

MONITOREO DE CONTAMINACIÓN POR TRIBUTILESTAÑO (TBT) EN PUERTOS DE PARACAS, ICA (PERÚ), MEDIANTE EL FENÓMENO DE IMPOSEX EN *Stramonita chocolata*

MONITORING OF POLLUTION TRIBUTYL TIN (TBT) IN PORT OF PARACAS LIMA (PERU)
BY IMPOSEX IN *Stramonita chocolata*

Laura Margarita Chumbimune Ilizarbe¹ y Zuleika Joana Ponce Mora¹

RESUMEN

El imposex es la imposición de caracteres sexuales masculinos sobre el sistema reproductivo femenino de caracoles gasterópodos prosobranquios. Este fenómeno se ha asociado a compuestos organoestañosos empleados como agentes biocidas en las pinturas antiincrustantes aplicadas sobre muelles, embarcaciones e instalaciones de cultivo, principalmente con el tributilestaño (TBT). El presente trabajo pretende evaluar la ocurrencia de imposex en los caracoles marinos *Stramonita chocolata* que habitan en la playa La Mina de la isla San Gallán (Ica, Perú). El porcentaje de imposex fue del 33,3 %. El índice de la longitud relativa del pene (RPLI) fue de 36,23. La relación entre la longitud de la conchilla y la longitud del pene en machos y en hembras no fue estadísticamente significativa.

Palabras claves: imposex, organoestañosos, tributilestaño, *S. chocolata*

ABSTRACT

Imposex is the imposition of male sexual characteristics of the female reproductive system prosobranch snails gastropods. This phenomenon has been associated with organotin compounds used as biocide in antifouling paints applied on docks, boats and culture facilities

mainly tributyltin (TBT). The current work evaluates the occurrence of imposex in San Gallán- Isla Playa La Mina, Ica, Peru in the marine snail *Stramonita chocolata*. Imposex percentage was 33.3%. The index of the relative length of the penis (RPLI) was 36.23. Statistically the relationship between the length of the conchilla and length of the penis in males and females was not significant.

Key words: imposex, organotin, tributyltin, *Stramonita chocolata*.

INTRODUCCIÓN

Las actividades humanas, entendidas como parte de su desarrollo, causan perturbaciones en los ecosistemas, lo que se hace cada vez más frecuente (1). Entre las consecuencias de las actividades contaminantes sobre las diferentes poblaciones de animales se ha detectado el fenómeno denominado disrupción endocrina (2), que trastorna los mensajes transmitidos por las hormonas debido a la presencia o intervención de sustancias o productos químicos (3). Las sustancias que actúan de esa forma reciben el nombre de disruptores endocrinos, hormonas medioambientales o moduladores endocrinos. Sus implicancias se traducen en impactos mayores sobre la salud y el sistema reproductivo de los organismos (4).

¹ LABORATORIO DE INGENIERÍA AMBIENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES, UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR (UCSUR).

El imposex es la imposición de caracteres sexuales masculinos sobre el sistema reproductivo femenino, como el crecimiento de pene y vasos deferentes. Este fenómeno afecta principalmente a moluscos gasterópodos prosobranquios (5). Aunque el mecanismo exacto de inducción imposex es desconocido, se entiende que se da a través de las hormonas peptídicas que imitan el factor morfogénico del pene (6, 7) o la alteración del metabolismo de la testosterona (8, 9). A su vez, esta imposición es causada por la disminución de la actividad de la aromatasa (enzima encargada de convertir los andrógenos en estrógenos) (10, 11).

Esta alteración ha sido asociada históricamente a compuestos organoestañosos empleados como agentes biocidas en las pinturas antiincrustantes aplicadas sobre muelles, embarcaciones e instalaciones de cultivo (12, 13, 14, 15). El uso de este tipo de pinturas disminuye la resistencia de fricción entre el agua y los cascos de los barcos, lo que a su vez reduce el consumo de combustible y la frecuencia de entrada en dique seco (16). El riesgo potencial de esta sustancia se basa en que, con el transcurso del tiempo, estos componentes lixivian al medio circundante, lo que afecta a los organismos no blanco.

El TBT ha sido identificado, entre los compuestos organoestañosos, como el principal causante de imposex en varias especies de gasterópodos, incluso en bajas concentraciones (17, 18, 19, 20).

Desde su descubrimiento, en la década de 1960, el TBT ha sido ampliamente usado en diferentes aplicaciones marinas, debido a sus propiedades antiincrustantes; esto se transforma en la

liberación continua al ambiente marino (21, 22, 23). El TBT y sus derivados son disruptores endocrinos que afectan el sistema endocrinológico de vertebrados e invertebrados (24).

En un contexto general, los efectos nocivos de TBT en el ambiente se presentan a través del imposex en gasterópodos marinos (25); todos relacionados con las áreas costeras e intensa de actividad marina. Bajas concentraciones de TBT han mostrado inducción de imposex en gasterópodos marinos (25, 26, 27, 28, 10, 29, 2, 30). En algunos casos, el desarrollo del imposex ha sido significativo, ya que el crecimiento de los vasos deferentes impidió la actividad normal de crianza y ocasionó una disminución de la población (17). Se han identificado efectos asociados con TBT en 268 especies de gasterópodos de todo el mundo, correspondientes a los órdenes Vetigastropoda, Mesogastropoda y Neogastropoda. Este último ha sido el más afectado, con 214 especies de las cuales 101 son parte de la familia Muricidae (31).

Stramonita chocolata (nombre común: caracol, caracol plomo o negro) (32) es un gasterópodo que tiene una distribución geográfica que va desde Ecuador hasta Valparaíso, Chile (32). En cuanto a sus características físicas, se observa una concha gruesa con forma de cono, globoso, y en su mayoría de color marrón grisáceo; además presenta reproducción interna y sin dimorfismo sexual. De esta forma, el presente estudio está destinado a evaluar la ocurrencia de imposex en la playa La Mina de la isla San Gallán (Ica, Perú), usando al caracol *S. chocolata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

La isla San Gallán (13°50'20" S y 76°27'01" O) es una de las islas de la Reserva Nacional de Paracas (figura 1) que se encuentran protegidas bajo la Ley de Áreas Naturales Protegidas (Ley n.º 26834). Se ubica en el distrito de Paracas, a unos 5,2 km al oeste de la península de Paracas. La isla es visitada anualmente por miles de peruanos y extranjeros, no solo con fines turísticos o culturales, sino además con propósitos científicos.

La isla San Gallán se caracteriza por un bajo tránsito marino, en marea baja y a una profundidad de 5 m.

ESPECIE EN ESTUDIO

El 31 de mayo del 2015 se recolectaron de la isla San Gallán 50 individuos de *S. chocolata*. Estos fueron colocados en

dos baldes de plástico de 20 L con agua marina para mantenerlos vivos durante su transporte hasta el laboratorio. La toma de muestra se realizó con ayuda de buzos en la playa La Mina.

DETERMINACIÓN DE IMPOSEX

El ensayo ecotoxicológico se realizó en el Laboratorio de Ingeniería Ambiental de la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Científica del Sur (UCSUR). Los organismos fueron narcotizados con una solución de $MgCl_2$ por 45 minutos siguiendo la metodología (33). La longitud de la conchilla (LC) de los caracoles fue medida con un vernier desde el ápex hasta la base (34).

Las conchillas fueron fraccionadas y removidas para el análisis correspondiente. La identificación del sexo se basó en la presencia o ausencia de la glándula de la cápsula y ovarios para las hembras, y testículos y vesículas seminales para los machos (8).



FUENTE: GOOGLE EARTH

FIGURA 1. ZONA DE ESTUDIO: ISLA SAN GALLÁN (ENCERRADA EN UN CÍRCULO) EN LA RESERVA NACIONAL DE PARACAS (ICA, PERÚ).

Se anotó la longitud del pene (LP) y la presencia del vaso deferente para los machos, y hembras con imposex. Los niveles de imposex fueron evaluados usando los siguientes índices: índice relativo de longitud de pene hembras (FPLI, por sus siglas en inglés) e Índice relativo de longitud de pene (RPLI).

Donde:

$$\text{RPLI} = \frac{(\text{Longitud promedio del pene en hembras con imposex})}{(\text{Longitud promedio del pene en los machos})} \times 100$$

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La distribución normal de los datos (LC y LP) fue verificada usando la prueba estadística de Kolmogorov. Se empleó regresión y correlación lineal para determinar si LP fue afectada por LC. La prueba de Kruskal-Wallis permitió contrastar si las muestras aleatorias e independientes proceden de una misma población. Se empleó el paquete estadístico Minitab, versión 17.0 de Windows 7 para los cálculos de los parámetros estadísticos descriptivos e inferencias.

RESULTADOS

NIVELES DE IMPOSEX

Los resultados muestran que, de 50 ejemplares muestreados de *S. chocolata*, el 84% fueron hembras y el 16%, machos. La LC de los caracoles fluctuó entre 6,1 y 7,4 cm de longitud en los machos, mientras que en las hembras alcanzó entre 5,6 y 8,2 cm. En cuanto a la condición reproductiva, de un total de 42 hembras muestreadas, 14 ejemplares

presentaron imposex (33.33%), lo que se evidenció por el desarrollo de un pseudopene. La LP varió entre 0,6 y 1,4 cm en machos, y en hembras con imposex varió entre 0,6 y 1,3 cm.

Los parámetros de imposex (FPLI, RPLI, FPL stand, RPLI stand) obtenidos para *S. chocolata* están resumidos en las tablas 1 y 2.

TABLA 1. PARÁMETROS DE IMPOSEX ANALIZADOS PARA *S. CHOCOLATA*

Parámetros de Imposex en <i>S. chocolata</i>	%
FPLI	0,34
RPLI	36,26
FPL stand	0,05
RPLI stand	35,26
%I	33,33

Una correlación de Pearson entre LC y LP = 0,099, y el valor de correlación muestra una baja correlación en las variables, se debió a que en las hembras con imposex la LP pudiera depender de la exposición del contaminante y no de la longitud de la conchilla (36).

TABLA 2. DATOS BIOMÉTRICOS MEDIDOS A *S. CHOCOLATA*. XLC: MEDIA DE LONGITUD DE LA CONCHILLA; LC_{MAX} Y LC_{MIN}: VALOR MÁXIMO Y MÍNIMO DE LA LONGITUD DE LA CONCHILLA; XLP: MEDIA DE LONGITUD DEL PENE; LP_{MAX} Y LP_{MIN}: VALOR MÁXIMO Y MÍNIMO DE LONGITUD DEL PENE; DE: DESVIACIÓN ESTÁNDAR; N: NÚMERO DE ESPECÍMENES ANALIZADOS.

Biometría (cm)	Machos	Hembras	H. imposex
N	8	52	14
XLC±DE	6,74 ± 0,44	6,93 ± 0,57	6,98 ± 0,66
LC _{max}	7,4	8,2	8,2
LC _{MIN}	6,1	5,6	6,1
XLP±DE	0,93 ± 0,23	0,34 ± 0,5	1,01 ± 0,22
LP _{MAX}	1,4	1,3	1,3
LP _{MIN}	0,6	0	0,6

Se determinó ($p < 0,05$) que el valor del pene del macho y el pene de la hembra por imposex fueron diferentes. Asimismo, se calculó ($p < 0,4$) la longitud de la conchilla de la hembra variaba con la longitud de conchilla del macho.

DISCUSIÓN

El imposex en gasterópodos (como es el caso de *S. chocolata*) se relaciona con la presencia de compuestos organoestañosos acumulados en el cuerpo de estos organismos, estas revelaciones se obtuvieron tras diversas investigaciones (33). En el presente estudio, los datos revelan que el fenómeno de imposex afecta poblaciones de *S. chocolata* en la playa La Mina, de la isla San Gallán, en Paracas (Ica, Perú). Esto puede sugerir que la población es susceptible y está afectada por TBT (37).

El imposex ha sido detectado en la costa sudamericana en *Olivancillaria vesica vesica* (38) y, en el Perú, en *Thais chocolata* (33), con niveles significativos. Mientras que en el presente estudio se detectó un valor de $I\% = 33,33\%$, lo que representa que la especie no sufrió una seria exposición al TBT en comparación con valores para este parámetro de 97,6% mostrados en la investigación de Guabloche y sus colaboradores (35), debido principalmente al ambiente

acuático.

Un estudio previo (35) mostró un LC entre 1,8-3,91 cm y LP entre 0,31-0,68 cm en hembras y machos. Estos valores son alrededor de dos a tres veces menores que los analizados en este estudio. Esta diferencia depende básicamente de la zona donde se extrajo la muestra: playa Hermosa, en Ancón (Lima-Perú), lugar con una permanencia de embarcaciones recreacionales.

En relación con la profundidad de tráfico marítimo, se muestran valores bajos de %I a niveles más profundos (34). De manera similar, el presente estudio contempló la zona de muestreo a una profundidad de 1 a 5 mostrando valores bajo de %I.

Es importante considerar que la isla San Gallán se encuentra en la Reserva Nacional de Paracas y en ella habita una importante comunidad de lobos marinos (*Otaria flavescens*). Por ser un lugar turístico, frente a su litoral se encuentran varias lanchas y barcos que brindan servicios turísticos y otras actividades de entretenimiento. En otro estudio similar, el constante tráfico marítimo sería el responsable de los valores de imposex (35). Los valores obtenidos permiten deducir que en la zona de muestreo, por ser un área natural protegida (ANP), la

especie *S. chocolata* no estuvo expuesta demasiado tiempo al compuesto TBT.

El Perú no presenta una legislación que regule el uso de compuestos organoestañosos (33) y no existe control por ser un área natural protegida por el Estado, por lo que es bastante probable que las pinturas con TBT se sigan usando. Esto explicaría los niveles de imposex encontrados en *S. chocolata*. Además, no hay restricciones en la importación de TBT, a pesar de que este compuesto está en la lista de la Convención de Rotterdam (31).

EFFECTOS DE TOXICIDAD

Una de la hipótesis más aceptadas para explicar la ocurrencia de imposex es la inhibición de la P-450 de la aromatasa, responsable de la conversión de andrógenos en estrógenos (39), lo que induce la aparición de estructuras masculinas en individuos de sexo femenino.

De acuerdo con una investigación previa (40), los contaminantes tales como compuestos orgánicos de estaño resultan fácilmente asimilables, ya que son hidrófobos y pueden acumularse en las reservas lipídicas del animal. Y

la dieta es de gran importancia en la absorción de compuestos orgánicos de estaño (38).

Los factores ambientales a tener en cuenta son la concentración de TBT relativa en diferentes lugares y la abundancia relativa de los diferentes alimentos disponibles que son importantes como indicativo de las rutas de asimilación de los contaminantes.

CONCLUSIÓN

El presente estudio revela que el 33,33% en la especie *S. chocolata* mostró imposex, un fenómeno poco diseminado en el área investigada. Es fundamental ampliar la investigación en esta especie debido a que se encuentra en un área natural protegida junto a la evaluación química del compuesto TBT en sedimentos y tejidos de las especies.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Facultad de Ciencias Ambientales de la Universidad Científica del Sur, Laboratorio de Ingeniería Ambiental, y en especial al profesor José Iannacone por sus consejos y sugerencias, que han hecho posible la realización de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almeida E, Diamantino T, De Sousa O. Marine paints: The particular case of antifouling paints. *Progress in Organic Coatings*. 2007; 59: 2-20.
2. Chacón O, Cuevas F, De La Fuente C, Díaz F, Huaquín L. Disrupción endocrina e imposex. *Avances en Ciencias Veterinarias* 2007; 22: 42-8.
3. Axiak V, Micallef D, Muscat J, Vella A, Mintoff B. Imposex as a biomonitoring tool for marine pollution by tributyltin: Some further observations. *Environment International* 2003; 28: 743-9.
4. Guzmán M, Ramírez P. Disfunción endocrina debido a contaminantes ambientales. *Elementos* 2012; 87: 19-25.
5. Gravel P, Johanning K, McLachlan J, Vargas J, Oberdörster E. Imposex in the intertidal snail *Thais brevidentata* (Gastropoda-Muricidae) from the Pacific coast of Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 2006; 54: 21-6.
6. Oberdörster E, McClellan-Green P. The neuropeptide APGWamide induces imposex in the mud snail, *Ilyanassa obsoleta*. *Peptides* 2000; 21: 1323-30.
7. Oberdörster E, Romano J, McClellan-Green P. The Neuropeptide APGWamide as a Penis Morphogenic Factor (PMF) in Gastropod Mollusks. *Integr. Comp. Biol.* 2005; 45 (1): 28-32.
8. Gooding M, Gallardo C, Leblanc G. Imposex in three marine gastropod species in Chile and potential impact on mariculture. *Marine Pollution Bulletin* 1999; 38: 1227-31.
9. LeBlanc G, Gooding M, Sternberg R. Testosterone-Fatty acid esterification: a unique target for the endocrine toxicity of tributyltin to gastropods. *Integr. Comp. Biol.* 2005; 45 (1): 81-7.
10. Matthiesen P, Gibbs P. Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. *Environ. Toxicol. Chem.* 1998; 17: 37-43.
11. McAllister B, Kime D. Early life exposure to environmental levels of the aromatase inhibitor tributyltin causes masculinization and irreversible sperm damage in zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat. Toxicol.* 2003; 65: 309-16.
12. Gibbs P, Pascoe P, Burt G. Sex change in the female dogwhelks *Nucella lapillus*, induced by tributyltin from antifouling paints. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 1988; 68: 715-31.
13. Oehlmann J, Bettin C. Tributyltin- induced imposex and the role of steroids in marine snails. *Malacol. Rev. Suppl.* 1996; 6: 157-61.

14. Rodríguez F. Imposex en la laguna de Términos, Campeche, México. *Revista Científica UDO Agrícola* 2010; 10: 141-9.
15. Castro I, Perina F, Fillmann G. Organotin contamination in South American coastal areas. *Environmental Monitoring and Assessment* 2011; 184: 1781-99.
16. Kotrikla A. Environmental management aspects for TBT antifouling wastes from the shipyards. *Journal of Environmental Management* 2009; 90: 77-85.
17. Bryan G, Gibbs P, Pascoe P, Burt G. The use of the dog-whelk *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 1987; 67: 507-23.
18. Stroben E, Oehlmann J, Fioroni P. *Hinia reticulata* and *Nucella lapillus*. Comparison of two gastropod tributyltin bioindicators. *Marine Biology* 1992; 114: 289-96.
19. Barreiro R, Quintela M, Ruiz JM. TBT e imposex en Galicia: los efectos de un disruptor endocrino en poblaciones de gasterópodos marinos. *Ecosistemas* 2004; 13: 13-29.
20. Rodríguez J, Tueros I, Borja A, Franco J, Ignacio G, Garmendia J, Muxica I, Sariego C, Valencia V. European ports and along coastal areas. *Continental Shelf Research* 2008; 29: 1165-73.
21. De Mora S. The tributyltin debate: ocean transportation versus seafood harvesting. In: De Mora SJ (ed.). *Tributyltin: case of study of an environmental contaminant*. Cambridge: Cambridge University Press; 1996.
22. Fent K. Ecotoxicology of organotin compounds. *Crit. Rev. Toxicol.* 1996; 26: 1-117.
23. Champ M. A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. *Sci. Total Environ.* 2000; 258: 21-71.
24. Golub M, Doherty J. Triphenyltin as a potential human endocrine disruptor. *Journal Toxicol. Environ.* 2004; 7: 281-95.
25. Smith B. Tributyltin compounds induce male characteristics on female mud snails *Nassarius obsoletus = Ilyanassa obsoleta*. *Journal Appl. Toxicol.* 1981; 1: 141-4.
26. Smith B. The estuarine mud snail, *Nassarius obsoletus*: abnormalities in the reproductive system. *Journal Mollus. Stud.* 1980; 46: 247-56.
27. Bryan G, Burt G, Gibbs P, Pascoe P. *Nassarius reticulatus* (Nassariidae: Gastropoda) as an indicator of tributyltin pollution before and after TBT restrictions. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 1993; 73: 913-29.
28. Horiguchi T, Shiraishi H, Shimizu M, Morita M. Imposex in sea snails, caused by organotin (tributyltin and triphenyltin) pollution in Japan: a survey. *Appl. Organomet. Chem.* 1997; 11: 451-5.

29. Nishikawa J. Imposex in marine gastropods may be caused by binding of organotins to retinoid X receptor. *Mar. Biol.* 2006; 149: 117-24.
30. Oehlmann J, Di Benedetto P, Tillman M, Duft M, Oetken M, Shulte-Oehlmann U. Endocrine disruption in prosobranch mollusks: evidence and ecological relevance. *Ecotoxicology* 2007; 16: 29-43.
31. Tittley-O'Neal C, MacDonald B, Pelletier E, Saint-Louis R, Phillips O. The relationship between imposex and Tributyltin (TBT) concentration in *Strombus gigas* from the British Virgin islands. *Bulletin of Marine Science* 2011; 87: 421-35.
32. Ramírez R, Paredes C, Arenas J. Moluscos del Perú. *Revista de Biología Tropical* 2003; 51: 225-89.
33. Castro I, Fillman G. High tributyltin and imposex levels in the comercial muricid *Thais chocolata* from two Peruvian harbor areas. *Environmental Toxicology and Chemistry* 2012; 31: 1-6.
34. Miloslavich P, Penchaszadeh P, Bigatti G. Imposex en gastrópodos de Venezuela. *Ciencias Marinas* 2007; 33: 319-24.
35. Guabloche A, Álvarez J, Rivas R, Hurtado S, Pradel R, Iannacone J. Imposex in the marine snail *Xanthochorus buxea* (Broderip, 1833) (Muricidae) from the South American Pacific. *The Biologist* 2013; 11 (2): 237-49.
36. Vasconcelos P, Moura P, Barroso C, Gaspar M. Size matters: Importance of penis length variation on reproduction studies and imposex monitoring in *Bolinus brandaris*. *Hydrobiologia* 2011; 661: 363-75.
37. Bezerra F, Braga I, De Almeida C. Imposex occurrence in *Nassarius vibex* from South America: a potential bioindicator in estuarine environments. *Marine Biodiversity Records* 2010; 3.
38. Caetano C, Albsalao R. Imposex in *Olivancillaria vesica* (Gmelin) (Gastropoda, Olividae) from Southeastern Brazilian Sandy beach. *Revista Brasileira de Zoologia* 2002; 19: 215-18.
39. Morcillo Y, Porte C. Monitoring of organotin compounds and their effects in marine molluscs. *Trends Anal. Chem.* 1998; 17: 109-16.
40. Kure L, Depledge M. Accumulation of organotin in *Littorina littorea* and *Mya arenaria* from Danish coastal waters. *Environ. Pollut.* 1994; 84: 149-57.

RECIBIDO: 16/10/2015

ACEPTADO: 5/12/2015

AUTORAS: LAURA MARGARITA CHUMBIMUNE
ILIZARBE Y ZULEIKA JOANA PONCE MORA

CORRESPONDENCIA: lalimargot@gmail.com
zuleikaponcem@gmail.com