.

4.1.3. *Thais kiosquiformis*

Un total de 221 organismos fueron colectados en seis localidades diferentes (Posorja, P. de Guayaquil, Balao, P. Bolívar, Jambelí y Puná) pertenecientes al perfil costero del Golfo de Guayaquil con influencia de agua de menor salinidad (10 – 20 ‰) en comparación al agua oceánica del perfil ecuatoriano (34‰); de los moluscos colectados el 45,2 % fueron hembras y un 54,8 % fueron machos. La diferenciación sexual se realizó con la ubicación de las mismas variables que se emplearon para *T. brevidentata* y *T. biserialis*. Todas las hembras colectadas presentaron imposex, y el nivel de imposex se presentó en un rango comprendido entre los Grados del I-V. Los dos últimos estadios (IV – V), se caracterizan porque el primero corresponde a la última fase en que la hembra puede reproducirse (Fig. 35 D) y el segundo porque el conducto deferente bloquea el poro genital de la hembra, impidiendo su reproducción. La mayor cantidad de organismos se concentraron en los grados III y IV con un porcentaje del 36% y 33%, respectivamente (Fig. 34).

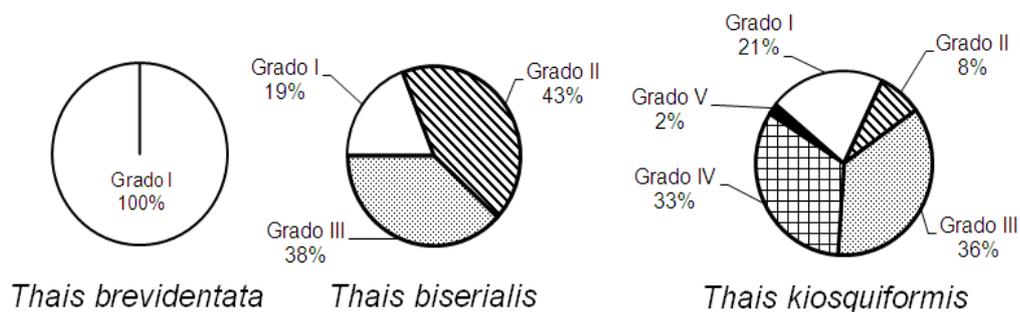


Figura 34. Grados de imposex presentados en hembras de las tres especies de murícidos colectados en costas ecuatorianas.



Figura 35. Grados de Imposex del I al IV en *Thais kioquiiformis*. A: Grado I, B: Grado II, C: Grado III y D: Grado IV.

4.2. Diferencias de Sensibilidad entre los Murícidos Estudiados

Durante la realización del presente estudio fue verificada la ocurrencia de imposex en tres distintas especies de moluscos pertenecientes a la familia Muricidae (*Thais biserialis*, *Thais kiosquiformis* y *Thais brevidentata*). Para un mejor criterio de selección de las especies como bioindicadores, se hicieron comparaciones de sensibilidad entre ellas por contaminación de compuestos organoestañosos para un mismo punto de muestreo. Esas comparaciones fueron hechas para especies que fueron colectadas en los mismos sitios, lo cual sugiere que la exposición a los compuestos organoestañosos fue la misma. Teniendo como base lo antes dicho, sólo hubieron tres localidades donde se colectaron por coincidencia dos especies diferentes: “La Libertad”, “Chanduy” y “Posorja” (Tab. 3). Las combinaciones de especies emparejadas fueron: *T. brevidentata* con *T. biserialis* en las localidades de La Libertad y Chanduy, y *T. brevidentata* con *T. kiosquiformis* en la localidad de Posorja. Debido a la ocurrencia diferencial, solo se podrá comparar la sensibilidad de *T. brevidentata* en relación a las demás especies. En la figura 36, se puede observar como las especies *Thais kiosquiformis* y *Thais biserialis* presentan la mayor sensibilidad cuando fueron comparadas con *Thais brevidentata*, donde para todas las localidades se reflejó en las hembras afectadas una menor longitud relativa del pene para la especie de *T. brevidentata*, y consecuente un menor grado de imposex (Fig. 36).

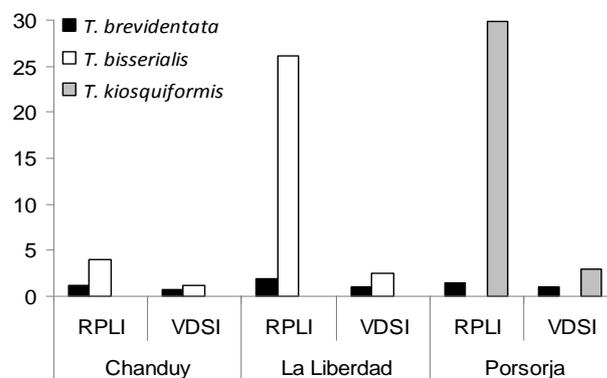


Figura 36. Indicadores de imposex: RPLI (%) y VDSI (Grados), para hembras de las tres especies.

Tabla 3. Prevalencia de imposex en *Thais biserialis*, *Thais brevidentata* y *Thais kiosquiiformis*, en diferentes puntos del perfil costero ecuatoriano. Sombreadas las celdas correspondientes a lugares con dos especies diferentes.

Localidad	Especies	Prevalencia de Imposex (%)
Pto. López	<i>Thais brevidentata</i>	31
La Entrada	<i>Thais brevidentata</i>	0
Ballenita	<i>Thais brevidentata</i>	100
La Libertad	<i>Thais biserialis</i>	100
	<i>Thais brevidentata</i>	100
Punta Carnero	<i>Thais brevidentata</i>	0
Chanduy	<i>Thais biserialis</i>	100
	<i>Thais brevidentata</i>	75
Playas	<i>Thais brevidentata</i>	23
Posorja	<i>Thais brevidentata</i>	100
	<i>Thais kiosquiiformis</i>	100
Pto. de Guayaquil	<i>Thais kiosquiiformis</i>	100
Balao	<i>Thais kiosquiiformis</i>	100
Pto. Bolívar	<i>Thais kiosquiiformis</i>	100
Jambelí	<i>Thais kiosquiiformis</i>	100
Puná	<i>Thais kiosquiiformis</i>	100

Analizando la prevalencia que pudo tener el imposex en las hembras de las tres especies estudiadas, resalta el comportamiento de *T. biserialis* y *T. kiosquiiformis* quienes fueron las especies donde el 100% de las hembras colectadas estuvieron afectadas, lo cual sugiere una mayor sensibilidad para estas especies (Tab. 3). Además, *T. biserialis* fue la especie con menos ocurrencia en cuanto a presencia (La Libertad y Chanduy) y cantidad de individuos colectados en el perfil costero ecuatoriano, lo que puede indicar niveles de afectación mayor de la población debido a su sensibilidad. La menor sensibilidad nuevamente se refleja en *T. brevidentata*, pues fue la única de las especies que presentó prevalencias inferiores al 100% en hembras colectadas (P. López: 31%, Chanduy: 75% y Playas: 23%).

4.3. Niveles de Imposex en el Perfil Costero Ecuatoriano

Puerto López:

En el puerto pesquero artesanal Puerto López se colectó únicamente la especie *T. brevidentata*, donde las hembras afectadas con imposex mostraron un RPL del 0,4%. Todas las hembras afectadas tuvieron una clasificación de Grado I (Tab. 4 y Fig. 37).

Ballenita:

En el pequeño puerto pesquero artesanal y balneario de Ballenita se colectó únicamente la especie *T. brevidentata*, donde las hembras afectadas con imposex mostraron un RPL del 2,8%. Todas las hembras afectadas tuvieron una clasificación de Grado I (Tab. 4 y Fig. 37).

La Libertad:

En el puerto pesquero y mercante de La Libertad se colectaron las especies *T. brevidentata* y *T. biserialis*. Las hembras de *T. brevidentata* afectadas con imposex mostraron un RPL del 1,9%. Todas las hembras con imposex tuvieron una clasificación de Grado I. Para el caso de *T. biserialis* las hembras tuvieron un RPL del 26,1 %, repartidos entre los Grados II y III al 50% cada uno (Tab. 4 y Fig. 37).

Chanduy:

En el puerto pesquero de Chanduy colectaron las especies *T. brevidentata* y *T. biserialis*. Las hembras de *T. brevidentata* afectadas con imposex mostraron un RPL del 1,2%. Todas las hembras con imposex tuvieron una clasificación de Grado I. Para el caso de *T. biserialis* las hembras tuvieron un RPL del 4,0 %, repartidos entre los Grados I y II con 80 y 20% respectivamente (Tab. 4 y Fig. 37).

Playas:

En el puerto pesquero artesanal y balneario de General Villamil Playas, se colectó únicamente la especie *T. brevidentata*, donde las hembras afectadas con imposex mostraron un RPL del 0,4%. Todas las hembras afectadas tuvieron una clasificación de Grado I (Tab. 4 y Fig. 37).

Posorja:

En el puerto pesquero industrial y artesanal de Posorja, se colectaron las especies *T. brevidentata*, y *T. kiosquiiformis*. Las hembras de *T. brevidentata* afectadas con imposex mostraron un RPL del 1,5%, y una clasificación de Grado I. Para el caso de *T. kiosquiiformis* las hembras tuvieron un RPL del 29,8 %, repartidos entre los Grados II, III y IV con 25%, 50% y 25% respectivamente (Tab. 4 y Fig. 37).

Puerto de Guayaquil:

En el puerto mercante de Guayaquil se establecieron dos puntos de colecta, el primero corresponde al área turística del puerto y el segundo netamente al área mercante. En ambos puntos se encontró únicamente a la especie *T. kiosquiiformis*, donde las hembras afectadas con imposex mostraron un RPL del 19,0 % y 23,7%, para las áreas turística y mercante respectivamente. En el caso del área turística, los Grados de imposex estuvieron entre III y IV con 13% y 87%, respectivamente. Para el caso de la zona mercantil los Grados estuvieron repartidos entre III, IV y V, con 23%, 69% y 8%, respectivamente (Tab. 4 y Fig. 37).

Balao:

En el puerto pesquero artesanal de Balao se encontró únicamente a la especie *T. kiosquiiformis*, donde las hembras afectadas con imposex mostraron un RPL del 23,5%, con Grados de imposex repartidos entre I, III y IV con un 9%, 82% y 9%, respectivamente (Tab. 4 y Fig. 37).

Puerto Bolívar:

En este puerto pesquero y mercante se encontró únicamente a la especie *T. kiosquiiformis*, donde las hembras afectadas con imposex mostraron un RPL del 40,7%, con Grados de imposex repartidos entre II, III y IV con un 23%, 62% y 15%, respectivamente (Tab. 4 y Fig. 37).

Jambelí:

En el puerto pesquero artesanal y balneario de Jambelí sólo se encontró a la especie *T. kiosquiiformis*, donde las hembras afectadas con imposex mostraron un RPL del 9%, con Grados de imposex repartidos entre I y II con un 50% cada uno (Tab. 4 y Fig. 37).

Puná:

En el puerto pesquero artesanal de la Isla Puná se establecieron dos puntos de colecta, el primero correspondiente al muelle de embarque y desembarque de turistas, productos pesqueros y mercancía en general, y el segundo fue un balneario a 1000 metros del muelle principal. En ambos puntos se encontró únicamente a la especie *T. kiosquiformis*, donde las hembras afectadas con imposex mostraron un RPL del 28,3 % y 1,5%, para las áreas del muelle y balneario, respectivamente. En el caso del muelle, los Grados de imposex estuvieron entre I, III y IV con 31%, 44% y 25%, respectivamente. Para el caso del balneario aledaño, todos los organismos presentaron Grado I (Tab. 4 y Fig. 37).

Tabla 4. Longitud promedio del pene, longitud relativa del pene (RPL) e intensidad de imposex para hembras de *Thais biserialis* (A), *Thais brevidentata* (B) y *Thais kiosquiformis* (C), en diferentes puntos del perfil costero ecuatoriano.

Localidad/ Punto de Muestreo	Especies	Longitud promedio del pene en hembras (mm)	RPL (%)	Grados de Imposex (%)					
				0	I	II	III	IV	V
Pto. López	B	0,1	0,4	69	31	0	0	0	0
La Entrada	B	0,0	0,0	100	0	0	0	0	0
Ballenita	B	0,1	2,8	0	100	0	0	0	0
La Libertad	A	1,6	26,1	0	0	50	50	0	0
	B	0,1	1,9	0	100	0	0	0	0
Punta Carnero	B	0,0	0,0	100	0	0	0	0	0
Chanduy	A	0,3	4,0	0	80	20	0	0	0
	B	0,1	1,2	25	75	0	0	0	0
Playas	B	0,1	0,4	77	23	0	0	0	0
Posorja	B	0,1	1,5	0	100	0	0	0	0
	C	2,0	29,8	0	0	25	50	25	0
Pto. de Guayaquil (1)	C	2,3	19,0	0	0	0	13	87	0
Pto. de Guayaquil (2)	C	2,8	23,7	0	0	0	23	69	8
Balao	C	2,0	23,5	0	9	0	82	9	0
Pto. Bolívar	C	2,0	40,7	0	0	23	62	15	0
Jambelí	C	0,6	9,0	0	50	50	0	0	0
Puná (muelle)	C	1,7	28,3	0	31	0	44	25	0
Puná (balneario)	C	0,1	1,5	0	100	0	0	0	0

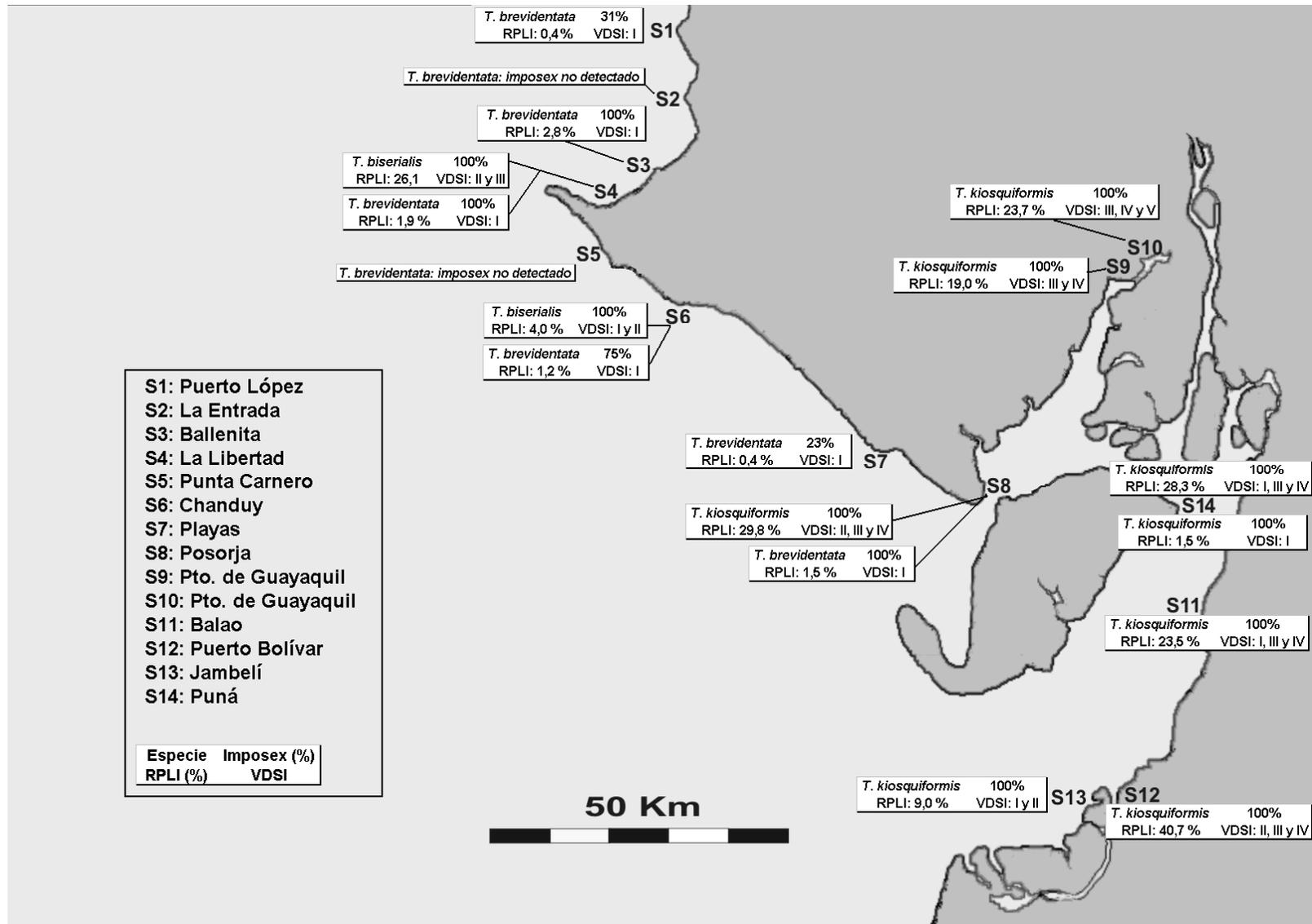


Figura 37. Resultados del monitoreo realizado en el perfil costero ecuatoriano para las especies *T. brevidentata*, *T. biserialis* y *T. kiosquiformis*. Prevalencia de imposex (%), RPLI (%) y VDSI.

5. DISCUSIÓN

5.1. Descripción de Imposex en Tres Especies de Murícidos

El presente estudio es el primer reporte para Ecuador en cuanto a detección y cuantificación de imposex en el perfil costero ecuatoriano, así como es también, el primer registro sudamericano de imposex para la especie *Thais kiosquiformis*. Se seleccionaron tres distintas especies de murícidos con la idea de escoger el más apropiado bioindicador para contaminación por TBT en el agua. La práctica demostró que en ningún punto de muestreo coincidieron las tres especies seleccionadas, situación similar reporta Li y Collin (2005) cuando estudiaron el imposex en gasterópodos por acción del tributilestaño, en una de las zonas de embarque más ocupadas del mundo (Canal de Panamá).

En el perfil costero ecuatoriano, la proporción hembra-macho en poblaciones de caracoles del género *Thais* (*Thais brevidentata*, *Thais biserialis* y *Thais kiosquiformis*), presentó tendencia a la unidad (1:1), el mismo resultado para murícidos fue reportado en los estudios de Flores *et al.* (2007), Matsuo y Habe (1969) y Tan (1997) y así como la generalidad de la bibliografía que aborda temas de estructura poblacional en moluscos del género *Thais*. Las proporciones iguales en la estructura de sexos indica que las poblaciones de moluscos a pesar de estar afectadas con imposex, el nivel de afección no es suficiente para provocar daños en la fertilidad de las hembras o una mortalidad que afecte las proporciones de sexo dentro de las poblaciones, como ocurrió en el estudio de Osorio y Huaquín (2003) donde se presentó una mayor cantidad de machos atribuyendo una mortalidad diferencial a causa de la contaminación por compuestos organoestañosos. Además, la similitud de proporción sexual sugiere que el tamaño de muestra seleccionado para el estudio (n=30) fue óptimo para estudiar algún otro comportamiento en las poblaciones, como es el caso del imposex.

Thais brevidentata.

La prevalencia de imposex mostrada por las hembras de *T. brevidentata* (60 %) resultó considerablemente alta si la comparamos con la mostradas para organismos de la misma especie colectados en la costa pacífica de Costa Rica como lo muestra el trabajo realizado por Gravel *et al.* (2006) y resultados de las investigaciones de Li y Collin (2005) en murícidos Panameños. Esto se debe a que se muestrearon localidades con intensa actividad pesquera, artesanal e industrial. En cuanto al tamaño promedio del pene, las hembras afectadas tuvieron un crecimiento incipiente de hasta 0,1 mm. correspondiente al Grado I como es descrito en la literatura de Gibbs y Bryan (1987). El mayor valor de RPLI para la especie en el perfil ecuatoriano fue de 2,8% (Ballenita), porcentaje que esta muy por debajo de los obtenidos por Osorio y Huaquín (2003) para imposex en hembras del mismo género.

Thais biserialis

Los organismos de *T. biserialis* representaron sólo un 9% del total de organismos muestreados, constituyendo una presencia baja en relación con las otras dos especies colectadas. El fenómeno imposex se presentó con una prevalencia del 100%, para el RPLI, el mayor valor reportado para esta especie en el perfil costero ecuatoriano fue de 26,1% (La Libertad), porcentaje que contrasta con el 14.3% obtenido por Ramasamy *et al.* (2002), para hembras de la misma especie, en el puerto mercante de Tuticorin en la India.

Thais kiosquiformis

Un total de 221 organismos fueron colectados pertenecientes al perfil costero del Golfo de Guayaquil de los cuales el 45% fueron hembras y un 55% fueron machos. El imposex se presentó en un 100%, valor alto, si se compara con los obtenidos por Li y Collin (2005) en los alrededores del Canal de Panamá (13% y 29%). El hecho de que la especie haya alcanzado los niveles más altos en Grados de imposex (hasta Grado IV-V) pudo deberse

a que existen fuentes de contaminación muy fuertes cerca de los puntos de colecta y también porque las aguas del Golfo tienen poco recambio comparado con aguas de mar abierto.

5.2. Diferencias de Sensibilidad entre los Murícidos Estudiados

Analizando el máximo nivel en grados de intensidad de imposex (VDSI) registrado en las costas ecuatorianas se destaca que, *Thais brevidentata* alcanzó como máximo Grado I, *Thais biserialis* presentó en el mismo sentido Grado III y *Thais kiosquiformis* alcanzó Grado V como máximo nivel de afectación. Se debe resaltar que debido a la ausencia de las tres especies de manera simultánea en cada punto de muestreo, no se pudo comparar la sensibilidad entre las tres especies seleccionadas, similar situación encontró Tan, (1997) cuando investigó la sensibilidad de tres especies del Género *Thais* en Singapur, donde ante tal situación los autores recomendaron experimentos de laboratorio con un diseño adecuado que permita identificar simultáneamente la sensibilidad de varias especies ante un contaminante disuelto en agua como el TBT que complementarán lo observado en el campo. Para el caso de nuestro estudio, sólo hubieron tres localidades donde se colectaron por coincidencia dos especies diferentes: “La Libertad”, “Chanduy” y “Posorja” (Tab. 3). Las comparaciones posibles entre especies emparejadas fueron: *T. brevidentata* con *T. biserialis* en las localidades de La Libertad y Chanduy, y *T. brevidentata* con *T. kiosquiformis* en la localidad de Posorja.

Un análisis de sensibilidad de los moluscos ante la contaminación por TBT en el agua puede usar la herramienta de la prevalencia que pudo tener el imposex en las hembras de las tres especies estudiadas. Resalta el comportamiento de *T. biserialis* y *T. kiosquiformis* quienes fueron las especies donde el 100% de las hembras colectadas estuvieron afectadas, lo cual sugiere una mayor sensibilidad para estas especies. La menor sensibilidad se refleja en *T. brevidentata*, pues fue la única de las especies que presentó prevalencias inferiores al 100% en hembras colectadas (P. López:

31%, Chanduy: 75% y Playas: 23%). Otro análisis para evidenciar sensibilidad diferencial entre especies es según los indicadores RPLI y VDSI para lo cual fueron las especies *T. kioquiiformis* y *T. biserialis* las de mayor sensibilidad comparadas con *T. brevidentata* donde para todas las localidades sus hembras presentaron la menor intensidad de imposex con Grado I (Fig. 36).

5.3. Niveles de Imposex en el Perfil Costero Ecuatoriano

El quehacer marítimo ecuatoriano está servido por un significativo flujo de líneas navieras nacionales e internacionales (al país llegan un promedio anual de 2.800 naves), esta intensa actividad nos motivó a monitorear algunos de los principales puertos, muelles y playas con la finalidad de aplicar índices que nos permitieran determinar en que intensidad el imposex está afectando a los gasterópodos murícidos del perfil costero ecuatoriano. Son pocas las investigaciones que se han realizado a nivel de la costa pacífica así tenemos a Flores *et al* (2007) en México, Gravel *et al* (2006) en Costa Rica, Li y Collin (2005) en Panamá pero para Sudamérica son más escasos aún pudiendo citar el de Osorio y Huaquín (2003) en Chile, situación que contrasta con las investigaciones llevadas a cabo en la costa atlántica sudamericana donde Brasil se perfila como el país que mayor cantidad de trabajos de investigación y mayor dominio del tema posee (Castro *et al.*, 2000, Fernandez *et al.*, 2002, Camilo *et al.*, 2004, Castro *et al.*, 2004, Castro *et al.*, 2005, Castro *et al.*, 2005b, Cavalcante - Braga *et al.*, 2006, Lima *et al.*, 2006, Castro *et al.*, 2007, Castro *et al.*, 2007b, Castro *et al.*, 2007c, Queiroz *et al.*, 2007, Castro *et al.*, 2008, Meirelles *et al.*, 2008, Lima_Verde *et al.*, 2009).

De las trece localidades monitoreadas las siete primeras (de norte a sur) se encuentran bañadas por aguas oceánicas con salinidades que promedian un valor de 34 ‰, donde hubo presencia de *Thais brevidentata* y *Thais biserialis*. *T. brevidentata* presentó los valores más altos en 4 localidades, esto se debe a que el puerto de La Libertad, Chanduy y Posorja son puertos de alta actividad mercante y artesanal, el caso de Ballenita

podría deberse a su proximidad con La Libertad. El porcentaje más bajo lo tuvo en Playas (23%), esto se explica a que la colecta de los organismos se lo hizo en la parte turística del balneario, donde era casi nula la presencia de botes y pangas. *T. biserialis* se presentó siempre de manera simultánea con *T. brevidentata* y con valores máximos de porcentaje de imposex en localidades de alto flujo naviero.

Dentro del Golfo de Guayaquil se muestrearon 6 localidades en las cuales sólo se encontró, de las tres especies del estudio, a *Thais kiosquiformis*. Este comportamiento en cuanto a ocurrencia de especies se debe a las condiciones de salinidad en el agua del perfil costero del Golfo, el cual está considerado como una región de estuario donde la salinidad se puede encontrar en un rango de 5 ‰ a 20 ‰; y según la literatura especializada en el estudio de poblaciones *Thais kiosquiformis* es catalogado como el “caracol del manglar” (Koch y Wolff, 1996). También se debe destacar que el imposex se presentó en todas las hembras colectadas. Cabe resaltar que las poblaciones de *T. kiosquiformis* son las más afectadas, debido a que en esta región los grados de imposex alcanzaron sus mayores valores e índices del perfil costero ecuatoriano, como fue el caso del puerto de Balao, Puerto de Guayaquil y Puerto Bolívar (Fig. 37), estos resultados se justifican debido a que son puertos de carga industrial de alto calado y artesanal con intenso flujo naviero.

T. kiosquiformis es la especie más indicada para este tipo de monitoreos en áreas de ambiente estuarino, por otro lado, *T. biserialis* es la especie más apropiada para áreas marinas con salinidades superiores a 30‰.

6. CONCLUSIÓN

- Se observó por la primera vez el imposex en perfil costero del Ecuador.
- Se observó por primera vez el imposex en *Thais kiosquiformis* para Sudamérica.
- Se determinó como se presenta el imposex en tres especies de la Familia Muricidae (*Thais brevidentata*, *Thais biserialis* y *Thais kiosquiformis*) colectadas en trece localidades del perfil costero ecuatoriano.
- La detección del imposex en especies de murícidos indica el efecto de la contaminación por compuestos orgánicos del estaño en las costas del perfil costero ecuatoriano.
- No se pudo definir el comportamiento diferencial en cuanto a sensibilidad por especies a los compuestos organoestañosos debido a la no coincidencia de las tres especies en los puntos de colecta.
- Se muestrearon tres de los principales puertos ecuatorianos en cuanto al flujo naviero por su actividad comercial y pesquera (Puerto La Libertad, Puerto de Guayaquil y Puerto Bolívar), estas zonas fueron las más afectadas, donde la prevalencia de imposex en las hembras colectadas fue del 100%, con una intensidad de imposex comprendida entre los Grados III al V.
- Sólo dos localidades (La Entrada y Punta Carnero) de las trece muestreadas no presentaron el fenómeno imposex en hembras, ambos sitios eran de bajo o nulo flujo naviero correspondiente a balnearios.
- El desarrollo de la técnica del imposex aplicado en *Thais brevidentata*, *Thais biserialis* y *Thais kiosquiformis*, fue el adecuado para la determinación de prevalencia e intensidad de imposex en las poblaciones respectivas, una vez que los resultados observados fueron proporcionales al flujo naviero

- Se aplicaron los índices de Longitud Relativa del Pene (RPLI) y Secuencia del Vaso Deferente (VDSI), que mostraron cuan intenso fue el imposex en las hembras colectadas de las tres especies de murícidos.

7. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio experimental a nivel de laboratorio con un diseño tal que permita comparar la sensibilidad entre *Thais brevidentata*, *Thais biserialis* y *Thais kiosquiformis* a compuestos organoestañosos.
- Ampliar el estudio incluyendo a otra especie del mismo género como es el caso de *Thais melones*, la cual estuvo con relativa abundancia en varias localidades del perfil costero ecuatoriano.
- Realizar el mismo estudio para la parte central y norte del perfil costero ecuatoriano (Provincias de Manabí y Esmeraldas).
- Realizar monitoreos permanentes del imposex en el perfil costero ecuatoriano.

8. BIBLIOGRAFÍA

- Alba-Tercedor, J. y Pujante, A. M. 2000. Running-water biomonitoring in Spain: opportunities for a predictive approach. En: Assessing the biological quality of freshwaters: RIVPACS and other techniques (eds. Wright, J. F., Sutcliffe, D. W. y Furse, M. T.), pp.207-216, Freshwater Biological Association, Ambleside, UK.
- Alba-Tercedor, J. y Sánchez-Ortega, A. 1988. Un método rápido y simple para evaluar la calidad biológica de las aguas corrientes basado en el de Hellawell (1978). *Limnética* 4: 51-56.
- Alba-Tercedor, J., Jáimez-Cuéllar, P., Álvarez, M., Avilés, J., Bonada, N., Casas, J., Mellado, A., Ortega, M., Pardo, I., Prat, N., Rieradevall, M., Robles, S., Sáinz-Cantero, C. E., Sánchez-Ortega, A., Suárez, M. L., Toro, M., Vidal-Abarca, M. R., Vivas, S. y Zamora-Muñoz, C. 2002. Caracterización del estado ecológico de los ríos mediterráneos ibéricos mediante el índice IBMWP (antes BMWP?). *Limnética* 21: 175-185.
- Allan, J. D. 1995. Stream ecology: structure and function of running waters. Chapman y Hall, Londres, Great Britain.
- Almeida, E., Diamantino, T., de Sousa, O. (2007). Marine paints: The particular case of antifouling paints. *Progress in Organic Coatings* 59 (2007) 2–20
- Alonso, A., de la Puente, M. y Camargo, J. A. 2005. Los invertebrados acuáticos del río Henares. *Quercus* 231: 16-22
- Alzieu, C. (1986). TBT detrimental effects in oyster culture in France – evolution since antifouling paint regulation, p. 1130-1134, in Proceedings of the Oceans- An International Workplace Conference, V. 4, Washington D.C.
- Alzieu, C. (2000). Environmental impact of TBT: the French experience. *The Science of the Total Environment*, 258: 99-102.

- Angelier, E. 2002. Ecología de las aguas corrientes. Editorial Acribia S. A., Zaragoza, España.
- Arai, T., Harino, H., Ohji, M., Landgston, W.J., 2009 Ecotoxicology of Antifouling Biocides.
- Arce, O. 2006 Indicadores Biológicos de la Calidad del Agua. Facultad de Ciencias y Tecnologías, Universidad Mayor San Simón. Cochabamba, Bolivia
- Arenas J. (1993). Macroinvertebrados bentónicos como bioindicadores de la calidad del agua del río Bío Bío, Chile. Tesis de Doctorado de la Facultad de Ciencias,
- Armitage, P. D., Moss, D., Wright, J. F. y Furse, M. T. 1983. The performance of a new biological water quality score system based on macroinvertebrates over a wide range of unpolluted running water sites. *Water Research* 17: 333-347.
- Barreiro, R., González, R., Quintela, M., Ruíz, J.M., (2001). Imposex Organotin bioaccumulation and sterile females in *Nassarius reticulatus* from polluted areas of NW Spain. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 218: 203-212
- Barroso, C.M. Moreira, M.H. Gibbs, P.E. (2000). Comparison of imposex and intersex development in four prosobranch species for TBT monitoring of a southern Europe estuarine system (Ría de Aveiro, NW Portugal). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 201: 221-232
- Bartram, J., Ballance, R. (1996) *Water Quality Monitoring: A practical guide to the design and implementation of freshwater quality studies and monitoring programs.* Printed in Great Britain by T S Press (PadSlow) Ltd. Pads Tow, Cornwall.
- Batley, G. 1996. The distribution and fate of tributyltin in the marine environment. En *Tributyltin: case study of an environmental contaminant* (de Mora, S. J., editor. pp. 139-166. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bech, M. (1999a) Increasing levels of Tributyltin-induced Imposex in Muricid Gastropod al Phuket Island, Thailand. *Applied Organometallic Chemistry.* 13: 1-6

- Bech, M. (1999b) Sensitivity of different Gastropod to Tributyltin contamination. Phuket Marine Biological Center Special Publication. 19(1): 1-6.
- Bech, M. (2000) A survey of imposex in muricids from 1996 to 2000 and identification of optimal indicators of tributyltin contamination along the east coast of Phuket Island, Thailand. Institute of Biology, University of Southern Denmark, 5230 Odense, Denmark Marine Pollution Bulletin 44 (2002) 887–896
- Belfroid, A.C., Purperhart, M. & Ariese, F. (2000) Organotin levels in seafood. Marine Pollution Bulletin 40(3): 226-232.
- Blackmore, G. (2000) Imposex in *Thais clavigera* (Neogastropoda) as an indicator of TBT (Tributyltin) bioavailability in coastal waters of Hong Kong. Journal of Molluscan Studies. 66: 1-8.
- Bryan, G.W. & Langston, W. J. (1992) Bioavailability, Accumulation and Effects of Heavy Metals in Sediments with Special Reference to United Kingdom Estuaries: A Review. Env. Pol., v. 76, p. 89-131.
- Caetano, C.H.S. & Absalao, R.S. (2002) Imposex in *Olivancillaria vesica vesica* (Gmelin) (Gastropoda, Olividae) from Southeastern Brazilian sandy beach, Rvta. Bras. Zool. 19(2): 215-218.
- Camargo, J. A. 1993. Macrobenthic surveys as a valuable tool for assessing freshwater quality in the Iberian Peninsula. Environmental Monitoring and Assessment 24: 71-90.
- Camargo, J. A. 1994. The importance of biological monitoring for the ecological risk assessment of freshwater pollution: a case study. Environment International 20: 229-238
- Carballeira, A. Consideraciones para el diseño de un Programa de Monitorizaciones de los efectos Biológicos del Vertido del Prestige. Ed. Int. Inv. Oceanológicas. Universidad Baja California. (En Prensa).
- Carlier-Pinasseau, C.; Lespes, G. & Astruc, M. (1997) Validation of organotin compound determination in environmental samples using nabet, ethylation and Gc-FPD. Environmental Technology. 18: 1179-1186.

- Castro, I.B. (2002). Estudo do Imposex provocado em *Thais haemastoma* (Linnaeus, 1767) (Mollusca: Gastropoda: Thaididae), por Compostos Orgânicos de Estanho em Áreas Portuárias do Estado do Ceará. Monografia graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Ceará, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.
- Castro, I.B., Bemvenuti, C.E., Fillmann, G., 2007b. Preliminary appraisal of imposex in areas under the influence of southern brazilian harbors. *Journal of the Brazilian Society for Ecotoxicology*, 2, 73–79.
- Castro, I.B.; Cascon, H.M.; Fernandez, M.A. (2000). Imposex em *Thais haemastoma* (Linnaeus,1767) (Mollusca:Gastropoda), uma indicacao da Contaminacao por organoestânicos na costa do Municipio de Fortaleza-Cearà – Brasil. *Arq. Cienc. Mar.*, v.33, p.51-56
- Champ, M.A. (2000). A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. *The Science of the Total Environmental*. V. 258, p.21-71
- Cima, F., *et al* 1996 Immunotoxicity of butyltins in tunicates. *Appl. Organomet. Chem.*, v.9, p. 567-572
- Clarck, E.L., Sterrit, R.M., E Lester, J.N. (1988) The Fate of Tributyltin in the Aquatic Environment a look at the Data. *Env. Sci. Tech.*, v. 22,n. 6, p. 600-604
- Cruz, R.A., Jimenez, J.A., 1994. Moluscos asociados a las áreas de manglar de la costa pacífica de América Central Guía. Editorial Fundación UNA, Heredia, C.R.
- Davidson, B., *et al.*, 1986 acute and chronic effects of tributyltin on mysid *Acanthomysis sculpta* (Crustacea:Mysidacea). *Ocean 86 conference record: science engineering adventure*. Vol. 4 Organotin Simposium.1219-1225
- De Mora, J. (1996). The tributyltin debate: ocean transportation versus seafood harvesting. In: Mora SJ (ed) Tributyltin: case study of an environmental contaminant. Cambridge environmental chemistry series 8. Cambridge University Press, Cambridge, p 1-20

- Dowson, D.H.; Bubb, J.M. E. Lester, J.N. (1996) A Study of the Partitioning and Sorptive Behavior of Butyltins in the Aquatic Environment. Appl. Organomet. Chem., V. 7, p. 623-633.
- Edmundo Camillo, Juliana Quadros , Italo Braga de Castro & Marcos Fernandez (2004). Imposex in *Thais rustica* (Mollusca: Neogastropoda) (Lamarck, 1822) as an Indicator of Organotin Compounds Pollution at Maceo Coast (Northeastern Brazil). Brazilian Journal of Oceanography , 52 (2): 101-105.
- Evans, S.M.; Dawson, M.; Day, J.; Frid, C.L.J.; Gill, M.C.; Pattisina, L.A. & Porter, J. (1995) Domestic waste and TBT pollution in coastal areas of Ambom Island. Marine Pollution Bulletin. 30(2): 109- 115.
- Fent, K., 1996. Ecotoxicology of organotin compounds. Critical Reviews in Toxicology. 26: 1-117
- Fent, K., 2006. Worldwide occurrence of organotins from antifouling paints and effects in the aquatic environment. Hdb Env. Chem. Vol 5, Part. 0 (2006):71-100.
- Fernandez, M.A.S., Limaverde, A.C., Castro, I.B., Wagener, A.L.R. & Almeida, A.C.O., 2002. Occurrence of imposex in *Thais haemastoma*: possible evidence of environmental contamination derived from organotin compounds in Rio de Janeiro and Fortaleza, Brasil. Rep. Public Health, 18: 463-476.
- Foale, S., 1993. An evaluation of the potential of gastropod imposex as a bioindicator of tributyltin pollutions in port Phillip Bay, Victoria. Marine Pollution Bulletin, 26: 546-552.
- Rafael Flores-Garza, Pedro Flores-Rodríguez, Sergio García-Ibáñez & Arcadio Valdés-González. 2007 Demografía del caracol *Plicopurpura pansa* (Neotaenioglossa: Muricidae). Rev. Biol. Trop. (Int. J. Trop. Biol. ISSN-0034-7744) Vol. 55 (3-4): 867-878.
- Gibbs, P.E., & Bryan, G.M. (1986) Reproductive failure in population of the dogwhelk *Nucella lapillus*, caused by imposex induced by tributyltin from antifouling paints: Journal of the Marine Biological Association U.K. 66: 767-777.

- Gibbs, P.E., & Bryan, G.M. (1987) TBT paints and demise of the dog-whelk *Nucella lapillus* (Gastropoda). Marine Biological Association U.K. 68: 1482-1487.
- Godoi, A.F.L.; Favoret, R. & Santiago –Silva, M. (2003). Contaminacao Ambiental por Compostos Organoestânicos. Quimica Nova. V. 26(5), p. 708-716.
- Gooding, M.; Gallardo, C. & Leblanc, G. (1999) Imposex in three marine Gastropod species in Chile and potential impact on Muriciculture. Marine Pollution Bulletin. 38(12): 1227-1231.
- Gravel, P., Johanning, K., McLachlan, J., Vargas, J., & Oberdorster, E. (2006). Imposex in the intertidal snail *Thais brevidentata* (Gastropoda: Muricidae) from the Pacific Coast of Costa Rica. Rev. Biol. Trop. Vol. 54 (suppl.1): 21-26.
- Hamer, K. & Karius, V. (2005). Tributyltin release from harbor sediments : modeling the influence of sedimentation bio-irrigation and diffusion using data from Bremerhaven. Mar. Poll. Bull., v. 50, n.9, p. 980-992.
- Hickman, C. P., Finet, Y. (1999) Guía de campo de los moluscos marinos de Galápagos: Guía de campo ilustrada sobre caracoles, bivalvos y chitones de las aguas intermareales y someras de las Islas Galápagos. Sugar Spring Press, Lexington, Virginia, EEUU.
- Horiguchi, T. ; Shiraishi, H. ; Shimizu, M. ; & Morita, M.(1994) Imposex and Organotin Compounds in *Thais clavigera* and *T. bronni* in Japan. Journal Marine Biological Association U. K., 74: 651 – 669
- Horiguchi, T.; Shiraishi, H.; Shimizu, M.; & Morita, M. (1997a) Effects of Triphenyltin Chloride and Five other Organotin Compounds on the Development of Imposex in the Rock Shell, *Thais clavigera*. Environmental Pollution. 95(1): 85-91.
- Huet, M., *et al.*,(1995) Comparison of imposex response in three Prosobanch species. Hydrobiologia. 309: 29-35.

- Ide, I., *et al*, (1997) Accumulation of organotin compounds in the common whelk *Buccinum undatum* and the red whelk *Neptunea antiqua* in association with imposex. Marine Ecology Progress Serie. 152: 197-203.
- International Maritime Organization. 1999. Anti-fouling systems, moving towards the non-toxic solution. Focus on IMO. International Maritime Organization, London, UK.
- Keen, M. (1971) Sea Shell of Tropical West America Marine Mollusks from Baja California to Peru. Second Edition. Stanford University Press. Stanford, California.
- Kergosien, D.H. and Rice C.D. (1998). Macrophage secretory function is enhanced by low doses of tributyltin-oxide (TBTO), but not tributyltin-chloride (TBTCL). Arc. Environ. Contam. Toxicol. 34: 223-228.
- Koch, V., Wolff, M. 1996. The mangrove snail *Thais kioskiformis* Duclos: A case of life history adaptation to an extreme environment. v. 15, no. 2, p. 421-432.
- Kotrikla, A. (2009). Environmental management aspects for TBT antifouling wastes from the shipyards. J.Eviron.Manag. 90, S77-S85.
- Kumasaka, K., Miyazawa, M., Fujimaka, T., Tao, H., Ramaswamy, B.R., Nakazawa, H., Makino, T., & Satoh, S. (2002). Toxicity of the tributyltin compound on the testis in premature mice. Journal of Reproduction and Development. 48(6): 591-597.
- Lima Aline Fernandes Alves, Italo Braga de Castro & Cristina de Almeida Rocha-Barreira (2006). Imposex Induction in *Stramonita haemastoma Floridana* (Conrad,1837) (Mollusca: Gastropoda: Muricidae) Submitted to an Organotin- Contaminated Diet. Brazilian Journal of Oceanography , 29(1): 85-90.
- Maguire, R. J. 2000. Review of the persistence, bioaccumulation and toxicity of tributyltin in aquatic environments in relation to Canada's toxic substances management policy. Water Quality Research Journal of Canada 35:633-679.
- Matsuo, J. & Habe, T., 1969 Collections from Hayama- Shibasaki coast. Chiribotan, 5, 211-213. (In Japanese).

- Meirelles, C.A.O.; Castr, I.B.; & Pinheiro, C.L.(2007). A first record of biphallia in imposed female of *Leucozonia nassa* (Caenogastropoda: Fasciolariidae). JMA2- Biodiversity Records. Published on-line.
- Mora, S.J. & Phillips, D.R. (1997). Tributyltin (TBT) pollution in riverine sediments following a spill from a timber treatment facility in Henderson, New Zealand. *Environmental Technology*. 18: 1187-1193
- Morcillo, Y. and Porte, C. (1998). Monitoring of organotin compounds and their effects in marine molluscs. *TrAC, Trends in Analytical Chemistry* 17, 109-116.
- Moreno Grau, M.D. (2003). *Toxicología Ambiental, evaluación para el riesgo para la salud humana*. Primera Edición. McGraw-Hill/ Interamerican de España. ISBN: 84-481-3781-7. España.
- Nias, D.J.; McKillup, S.C. & Edyvane, K.S., 1993. Imposex in *Lepsiella vinosa* from southern Australia. *Marine Pollution Bulletin*, 26: 380-384
- Osorio, C. & Huaquín, L. G. (2003) Alteración de la sexualidad de *Acanthina monodon* (Pallas,1774) (Gastropoda: Muricidae) en la Zona Litoral de Chile Central, inducida por compuestos organoestañosos. *Cienc. Tecnol. Mar.* 26(2):97-107.
- OSPAR (2000). OSPAR Background Document on the Organic Tin Compounds, OSPAR Priority Substances Series, OSPAR Convention for the Protection of the Marine Environment of the North- East Atlantic, OSPAR Commission, London, ISBN 0-946956-56-1: 16pp.
- Prat, N. y Ward, J. V. 1994. The tamed river. En *Limnology now: a paradigm of planetary problems* (ed Margalef, R.), pp. 219-236, Elsevier Science.
- Ramasamy, M.S. y Murugan, A. 2002. Imposex in muricids gastropod *Thais biserialis* (Mollusca:Neogastropoda:Muricidae) from Tuticorin harbour, southeast coast of India. Suganthi Devadason Marine Research Institute.
- Rosenberg, D. M. y Resh, V. H. 1993. *Freshwater biomonitoring and benthic macroinvertebrates*. Chapman & Hall, London, Great Britain

- Rueda, J., Camacho, A., Mezquita, F., Hernández, R. y Roca, J. R. 2002. Effect of episodic and regular sewage discharges on the water chemistry and macroinvertebrate fauna of a Mediterranean stream. *Water, Air, and Soil Pollution* 140: 425-444.
- Sarradin, P.M.; Astruc, A; Desauziers, V.; Pinel, R. & Astruc, M. (1991). Butyltin pollutions surface sediments of Acachon Bay after ten years of restricted use of TBT – based paints. *Environmental Technology*. 12: 537-543
- Shi, H.H., Huang, C.J., Zhu, X.S., Yu, X. J., and Xie, W.Y. (2005) Generalized system of imposex and reproductive failure in female gastropods of coastal waters of mainland China. *Marine Ecology Progress Series* 304, 179-189
- Smith, B.S. (1981). Tributyltin compounds induce male characteristics on female mud snails *Nassarius obsoletus* = *Ilyanassa obsoleta*. *Journal of Applied Toxicology*. 1(3): 141-144.
- Stewart, C. & Mora, S.J. (1992) Elevated tri(n-butyl)tin concentrations in shellfish and sediments from Suva Harbour Fiji. *Applied Organometallic Chemistry*. 6: 507-512.
- Stroben, E.; Schulte-Oehlmann, U.; Fiorini, P. & Oehlmann, J. (1995). A comparative method for easy assessment of coastal TBT pollution by the degree of imposex in prosobranch species. *Halictis*. 24: 1-12.
- Suárez, M. L., Vidal-Abarca, M. R., Sánchez-Montoya, M. M., Alba-Tercedor, J., Álvarez, M., Avilés, J., Bonada, N., Casas, J., Jáimez-Cuéllar, P., Munné, A., Pardo, I., Prat, N., Rieradevall, M., Salinas, M. J., Toro, M. y Vivas, S. 2002. Las riberas de los ríos mediterráneos y su calidad: el uso del índice QBR. *Limnética* 21: 135-148.
- Swennen, C.; Ruttanadakul, N.; Ardseungnern, S.; Singh, H.R.; Mesinck, B.P. & Hallers-Tiabbes C.C. (1997) Imposex in Sublittoral and Littoral Gastropods from the Gulf of Thailand and Strait of Malacca in relation to Shipping. *Environmental Technology*. 18: 1245-1254.

- Takahashi, S.; Tanabe, S. & Kudobera, T. (1997) Butyltin residues deep-sea organisms collected from Suruga Bay, Japan. *Environmental Science & Technology*. 31: 3103-3109.
- Takahashi, S.; Tanabe, S. & Kudobera, T. (1998) Contamination and specific accumulation of organochlorine and butyltin compounds in deep-sea organisms collected from Suruga Bay, Japan. *The Science of the Total Environment*. 214: 49-64.
- Takahashi, S.; Tanabe, S.; Takeuchi, I. & Miyazaki, N. (1999b). Distribution and specific bioaccumulation of butyltin compounds in marine ecosystem. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 37: 50-61.
- Takeuchi, I., Takahashi, S., Tanabe, S., Miyazaki, N. (2004). Butyltin concentrations along the Japanese coast from 1997 to 1999 monitored by *Caprella spp.*(Crustacea: Amphipoda). *Mar. Environ. Res.*, v. 57, n.5, p.
- Tan, K. S. (1997) Imposex in three species of *Thais* from Singapore, with Additional Observations on *T. clavigera* (Kuster) from Japan. *Marine Pollution Bulletin*. 34(7): 577-581.
- Tan, K.S. (1999) Imposex in *Thais gradata* and *Chicoreus capucinus* (Mollusca, Neogastropoda, Muricidae) from the Straits of Johor: A Case Study using Penis Length, Area and Weight as Measures of Imposex Severity. *Marine Pollution Bulletin*. V. 39, p. 295-303
- Terlizzi, A., Geraci, S. & Minganti, V. (1998) Tributyltin (TBT) pollution in the coastal waters of Italy as indicated by imposex in *Hexaplex trunculus* (Gastropoda: Muricidae). *Marine Pollution Bulletin*. 36(9):749-742.
- Toro, M., Robles, S., Avilés, J., Nuño, C., Vivas, S., Bonada, N., Prat, N., Alba-Tercedor, j., Casas, J., Guerrero, C., Jáimez-Cuèllar, P., Moreno, J., L., Moyà, G., Ramòn, G., Suàrez, M.L., Vidal-Abarca, M.R., Álvarez, M. y Pardo, I. (2002). Calidad de las aguas de los ríos mediterráneos del Proyecto GUADALMED. Características físico-químicas. *Limnètica* 21: 63-75.

- Vázquez, G. (2006) Bioindicadores como herramientas para determinar la calidad del agua, Depto. El Hombre y su Ambiente, UAM-X
gavaz@correo.xoc.uam.mx
- Vishwa-Kiran, Y.& Anil, A.C. , 1999. Record of imposex in *Cronia konkanesis* (Gastropoda: Muricidae) from Indian waters. Marine Environmental Research, 48: 123-130.
- Wetzel, R. G. 2001. Limnology. Lake and River Ecosystems. Academic Press, Third Edition.
- Zúñiga de Cardoso M., Rojas A. & Caicedo G. (1993).Indicadores ambientales de calidad de agua en la Cuenca del río Cauca. Asociación de Ingenieros Sanitarios de Antioquia Medellín, Colombia. **2**:17-28.

