

**ORIGINAL ARTICLE / ARTÍCULO ORIGINAL****IMPOSEX IN THE MARINE SNAIL *XANTHOCHORUS BUXEA* (BRODERIP, 1833)
(MURICIDAE) FROM THE SOUTH AMERICAN PACIFIC****IMPOSEX EN EL CARACOL MARINO *XANTHOCHORUS BUXEA* (BRODERIP, 1833)
(MURICIDAE) DEL PACÍFICO SUDAMERICANO**Angélica Guabloche¹, Javier Alvarez¹, Rolf Rivas¹, Soledad Hurtado¹, Renzo Pradel¹ & José Iannacone^{1,2}¹ Laboratorio de Ecofisiología Animal (LEFA). Facultad de Ciencias Naturales y Matemática (FCNNM). Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV). El Agustino, Lima, Perú.² Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Ricardo Palma (URP). Santiago de Surco, Lima, Perú.
Correo electrónico: amgzdc@yahoo.com; joseiannacone@gmail.com

The Biologist (Lima), 2013, 11(2), jul-dec: 237-249.

ABSTRACT

The imposex phenomenon is the emergence of male sexual characteristics on the reproductive system of female prosobranch gastropod snails. This alteration was historically associated with contamination with organotin compounds, such as tributyltin (TBT). In this study we evaluated the incidence of imposex in the marine snail *Xanthochorus buxea* (Broderip, 1833) (Muricidae) from Hermosa Beach, Ancon, Lima, Peru. Imposex percentage was 97.6%. The rate of the relative length of the penis (RPLI) was equal to 94.3. A statistically significant relationship was found between the shell length and length of the penis in males and females. This research is the first application of *X. buxea* as a bioindicator of organotin components in Peru from the South American Pacific coast.

Keywords: imposex, organostannous, Perú, TBT, *Xanthochorus buxea*.**RESUMEN**

El imposex es un fenómeno que consiste en la aparición de caracteres sexuales masculinos sobre el sistema reproductivo de las hembras de caracoles gasterópodos prosobranquios. Esta alteración fue históricamente asociada a la contaminación por compuestos organoestañosos, como el tributil estaño (TBT). En el presente trabajo evaluamos la incidencia de imposex en el caracol marino *Xanthochorus buxea* (Broderip, 1833) (Muricidae) provenientes de Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú. El porcentaje de imposex fue 97,6 %. El índice de la longitud relativa del pene (RPLI) fue de 94,3. Una relación estadísticamente significativa fue encontrada entre la longitud de la conchilla y la longitud del pene en machos y en hembras. La presente investigación es la primera aplicación de *X. buxea* como un bioindicador de componentes organoestañosos en el Perú de las costas del Pacífico Sudamericano.

Palabras clave: imposex, organoestañoso, Perú, TBT, *Xanthochorus buxea*.

INTRODUCCIÓN

La alteración del ambiente por actividades humanas que causan perturbaciones en los ecosistemas es un fenómeno cada vez más frecuente (Almeida *et al.* 2007). Algunos contaminantes causan en las diferentes poblaciones animales un fenómeno llamado disrupción endocrina (Chacón *et al.* 2007, Guzmán & Ramírez 2012). La alteración endócrina ocurre cuando una sustancia o producto químico trastorna los mensajes transmitidos por las hormonas (Axiak *et al.* 2003). A las sustancias que actúan de esta manera se les da el nombre de disruptores endócrinos, hormonas medioambientales o moduladores endócrinos, y pueden ocasionar impactos mayores sobre la salud y el sistema reproductivo de los organismos (Guzmán & Ramírez 2012).

El imposex es un fenómeno que consiste en la aparición de caracteres sexuales masculinos sobre el sistema reproductivo de las hembras e impacta principalmente a los moluscos gasterópodos prosobranquios (Smith 1971). Esta alteración se ha asociado principalmente a compuestos químicos organoestañosos utilizados como agentes biocidas en las pinturas antiincrustantes “antifouling” (Gibbs *et al.* 1988, Oehlmann & Bettin 1996, Rodríguez 2010, Castro *et al.* 2011). Esta masculinización puede ocasionar en los moluscos el fracaso reproductivo en las hembras e incluso llevar a la extinción a poblaciones locales por falta de reclutamiento (Bryan *et al.* 1986, Gibbs *et al.* 1987, Castro *et al.* 2011).

Las pinturas antiincrustantes han sido utilizadas en estructuras expuestas directamente al mar, incluyendo cascos de barcos, redes y conductos de acuicultura en alta mar (Champ 2000). Kotrikla (2009) menciona que las pinturas antiincrustantes son utilizadas para disminuir la resistencia de

fricción entre el agua y el casco de los barcos, lo que reduce el consumo de combustible y la frecuencia de entrada en dique seco, lo que ocasiona la pérdida de tiempo e incremento en los costos de mantenimiento al reducir la corrosión del casco del buque y minimizar la introducción de especies no autóctonas e invasoras en el medio marino. Con el transcurso del tiempo, estos compuestos lixivian al medio circundante, afectando a organismos no blanco. Entre los compuestos organoestañosos, el tributilestaño (TBT) se ha considerado el principal agente causante de imposex en varias especies de gasterópodos, incluso actuando a muy bajas concentraciones (Bryan *et al.* 1987, Gibbs *et al.* 1988, Stroben *et al.* 1992, Barreiro *et al.* 2004, Rodríguez *et al.* 2009).

El TBT es un biocida activo usado desde la década de 1960, pero fue prohibido en muchos países desarrollados desde la década de los 80. En el 2008, un convenio emitido por la Organización Marítima Internacional prohibió las pinturas antiincrustantes en base a estaño (Almeida *et al.* 2007). Este compuesto ha sido considerado como una de las sustancias más tóxicas y uno de los compuestos androgénicos más potentes introducido en el ambiente marino (Barroso & Moreira 2002, Sonak *et al.* 2009). Los efectos nocivos medioambientales más frecuentes del TBT son malformaciones en las ostras (Alzieu 2000), desequilibrio hormonal en los delfines (Tanabe 1999) e imposex en gasterópodos marinos (Smith 1981), todos estos están estrechamente asociados a áreas costeras que están bajo la influencia de intensa actividad marítima, como puertos y astilleros (Lee *et al.* 2006). Casi 200 especies de prosobranquios han sido registradas con presencia de imposex (Shi *et al.* 2005). Por lo tanto, estos moluscos se han utilizado alrededor del mundo para la detección de la presencia de compuestos organoestañosos y la contaminación en zonas costeras (Barroso *et al.* 2002, Sousa *et al.* 2009, Galante-Oliveira *et al.* 2010a,b).

Las especies de gasterópodos principalmente utilizados a nivel mundial como bioindicadores a la exposición de estos compuestos son de la familia Muricidae (Axiak *et al.* 2003) como *Nucella lapillus* (Linnaeus, 1758) (Santos *et al.* 2002, Smith *et al.* 2006, Galante-Oliveira *et al.* 2010b), *Hexaplex trunculus* Linnaeus, 1758 (Prime *et al.* 2006, Lahbib *et al.* 2009), *Bolinus brandaris* (Linnaeus, 1758) (Vasconcelos *et al.* 2010, 2011), *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1767) (Castro *et al.* 2007b) y *Stramonita rustica* (Lamarck, 1822) (Castro *et al.* 2007a), debido a que han demostrado ser altamente sensibles a la exposición al TBT (Oehlmann *et al.* 1996, Lahbib *et al.* 2010).

Varios estudios sobre la ocurrencia de imposex han sido llevados a cabo en Europa, Norte América, Asia, en el norte de África y América del Sur, especialmente después de la prohibición internacional del uso de TBT en las pinturas antiincrustantes (Cob *et al.* 2010, Ruiz *et al.* 2010). La mayoría de estos estudios, realizados en Europa, Norte América y Asia, verifican la efectividad global o local de esta medida, o el estado actual de la contaminación por compuestos organoestañosos en América del Sur (Castro *et al.* 2012). Sin embargo, muy pocos estudios han registrado la ocurrencia de imposex en Sudamérica (Ejm. en Venezuela, Miloslavich *et al.* 2007; en Chile, Huaquín *et al.* 2004, Osorio & Huaquín 2003, Gooding *et al.* 1999; en Argentina Penchaszadeh *et al.* 2009, Cledon *et al.* 2006; en Brasil, Lima-Verde *et al.* 2010, Castro *et al.* 2012). Además existe una sola investigación sobre la ocurrencia de imposex en áreas costeras peruanas (Castro & Fillman 2012).

Xanthochorus buxea (Broderip, 1833) (Muricidae) es una especie macrozoobentónica que habita la zona intemareal del mar peruano y chileno a una profundidad media de 10 m (Guzman *et al.* 1998, Aldea & Valdovinos 2005, Guerra-García *et al.* 2006, Moreno *et al.* 2008). Así, el

presente estudio está destinado a evaluar la ocurrencia de imposex en la zona de Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú, usando al caracol *X. buxea*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de Estudio

Playa Hermosa (11°46'29.6" LS, 77°11'5.6" LO), es una de las playas que conforman el balneario de Ancón, ubicada en el distrito del mismo nombre a 43 km al norte de Lima, Perú (Fig. 1). La bahía de Ancón es utilizada como un puerto natural. Frente al litoral se encuentran varias lanchas y barcos que realizan actividades pesqueras, que desembarcan un promedio de 3000 TM al año. Su mar es especialmente tranquilo y prácticamente sin olas, lo que facilita la permanencia de embarcaciones recreacionales tanto en el mar como en el muelle del Yacht Club de Ancón.

Xanthochorus buxea

En el mes de octubre del 2012 se recolectaron al azar 253 especímenes de *X. buxea* (Fig2a), que se colocaron en baldes de plástico de 4 L de capacidad con agua marina para mantenerlos vivos durante su transporte al laboratorio. La toma de muestra se realizó a mano en la parte este de la playa caracterizada por un alto tránsito marino, en marea baja y a una profundidad promedio de 60 cm. Los sitios muestreados son colindantes con el Yacht Club de Ancón, caracterizado por una gran actividad náutica y rocas cubiertas por algas. La especie fue identificada empleando las claves de Aldea & Valdovinos (2005).

Determinación de Imposex

Se realizó en el Laboratorio de Ecofisiología Animal (LEFA) de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática (FCCNM) de la Universidad Nacional Federico Villarreal (UNFV), El Agustino, Lima, Perú. Los organismos fueron narcotizados con una

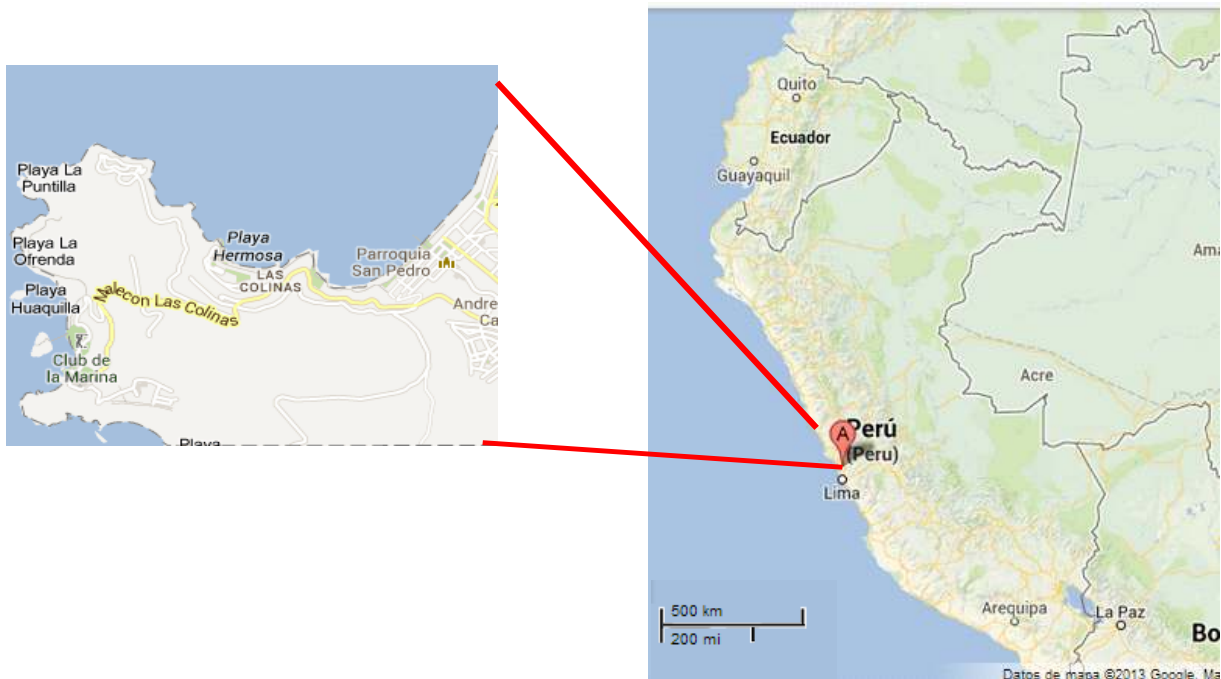


Figura 1. Zona de Estudio: Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú.

solución de $MgCl_2$ al 3,5% por 1 h (Castro & Fillman 2012). La longitud de la conchilla (LC) de los especímenes fue medida con un vernier ($\pm 0,01$ mm de precisión) desde el ápex hasta la base, bajo microscopio estereoscópico (Miloslavich *et al.* 2007). Las conchillas fueron delicadamente fraccionadas y removidas para el análisis de los tejidos blandos. La identificación del sexo se realizó con un microscopio estereoscópico y se basó en la presencia o ausencia de la glándula de la capsula y ovarios para las hembras, y testículos y vesícula seminal para los machos (Gooding *et al.* 1999, Gravel *et al.* 2006, Collado *et al.* 2010, Cuevas *et al.* 2011). 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: porcentaje de imposex en las hembras (I%), índice relativo de LP hembras (FPLI, por sus siglas en inglés) y el índice relativo de LP (RPLI) (Gibbs *et al.* 1987, Rodríguez, 2010, Cuevas *et al.* 2011, Castro & Fillman 2012). Adicionalmente, para minimizar el efecto del tamaño en los

parámetros de imposex, FPLI y RPLI fueron estandarizados con la longitud de la conchilla (LC) usando las siguientes dos ecuaciones (Castro & Fillmann 2012):

$$FPLI_{\text{estandar}} = \frac{FPLI}{LC \text{ hembras}}$$

$$RPLI_{\text{estandar}} = \left[\frac{LP \text{ media en hembras} / LC \text{ media en hembras}}{LP \text{ media en machos} / LC \text{ media en machos}} \right] \times 100$$

Análisis estadístico

La normalidad de los datos (LC y LP) fue verificada usando la prueba estadística de Kolmogorov-Smirnov. Para verificar si la LP es afectada por la LC se realizó una regresión y correlación lineal entre estos parámetros. También se realizó una prueba de Análisis de Varianza (ANDEVA) mediante el estadístico F para verificar si existen diferencias significativas entre la LC de machos y hembras, y entre la LP de machos y hembras con imposex. Todos los análisis estadísticos fueron llevados a cabo con los paquetes estadísticos PAST versión 2,17 y Minitab 15 Inc., con un nivel de significancia de 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Niveles de Imposex

Los resultados muestran que de 253 ejemplares muestreados de *X. buxea*, el 51% fueron machos y el 49% hembras. El tamaño de los animales fluctuó entre 18,0 y 39,1 mm, no encontrándose diferencias significativas entre la LC de hembras y machos ($p = 0,13$) (Tabla 1). En relación a los niveles de imposex, de un total de 124 hembras muestreadas, 97,6% presentaron imposex, evidenciado por el desarrollo de un pseudopene detrás del tentáculo derecho (Fig. 2b). No se observaron especímenes con el conducto deferente afectando a la vagina (Miloslavich *et al.* 2007).

La LP varió de 3,1 a 6,8 mm encontrándose diferencias significativas entre machos y hembras ($p < 0,0001$). Los datos biométricos

(media y DE de LC, LP de machos y hembras) y los parámetros de imposex (I%, FPLI, RPLI, $FPLI_{estandar}$ y $RPLI_{estandar}$) obtenidos para *X. buxea* están resumidos en las Tablas 1 y 2.

Una correlación estadísticamente significativa fue observada entre la LC y LP en los machos ($r=0,55$, $p < 0,0001$) y hembras ($r= 0,26$, $p < 0,005$) indicando que la LP está asociada positivamente a la LC de *X. buxea* (Fig. 3 y 4). Sin embargo, el bajo valor del coeficiente de correlación para las hembras se debió a que en las hembras con imposex la LP pudiera depender de la exposición al contaminante y no de la longitud de la conchilla. Situaciones similares fueron previamente registradas para los muricidos *Bolinus brandaris* (Linnaeus, 1758) en el sur de Portugal (Vasconcelos *et al.* 2011) y *Thais chocolata* (Duclos, 1832) en Perú (Castro & Fillman 2012).

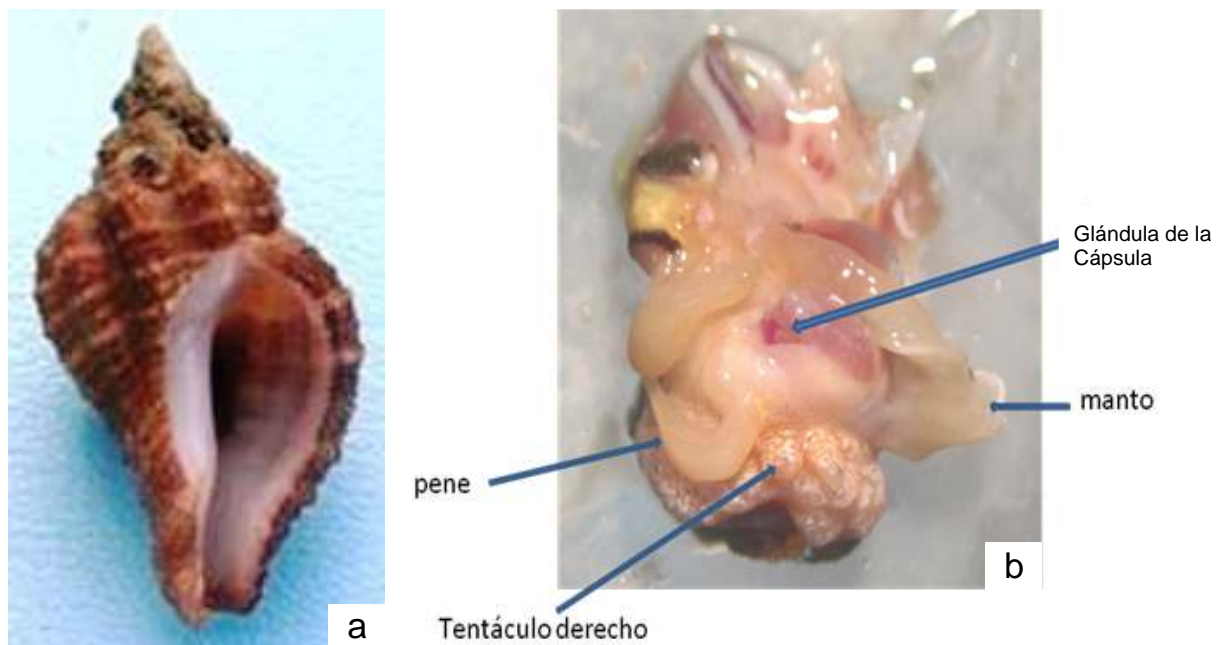


Figura 2. a. Especímen de *Xanthochorus buxea* (Muricidae). b. Desarrollo de pene en las hembras de *X. buxea* de Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú.

Tabla 1. Datos biométricos medidos a *Xanthochorus buxea* (Muricidae) colectados en Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú. 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 LP; DE: Desviación estándar; N: número de especímenes analizados. Letras minúsculas diferentes en sentido horizontal indican diferencias significativas con la prueba F de ANDEVA, $p < 0,001$.

Biometría (mm)	Machos	Hembras	H. imposex
N	129	124	121
XLC \pm DE	28,1 \pm 3,4 ^a	27,4 \pm 3,6 ^a	27,4 \pm 3,6 ^a
LC_{max}	37,0	39,1	39,1
LC_{min}	18,0	20,0	20,0
XLP \pm DE	6,8 \pm 2,3 ^a	5,5 \pm 1,8 ^b	5,6 \pm 1,6 ^b
LP_{max}	12,6	9,7	9,7
LP_{min}	3,3	3,1	3,1

Diversas investigaciones han revelado que el imposex en gasterópodos se relaciona con la presencia de compuestos organoestañosos acumulados en el cuerpo de estos organismos (Bryan *et al.* 1987, Gibbs *et al.* 1988). En Perú, se ha detectado imposex en *T. chocolata* (Castro & Fillman 2012); en Chile se ha observado en *Chorus giganteus* (Lesson, 1830), *Xanthochorus cassidiformis gayii* (Kiener, 1834), *Crassilabrum crassilabrum* (Sowerby, 1834) y en el complejo *Nucella crassilabrum* (Lamarck, 1815) (Gooding *et al.* 1999, Osorio & Huaquín 2003, Huaquín *et al.*

2004), lo que se suma a otros hallazgos realizados en la costa sudamericana (Caetano & Absalão 2002, Cledón *et al.* 2006, Miloslavich *et al.* 2007, Cardoso *et al.* 2010, De Azevedo *et al.* 2012). En el presente estudio los datos revelan que el fenómeno de imposex afecta poblaciones de *X. buxea* en Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú en valores superiores al 95%. Esto puede sugerir que la población es muy susceptible y afectada por este contaminante (TBT) (Lima-Verde *et al.* 2010).

Tabla 2: Parámetros de imposex analizados para *Xanthochorus buxea* (Muricidae) en Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú. I%: Porcentaje de Imposex; FPL: Índice de la longitud del pene de las hembras. $FPL_{estandar}$: FPL estandarizado; RPLI: Índice de la longitud relativa del pene; $RPLI_{estandar}$: RPLI estandarizado.

Parámetros de Imposex en <i>X. buxea</i>	%
%I	97,58
FPLI	5,47
$FPLI_{estandar}$	0,20
RPLI	94,35
$RPLI_{estandar}$	96,67

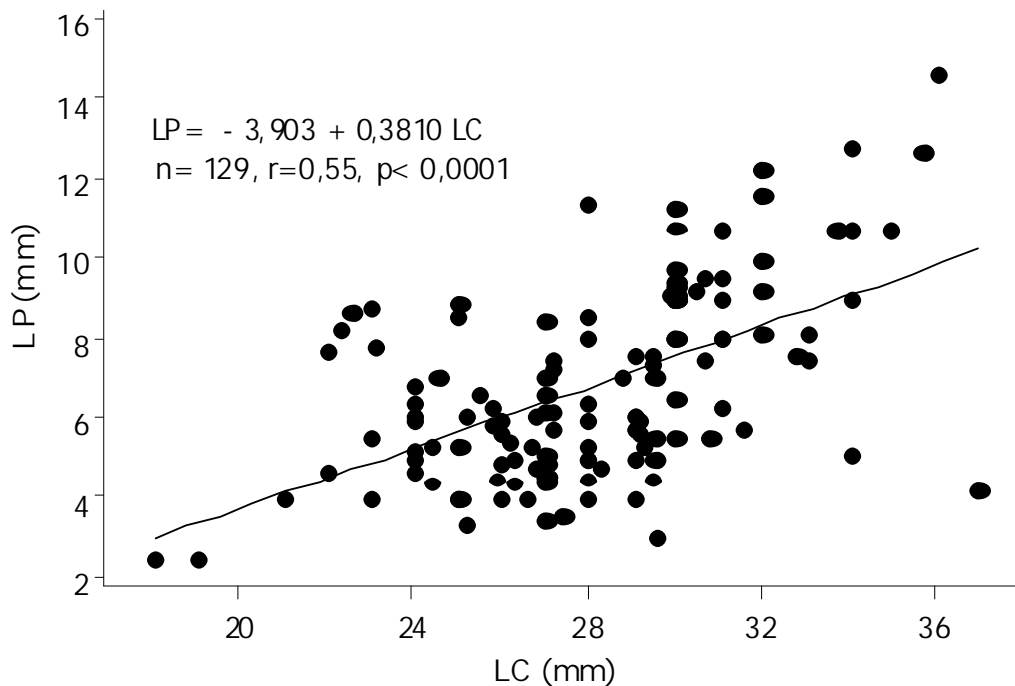


Figura 3. Relación entre longitud de la conchilla (LC) y la longitud del pene (LP) de machos de *Xanthochorus buxea* (Muricidae), Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú.

Playa Hermosa es utilizada como puerto natural ligeramente cerrado, frente a su litoral se encuentran varias lanchas y barcos que realizan actividades pesqueras y de entretenimiento (Fig. 5).

Todo este tráfico marítimo sería el responsable de los altos valores de imposex encontrados, debido a que la zona de muestreo se encuentra en la parte más cerrada de la bahía (Cardoso *et al.* 2010). Dado que el Perú no tiene una legislación que regule el uso de compuestos organoestañosos (Castro *et al.* 2012), es bastante probable que pinturas antiincrustantes con TBT se sigan usando, lo cual explicaría los altos niveles de imposex encontrados en *X. buxea* (Caetano & Absalão 2002). Esta información no pudo ser confirmada porque las pinturas antiincrustantes vendidas en América Latina no incluyen información sobre el biocida activo usado en su formulación

(Castro & Fillman 2012). Existen cuatro empresas que importan y comercializan pinturas antiincrustantes en el Perú, sin embargo no especifican que agente biocida utilizan. Además no hay restricciones en la importación de TBT a pesar de que este compuesto está en la lista del Anexo III de la Convención de Rotterdam como un químico sujeto al procedimiento de consentimiento fundamentado previo. Por otro lado, en Playa Hermosa se ha observado que los botes de pesca son pintados por sus propios dueños, los cuales probablemente preparan sus propias formulaciones de pintura, las que a su vez podrían estar usando TBT, lo que indicaría que la prohibición del uso de estos compuestos en el Perú no es efectiva. Además, estos botes permanecen por largos periodos tanto amarrados en aguas poco profundas y protegidas o navegando en aguas costeras (Tittley-O'Neal *et al.* 2011).

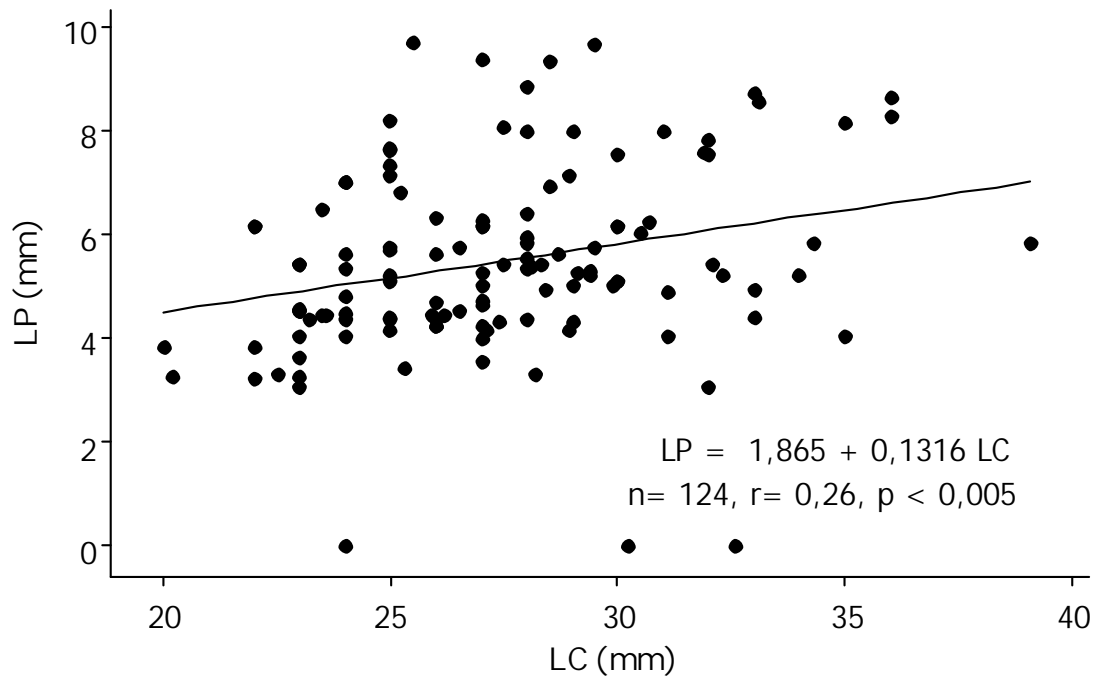


Figura 4. Relación entre longitud de la conchilla (LCh) y la longitud del pene (LPh) de hembras de *Xanthochorus buxea* (Muricidae), Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú.



Figura 5. Embarcaciones pesqueras y de entretenimiento frente al litoral de Playa Hermosa, Ancón, Lima, Perú. Se observan a propietarios de las embarcaciones realizando labores de limpieza en las embarcaciones.

El presente estudio revela que el imposex sería un fenómeno ampliamente diseminado en las poblaciones del gasterópodo *X. buxea* en el área investigada. Por lo que esta especie es un buen indicador u organismo centinela. Estudios futuros deberían estar dirigidos a determinar el origen específico directo de los contaminantes que provocan alteraciones reproductivas en este molusco, como también a examinar otras zonas donde se encuentre *X. buxea*, así como otras especies de gasterópodos principalmente murícidos. Además, es urgente implementar estrategias que regulen el uso de pinturas con TBT. Finalmente, la amplia distribución de *X. buxea* y su habilidad para mostrar imposex hace de esta especie marina un buen bioindicador para detectar la contaminación por compuestos organoestañosos a lo largo de la costa Sudamericana. Esta investigación es el primer registro de imposex para *X. buxea* para Sudamérica como un bioindicador de contaminación por TBT. En la costa peruana es fundamental el uso de esta herramienta para establecer el impacto de TBT junto con la evaluación química de este compuesto en agua, sedimento y tejido de *X. buxea*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aldea, C. & Valdovinos, C. 2005. Moluscos del intermareal rocoso del centro-sur de Chile (36° - 38°S): Taxonomía y clave de identificación. Gayana (Concepción), 69: 364-396.
- Almeida, E.; Diamantino, T. C. & de Sousa, O. 2007. Marine paints: The particular case of antifouling paints. Progress in Organic Coatings, 59: 2-20.
- Alzieu, C. 2000. Environmental impact of TBT: The French experience. Science of the Total Environment, 258: 99-102.
- Axiak, V.; Micallef, D.; Muscat, J.; Vella, A & Mintoff, B. 2003. Imposex as a biomonitoring tool for marine pollution by tributyltin: Some further observations. Environment International, 28:743-749.
- Barreiro, R.; Quintela, M. & Ruiz, J.M. 2004. TBT e imposex en Galicia: los efectos de un disruptor endocrino en poblaciones de gasterópodos marinos. Ecosistemas, 13: 13-29.
- Barroso, C.M. & Moreira, M.H. 2002. Spatial and temporal changes of TBT pollution along the Portuguese coast: Inefficacy of the EEC directive 89/677. Marine Pollution Bulletin, 44: 480-486.
- Barroso, C.M.; Moreira, M.H. & Bebianno, M.J. 2002. Imposex, female sterility and organotin contamination of the prosobranch *Nassarius reticulatus* from the Portuguese coast. Marine Ecology Progress Series, 230: 127-135.
- Bryan, G.M.; Gibbs, P.E.; Burt, G. & Hummerstone, L.G. 1986. The decline of *Nucella lapillus* around South-west England: evidence for the effect of tributyltin from antifouling paints. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 66: 611-640.
- Bryan, G.M.; Gibbs, P.E.; Pascoe, P.L. & Burt, G. R. 1987. 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, 67: 507-523.
- Caetano, C.H.S. & Absalão, R.S. 2002. Imposex in *Olivancillaria vesica* (Gmelin) (Gastropoda, Olividae) from Southeastern Brazilian Sandy beach. Revista Brasileira de Zoologia, 19 (Supl. 2): 215-218.
- Cardoso, S.R.; Caetano, C.H.S. & Cabrini, T.M.B. 2010. Imposex in *Nassarius vibex*: relationship with harbor and yachting activities at five beaches in Sepetiba Bay, RJ, Brazil. Pan-American Journal of Aquatic Sciences, 5: 540-545.
- 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.; Perina, F. & Fillmann, G. 2011. Organotin contamination in South American coastal areas. *Environmental Monitoring and Assessment*, 184:1781-1799.
- Castro, I.B.; Bemvenuti, C.E.; Fillmann, G. 2007a. Preliminary appraisal of imposex in areas under the influence of southern Brazilian harbors. *Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2:73-79.
- Castro, I.B.; Lima, A.F.A.; Braga, A.R.C. & Rocha-Barreira, CA. 2007b. Imposex in two muricid species (Mollusca: Gastropoda) from the northeastern Brazilian coast. *Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology*, 2:81-91.
- Castro, I.B.; Arroyo, M.; Costa, P. & Fillmann, G. 2012. Butyltin compounds and imposex levels in Ecuador. *Archives of Environmental Contamination Toxicology*, 62: 68-77.
- Chacón, O.; Cuevas, F.; De La Fuente, C.; Díaz, F. & Huaquín, L. 2007. Disrupción Endocrina e Imposex. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 22:42-48.
- Champ, M. A. 2000. A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. *Science of the Total Environment*, 258: 21-71.
- Cledon, M.; Theobald, N.; Gerwinski, W. & Penchaszadeh, P. E. 2006. Imposex and organotin compounds in marine gastropods and sediments from the Mar del Plata coast, Argentina. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86: 751-755.
- Cob, Z.; Arshad, A.; Bujang, J. & Ghaffar, M. 2010. Description and evaluation of imposex in *Strombus canarium* Linnaeus, 1758 (Gastropoda, Strombidae): A potential bio-indicator of tributyltin pollution. *Environmental Monitoring Assessment*, 178:393-400.
- 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.
- Cuevas, N.; Larreta, J.; Rodríguez, J.G. & Zorita, I. 2011. A visual guideline for the determination of imposex in *Nassarius reticulatus* and *Nassarius nitidus*. *Revista de Investigación Marina, AZTI-Tecnalia*, 18: 134-152.
- De Azevedo, S.; Rocha-Barreira, C.A.; Matthews-Cascon, H & Castro, I.B. 2012. *Pugilina morio* L., a new imposex exhibitor from South American estuarine environments: approach for a non-lethal method to evaluate imposex. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 89: 786-792.
- Galante-Oliveira, S.; Oliveira, I.; Pacheco, M. & Barroso, C.M. 2010a. *Hydrobia ulvae* imposex levels at Ria de Aveiro (NW Portugal) between 1998 and 2007: A counter-current bioindicator? *Journal of Environmental Monitoring*, 12:500-507.
- Galante-Oliveira, S.; Oliveira, I.; Santos, J.A.; de Lourdes Pereira, M.; Pacheco, M.; Barroso, C.M. 2010b. Factors affecting RPSI in imposex monitoring studies using *Nucella lapillus* (L.) as bioindicator. *Journal of Environmental Monitoring*, 12:1055-1063.
- Gibbs, P.E.; Bryan, G.M.; Pascoe, P.L. & Burt, G.R. 1987. The use of dogwhelk *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 67:507-523.
- Gibbs, P.E.; Pascoe, P.L. & Burt, G.R. 1988. Sex change in the female dogwhelks *Nucella lapillus*, induced by tributyltin from antifouling paints. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 68: 715-731.
- Gooding, M.; Gallardo, C & LeBlanc, G. 1999.

- Imposex in three marine gastropod species in Chile and potential impact on muriciculture. *Marine Pollution Bulletin*, 38:1227–1231.
- Gravel, P.; Johanning, K.; McLachlan, J.; Vargas, J.A. & Oberdörster, E. 2006. Imposex in the intertidal snail *Thais brevidentata* (Gastropoda, Muricidae) from the Pacific coast of Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 54 (Suppl. 1): 21-26.
- Guerra-García, J.M.; Krapp-Schickel, T. & Müller, H.G., 2006. Caprellids from the Caribbean coast of Colombia, with description of three new species and key for species identification. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 35: 149-194.
- Guzmán, M.C. & Ramírez, P. 2012. Disfunción endócrina debido a contaminantes ambientales. *Elementos*, 87: 19-25.
- Guzman, N.; Saá, S. & Ortlieb, L. 1998. Catálogo descriptivo de los moluscos litorales (Gastropoda y Pelecypoda) de la zona de Antofagasta 23° S (Chile). *Estudios Oceanológicos*, 17:17-86.
- Huaquin, L.G.; Osorio, C.; Verdugo, R. & Collado, G. 2004. Morphological changes in the reproductive system of females *Acanthina monodon* (Pallas, 1774) (Gastropoda: Muricidae) affected by imposex from the coast of central Chile. *Invertebrate Reproduction & Development*, 46:111–117.
- Kotrikla, A. 2009. Environmental management aspects for TBT antifouling wastes from the shipyards. *Journal of Environmental Management*, 90: S77–S85.
- Lahbib, Y.; Abidli, S.; Chiffolleau, J.F.; Averty, B. & El Menif, N.T. 2009. First record of butyltin body burden and imposex status in *Hexaplex trunculus* (L.) along the Tunisian coast. *Journal of Environmental Monitoring*, 11:1253–1258.
- Lahbib, Y.; Abidli, S.; Chiffolleau, J.F.; Averty, B. & Menif, N.T.E. 2010. Imposex and butyltin concentrations in snails from the lagoon of Bizerta (northern Tunisia). *Marine Biology Research*, 6:600–607.
- Lee, C.C.; Hsieh, C.Y. & Tien, C.J. 2006. Factors influencing organotin distribution in different marine environmental compartments, and their potential health risk. *Chemosphere*, 65:547–559.
- Lima-Verde, F.B.; Castro, I.B. & Rocha-Barrera, A.C. 2010. Imposex occurrence in *Nassarius vibex* from South America: a potential bioindicator in estuarine environments. *Marine Biodiversity Records*, 3: e30 (4 pages).
- Miloslavich, P.; Penchaszadeh, P.E. & Bigatti, G. 2007. Imposex en gastrópodos de Venezuela. *Ciencias Marinas*, 33:319-324.
- Moreno, R.A.; Sepúlveda, R.D.; Badano, E.I.; Thatje, S.; Rozbaczylo, N. & Carrasco, F.D. 2008. Subtidal macrozoobenthos communities from northern Chile during and post El Niño 1997-1998. *Helgol Marine Research*, 62 (Suppl. 1): S45-S55.
- Oehlmann, J.; Stroben, E.; Schulte-Oehlmann, U.; Bauer, B.; Fioroni, P. & Markert, B. 1996. Tributyltin biomonitoring using prosobranchs as sentinel organisms. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 354:540–545.
- Oehlmann, J. & Bettin, C. 1996. Tributyltin-induced imposex and the role of steroids in marine snails. *Malacological Review Supplement*, 6: 157-161.
- Osorio, C. & Huaquin, L. G. 2003. Alteración de la sexualidad de *Acanthina monodon* (Pallas, 1774) (Gastropoda: Muricidae) en el litoral de Chile central, inducida por compuestos organoestañosos. *Revista Ciencia y Tecnología del Mar*, 26: 97-107.
- Penchaszadeh, P.; Antelo, C.; Zabala, S. & Bigatti, G. 2009. Reproduction and

- imposex in the edible snail *Adelomelon ancilla* from northern Patagonia, Argentina. *Marine Biology*, 156:1929–1939.
- Prime, M.; Peharda, M.; Jelic, K.; Mladineo, I. & Richardson, C.A. 2006. The occurrence of imposex in *Hexaplex trunculus* from the Croatian Adriatic. *Marine Pollution Bulletin*, 52: 810-812.
- Rodríguez, F. 2010. Imposex en la Laguna de Términos, Campeche, México. *Revista Científica UDO Agrícola*, 10: 141-149.
- Rodríguez, J.G.; Tueros, I.; Borja, A.; Franco, J.; Ignacio, G.A.J.; Garmendia, J.M.; Muxika, I.; Sariego, C. & Valencia, V. 2009. Butyltin compounds, sterility and imposex assessment in *Nassarius reticulatus* (Linnaeus, 1758), prior to the 2008 European ban on TBT antifouling paints, within Basque ports and along coastal areas. *Continental Shelf Research*, 29:1165–1173.
- Ruiz, J.M.; Díaz, J.; Albaina, N.; Couceiro, L.; Irabien, A. & Barreiro, R. 2010. Decade-long monitoring reveals a transient distortion of baseline butyltin bioaccumulation pattern in gastropods. *Marine Pollution Bulletin*, 60:931–934.
- Santos, M.M. & Ten Hallers-Tjabbes, C.C.; Santos, A.M. & Vieira, N. 2002. Imposex in *Nucella lapillus*, a bioindicator for TBT contamination: Resurvey along the Portuguese coast to monitor the effectiveness of EU regulation. *Journal of Sea Research*, 48 217-223.
- Shi, H.H.; Huang, C.J.; Zhu, X.S.; Yu, X.J. & Xie, W.Y. 2005. Generalized system of imposex and reproductive failure in female gastropods of coastal waters of mainland China. *Marine Ecology Progress Series*, 304:179–189.
- Smith, A.J.; Thain, J.E.; Barry, J. 2006. Exploring the use of caged *Nucella lapillus* to monitor changes to TBT hotspot areas: A trial in the River Tyne Estuary (UK). *Mainer Environmental Research*, 62:149–163.
- Smith, B.S. 1971. Sexuality in the American mud snail, *Nassarius obsoletus*: abnormalities in the reproductive system. *Journal of Molluscan Studies*, 46: 247-256.
- Smith, B.S. 1981. Tributyl compounds induce male characteristics on female mud snails. *Nassarius obsoletus*. *Ilyanassa obsoleta*. *Journal of Applied Toxicology*, 3: 141-144.
- Sonak, S.; Pangam, P.; Giriyan, A. & Hawaldar, K. 2009. Implications of the ban on organotins for protection of global coastal and marine ecology. *Journal of Environmental Management*, 90:S96–S108.
- 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.
- Stroben, E.; Oehlmann, J. & Fioroni, P. 1992. *Hinia reticulata* and *Nucella lapillus*. Comparison of two gastropod tributyltin bioindicators. *Marine Biology*, 114:289–296.
- Tanabe, S. 1999. Butyltin contamination in marine mammals—A review. *Marine Pollution Bulletin*, 39: 62–72.
- Tittley-O'Neal, C.P.; MacDonald, B.A.; Pelletier, E.; Saint-Louis, R. & Phillips, O. 2011. The relationship between imposex and Tributyltin (TBT) concentration in *Strombus gigas* from the British Virgin islands. *Bulletin of Marine Science*, 87: 421-435.
- Vasconcelos, P.; Gaspar, M.B. & Barroso, C.M. 2010. Imposex in *Bolinus brandaris* from the Ria Formosa lagoon (southern Portugal): Usefulness of "single-site baselines" for environmental monitoring. *Journal Environmental Monitoring*, 12:1823–1832.
- Vasconcelos, P.; Moura, P.; Barroso, C. & Gaspar, M. 2011. Size matters:

importance of penis length variation on reproduction studies and imposex monitoring in *Bolinus brandaris* (Gastropoda: Muricidae). *Hydrobiologia*, 661:363–375.

Received May 23, 2013.
Accepted July 28, 2013.