

a. Título:

VARIACIÓN INTERANUAL DEL IMPOSEX EN EL CARACOL MARINO *THAISSELLA CHOCOLATA* (MURICIDAE) EN LA COSTA CENTRAL DEL PERÚ

Autores:

RESPONSABLE:

Dr. José Alberto Iannacone Oliver (orcid.org/0000-0003-3699-4732) Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

MIEMBROS:

Mg. Carlos Armando Esqueche Angeles (orcid.org/0000-0002-1877-8553) Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

Mg. Ahuber Omar Vásquez Aranda (orcid.org/0000-0002-2873-6752). Facultad de Ingeniería Geográfica, Ambiental y Ecoturismo.

COLABORADORES

Blga. Lorena Alvaríño Flores (orcid.org/0000-0003-1544-511x). Investigador RENACYT. Carlos Monge III. Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

Estudiante Gian Franco Renato Hermoza Cuya (Estudiante FCCNM, UNFV) (orcid.org/0000-0003-4675-9269). Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

Blgo. Egresado David Minaya Angoma (orcid.org/0000-0002-9085-5357). Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

Unidad de Investigación, Innovación y Emprendimiento: Facultad de Ciencias Naturales y Matemática. Laboratorio de Ecología y Biodiversidad Animal (LEBA).

Fecha de inicio: 1 de marzo del 2022

Fecha de culminación: 31 de diciembre del 2022

Línea de investigación: Biodiversidad, ecología y conservación

Resumen

El Tributitil de estaño (TBT) componente de las tintas anti-incrustantes, ha demostrado tener efectos colaterales sobre los caracoles marinos. La alteración hormonal generada por el TBT en las hembras de los gasterópodos ocasiona que estos individuos se vuelvan estériles debido al fenómeno del imposex. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar la variación interanual del imposex en el caracol marino *Thasiella chocolata* (Muricidae) en siete localidades de la costa central del Perú. Se trabajó con una unidad de análisis de 1188 muestras de *T. chocolata* entre 2013 al 2016. La catalogación del imposex fue evaluada con base a los siguientes cuatro indicadores: imposex en las hembras (I%), el índice relativo de longitud del pene (RPLI) y el Índice del tamaño relativo del pene (RPSI) y el Índice de Secuencia del Vaso Deferente (VDSI). Se observó un porcentaje global de Imposex de 36,39%, y una tendencia a la disminución del 2013 al 2016 del % Imposex, RPLI, RPSI y VDSI. El porcentaje de Imposex varió entre 5,88 % hasta 52,10 %. Los índices de severidad con base al RPLI y RPSI presentaron la siguiente secuencia en orden descendente en las siete localidades evaluadas en la costa central del Perú: Chorrillos > Pucusana > San Bartolo > Isla San Lorenzo > Agua Dulce > La Punta > Callao. Finalmente, para el VDSI se observó la siguiente secuencia: Pucusana > La Punta = San Bartolo = Isla San Lorenzo > Chorrillos > Agua Dulce > Callao. Se evidenció una reducción de la LP de hembras, y del RPLI de *T. chocolata* entre los años de evaluación.

Palabras clave:

índice relativo de longitud del pene, Índice del tamaño relativo del pene, Índice de Secuencia del Vaso Deferente, índices de severidad, TBT

Abstract

Tin tributyl (TBT), a component of antifouling inks, has been shown to have side effects on marine snails. The hormonal alteration generated by TBT in female gastropods causes these individuals to become sterile due to the imposex phenomenon. The objective of this study was to characterize the interannual variation of imposex in the sea snail *Thasiella chocolata* (Muricidae) in seven locations on the central coast of Peru. We worked with an analysis unit of 1188 samples of *T. chocolata* between 2013 and 2016. The imposex cataloging was evaluated based on the following four indicators: imposex in females (I%), the relative index of penile length (RPLI) and the Relative Penile Size Index (RPSI) and the Vas Deferens Sequence Index (VDSI). A global percentage of Imposex of 36.39% was observed, and a downward trend from 2013 to 2016 of the % Imposex, RPLI, RPSI and VDSI. The percentage of Imposex varied from 5.88% to 52.10%. The severity indices based on the RPLI and RPSI presented the following sequence in descending order in the seven locations evaluated on the central coast of Peru: Chorrillos > Pucusana > San Bartolo > San Lorenzo Island > Agua Dulce > La Punta > Callao. Finally, for the VDSI the following sequence was observed: Pucusana > La Punta = San Bartolo = San Lorenzo Island > Chorrillos > Agua Dulce > Callao. There was evidence of a reduction in the LP of females, and in the RPLI of *T. chocolata* between the years of evaluation.

Keywords:

Relative Penile Length Index, Relative Penile Size Index, Vas Deferens Sequence Index, severity indices, TBT

c. Introducción

c.1. Planteamiento del Problema

A la fecha en el Perú no se tiene información de la variación interanual del estado del imposex de los caracoles marinos como *T. chocolata*. Por eso, surgen la siguiente pregunta principal de investigación: ¿Cuál es la variación interanual del imposex en el caracol marino *T. chocolata* (Muricidae) en la costa central del Perú?

De igual forma, surgen las siguientes preguntas específicas de investigación: ¿Cuál es la diferencia entre niveles de imposex para los años 2013 al 2106 en el caracol marino *T. chocolata* (Muricidae) en la costa central del Perú? ¿Cómo es la variación en los niveles de imposex para el caracol marino *T. chocolata* (Muricidae) entre las diferentes localidades en la costa central del Perú? ¿Cómo es la variación del grado de severidad de imposex para los años 2013 al 2106 en el caracol marino *T. chocolata* (Muricidae) en la costa central del Perú?

c.2. Antecedentes

A fecha pocos estudios analizan el efecto del imposex en caracoles marinos en forma interanual. Una evaluación temporal del imposex entre 2007 al 2018 en Brazil ha sido realizado en *Stramonita brasiliensis* (Claremount & Reid, 2011) encontrando que los índices de imposex variaron durante el período de seguimiento, entre 0% a 100%, el índice de secuencia de deferencia de vaso (VDSI) de 0 a 4,11 y el índice de longitud relativa del pene (RPLI) de 0 a 51 (França *et al.*, 2021).

Otra investigación muestra que el imposex en el caracol marino *Nucella lapillus* ha sido monitoreada en Ria de Aveiro (Portugal) entre el 2018 y 2019, para comprender la evolución de

la contaminación por compuestos organoestañicos (OT) después de la prohibición de la Unión Europea de las pinturas anti-incrustantes basados en OT. Se produjo una rápida disminución del imposex, pero recientemente (2018-2019) surgió una tendencia a contracorriente con un ligero aumento del imposex en algunas localidades, en lugar de una disminución continua hacia una recuperación completa (Gomes *et al.*, 2021a).

Otro estudio ha evaluado el imposex en forma interanual en el caracol *Gemophos viverratus* alrededor de la isla de São Vicente (Cabo Verde) en 2019, y lo comparó con los datos disponibles del 2012. El índice de VDSI, la RPLI, el porcentaje de las hembras con imposex (%I) y el porcentaje de hembras esterilizadas en 2019 oscilaron entre 0 y 4,0, entre 0 y 84,4 %, entre 0 y 100 % y entre 0 y 5,1 %, respectivamente. Siendo estos valores muy similares a los registrados en el 2012 (Gomes *et al.*, 2021b).

Se ha determinado la distribución espacio-temporal de imposex a lo largo de las áreas de navegación en la isla de São Luís, Brasil, durante un monitoreo de seis años (2012–2017), utilizando el bioindicador *S. brasiliensis* para rastrear posibles fuentes de contaminación por butilestaño en la costa de la isla de São Luís (Viana *et al.*, 2021).

En relación a la variación espacial, se ha evaluado a *Thaisella coronata* en un sistema estuarino de la Amazonía Oriental, Brasil, encontrando una incidencia de imposex que varió de 0% a 100% y se registró VDSI-I (papilas del pene) en gasterópodos de cinco de los seis sitios muestreados (Ribeiro-Brasil *et al.*, 2021).

c.3. Justificación e importancia

Desde la perspectiva ambiental: la persistencia del imposex en los ambientes acuáticos puede conducir a riesgos serios para la salud de la biota marina, en especial en la reproducción de los caracoles marinos de la familia Muricidae y los organismos que lo habitan, produciendo exposición a sustancias químicas, y que pueden presentar efectos letales y subletales al ser capturados o ingeridos por estos organismos (Ribeiro-Brasil *et al.*, 2021; Viana *et al.*, 2021).

La relevancia se sustenta en conocer el grado de afectación sobre el ecosistema marino ante la presencia de una sustancia tóxica como el Tributyl de estaño (TBT), quien ha demostrado tener efectos colaterales sobre los gasterópodos. Conocido el efecto tóxico del TBT, ciertas especies de gasterópodos hembras pueden ser utilizadas como un indicador ante el uso de pinturas anti-incrustantes que ya no deberían fabricarse con ciertos aditivos por su elevado nivel de afectación ambiental.

En relación con la salud pública: el poblador peruano está expuesto a la contaminación de estaño al consumir los caracoles marinos con imposex en los diferentes platillos culinarios de mucha demanda como el ceviche mixto y los mariscos. Varios estudios describen los niveles de compuestos orgánicos de estaño en los alimentos marinos y abordan los riesgos de su consumo hacia los seres humanos (Chamorro-García *et al.*, 2021; Jiang *et al.*, 2021).

Finalmente, *la importancia desde la normativa:* siguen siendo escasos los estudios disponibles sobre el tema, haciendo que no exista normativa en el Perú que regule el uso de los compuestos

órganoestañosos en el ambiente marino (Batista *et al.*, 2016; Gerres *et al.*, 2021; Gomes *et al.*, 2021a; Uc-Peraza *et al.*, 2022).

c.4. Marco Teórico

Contaminación Marina

La actividad antrópica ha impactado los ambientes marinos con desechos de contaminantes como agentes físicos y químicos (Ragagnin & Turra, 2022). Estos agentes alteran perjudicialmente las condiciones ambientales y a los seres vivos ocasionando efectos nocivos en la salud, fecundidad y supervivencia (Stickle & Zhang, 2003; França *et al.*, 2021). El efecto de un contaminante en un ser vivo puede ser perjudicial para la vida de éste, más aún el efecto puede multiplicarse cuando el número de diferentes contaminantes aumenta (Ragagnin & Turra, 2022). Así, la presencia de un tóxico puede favorecer a la recepción de otros, haciendo que la contaminación múltiple por diferentes sustancias sea posible y letal para la vida (Caja-Molina & Iannacone, 2021; Dellafreda & Iannacone, 2021).

Tintas anti incrustantes

Las pinturas anti incrustantes aún son de uso común por los pescadores artesanales (França *et al.*, 2021). Algunas de estas pinturas contienen compuestos aditivos como el TBT, el cual permanece en el ambiente marino y produce el fenómeno de imposex en las hembras de gasterópodos. Este fenómeno produce la masculinización de las hembras de los gasterópodos (Ragagnin & Turra, 2022).

Tributil de estaño (TBT)

Los compuestos organoestañosos, tienen un efecto particular sobre los gasterópodos marinos denominado imposex (Mensink *et al.*, 2002; Rivas *et al.*, 2017; Castro *et al.*, 2018; Ragagnin & Turra, 2022). Este fenómeno implica el desarrollo de órganos sexuales masculinos en las hembras, lo cual, puede ocasionar en estos moluscos, el fracaso reproductivo y una posterior extinción de las poblaciones locales (Castro *et al.*, 2012; França *et al.*, 2021). Uno de los compuestos organoestañosos asociados a la ocurrencia del imposex es el TBT (por sus siglas en inglés) (Otegui *et al.*, 2019; Ragagnin & Turra, 2022).

Cabe precisar que al respecto con relación a la evaluación del riesgo ambiental asociado a TBT, el Convenio para la Protección Ambiental del Atlántico Nordeste (OSPAR, 2008), estableció un estándar de monitoreo específico para *Nucella lapillus* (Linnaeus 1758), *Nassarius reticulatus* (Linnaeus, 1758) y *Neptunea antiqua* (Linnaeus, 1758), siendo estas especies referenciales para determinar niveles de riesgo ambiental con contaminación con TBT (Martínez-Llado *et al.*, 2007; Maciel *et al.*, 2018; Gomes *et al.*, 2021ab).

Al respecto, hasta hace poco tiempo, se pensaba que los puertos internacionales y de alto tráfico marino de grandes embarcaciones, eran la fuente principal de contaminación por dicho compuesto; sin embargo, las recientes investigaciones han encontrado que los puertos artesanales tendrían aportes más frescos de este compuesto organoestañoso, causando altos niveles de imposex (Enrique *et al.*, 2019; França *et al.*, 2021).

Imposex

De otro lado, si bien el indicador principal de contaminación por compuestos organoestañosos en el medio marino, es el imposex (Bennett, 1996; Guabloche *et al.*, 2017; Enrique *et al.*, 2019; França *et al.*, 2021), los gasterópodos no son los únicos organismos expuestos a un riesgo ambiental por estos químicos residuales en el mar (Primost *et al.*, 2021). Se ha detectado restos de TBT en tejidos de mamíferos marinos como ballenas, delfines, focas y en otros organismos de alta mar (Bandara *et al.*, 2021).

La alteración hormonal generada por el TBT en las hembras de gasterópodos ocasiona que estos individuos se vuelvan estériles (Batista-Andrade *et al.*, 2017; Marlatt *et al.*, 2022), reduciendo considerablemente la densidad poblacional, llegando incluso a la desaparición de esta a nivel local, pudiendo afectar el equilibrio del ecosistema (Enrique *et al.*, 2019; França *et al.*, 2021; Gomes *et al.*, 2021).

Registro histórico del Imposex

El imposex fue inicialmente conceptualizada por Smith (1971) y estudiada en cuatro regiones del planeta: Europa, Asia, Oceanía; y América del Norte y Latinoamérica; incluyendo Centro y Sudamérica (Titley-O'Neal *et al.*, 2011), sin embargo, las investigaciones se concentran en países europeos y en Estados Unidos (Titley O'Neal *et al.*, 2011) con resultados de hasta 100% de ocurrencia en zonas de impacto directo de puertos. En Sudamérica, Brasil es el país con mayor número de investigaciones asociadas al imposex (Castro *et al.*, 2012; França *et al.*, 2021), mientras que en el Perú se han ejecutado investigaciones en las zonas del puerto del Callao en las especies *Thaisella chocolata* (Duclos 1932) y *Xanthochorus buxeus* (Broderip, 1833) (Castro & Fillman, 2012; Castro *et al.*, 2018; Enrique *et al.*, 2019); Chimbote, también con la especie *T. chocolata*

(Castro & Fillman, 2012); Paracas, en la especie *T. chocolata* (Chumbimune & Ponce, 2015); Pucusana, en *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1767) y *Crassilabrum crassilabrum* (G. B. Sowerby II, 1834) (Guabloche *et al.*, 2017; Rivas *et al.*, 2017) y Ancón, en las especies *X. buxeus* y *C. crassilabrum* (Guabloche *et al.*, 2013; Rivas *et al.*, 2017).

Factores que afectan el imposex

Uno de los parámetros más importantes en el imposex es la medida del pene del caracol, lo cual es difícil de estandarizar, y por lo tanto no es un procedimiento muy preciso. Primero, el pene es un órgano muscular, por lo tanto, sujeto a contracción con estimulación táctil (Vasconcelos *et al.*, 2011). Además, algunos factores podrían introducir sesgos en la medición del pene, incluida la manipulación extendida, la anestesia, el preservante químico (por ejemplo, formol) o la congelación y la descongelación de las muestras biológicas (Vasconcelos *et al.*, 2011). Sin embargo, varias investigaciones de imposex en caracoles que evalúan varios índices trabajan con material preservado en formol al 10%. Así tenemos evaluaciones del imposex con material fijado en formalina en caracoles murícidos: *Hexaplex trunculus* (Terlizzi *et al.*, 1999); *H. trunculus*, *Bolinus brandaris* y *Thais haemastoma* (Chiavarini *et al.*, 2003); *Cantharus cecillei* (Shie *et al.*, 2005); *Mauritia arabica* (Huang *et al.*, 2008), *Nassarius reticulatus* (Sousa *et al.*, 2009); entre otros.

c.5. Objetivos

Objetivo principal:

- Caracterizar la variación interanual del imposex en el caracol marino *T. chocolata* (Muricidae) en la costa central del Perú.

Objetivos específicos:

- Comparar los niveles de Imposex para los años 2013 al 2106 en el caracol marino *T. chocolata* (Muricidae) en la costa central del Perú.
- Determinar la variación en los niveles de Imposex para el caracol marino *T. chocolata* en diferentes localidades en la costa central del Perú.
- Determinar el grado de severidad de Imposex entre los años 2013 al 2106 en el caracol marino *T. chocolata* en la costa central del Perú.

d. Método

d.1 Universo y muestra

Se obtuvieron los ejemplares adultos (Tamaño de la conchilla entre 40 y 70 mm) de *T. chocolata* procedentes de diferentes localidades del departamento de Lima y del Callao, Perú (Castro & Fillmann, 2012) y fueron recolectados mediante buceo por compresión a una profundidad entre los 60 cm y 20 m, y a una distancia de la orilla de hasta 250 m.

El universo corresponde al ambiente marino de cuatro localidades ubicadas en la costa central del Perú entre Lima y Callao.

Se trabajó como unidad de análisis con 1 188 muestras de material recolectado de *T. chocolata* de diferentes localidades del Departamento de Lima del Callao, Perú y depositado en la colección biológica del Museo de Historia Natural de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal (MHN-UNFV) según lo señalado en la Tabla 1 en relación al ámbito espacial y temporal.

Tabla 1.

Ámbito espacial y temporal según Año, Mes, localidad, Región y número de caracoles marinos Thaisella chocolata (Muricidae) registrados en la colección biológica del Museo de Historia Natural de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal (MHN-UNFV).

Data	Año	Meses	Localidad	Región	Número
1	2013	junio	Chorrillos	Lima	78
2	2013	junio	Chorrillos	Lima	123
3	2013	junio	Chorrillos	Lima	40
3	2014	noviembre	Chorrillos	Lima	106
4	2014	junio	San Bartolo	Lima	105
5	2014	junio	Pucusana	Lima	100
6	2015	mayo	La Punta	Callao	55
7	2015	mayo	San Bartolo	Lima	53
8	2016	junio	Pucusana	Lima	85
9	2016	junio	Chorrillos	Lima	54
10	2016	junio	Chorrillos	Lima	55
11	2016	junio	Callao	Callao	90
12	2016	junio	Agua dulce	Lima	60
13	2016	junio	Chorrillos	Lima	61
14	2016	junio	Isla San Lorenzo	Callao	62
15	2016	junio	Callao	Callao	60
				Total	1188

d.2 Instrumento

se empleó una regla metálica para determinar la longitud de la conchilla (LC) de los caracoles. Microscopio y estereoscopio, para la búsqueda del imposex. Se llevó una planilla a manera de ficha para recolectar los datos de imposex de cada uno de los caracoles marinos evaluados en una base en Microsoft Excel con toda la data recolectada, la cual previamente fue validada por tres investigadores especializados que por juicio de expertos determinaron en base a cuatro criterios la suficiencia, claridad, coherencia, y relevancia la ficha de recolecta de información (Cooke, 2014).

d.3 Procedimiento

Los moluscos fueron anestesiados con una disolución de cloruro de magnesio (3,5%) por una h de exposición (Castro & Fillman, 2012). La longitud de la conchilla del molusco (LC) de los individuos se midieron empleando un instrumental tipo vernier ($\pm 0,01$ mm de grado de precisión) desde el ápex hasta la base del molusco. La identificación sexual se efectuó usando un microscopio tipo estereoscopio y fue sustentado por presentar o tener ausente la glándula de la capsula y los ovarios en los caracoles femeninos, y testículos y la presencia de la vesícula seminal para los moluscos masculinos (Collado *et al.*, 2010). Se registró el tamaño del pene (LP) y la ocurrencia del vaso deferente para los moluscos machos y para las hembras con imposex. La catalogación del Imposex se evaluó en base a los siguientes indicadores: imposex en las hembras (I%), índices de LP en hembras (FPL, por sus siglas en inglés), el índice relativo de LP (RPLI) y el Índice del tamaño relativo del pene (RPSI) (Castro & Fillman, 2012, Castro *et al.*, 2018):

$$I\% = \frac{\text{hembras con imposex}}{\text{total de hembras}} \times 100$$

$$FPL = \text{media de la longitud del pene de hembras}$$

$$RPLI = \frac{\text{longitud promedio de penes de hembras}}{\text{longitud promedio de penes de machos}} \times 100$$

El Imposex fue caracterizado en cuatro niveles: ausente (% de imposex = cero), bajo (% de imposex = 0,1 a 33%), medio (% de Imposex = 33,1 a 66) y alto (% de Imposex = 66,1 a 100%) (Luna *et al.*, 2022; Ragagnin & Turra, 2022).

En adición, para minimizar el efecto del tamaño en los parámetros de imposex, longitud de pene de hembra (FPL) y índice de longitud relativo el pene (RPLI) fueron estandarizados con la longitud de la conchilla según Castro & Fillmann (2012).

$$FPL_{\text{estandar}} = \frac{FPL}{LC \text{ hembras}}$$

$$RPLI_{estandar} = \left(\frac{\frac{\textit{longitud media de penes en hembras}}{\textit{longitud media de conchilla en hembras}}}{\frac{\textit{longitud media de penes en machos}}{\textit{longitud media de conchilla en machos}}} \right) \times 100$$

Se determinó el índice de severidad del imposex en base a la escala de seis niveles del VDSI (índice de secuencia del vaso deferente) (Terlizzi *et al.*, 1999), que proporciona una indicación del impacto reproductivo de la población de caracoles.

d.4 Análisis de datos

La normalidad y la homogeneidad de los datos (LC, LP, e índices imposex) se verificaron con el uso de pruebas de Shapiro-Wilks y Levene, respectivamente. Para verificar si LP se ve afectada por LC en *T. chocolata*, se realizó una gráfica de la regresión lineal múltiple entre estos parámetros para las hembras y los machos. Se utilizó el análisis de correlación de Pearson para determinar la relación de los parámetros imposex (RPLI, RPSI y VDSI) entre los cuatro años examinados (2013 al 2016). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico SPSS (Ver 28), con un nivel de significación de 0,05.

c.5 Aspectos éticos: Los investigadores indican que aplicaron todas las normativas de la institucional peruanas e internacionales en base a las autorizaciones, normas de bioseguridad y descarte de sustancias de naturaleza química y biológica. Los caracoles no son incluidos como restos no peligrosos, y por lo tanto la disposición final siguió lo señalado en el Decreto Supremo del Ministerio del Ambiente 014-2017 según lo señalado en su Artículo número cuarenta-tres, en donde se señala que los restos sólidos que son eliminados por los laboratorios provenientes de análisis de tipo ambiental son incluidos en la categoría de restos no peligrosos y son administrados

según esta normativa a través del servicio de limpieza pública municipal. Los moluscos fueron adquiridos de los pescadores en cada ámbito geográfico por lo que no se necesitaron permisos. Todo se realizó en cumplimiento a las normas de bioseguridad, asegurándose una adecuada gestión del material malacológico y otros componentes químicos. En el laboratorio fue seguido lo señalado en la guía para la gestión y eliminación de residuos del Laboratorio de Ecología y biodiversidad Animal (LEBA) de la Universidad Nacional Federico Villarreal. Ejemplares representativos recolectados de *T. chocolata* fueron depositados en la colección biológica del Museo de Historia Natural de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villarreal (MHN-UNFV).

d. Resultados

Se observó para el global de la muestra de 1188 especímenes evaluados de la LC de *T. chocolata*, que las hembras fueron de mayor tamaño que los machos (Tabla 2). En relación a los cuatro años de evaluación para las diferencias entre machos y hembras con base a la LC de *T. chocolata*, solo se notó diferencias significativas en el 2015, siendo los machos de mayor tamaño que las hembras (Tabla 2). Fueron encontradas diferencias en la LC de *T. chocolata*, únicamente para la localidad de Pucusana, no observándose diferencias en la LC para las otras seis localidades (Tabla 2).

Tabla 2.

Variaciones temporales entre el 2013 al 2016 y espaciales en Lima y Callao para la longitud de la conchilla (LC) de Thiasella chocolata.

LC/ Años	Machos	Hembras	t	p
2013	53,06	51,10	0,81	0,41
2014	58,12	59,18	1,36	0,17
2015	57,36	53,04	33,80	0,001
2016	51,17	51,76	13,82	0,16

LC / Localidades				
Pucusana	52,44	56,63	44,04	0,001
San Bartolo	59,56	61,33	18,79	0,06
Chorrillos	53,13	53,70	0,86	0,38
Agua Dulce	51,33	51,41	0,10	0,91
Callao	51,21	50,44	10,29	0,30
La Punta	50,90	51,50	0,42	0,67
Isla San Lorenzo	50,14	52,38	13,24	0,19
Global	53,45	54,38	22,75	0,02

t = Estadístico de t de Student. p = probabilidad. Valores en negrita indican diferencias significativas a un $p < 0,05$.

En relación a los diferentes cuatro años de evaluación para las diferencias entre machos y hembras con base a la LP de *T. chocolata*, se notó diferencias significativas en el año 2013, 2015 y 2016, siendo para el 2013 la LP mayor en las hembras que en los machos; sin embargo, los machos presentaron un mayor tamaño de la LP que las hembras para el 2015 y 2016 (Tabla 3). Fueron encontradas diferencias en la LP de *T. chocolata*, para las localidades de San Bartolo, Callao, La Punta e Isla San Lorenzo, no observándose diferencias en la LC para las otras tres localidades (Tabla 3).

Tabla 3.

Variaciones temporales entre el 2013 al 2016 y espaciales en Lima y Callao para la longitud del pene (LP) de Thiasella chocolata.

LP	Machos	Hembras	t	p
2013	9,45	11,72	1,99	0,04
2014	11,75	10,18	1,32	0,18
2015	8,69	6,66	2,39	0,02
2016	10,99	3,81	11,72	0,0001
Pucusana	10,74	10,14	0,65	0,51
San Bartolo	9,92	7,03	2,48	0,01
Chorrillos	10,21	9,93	0,33	0,73
Agua Dulce	11,77	7,14	1,29	0,25

Callao	11,66	1,75	15,05	0,0001
La Punta	10,41	6,24	5,07	0,0001
Isla San Lorenzo	10,46	6,66	2,36	0,03
Global	10,61	9,01	3,38	0,0007

t = Estadístico de t de Student. p = probabilidad. Valores en negrita indican diferencias significativas a un $p < 0,05$.

La Tabla 4 nos muestra las variaciones de los parámetros de Imposex e índices de severidad de *T. chocolata* entre los años 2013 al 2016 para un total de 1188 muestras. Se observó un % global de Imposex de 36,39 (medio), y una tendencia a la disminución del 2013 (alto) al 2016 (bajo) del % Imposex, RPLI, RPSA y VDSI.

Tabla 4.

Variaciones temporales entre el 2013 al 2016 del monitoreo biológico de los parámetros de Imposex e índices de severidad de Thiasella chocolata.

Año	n	Machos	Hembras	Nº Imposex	% Imposex	RPLI	RPSI	VDSI
2013	241	84	157	110	70,06	123,92	190,29	3,16
2014	311	92	219	54	24,66	86,68	65,13	3,19
2015	108	64	44	15	34,09	76,72	45,17	3,00
2016	528	283	245	63	25,71	29,32	4,17	2,13
Global	1188	523	665	242	36,39	84,88	61,14	2,89

RPLI = Índice de longitud relativo del pene. RPSI = Índice del tamaño relativo del pene. VDSI = Índice de Secuencia del Vaso Deferente.

La Tabla 5 nos muestra las variaciones de los parámetros de Imposex e índices de severidad de *T. chocolata* en Lima y Callao entre siete localidades. El % de Imposex varía entre 5,88 % (bajo) hasta 52,10% (medio). De igual manera el índice de severidad con base al RPLI y RPSI presentaron la siguiente secuencia en orden descendente: Chorrillos > Pucusana > San Bartolo > Isla San Lorenzo > Agua Dulce > La Punta > Callao. Finalmente, para el VDSI se observó la siguiente

secuencia: Pucusana > La Punta = San Bartolo = Isla San Lorenzo > Chorrillos > Agua Dulce > Callao (Tabla 5).

Tabla 5.

Variaciones espaciales en Lima y Callao del monitoreo biológico de los parámetros de Imposex e índices de severidad de Thiasella chocolata.

Localidades	n	Machos	Hembras	Nº	%	RPLI	RPSI	VDSI
				Imposex	Imposex			
Pucusana	185	78	107	25	23,36	94,46	84,29	3,48
San Bartolo	158	91	67	8	11,94	70,93	35,68	3,00
Chorrillos	517	183	334	174	52,10	97,31	92,14	2,96
Agua Dulce	61	26	35	7	20,00	60,69	22,35	2,86
Callao	150	97	53	19	35,85	15,02	0,34	1,37
La Punta	55	20	35	7	20,00	59,97	21,57	3,00
Isla San Lorenzo	62	28	34	2	5,88	62,12	23,97	3,00
Global	1188	523	665	242	36,39	84,88	61,14	2,89

RPLI = Índice de longitud relativo del pene. RPSI = Índice del tamaño relativo del pene. VDSI = Índice de Secuencia del Vaso Deferente.

La Tabla 6 nos evidencia que se observó una correlación negativa entre los años de evaluación y la LP de hembras, y entre los años de evaluación con el RPLI de *T. chocolata*.

Tabla 6.

Matriz de Correlación de Pearson (rp) y nivel de significancia para el monitoreo biológico de los años, parámetros de Imposex e índices de severidad de Thiasella chocolata.

	Años	LC hembras	LC machos	LP machos	LP hembras	% Imposex	RPLI	RPSI	VDSI
Años		0,85	0,75	0,85	0,01	0,25	0,02	0,06	0,15
LC hembras	-0,14		0,24	0,36	0,71	0,45	0,94	0,77	0,57
LC machos	-0,24	0,75		0,9792	0,65	0,69	0,68	0,93	0,28
LP machos	0,14	0,63	-0,02		0,95	0,45	0,64	0,66	0,76
LP hembras	-0,98	0,28	0,34	-0,04		0,35	0,04	0,13	0,11
% Imposex	-0,74	-0,54	-0,3	-0,54	0,64		0,21	0,06	0,57
RPLI	-0,97	0,05	0,31	-0,35	0,95	0,78		0,07	0,11

RPSI	-0,93	-0,22	-0,06	-0,33	0,86	0,93	0,92	0,34
VDSI	-0,84	0,42	0,71	-0,23	0,88	0,42	0,88	0,65

LC = longitud de la conchilla. LP = Longitud del Pene. RPLI = Índice de longitud relativo del pene. RPSI= Índice del tamaño relativo del pene. VDSI = Índice de Secuencia del Vaso Deferente.

Las Figuras 1 y 2 muestran las gráficas de relación entre la LC y LP de las hembras y machos de *Thiasella chocolata* para el monitoreo biológico de los años 2013 a 2016 en la región de Lima y Callao, Perú. En ambos casos las ecuaciones de regresión lineal generadas no fueron significativas y con un bajo coeficiente de determinación.

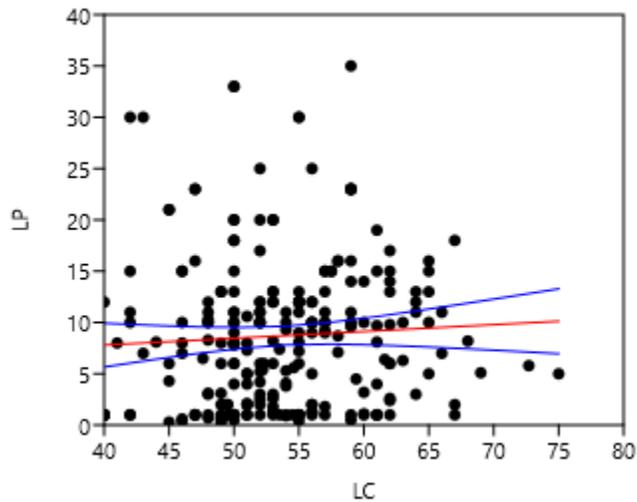


Figura 1. Gráfica de relación entre la LC y LP de las hembras de *Thiasella chocolata* para el monitoreo biológico de los años 2013 a 2016 en la región de Lima y Callao, Perú. Línea roja representa la regresión lineal de las variables y las líneas azul los límites de confianza al 95%. Ecuación de regresión: $y(LP) = 0,06 + 51,36x(LC)$, Coeficiente de determinación: $r^2 = 0,003$, $p = 0,35$.

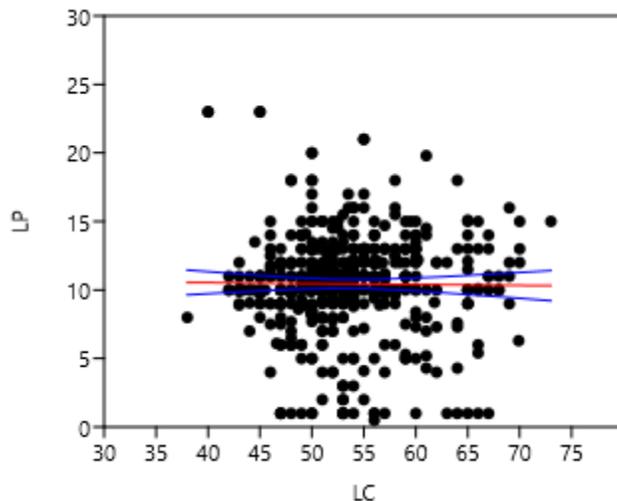


Figura 2. Gráfica de relación entre la LC y LP de los machos de *Thiasella chocolata* para el monitoreo biológico de los años 2013 a 2016 en la región de Lima y Callao, Perú. Línea roja representa la regresión lineal de las variables y las líneas azul los límites de confianza al 95%. Ecuación de regresión: $y(LP) = -0,006 + 10,80x(LC)$, Coeficiente de determinación: $r^2 = 0,0001$, $p = 0,80$.

f. **Discusión**

En el presente trabajo se vieron oscilaciones en el Imposex y en los índices de severidad del caracol *T. chocolata* entre los años 2013 (alto) al 2016 (bajo) para 1188 especímenes. Se observó un % global de Imposex de 36,39 (medio), con una variación entre 5,88 % (bajo) hasta 52,10% (medio). Los valores globales de los índices de severidad RPLI, RPSI y VDSI fueron 84,88, 61,14 y 2,89, respectivamente. Este fenotipo denominado Imposex, es definido como la presencia de órganos sexuales masculinos no funcionales que se desarrollan en forma exclusiva en los caracoles hembras de *T. chocolata*. Esta condición fenológica atípica es irreversible, lo que produce a una reproducción deficiente, proporciones sexuales sesgadas, disminución de la fertilidad y finalmente riesgo de disminución concomitante en la diversidad de especies y poblaciones en el ambiente

acuático (Marlatt *et al.*, 2022). La literatura científica evidencia que las hembras jóvenes de varias especies de caracoles marinos son extremadamente sensibles a desarrollar Imposex cuando se exponen a específicamente a concentraciones de TBT tan bajas como $1 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ en agua de mar y las hembras afectadas pueden volverse infértiles a concentraciones de TBT superiores a $3\text{--}5 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ (Beyer *et al.*, 2022). Nuestros resultados sugieren aun el empleo del TBT en las pinturas anti-incrustantes entre el 2013 al 2016 en las costas marinas del departamento de Lima, Perú debido a la presencia de Imposex, y a los valores de severidad por RPLI, RPSA y finalmente VDSI en *T. chocolata*.

Se ha señalado que los efectos adversos del disruptor endocrino TBT como el Imposex en caracoles marinos están es decrecimiento a nivel mundial (Beyer *et al.*, 2022). En la presente investigación se ha observado una tendencia a la disminución entre los años 2013 al 2016 para el % Imposex, RPLI, RPSA y finalmente para el VDSI de *T. chocolata*. Esta disminución observada es debido al compromiso global de eliminar gradualmente las pinturas marinas basadas en TBT. El Comité de Protección Ambiental Marina de la Organización Marítima Internacional (OMI) apoya esta estrategia de eliminación completa en todo el mundo para el 2008. La documentación de muchas encuestas de campo y programas de monitoreo sugiere que la prohibición contra las pinturas anti-incrustantes con base al TBT ha sido en gran medida efectiva, aunque algunos proveedores han continuado produciendo y vendiendo estos productos en varios países (Beyer *et al.*, 2022). En otros países se evidencia con base a una comparación temporal que la contaminación por TBT, los niveles de Imposex y los índices de severidad están disminuyendo por la prohibición de este compuesto organoestáñico, lo que permite una recuperación ambiental del ecosistema marino (Slama *et al.*, 2022).

Se han observado diferencias en la LC de *T. chocolata*, solo para la localidad de Pucusana, no se visto diferencias en la LC al comparar con las otras seis localidades. En relación a los cuatro años de evaluación para las diferencias entre machos y hembras con base a la LC de *T. chocolata*, solo se notó diferencias significativas en el 2015, siendo los machos de mayor tamaño que las hembras. La literatura señala que la estructura de población actual de una especie como el caracol marino *T. chocolata* refleja la combinación de corrientes oceanográficas, rasgos de historia de vida y eventos históricos (Zelada-Mázmela *et al.*, 2022). Sin embargo, recientes hallazgos respaldan la existencia de una población de *T. chocolata* genéticamente homogénea entre Bayovar (Piura) y Marcona (Ica) en el Perú, lo que incluye el área de estudio de la presente investigación, lo que concilia los criterios biológicos y de manejo para este molusco (Zelada-Mázmela *et al.*, 2022).

Se ha notado diferencias significativas entre los años 2013, 2015 y 2016. Para el 2013, la LP fue mayor en las hembras que en los machos; sin embargo, los machos presentaron un mayor tamaño de la LP en contraste con las hembras para el 2015 y 2016. Escasas investigaciones analizan el impacto del Imposex en caracoles marinos comparativamente en forma interanual. Una evaluación temporal del Imposex entre doce años de evaluación en el caracol marino *S. brasiliensis* muestra que el Imposex fluctuó entre 0% a 100%, el VDSI de 0 a 4,11 y el RPLI de 0 a 51 (Claremount & Reid, 2011; França *et al.*, 2021). El Imposex en el caracol marino *N. lapillus* se ha muestreado a lo largo de 2 años, después de la prohibición de la Unión Europea de las pinturas anti-incrustantes basados en OT, lo que evidenció en general una rápida disminución del Imposex (Gomes *et al.*, 2021a). Se ha determinado el Imposex en forma interanual en el caracol *G. viverratus* comparando los datos disponibles entre dos años (2012 y 2019). El VDSI, RPLI, el % de hembras con imposex,

y el porcentaje de hembras esterilizadas oscilaron entre 0 y 4,0, entre 0 y 84,4 %, entre 0 y 100 % y entre 0 y 5,1 %, respectivamente. Siendo estos valores muy similares a los registrados en el 2012 (Gomes *et al.*, 2021b).

Cambios en los parámetros de Imposex e índices de severidad de *T. chocolata* en Lima y Callao han sido observados entre las siete localidades del departamento de Lima. El índice de severidad con base al RPLI y RPSI presentaron la siguiente secuencia en orden descendente: Chorrillos > Pucusana > San Bartolo > Isla San Lorenzo > Agua Dulce > La Punta > Callao. Finalmente, para el VDSI se observó la siguiente secuencia: Pucusana > La Punta = San Bartolo = Isla San Lorenzo > Chorrillos > Agua Dulce > Callao. Las variaciones espaciales para el Imposex, RPLI, RPSA y VDSI observadas entre las diferentes localidades muestreadas están directamente relacionadas con el tráfico de las embarcaciones y la actividad antrópica como turismo, pesquería comercial y artesanal en los diversos puertos y caletas pesqueras estudiadas (Ragagnin & Turra, 2022). Por otro lado, se ha visto la distribución espacial del Imposex a lo largo de las áreas de navegación en Brasil, durante un monitoreo de seis años (2012–2017), utilizando el bioindicador *S. brasiliensis* para rastrear posibles fuentes de contaminación por TBT (Viana *et al.*, 2021). En relación a la variación entre localidades, se ha monitoreado a *T. coronata* encontrando una incidencia de imposex que varió de 0% a 100% y se registró VDSI-I (papilas del pene) en gasterópodos de cinco de los seis sitios muestreados (Ribeiro-Brasil *et al.*, 2021).

Se concluye que el porcentaje global de Imposex de 36,39%, y una tendencia a la disminución del 2013 al 2016 del % Imposex, RPLI, RPSI y VDSI. El porcentaje de Imposex varió entre 5,88 % hasta 52,10 %. Los índices de severidad con base al RPLI y RPSI presentaron la siguiente

secuencia en orden descendente en las siete localidades evaluadas en la costa central del Perú: Chorrillos > Pucusana > San Bartolo > Isla San Lorenzo > Agua Dulce > La Punta > Callao. Finalmente, para el VDSI se observó la siguiente secuencia: Pucusana > La Punta = San Bartolo = Isla San Lorenzo > Chorrillos > Agua Dulce > Callao. Se evidenció una reducción de la LP de hembras, y del RPLI de *T. chocolata* entre los años de evaluación.

e. Referencias

- Bandara, K.R.V., Chinthaka, S.D.M., Yasawardene, S.G., & Manage, P.M. (2021). Modified, optimized method of determination of Tributyltin (TBT) contamination in coastal water, sediment and biota in Sri Lanka. *Marine Pollution Bulletin*, 166, 112202.
- Batista, R.M., Castro, I.B., & Fillmann, G. (2016). Imposex and butyltin contamination still evident in Chile after TBT global ban. *Science of the Total Environment*, 566–567, 446–453.
- Batista-Andrade, J.A., Caldas, S.S., Batista, R.M., Castro, I.B., Fillmann, G., & Primel, E.G. (2017). From TBT to booster biocides: levels and impacts of antifouling along coastal areas of Panama. *Environmental Pollution*, 234, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.063>.
- Bennett, R.F. (1996). *Industrial manufacture and applications of tributyltin compounds*. (pp. 23-61). En: S. J. de Mora (Ed.): *Tributyltin: case study of an environmental contaminant*. Cambridge University Press.
- Beyer, J., Song, Y., Tollefsen, K.E., Berge J.A., Tveiten, L., Helland, A., Øxnevad, S., & Schøyen, M. (2022). The ecotoxicology of marine tributyltin (TBT) hotspots: A review. *Marine Environmental Research*, 179, 105689. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2022.105689>

- Caja-Molina, A.V., & Iannacone, J. (2021). Evaluación del riesgo ambiental por petróleo crudo en las especies acuáticas *Lemna minor*, *Daphnia magna* y *Danio rerio*. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 45 (176), 777-794.
- Castro, I.B., & Fillman, G. (2012). High tributyltin and imposex levels in the comercial muricid *Thais chocolata* from two peruvian harbor areas. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31, 1-6.
- Castro, I.B., Arroyo, M., Costa, P., & Fillmann, G. (2012). Butyltin compounds and imposex levels in Ecuador. *Archives Environmental Contamination Toxicology*, 62, 68–77.
- Castro, I.B., Iannacone, J., Santos, S., & Fillman G. (2018). TBT is still a matter of concern in Peru. *Chemosphere*, 205, 253–259.
- Chamorro-García, R., Poupin, N., Tremblay-Franco, M., Canlet, C., Egusquiza, R., Gautier, R., Jouanin, I., Shoucri, B.M., Blumberg, B., & Zalko, D. (2021). Transgenerational metabolomic fingerprints in mice ancestrally exposed to the obesogen TBT. *Environment International*, 157, 106822.
- Chiavarini, S., Massanisso, P., Nicolai, P., Nobili, C., & Morabito, R. (2003). Butyltins concentration levels and imposex occurrence in snails from the Sicilian coasts (Italy). *Chemosphere*, 50: 311–319.
- Collado, G., Osorio, C., & Retamal, M. (2010). Imposex en los caracoles marinos *Acanthina monodon* (Pallas, 1774) y *Nassarius coppingeri* E.A. Smith, 1881 en el sur de Chile. *Revista Ciencia y Tecnología del Mar*, 33, 67-76.
- Chumbimune, O.L.M., & Ponce, M.Z.J. (2015). Monitoreo de contaminación por tributilestaño (TBT) en Puertos de Paraca, Ica (Perú), mediante el fenómeno de Imposex en *Stramonita chocolata*. *Científica*, 12, 222-230.

- Dellafredad, C., & Iannacone, J. (2021). Efecto ecotoxicológico de la mezcla de Aroclor 1254 y plomo en el bioindicador *Daphnia magna*. *Revista Lasallista de Investigación*, 18, 144-161.
- Enrique, S., Guabloche, A., Tuesta, E., Iannacone, J. & Castro, I. B. (2019). Imposex responses in *Thaisella chocolata* and *Xanthochorus buxeus* from Callao harbor, Peru. *Regional Studies in Marine Science*, 26, 100510.
- Fernandez, M.A. (2019). Populations Collapses in Marine Invertebrates Due to Endocrine Disruption: A Cause for Concern?. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 1-14. doi: 10.3389/fendo.2019.00721
- França, M.A., Otegui, M.B.P., Zamprogno, G.C., Menario, S.J.M., & Costa, M.B. (2021). Imposex and ecological quality status in *Stramonita brasiliensis* (Claremount & Reid, 2011): A temporal (2007 to 2018) and spatial evaluation on the southeastern coast of Brazil. *Journal of Sea Research*, 174, 102080,
- Gerres, T., Haussner, M., Neuhoff, K., & Pirlot, A. (2021). To ban or not to ban carbon-intensive materials: A legal and administrative assessment of product carbon requirements. *RECIEL, Review of European, Comparative & International Environmental Law*, 30, Special Issue: The Amazon Rainforest, 249-262.
- Gomes, D.M., Galante-Oliveira, S., Oliveira, I.B., Castro, I.B., Abreu, F.E.L., Fillmann, G., Barroso, C.M. (2021a). Long-term monitoring of *Nucella lapillus* imposex in Ria de Aveiro (Portugal): When will a full recovery happen?. *Marine Pollution Bulletin*, 168, 112411.
- Gomes, D.M., Galante-Oliveira, S., Almeida, C., Abreu, F.E.L., Castro, I.B., Fillmann, G., Carlos M. & Barroso, C.M. (2021b). Temporal evolution of imposex and butyltin contamination in *Gemophos viverratus* from São Vicente (Cabo Verde) - a countercurrent trend on the world scenario. *Marine Pollution Bulletin*, 170, 112633.

- Guabloche, A., Alvarez, J., Rivas, R., Hurtado, S., Pradel, R., & Iannacone, J. (2013). Imposex en el caracol marino *Xanthochorus buxea* (Broderip, 1833) (Muricidae) en Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú. *The Biologist (Lima)*, *11*(2), 237-249.
- Guabloche, A., Mendoza, J., Minaya, D., Ortega, J., Alvarino, L., & Iannacone, J. (2017). Imposex en el caracol marino *Stramonita haemastoma* (Gasteropoda: Muricidae) en la costa central del Perú. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, *18*, 1-12.
- Huang, C., Zhu, S., Lin, J., & Dong, Q. (2008). Imposex of *Mauritia arabica* on the southeastern coast of China. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *88*(7), 1451–1457.
- Jiang, P., Yuan, G.H., Jiang, B.R., Zhang, J.Y., Wang, Y., Lv, H., Zhang, Z., Wu, J., Wu, Q., & Li, L. (2021). Effects of microplastics (MPs) and tributyltin (TBT) alone and in combination on bile acids and gut microbiota crosstalk in mice. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *220*, 112345.
- Lahbib, Y., Abidlia, S., Menif, N.T. (2018). First assessment of the effectiveness of the international convention on the control of harmful anti-fouling systems on ships in Tunisia using imposex in *Hexaplex trunculus* as biomarker. *Marine Pollution Bulletin*, *128*, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.012>.
- Lee, S.-H., Chen, Y.-S., Chen, C.-F., Albarico, F.P.J.B., Lim, Y.C., Wang, M.-H., Chen, C.-W., & Dong, C.-D. (2022). Butyltin contamination in fishing port sediments after the ban of tributyltin antifouling paint: a case of Qianzhen fishing port in Taiwan. *Water*, *14*, 813. <https://doi.org/10.3390/w14050813>
- Maciel, D.C., Castro, Í.B., de Souza, J.R.B., Yogui, G.T., Fillmann, G., & Zanardi-Lamardo, E. (2018). Assessment of organotins and imposex in two estuaries of the northeastern Brazilian

coast. *Marine Pollution Bulletin*, 126, 473–478.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.11.061>

- Marlatt, V.L., Bayen, S., Castaneda-Cortés, D., Delbés, G., Grigorova, P., Langlois, V.S., Martyniuk, C.J., Metcalfe, C.D., Parent, L., Rwigemera, A., Thomson, P., & Van Der Kraak G. (2022). Impacts of endocrine disrupting chemicals on reproduction in wildlife and humans. *Environmental Research*, 208, 112584. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112584>
- Martínez-Llado, X., Gibert, O., Marti, V., Diez, S., Romo, J., Bayona, J. M., & de Pablo, J. (2007). Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and tributyltin (TBT) in Barcelona harbour sediments and their impact on benthic communities. *Environmental Pollution*, 149, 104-113.
- Mensink, B., Kralt, H., Vethaak, A.D., Ten Hallers-Tjabbes, C., Koeman, J.H., Van Hattun, B., & Boon, J.P. (2002). Imposex induction in laboratory reared juvenile *Buccinum undatum* by tributyltin (TBT). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 11, 49-65.
- Otegui, M.B., Zamprogno, G.C., França, M.A., Daros, B.N., Albino, J., & Costa, M.B. (2019). Imposex response in shell sizes of intertidal snails in multiple environments. *Journal of sea research*, 147, 10-18.
- Primost, A., Averbuj, G., Bigatti, F., & Márquez, F. (2021). Embryonic shell shape as an early indicator of pollution in marine gastropods. *Marine Environmental Research*, 167, 105283.
- Ragagnin, M.N., & Turra, A. (2022). Imposex incidence in the sandy beach snail *Hastula cinerea* reveals continued and widespread tributyltin contamination after its international ban. *Regional Studies in Marine Science*, 49, 102118.

- Ribeiro-Brasil, D.R.G., Castro, I.B., Petracco, M., Batista, R.M., Brasil, L.S., Ferreira, J.A., Borba, T.A.C., Rollnic, M., Fillmann, G., & Amado, L.L. (2021). Spatial distribution of butyltins and imposex in eastern Brazilian Amazon. *Marine Pollution Bulletin*, 165, 112155.
- Rivas, R., Hurtado, S., Cornelio, D., Mendoza, J., Guabloche, A., Iannacone, J., Alvariño, L., & Castañeda, L. (2017). Imposex en *Crassilabrum crassilabrum* (Neogastropoda: Muricidae) en la Costa Central del Perú. *Revista De Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 28(4), 834–842.
- Shi, H., Huang, C., Yu, X., & Zhu, S. (2005). An updated scheme of imposex for *Cantharus cecillei* (Gastropoda: Buccinidae) and a new mechanism leading to the sterilization of imposex-affected females. *Marine Biology*, 146, 717–723.
- Slama, T., Abidli, S., El Menif, N.T., & Lahbi, Y. (2022). Grazer gastropods as alternative species for monitoring butyltins contamination in harbors. *Journal of Sea Research*, 190: 102287. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2022.102287>
- Smith, B.S. 1971. Sexuality in the American mud snail, *Nassarius obsoletus* Say. *Proceedings of the Malacological Society of London*, 39, 377-378.
- Stickle, W., & Zhang, Z. (2003). Long-term trends in imposex in six populations of *Stramonita haemastoma*. *Bulletin of Marine Science*, 72, 685–694.
- Sousa, A., Laranjeiro, F., Takahashi, S., Tanabe, S., & Barroso, C.M. (2009). Imposex and organotin prevalence in a European post-legislative scenario: Temporal trends from 2003 to 2008. *Chemosphere*, 77, 566–573.
- Terlizzi, A., Geraci, S., & Gibbs, P.E. (1999). Tributyltin (TBT)-induced imposex in the Neogastropod *Hexaplex trunculus* in Italian coastal waters: morphological aspects and ecological implications. *Italian Journal of Zoology*, 66, 141-146.

- Titley-O’Neal, C.P., Munkittrick, K.R., & MacDonald B.A. (2011). The effects of organotin on female gastropods. *Journal of Environmental Monitoring*, 13, 2360-2388
- Uc-Peraza, R.G., Castro, I.B., & Fillmann, C.G. (2022). An absurd scenario in 2021: Banned TBT-based antifouling products still available on the market. *Science of The Total Environment*, 805, 150377.
- Vasconcelos, P., Moura, P., Barroso, C.M., & Gaspar, M.B. (2011) Size matters: importance of penis length variation on reproduction studies and imposex monitoring in *Bolinus brandaris* (Gastropoda: Muricidae). *Hydrobiologia* 661, 363–375.
- Zelada-Mázmela, E., Lorenzo E. Reyes-Flores, L.E., Sánchez-Velásquez, J.J., Ingar, C., & Santos-Rojas, L.E. (2022). Population structure and demographic history of the gastropod *Thaisella chocolata* (Duclos, 1832) from the Southeast Pacific inferred from mitochondrial DNA analyses. *Ecology and Evolution*, 12, e9276. <https://doi.org/10.1002/ece3.9276>