

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

Brevidentata imposex in Thais, Thais Kiosquiformis, biserialis Thais (Mollusca: Gastropoda: Muricidae) Profile South Central Coast of Ecuador, an Indication of Pollution Organoestañosos Compounds

María Arroyo Osorio¹, Italo Braga de Castro²

Recibido el 10 de agosto de 2010; recibido en forma revisada 15 de noviembre 2010, aceptado 5 de diciembre 2010

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: Gastropoda: 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. 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 Clave: 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: Gastropoda: 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. 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.

¹ Bióloga, Tesis de Grado para la obtención del Título de Magíster en Ciencias con Énfasis en Manejo Sustentable de Recursos Bioacuáticos y el Medio Ambiente – Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Naturales – sede Mapasingue.

² Departamento de Biologia, Laboratório de Malacologia, Universidade Federal do Ceará. Av. Humberto Monte s/n, Campus do Pici, Bloco 909, Fortaleza, CE 60000-000, Brasil.

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).

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).

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).

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). Más, 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).

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).

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. Materiales y Métodos

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 1.

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.

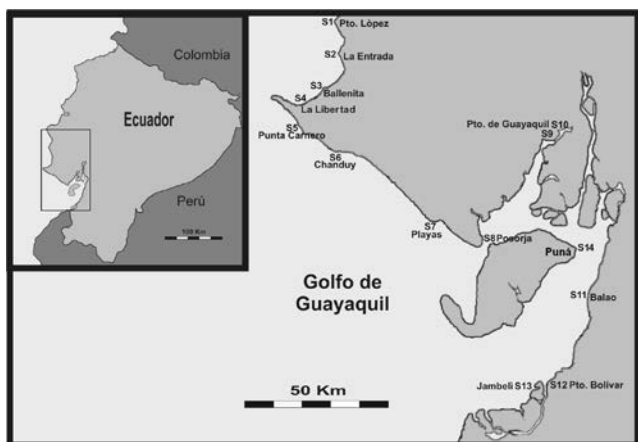


Figura 1. Puntos de muestreos (n=13), localizados en playas y puertos del Ecuador.

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. kiosquiformis*) 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. 1 y Tab. 1).

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. 2, 3, 4).



Figura 2. Colectando a *Thais kiosquiformis*



Figura 3. Moluscos adheridos a los pilares de los muelles

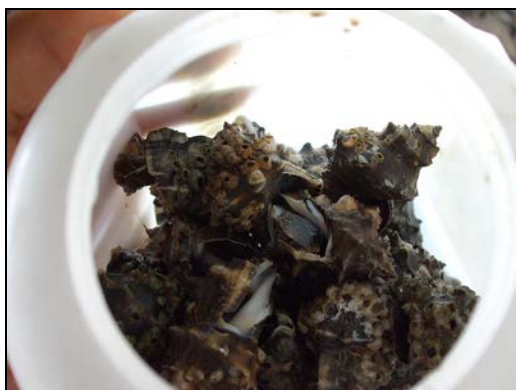


Figura 4. Moluscos depositados en frascos de boca ancha

Tabla 1. 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''

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 5). 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 5b). Empleando una prensa y pinzas punta gruesa y fina, se procede a romper las conchas, examinar las partes blandas (Figs. 6a, 6b, 7a) y medir el pene en machos y hembras con imposex (Fig. 7b).



Figura 5. a) Medición y registro de datos. b) Medición de la longitud de *T. kiosquiformis* mediante un calibrador digital.



Figura 6. a) Ruptura de una concha mediante el uso de la prensa. b) Obtención de partes blandas de los organismos.



Figura 7. a) Examen de partes blandas. b) Medición del pene en un macho de *T. kiosquiformis*.

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. 10, 11). Los animales que presenten receptáculo seminal y pene o vaso deferente, fueron considerados hembras con algún grado de imposex (Figs. 8, 9). Los penes de los machos y

las hembras con imposex fueron medidos utilizando una lámina milimetrada, tal como se muestra en la Fig. 7(Castro, 2005).

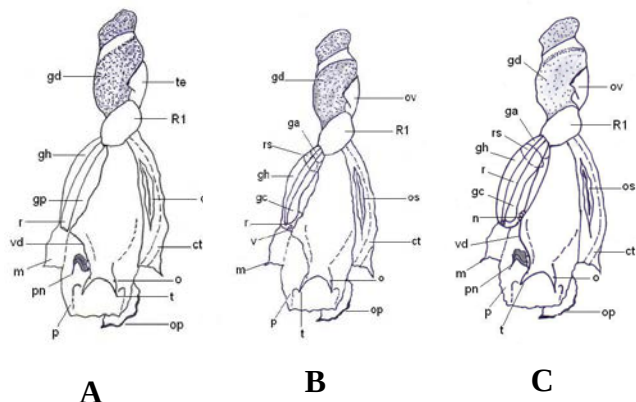


Figura 8. Estructuras Anatómicas de un organismo perteneciente al género *Thais*, según Horiguchi *et al.*(1994). Leyenda: (A) Macho, (B) Hembra, (C) Imposex grado III/IV. ct, ctenidio; ga, glándula del albúmen; gc, glándula de la cápsula; gd, glándula digestiva; gh, glándula hypobranquial; gp, glándula 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.

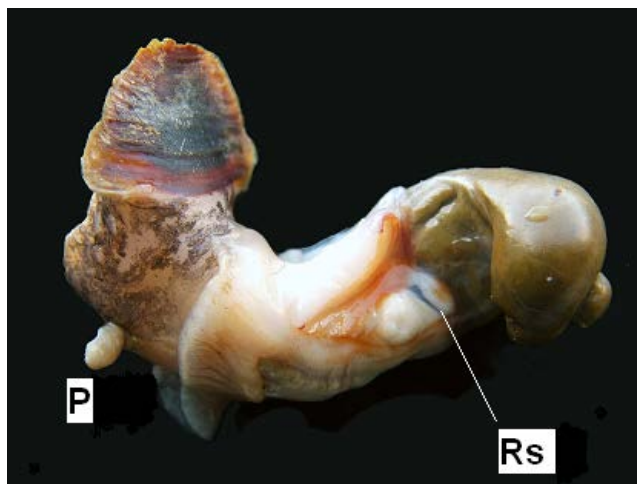


Figura 9. Hembra del Género *Thais* con pene (indicación de imposex), P: pene; Rs: receptáculo seminal (Castro, 2002).

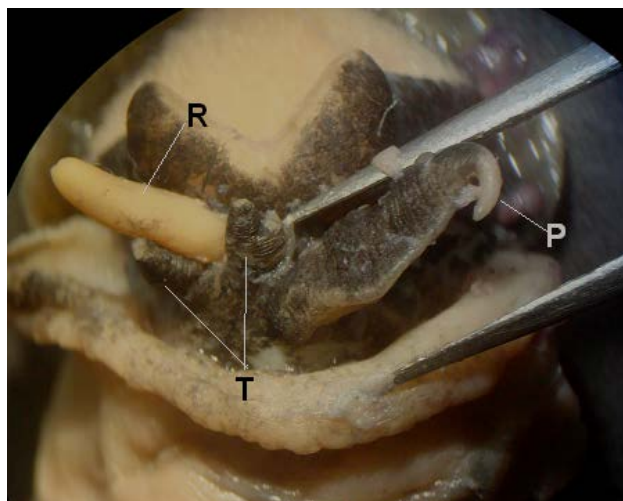


Figura 10. Ejemplar macho, donde P: pene; T: tentáculos oculares y R: rádula



Figura 11. Coloración diferencial de las gónadas en Hembras (A) y Machos (B)

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. 12).

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.

Estadio 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.

Estadio 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.

Estadio 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.

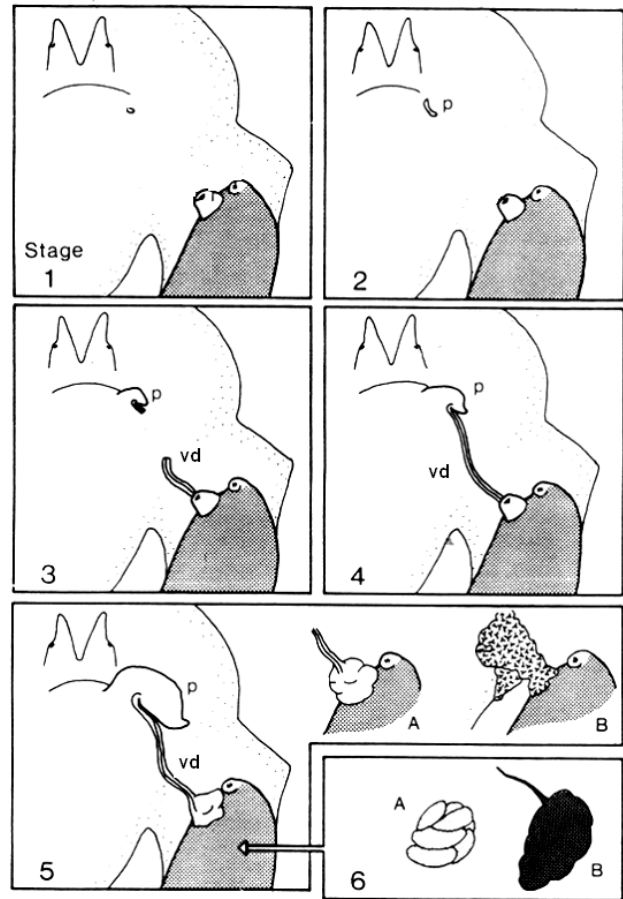


Figura. 12. Estadios de desarrollo del pene y vaso deferente (VDSI) propuesto por Gibbs et al (1987) para *Nucella lapillus*.

3. Resultados

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.

Thais brevidentata

Se colectaron un total de 204 ejemplares en ocho localidades diferentes ubicadas en el litoral oceánico de las costas ecuatorianas (Fig. 13), 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. 11). 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.

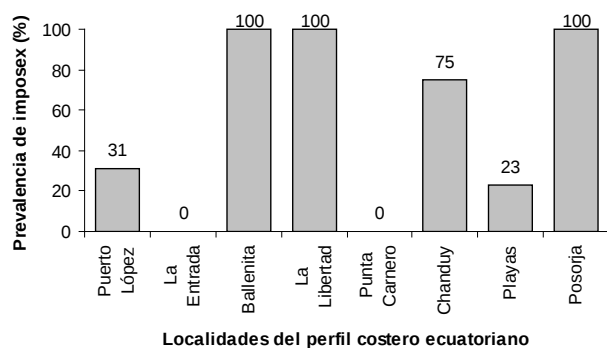


Figura 13. Localidades donde fueron colectados los ejemplares de *T. brevidentata*, y el porcentaje de imposex en hembras.

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. 15 A).

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. 14). Tal como se presenta en la Figura 15 B y 15 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.

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. 15 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. 14).

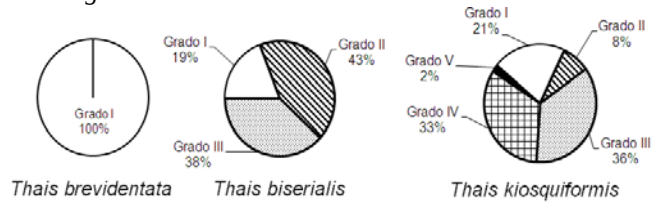


Figura 14. Grados de imposex presentados en hembras de las tres especies de murícidos colectados en costas ecuatorianas.

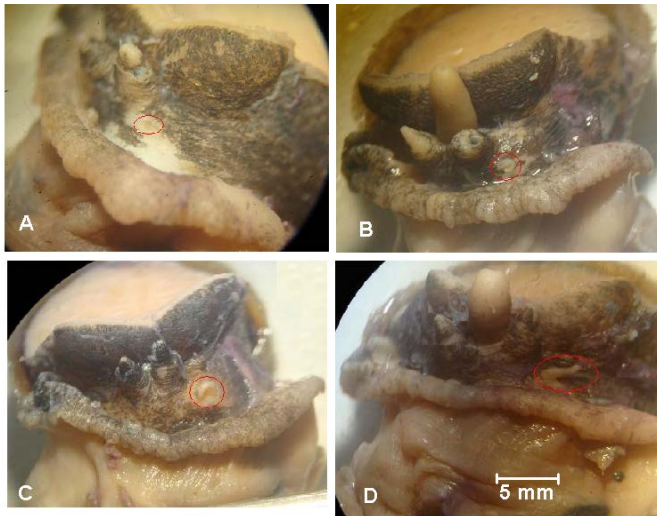


Figura 15. Grados de Imposex del I al IV en *Thais kiosquiformis*. A: Grado I, B: Grado II, C: Grado III y D: Grado IV

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. 2). 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 16, 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. 16).

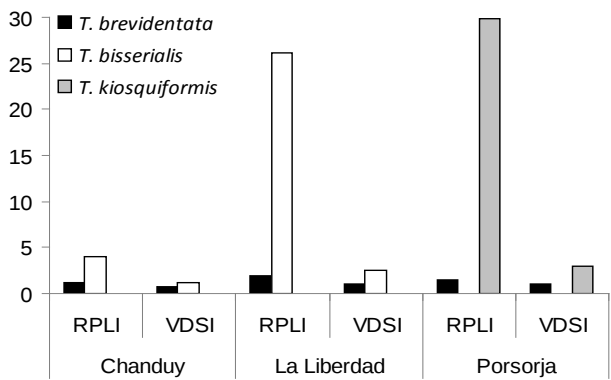


Figura 16. Indicadores de imposex: RPLI (%) y VDSI (Grados), para hembras de las tres especies.

Tabla 2. Prevalencia de imposex en *Thais biserialis*, *Thais brevidentata* y *Thais kiosquiformis*, 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 kiosquiformis</i>	100

Pto. de		
Guayaquil	<i>Thais kiosquiformis</i>	100
Balao	<i>Thais kiosquiformis</i>	100
Pto.		
Bolívar	<i>Thais kiosquiformis</i>	100
Jambelí	<i>Thais kiosquiformis</i>	100
Puná	<i>Thais kiosquiformis</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. kiosquiformis* quienes fueron las especies donde el 100% de las hembras colectadas estuvieron afectadas, lo cual sugiere una mayor sensibilidad para estas especies (Tab. 2). 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%).

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. 3 y Fig. 17).

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. 3 y Fig. 17).

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. 3 y Fig. 17).

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. 3 y Fig. 17).

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. 3 y Fig. 17).

Posorja:

En el puerto pesquero industrial y artesanal de Posorja, se colectaron las especies *T. brevidentata*, y *T. kiosquiformis*. 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. kiosquiformis* las hembras tuvieron un RPL del 29,8 %, repartidos entre los Grados II, III y IV con 25%, 50% y 25% respectivamente (Tab. 3 y Fig. 17).

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. kiosquiformis*, 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. 3 y Fig. 17).

Balao:

En el puerto pesquero artesanal de Balao se encontró únicamente a la especie *T. kiosquiformis*, 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. 3 y Fig. 17).

Puerto Bolívar:

En este puerto pesquero y mercante se encontró únicamente a la especie *T. kiosquiformis*, 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. 3 y Fig. 17).

Jambelí:

En el puerto pesquero artesanal y balneario de Jambelí sólo se encontró a la especie *T. kiosquiformis*, 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. 3 y Fig. 17).

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. 3 y Fig. 17).

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	Espec	Longitud promedio del pene	RPL (%)	Grados de Imposex (%)
-------------------------------	-------	----------------------------	---------	-----------------------

		en hembras (mm)		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

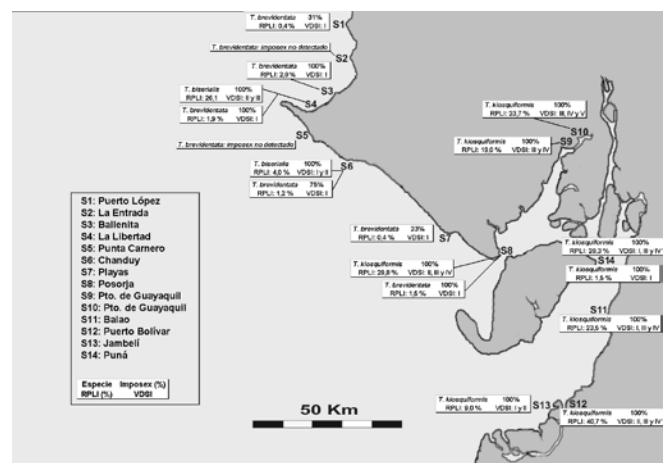


Figura 37. Resultados del monitoreo realizado en el perfil costero ecuatoriano para las especies *T. brevidentata*, *T. biserialis* y *T. kiosquiformis*. Prevalencia de imposex (%), RPLI (%) y VDSI.

4. Discusión

Descripción de Imposex en Tres Especies de Muricidos

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 tributilestano, 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 está 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.

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. 2). 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.*

kiosquiformis 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. 16).

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 pudiera 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 esta 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. 17), 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‰.

4. Conclusiones

1. Se observó por la primera vez el imposex en perfil costero del Ecuador.
2. Se observó por primera vez el imposex en *Thais kiosquiformis* para Sudamérica.
3. 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.

4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.

5. Recomendaciones

1. 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.

2. 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.
3. Realizar el mismo estudio para la parte central y norte del perfil costero ecuatoriano (Provincias de Manabí y Esmeraldas).
4. Realizar monitoreos permanentes del imposex en el perfil costero ecuatoriano.

Referencias

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] Angelier, E. 2002. Ecología de las aguas corrientes. Editorial Acribia S. A., Zaragoza, España.
- [5] Arai, T., Harino, H., Ohji, M., Landgston, W.J., 2009 Ecotoxicology of Antifouling Biocides.
- [6] Arce, O. 2006 Indicadores Biológicos de la Calidad del Agua. Facultad de Ciencias y Tecnologías, Universidad Mayor San Simón. Cochabamba, Bolivia
- [7] 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.
- [8] Bech, M. (1999a) Increasing levels of Tributyltin-induced Imposex in Muricid Gastropod al Phuket Island, Thailand. *Applied Organometallic Chemistry*. 13: 1-6
- [9] Bech, M. (1999b) Sensitivity of different Gastropod to Tributyltin contamination. *Phuket Marine Biological Center Special Publication*. 19(1): 1-6.
- [10] 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
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] Cruz, R.A., Jimenez, J.A., 1994. Moluscos asociados a las áreas de manglar de la costa pacífica de América Central. *Guía*. Editorial Fundaci6n UNA, Heredia, C.R.
- [14] 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 Symposium. 1219-1225
- [15] Ide, I., et al, (1997) Accumulation of organotin compounds in the common whelk *Buccinum undatum* and the red whelk *Neptunea antea* in association with imposex. *Marine Ecology Progress Serie*. 152: 197-203.
- [16] 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.
- [17] Koch, V., Wolff, M. 1996. The mangrove snail *Thais kiosquiformis* Duclos: A case of life history adaptation to an extreme environment. v. 15, no. 2, p. 421-432.
- [18] Kotrikla, A. (2009). Environmental management aspects for TBT antifouling wastes from the shipyards. *J. Environ. Manag.* 90, S77-S85.
- [19] 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.
- [20] Matsuo, J. & Habe, T., 1969 Collections from Hayama- Shibazaki coast. *Chiribotan*, 5, 211-213. (In Japanese).
- [21] Swennen, C.; Ruttanadakul, N.; Ardseungnern, S.; Singh, H.R.; Mesinck, B.P. & Hallers-Tiabbes C.C.

- (1997) Imposex in Sublitoral and Littoral Gastropods from the Gulf of Thailand and Strait of Malacca in relation to Shipping. *Environmental Technology*. 18: 1245-1254.
- [22] Takahashi, S.; Tanabe, S. & Kudobera, T. (1997) Butyltin residues deep-sea organisms collected from Suruga Bay, Japan. *Environmental Science & Technology*. 31: 3103-3109.
- [23] 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
- [24] 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.
- [25] Toro, M., Robles, S., Avilés, J., Nuño, C., Vivas, S., Bonada, N., Prat, N., Alba-Tercedor, j., Casas, J., Guerrero, C., Jàimez-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. *Limnética* 21: 63-75.
- [26] 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
- [27] Vishwa-Kiran, Y.& Anil, A.C. , 1999. Record of imposex in *Cronia konkanesis* (Gastropoda: Muricidae) from Indian waters. *Marine Environmental Research*, 48: 123-130.
- 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.