

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

IMPOSEX PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA CONTAMINACIÓN POR COMPUESTOS ORGÁNICOS DE ESTAÑO EN LA COSTA DEL CARIBE COLOMBIANO

René Oscar Rodríguez Grimón

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Estudios en Ciencias del Mar - CECIMAR
Convenio Universidad Nacional de Colombia - INVEMAR
Santa Marta, D.T.C.H., Colombia

2020

IMPOSEX PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA CONTAMINACIÓN POR COMPUESTOS ORGÁNICOS DE ESTAÑO EN LA COSTA DEL CARIBE COLOMBIANO

René Oscar Rodríguez Grimón

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctor en Ciencias – Biología

Director: Dr. rer. nat. Néstor Hernando Campos Campos
Instituto de Estudios en Ciencias del Mar – CECIMAR, Universidad
Nacional de Colombia, Sede Caribe, Colombia

Codirector: PhD. Ítalo Braga de Castro
Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal de São Paulo

Línea de Investigación:

Biología Marina

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Estudios en Ciencias del Mar - CECIMAR
Convenio Universidad Nacional de Colombia - INVEMAR
Santa Marta, D.T.C.H., Colombia

2020

Agradecimientos

A la Universidad Espíritu Santo – Ecuador por el soporte de financiamiento de la colegiatura y logística para la asistencia al programa de estudio doctoral.

A la Universidad Nacional de Colombia-Sede Caribe por la financiación de salidas de campo y trabajo en laboratorio por medio de los proyectos “Efecto tributilo de estaño gasterópodos del caribe, el imposex” (Cód. HERMES 2747) y “Fortalecimiento de la relación entre el grupo fauna marina biodiversidad y usos y el posgrado en Ciencias Biología línea Biología Marina” (Cód. HERMES 32267). Esta investigación se desarrolló con el permiso Marco de la Universidad Nacional de Colombia de Recolección de Diversidad Biológica y el permiso de Recolección de muestras biológicas expedido por Parques Nacionales Naturales.

Al laboratorio de análisis e inspección LABCESTTA de Ecuador y al Centro Patagónico Argentino (CENPAT), por permitir el acceso a sus instalaciones y realizar pasantías.

A los docentes que participaron en el programa y compartieron honestamente sus experiencias y conocimiento, en especial al Dr. rer. nat. Néstor H. Campos Campos por su dirección, observaciones, soporte y paciencia. Al codirector Ítalo Braga de Castro, PhD. por su apoyo y confianza perenne. A los doctores Gregorio Bigatti y Federico Márquez gracias por sus comentarios y sugerencias. Quiero agradecer a mis compañeros del posgrado encargados de la misma línea sobre el imposex en gasterópodos: Jeimmy Rico y Gilberto Orozco Berdugo, por su apoyo en campo, laboratorio y acompañamiento. A mi familia que es la fuente de “oxígeno” e inspiración.

Resumen

El fenómeno de imposex es una condición resultante de la exposición a compuestos orgánicos de estaño (COE) como el tributilo de estaño (TBT en inglés), que ocurre en organismos neogastrópodos y su detección es usada como indicador de contaminación. Se estudió el imposex para el diagnóstico de contaminación por COE en la costa del Caribe colombiano. El estudio se realizó entre los años 2015 a 2017 y se efectuaron hasta diez muestreos en cada una de las dos temporadas climáticas, seca y lluviosa. La metodología de estudio se aplicó en seis sitios en la franja costera del Caribe colombiano, uno en la isla de Tierra Bomba (TB), dos en la Bahía de Santa Marta (BSM: Marina Internacional de Santa Marta [SM] y Punta de Bertín [PdB]), dos en el Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT: Bahía Concha [BC] y Nenguage [Neg]), y uno en Cabo de la Vela (CV); se usaron como factores ambientales las variables fisicoquímicas y microbiológicas del agua, el tráfico marítimo y la exposición al oleaje. Se emplearon índices de imposex en cinco especies de neogasterópodos (*Plicopurpura patula*, *Vasula deltoidea*, *Stramonita haemastoma*, *S. floridana* y *Gemophos auritulus*), y la morfometría geométrica de la concha de *P. patula*. Se analizaron tres enfoques básicos, uno hacia el aspecto ambiental centrado en el tráfico marítimo y las variables de calidad del agua, otro orientado al fenómeno del imposex y su asociación a las variables ambientales y finalmente un enfoque dirigido hacia la forma de la concha en relación al fenómeno imposex y la exposición al oleaje. Los resultados evidencian niveles altos de coliformes totales (CT) e hidrocarburos disueltos y dispersos equivalentes de criseno (HPDD) en el agua de SM, originados por la cercanía a fuentes urbanas de contaminación y asociados a un elevado tráfico marítimo en la BSM. Así mismo, se encontró una mayor prevalencia de imposex en los sitios con mayor tráfico marítimo, con *P. patula* como la especie más sensible. Las conchas presentaron diferencias morfométricas en los sitios de muestreo, aunque sin correlación significativa con respecto al imposex y la exposición al oleaje.

Palabras clave: Tráfico marítimo, calidad del agua, neogastropodos, morfometría geométrica, *Muricidae*.

Abstract

The imposex (occurrence of non-functional sexual masculine characters in female neogastropods) is a phenomenon caused by the exposition to tin organic compounds (TOCs) as tributyltin (TBT) and its detection is used as an indicator of contamination. In this work the phenomenon of imposex was studied for its use in the diagnosis of contamination by TOCs in the Colombian Caribbean coast. The study was conducted between the years of 2015 to 2017 running up to ten samplings in each one of the two climate seasons, rainy and dry. The methodology of study was applied in six sampling stations located in the Colombian Caribbean coast: one in the Tierra Bomba island (TB), two in Santa Marta's Bay (BSM: International Marine of Santa Marta [SM] and Punta de Betín [PdB]), two in Tayrona National Natural Park (PNNT: Bahía Concha [BC] and Nenguage [Neg]) and one in Cabo de La Vela (CV). Physicochemical and microbiological variables of water quality, maritime traffic and wave exposure were used as environmental factors. Three basic approaches were made, one towards the environmental aspect centered in maritime traffic and water quality variables, other one oriented to the imposex phenomenon and its association to the environmental variables and finally, an approach directed to the neogastropods shell form related to imposex and wave exposure. In the biological level, there were used indexes associated to imposex in five neogastropod species (*Plicopurpura patula*, *Vasula deltoidea*, *Stramonita haemastoma*, *S. floridana* and *Gemophos auritulus*) and the shell geometric morphometrics of *P. patula*. The results show high levels of total coliforms and of dissolved and dispersed petroleum hydrocarbons related to chrysene equivalents (DDPH) in SM sampling station, caused by the nearness to urban sources of contamination and associated to a high maritime traffic in BSM sampling station. Likewise, it was found a major prevalence of imposex in places with higher maritime traffic with *P. patula* as the most sensible species. Shells showed morphometric differences in sampling stations, although without significant correlation with respect to imposex and wave exposure.

Key words: Maritime traffic, water quality, neogastropods, geometric morphometrics, *Muricidae*.

Contenido

	Pág.
Resumen	VII
Abstract	VIII
Introducción	1
Capítulo 1: El tráfico marítimo, la temporalidad climática y la calidad del agua en la franja costera de Santa Marta	5
Resumen.....	5
Abstract.....	6
1.1 Introducción	7
1.2 Materiales y Métodos.....	9
1.2.1 Área de estudio.....	9
1.2.2 Variables fisicoquímicas y microbiológicas en el agua superficial	11
1.2.3 Tráfico marítimo	12
1.2.4 Análisis de datos	14
1.3 Resultados.....	15
1.3.1 Variables fisicoquímicas y microbiológicas en el agua superficial	15
1.3.2 Tráfico marítimo	16
1.3.3 El tráfico naviero y las variables de calidad de agua en la franja costera de Santa Marta.....	19
1.4 Discusión	21
1.5 Conclusiones	23
Capítulo 2: Incidencia de imposex en Neogasterópodos de la franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano	25
Resumen.....	25
Abstract.....	26
2.1 Introducción.....	26
2.2 Materiales y Métodos	29
2.2.1 Área de estudio	29
2.2.2 Recolección y procesamiento de organismos	30
2.2.3 Variables e índice de calidad de agua, y tráfico marítimo.....	33
2.2.4 Análisis de datos	33
2.3 Resultados	34
2.3.1 Distribución de especies y estructura poblacional	34
2.3.2 Imposex entre estaciones de muestreo y temporadas climáticas	37
2.3.3 Condición somática en relación a temporada climática e imposex	44

2.3.4	Relación entre Imposex de <i>P. patula</i> y <i>V. deltoidea</i> con la calidad del agua y el tráfico marítimo	46
2.4	Discusión.....	49
2.4.1	Imposex en gasterópodos dentro de la franja costera de Santa Marta	49
2.4.2	Biometría e Imposex entre estaciones y temporadas climáticas	50
2.4.3	Sensibilidad de <i>P. patula</i> y <i>V. deltoidea</i> al Imposex y su relación con variables de calidad del agua y el tráfico marítimo	54
2.5	Conclusión	55
Capítulo 3: Variaciones morfométricas en la concha de <i>Plicopurpura patula</i> de la franja costera de Santa Marta: Influencia de la prevalencia de imposex, tráfico marítimo y la exposición al oleaje		
57		
	Resumen	57
	Abstract	58
3.1	Introducción.....	58
3.2	Metodología	61
3.2.1	Área de estudio.....	61
3.2.2	Especie de estudio	61
3.2.3	Recolección y procesamiento de organismos	62
3.2.4	Morfometría geométrica en 2D	63
3.2.5	Exposición al oleaje	67
3.2.6	Tráfico marítimo.....	70
3.2.7	Análisis de datos.....	70
3.3	Resultados	71
3.3.1	Exposición a las olas	71
3.3.2	Tráfico marítimo.....	74
3.3.3	Biometría	74
3.3.4	Imposex.....	76
3.3.5	Morfometría geométrica.....	79
3.3.6	Relación de la forma de la concha y exposición al oleaje (F)	82
3.3.7	Relación de la forma de la concha y prevalencia de imposex	83
3.3.8	Relación de la forma de la concha y tráfico marítimo	85
3.4	Discusión.....	86
3.5	Conclusiones.....	90
3.6	Recomendaciones.....	90
Conclusiones generales		92
Bibliografía		95

Introducción

El imposex es un fenómeno observado en algunos neogastrópodos, en los que las hembras presentan caracteres sexuales masculinos (pene y/o vaso deferente) no funcionales, siendo muy común en gasterópodos marinos (Blaber, 1970; Bigatti *et al.* 2014), y que se ha demostrado ser respuesta o efecto de la contaminación hacia compuestos orgánicos xenobióticos, como el tributilo de estaño (TBT) y metales pesados (Alzieu, 2000; Márquez, González, y Bigatti, 2011; Laitano *et al.*, 2013; Abdelhady *et al.*, 2018).

En este sentido, el fenómeno de imposex puede ser una excelente herramienta como indicadora de contaminación por este tipo de contaminantes, especialmente el TBT, siendo éste ampliamente usado como compuesto base de pinturas anti-incrustantes, que son comúnmente empleadas en los cascos de las embarcaciones navieras de cualquier tipo (EPA, 2003). Por otro lado, este tipo de pinturas fueron prohibidas a finales del siglo XX (OMI, 1999), aunque aún podría existir el uso de éstas, lo que explica la presencia química aún persistente en las zonas costeras (Castro y Fillman, 2012; Bigatti *et al.* 2014; Rodríguez-Grimón *et al.*, 2016).

Particularmente, la franja costera de Santa Marta, Colombia, se encuentra muy influenciada por actividades navieras que van desde el comercio internacional, relacionado a grandes embarcaciones, hasta actividades de menor escala que involucran pequeños botes pesqueros y de movilización turística. Aunque a nivel nacional la Autoridad Marítima a través de los supervisores del Estado Rector del Puerto, en las inspecciones que efectúan a los buques de bandera extranjera que arriban a los puertos colombianos, verifican que tengan el certificado que acredite que la embarcación cumple con lo establecido en el Convenio Internacional sobre el Control de los Sistemas Anti-incrustantes Perjudiciales (IMO, 2003). Para el caso de las naves de bandera colombiana, si bien es cierto que Colombia aún no es parte de citado convenio, la Dirección General Marítima

(DIMAR) manifestó que ejerce control sobre los astilleros para que utilicen pinturas libres de sustancias nocivas como el TBT (DIMAR, 2017). Por lo anterior, se hace necesaria la evaluación ambiental de esta zona en particular, ya que el tráfico marítimo presenta elevada intensidad, lo cual podría afectar a diferentes especies que se encuentran en los ecosistemas costeros del área, como consecuencia de la presencia de las sustancias contaminantes asociadas a esta actividad.

Por consiguiente, el presente trabajo se estructuró bajo tres enfoques, uno que busca estimar indirectamente los niveles de contaminación por compuestos orgánicos de estaño mediante la intensidad del tráfico marítimo en la franja costera de Santa Marta, estimando un indicador de tráfico marítimo que permita considerar el aporte de las dimensiones de embarcaciones, permanencia en el sitio, y cantidad de las mismas. Otro de los enfoques fue el estudio del fenómeno imposex en neogasterópodos presentes en los litorales rocosos de esta área en particular, tomando en cuenta su relación con el tráfico marítimo y variables de calidad del agua. Finalmente, un tercer enfoque fue centrado en estudiar la asociación de los cambios en la forma de la concha de los gasterópodos, que pudieran manifestarse por medio de morfometría geométrica en dos dimensiones, con factores como el imposex y la exposición al oleaje.

Los resultados y su interpretación podrían emplearse para programas de monitoreo puntuales que permitan inferir la presencia de contaminantes como el TBT en la zona solo con observar características particulares de los organismos, sin necesidad de realizar detecciones químicas costosas, e incluso sin la necesidad de recurrir a la muerte de los organismos para detectar el fenómeno de imposex mediante la técnica destructiva tradicional.

Por todo lo anterior, el objetivo del presente trabajo de investigación fue estudiar el imposex para el diagnóstico de la contaminación por compuestos orgánicos de estaño en la costa del Caribe colombiano, cuya importancia radicó en generar conocimiento con datos científicos sobre este fenómeno consecuencia de la contaminación originada por el ser humano, destacando que ya existe un estudio previo en el área del Caribe colombiano, enfocado en los cambios estructurales y morfométricos de la concha asociados al imposex en dos especies de neogasterópodos (Rico, 2017). Para llevar a cabo el presente trabajo, se emplearon métodos estandarizados, tanto para estimar las variables físicas, químicas y biológicas del agua, como para determinar la condición de imposex y los cambios morfológicos asociados a éste; por consiguiente la información generada no solo servirá

como escala para seguir avanzando en el conocimiento científico sobre el efecto de la contaminación en gasterópodos marinos, sino también constituirá un soporte para que las instituciones oficiales de Colombia, dispongan la creación de planes de control/monitoreo, o incluso de conservación más centrados en evitar este tipo de fenómenos específicos producto de la contaminación.

Capítulo 1: El tráfico marítimo, la temporalidad climática y la calidad del agua en la franja costera de Santa Marta

Resumen

Desde el año 2013 en la franja costera de la ciudad de Santa Marta, Colombia, se ha incrementado en más del 23% la presencia de embarcaciones con respecto a reportes de años anteriores, en sus rutas marítimas y puertos, por efecto de la construcción de una moderna marina turística, y de las mejoras administrativas y de infraestructura en el puerto mercante. Es preocupante la relación descrita entre las variables tráfico marítimo y la contaminación asociada con las actividades socioeconómicas que se desarrollan en cada zona costera. Por lo que se empleó un indicador de tráfico marítimo que permitió reunir el efecto de mediciones importantes para estimar el impacto del contacto de la embarcación con el agua (cantidad de barcos, eslora y tiempo de permanencia), y se relacionó con variables de calidad de agua considerando el efecto de las temporadas climáticas dentro de la franja costera de Santa Marta, entre los años 2014 al 2017. Las concentraciones altas de coliformes totales (CT), hidrocarburos disueltos y dispersos equivalentes de criseno (HPDD) y clasificación más desfavorable del índice de calidad de agua marina para la preservación de la flora y fauna (ICAM_{PFF}) registradas en la Marina Internacional de Santa Marta (SM) fueron influenciadas por la cercanía a las actividades antropogénicas de turismo, portuarias y vertimientos urbanos de aguas residuales. La estimación del tráfico marítimo implementada en este trabajo, puede ser una referencia para futuros estudios que evalúen el impacto del transporte acuático en la calidad ambiental, pues constituye una estimación más completa que otras que usan datos semicuantitativos y cuantitativos considerando solo la cantidad de embarcaciones.

Palabras clave: Tráfico marítimo, calidad del agua, clima, Caribe, índices.

Abstract

Since the year of 2013, there has been an increased presence of ships in maritime routes and ports in the coastal fringe of the city of Santa Marta, Colombia, estimated in more than 23% with respect to the report of the preceeding years, due to the effects of a modern touristic marine construction and the merchant port infrastructure improvements. Of major concern and described by various authors, is the relationship between the variable maritime traffic and contamination associated with socioeconomical activities that take place in every coastal area. In this work, a maritime traffic indicator was calculated which allows the consideration of the effects of relevant measurements, to estimate the impact of the ship's contact with water (taking into account number of ships, ship length and permanence time) related to water quality variables, considering climatic seasons occurring in the Santa Marta coastal fringe, between the years of 2014 and 2017. The high concentrations of Total Coliforms (TC), Dissolved/Dispersed Petroleum Hydrocarbons related to chrysene equivalents (DDPH) and the most unfavorable rating of the Marine and Coastal Waters Quality Index for the preservation of flora and fauna (ICAM_{PFF}) reported by the International Marine of Santa Marta (SM), were affected by the local anthropic activities of tourism, shipping traffic, port activities and urban wastewater discharges. The estimation of the Maritime Traffic Indicator that was implemented in this work, may represent a reference for future studies of evaluation of the aquatic transport impact on the environmental quality as it constitutes a more complete estimation than the ones that use semiquantitative and quantitative data considering only the number of ships.

Key words: Maritime traffic, water quality, weather, Caribbean, indexes.

1.1 Introducción

El transporte marítimo es uno de los emprendimientos económicos más grandes del mundo y representa el 80% del intercambio comercial mundial (UNCTAD, 2016). Se ha establecido un gran número de rutas que proporcionan vías logísticamente eficientes y rentables para el transporte por mar, pero, al mismo tiempo, el tráfico marítimo está afectando negativamente al ambiente marino (Halpern *et al.*, 2015; Bracker, 2019). El tráfico marítimo produce contaminación de aguas por petróleo (Bajt, 2014; Liubartseva *et al.*, 2015; Gregoris *et al.*, 2016) y metales pesados (Caric, Klobu y Stambuk, 2014), contaminantes atmosféricos y emisiones de gases de efecto invernadero (Lucialli, Ugolini y Pollini, 2007; Hassellöv, Turner, Lauer y Corbett, 2013; Donateo *et al.*, 2014; Merk, 2014), los cuales contribuyen a generar cambios en la química del agua marina y la acidificación del océano (Hassellöv *et al.*, 2013). En entornos urbanos y, en particular, en ciudades portuarias, varias fuentes de contaminación pueden actuar conjuntamente afectando las condiciones de calidad del aire y del agua marino-costera; en estas localidades, el tráfico terrestre y marítimo, indispensables para la movilidad en ciudades, complejos industriales, marinas y puertos marítimos, son considerados fuentes importantes de emisiones (Merk, 2014; Gregoris *et al.*, 2016, Bracker, 2019).

Munim y Schramm (2018), ratificaron la importancia que tiene para los países en desarrollo, el mejoramiento continuo de la calidad de la infraestructura portuaria, lo cual permitirá un mejor desempeño logístico y consecuentemente mayor comercio marítimo, produciendo un mayor crecimiento económico. En este sentido, el puerto marítimo de Santa Marta posee un calado natural que lo convierte en el más profundo de América, permitiendo el arribo de embarcaciones comerciales provenientes de todo el mundo. Desde el año 2013 perfeccionó el almacenamiento de la carga refrigerada en contenedores, aumentó la tecnología para los trámites del comercio exterior y agilizó la atención de servicio al cliente, convirtiéndose en el terminal portuario más importante de Colombia. La ciudad de Santa Marta desde el año 2012 cuenta con una marina moderna, con excelente acceso y cercanía al Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT) y las montañas de La Sierra Nevada de Santa Marta, que la convierte en un atractivo turístico; además de ser reconocida por “yatchers” como un puerto seguro para las embarcaciones durante época de huracanes (de junio a octubre) (DIMAR, 2018).

La ciudad de Santa Marta es el segundo destino turístico preferido por los visitantes en el Caribe colombiano; las principales actividades económicas se desarrollan alrededor del puerto y de los sitios turísticos. Las bahías y ensenadas del PNNT son puntos de referencia para el anclaje de embarcaciones turísticas en las cartas de navegación oficial (CIOH, 2017). Garay *et al.* (2003), advirtieron que el incremento de la demanda turística en la zona, traería como consecuencia un aumento en las cargas de contaminantes, especialmente durante las épocas de alta afluencia de turismo. Históricamente las condiciones del agua de la franja costera de Santa Marta han sido evaluadas y justificadas como dependientes del tratamiento y disposición de los residuos líquidos y sólidos urbanos (Moscarella, García y Palacio, 2011; INVEMAR, 2018), y las actividades socioeconómicas (INVEMAR, 2017), sin considerar específicamente el aporte cuantitativo del tráfico marítimo. En este contexto, hay trabajos que resaltan la relación entre la variable tráfico y la contaminación asociada con los tipos de actividades socioeconómica que se desarrollan en cada zona costera (Trozzi, Vaccaro y Nicolo, 1995; Lucialli *et al.*, 2007; Bajt, 2014; Donateo *et al.*, 2014; Merk, 2014; Gregoris *et al.*, 2016).

En estudios que han evaluado el impacto del tráfico marítimo en la calidad ambiental, la variable tráfico se ha usado como dato semicuantitativo expresando la cantidad de embarcaciones en escala (nula, baja, media o alta) (Ten Hallers-Tjabbes *et al.*, 2003; Miloslavich, Penchaszadeh y Bigatti, 2007; Gregoris *et al.*, 2016; Roos, 2016). Mientras que, el manejo cuantitativo de la variable tráfico ha usado datos directos de número de embarcaciones (Castro, Oliveira, Lopes, Matthews-Cascon y Rocha-Barreira, 2005; Strand, Jørgensen, y Tairova, 2009; Elhasni, Vasconcelos, Ghorbel, y Othman, 2013, Márquez, Primost y Bigatti, 2016), peso de carga que se transporta (Juretic, Cerovic, y Galovic, 2013; Elhasni *et al.*, 2013), cantidad de pasajeros transportados (Miotke-Dzięgiel, 2007), y tiempo de permanencia en puerto durante las operaciones mercantiles (Trozzi *et al.*, 1995; Lucialli *et al.*, 2007; Merk, 2014). Los antecedentes de estimaciones cuantitativas del tráfico que hayan considerado en un indicador varias variables como la cantidad de embarcaciones, superficie activa de contacto del casco del bote en el agua y la duración de exposición, se remiten al trabajo realizado por Caric *et al.* (2014), en el que se evaluó la contaminación relacionada al uso de antiincrustante en el casco de los barcos de crucero.

En el presente trabajo se determinó la influencia del indicador cuantitativo de tráfico marítimo en un espectro amplio de tipo de embarcaciones según la actividad socioeconómica (buques mercantes, cruceros, embarcaciones medianas turísticas y pesqueras), considerando las variables de cantidad, longitud total del barco (eslora) y tiempo de permanencia; y las temporadas climáticas, en las variables de calidad de agua dentro de la franja costera de Santa Marta, entre los años 2014 al 2017.

1.2 Materiales y Métodos

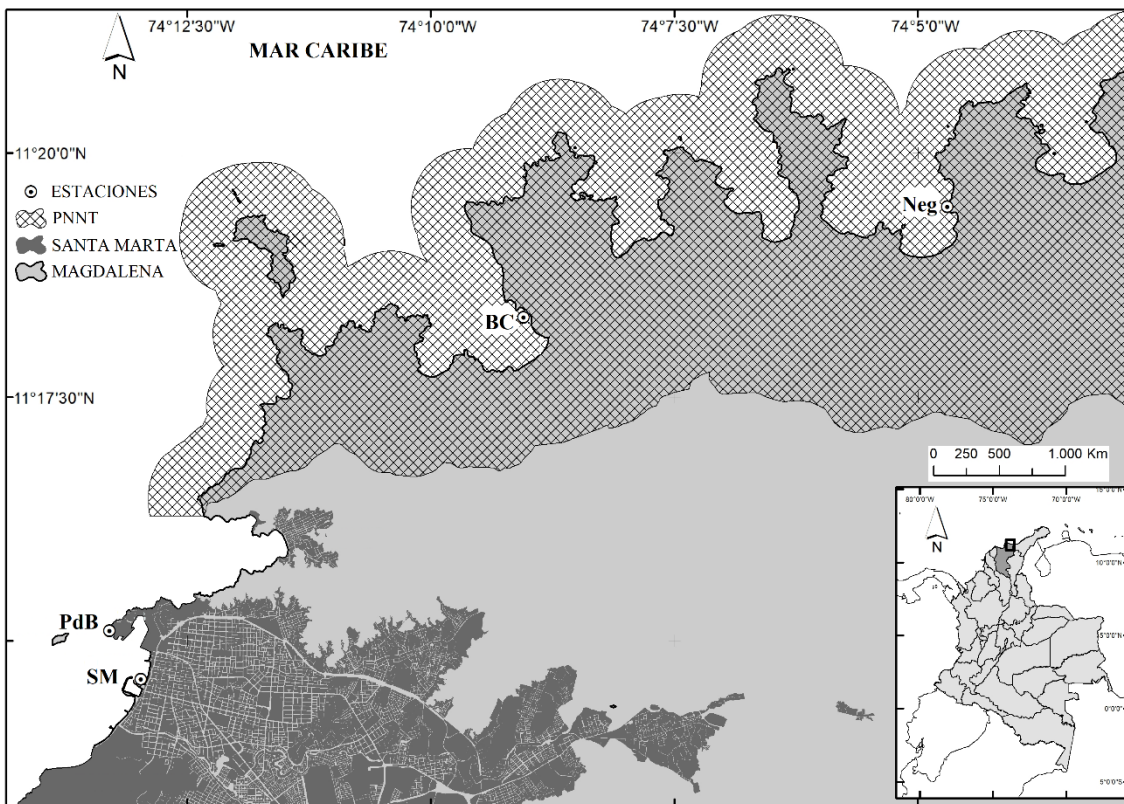
1.2.1 Área de estudio

La franja costera de Santa Marta es una zona altamente dinámica. En ella se desarrollan diferentes actividades socio-económicas (turismo, pesca, transporte y almacenamiento de carbón) que repercuten en las condiciones ambientales del medio marino (INVEMAR-GEO, 2015). Las zonas seleccionadas para el estudio bajo el criterio tipo de actividades marítimas controladas, fueron la Bahía de Santa Marta (BSM) con identificación de actividades portuarias, turísticas y pesqueras, y el Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT) con actividades turísticas. La BSM es una bahía semicerrada, se encuentra entre $11^{\circ} 13' 16''$ N - $74^{\circ} 14' 29''$ O y $11^{\circ} 15' 10''$ N - $74^{\circ} 13' 30''$ O, siendo su área superficial aproximada a 5 km^2 . La línea costera está limitada al norte y al sur por formaciones rocosas, y en su parte central predomina la playa arenosa. Dentro de la BSM fueron seleccionadas las estaciones: Marina Internacional de Santa Marta ($11^{\circ} 14' 31''$ N y $74^{\circ} 13' 4''$ O) y Punta de Betín ($11^{\circ} 15' 6''$ N y $74^{\circ} 13' 18''$ O), como sitio aledaño al Puerto Marítimo de Santa Marta. El PNNT se encuentra al norte de la ciudad de Santa Marta, tiene una extensión de 12692.2 Ha terrestres y 6564.4 Ha marinas, y está ubicado entre las coordenadas $11^{\circ} 16' 20''$ N - $74^{\circ} 12' 22''$ O y $11^{\circ} 17' 50''$ N y $73^{\circ} 53' 32''$ O. Dentro del PNNT fueron seleccionadas las estaciones de Bahía Concha y Nenguange, situadas al noroeste de las playas principal de Concha ($11^{\circ} 18' 00''$ N - $74^{\circ} 8' 56''$ O) y principal de Nenguange ($11^{\circ} 19' 27''$ N - $74^{\circ} 4' 42''$ O), respectivamente (Fig.1-1).

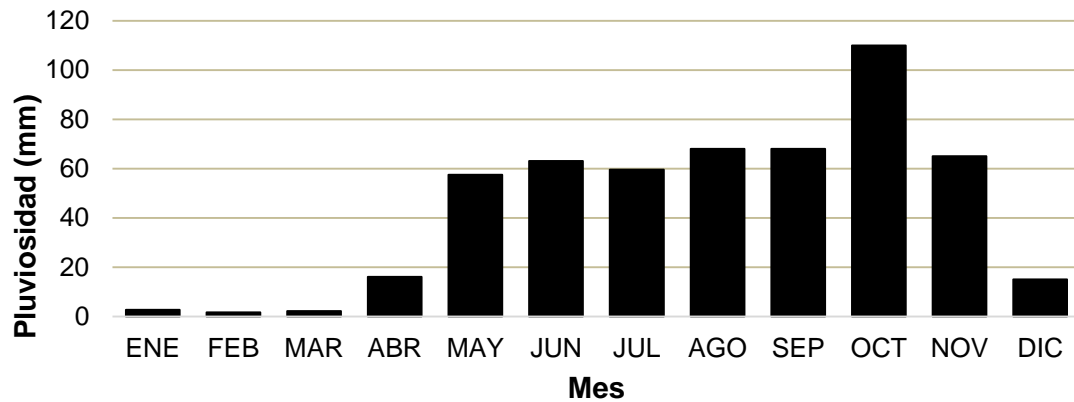
El clima e hidrografía de Santa Marta están influenciados por los vientos Alisios del noroeste, que constituyen el factor climático dominante de la región. Cuando los vientos soplan con fuerza, se presenta escasez de lluvias y un ambiente seco, cuando bajan de

intensidad aparecen las lluvias. El período seco ocurre entre diciembre a abril con un acumulado inferior a los 35 mm, siendo los meses de enero, febrero y marzo, los meses más secos con un promedio de 2 mm. El período lluvioso se extiende entre los meses de mayo a noviembre, siendo el mes de octubre, el de mayor precipitación con promedio histórico de 110 mm (IDEAM, 2019), ver la Figura 1-2.

Figura 1-1: Localización de las estaciones de muestreo en la franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano.



SM: Marina Internacional de Santa Marta; PdB: Punta de Betín; BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange.

Figura 1-2: Pluviosidad histórica de Santa Marta, Caribe colombiano.

Fuente: IDEAM (2019).

1.2.2 Variables fisicoquímicas y microbiológicas en el agua superficial

Los datos de las variables medidas en el agua durante seis campañas de muestreo para tres sitios específicos dentro de la zona Santa Marta – PNNT, según las temporadas climáticas, entre los años 2014 - 2017; fueron obtenidos de datos abiertos del programa “Red de Vigilancia para la Conservación y Protección de las Aguas Marinas y Costeras de Colombia” (REDCAM, INVEMAR, 2019). Las variables físico-químicas y microbiológicas consideradas a nivel superficial del agua fueron: salinidad, oxígeno disuelto (OD), pH, nitratos, nitritos, amonio, ortofosfatos, sólidos suspendidos totales (SST), hidrocarburos disueltos y dispersos equivalentes de criseno (HPDD), coliformes totales (CT), e índice de calidad de agua marina para la preservación de la flora y fauna (ICAM_{PPF}). La metodología de análisis de cada una de las variables fue descrita por Vivas-Aguas, Obando y Herrera (2015a), ver Tabla 1-1. Las estaciones de monitoreo REDCAM coincidentes con las del presente estudio fueron: Playa Municipal de Santa Marta (contigua a SM), Bahía Concha y Neguange.

Tabla 1-1: Variables, índice y metodologías utilizadas en la Unidad de Laboratorios de Calidad Ambiental Marina (LABCAM) del INVEMAR para las muestras de la REDCAM.

Parámetro	Métodos de Análisis
Salinidad (Unidad Práctica de Salinidad)	Medición electrométrica de la conductividad con electrodo acoplado a sonda.
pH (Unidades)	Medición potenciométrica con sonda portátil.
Oxígeno Disuelto (mg/L)	Medición en campo con electrodo de membrana.
Sólidos Suspendidos Totales (mg/L)	Filtración en membrana de fibra de vidrio, secado 103-105°C y gravimetría.
Nitritos N-NO ₂ ⁻ (µg/L)	Método colorimétrico de la sulfanilamida.
Nitratos N-NO ₃ ⁻ (µg/L)	Método colorimétrico basado en la reducción con cadmio y reacción por sulfanilamida.
Amonio N-NH ₄ ⁺ (µg/L)	Método colorimétrico del azul de indofenol.
Ortofosfatos P-PO ₄ ⁻³ (µg/L)	Método colorimétrico del ácido ascórbico.
Coliformes Totales (NMP/100mL)	Fermentación en tubos múltiples método de números más probable.
Hidrocarburos del petróleo disueltos y dispersos equivalentes de criseno (HPDD) (µg/L)	Extracción líquido-líquido con diclorometano y cuantificación fluorométrica.
ICAM _{PFF}	(Vivas-Aguas <i>et al.</i> 2015a)

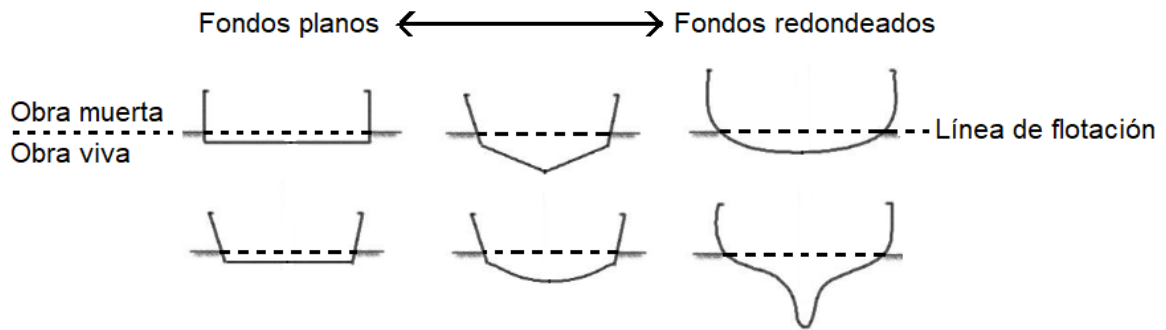
Fuente: INVEMAR (2019).

1.2.3 Tráfico marítimo

Se utilizaron los datos de las embarcaciones en cada una de las estaciones de muestreo (SM, PdB, BC y Neg), con información de cantidad diaria, la medida de eslora y tiempo de permanencia de atraque/anclaje en determinado sitio (DIMAR, 2018). La información de eslora en embarcaciones medianas que se presentaron en las estaciones de SM, BC y Neg, fue complementada en el sitio: www.marinetraffic.com. La variable de longitud de eslora se usó como única información estimadora de la superficie de contacto entre el bote y el agua, debido a que existió una heterogeneidad alta en los tipos de embarcaciones

(buques tanqueros, cruceros de pasajeros, yates a motor, veleros, lanchas etc.) consideradas dentro del área de estudio, y por ende una variación muy grande en la influencia de las variables: eslora, manga y calado del casco, al momento de estimar el área de “obra viva” de una embarcación (Fig. 1-3).

Figura 1-3. Influencia de la variedad de fondo de casco en botes destinados para diferentes usos en la variación del área de obra viva.



Se calculó el índice de tráfico marítimo mensual para cada estación mediante una relación directa entre la cantidad de naves por mes, la eslora promedio y el tiempo de permanencia de las naves en cada estación. Los datos de cada una de las variables se estandarizaron para tomar valores entre 0 y 1, tal como lo muestra el tratamiento de datos propuesto por Guisande *et al.* (2013), y empleando las ecuaciones (ver Ecuaciones 1.1 – 1.4).

$$\text{Tráfico} = VEc + VEe + VEt \tag{1.1}$$

$$VEc = \frac{c - \text{Min}}{\text{Max} - \text{Min}} \tag{1.2}$$

$$VEe = \frac{E - \text{Min}}{\text{Max} - \text{Min}} \tag{1.3}$$

$$VEt = \frac{T - \text{Min}}{\text{Max} - \text{Min}} \tag{1.4}$$

Cada variable constituyó un dato estandarizado (entre 0-1) y mensual, dónde VEc , es la cantidad de embarcaciones; VEe es la longitud de eslora de las embarcaciones, y VEt representa el tiempo de permanencia de las embarcaciones. Las variables C , E , y T representan cada una de las observaciones de cantidad de naves, longitud de eslora y tiempo de permanencia, respectivamente; empleando los valores máximos (Max) y mínimos (Min) de todos los datos disponibles por cada variable.

1.2.4 Análisis de datos

Con el propósito de evaluar diferencias entre los promedios de las variables e índice de calidad de agua y tráfico, se realizó un análisis de varianza (ANOVA), con previa evaluación de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas según las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Al detectar diferencias significativas entre medias, se aplicó la prueba de “Honesty Statistical Difference” de Tukey. Cuando alguno de los supuestos no se cumplió, se procedió a realizar el análisis no paramétrico de Kruskal-Wallis; para la comparación pareada, se realizó la prueba de contraste de la suma de rangos de Wilcoxon con corrección de continuidad.

Las diferencias de las clasificaciones cualitativas del ICAM_{PFF} por estaciones de muestreo, se evaluaron mediante el contraste de homogeneidad en variables poltómicas cualitativas de Chi-cuadrado. Se identificaron las variables independientes importantes y su asociación, mediante Análisis de Componentes Principales (ACP). El nivel de importancia de cada variable fue verificado mediante análisis de clasificación discriminante lineal (garantizando un porcentaje de acierto en la identificación de las variables superior al 95%). Para poder explicar el comportamiento de la cantidad de naves que arriban PNNT, se tomaron como variables independientes al número de visitantes totales y las temporadas climáticas (seca y lluviosa). Se realizaron modelos lineales considerando estas variables como influencia aditiva y como interacción usando el paquete “lm” en R. Luego, se seleccionó el modelo que mejor explicaba la variación de cantidad de visitantes en el PNNT con respecto a cantidad de embarcaciones, usando el menor valor del Criterio de Información de Akaike (AIC), así como el valor de significancia (valor p) y el valor de R^2 ajustado. Todo el manejo de datos se realizó con el programa “R”, mediante la interfase

RWizard (Guisande, Heine, González-DaCosta y García-Roselló, 2014). Para todas las pruebas se asumió un error $p < 0.05$.

1.3 Resultados

1.3.1 Variables fisicoquímicas y microbiológicas en el agua superficial

En la Tabla 1-2 se presentan los resultados de la calidad de las aguas superficiales costeras de tres estaciones de muestreo (SM, BC y Neg) dentro de la franja marítima de Santa Marta. En todos los casos las variables fisicoquímicas, nutrientes inorgánicos y conteo microbiológico, presentaron valores por debajo de los límites máximos permisibles establecidos por la Legislación Colombiana (Decreto 1594 del año 1984). Las concentraciones de hidrocarburos de petróleo disueltos y dispersos equivalentes de criseno (HPDD), no superaron los rangos permitidos del contaminante para aguas costeras con contaminación baja ($> 5 < 10 \mu\text{g/L}$) (UNESCO, 1984); y la categoría preponderante de ICAM_{PFF} fue de “adecuada” con valores en el rango de 70 – 90, a pesar de que entre las estaciones SM y Neg se presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$). El análisis comparativo de las variables entre estaciones de muestreo mostró diferencias en pH, HPDD, CT y ICAM_{PFF}, presentando una tendencia de condiciones más deterioradas del agua en la estación de SM ($p < 0.05$).

La influencia de la temporalidad climática se evidenció durante la estación seca en la que se presentaron los mayores niveles en salinidad, pH, nitratos y amonio; mientras que la concentración de CT presentó valores mayores durante los meses de lluvia, llegando a ser significativa solamente en la estación SM con un promedio de 438 NMP/100 mL ($p < 0,05$). Para el ICAM_{PFF} calculado no se evidenció diferencia con significancia estadística entre las temporadas climáticas. La concentración de ión amonio osciló entre el límite de detección del método analítico utilizado ($3.1 \mu\text{g/L}$) y el valor pico de $107.4 \mu\text{g/L}$, que se presentó en la estación Neg durante abril del 2015.

Tabla 1-2: Concentración de variables fisicoquímicas y biológicas en tres estaciones de muestreo dentro de la franja costera del Caribe colombiano, entre los años 2014 y temporada seca del 2017.

Variables	N	Estaciones		
		Santa Marta	Bahía Concha	Nenguange
Salinidad (ups)	21	36.2 ± 0.2	36.0 ± 0.5	36.3 ± 0.4
Oxígeno disuelto (mg/L)	21	6.41 ± 1.19	6.39 ± 0.61	6.01 ± 0.77
pH	21	8.11 ± 0.12 ^b	8.21 ± 0.08 ^c	8.06 ± 0.07 ^a
SST (mg/L)	24	25.3 ± 12.1	27.4 ± 10.8	20.0 ± 8.2
Ortofosfatos P-PO ₄ ³⁻ (µg/L)	24	3.38 ± 1.27	6.30 ± 11.29	3.84 ± 2.37
Nitritos N-NO ₂ ⁻ (µg/L)	24	1.69 ± 1.29	1.11 ± 0.97	0.99 ± 0.68
Nitratos N-NO ₃ ⁻ (µg/L)	24	6.47 ± 6.60	4.29 ± 2.89	8.39 ± 9.25
Amonio N-NH ₄ ⁺ (µg/L)	24	2.97 ± 0.83	16.56 ± 32.68	6.08 ± 6.30
HPDD (µg/L)	21	0.74 ± 0.52 ^b	0.18 ± 0.14 ^a	0.15 ± 0.08 ^a
CT (NMP/100 mL)	24	287 ± 226 ^b	57 ± 85 ^a	21 ± 31 ^a
ICAM _{PFF}	21	79.8 ± 4.8 ^a	84.9 ± 5.4 ^{ab}	86.2 ± 6.4 ^b

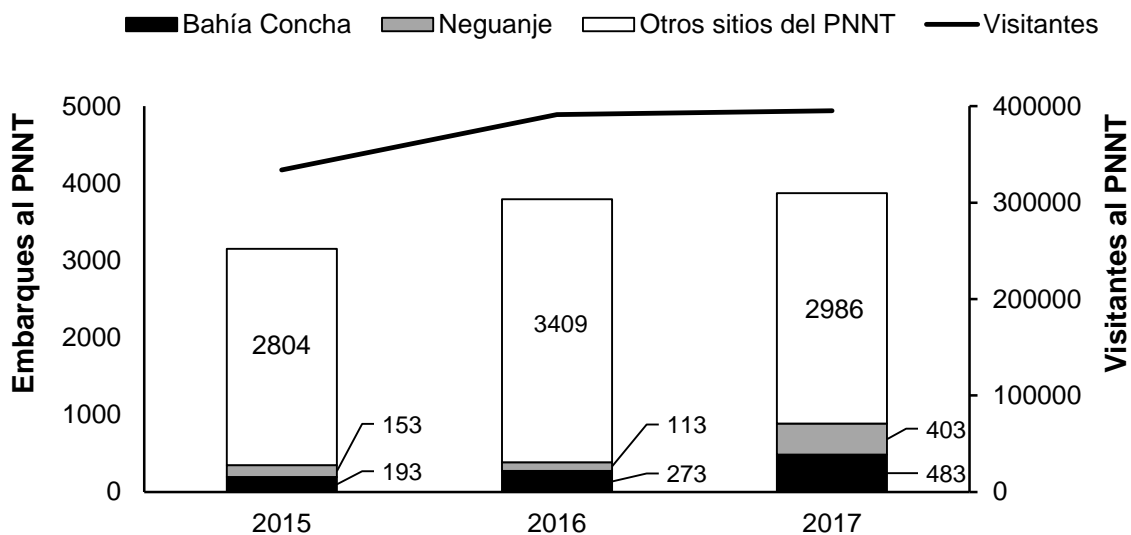
N: cantidad de muestras; superíndices diferentes en promedios que mostraron diferencias significativas según la prueba de comparación pareada Wilcoxon, $p < 0.05$.

1.3.2 Tráfico marítimo

En la Marina Internacional de Santa Marta, el registro de los primeros cinco años (2013-2017) acumuló una cantidad de 924 naves en tránsito. La cantidad mensual histórica hasta el 2017, calcula un promedio de 24 naves/mes, con una duración promedio de 22 días en muelle y un rango de eslora entre 11 y 25 m. Durante la temporada climática lluviosa hubo la tendencia de presentar los registros menores de afluencia con promedio de 18 embarcaciones/mes y no se detectó significación estadística ($p > 0.05$) con las 30 embarcaciones/mes que se presentaron durante la estación seca. En el puerto marítimo de Santa Marta se obtuvo dentro del periodo 2015 – 2017, los resultados promedios mensuales de 81 embarcaciones, 60 horas en tiempo de permanencia y 177 m de eslora. En el mismo espacio de tiempo, la cantidad de embarcaciones que reportaron llegadas hacia diferentes sitios del PNNT, fue aumentando paulatinamente; en el 2015 de 3150, para el 2016 aumentó en un 20% (3795) y en el 2017 alcanzó las 3872 embarcaciones.

Solo en las estaciones Bahía Concha y Nenguange representaron para el año 2015, el 11 % del total de embarcaciones hacia el PNNT, y para el 2017 la cantidad incrementó a un 23%. El aumento gradual de la cantidad de naves hacia el PNNT estuvo en correspondencia directa con el número de visitantes totales que acceden al parque nacional (Fig. 1-4).

Figura 1-4: Cantidad de naves que zarpan hacia la zona del PNNT y cantidad total de visitantes en el PNNT, entre 2015 y 2017.



Fuente: DIMAR (2018); Parques Nacionales Naturales de Colombia (2019)

Fue durante el mes de enero (temporada seca) cuando se registraron las cantidades mayores de visitantes totales en el PNNT, que representaron 17% del total anual; otros picos de afluencia se presentaron durante los meses de julio y agosto en la temporada lluviosa. Para los visitantes que acceden por vía marítima a los sitios específicos de BC y Neg, el mes de mayor reporte de acceso de naves fue agosto, seguido de abril. Al probar dos modelos lineales de regresión, considerando las variables independientes como influencia aditiva y como interacción, para evaluar cuán dependiente fue la cantidad de naves hacia las estaciones BC y Neg, en relación a la cantidad de visitantes total en PNNT y las temporadas climáticas; se obtuvo que el modelo de mejor desenvolvimiento fue aquel en el que se consideró la influencia aditiva de las variables independientes (cantidad total de visitantes en el PNNT mas temporadas climáticas), debido a que se obtuvo el mayor

nivel de significancia con el menor registro del Criterio de Información de Akaike (AIC), ver Tabla 1-3. La cantidad de visitantes en PNNT fue significativa para explicar el número de embarcaciones presentes en BC y Neg ($p < 0.001$), mientras que, dentro del efecto de la temporada climática, únicamente durante la estación lluviosa se explicó la presencia de naves por la mayor afluencia de turismo ($p < 0.010$).

Tabla 1-3: Modelos de regresión lineal entre las variables cantidad mensual de naves y visitantes al PNNT, y temporadas climáticas.

Modelo	Variables	valor p	R ² ajustado	AIC
lm1	Visitantes + Temporada	< 0.01*	0.23	357.61
lm2	Visitantes * Temporada	< 0.05*	0.34	358.14

*Modelos significativos de acuerdo a un valor de 95% de confianza; lm1: modelo aditivo; lm2: modelo interactivo.

La cantidad promedio de embarcaciones/mes fue significativamente superior en PdB comparado con el resto de estaciones ($p < 0.01$). El tiempo de permanencia fue una variable que se diferenció notablemente a favor de las naves turísticas que atracaron en SM. Para el caso de la longitud de eslora, concordante con la actividad comercial mercante, fue en PdB en donde se presentaron los mayores tamaños, ver Tabla 1-4.

El rango del tráfico marítimo para la franja costera de Santa Marta, estuvo entre 0.02 y 2.11, con promedio (0.74) y mediana (0.39). Valores de tendencia central muy diferentes, resultado justificado por la heterogeneidad del tipo de embarcaciones asociado a las actividades socioeconómicas turísticas y portuarias. La estación con mayor valor de tráfico fue PdB, resultado influenciado por la cantidad mayor de naves y la eslora de las embarcaciones que atracaron ($p < 0,001$), ver Tabla 1-4. En SM se presentó tráfico medio, resultado que podría ser mayor si se considerara que la mayoría de los barcos que acceden a la zona del PNNT, lo hacen embarcando personas desde diversos sitios de playa ubicados en las cercanías a SM.

Tabla 1-4: Resultados del tráfico naviero para las estaciones, entre los años 2015 y 2017.

Estación	N	Naves/mes	Permanencia (horas)	Eslora (m)	Tráfico marítimo
SM	33	24 ± 22 ^b	495 ± 361 ^a	17 ± 5 ^b	0.55 ± 0.32 ^b
PdB	46	81 ± 7 ^a	60 ± 45 ^b	177 ± 5 ^a	1.72 ± 0.12 ^a
BC	32	30 ± 21 ^b	7 ± 0 ^c	7 ± 2 ^c	0.25 ± 0.18 ^c
Neg	41	21 ± 17 ^b	5 ± 1 ^d	7 ± 2 ^c	0.18 ± 0.14 ^c

N: número de meses; superíndices con letra diferente, presentaron $p < 0.05$ con la prueba “suma de rangos de Wilcoxon”, para comparar los promedios de muestras independientes. SM: Marina Internacional de Santa Marta; PdB: Punta de Betín; BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange.

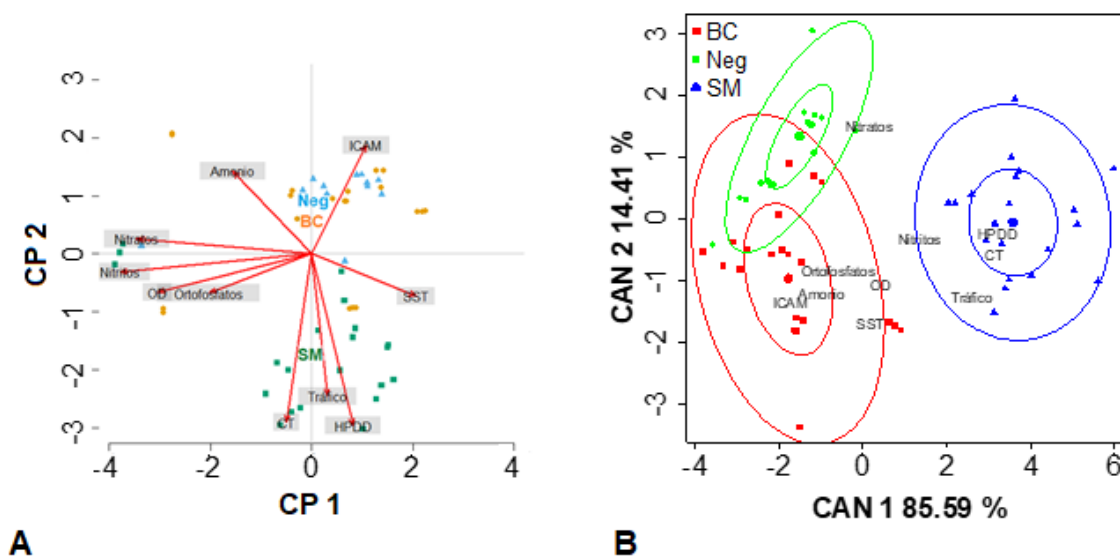
1.3.3 El tráfico naviero y las variables de calidad de agua en la franja costera de Santa Marta

El resultado de un análisis de componentes principales mostró que, el 90% de la fluctuación de las variables fue explicado mediante la construcción de siete componentes. El segundo componente principal fue de mayor influencia en distinguir las estaciones de muestreo, destacando la variable independiente “tráfico” con influencia importante en la variabilidad total, y significativamente correlacionada con las concentraciones de CT e HPDD ($p < 0.01$), ver Figura 1-5A. Este comportamiento fue corroborado mediante Análisis Discriminante Lineal (ADL), con 94,2% de acierto en la clasificación, y un 98.6% de casos identificados correctamente por validación cruzada con Análisis Discriminante Cuadrático (ADC). La estación SM se diferencia de BC y Neg por tener mayor concentración de CT, HPDD y tráfico marítimo, variables que determinan el primer eje discriminante que explica el 85.6 % de la variabilidad total, ver Figura 1-5B.

Al analizar el comportamiento de las variables según la temporada climática y sin distinguir estaciones, no se detectó diferencias significativas dentro del comportamiento de todas las variables en conjunto al momento de separar o distinguir las características de cada temporada climática. El resultado fue corroborado mediante análisis de discriminante (88.4 % de acierto en la clasificación, y 94.2 % de casos identificados correctamente por validación cruzada). A pesar de no existir efecto de clasificación mediante el ADL, se pudo visualizar los comportamientos significativos de la salinidad en temporada seca y las concentraciones de coliformes totales y ortofosfatos durante la temporada lluviosa, los que

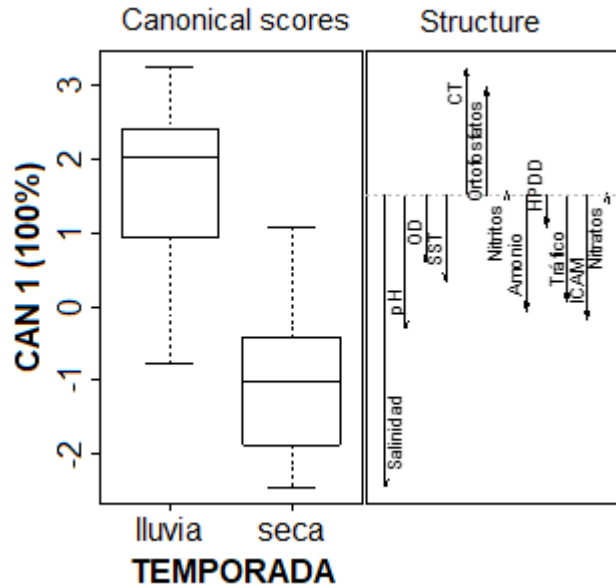
influyen en caracterizar de mejor manera cada una de las temporadas climáticas (Fig. 1-6).

Figura 1-5: Representación gráfica de los dos primeros componentes principales, contruidos por las variables de calidad del agua y tráfico marítimo (A), y la representación de las variables canónicas en donde se muestra la importancia de cada variable en separar estaciones (B).



SM: Marina Internacional de Santa Marta; BC: Bahía Concha (BC); Neg: Nenguange.

Figura 1-6: Representación de la importancia del grupo de variables en distinguir las temporadas climáticas, dentro del área de estudio durante los años 2014 al 2017.



OD: oxígeno disuelto; SST: sólidos totales suspendidos; CT: coliformes totales; HPDD: hidrocarburos de petróleo disueltos y dispersos; ICAM: índice de calidad de agua marina para la protección de la flora y fauna.

1.4 Discusión

La variación de salinidad debida a las temporadas climáticas en la zona estudiada, ha sido documentada con anterioridad en la literatura científica (Mancera, Pinto y Vilardy, 2013; Vivas-Aguas *et al.*, 2015b) y en informes de monitoreo ambiental (INVEMAR, 2017; 2018; 2019), en los que se han reportado niveles significativamente menores en la estación lluviosa que en la estación seca. Estos resultados se asociaron con el aumento de precipitaciones durante las temporadas de lluvias sucedidas entre los años 2014 al 2016, cuando el promedio acumulado mensual entre los meses de agosto - noviembre fue superior a 93 mm de pluviosidad (IDEAM, 2019), y la acción combinada de periodos de surgencia (de enero a abril) que producen aumento de salinidad, concentración de nutrientes orgánicos disueltos, turbiedad, y disminución de la temperatura superficial del agua (Franco-Herrera *et al.*, 2011; Mancera *et al.*, 2013; Bastidas-Salamanca, Ordóñez Zúñiga y Ricaurte Villota, 2016). El valor pico de 107.4 µg/L registrado para concentración

de amonio en Neg, durante la finalización de la temporada de seca, fue asociado a los desechos de aguas residuales generados por la actividad turística. Este comportamiento fue corroborado con los datos de 25658 visitantes reportados en el mismo tiempo, que representaron una cantidad pico en la playa aledaña a estación Neg, producto de las vacaciones por Semana Santa.

Es conocido que la cantidad y tipos de residuos sólidos encontrados en playas son directamente proporcional a la cantidad de personas asistentes, y las características del área e influencia de actividades socioeconómicas (Márquez y Rosado, 2011). Las concentraciones altas de CT, HPDD y clasificación más desfavorable de ICAM_{PPF} registradas en SM, pueden ser resultados influenciados por la cercanía mayor a los lugares con actividades antrópicas, con énfasis en el tráfico marítimo y el déficit de saneamiento básico debido a la baja cobertura de alcantarillado e inadecuada disposición de residuos líquidos y sólidos en la ciudad Santa Marta. Sin embargo, en ningún momento se superó el límite permisible de CT para el uso recreativo del agua por contacto primario y secundario (MinSalud, 1984). Este comportamiento de contaminación crónica por CT ha sido descrito históricamente por Moscarella *et al.* (2011), y en los reportes REDCAM (Garcés-Ordóñez *et al.*, 2016; INVEMAR, 2019). El aumento significativo de CT durante la temporada lluviosa es un indicador de contaminación por desechos orgánicos, y se relacionó con la estacionalidad de visitantes a las zonas de PNNT, con aumentos en las llegadas de turistas durante los meses de julio, agosto. Durante esos meses, según MinCit (2012), se potencia la llegada de turistas extranjeros procedentes del Cono Sur americano. La alta concentración de HPDD en SM ha sido reportada con anterioridad por Vivas-Aguas *et al.* (2015b), quienes atribuyeron el comportamiento a la actividad turística, el tráfico naviero, las actividades portuarias y los vertimientos urbanos de aguas residuales. La tendencia hacia afluencia mayor de yates durante la temporada seca en SM, puede deberse a que durante los meses de junio-noviembre (lluvia), hay riesgos para la navegación en el Mar Caribe por la temporada de huracanes, siendo septiembre y octubre los meses más activos (CIOH, 2019).

La estimación del indicador tráfico marítimo en la franja costera de Santa Marta puede ser comparable en futuros estudios de monitoreo, si éstos consideran los mismos rangos en las variables involucradas: cantidad mensual de embarcaciones entre 1 y 125, eslora entre 5 y 200 m, y la permanencia por embarcación desde 10 h hasta 46 meses.

1.5 Conclusiones

Los niveles altos de CT y HPDD en SM son explicados por la cercanía a fuentes urbanas de contaminación y al valor alto de tráfico marítimo en la BSM. En la zona de recreación del PNNT, el tráfico marítimo dependió de la cantidad de visitantes durante las temporadas vacacionales de los meses de diciembre-enero, abril y agosto.

El resultado cuantitativo del indicador ICAM_{PFF} fue útil para mostrar diferencias en la calidad del agua entre las zonas de la BSM y el PNNT, sin embargo, el resultado cualitativo del indicador categorizó a ambas zonas como de calidad “Adecuada”. A pesar que, en BSM fue significativa la presencia de eventos de calidad “Pésima”, y en el PNNT fue tendencia las condiciones “Óptimas” de calidad de agua.

La estimación del indicador de tráfico marítimo que se implementó, constituye una referencia para estudios futuros que evalúen el impacto del transporte acuático en la calidad ambiental, y una estimación más completa que la que aportan los datos semicuantitativos y cuantitativos, los cuales solo consideran el dato de cantidad de embarcaciones. Este indicador de tráfico marítimo se recomienda para zonas donde exista alta heterogeneidad en los tipos de embarcaciones, y accesibilidad a datos abiertos de cantidad de embarcaciones, eslora y el tiempo de permanencia.

Capítulo 2: Incidencia de imposex en Neogasterópodos de la franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano

Resumen

El imposex (hembras con caracteres sexuales masculinos) se encuentra asociado a contaminación por compuestos orgánicos de estaño, comunes en las pinturas anti-incrustantes ampliamente usadas en las embarcaciones marítimas; por ello, se planteó el objetivo de estudiar la incidencia de imposex en neogasterópodos y su relación con la calidad del agua y tráfico marítimo en la franja costera de Santa Marta, Colombia. La metodología se desarrolló en dos zonas de estudio, Bahía de Santa Marta (BSM) y Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT), caracterizados por presentar una mayor y menor influencia de tráfico marítimo, respectivamente; en cada zona, se establecieron dos estaciones (BSM: SM y PdB / PNNT: BC y Neg), en donde se realizaron muestreos para recolectar los organismos durante ocho campañas que comprendieron el periodo 2015-2017. El imposex se determinó por medio de índices específicos, y se relacionó con las tallas de los organismos, condición somática, variables de calidad del agua y tráfico marítimo, de manera espacio-temporal. Se evidenció la presencia de cinco especies con presencia de imposex, *Plicopurpura patula*, *Vasula deltoidea*, *Stramonita haemastoma*, *S. floridana* y *Gemophos auritulus*. Particularmente *P. patula* y *V. deltoidea* estuvieron presentes en todas las estaciones, mientras que el resto de especies solo se encontraron en SM. El imposex mostró una tendencia a prevalecer en la temporada seca, destacando una mayor sensibilidad a bajos valores de tráfico marítimo en *P. patula* en comparación con *V. deltoidea*. En los sitios con menor impacto del tráfico marítimo la susceptibilidad al imposex fue menor, aunque dicha susceptibilidad puede cambiar de una especie a otra.

Palabras clave: clima, gasterópodos, contaminación, tráfico marítimo, índice de condición.

Abstract

Imposex (females with male sexual characteristics) is associated to pollution with organic tin compounds, which are common in antifouling paints, which are widely used in seafaring boats; thus, the objective of this article is to study the incidence of imposex in neogastropoda and its relationship with the quality of the water and the marine traffic in the coastal strip of Santa Marta, Colombia. The methodology was applied in two study zones, Santa Marta Bay (SMB) and Tayrona National and Natural Park (TNNP), characterized for having a varied affluence of maritime traffic, respectively; in each zone, two sampling stations were established (SMB: SM and PdB / TNNP: BC and Neg), where manual samplings were done to collect the organisms for eight campaigns, done between the period of 2015-2017. Imposex was determined via specialized indexes, and related to the size of the organisms, somatic conditions, variables of water quality and maritime traffic, in a space-time way. There was evidence of five species with imposex, *Plicopurpura patula*, *Vasula deltoidea*, *Stramonita haemastoma*, *S. floridana* and *Gemophos auritulus*. The species *P. patula* and *V. deltoidea* particularly were present in all stations, while the rest of the species were only found on SM. Imposex was greatly related with the variable of maritime traffic, and it had a greater prevalence in the dry season, with *P. patula* being more sensitive than *V. deltoidea*.

Key words: climate, condition index, gastropoda, maritime traffic, pollution.

2.1 Introducción

Desde finales del siglo pasado ha existido preocupación por el aumento en cantidad y naturaleza de residuos que ha generado el sector industrial, debido a la introducción al ambiente de materiales sintéticos o productos químicos antrópicamente diseñados, como los compuestos orgánicos de estaño (COE) (Dobson y Cabridenc, 1990). Las pinturas anti-incrustantes con base en tributilo de estaño (TBT), fueron una solución efectiva para la industria naviera; sin embargo, se evidenció su efecto nocivo al provocar imposex en neogasterópodos; un fenómeno descrito por Blaber (1970), como la superposición de caracteres sexuales masculinos no funcionales (pene y/o vaso deferente) en hembras, y el cual es irreversible y específico de la contaminación por TBT (EPA, 2003; Horiguchi *et al.*, 2006; Radke, Staniszevska, Wasik, Namieśnik, y Bolałek, 2008).

Es entendido que los ecosistemas marino-costeros son muy importantes para el desarrollo de la humanidad, ya que en estos existen recursos naturales renovables y no renovables involucrados en diversas actividades económicas propias de la humanidad; además, es donde se mueve el 90% del comercio a nivel mundial (OMI, 2012). Marigómez *et al.* (2013), indicaron que los objetivos claves dentro del manejo de los ecosistemas marino-costeros son: proveer la información necesaria para mantener la biodiversidad e integridad de las comunidades biológicas, limitar la influencia del ser humano en los recursos biológicos, proteger hábitats frágiles, y salvaguardar la vida del ser humano; en ese sentido, los programas de biomonitoreo ambiental son una herramienta fundamental en el manejo de recursos para determinar el estado del ecosistema y el establecimiento de áreas críticas para la conservación (Springer, 2010). Asimismo, se ha recomendado la utilización de gasterópodos como herramienta en programas de biomonitoreo, para la determinación y seguimiento de contaminación en zonas marinas (Morabito *et al.*, 2009; Primost *et al.*, 2016).

Específicamente, el imposex fue asociado a la contaminación por TBT desde los años 80, con consecuencias biológicas en los gasterópodos; entre las que se destaca que las hembras afectadas en un nivel elevado de deformación, son estériles, aunque continúan la producción de huevos que son acumulados en las paredes del oviducto, efecto que conduce a la muerte del organismo, además que produce una declinación poblacional de la especie (Matthiessen y Gibbs, 1998). El imposex ha sido hallado en especies de zonas costeras y de aguas profundas (Castro *et al.*, 2008; Fujinaga, Ilano, Nomura, Miranda, y Nakao, 2006; Harding, Davies, Bailey, y Rodger, 1999; Morabito *et al.*, 2009; Rees, Brady, y Fabris, 2001); no obstante, el fenómeno presenta mayor incidencia en el perfil costero, en sitios relacionados a las actividades portuarias (pesca, turismo y mercante), debido a la cercanía de la fuente contaminante (EPA, 2003).

En Sudamérica, el imposex fue reportado por primera vez en Chile por Gooding *et al.* (1999), en Brasil por Castro *et al.* (2000), en Argentina por Penchaszadeh *et al.* (2001), en Venezuela por Miloslavich *et al.* (2007), en Ecuador por Castro *et al.* (2012), y en Perú por Castro y Fillman (2012); mientras que, para la región del Mar Caribe colombiano se reportó por primera vez en la bahía de Cispatá, específicamente en la especie *Melongena melongena* (Hernández y Stotz, 2004).

Por otra parte, luego de la prohibición del empleo de compuestos orgánicos del estaño perjudiciales en las pinturas anti-incrustantes en los buques (OMI, 1999), legislaciones de varios países se sumaron a esta restricción. En relación a lo anterior, una reducción en los niveles de compuestos de butilo de estaño en el ambiente sería esperable en los océanos alrededor del mundo; sin embargo, la rapidez y efectividad de esta reducción ha dependido de la eficacia de la prohibición global, la cual afecta a todas las regiones y está directamente relacionada con el tráfico marítimo internacional (Bigatti *et al.*, 2014).

Es conocido que el acceso libre a compuestos de cloruro y óxido de tributilo de estaño facilita la elaboración artesanal de diferentes fórmulas de pinturas antiincrustantes, por amateurs como pescadores y propietarios de botes de uso recreacional, en pequeños astilleros y puertos privados (Castro y Fillmann, 2012). Por lo tanto, es difícil predecir cuándo y dónde se hará efectiva esta reducción de los niveles de TBT y hasta cuándo se extenderán sus efectos sobre los organismos marinos a largo plazo (Bigatti *et al.*, 2014).

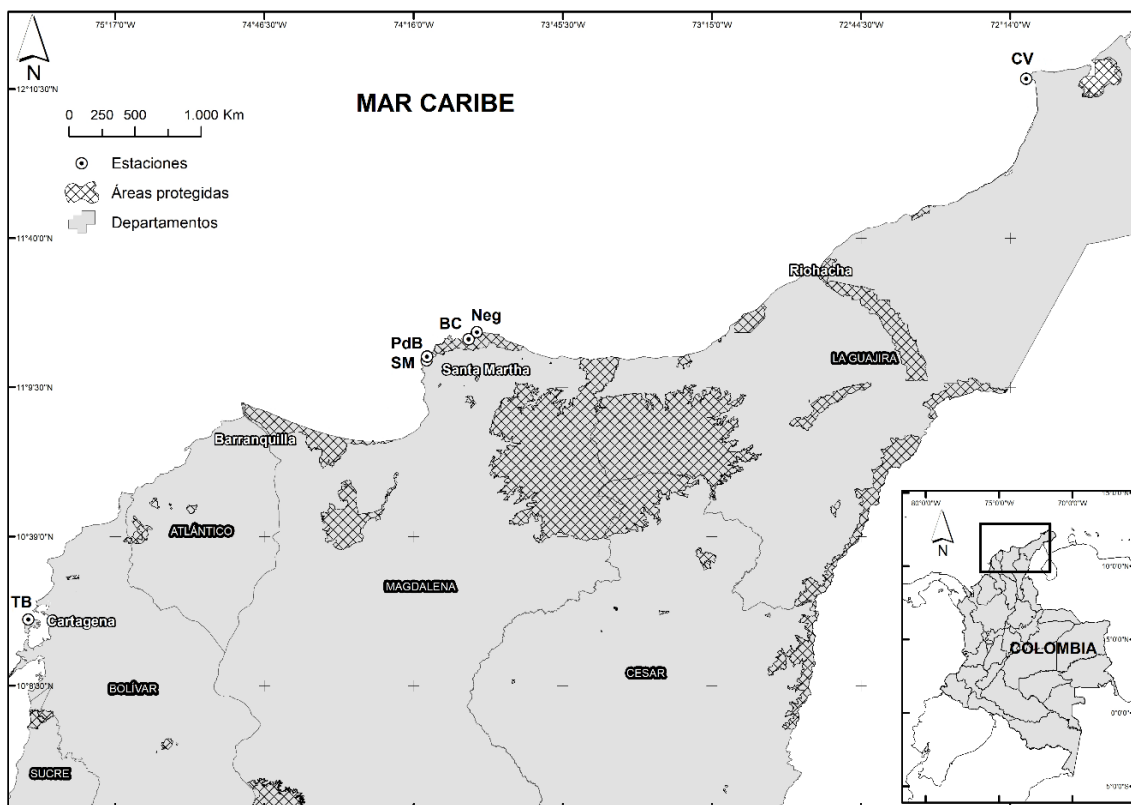
En Colombia sólo tres estudios informaron de la incidencia en zonas portuarias de imposex en gasterópodos, como en la bahía de Cispatá (Hernández y Stotz, 2004), la bahía de Cartagena (Sierra-Márquez y otros, 2018) y la bahía de Santa Marta (Rico, *et al.*, 2019). Por lo tanto, los impactos de los compuestos orgánicos de estaño son desconocidos. Además, el país no es signatario del convenio AFS (OMI, 2003), aunque actualmente la Autoridad Marítima Nacional controla el uso de pinturas antiincrustantes a base de TBT en los astilleros de acuerdo con el Reglamento Técnico Colombiano (NTC, 1992), y por medio de los supervisores del Estado Rector del Puerto, inspecciona a los buques de bandera extranjera que arriban a los puertos colombianos sobre la tenencia del certificado que acredite que la nave cumple con lo establecido en el mencionado convenio internacional (DIMAR, 2017). Además, en la costa de Santa Marta, el tráfico marítimo puede ser más intenso en algunas zonas que en otras, con diferencias entre el tipo de transporte, destacando los usos turísticos, pesqueros, comerciales e industriales (CIOH, 2012). Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo realizar una evaluación espacio-temporal de la incidencia del imposex utilizando diferentes especies de gasterópodos de la zona costera de Santa Marta, en Colombia.

2.2 Materiales y Métodos

2.2.1 Área de estudio

La franja costera del Caribe colombiano está caracterizada por presentar dos temporadas climáticas claramente definidas, una seca (diciembre-abril) y una lluviosa (mayo-agosto) con una precipitación promedio anual de 501 mm (IDEAM, s/f). Se establecieron 6 sitios de recolecta según la influencia y cercanía de actividades industriales marítimas, uno fue en la Isla de Tierra Bomba en el departamento de Bolívar ($10^{\circ} 22' 11.1''$ N - $75^{\circ} 34' 47.5''$ O); otros cuatro en el departamento Magdalena, específicamente en la Bahía de Santa Marta con dos estaciones de muestreo: Marina Internacional de Santa Marta (SM) y Punta de Betín (PdB); otros dos correspondiente al Parque Nacional Natural Tayrona: Bahía Concha (BC) y Nenguange (Neg); y por último un sitio en Cabo de la Vela, departamento La Guajira ($12^{\circ} 12' 47.6''$ N - $72^{\circ} 10' 42.3''$ O) (Figura 2-1).

Figura 2-1: Localización de las estaciones de muestreo en la franja costera continental central y norte del Caribe de Colombia.



TB: Tierra Bomba; SM: Marina Internacional de Santa Marta; PdB: Punta de Betín; BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange; CV: Cabo de la Vela.

2.2.2 Recolección y procesamiento de organismos

En la zona intermareal y hasta 2 m de profundidad se realizaron recolectas manuales de caracoles marinos sobre sustratos rocosos entre los años 2015 (abril, julio y octubre), 2016 (marzo, mayo, agosto y noviembre) y 2017 (febrero), para un total de ocho campañas durante este periodo. En cada muestreo se empleó un esfuerzo de entre dos y tres personas por un tiempo límite de 1 h.

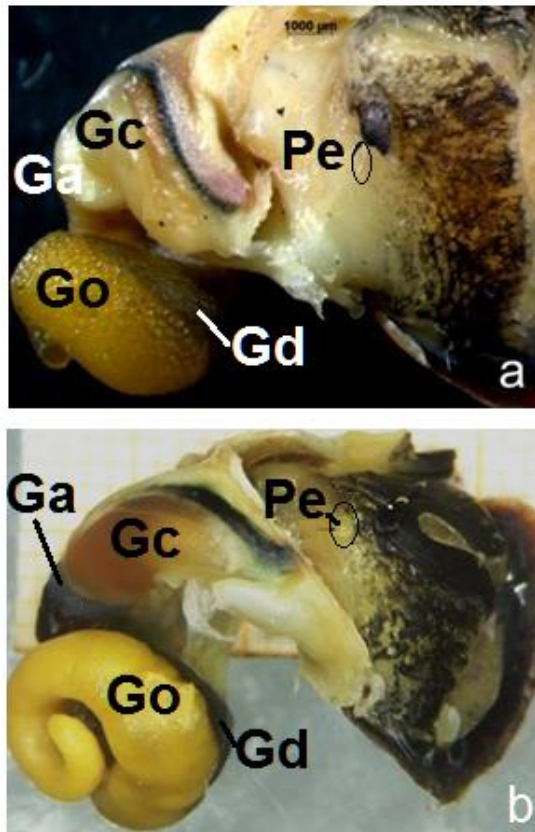
Los especímenes recolectados fueron depositados en frascos plásticos con tapa y narcotizados *in situ* con solución 4% de cloruro de magnesio ($MgCl_2$) en agua de mar durante aproximadamente 3 - 4 h (narcotización), hasta llegar al laboratorio de biología de la Universidad Nacional de Colombia, sede del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (INVEMAR), en donde las muestras se preservaron en alcohol etílico al 75% hasta ser analizadas. La identificación de las especies se realizó por observación

comparativa, teniendo como referencia las muestras depositadas en el Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC), sede en el INVEMAR. El nombre actualmente válido de cada especie identificada fue verificado según la clasificación del Registro Mundial de Especies Marinas (WoRMS, 2019a, 2019b, 2019c, 2019d, 2019e).

La determinación del sexo se realizó con base a la presencia o ausencia de: (1) una glándula del albumen (órgano femenino situado inmediatamente en la parte posterior de la glándula de la cápsula); (2) la glándula de la cápsula en hembras; y (3) la longitud del pene que es normalmente más largo en machos que en hembras (Gibbs *et al.*, 1987; Gibbs y Bryan, 1994), ver figura 2-2. Fueron seleccionados los organismos maduros dentro de cada especie, según el manejo entre datos de tallas y peso de especímenes realizado por Zabala (2012) y Cumplido (2016), y se excluyeron del análisis aquellos especímenes que no pudieron ser diferenciados sexualmente.

Se realizaron mediciones de longitud de la concha, desde los extremos del ápice hasta el canal sifonal, por medio de vernier digital (± 0.01 mm) marca Cachor, y del peso de la concha con balanza analítica (± 0.001 g) marca Ohaus modelo Pioneer. En el tejido animal se midió la longitud del pene (machos), el pseudopene y secuencia del vaso deferente (hembras), con una precisión de 1 mm, empleando papel milimetrado. Se determinó el índice de condición (IC) de cada individuo según Ureña Robles (2007), obteniendo la razón entre el peso del individuo en fresco sin concha y la longitud de la concha elevado al cubo (g/cm^3). El grado de prevalencia e incidencia del fenómeno imposex se realizó de acuerdo con Gibbs y Bryan (1994), y Fernández *et al.* (2005), mediante la aplicación de los índices: prevalencia de imposex (I / ver Ecuación 2.1), promedio de la longitud del pene en hembras (FPLI por sus siglas en inglés / ver Ecuación 2.2), longitud relativa del pene en hembras (RPLI por sus siglas en inglés / ver Ecuación 2.3), y secuencia del vaso deferente (VDSI por sus siglas en inglés / ver Ecuación 2.4) (Tabla 2-1).

Figura 2-2: Cuerpo blando de ejemplares hembras afectadas con imposex por detección visual de formación de pene en *Plicopurpura patula* (a) y *Vasula deltoidea* (b).



Pe: pene; Go: gónada; Gd: glándula digestiva; Ga: glándula del albumen; Gc: glándula de la cápsula.

$$I = \frac{\text{total de hembras afectadas con imposex}}{\text{total de hembras analizadas}} * 100 \quad (2.1)$$

$$FPLI = \frac{\text{sumatoria de longitudes de pene en hembras}}{\text{total de hembras analizadas}} \quad (2.2)$$

$$RPLI = \frac{\text{longitud promedio del pene en hembras}}{\text{longitud promedio del pene en machos}} * 100 \quad (2.3)$$

$$VDSI = \frac{\text{sumatoria de estados de imposex}}{\text{total de hembras analizadas}} \quad (2.4)$$

Tabla 2-1. Comparación entre la escala de Gibbs y la escala adaptada para VDSI.

Escala (Gibbs y Bryan, 1994)	Desarrollo del Imposex	Escala Modificada
0	Hembra sana	0
I	Inicio de la formación de pene/vaso deferente	I
II	Longitud del pene < 2 mm	II
III	Longitud del pene > 2 mm, RPLI < 0.5	III
IV	Conducto deferente formado, RPLI > 0.5	IV
V	Vulva bloqueada	V
VI	Huevos abortados en la glándula de la cápsula	VI

Fuente: (Fernández *et al.*, 2005)

2.2.3 Variables e índice de calidad de agua, y tráfico marítimo

Se emplearon datos de variables de calidad del agua dentro del área de estudio, específicamente de los sitios SM, BC y Neg (sólidos suspendidos totales [SST], ortofosfatos, nitritos, nitratos, amonio, hidrocarburos de petróleo dispersos y disueltos [HPDD], salinidad, pH, oxígeno disuelto, coliformes totales [CT] e índice de calidad de aguas marinas para preservación de flora y fauna [ICAM_{prf}]); dichos datos fueron proporcionados por la Red de Vigilancia para la Conservación y Protección de las Aguas Marinas y Costeras de Colombia (REDCAM), y se destaca que su determinación sigue las metodologías estandarizadas (APHA, AWWA, y WEF, 2012). Además, se determinó el tráfico marino con información de la cantidad diaria de embarcaciones, longitud de la eslora y tiempo de permanencia de atraque/anclaje proporcionada por la DIMAR (ver Ecuaciones 1.1 – 1.4).

2.2.4 Análisis de datos

Al momento de comparar promedios se realizaron pruebas paramétricas (prueba t de Welch y análisis de varianza [ANOVA] para dos y varias muestras, respectivamente), con previa evaluación de los supuestos de normalidad de Shapiro-Wilk (1965) y homogeneidad de varianzas según la prueba de Levene (1960). Al detectar diferencias significativas entre varias medias, se aplicó la prueba de múltiples comparaciones HSD de Tukey (por sus siglas en inglés: Honesty Statistical Difference). Cuando alguno de los supuestos no se cumplió se procedió a realizar el análisis no paramétrico para varias muestras independientes de Kruskal-Wallis, y el contraste de la suma de rangos de Wilcoxon con

corrección de continuidad, para detectar diferencias significativas entre dos medias. Esto con el fin de comparar dentro de cada especie entre las diferentes estaciones de muestreo y temporadas climáticas, para la longitud del pene en machos y hembras con imposex. Asimismo, se practicó un análisis de regresión entre los datos de longitud de la concha y el pene de machos y hembras con imposex por especie. Se aplicó el análisis de tablas de contingencia (prueba χ^2 de Pearson / Prueba-G de independencia con la corrección de Williams), para comparar la prevalencia de imposex entre las estaciones y temporadas climáticas estudiadas. Se empleó un análisis de correlación de Spearman, para extraer las variables con mayor coeficiente de correlación positiva significativa con respecto a la prevalencia del imposex (I%), y con estas variables se desarrolló un modelo de Árboles de Regresión Potenciados (BRT que por sus siglas en inglés), con el uso del paquete “gbm” en el programa “R” (Elith y Leathwick, 2017), para obtener las contribuciones o importancia de cada variable sobre el imposex. Para mejorar el nivel de interpretación al momento de evaluar la sensibilidad entre las especies más abundantes y frecuentes, en manifestar el imposex según el efecto aislado de la variable tráfico marítimo, se puso a prueba la hipótesis nula de no cambio de pendiente para identificar umbrales (prueba de Davies), y se realizaron regresiones de punto de ruptura (Davies, 1987).

Todo el manejo de datos se realizó con el programa “R”, mediante la interfase RWizard (Guisande *et al.*, 2013). Para todas las pruebas se asumió un valor de probabilidad inferior al 5% ($p < 0.05$), para rechazar la hipótesis nula de igualdad.

2.3 Resultados

2.3.1 Distribución de especies y estructura poblacional

Se recolectaron representantes de cinco especies en total, *Plicopurpura patula* y *Vasula deltoidea* fueron encontradas en todas las estaciones, exceptuando en Cabo de la Vela (CV) en donde solo se recolectó *P. patula*; mientras que *Stramonita haemastoma*, *Stramonita floridana* y *Gemorphos auritulus*, solo estuvieron presentes en la estación de la Marina internacional de Santa Marta (SM). Los ejemplares de las especies *P. patula* y *G. auritulus* fueron recolectados entre las zonas mesolitoral y supralitoral; mientras que *S. haemastoma* y *S. floridana* estuvieron limitadas a la zona infralitoral, al igual que *V.*

deltoidea, aunque los individuos de esta especie se encontraron siempre sumergidos en un rango de hasta 2 m de profundidad.

- ***Plicopurpura patula***

Se obtuvo un total de 403 especímenes de *Plicopurpura patula*, 81 recolectados en SM, 93 en Punta de Betín (PdB), 85 en Bahía Concha (BC), 92 correspondientes a Nenguange (Neg), 12 en CV y 40 en Tierra Bomba (TB). En general para la franja costera estudiada, se evidenció un rango de tallas entre 10.2 y 74.1 mm, con promedio y desviación estándar de 26.2 ± 8.8 mm, destacando que no se observaron diferencias significativas de tallas entre sexos (Prueba t de Welch, $t = -1.59$, $GL = 354$, $p = 0.114$). La población de caracoles recolectados en SM presentó los menores tamaños en promedio, mientras que en PdB y Neg los mayores (Tabla 2-2).

Tabla 2-2: Longitud de la concha y desviación estándar entre sexos para gasterópodos de la especie *Plicopurpura patula*, recolectados en diferentes estaciones costeras del Caribe colombiano.

Estaciones	H/M	Talla \pm DE (mm)		p*
		Hembras	Machos	
SM	48/33	20.0 ± 7.8^b	21.9 ± 5.2^c	0.172
PdB	65/28	32.0 ± 12.1^a	32.6 ± 8.1^a	0.798
BC	64/21	23.4 ± 3.1^b	23.4 ± 3.5^{bc}	0.981
Neg	56/36	28.5 ± 9.5^a	29.8 ± 4.8^{ab}	0.393
CV	8/4	27.0 ± 5.7^{ab}	25.2 ± 4.7^{bc}	0.604
TB	18/22	24.4 ± 6.5^{ab}	28.1 ± 8.4^{ab}	0.140
p / estaciones		< 0,010	< 0,010	

* probabilidad de Prueba t de Welch para dos muestras independientes, comparación entre sexos. SM: Marina Internacional de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange; CV: Cabo de la Vela; TB: Tierra Bomba; H: cantidad de hembras; M: cantidad de machos; DE: desviación estándar. Letras diferentes en el superíndice refleja la diferencia significativa ($p < 0.05$) de la talla entre estaciones para cada sexo según ANOVA de una vía y contraste múltiple de Tukey.

- ***Vasula deltoidea***

De un total de 214 especímenes de *Vasula deltoidea*, 36 fueron recolectados en SM, 30 en PdB, 66 en BC, 45 en Neg y 27 en TB. Registraron longitudes de concha con promedio y desviación estándar de 36.6 ± 5.6 mm, en un rango entre 15.0 y 51.7 mm. La comparación tallas entre sexos mostró que las hembras, con un promedio de 37.7 mm, fueron significativamente más grandes que los machos con un promedio de 35.5 mm (Prueba t de Welch, $t = 2.25$, $GL = 150$, $p = 0.026$) (Tabla 2-3). Específicamente, en los sitios SM, BC y Neg, se presentaron diferencias significativas de las tallas entre sexos. Las conchas de los especímenes recolectados en BC fueron las más grandes, mientras que las de TB fueron las de tallas menores.

Tabla 2-3: Longitud de la concha y desviación estándar entre sexos para gasterópodos de la especie *Vasula deltoidea*, recolectados en diferentes estaciones costeras del Caribe colombiano.

Estación	H/M	Talla \pm DE (mm)		p*
		Hembras	Machos	
SM	31/5	37.0 ± 6.1^{ab}	28.4 ± 5.7^c	0.036
PdB	16/14	35.0 ± 4.1^b	33.8 ± 3.3^b	0.413
BC	37/29	40.5 ± 4.8^a	37.8 ± 3.5^a	0.015
Neg	18/27	39.3 ± 2.8^{ab}	36.4 ± 2.7^{ab}	0.018
TB	17/10	26.6 ± 5.6^c	31.8 ± 2.8^b	0.069
p / estaciones		< 0,010	< 0,010	

* probabilidad de Prueba t de Welch en comparación entre sexos. SM: Marina Internacional de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange; TB: Tierra Bomba; H: cantidad de hembras; M: cantidad de machos; DE: desviación estándar. Letras diferentes en el superíndice refleja la diferencia significativa ($p < 0.05$) por contraste múltiple de Tukey.

- ***Stramonita haemastoma*, *Stramonita floridana* y *Gemorphos auritulus***

Se analizaron en total 72 especímenes de *Stramonita haemastoma*, 14 de *Stramonita floridana* y 76 de *G. auritulus*, todos recolectados en SM, durante el año 2015. Las mayores tallas se observaron en las especies del género *Stramonita*; particularmente, la comparación de la longitud de la concha entre sexos para ambas especies, no mostraron

diferencias significativas. Por el contrario, para *G. auritulus* los machos tuvieron una talla significativamente superior a las hembras (Tabla 2-4).

Tabla 2-4: Talla promedio y desviación estándar (DE) entre sexos para gasterópodos de las especies *S. haemastoma*, *S. floridana* y *G. auritulus*, recolectadas en Marina Internacional de Santa Marta, Caribe colombiano, durante el año 2015. M: macho, H: hembra.

Especie	H/M	Talla ± DE (mm)		p*
		Hembras	Machos	
<i>S. haemastoma</i>	33/39	41.21 ± 8.35	41.87 ± 8.64	0.746
<i>S. floridana</i>	7/7	41.91 ± 5.24	41.42 ± 5.63	0.879
<i>G. auritulus</i>	32/44	24.68 ± 2.24	28.00 ± 2.74	<0.001

* probabilidad de Prueba t de Welch para dos muestras independientes. N: Tamaño de muestra, H: cantidad de hembras, M: cantidad de machos; DE: desviación estándar.

2.3.2 Imposex entre estaciones de muestreo y temporadas climáticas

En todas las estaciones en las que hubo recolectas se detectó el fenómeno imposex, mediante la detección de pene en hembras; la biometría en relación al pene en ambos sexos, y la variación entre temporadas climáticas para el caso de las hembras, se presenta en la Tabla 2-5. Los resultados del tamaño del pene en machos de *P. patula* se registraron en un rango de 5.0 – 18.0 mm, con promedio y desviación estándar de 8.9 ± 3.1 mm. Cuando se presentó imposex en hembras por formación de pene, éste alcanzó un promedio y desviación estándar de 3.0 ± 3.6 mm, en un rango de 0.1 – 14.0 mm; aunque el valor promedio y dispersión general entre todas las hembras (con y sin imposex) fue de 1.3 ± 2.8 mm. En machos de *V. deltoidea* la longitud del pene se registró en el rango 3 – 15 mm, con promedio y desviación estándar de 7.3 ± 2.5 mm. En hembras con formación de pene, el promedio y desviación estándar fue de 3.9 ± 3.4 mm, en un rango de 0.1 – 9.0 mm; el valor promedio y dispersión general entre todas las hembras (con y sin imposex) fue de 0.5 ± 1.8 mm. En machos de *S. haemastoma* la longitud del pene se registró en el rango 2.0 – 16.0 mm, con promedio y desviación estándar de 9.4 ± 4.3 mm. En hembras con formación de pene, el promedio y desviación estándar fue de 0.7 ± 1.1 mm, en un

rango de 0.1 – 4.0 mm; el valor promedio y dispersión general entre todas las hembras (con y sin imposex) fue de 0.4 ± 0.8 mm. En machos de *S. floridana* la longitud del pene se registró en el rango 8.0 – 15.0 mm, con promedio y desviación estándar de 11.3 ± 3.0 mm. Solo fue detectada una hembra con formación de pene en estado inicial (0.1 mm), el valor promedio y dispersión general entre todas las hembras (con y sin imposex) fue de 0.1 ± 0.0 mm. En machos de *G. auritulus* la longitud del pene se registró en el rango 8.0 – 18.0 mm, con promedio y desviación estándar de 13.0 ± 2.6 mm. En hembras con formación de pene, el promedio y desviación estándar fue de 5.1 ± 1.6 mm, en un rango de 3.0 – 7.0 mm; el valor promedio y dispersión general entre todas las hembras (con y sin imposex) fue de 0.8 ± 1.9 mm.

Tabla 2-5: Longitud del pene promedio y desviación estándar de machos y hembras en las especies *Plicopurpura patula*, *Vasula deltoidea*, *Stramonita haemastoma*, *Stramonita floridana* y *Gemorphos auritulus*, recolectadas en la franja costera del Caribe colombiano, entre los años 2015 - 2017.

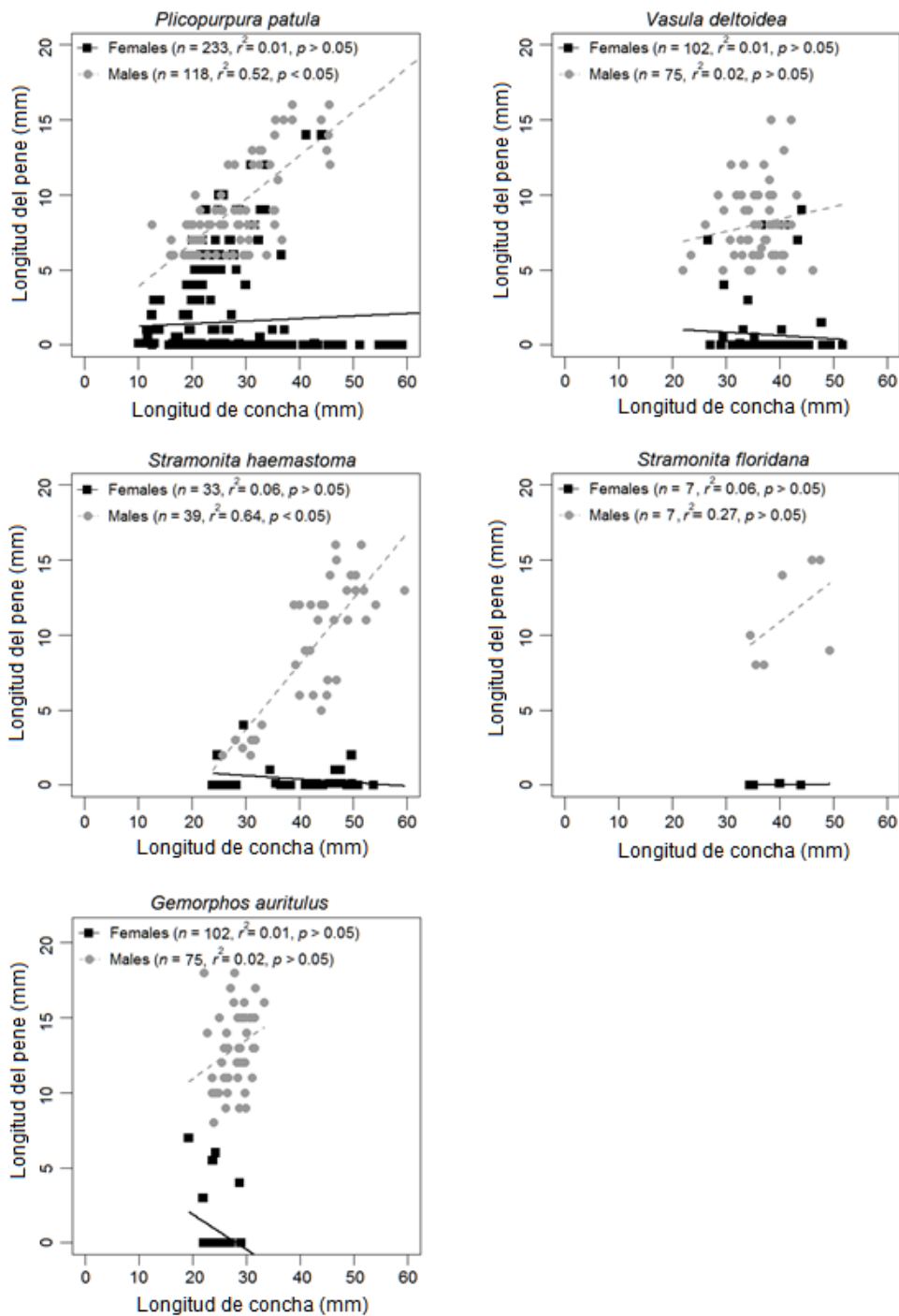
Especie/Estación	H/M	MPL \pm DE (mm)	FPL \pm DE (mm)
<i>P. patula</i>			
SM	48/33	6.8 ± 1.1	0.8 ± 0.9
PdB	65/28	11.3 ± 3.4	2.5 ± 4.1
BC	64/21	7.0 ± 1.2	1.3 ± 2.5
Neg	56/36	10.0 ± 2.6	1.0 ± 2.5
CV	8/4	12.0 ± 3.2	0.5 ± 1.3
TB	18/22	7.0 ± 2.4	0.1 ± 0.2
<i>V. deltoidea</i>			
SM	31/5	7.4 ± 1.7	3.9 ± 3.4
PdB	16/14	9.8 ± 2.5	0.3 ± 1.0
BC	37/29	7.5 ± 2.4	0.0 ± 0.0
Neg	18/27	6.4 ± 1.6	0.0 ± 0.0
TB	17/10	4.9 ± 1.3	0.0 ± 0.0
<i>S. haemastoma</i>			
SM	33/39	9.4 ± 4.3	0.4 ± 0.8
<i>S. floridana</i>			
SM	7/7	11.3 ± 3.0	0.1 ± 0.0
<i>G. auritulus</i>			
SM	32/44	13.0 ± 2.6	0.8 ± 1.9

SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange; CV: Cabo de la Vela; TB: Tierra Bomba; H: cantidad de hembras; M: cantidad de machos; MPL: Longitud del pene en machos; FPL: Longitud del pene en hembras; DE: desviación estándar.

Para ninguna de las especies en estudio se comprobó una asociación significativa entre el tamaño del pene en hembras y la talla ($p < 0,05$), incluso por temporadas climáticas (Figura 2-3; Tabla 2-5). En los especímenes machos de *P. patula*, se encontró una asociación lineal directa entre longitudes de la concha y pene, con una correlación positiva y significativa entre las variables ($p < 0.05$), y un coeficiente de determinación ajustado (r^2) de 0.52, que demuestra un porcentaje importante de la variabilidad del tamaño del pene en machos y que es explicada por la longitud de la concha. De igual manera, en los machos de *S. haemastoma* se presentó una asociación lineal significativa entre la talla y la longitud del pene, con $r^2 = 0.64$. Por otro lado, *V. deltoidea*, *S. floridana* y *G. auritulus* no presentaron asociación lineal significativa ($p > 0.05$), con registró un coeficiente de determinación muy bajo.

No se presentaron diferencias significativas en la longitud del pene en machos de *P. patula* entre temporadas climáticas (prueba de suma de rango de Wilcoxon con corrección de continuidad, $p = 0.320$), mientras que los machos de *V. deltoidea*, obtuvieron un valor promedio de 8.4 mm en la época de lluvias, que fue significativamente mayor al detectado en sequía con 6.4 mm (prueba de suma de rango de Wilcoxon con corrección de continuidad, $p < 0.001$). De manera general pudo evidenciarse que las hembras de las especies en estudio mostraron mayor susceptibilidad a manifestar el fenómeno imposex durante la temporada de sequía. Este comportamiento pudo ser demostrado con las especies *P. patula* y *V. deltoidea*, con individuos recolectados de manera representativa en ambas temporadas climáticas (seca y lluvia). En la zona de la BSM, en donde existe mayor influencia de actividades antropogénicas, el fenómeno se presentó en ambas especies de manera perenne (ambas temporadas). En las estaciones pertenecientes al PNNT (BC y Neg), las hembras de *P. patula* solo mostraron afectación durante la temporada seca, y en *V. deltoidea* no hubo afectación visible por formación de pene, solo se detectaron cuatro casos recolectados en BC durante la temporada lluviosa que se les observó la formación de vaso deferente (Tabla 2-5).

Figura 2-3: Longitud del pene asociada con la longitud de la concha, para ambos sexos en las especies *Plicopurpura patula*, *Vasula deltoidea*, *Stramonita haemastoma*, *Stramonita floridana* y *Gemorphos auritulus*, recolectadas en la franja costera del Caribe colombiano, entre los años 2015 - 2017.



Para especímenes de *P. patula* recolectados en la zona de la BSM se registraron las mayores prevalencias de imposex, siendo en SM mayor en significancia estadística que en PdB (prueba Chi-cuadrado de Pearson, $p < 0.001$); entre las estaciones del área

protegida PNNT, las prevalencias fueron similares. Para *V. deltoidea*, la prevalencia de imposex en la estación SM fue superior significativamente a las estaciones PdB y BC (prueba Chi-cuadrado de Pearson, $p < 0.001$), destacando que en Neg no se registraron hembras afectadas durante el estudio (Tabla 2-5). En BC, la afectación por imposex se expresó solo por la formación de vaso deferente.

Concordantemente con los resultados de la detección de formación de pene y vaso deferente en hembras, el indicador de imposex (I) se presentó con mayores prevalencias durante la temporada de sequía. En *P. patula*, se evidenció que aquellos especímenes recolectados en SM (sitio de alto impacto por actividades humanas), no mostraron diferencias significativas entre temporadas (Chi² de Pearson $p = 0.055$); sin embargo, la razón de verosimilitud (Prueba-G de independencia con la corrección de Williams) mostró diferencias significativas ($p = 0.032$), que destacan una mayor prevalencia de imposex durante la temporada seca. En PdB, tanto la prueba Chi-cuadrado de Pearson ($p = 0.013$) como la razón de verosimilitud ($p = 0.014$), mostraron diferencias significativas, que igualmente muestran mayor prevalencia de imposex en temporada seca. En BC, las pruebas estadísticas practicadas no mostraron diferencias significativas de "I" entre las temporadas climáticas; mientras que en Neg, fue detectado el fenómeno imposex solo durante la sequía. Un análisis generalizado (sin distinguir estaciones de muestreo), arrojó que durante la época de sequía la prevalencia de imposex fue significativamente mayor (Chi-cuadrado de Pearson ($p = 0.0148$) / Prueba-G de independencia con la corrección de Williams ($p = 0.015$)). La incidencia del fenómeno imposex medida a través del FPL, VDS y RPLI mostró a la estación PdB como el lugar de mayor intensidad en la afectación de imposex en *P. patula* (Tabla 2-5).

Por su parte, en *V. deltoidea* no se detectaron diferencias significativas en la prevalencia de imposex entre temporadas climáticas (Chi-cuadrado de Pearson $p > 0.05$ / razón de verosimilitud $p > 0.05$). La intensidad del fenómeno imposex medida a través de los índices empleados, evidenció que los especímenes analizados en la BSM mostraron mayor intensidad de Imposex que los del PNNT.

La afectación por imposex en las hembras de *S. haemastoma*, *S. floridana* y *G. auritulus*, se expresó con la formación de pseudopene y conducto deferente. La mayor prevalencia

e incidencia se registró para *S. haemastoma*. El efecto de la temporada climática se hizo visible en las especies *S. haemastoma* y *G. auritulus*, reforzando consistentemente la tendencia de presentar mayores afectaciones por imposex durante la sequía. Por su parte, *S. floridana* solo se analizó presencia en la época de lluvia (Tabla 2-6).

Tabla 2-6: Índices de prevalencia e incidencia de impositos en hembras de *P. patula*, *V. deltoidea*, *S. haemastoma*, *S. floridana* y *G. auritulus* recolectadas en la franja costera del Caribe colombiano, durante el periodo 2015 – 2017.

Especie	N	FPL ± DE (mm)			RPLI			VDSI ± DE (mm)			%		
		seca	lluvia	global	seca	lluvia	global	seca	lluvia	global	seca	lluvia	global
<i>Plycopurpura patula</i>													
SM	48	1.2 ± 1.1	0.4 ± 0.4	0.8 ± 0.9	13.1	7.5	12.7	2.0 ± 0.7	1.3 ± 0.9	1.6 ± 0.9	100	86	92
PdB	65	3.5 ± 4.5	0.4 ± 1.9	2.5 ± 4.1	32.6	3.7	23.0	2.2 ± 1.6	1.0 ± 1.3	1.8 ± 1.6	70	38	60
BC	64	1.5 ± 2.7	0.4 ± 0.9	1.3 ± 2.5	26.7	0.0	10.9	0.8 ± 1.3	0.4 ± 0.9	0.7 ± 1.2	36	10	28
Neg	56	1.9 ± 3.1	0.0 ± 0.0	1.0 ± 2.5	40.0	0.0	12.4	0.9 ± 1.3	0.0 ± 0.0	0.5 ± 1.0	34	0	18
CV	8	-	0.5 ± 1.3	0.5 ± 1.3	-	0.0	0.0	-	0.4 ± 1.1	0.4 ± 1.1	-	12	12
TB	18	-	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	-	0.1	0.1	-	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	-	6	6
<i>Vasula deltoidea</i>													
SM	31	-	3.9 ± 3.4	3.9 ± 3.4	52.4	8.6	25.6	2.3 ± 0.8	-	2.3 ± 0.8	100	100	100
PdB	16	-	0.3 ± 1.0	0.3 ± 1.0	-	2.6	2.6	-	1.9 ± 2.8	1.9 ± 2.8	-	38	38
BC	37	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0	0.0	0.0	0.0 ± 0.0	0.5 ± 1.1	0.5 ± 1.1	0	19	11
Neg	18	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0	0.0	0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0	0	0
TB	17	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	0.0	0.0	-	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	-	0	0
<i>Stramonita haemastoma</i>													
SM	33	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.9	0.4 ± 0.8	1.7	4.6	3.9	1.0 ± 0.6	0.7 ± 0.8	0.8 ± 0.8	67	48	52
<i>Stramonita floridana</i>													
SM	7	-	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	-	0.2	0.2	-	0.3 ± 0.4	0.3 ± 0.4	-	25	25
<i>Gemorphos auritulus</i>													
SM	32	4.3 ± 2.5	0.1 ± 0.8	0.8 ± 1.9	28.7	1.2	6.1	2.4 ± 1.2	0.1 ± 0.6	0.5 ± 1.1	80	4	16

SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín; BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange; N: Número de hembras; FPL: Longitud promedio del pene en hembras; RPLI: Índice relativo de longitud del pene en hembras; VDSI: Secuencia del vaso deferente en hembras; I: prevalencia de impositos.

2.3.3 Condición somática en relación a temporada climática e imposex

La sensibilidad de *P. patula* al imposex se vio influenciada por la talla, siendo las hembras de tamaño pequeño (< 25 mm) y mediano ($\geq 25 \leq 40$ mm) las que presentaron un mayor número de afectación que las de tamaño grande (> 40 mm) (Prueba de Chi-cuadrado de Pearson, $p = 0.016$; Prueba-G de independencia con la corrección de Williams, $p = 0.017$). Al agrupar las hembras de las estaciones con mayor afectación (SM y PdB), el peso de la concha, relativo a la talla presentó una reducción significativa en hembras con imposex, versus las sanas (prueba de suma de rango de Wilcoxon con corrección de continuidad, $p = 0.024$). Las conchas de las hembras recolectadas en las estaciones del PNNT, no presentaron diferencias significativas en los pesos cuando fueron comparadas las afectadas con sanas ($p > 0.05$).

El índice de condición (IC), para los especímenes de las especies *P. patula* y *V. deltoidea* mostró valores menores en los meses de lluvia (mayo, julio y octubre), y aumentó en los meses de sequía (febrero, marzo y abril) (Wilcoxon rank sum test with continuity correction, $p < 0.05$) (Figura 2-4). La comparación entre sexos, no presentó diferencias en el IC ($p > 0.05$) tanto para *P. patula* como para *V. deltoidea*. No obstante, entre estaciones de muestreo, los ejemplares de ambas especies procedentes de Neg, mostraron un IC menor y diferente entre sexos (*P. patula*, Kruskal-Wallis, $p = 0.024$ / *V. deltoidea*, Welch Two Sample t-test, $p = 0.020$). Aunque se presentó una tendencia hacia un menor IC en hembras afectadas con imposex, no se encontraron diferencias significativas ($p > 0.05$) con respecto a las sanas (Tabla 2-7).

Figura 2-4: Variación temporal del Índice de Condición *Plicopurpura patula* (ajuste con modelo regresión cuadrática) y *Vasula deltoidea* (ajuste con modelo de regresión lineal).

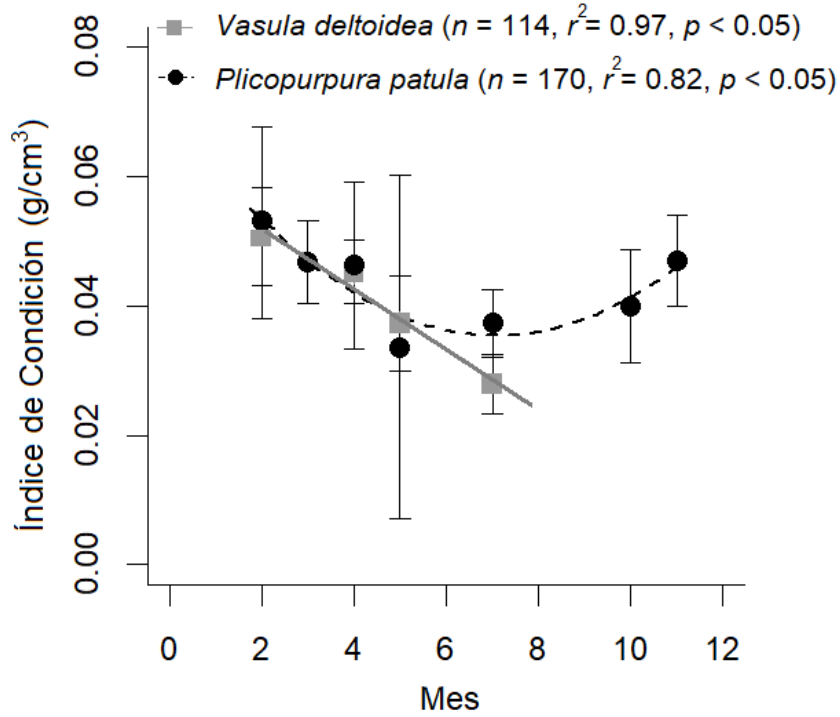


Tabla 2-7: Valores del IC para ejemplares de *P. patula* y *V. deltoidea* recolectados en la franja costera de Santa Marta, durante el periodo 2015-2017.

Estaciones	Índice de Condición (g/cm³)			Valor p*
	Hembras con imposex	Hembras sanas	Machos	
<i>P. patula</i>				
SM	0.039 ^a	0.048 ^a	0.046 ^a	0.074
PdB	0.050 ^a	0.053 ^a	0.054 ^a	0.779
BC	—	0.050 ^a	0.045 ^a	0.607
Neg	—	0.027 ^b	0.037 ^b	0.025
<i>V. deltoidea</i>				
SM	0.047 ^a	—	0.048 ^a	0.686
PdB	0.040 ^a	0.038 ^{ab}	0.036 ^{ab}	0.228
BC	0.040 ^a	0.041 ^a	0.038 ^a	0.261
Neg	—	0.033 ^b	0.028 ^b	0.039

*Valor de probabilidad de la prueba Wilcoxon para la comparación pareada entre sexos. Superíndice diferente dentro de cada sexo representa que hubo diferencias significativas entre estaciones de muestreo ($p < 0.05$); SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín; BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange.

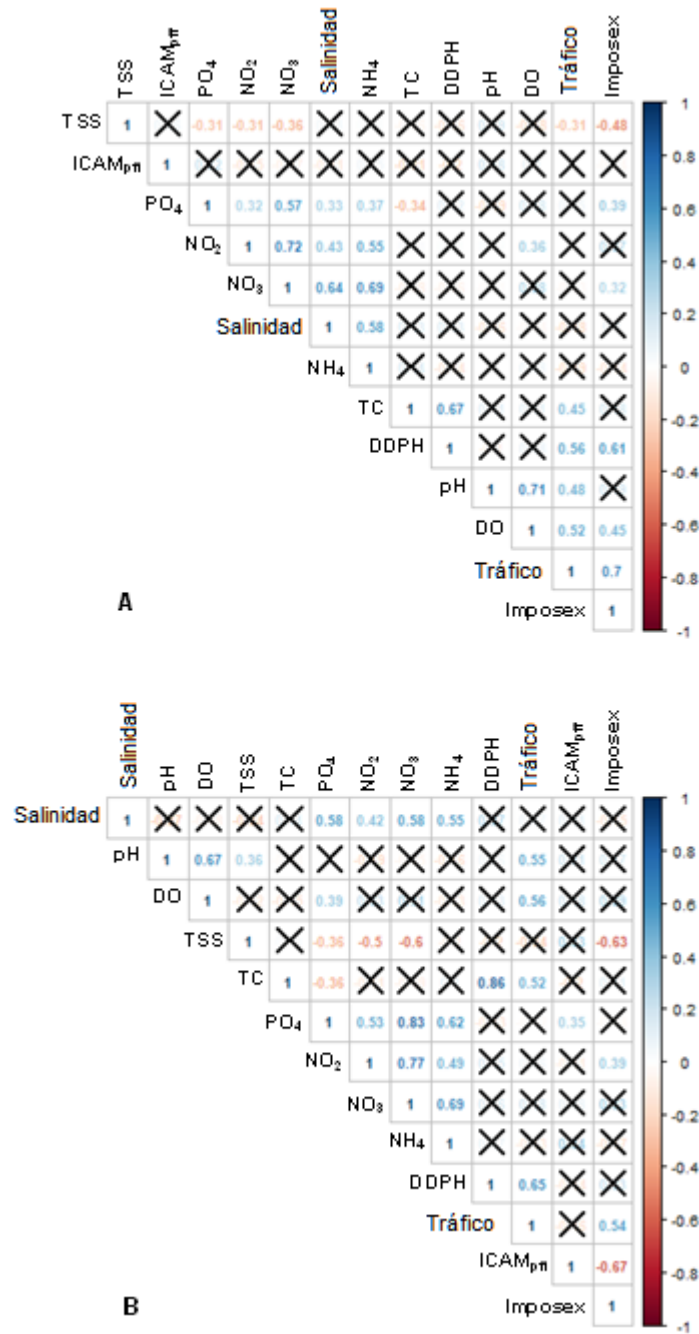
2.3.4 Relación entre Imposex de *P. patula* y *V. deltoidea* con la calidad del agua y el tráfico marítimo

Se logró realizar un análisis comparativo entre el indicador de imposex, variables de calidad de agua y tráfico marítimo con las especies *P. patula* y *V. deltoidea*, debido a que fueron las que consistentemente se recolectaron en los cuatro sitios de la franja litoral de Santa Marta. En ambas especies, el análisis de correlación mostró la variable tráfico marítimo como la de mayor ajuste con el imposex, obteniendo coeficientes de 0.70 y 0.54 para *P. patula* y *V. deltoidea*, respectivamente (Figura 2-5). Por su parte, el análisis de árbol de regresión (BRT) mostró las contribuciones o importancia de cada una de las variables de calidad de agua y tráfico marítimo en su relación con el imposex; en el que el tráfico marítimo evidenció la mayor contribución al modelo, para ambas especies (Tabla 2-8).

Tabla 2-8: Contribuciones relativas (%) de las variables predictoras para los modelos BRT, en relación con la prevalencia del imposex para las especies *P. patula* y *V. deltoidea*.

Variables predictoras	Contribuciones al modelo BRT (%)	
	<i>P. patula</i>	<i>V. deltoidea</i>
Salinidad	-	-
OD	4.37	-
pH	-	-
SST	-	-
Ortofosfatos	6.61	-
Nitritos	-	30.91
Nitratos	6.71	-
Amonio	-	-
HPDD	19.16	-
CT	-	-
ICAM	-	-
Tráfico	63.24	69.09
TOTAL	100	100

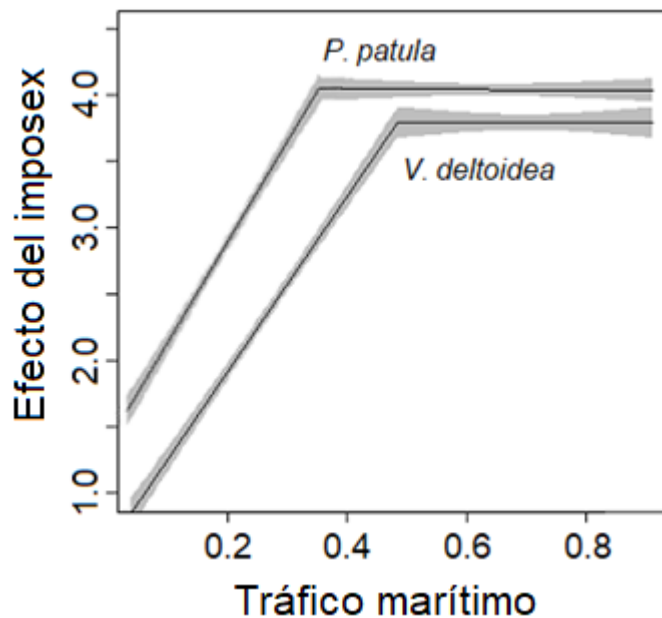
Figura 2-5: Correlograma entre la prevalencia de imposex, las variables de calidad del agua y el tráfico marítimo.



A: *P. patula*; B: *V. deltoidea*; Valores visibles (numéricos) de coeficiente de correlación de Spearman fueron los significativos ($p < 0.05$), mientras que la "X" indica aquellos que no fueron significativos. Valores en color rojo (relación inversa [-]), en color azul (relación directa [+]).

La especie *P. patula* mostró mayor sensibilidad que *V. deltoidea* a valores bajos de tráfico, lo cual se comprobó mediante la comparación de los valores del punto de ruptura del efecto en el imposex por el tráfico marítimo. En *P. patula* se observó que, a menores niveles de tráfico, se presentaba un efecto en la aparición de hembras con imposex; representado por el punto de ruptura de 0.362 (intervalos de confianza [IC] 95% = 0.342 - 0.381). El punto de ruptura o quiebre, representa el nivel de tráfico marítimo mínimo estimado para detectar una prevalencia de imposex del 100%; para *V. deltoidea*, este punto fue mayor al calculado para *P. patula*, con un valor de 0,484 (IC 95% = 0.459 - 0.509) (Figura 2-6).

Figura 2-6: Dependencia de la variable imposex en relación con el tráfico dentro del modelo BRT para *P. patula* y *V. deltoidea*.



El eje Y está en la escala logit centrado, para tener una media cero sobre la distribución de datos. La línea sólida indica el cambio medio en la desviación predictiva, y la frontera sombreada es el error estándar.

2.4 Discusión

2.4.1 Imposex en gasterópodos dentro de la franja costera de Santa Marta

El primer caso de afectación por imposex en el mar Caribe fue detectado hace 20 años en un estudio de biología reproductiva realizado en la especie *Melongena melongena* (Hernández y Stotz, 2004). Hasta el momento actual, en la región del Mar Caribe se había registrado imposex para 12 especies diferentes, pertenecientes a las familias Muricidae (con un 62%), Melongenidae, Fascioliidae, Strombidae y Volutidae (ver Batista-Andrade *et al.*, 2018; Hernández y Stotz, 2004; Miloslavich *et al.*, 2007; Paz-Villarraga, Castro, Miloslavich, y Fillmann, 2015; Peralta, Miloslavich, y Bigatti, 2014; Rico, 2017; Sierra-Márquez, Sierra-Márquez, De la Rosa, y Olivero-Verbel, 2018; Strand *et al.*, 2009; Titley-O'Neal, Munkittrick, y MacDonald, 2011). El presente estudio además de registrar la afectación en cuatro muricidos, se detectó para la especie *Gemophos auritulus* perteneciente a la familia Pisaniidae (Tabla 2-9).

Tabla 2-9: Especies de gasterópodos afectados por imposex que han sido reportados cronológicamente por la literatura científica para el Mar Caribe.

Especies	Años	Lugares de recolecta	Bibliografía
<i>Melongena melongena</i>	1998-1999	Bahía de Cispatá, Colombia	(Hernández y Stotz, 2004)
<i>Chicoreus brevifrons</i> <i>Chicoreus margaritensis</i> <i>Leucozonia nassa</i>	2004	Isla Margarita, Venezuela	(Miloslavich <i>et al.</i> , 2007)
<i>Purpura patula</i> <i>Thais deltoidea</i> <i>Thais rustica</i>	2007	Islas Vírgenes Norteamericanas	(Strand <i>et al.</i> , 2009)
<i>Strombus gigas</i>	2008-2009	Islas Vírgenes Británicas	(Titley-O'Neal <i>et al.</i> , 2011)
<i>Voluta musica</i>	2008-2009	Península de Araya, Venezuela	(Peralta <i>et al.</i> , 2011)
<i>Stramonita haemastoma</i>	2013	Cartagena de indias, Colombia	(Sierra-Márquez <i>et al.</i> , 2018)
<i>Plicopurpura patula</i>	2014	Venezuela	(Paz-Villarraga <i>et al.</i> , 2015)
<i>Purpura panama</i>	2016	Chiriquí Grande, Panamá	(Batista-Andrade <i>et al.</i> , 2018)
<i>Plicopurpura patula</i> <i>Thais deltoidea</i>	2016	Santa Marta, Colombia	(Rico, 2017)

<i>Plicopurpura patula</i>			
<i>Vasula deltoidea</i>			
<i>Stramonita haemastoma</i>	2015-2017	Santa Marta, Colombia	Este estudio
<i>Stramonita floridana</i>			
<i>Gemophos auritulus</i>			

La afectación por imposex en *Gemophos auritulus* constituye el segundo reporte para la especie en 40 años (Jenner, 1979), y primera vez en aguas del Mar Caribe. Dentro de la familia Pisaniidae, se incluye solamente otro reporte de imposex en *Gemophos viverratus* (López-dos-Santos *et al.*, 2014). En cambio, dentro de la superfamilia Buccinoidea se ha registrado en más de 33 especies, siendo la especie *S. haemastoma* la de mayor frecuencia en estudios de imposex para América Latina (Tittley-O'Neal *et al.*, 2011); mientras que, *S. floridana* solo ha presentado un reporte durante un estudio de inducción de imposex a nivel de laboratorio (Lima, Castro, y Rocha-Barreira, 2006), haciendo del presente reporte el primero de afectación por imposex para esta especie en el Mar Caribe.

2.4.2 Biometría e Imposex entre estaciones y temporadas climáticas

Castro y Fillmann (2012), plantearon que durante la estimación de los índices de imposex puede surgir un sesgo, producto de las diferencias entre las tallas de los organismos, razón por la cual se estandarizaron las dimensiones absolutas de la longitud del pene en hembras por la del valor relativo a la talla, debido a que hubo una diferencia significativa de las tallas entre estaciones de muestreo; y a que según lo publicado por Ramón y Amor (2002), la variación de la longitud del pene en machos incrementa con el proceso de maduración, relacionándose con el ciclo reproductivo. Esta variación en la longitud del pene en machos puede influir en las estimaciones de los índices relativos de longitud del pene en hembras. Los ejemplares de *P. patula* y *V. deltoidea* colectados en SM, fueron los de menor talla absoluta, que puede explicarse por el efecto del estrés ambiental al cual han estado perennemente sometidos; este comportamiento ante el estrés ha sido descrito anteriormente para gasterópodos prosobranchios (Crowe, Thompson, Bray, y Hawkins, 2000; McClanahan, 1992).

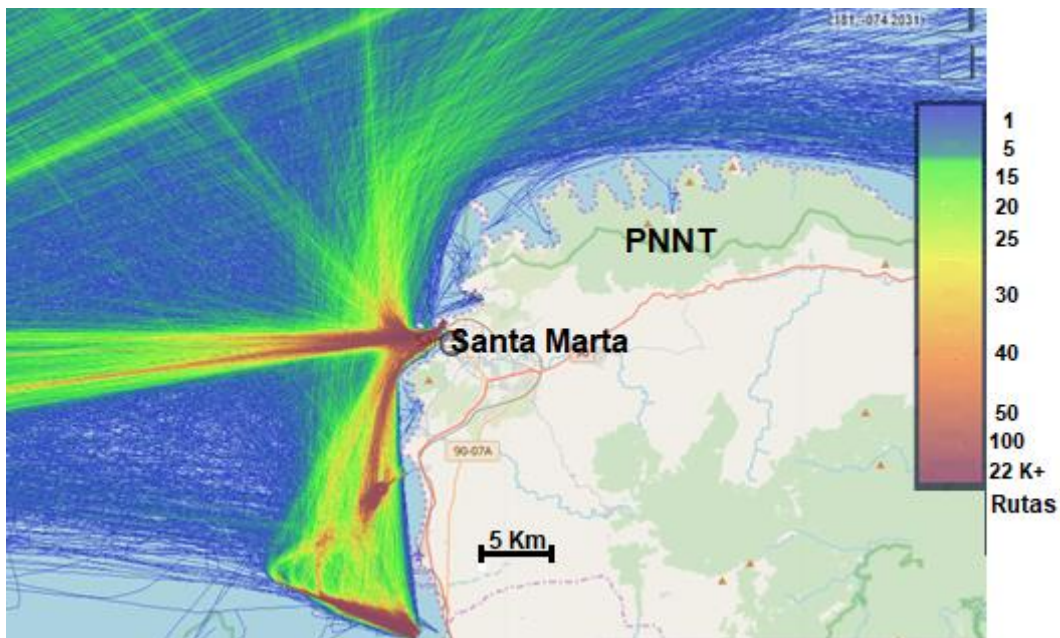
La manifestación del imposex se presentó con mayor prevalencia e intensidad en los especímenes de tamaño pequeño (< 25 mm) y mediano ($\geq 25 \leq 40$ mm), de las especies más abundantes (*P. patula* y *V. deltoidea*); este comportamiento fue descrito recientemente a nivel experimental por Rossato *et al.* (2018), para *Stramonita brasiliensis*. Mientras que, contrariamente otras especies como *S. haemastoma* (El Ayari *et al.*, 2015), *Leucozonia nassa* y *S. brasiliensis* (Otegui *et al.*, 2019), han mostrado en investigaciones de campo, un mayor nivel de afectación en las hembras de mayor tamaño, según la especie.

La temporada climática fue un factor importante que influyó en la prevalencia de imposex en hembras de *P. patula* y *V. deltoidea*. Durante la temporada de sequía fue cuando se hizo más visible la aparición de malformaciones de imposex, las cuales fueron más evidentes en las estaciones con mayor tráfico marítimo. El comportamiento de *P. patula* al presentar diferente sensibilidad estacional puede ser atribuible a que su estructura poblacional cambia entre estaciones climáticas dentro del Mar Caribe (Susan, 2004), evidenciando, que es durante la temporada seca cuando existe mayor actividad reproductiva y simultáneamente mayor sensibilidad a la contaminación por TBT. El mayor IC en *P. patula* y la tendencia de presentar longitud del pene aumentada en machos, evidencia que la época reproductiva se da fundamentalmente durante la sequía (Ramón y Amor, 2002; Vasconcelos, Moura, Barroso, y Gaspar, 2011); un estudio experimental realizado por Rossato *et al.* (2018), mostró como las hembras de *S. brasiliensis* fueron más susceptibles al TBT cuando estaban expuestas durante su período reproductivo. Es posible que una susceptibilidad similar, se presente en los individuos de *P. patula* presentes en la BSM, que es la zona con mayor influencia de tráfico marítimo.

La detección del fenómeno imposex en la totalidad de las estaciones monitoreadas, puede ser una manifestación de la asociación alta que tiene la aparición del imposex con el tráfico marítimo. La estación SM fue en donde se presentó la mayor prevalencia, a pesar de que se calculó un tráfico significativamente inferior que en el puerto (PdB), ambas pertenecientes a la BSM. Este podría ser producto de que, en las zonas turísticas de navegación y atraque, como SM, el impacto producido por el tráfico en el imposex es mayor al de los puertos mercantes comerciales (Borges, Fernández, Castro, y Fillmann, 2013; Castro y Fillmann, 2012; Laranjeiro, Sánchez-Marín, Oliveira, Galante-Oliveira, y Barroso, 2018; Paz-Villarraga *et al.*, 2015).

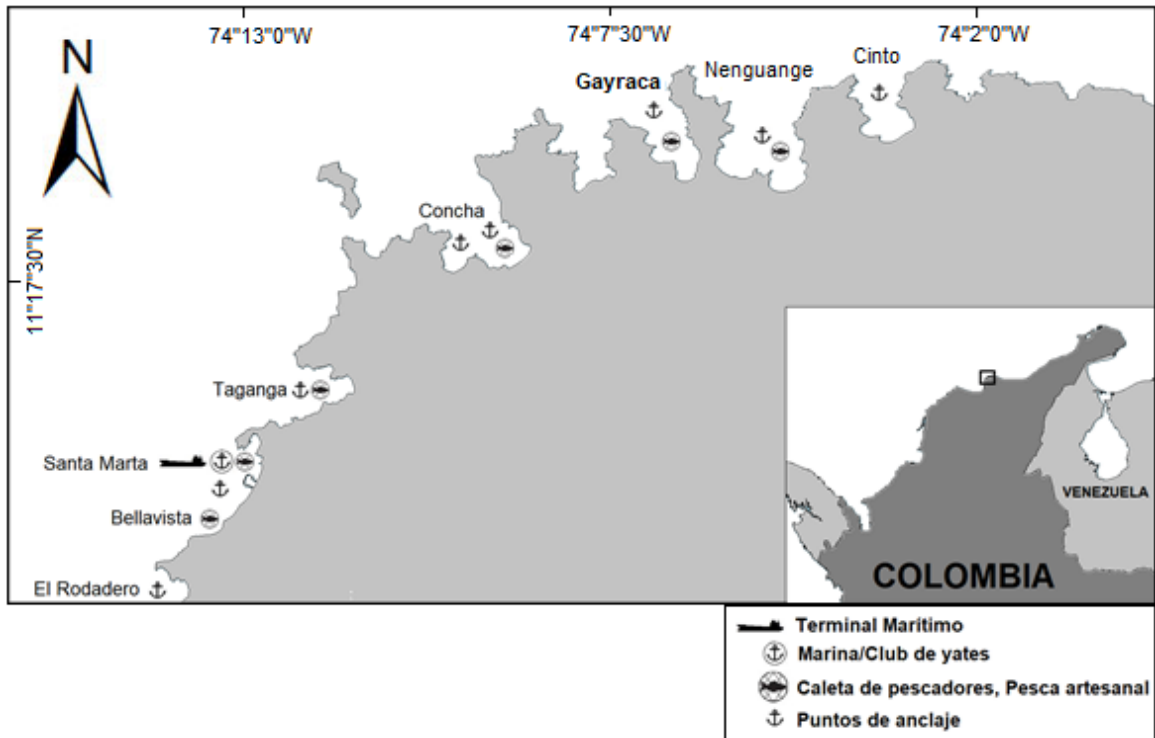
En las estaciones correspondientes con el PNNT (BC y Neg), se justifica la detección del imposex y la posibilidad de que continúe la afectación, producto de la cercanía a rutas de navegación de embarcaciones turísticas, pesqueras y mercantes (Figura 2-7); y que en bahías y ensenadas del PNNT existen puntos de referencia para el anclaje de embarcaciones turísticas en cartas de navegación oficial en aguas del Caribe colombiano (CIOH, 2012), ver figura 2-8 y tabla 2-10. Lo anterior, es sustentado por los hallazgos de Schøyen *et al.* (2019), quienes evaluaron concentraciones de butilos de estaño entre 1991 - 2017, y encontraron niveles significativamente más altos de TBT e imposex en áreas costeras cercanas a rutas marítimas.

Figura 2-7: Mapa de densidad de rutas de tráfico marítimo entre los años 2016 y 2017 para la franja costera de Santa Marta - PNNT.



La escala de coloración representa la densidad de rutas de embarcaciones turísticas, pesqueras y mercantes. Fuente: (Marine Traffic, 2019).

Figura 2-8: Bahías y ensenadas con sitios autorizados para diferentes actividades que implican el uso de embarcaciones en la franja costera de Santa Marta-PNNT.



Fuente: (CIOH, 2017)

Tabla 2-10: Sitios de anclaje concesionados para actividades de ecoturismo en la franja costera de Santa Marta-PNNT.

Sitio	Tipo	Ubicación	
		Latitud	Longitud
PNNT – Bahía Cinto	Sitio de anclaje	11° 19' 49.031" N	74° 03' 17.835" W
PNNT – Bahía Nenguange	Sitio de anclaje	11° 19' 10.076" N	74° 04' 57.831" W
PNNT – Bahía Gayraca	Sitio de anclaje	11° 19' 17.925" N	74° 06' 27.563" W
PNNT – Bahía Concha	Sitio de anclaje	11° 17' 56.747" N	74° 08' 58.171" W
	Sitio de anclaje	11° 17' 54.810" N	74° 10' 02.011" W
Bahía de Taganga	Sitio de anclaje	11° 15' 56.469" N	74° 11' 44.756" W
Bahía de Santa Marta	Marina	11° 14' 42.662" N	74° 13' 08.872" W
Ensenada El Rodadero	Sitio de anclaje	11° 12' 19.800" N	74° 13' 53.220" W

Fuente: (CIOH, 2017)

2.4.3 Sensibilidad de *P. patula* y *V. deltoidea* al Imposex y su relación con variables de calidad del agua y el tráfico marítimo

Las condiciones ambientales determinadas por las fluctuaciones de las variables de calidad del agua monitoreada no resolvieron el hecho de influir sobre la detección del fenómeno imposex en la especie *P. patula*, mientras que en *V. deltoidea* si se presentó una ligera capacidad de resolución, en especial de las variables de calidad del agua. En ambos casos, fue el tráfico marítimo la variable más importante al momento de resolver entre los grupos de hembras sanas y afectadas.

En nuestro trabajo se estimó que el fenómeno imposex se da a muy bajos niveles de tráfico marítimo (< 0.10), esto puede indicar que las especies afectadas son muy sensibles al efecto contaminante inherente al tráfico (ej. los butilos de estaño y particularmente el TBT). El tráfico presentó diferentes puntos de quiebre para que la prevalencia de imposex comience a ser detectada en todos los representantes de cada especie, el hecho de que *P. patula* haya obtenido un valor menor (0.362) al de *V. deltoidea* (0.484), indica que hay diferencias en cuanto a la sensibilidad. Aunque se ha reportado que las especies *P. patula* y *V. deltoidea* muestran una sensibilidad similar hacia el desarrollo del imposex, luego de la exposición al TBT. Se ha logrado detectar diferencias en cuanto al potencial de acumulación de TBT en tejidos, que colocan a *V. deltoidea* por encima de *P. patula*; y que la diferencia de intensidad del imposex medida por el VDSI, comienza a ser ligeramente superior en *V. deltoidea* a niveles por encima de los 40 ng Sn/g en tejido animal en peso seco (Strand *et al.*, 2009), por lo que se sugiere la existencia de una capacidad fenotípica diferencial en canalizar la contaminación por TBT y sus efectos en el tejido animal, dándole a *P. patula* una ventaja adaptativa por sobre *V. deltoidea*, en mostrar mayor sensibilidad y a la vez canalizar mejor los efectos de la contaminación que genera el imposex.

2.4.4 Imposex dentro de una zona protegida vulnerable

El Parque Nacional Natural Tayrona es un área protegida incluida en la categoría II, según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), es un punto caliente de la biodiversidad de los arrecifes de coral en la región del Caribe (Bayraktarov *et al.*,

2014). Además, ha sido declarado parte integrante de la red internacional de reservas de la biosfera de la UNESCO, debido a su importancia estratégica para la conservación de las características de los arrecifes de coral, que incluyen 110 especies de corales, 202 especies de esponjas, 700 especies de moluscos y más de 400 especies de peces de mar y de río (GANP, 2020). Se detectó una incidencia baja a moderada de imposex (10 a 34%) en dos especies de gasterópodos (*P. patula* y *V. deltoidea*) recolectadas dentro del PNNT (Tabla 2-6). Teniendo en cuenta que la incidencia de imposex denota una clara contaminación por TBT (o trifenilestaño), es muy probable que muchos otros organismos habitantes de la zona contaminada estén expuestos a este peligroso compuesto. Por lo tanto, nuestras conclusiones sobre la incidencia del imposex indican que los objetivos de conservación del PNNT pueden estar amenazados. De hecho, ya se demostró una situación similar en otra Reserva de la Biosfera como las islas Galápagos - Ecuador (Rodríguez-Grimón *et al.*, 2016). Los parques nacionales tienen por objeto proteger la biodiversidad natural, incluida la estructura ecológica y los procesos ambientales. Además, de promover la educación y el esparcimiento (Dudley, 2008). A este respecto, el PNNT es el segundo parque nacional más visitado de Colombia, y recibe varias embarcaciones turísticas pequeñas y medianas que pueden estar relacionadas con los insumos relacionados a los compuestos orgánicos de estaño. Debe considerarse que en las zonas portuarias dentro de la Bahía de Santa Marta (SM y PdB), las corrientes de agua superficial tienen valores que no superan los 0,2 m/s, siendo ligeramente superiores en los meses de lluvia y que las direcciones predominantes de las corrientes marinas han indicado un flujo de salida de la bahía (INVEMAR-GEO, 2015); por lo tanto, las descargas de TBT de la zona portuaria de Santa Marta podrían movilizarse a través de las corrientes costeras a sitios aledaños. La incidencia de Imposex dentro del PNNT, después de la prohibición mundial de los TBT, indica que los reglamentos específicos y los planes de conservación deben abordarse principalmente en las zonas costeras estratégicas que desempeñan un papel esencial en la conservación de la biodiversidad del Caribe.

2.5 Conclusión

La incidencia de Imposex estuvo relacionada con el tráfico marítimo dentro de la franja costera de Santa Marta y se detectaron niveles más altos durante la estación seca, especialmente en las especies *P. patula* y *V. deltoidea*, debido a la alta sensibilidad de los

especímenes durante la estación reproductiva que se produce principalmente durante la estación seca. La especie más sensible para desarrollar rasgos de imposex fue *P. patula*, mientras que *V. deltoidea* mostró que el imposex sólo en sitios que presentan alto tráfico marítimo, por lo que se recomienda utilizar *P. patula* en futuros estudios de vigilancia específicos de los contaminantes orgánicos del estaño en el medio ambiente marino-costero. Dentro del PNNT se detectó una incidencia baja a moderada de imposex (10 a 34%) en dos especies de neogastrópodos (*P. patula* y *V. deltoidea*), lo que denota una clara contaminación por TBT (o trifenilestaño) y que otros organismos del hábitat estén expuestos a este peligroso compuesto. Por lo tanto, los objetivos de conservación del PNNT pueden estar amenazados.

Capítulo 3: Variaciones morfométricas en la concha de *Plicopurpura patula* de la franja costera de Santa Marta: Influencia de la prevalencia de imposex, tráfico marítimo y la exposición al oleaje

Resumen

Hay evidencias de que en zonas costeras el tráfico marítimo influye en la prevalencia e incidencia de imposex en hembras de gasterópodos sensibles, y que dicha afectación conjuntamente con la exposición al oleaje puede tener fuerte influencia en causar cambios de forma en la concha. Por ello, se estudió la variación morfométrica de la concha para hembras de *Plicopurpura patula* dentro de la franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano, y su relación con el imposex, tráfico marítimo y exposición al oleaje. La recolecta de los especímenes se realizó en los sitios dentro de la Bahía de Santa Marta: marina internacional de Santa Marta (SM) y Punta de Betín (PdB), y dentro del Parque Nacional Natural Tayrona: Bahía Concha (BC) y Nenguange (Neg). Se tomaron medidas de la talla, peso y forma de la concha por medio de morfometría geométrica en 2D. Se compararon las formas de las conchas entre sitios y con muestras recolectadas desde el año 1964 (Museo), en el área de estudio. Las formas fueron asociadas con la prevalencia de imposex, el tráfico marítimo y la exposición al oleaje. Las tallas y pesos menores fueron de organismos recolectados en SM, en donde se presentó la mayor incidencia de imposex (92%), un nivel intermedio de tráfico marítimo (0,55), y el menor nivel de exposición al oleaje. Se observaron diferencias en la forma entre todos los sitios, aunque fue en Neg en donde se presentaron las formas más parecidas a las de museo, y en donde el tráfico marítimo fue bajo al igual que la prevalencia de imposex. La exposición al oleaje y el imposex mostraron similitud en cuanto al patrón de cambio de forma en la concha de *P. patula*.

Palabras clave: morfometría geométrica, gasterópodo marino, Muricidae, Caribe colombiano, plasticidad fenotípica.

Abstract

There is evidence that in coastal zones the maritime traffic influences the prevalence and incidence of imposex in females of sensitive gastropods, and this affectation joint with the wave exposure can have a strong influence to cause changes in the shell form. For that reason, the morphological variations in females of *Plicopurura patula* populations inside of coastal strip of Santa Marta, Colombian Caribbean, and their relationship with the imposex, maritime traffic and wave exposure were studied. The specimens were collected in sites of Santa Marta Bay: Santa Marta International Marina (SM) and Punta de Betín, and inside of Tayrona National and Natural Park: Bahía Concha (BC) and Nenguange (Neg). Measurements of size, weight and shell form with 2D geometric morphometrics were taken. The forms of the shells in the study sites and the shells of samples of the year 1964 (Museum) were compared, in the study area. The forms were associated with the imposex prevalence (I), maritime traffic and wave exposure (F). The lowest sizes and weights were observed in organism collected in SM, which was the site with highest imposex prevalence (92 %), medium level of maritime traffic (0.55), and lowest level of wave exposure (11.3 km); differences were observed in the shell form between all sites, although it was in Neg where the most similar forms with the museum samples were observed, and where the maritime traffic and imposex prevalence were low. The imposex and wave exposure showed similarity in the change pattern of shell form in *P. patula*.

Key words: Geometric morphometrics, marine gastropod, Muricidae, Colombian Caribbean, phenotypic plasticity.

3.1 Introducción

Desde mediados del siglo XX, los investigadores han dirigido su atención a los cambios morfológicos que experimentan los organismos según las condiciones ambientales en las que se encuentren; sobre todo en gasterópodos, el fenómeno ha sido ampliamente

reportado, influenciado por factores que van desde la disponibilidad de alimento, hasta las fuerzas generadas por las corrientes de agua (Boulding, Holst, y Pilon, 1999; Tkachenko, 2000), e incluso la depredación ejercida sobre los individuos (Trussell y Smith, 2000), y el nivel de contaminación ambiental (Primost, Bigatti, y Márquez, 2016). Estos factores pueden ser condicionantes de dichos cambios morfológicos, aun cuando la genética tiene su influencia, por lo que se puede llamar entonces un efecto genético-ecológico, que se centra en factores como la selección natural y variaciones fenotípicas (Trussell y Etter, 2001; Via, 2002).

No obstante, la plasticidad fenotípica es un fenómeno muy común al momento de discutir los cambios morfológicos en los gasterópodos, crustáceos y peces marinos, que son netamente explicados por las condiciones ambientales (Trussell y Smith, 2000), y la habilidad de respuesta de los organismos (Bateson *et al.* 2004). En este sentido, los estudios morfométricos han representado una herramienta muy útil para el estudio de este fenómeno, ya que proveen de datos empíricos más convincentes para observarlo, principalmente la morfometría geométrica (Zelditch, Swiderski, Sheets, y Fink, 2004; Abdelhady *et al.*, 2018).

Por otro lado, existen otras causas no naturales que pueden generar cambios morfológicos y fisiológicos en los gasterópodos, como la contaminación por tributilo de estaño (TBT por sus siglas en inglés) que fue un compuesto frecuentemente usado en las pinturas anti-incrustantes, e induce la aparición del fenómeno imposex (formación de caracteres sexuales masculinos en hembras (Lopes-dos-Santos *et al.*, 2014). Es decir, estas pinturas tienen su aplicación para el mantenimiento de la estructura de puertos y embarcaciones, lo que ha constituido un dilema ambiental (Goldberg, 1986), pues, aunque resultaron un beneficio tecnológico, es bien sabido su efecto contaminante en organismos marinos, principalmente moluscos (Blaber, 1970; Blackmore, 2000; Strand *et al.*, 2009). El fenómeno de imposex es común en neogasterópodos de la familia Muricidae (Garaventa *et al.*, 2008; Lima, Castro, y Rocha-Barreira, 2006; Vasconcelos, Moura, Barroso, y Gaspar, 2011); de hecho, esta familia representa el grupo más sensible de los más de 200 especies que se han reportado afectadas por imposex (Tittley-O'Neal *et al.*, 2011). Incluso, en conjunto con este fenómeno se presentan variaciones en las tallas y formas de la concha, como se ha evidenciado en *Nucella lapidus*, que mostró tallas mayores en hembras afectadas con imposex, por un efecto fisiológico producido por la carencia de gasto energético

reproductivo, que podría estar siendo aprovechado para crecimiento en tamaño (Son y Hughes, 2000). Contrariamente, otras especies como *Odontocymbiola magellanica* han evidenciado tamaños menores en organismos más afectados por imposex (Bigatti y Carranza, 2007), lo que podría ser explicado por posibles costos energéticos causados por el contaminante inductor (Trussel, 2000).

Por otra parte, en la franja costera del Caribe colombiano, existe un desarrollo portuario y pesquero importante, que implica la presencia de embarcaciones, las cuales a lo largo de los años podrían haber aportado cargas importantes de compuestos orgánicos de estaño; destacando que las zonas portuarias son las de mayor contaminación por TBT en el mundo (EPA, 2003). Aunque es importante destacar, que el uso de este tipo de compuestos fue prohibido (OMI, 2012), y en Colombia, la Dirección General Marítima y Portuaria (DIMAR) se ha encargado de estimular el uso de pinturas libres de TBT (DIMAR, 2017), existe el riesgo latente de contaminación crónica por este tipo de compuestos, ya que es dependiente del tráfico marítimo internacional asociados a los puertos pesqueros (Bigatti *et al.*, 2014), y zonas turísticas de marinas debido a que son lugares que representan fuentes continuas y poco reguladas de TBT (Castro y Fillmann, 2012; Borges *et al.*, 2013; Paz-Villarraga *et al.*, 2015; Laranjeiro *et al.*, 2018).

Por consiguiente, los gasterópodos murícidos asociados a la franja costera colombiana, presentan un riesgo de afectación por imposex, que a su vez pueden verse afectados en características morfológicas puntuales; y que pueden causar en estos organismos efectos negativos a nivel poblacional, en vista de hacerlos más susceptibles a enemigos naturales (depredadores) u otras condiciones ambientales, más allá de la propia afectación del imposex. De hecho, Rico (2017) reporta diferencias estadísticamente significativas en tamaño y forma de la concha de *Plicopurpura patula* entre localidades con presencia de imposex y sin éste, en la franja costera del Caribe colombiano; sin embargo, no se estudió directamente la posible influencia de la exposición al oleaje, la cual es un factor determinante tanto en la comunidad de organismos (Burrows, Harvey, y Robb, 2008), como en la estructura poblacional y morfología propia de gasterópodos (Statzner y Holm, 1989).

Particularmente, la especie *P. patula* se destaca por ser común en los litorales rocosos de la costa Caribe de Colombia (Díaz Merlano y Puyana Hegedus, 1994; Rico, 2017), lo que

la convierte en una especie potencial para ser estudiada en relación al fenómeno de imposex y otras características ambientales que puedan afectar a los organismos, destacando que esta especie puede verse influenciada por factores como la densidad poblacional, tipo de sustrato y exposición al oleaje (García-Ibáñez, Flores-Garza, Flores-Rodríguez, y Valdés-González, 2004; Susan, 2004). Además, hemos evidenciado la mayor sensibilidad y capacidad de adaptación al canalizar los efectos de la contaminación específica que origina el imposex, comparado con la especie *V. deltoidea*.

Por todo lo anterior, se planteó el objetivo de estudiar la variación morfológica poblacional en la concha del gasterópodo *Plicopurpura patula* dentro de la franja costera de Santa Marta mediante la técnica de morfometría geométrica (MG) en dos dimensiones, y su relación con el nivel de exposición al oleaje, el tráfico marítimo y la afectación por imposex.

3.2 Metodología

3.2.1 Área de estudio

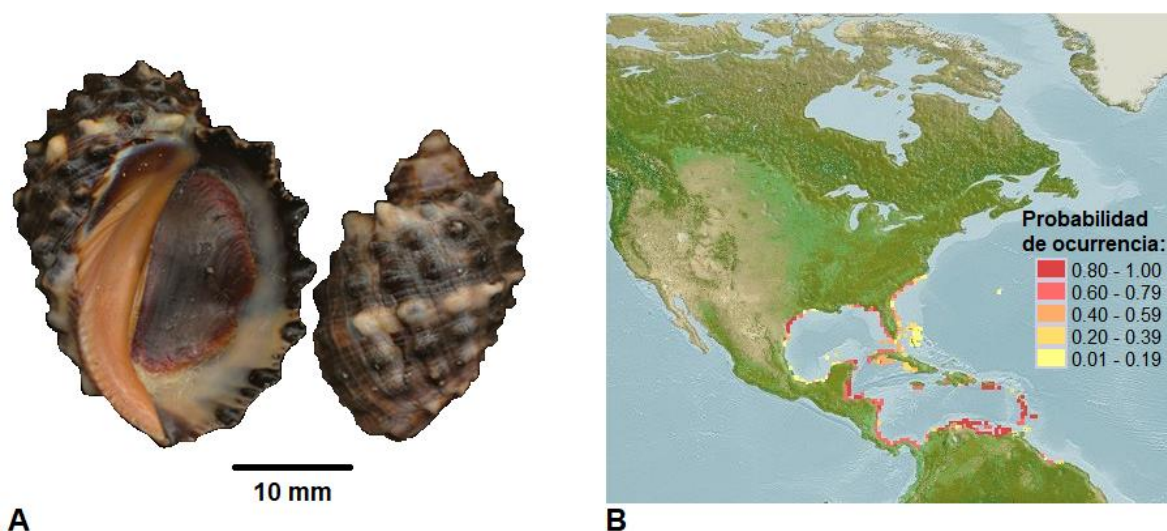
Se establecieron cuatro estaciones de muestreo para la recolecta de organismos según el nivel de tráfico marítimo, dos pertenecientes a la Bahía de Santa Marta (puerto de navíos): Marina Internacional de Santa Marta (SM: 11° 14' 32,72" N - 74° 13' 0,41" O) y Punta de Betín (PdB: 11° 15' 8,79" N - 74° 13' 17,45" O); y dos correspondientes al Parque Nacional Natural Tayrona (área protegida): Bahía Concha (BC: 11° 18' 28,66" N - 74° 9' 14,12" O) y Nenguange (Neg: 11° 19' 23,72" N - 74° 4' 40,05" O) (Figura 1-1).

3.2.2 Especie de estudio

El estudio de morfometría geométrica en 2D de las conchas solo fue aplicado a *Plicopurpura patula* (Linnaeus, 1758), debido a que fue la que se recolectó en la totalidad de los sitios y además sus conchas no tenían incrustaciones de algas coralináceas, que llegan a deformar las conchas dificultando la ubicación de los hitos anatómicos o landmarks. Esta especie se distingue dentro del género por su menor tamaño, delgadez de la concha y su abertura coloreada (Keen, 1971). En la Figura 3-1A se observan sus características morfológicas externas, entre las que destaca por presentar una concha

ornamentada, con cuatro vueltas de rápido incremento, con 6-7 cordones espirales que presentan nódulos, y columnela con coloración rosado-salmón o anaranjada (Díaz Merlano y Puyana Hegedus, 1994). Su distribución va desde la costa occidental del Atlántico en el sur de Florida, el Caribe y las Antillas hasta Trinidad (Figura 3-1B), siendo desovadoras parciales, que habitan preferentemente en la zona intermareal, además de ser depredadores activos (Díaz Merlano y Puyana Hegedus, 1994; García-Ibáñez *et al.*, 2004; Muñoz-Mancilla, Torres-García, y Velásquez-Guerrero, 2007).

Figura 3-1: Ejemplar de *Plicopurpura patula* (A), y mapa de distribución de la especie (B).



Los colores del rango de distribución (B) indican el grado de idoneidad del hábitat o la probabilidad de ocurrencia de la especie. Fuente: Kaschner *et al.* (2016).

3.2.3 Recolección y procesamiento de organismos

En la zona intermareal (por encima de la línea media de marea) hacia la zona supralitoral se realizaron recolectas manuales de caracoles de *P. patula*, sobre sustratos rocosos entre los años 2015 (abril, julio y octubre), 2016 (marzo, mayo, agosto y noviembre) y 2017 (febrero), para un total de ocho campañas. En cada estación de muestreo se empleó un esfuerzo de entre dos y tres personas por un tiempo límite de 1 h.

Los especímenes recolectados fueron depositados en frascos plásticos con tapa y narcotizados *in situ* con solución 4% de cloruro de magnesio ($MgCl_2$) durante aproximadamente 3-4 h, hasta llegar al laboratorio de biología de la Universidad Nacional de Colombia, sede del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (INVEMAR), en donde las muestras se preservaron en alcohol etílico al 75% hasta ser analizadas. La identificación de la especie se realizó por observación comparativa, teniendo como referencia las muestras pertenecientes al Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC), dentro del INVEMAR. El nombre actualmente válido fue verificado según la clasificación del Registro Mundial de Especies Marinas (WoRMS, 2019b).

Se realizaron mediciones biométricas de longitud de la concha (L_c), desde los extremos del ápice hasta el canal sifonal, por medio de vernier digital ($\pm 0,01$ mm) marca Cachor, y del peso de la concha y sus incrustaciones (*fouling*) con una balanza analítica ($\pm 0,001$ g) marca Ohaus modelo Pioneer.

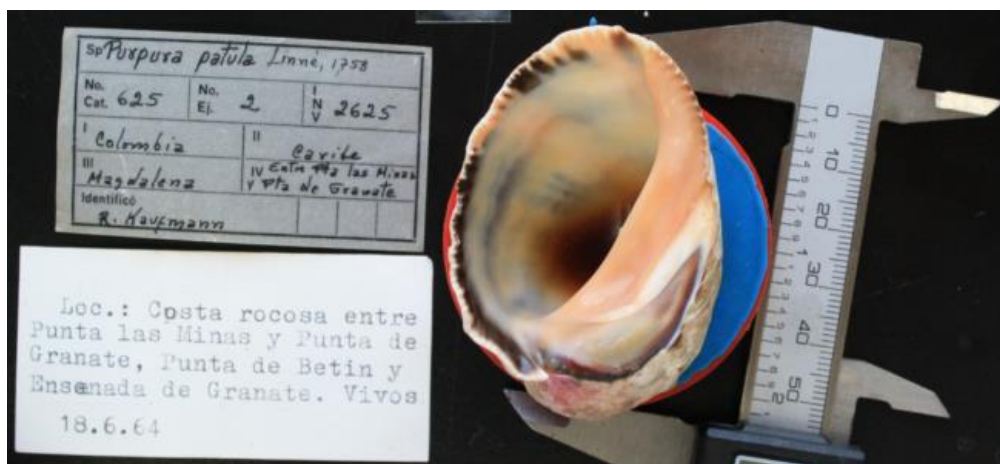
La determinación del sexo se realizó con base a la presencia o ausencia de: (1) una glándula del albumen (órgano femenino situado inmediatamente en la parte posterior de la glándula de la cápsula); (2) la glándula de la cápsula en hembras; y (3) la longitud del pene que es normalmente más largo en machos que en hembras (Gibbs y Bryan, 1994; Gibbs, Bryan, Pascoe, y Burt, 1987). En el tejido animal se midió la longitud del pene (machos), el pseudopene y secuencia del vaso deferente (hembras), con una precisión de 1 mm, empleando papel milimetrado. El grado de prevalencia e incidencia del fenómeno imposex se realizó de acuerdo con Gibbs y Bryan (1994), y Fernández *et al.* (2005), mediante la aplicación de los índices: prevalencia de imposex (I / ver Ecuación (2.1)), promedio de la longitud del pene en hembras (FPLI por sus siglas en inglés / ver Ecuación 2.2), longitud relativa del pene en hembras (RPLI por sus siglas en inglés / ver Ecuación (2.3)), y secuencia del vaso deferente (VDSI por sus siglas en inglés / ver Ecuación (2.4)).

3.2.4 Morfometría geométrica en 2D

Los ejemplares de *P. patula* fueron analizados mediante imágenes digitales obtenidas con una cámara profesional marca CANON XS Digital-SLR. Fueron seleccionadas 68 imágenes de hembras maduras recolectadas en la campaña de febrero del 2017 en los

cuatro sitios: Santa Marta (SM = 16), Punta de Betín (PdB = 16), Bahía Concha (BC= 18) y Neguange (Neg = 18); además de analizar un total de 62 imágenes de conchas de *P. patula* contenidas en el Museo de Historia Natural Marina de Colombia (MHNMC), con fecha de recolecta del 18/06/1964, dentro de la misma zona de estudio (entre punta Las Minas, punta de Granate y punta de Betín), ver figura 3-2.

Figura 3-2: Ficha de concha de *Plicopurpura patula* dentro de la colección del Museo de Historia Natural Marina de Colombia - Sede INVEMAR.



No. Catálogo: 625; Inventario 2625; Recolectado en la localidad: Costa rocosa entre Punta las Minas, Punta de Granate, Ensenada de granate y Punta de Betín; Fecha: 18-06-1964.

El plano definido para dibujar el contorno mediante hitos o puntos de referencia (landmarks) en los caracoles fue el de la abertura del labio, el cual se hizo coincidir de forma paralela al plano de captura de la imagen, para evitar los efectos del balanceo y el cabeceo en la muestra (Zelditch *et al.*, 2004; Primost *et al.*, 2016).

La delimitación de la forma de los caracoles se inició mediante la utilización de una serie de programas computarizados denominados TPS (Thin Plate Spline por sus siglas en inglés) desarrollados por Rohlf (2004). Primero, se utilizó el módulo *TpsUtil* que transforma un conjunto de archivos de imagen (.jpg) a un solo archivo con extensión “.tps”, que fue procesado con otro módulo denominado *TpsDig2* en el cual se escalaron las imágenes y se obtuvieron las coordenadas (2D, x ; y) de cada landmark. Para estudiar contornos de la concha entre landmarks, se utilizaron puntos de referencia denominados semilandmarks

que luego logran su homología de modo matemático en un proceso iterativo (“deslizamiento”) mediante un algoritmo que minimiza la energía de curvatura de la función TPS. Para la especie estudiada se logró capturar la forma de la concha mediante una configuración de 11 landmarks y 26 semilandmarks (Figura 3-3). En la Tabla 3-1 se pueden visualizar las definiciones de cada punto de referencia landmark.

Una vez que se obtuvo la configuración de landmarks y semilandmarks, se prosiguió con el armado del clasificador de “Estaciones” de procedencia. Se utilizó el módulo *TpsRelw* de la misma serie, para superponer las coordenadas de landmarks mediante el Análisis Generalizado de Procrustes (AGP), con el objetivo de eliminar los efectos de rotación, traslación y escala (Rohlf y Slice, 1990; Slice, 1996). Este procedimiento traslada y rota las configuraciones de los landmarks a un origen común y los escala a una unidad de tamaño conocida.

Cabe destacar que antes de realizar dicho análisis, los semilandmarks fueron deslizados a lo largo del contorno, entre landmarks, para minimizar la magnitud del cambio en forma entre cada concha y el promedio del Procrustes para todos los individuos. Así, las coordenadas alineadas de Procrustes se utilizaron como nuevas variables de forma en los subsecuentes análisis. Se calculó para cada individuo un estimador insesgado del tamaño denominado “centroid size” (CS) definido como la raíz cuadrada de la suma de las distancias al cuadrado de cada punto o landmark al centroide. El CS fue utilizado como covariable, para el estudio de la alometría de la muestra. La configuración de datos landmarks al igual que el CS calculado, se ingresaron en el programa computacional MorphoJ (Klingenberg, 2011), versión 1.6d.

Figura 3-3: Configuración de landmarks y semilandmarks utilizada para estudiar la forma del caracol *Plicopurpura patula*. Landmarks en puntos negros y semilandmarks en puntos blancos.

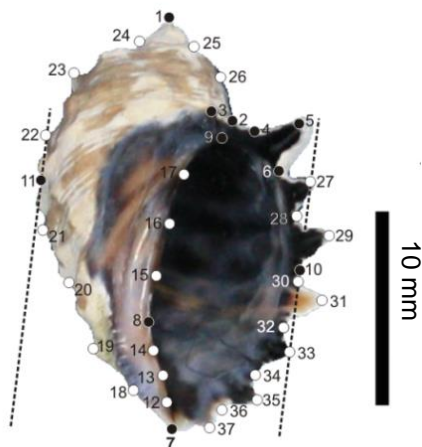


Tabla 3-1: Configuración de *landmarks* y *semilandmarks* utilizados para capturar la forma de la concha de *Plicopurpura patula*.

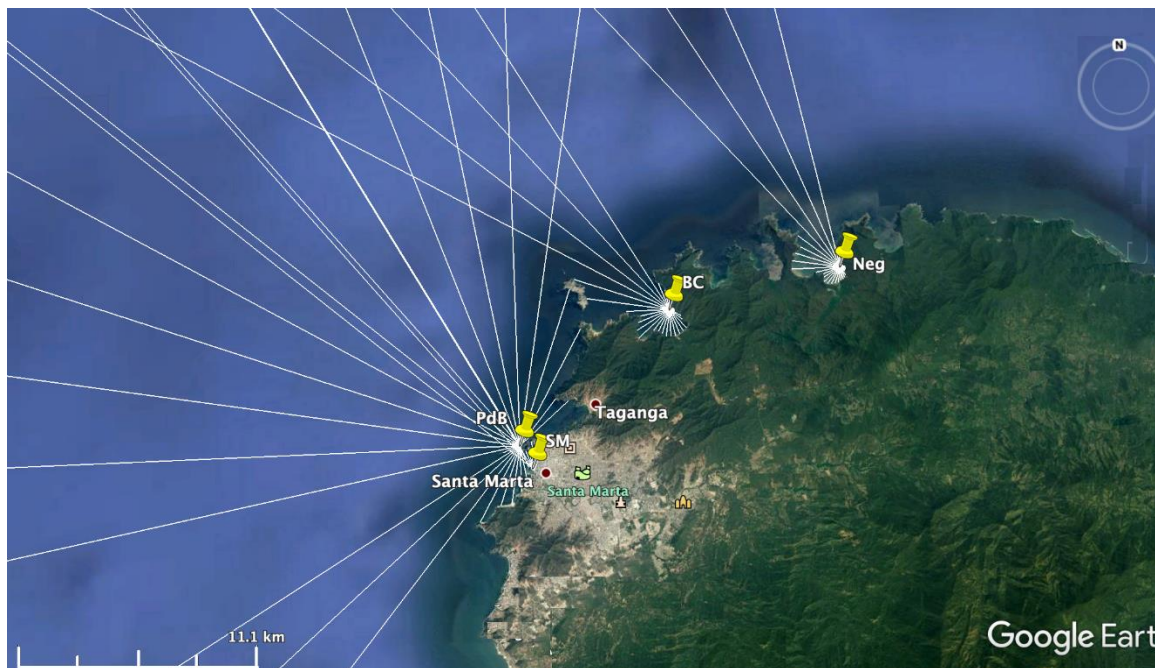
Nº	Descripción del landmark
1	Ápice
2	Unión de la última vuelta con el labio exterior (labro)
3	Inicio del labio exterior sobre la última vuelta
4	Cambio de curvatura en el inicio de la primera protuberancia sobre el labio
5	Punta de la primera protuberancia sobre el labio
6	Cambio de curvatura en el final de la primera protuberancia sobre el labio
7	Fin de la columela hacia el extremo anterior
8	Máxima curvatura sobre el lado culumelar (labio interior)
9	Inicio de la abertura sobre el lado del ápice
10	Punto tangente sobre el labio del vector que se forma entre el landmark 3 y 7
11	Punto tangente sobre el lado columelar del vector que se forma entre el landmark 3 y 7
12 - 14	Semilandmarks del contorno del labio interior entre el landmark 7 y 8
15 - 17	Semilandmarks del contorno del labio interior entre el landmark 8 y 9
18 - 21	Semilandmarks del contorno del lado columelar entre el landmark 7 y 11
22 - 24	Semilandmarks del contorno de la espira entre el landmark 11 y 1
25 - 26	Semilandmarks del contorno de la espira entre el landmark 1 y 2
27 - 29	Semilandmarks del contorno del labro entre el landmark 6 y 10
30 - 37	Semilandmarks del contorno del labro entre el landmark 10 y 7

3.2.5 Exposición al oleaje

Se aplicó el método de cálculo descrito por Burrows *et al.* (2008), para la estimación de la incidencia del oleaje basado en el nivel de exposición mediante la búsqueda de la superficie terrestre más cercana en sectores angulares alrededor de un punto de interés, empleando el programa Google Earth para el mapeo. Se fijó el valor de 200 Km como la distancia máxima "Punto de Transición" (PT) a la que se puede realizar una búsqueda de superficie terrestre cercana, según indicaron en su metodología Harborne *et al.* (2006). Se calculó para cada estación de muestreo el índice de obtención de ola (F) para todas las celdas de la cuadrícula consideradas como costeras dentro de cada estación de muestreo. El valor promedio de F puede considerarse como el nivel de exposición a las olas de cada estación (Burrows *et al.*, 2008). Cada celda fue identificada como costera cuando cualquiera de sus ocho celdas inmediatamente adyacentes era marina. La base del método fue la determinación del alcance de la ola en un sitio, definido como el promedio de las distancias a las superficies terrestres más cercanas, en cada uno de los 32 posibles sectores angulares (11.25°) iguales (Figura 3-4). Para mejor interpretación del índice F y evidenciar el nivel de exposición de cada lugar, se emplearon datos climáticos de dirección y velocidad del viento, que pertenecen al sistema de datos abiertos de la Dirección General Marítima (DIMAR) de Colombia, procedentes de la Estación Meteorológica de Santa Marta, a una distancia entre 12.4 y 27.5 km del área de estudio. Se contó con cuatro mediciones diarias de la dirección y velocidad del viento registrados durante una hora, para un total de 1.688 datos; entre el 01 de enero de 2016 y el 27 de febrero de 2017.

Figura 3-4: Búsqueda a intervalos de 200 Km de escalas de las superficies terrestres más cercanas en los sectores costeros alrededor de cada estación de muestreo ubicada en la franja costera de Santa Marta. Los valores de recuperación de ola en sectores de

11.25° se muestran como líneas blancas que irradian desde el sitio focal de muestreo. SM: Marina Internacional de Santa Marta, PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha, Neg: Nenguange.



Para confirmar la influencia de la exposición al oleaje, se estudiaron las características físicas del grano de sedimento en muestras recolectadas en la región intermareal de las cuatro estaciones de muestreo, por medio de una draga de 0.1 m² y con pala de jardinería, hasta una profundidad de 5 cm desde la superficie del sustrato. Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de la Universidad Nacional de Colombia (UNAL) sede en el Instituto de Investigaciones Marinas (INVEMAR), en donde fueron secadas inicialmente en bandejas plásticas en un sitio sombreado y al aire libre por 48 - 72 h, para posteriormente colocarlas en una estufa a 60 °C por 24 h. La totalidad de las muestras “en seco” (entre 650 y 1000 g por estación) fueron procesadas empleando tamices bajo la norma internacional de “American Society for Testing and Materials” (ASTM) con 2.0, 1.0, 0.5, 0.25, 0.125 y 0.0625 mm de luz de malla, en un equipo tamizador de torre. En la Tabla 3-2, se puede observar los tamaños de partícula según su clasificación, destacando que se procedió a realizar la granulometría mediante tamizado en seco, como es lo recomendado para las fracciones de arena con tamaño de partícula mayores de 50 µm (Folk, 1974), para su clasificación a nivel de textura (Wentworth, 1922).

Con los datos de peso procedentes de las fracciones colectadas, se realizó la estimación del coeficiente de uniformidad (CU), definido originalmente por Terzaghi y Peck (1978), y el cual manifiesta valores que cuando incrementan indican menor uniformidad. Se expresa como la relación entre D_{60} y D_{10} ($CU = D_{60}/D_{10}$), siendo:

- D_{60} : el diámetro o tamaño por debajo del cual queda el 60% del sedimento, en peso.
- D_{10} : el diámetro o tamaño por debajo del cual queda el 10% del sedimento, en peso.

Tabla 3-2: Intervalos de tamaño de partícula para la caracterización granulométrica de sedimentos. Fuente: Que se le modificó de Pettijohn *et al.*, (1973).

Clase	Diámetro (mm)
	2.00
	1.68
Arena muy gruesa	1.41
	1.19
	1.00
	0.84
Arena gruesa	0.71
	0.59
	0.50
	0.45
Arena media	0.35
	0.30
	0.25
	0.210
Arena fina	0.177
	0.149
	0.125
	0.105
Arena muy fina	0.088
	0.074
	0.062
	0.053

3.2.6 Tráfico marítimo

El tráfico marítimo se estimó empleando los datos de las embarcaciones que circundaron cada una de las estaciones de muestreo, con información de cantidad diaria, longitud de la eslora y tiempo de permanencia de atraque/anclaje proporcionada por la DIMAR. La variable de longitud de eslora se usó como única información estimadora de la superficie de contacto entre la nave y el agua, debido a que existió una alta heterogeneidad en los tipos de embarcaciones (buques tanqueros, cruceros de pasajeros, yates a motor, veleros, lanchas, etc.) consideradas dentro del área de estudio. Se calculó el índice mensual para cada estación de muestreo, mediante una relación directa entre cada variable de tráfico marítimo, cuyos datos se estandarizaron para tomar valores entre 0 y 1, tal como lo muestra el tratamiento de datos propuesto por Guisande *et al.* (2013), y empleando las Ecuaciones (1.1) – (1.4).

3.2.7 Análisis de datos

Para poner a prueba la diferencia en tamaños se realizaron análisis no paramétricos de la varianza, específicamente Kruskal Wallis y prueba de rangos de Wilcoxon, por no cumplirse con los supuestos de homogeneidad de varianzas en los datos. Por otra parte, se aplicó un análisis de regresión lineal para observar la relación entre la exposición al oleaje y el índice de uniformidad de la granulometría. Para confirmar la exposición del oleaje, se realizó un análisis de regresión simple, entre este factor y el CU de los sedimentos.

La eliminación de la variación de forma según el tamaño, posición y orientación de los datos de las coordenadas de los puntos de referencia fue mediante procedimiento llamado superposición de Procrustes. La eliminación del efecto de la alometría se realizó usando para los Análisis de Componentes Principales (ACP) y Discriminante entre estaciones a los residuales obtenidos de la regresión entre el CS y la forma.

Para observar la variabilidad de los factores estudiados con respecto a las estaciones de muestreo, se realizó un ACP, además de un análisis de correlación de Spearman para observar la relación de las variables biométricas (Lc y CS) con respecto a variables

ambientales. En cuanto a la forma de las conchas, se calcularon las distancias de Mahalanobis entre grupos, y mediante pruebas permutacionales (1000 iteraciones) se puso a prueba la igualdad entre éstas. Para determinar las diferencias en forma entre estaciones, se realizó un análisis de variables canónicas (CVA por sus siglas en inglés), que busca los componentes de forma de la concha que maximizan la separación entre los grupos asignados a priori.

Para examinar la asociación entre la variación en forma con respecto a la exposición al oleaje, prevalencia de imposex y tráfico marítimo como variables independientes, se realizaron regresiones multivariadas, con prueba de 10.000 permutaciones aleatorias. Todos los análisis fueron realizados con el programa R, mediante la interfase RWizard (Guisande *et al.*, 2013), asumiendo un límite de probabilidad inferior al 5% ($p < 0,05$), para rechazar la hipótesis nula asociada a cada prueba.

3.3 Resultados

3.3.1 Exposición a las olas

La estación PdB fue la más expuesta a la acción de los vientos por tener un $F = 135.2$ Km, para que el recorrido del viento predominante del Norte pueda generar oleaje. La estación más protegida resultó ser SM con promedio de obtención de olas de 11.3 Km (Tabla 3-3). La interpretación de los resultados de F se tiene que hacer en conjunto con la observación de los vientos predominantes, por lo que la rosa de vientos mostró patrones de variación en el flujo de viento con tendencias muy marcadas, en los que la velocidad promedio del viento en la zona fue de 7.2 m/s (13.9 nudos), con predominio de frecuencia en los vientos del N, superiores a los procedentes del NE, N-NE y N-NO. Los vientos fueron menos frecuentes y más débiles desde las direcciones sur al este, y casi ausentes los vientos del oeste (Figura 3-5).

Por otra parte, la granulometría del área en general fue arenosa; específicamente en PdB, BC y SM en donde el contenido de grava que excedió la fracción menor o igual a 2 mm (arena muy gruesa). La distribución de frecuencias de los granos según su tamaño hace notar que para Neg y BC dominaron notablemente las porciones de arena media (0.25-

0.49 mm) y arena muy gruesa (1-1.9 mm) respectivamente. Punta de Betín resultó ser la estación con menor uniformidad y mayor gradación en el tamaño de las partículas (Figura 3-6). La asociación entre el nivel de exposición a las olas (F) y el coeficiente de uniformidad fue altamente significativo ($p < 0.001$, $R^2 = 0.8319$), lo que indica que lugares más expuestos al oleaje, mostraron una menor uniformidad en los tamaños de partículas del sedimento (mayor valor de CU).

Figura 3-5: Rosa de vientos con valores de velocidad y dirección por frecuencia en la estación meteorológica de Santa Marta.

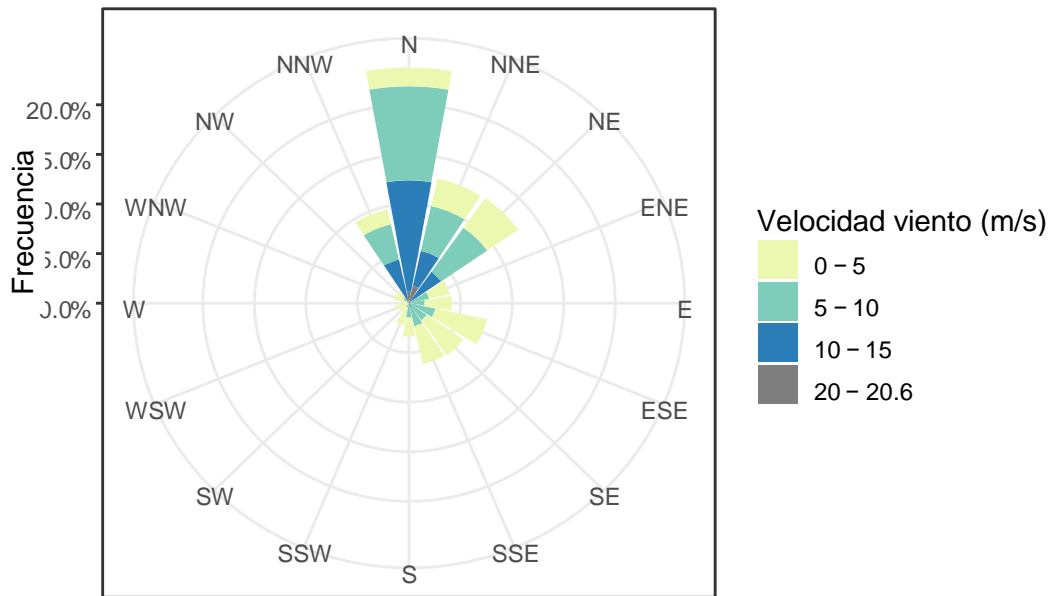
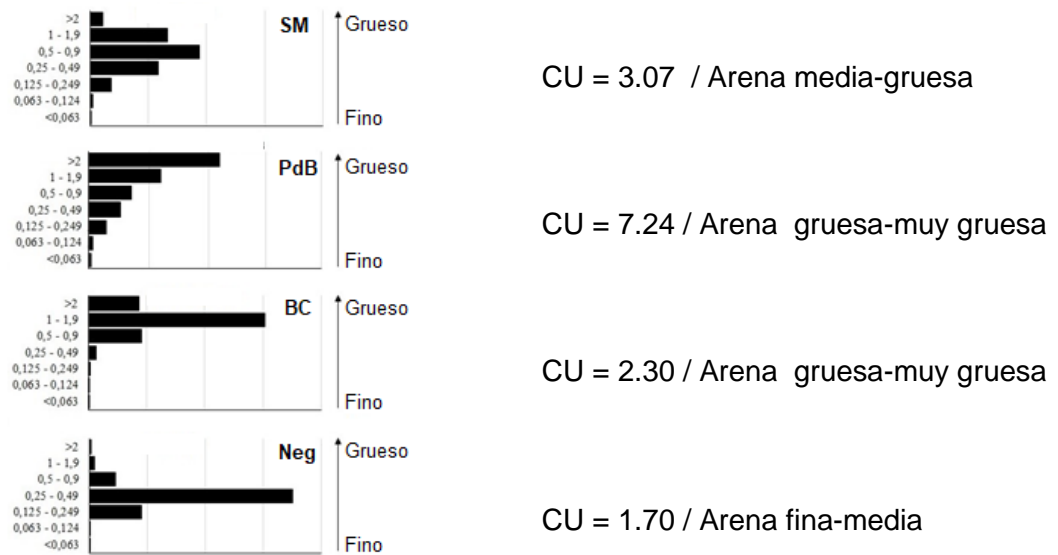


Tabla 3-3: Resultados del índice de exposición al oleaje “F” en estaciones dentro de la franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano.

Estación	Sector	F (km)	
		i	\bar{x}
SM	Norte	45.0	11.3
	Este	0.1	
	Sur	0.0	
	Oeste	0.0	
PdB	Norte	135.1	71.3
	Este	0.0	
	Sur	6.0	
	Oeste	144.1	
BC	Norte	44.8	23.1
	Este	0.0	
	Sur	1.2	
	Oeste	46.4	
Neg	Norte	89.1	22.9
	Este	0.0	
	Sur	0.7	
	Oeste	1.7	

i: corresponde al valor obtenido por cada dirección; SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín; BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange

Figura 3-6: Histogramas de distribución de tamaños de sedimento colectado en la zona intermareal de franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano, durante el año 2016.

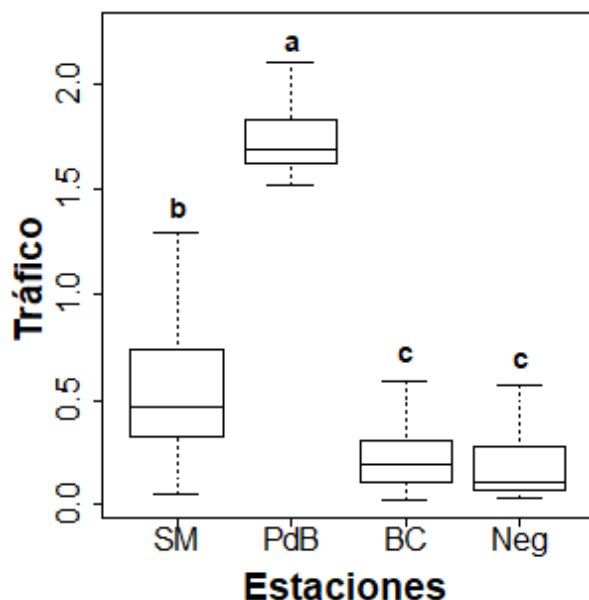


Se indica el coeficiente de uniformidad (CU) y la textura del sedimento por estación de muestreo; SM: Marina Internacional de Santa Marta, PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha, Neg: Nenguange.

3.3.2 Tráfico marítimo

Se estimó que en la BSM se presentó un tráfico superior al observado en las estaciones del PNNT; evidenciando en PdB un promedio mensual de 1.72, que fue tres veces superior al cuantificado en SM (0.55) presentando diferencias significativas ($W= 0$; $p < 0.001$), y siete veces mayor al de las estaciones BC ($W= 1472$; $p < 0.001$) y Neg ($W= 1886$; $p < 0.001$) con valores de 0.25 y 0.18 respectivamente, igualmente con diferencias significativas. De hecho, las estaciones de la BSM difieren entre sí, además de ser significativamente diferentes (prueba de Wilcoxon $P < 0.001$) a las del PNNT (Figura 3-7).

Figura 3-7: Tráfico naviero para las estaciones en la franja costera de Santa Marta, entre los años 2014 y 2017.



SM: Marina Internacional de Santa Marta, PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha, Neg: Nenguange. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

3.3.3 Biometría

Del material recolectado en febrero del 2017, se analizaron 95 ejemplares hembras de *Plicorpurpura patula*, 20 de la Marina Internacional de Santa Marta (SM), 24 en Punta de

Betín (PdB), 33 en Bahía Concha (BC) y 15 correspondientes a Nenguange (Neg). El rango de tallas en las poblaciones de *P. patula*, sin discriminar estaciones, estuvo entre 10.2 y 66.2 mm, destacando que no se observó dimorfismo sexual en relación a la talla. No obstante, la población de caracoles recolectados en SM fue la de menor talla promedio, mientras que en PdB fue significativamente superior ($H= 47.62$, $df = 3$, $p < 0.001$) al resto de las estaciones (Tabla 3-3). Por otro lado, el estimador de tamaño CS fue consistente al mostrar similitud de resultados con la medición de la talla, además que las conchas de PdB fueron las que presentaron mayor invasión por organismos incrustantes con 5.36 % peso/peso (Tabla 3-4).

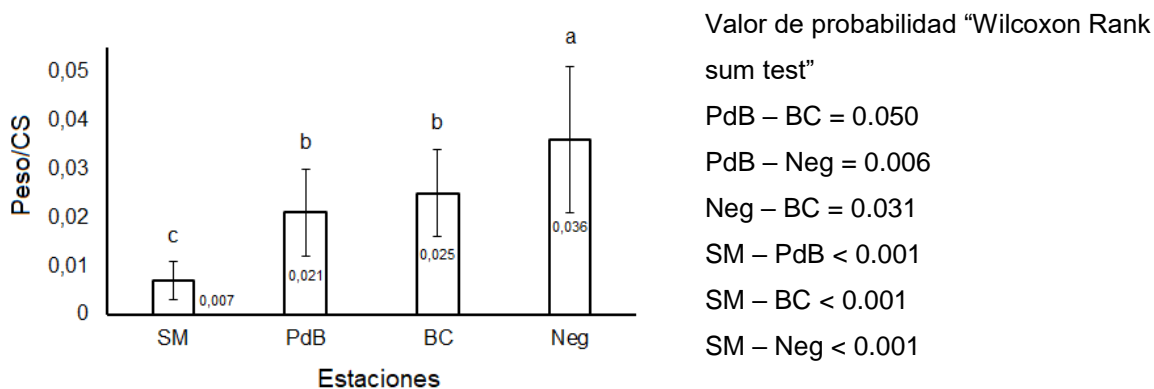
Tabla 3-4: Resultados de la longitud, tamaño de concha y el porcentaje de incrustaciones en hembras de *P. patula* recolectadas en las diferentes estaciones de la franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano.

Estaciones	N	Talla \pm DE (mm)	Incrustaciones (%)	N	CS \pm DE
SM	20	13.94 \pm 4.45 ^c	2.98 \pm 3.06 ^b	16	31.42 \pm 11.11 ^c
PdB	24	32.49 \pm 13.12 ^a	5.36 \pm 3.45 ^a	16	83.18 \pm 37.26 ^a
BC	33	23.07 \pm 2.72 ^b	1.48 \pm 1.19 ^b	18	51.87 \pm 6.45 ^b
Neg	15	25.86 \pm 4.58 ^b	2.62 \pm 0.99 ^b	18	55.22 \pm 14.34 ^b

Kruskal-Wallis $H = 47,62$; $df = 3$, $p < 0.001$. Letras diferentes en el superíndice reflejan la diferencia significativa ($p < 0,01$); DE: es la desviación estándar. SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange; N: número de muestra; CS: talla del centroide.

Para estudiar el peso específico de la concha en cada estación, se calculó la razón entre el peso individual y el CS, siendo las conchas de Neg las más pesadas con significancia estadística (Wilcoxon Rank sum test $p < 0.05$), mientras que las menos pesadas se encontraron en SM (Figura 3-8).

Figura 3-8: Relación peso individual y CS en los ejemplares de *P. patula* de las diferentes estaciones de la Franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano.



SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

3.3.4 Imposex

En todas las estaciones monitoreadas se detectaron hembras afectadas con imposex. No obstante, en las estaciones de alto tráfico marítimo (PdB y SM) se mostraron los valores más altos de prevalencia (I) e incidencia (VDSI) de imposex, con respecto a la zona del PNNT (BC y Neg) con valores más bajos, destacando diferencias significativas en ambas variables (I: prueba Chi-cuadrado de Pearson, $p < 0.001$; VDSI: Wilcoxon sum Rank test, $p < 0.001$) entre las estaciones de muestreo (Tabla 3-5).

Tabla 3-5: Índices de prevalencia e incidencia de imposex en hembras de *P. patula* en la franja costera de Santa Marta, durante el periodo 2015 – 2017.

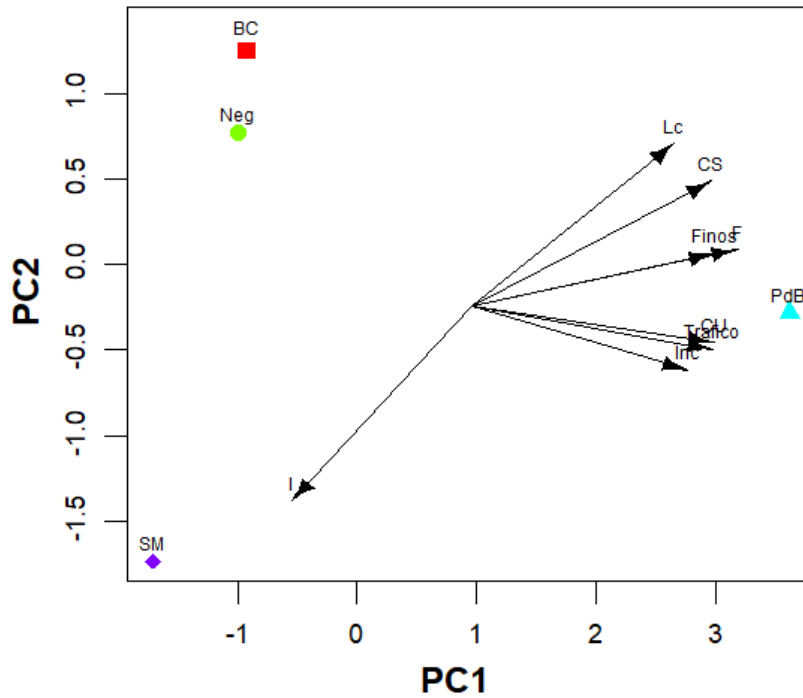
Zona	Estación	N	Imposex (%)	VDSI
BSM	SM	48	92 ^a	1.65 ^a
	PdB	65	60 ^b	1.82 ^a
PNNT	BC	64	28 ^c	0.73 ^b
	Neg	56	18 ^c	0.48 ^b

BSM: Bahía de Santa Marta; PNNT: Parque Nacional Natural Tayrona; SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange; N: Número de hembras; VDSI: Secuencia del vaso deferente en hembras. Promedios con superíndice de letras diferentes fueron diferentes significativamente, $p < 0.05$.

El ACP practicado para las variables biométricas y ambientales en relación a las estaciones de muestreo, mostró que el 97 % de la varianza total fue explicada en los primeros dos componentes principales (PC), en el que el componente PC1 es ampliamente explicado por la variación en el tráfico marítimo, exposición al oleaje (F) y el CU, mientras el componente 2 está representado por los valores de imposex (I) y la talla (Lc), lo que permitió hacer una separación de las estaciones de muestreo, que discrimina mucho más las estaciones asociadas a la BSM (SM y PdB) con respecto a las del PNNT (BC y Neg), las cuales son más semejantes entre sí en relación a sus condiciones. Por lo anterior, se observa una estación SM asociada a bajos valores de Lc y elevados valores de Imposex (I), además de una estación PdB con elevados niveles de tráfico marino y de CU (Figura 3-9).

Por otra parte, se evidenció una correlación positiva y estadísticamente significativa entre el tamaño de las conchas (CS) y los valores de exposición al oleaje F ($r = 0.952$; $p = 0.048$), mientras que el resto de factores no mostraron correlación, incluyendo el imposex (I), aunque éste mostró una tendencia a correlacionarse inversamente con respecto a los tamaños (Tabla 3-6).

Figura 3-9: Diagrama de componentes principales para las variables biométricas y ambientales en relación a las estaciones de muestreo de la franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano.



SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange. PC1: Componente 1. PC2: Componente 2. Lc: Longitud de la concha; CS: Centroid size; CU: Coeficiente de uniformidad; Finos: porcentaje de finos <0.063mm; Trf: Tráfico marítimo; I: imposex; Inc: Porcentaje de incrustaciones.

Tabla 3-6: Matriz de correlación con las variables biométricas de la concha (Lc y CS) de *P. patula*, con respecto a las ambientales en la franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano.

Variables	Lc	CS	CU	Finos	F	Trf	I	Inc
-----------	----	----	----	-------	---	-----	---	-----

Lc	****	0.977	0.586	0.725	0.867	0.582	-0.604	0.558
CS	0.023	****	0.742	0.845	0.952	0.736	-0.480	0.686
CU	0.414	0.258	****	0.911	0.912	0.998	0.140	0.923
Finos	0.275	0.155	0.089	****	0.933	0.888	-0.245	0.715
F	0.133	0.048	0.088	0.067	****	0.908	-0.229	0.843
Trf	0.418	0.264	0.002	0.112	0.092	****	0.174	0.944
I	0.396	0.520	0.860	0.755	0.771	0.826	****	0.308
Inc	0.442	0.314	0.077	0.285	0.157	0.056	0.692	****

Por encima de la diagonal se encuentran los valores del coeficiente de correlación (r). Debajo de la diagonal se observan los valores de probabilidad (p). Lc: Longitud de la concha; CS: Centroid Size; CU: Coeficiente de uniformidad; Finos: porcentaje de finos <0.063mm; F: exposición al oleaje; Trf: Tráfico marítimo; I: imposex; Inc: Porcentaje de incrustaciones.

3.3.5 Morfometría geométrica

La relación entre la forma y el tamaño de la concha en las hembras adultas de *P. patula*, sin discriminar estaciones de muestreo, fue alométrica. La principal variación de la forma fue que, a mayor tamaño, se presentó mayor globosidad en la concha (Figura 3-10). El análisis de forma promedio evidenció la existencia de diferencias significativas entre cada estación de muestreo, en el que las únicas formas parecidas se observaron entre SM y PdB, ya que presentaron una menor distancia de “Mahalanobis” entre grupos. La mayor separación entre grupos se presentó entre SM y los pertenecientes al PNNT (BC y Neg). Mientras que la forma promedio de las conchas del Museo fue muy parecida con la forma en Neg. Además, en SM se presentó el valor más elevado de distancia con respecto a la forma de las conchas en Museo (las mayores diferencias de forma) (Tabla 3-7, Figura 3-11).

Figura 3-10: Diagrama de estructura de alambre en el que se muestra la alometría del crecimiento de la concha.



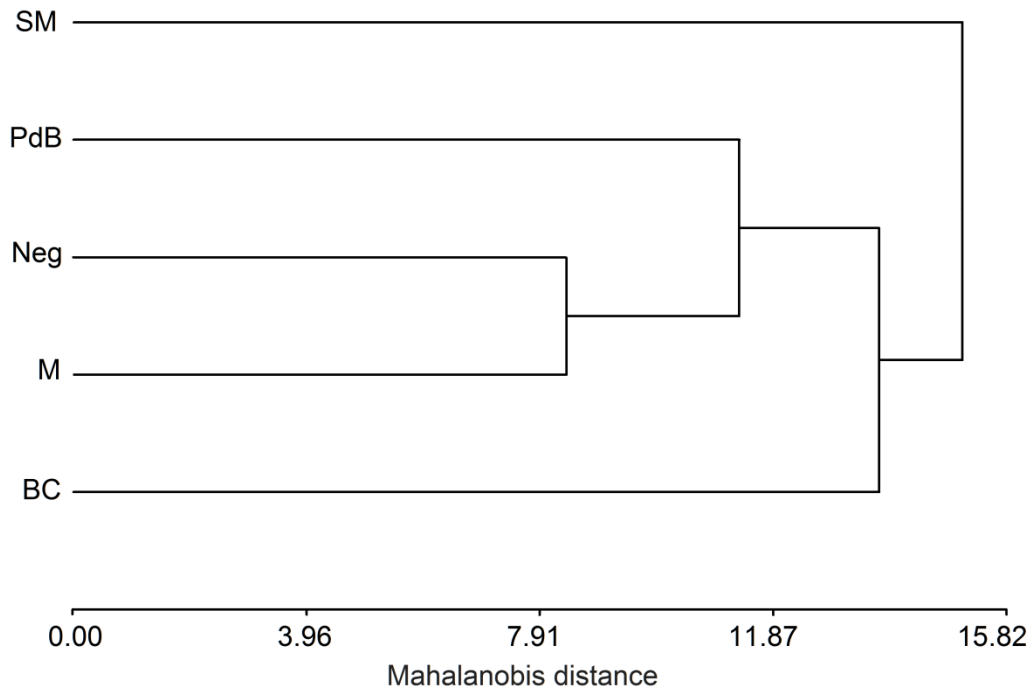
El cambio de la forma dado un aumento de tamaño de 80 valores de CS (polígono azul oscuro) con respecto a la forma consenso (polígono celeste claro).

Tabla 3-7: Valores de distancia de Mahalanobis y significancia entre las diferentes estaciones de muestreo de la franja costera de Santa Marta, Caribe colombiano.

Estaciones	SM	PdB	BC	Neg	Museo
SM	*****	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
PdB	11.86	*****	<0.0001	<0.0001	<0.0001
BC	16.48	12.75	*****	<0.0001	<0.0001
Neg	16.06	11.49	13.45	*****	<0.0001
Museo	15.86	11.09	14.78	8.36	*****

De la diagonal hacia arriba, valores de p (10000 permutaciones) para las distancias de Mahalanobis; de la diagonal hacia abajo son los valores de distancia entre grupos. SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange.

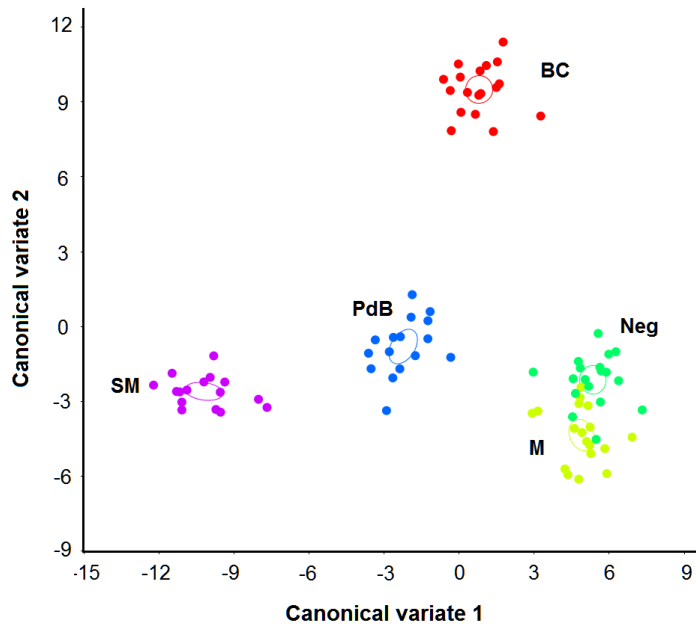
Figura 3-11. Análisis de conglomerados que muestra las relaciones en cuanto a la forma de la concha para hembras adultas de *Plicopurpura patula* colectadas en diferentes estaciones de la franja costera de Santa Marta.



SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange; M: Museo

El anterior resultado se confirmó en parte, con el Análisis de Variables Canónicas (CVA), en el que se optó por representar las elipses de un 90% de confianza para la media, mostrando que la forma promedio de las conchas de cada estación y las conchas de colección en el Museo, difiere entre todos los grupos (estaciones y Museo), aunque es menor entre las estaciones Neg y los ejemplares del Museo. Los componentes de forma que más diferenciaron los grupos son explicados por las variaciones encontradas sobre el eje canónico 1 (CV1), que representó el 44 % de la variación total, y que maximizan la separación entre estaciones. Los cambios están localizados principalmente en la zona del labio y la espiral hacia el ápice de la concha. En Neg se presentaron conchas con la abertura del labio más estrecha y una espiral más elongada con ápice robusto, mientras que para SM fue lo contrario, con tendencia a forma globosa en la zona de la última vuelta de la concha. Para el eje canónico 2 (CV2), con un 35 % de la variación total, se observó que las diferencias fueron mínimas en la forma del labio columelar interno de la concha, hacia los valores positivos se encontró BC con mayor curvatura del labio columelar, mientras que hacia los valores negativos se representaron PdB, Neg, SM y M con características opuestas (Figura 3-11).

Figura 3-11: Comparaciones en la forma de la concha entre las estaciones y las muestras del Museo mediante análisis canónico de la máxima variación global de la forma de la concha en *P. patula*.

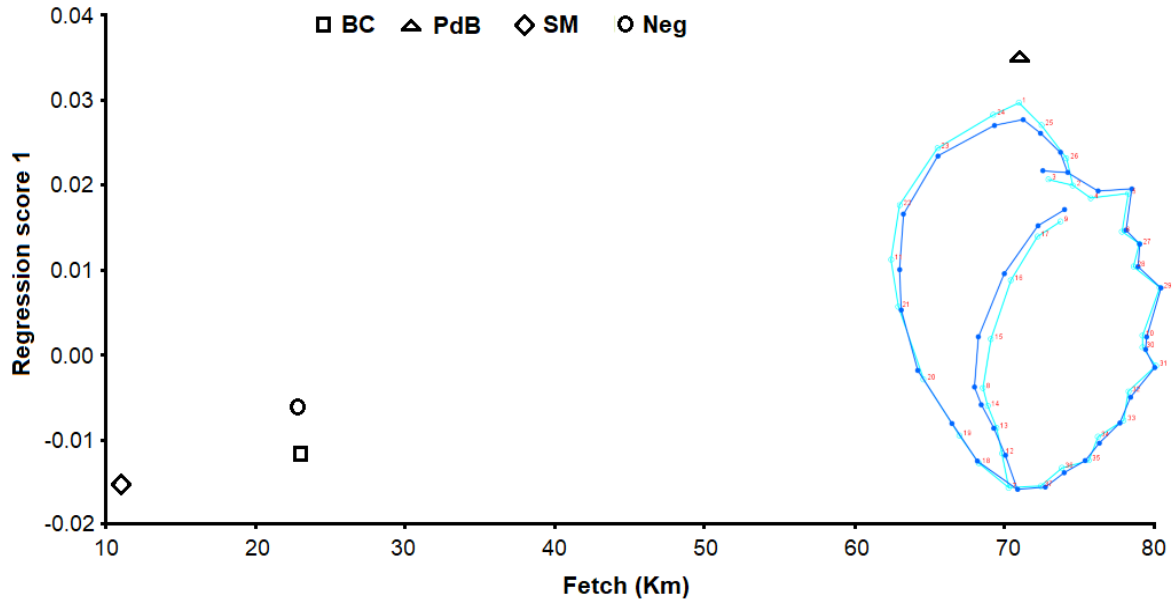


SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange; M: Museo.

3.3.6 Relación de la forma de la concha y exposición al oleaje (F)

El análisis de regresión multivariable entre la forma de la concha de *P. patula* y el nivel de exposición al oleaje (F) en la variación total de la forma de la concha no fue significativo ($p = 0.1694$, $R^2 = 39\%$). Sin embargo, se apreciaron cambios en la concha hacia una mayor globosidad con el aumento de la exposición a las olas (Figura 3-12).

Figura 3-12: Relación entre la forma de la concha (Regression score 1) con la exposición al oleaje (F) por estación de muestreo.

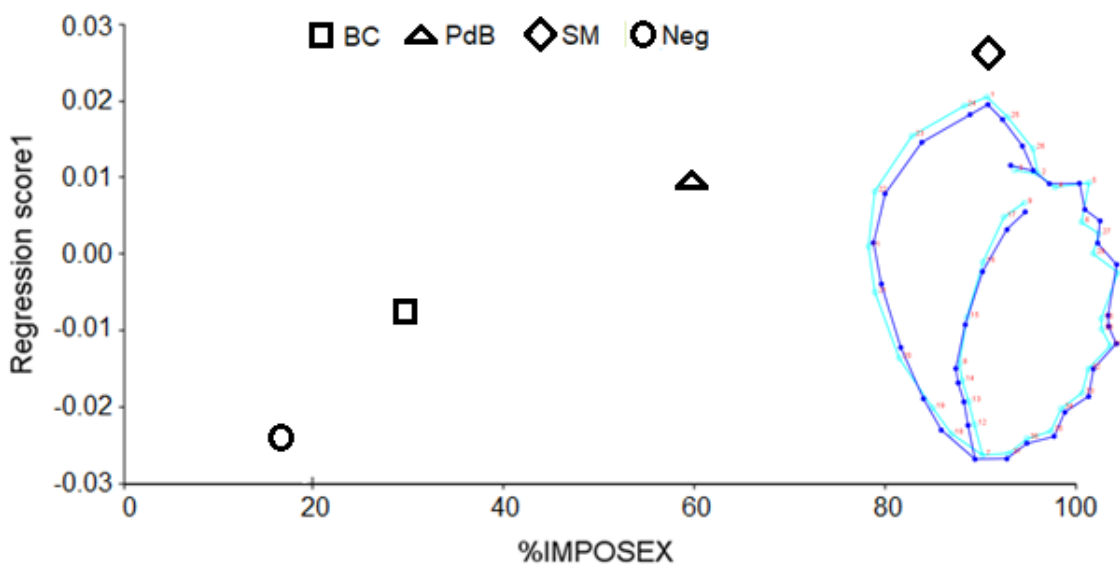


En el diagrama de alambre que representa la concha, el color celeste claro es la forma que cambia con el aumento del tráfico marítimo a la forma de color azul oscuro. SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange.

3.3.7 Relación de la forma de la concha y prevalencia de imposex

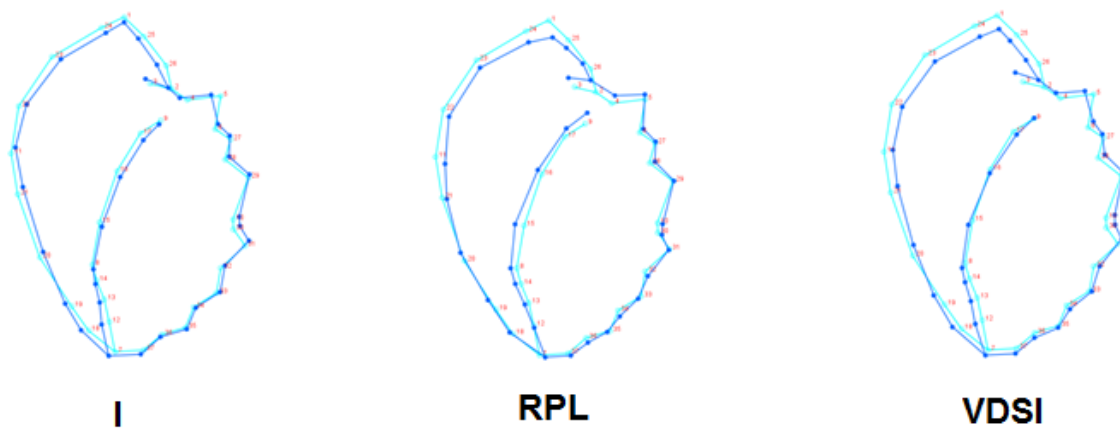
La asociación entre la afectación por imposex y la forma media de la concha de cada estación, se evaluó mediante análisis de regresión multivariable (prueba con 10 000 permutaciones aleatorias). El comportamiento asociado entre el imposex y la variación total de la forma de la concha no fue significativo ($p = 0.505$, $R^2 = 34 \%$). Sin embargo, en el gráfico de dispersión se observan cambios que representan una tendencia lineal de la forma en relación a los niveles de imposex. El aumento del imposex coincidió con un cambio de forma que representó una menor esbeltez hacia el ápice, ligero acortamiento longitudinal y mayor abertura del labio (globosidad) (Figura 3-13). De manera general la forma media de la concha en hembras de *P. patula* cambió en la medida en que fue afectada por la prevalencia del imposex, lo cual fue ratificado al relacionar la forma promedio de la concha con los índices de incidencia de imposex (Figura 3-14).

Figura 3-13: Relación de la forma promedio (Regression score1) de la concha con la prevalencia de imposex por estación de muestreo.



En el diagrama que representa la concha, el color celeste claro es la forma que cambia con el aumento del tráfico marítimo a la forma de color azul oscuro. SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange.

Figura 3-14: Cambio de forma promedio en la concha de hembras de *P. patula* inducido por el imposex. Relaciones con la prevalencia de imposex (I), con la longitud relativa del pene (RPL), y con la secuencia del vaso deferente (VDSI).

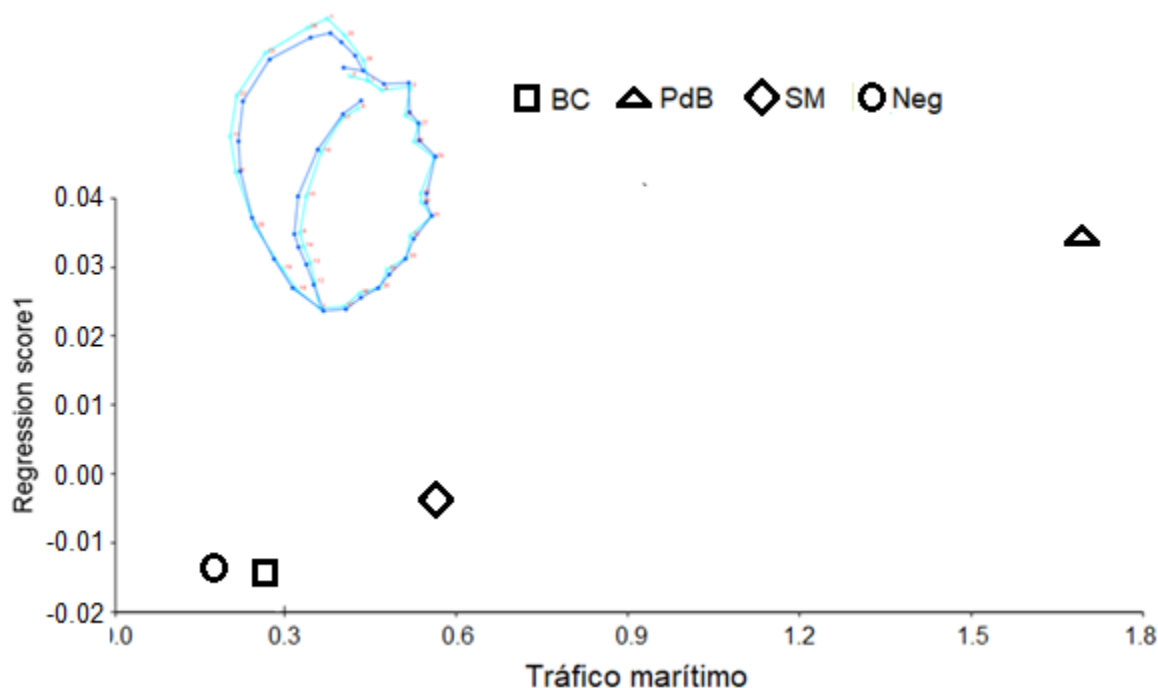


El diagrama de estructura de alambre indica que a medida que aumentan los indicadores de imposex, la forma cambia de celeste claro a azul oscuro.

3.3.8 Relación de la forma de la concha y tráfico marítimo

La asociación entre los valores de tráfico marítimo y la forma media de los gasterópodos entre estaciones de muestreo no fue significativa ($p = 0.169$, $R^2 = 40\%$). Los cambios en la esbeltez de la concha, a medida que aumenta el tráfico marítimo, muestra una transición a conchas más cortas, esbeltas y de mayor abertura del labio (mayor globosidad) (Figura 3-15).

Figura 3-15: Relación de la forma promedio (Regression score1) de la concha con el tráfico marítimo por estación de muestreo.



En el diagrama que representa la concha, el color celeste es la forma inicial que cambia con el aumento del tráfico marítimo a la forma de color azul. SM: Marina de Santa Marta; PdB: Punta de Betín, BC: Bahía Concha; Neg: Nenguange.

3.4 Discusión

El indicador de exposición al oleaje mostró diferencias a lo largo del área de estudio, las cuales fueron corroboradas por los CU representativos de los sedimentos de cada uno de los sitios estudiados; en este sentido, la técnica empleada para determinar el grado de influencia que puede ejercer el oleaje en los litorales rocosos mostró ser adecuada, y refleja muy bien la hidrodinámica espacial de cada estación de muestreo, tal como lo describe Burrows (2008). En este sentido, se destaca que los sedimentos costeros presentan características granulométricas, entre otras, que son determinadas por la hidrodinámica y energía producida por las corrientes litorales, el oleaje y las mareas propias del sector (Incera *et al.*, 2003).

El rango de tallas (10.2 – 66.2 mm) para hembras de la especie *P. patula* recolectadas en la franja costera de Santa Marta, fue más amplio que el reportado en la playa rocosa de Boca Andrea en el Golfo de México (16 – 45 mm) (Susan, 2004), y por los recolectados en

la costa Caribe de Venezuela (19.5 – 33 mm) (Paz-Villarraga *et al.*, 2015), pero similar al rango (15 - 65 mm) reportado por Rico (2017) en la costa Caribe colombiana, que incluyó las estaciones del estudio actual. El menor valor de talla en la estación SM comparada con las demás estaciones, se asoció a una menor exposición del oleaje e incluso a los niveles de imposex, aunque esto no fue confirmado estadísticamente por el análisis de correlación realizado, que solo mostró una significancia entre la CS y la variable asociada al oleaje (F). En este sentido, parece más plausible la influencia de este factor físico ambiental en los tamaños de los especímenes de *P. patula* en la franja costera de Santa Marta; aunque Otegui *et al.* (2019), para *Leucozonia nassa* y *S. brasiliensis* demostraron que el síndrome de imposex tuvo un papel más relevante en el crecimiento de la concha que los factores ambientales, incluido el nivel de exposición a las olas.

En relación a lo anterior, algunos estudios han evidenciado una relación directa entre las tallas de gasterópodos y las fuerzas de la corriente o exposición al oleaje (Boulding *et al.*, 1999; Tkachenko, 2000; Otegui *et al.*, 2019). Particularmente, García-Ibañez *et al.* (2004) y Parra (2012), observaron variación intrapoblacional de forma en *P. patula* que presentó una relación directa con respecto al sustrato y la exposición al oleaje, por lo que destaca que esta especie suele presentar mayores tamaños y aperturas de labio de la concha como adaptación morfológica a la exposición del oleaje. El hecho de que en PdB se hayan reportado las conchas más grandes y con mayor cantidad de incrustaciones, por un lado, obedece a que fue el lugar más expuesto al oleaje, y por otro a la edad de los especímenes. En relación a esto, Vasconcelos *et al.* (2007), encontraron que el *fouling* de las conchas de *Trunculariopsis trunculus* era un fenómeno dependiente del tiempo, y que la cobertura de la concha por epibiontes dependió directamente de la edad o el tamaño de la concha; no mostrándose así un efecto en el crecimiento de los organismos producto de los epibiontes, evidenciado en otras especies; como, por ejemplo, el gasterópodo intermareal *Littorina litorea* (Wahl, 1996). No obstante, no se encontró una correlación significativa con respecto a este factor y la talla de los organismos de *P. patula*.

Igualmente, se observaron pesos mayores de concha con respecto a la talla en las estaciones con menor tráfico marítimo e incidencia de imposex que correspondieron al PNNT, destacando el contraste entre Neg - SM, en el que se presentó la mayor diferencia significativa; quizás esto pueda deberse, a que la contaminación que se puede generar producto del tráfico en zonas costeras, se ha relacionado con inducir cambios estructurales en la concha de moluscos, que muestran disminución en su densidad (Alzieu *et al.*, 1986;

Alzieu, 2000; Márquez *et al.*, 2011; Nuñez *et al.*, 2012; Laitano *et al.*, 2013; Rico, 2017), por lo que en los lugares con afectación mayor de imposex, se registraron valores menores de peso en la concha, como SM en la BSM.

Por otra parte, aunque se determinó la presencia de imposex en los ejemplares estudiados en la franja costera de Santa Marta, los datos en el presente estudio no asocian de forma significativa los cambios de tamaño y morfométricos de la concha con este fenómeno, sin descartar una interrelación de factores ambientales como el nivel de exposición al oleaje; aun cuando está bien documentada la asociación entre la contaminación por TBT en relación a la tasa de crecimiento de moluscos bivalvos y gasterópodos (Quintela, y Barreiro, 1998; Tablado y López Gappa, 2001; Coelho, Langston, y Bebianno, 2006; Sokołowski, Pawlikowski, Wołowicz, Garcia, y Namieśnik, 2008; Ruiz *et al.*, 1998; Smolarz y Bradtke, 2011; Otegui *et al.*, 2019), y la variación de la forma (Márquez *et al.*, 2011; Abdelhady *et al.*, 2018).

La variación en cuanto a los indicadores de imposex fueron un reflejo del nivel diferencial de intensidad de tráfico marítimo en la zona, un comportamiento que ha sido suficientemente descrito en varias especies sensibles al TBT (Alzieu, 2000; Márquez, Gonzalez, y Bigatti, 2011; Nuñez, Laitano, y Cledón, 2012), y a otros tipos de contaminantes como metales pesados (Laitano *et al.*, 2013; Abdelhady *et al.*, 2018). Coincidentemente con lo obtenido por Rico (2017), se encontraron variaciones de la forma de la concha entre todas las estaciones de la franja costera de Santa Marta, caracterizada por la realización de actividades antropogénicas que involucran el transporte marítimo (pesca, turismo, mercantil), y evidenciaron igualmente la presencia de imposex; lo cual sugiere que *P. patula* es un organismo que puede ser usado para evaluar el efecto de la contaminación ambiental generada en zonas costeras, coincidentemente otros autores desde hace una década la han recomendado como conclusiones de sus investigaciones (Strand *et al.*, 2009; Paz-Villarraga *et al.*, 2015).

La asociación entre la forma de la concha de *P. patula* con respecto a la exposición del oleaje, el tráfico marítimo y los índices de prevalencia e incidencia de imposex, aunque no mostraron significancia estadística, posiblemente por emplear sólo cuatro estaciones de datos para el análisis de regresión, representan una línea base en el estudio de este factor

en el área del Caribe colombiano, en conjunto con el trabajo realizado por Rico (2017); destacando que será necesario evaluar el nivel de contaminación por metales con énfasis en el TBT y otros factores ambientales como la exposición al oleaje, la cual es un modulador de las características poblacionales a diferentes niveles (Burrows *et al.*, 2008).

Los gasterópodos con una mayor afectación de imposex presentaron conchas con acortamiento longitudinal y globosidad a nivel de la abertura del labio, mientras que con una menor afectación de imposex presentaron conchas alargadas y más robustas a nivel de la espira con aberturas más cerradas. Un patrón similar de variación de la forma ante la contaminación por TBT que ha sido reportado con anterioridad en las conchas de *Odontocymbiola magellanica* (Márquez *et al.*, 2011), y en conchas de *Buccinanops globulosus* (Avaca *et al.*, 2013; Primost *et al.*, 2016).

Los resultados obtenidos dan pauta para profundizar en el estudio del efecto de la contaminación por TBT que puede ser generada por el tráfico marítimo en la forma de *P. patula*, y refuerzan la utilidad del método de la Morfometría Geométrica (GM) como herramienta de medición en reemplazo de técnicas destructivas, dentro de programas de vigilancia ambiental en las franjas costeras (Márquez *et al.*, 2011; Primost *et al.*, 2016). Sobre todo, porque las formas encontradas en la concha de *P. patula* en la Bahía de Santa Marta (mayores índices de imposex), en el presente estudio, difieren notablemente de los ejemplares de “museo” procedentes de la misma área de estudio, que solo mostraron semejanza con los ejemplares de Neg, los cuales registraron la menor prevalencia de Imposex (I = 18 %). Aunque no existe una plena seguridad de que las conchas empleadas, pertenecientes al Museo de Historia Natural Marina de Colombia, no se encontraban afectadas por imposex al momento de su recolecta, es poco probable que padecieran este fenómeno en vista de que las pinturas con TBT estuvieron en el mercado desde los años 1960s, pero no se difundieron ampliamente sino a partir de los años 70 (Bryan, Gibbs, Burk, y Hummerstone, 1987).

Aun cuando se observaron diferencias notables en la morfología de la concha de *P. patula* entre las diferentes estaciones estudiadas en la franja costera de Santa Marta, que destacan la plasticidad fenotípica de la especie, éstas no representan cambios severos en la forma de la concha, lo que a su vez refleja la capacidad de la especie para canalizar la

contaminación química e incluso factores ambientales como la exposición al oleaje, que pudieran estar afectando esta característica del organismo. Lo anterior, podría representar una peculiar capacidad de adaptación de la especie a este tipo de estrés ambiental.

3.5 Conclusiones

En conclusión, los resultados sugieren que existe una mayor influencia de la exposición al oleaje, con respecto a aspectos biométricos de la concha de *P. patula* como la talla (CS), sin descartar un posible efecto en conjunto con el imposex que padece esta especie en el área de estudio, aunque no mostró relación significativa alguna, aparentemente por un efecto estadístico de la cantidad de sitios diferentes en la regresión. La forma de la concha mostró mayor similitud entre el sitio con menor prevalencia (I) e incidencia (VDSI) de imposex y los ejemplares de museo que asumen ser una condición libre de esta afectación, aunque igualmente no se observó una relación significativa entre este fenómeno y la forma de la concha de *P. patula*, ocurriendo lo mismo con respecto al tráfico marítimo. No obstante, la tendencia mostrada permite inferir, que existe un efecto entre el agente inductor del imposex (la contaminación por TBT) con respecto a la forma de los organismos de la especie estudiada, con una tendencia a presentarse formas de conchas más globosas a medida que aumentó la prevalencia de imposex, con aberturas del labio más amplias.

3.6 Recomendaciones

Se recomienda para la detección de impactos producto de la intensidad del tráfico marítimo, realizar monitoreos por medio del uso de morfometría geométrica como método no destructivo en los organismos, empleando especies como *P. patula*, la cual muestra un patrón de cambio según las condiciones ambientales, que pueden indicar efectos más allá de los naturales, que podrían estar relacionados al imposex a nivel de las poblaciones.

Igualmente, es necesario medir los niveles de TBT en los sedimentos y tejido animal, incluyendo organismos dentro de la cadena trófica (productores y consumidores primarios

y secundarios), en vista que *P. patula* es un organismo carnívoro (consumidor terciario) y podría experimentar biomagnificación de TBT, y que al alcanzar elevadas concentraciones afectan su capacidad endocrina.

Para futuros estudios se recomienda emplear mayor cantidad de sitios de muestreo que permitan encontrar al sitio “cero” sin afectación por imposex, y de esta manera realizar un mejor análisis, que permitirían mostrar mejor el espectro de variabilidad en la forma de la concha de *P. patula* en relación al imposex.

Es necesario realizar mediciones de otros contaminantes de naturaleza química xenobiótica que puedan afectar a *P. patula* y otros organismos, en vista de que los monitoreos suelen limitarse a las variables fisicoquímicas habituales, existiendo compuestos químicos que, por su complejidad y naturaleza, pueden igualmente afectar a los mismos.

Conclusiones generales

Los sitios asociados a la BSM presentaron un elevado nivel de tráfico marítimo que se asocia a elevados niveles de HPDD en SM, así como también en esta estación de muestreo se midieron niveles altos de coliformes totales (CT), asociado a la cercanía de fuentes urbanas contaminantes.

Entre las zonas estudiadas existe una diferencia significativa entre el tráfico marítimo, destacando que éste fue menor en el PNNT; cuyos niveles de tráfico fueron dependientes de la cantidad de visitantes durante la temporada vacacional (diciembre-enero, abril y agosto).

Desde una perspectiva cuantitativa el $ICAM_{PFF}$ fue útil para diferenciar la calidad del agua entre BSM y el PNNT; no obstante, cualitativamente este indicador categorizó, a nivel general, ambas zonas como de calidad “Adecuada”, a pesar que, en BSM fue significativa la presencia de eventos de calidad “Pésima”, y en el PNNT se presentó una tendencia a condiciones “Óptimas” de calidad de agua.

La estimación del tráfico marítimo que se implementó, empleando cantidad de embarcaciones, permanencia y longitud de eslora, constituye una referencia para futuros estudios que evalúen el impacto del transporte acuático en la calidad ambiental, y una estimación más completa con respecto a otros indicadores con datos semicuantitativos y cuantitativos, que solo consideran la cantidad de embarcaciones. Se recomienda la medición de tráfico marítimo empleada en este estudio para zonas en donde exista alta heterogeneidad en los tipos de embarcaciones y accesibilidad a datos abiertos de las variables que emplea.

Se observó una mayor prevalencia de imposex durante la época de sequía, además que los resultados sugieren que, en los lugares con bajos niveles de impacto por efecto del

tráfico marítimo, se presenta una menor prevalencia de imposex en los neogasterópodos estudiados.

La especie *P. patula* mostró mayor sensibilidad de afectación por imposex, registrando mayor prevalencia incluso en sitios con niveles medios de tráfico; mientras que *V. deltoidea* mostró una tendencia a presentar mayor afectación solo en donde el nivel del tráfico fue mayor.

Los resultados sugieren que existe una mayor influencia de la exposición al oleaje, con respecto a la talla (CS) de la concha de *P. patula*; aunque no se descarta un posible efecto en conjunto con el nivel de contaminación por TBT, representado por el fenómeno imposex, destacando que ambas variables (exposición al oleaje e imposex) no mostraron una relación significativa con respecto a la forma en 2D de la concha.

La forma de la concha fue más similar entre el sitio Neg con menor prevalencia (I) e incidencia (VDSI) de imposex y los ejemplares de Museo que se asumen ser libres de imposex; lo que permite inferir que, si existe un efecto del contaminante que induce el imposex con respecto a la forma de la concha de *P. patula*, con una tendencia a presentarse conchas más globosas con aberturas del labio más amplias, a medida que aumentó la prevalencia de imposex.

Aun cuando existió una limitante en el presente estudio, por la no determinación de concentraciones del xenobiótico en agua, sedimentos y tejido animal; al ser el imposex una condición resultante de la contaminación por compuestos orgánicos de estaño, la presencia de esta afectación en la franja costera de Santa Marta, en la costa Caribe de Colombia, permite diagnosticar una alta probabilidad de contaminación por este tipo de compuestos en zonas portuarias, lo que constituye una herramienta útil para el monitoreo.

Bibliografía

- Abdelhady, A. A., Abdelrahman, E., Elewa, A. M. T., Fan, J., Zhang, S., y Xiao, J. (2018). *Phenotypic plasticity of the gastropod Melanoides tuberculata in the Nile Delta: A pollution-induced stabilizing selection. Marine Pollution Bulletin*, 133, 701–710.
- Almeida, M., Machado, J., Moura, G., Azevedo, M., y Coimbra, J. (1998). Temporal and local variations in biochemical composition of *Crassostrea gigas* shells. *Journal of Sea Research*, 40, 233–249.
- Alzieu, C. (2000). Environmental impact of TBT: The French experience. *The Science of the Total Environment*, 258, 99–102.
- Alzieu, C. J., Sanjuan, J., Deltreil, J. P., y Borel, M. (1986). Tin contamination in Arcachon bay: Effects on oyster shell anomalies. *Marine Pollution Bulletin*, 17(11), 494–498.
- APHA, AWWA, y WEF. (2012). Standard methods for the examination of water and wastewater (22nd ed., Vol. 22; E. Rice, R. Baird, A. Eaton, y L. Clesceri, Eds.). Washington D.C., USA: American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and Water Environment Federation (WEF).
- Avaca, M. S., Narvarte, M., Martín, P., y van der Molen, S. (2013). Shell shape variation in the Nassariid *Buccinanops globulosus* in northern Patagonia. *Helgol Marine Research*, 67, 567–577.
- Bajt, O. (2014). Aliphatic and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Gulf of Trieste Sediments (Northern Adriatic): Potential Impacts of Maritime Traffic. *Bulletin Environmental Contamination and Toxicology* 93, 299–305.
- Bateson, P., Barker, D., Clutton-Brock, T., Deb, D., D’Udine, B., Foley, R. A., ... Sultan, S. E. (2004). Developmental plasticity and human health. *Nature*, 430(6998), 419–421. doi:10.1038/nature02725

- Batista-Andrade, J. A., Caldas, S. S., Batista, R. M., Castro, I. B., Fillmann, G., y Primel, E. G. (2018). From TBT to booster biocides: Levels and impacts of antifouling along coastal areas of Panama. *Environmental pollution*, 234, 243–252.
- Bayraktarov, E., Pizarro, V., and Wild, C. (2014). Spatial and temporal variability of water quality in the coral reefs of Tayrona National Natural Park, Colombian Caribbean. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(6), 3641–3659. doi:10.1007/s10661-014-3647-3
- Bigatti, G. I., Averbuj, A., Castro, I. B., Primost, M., Carranza, A., Commendatore, M., ... del Brio, F. (2014). Capítulo 13: Situación de contaminación en las costas del sur de Brasil, Uruguay y Argentina, luego de la prohibición mundial de TBT. En C. Goso (Ed.), *Nuevas miradas a la problemática de los ambientes costeros: Sur de Brasil, Uruguay y Argentina* (Vol. 1, pp. 277–301). DIRAC-Facultad de Ciencias.
- Bigatti, G., y Carranza, A. (2007). Phenotypic variability associated with the occurrence of imposex in *Odontocymbiola magellanica* (Gmelin, 1791) from Golfo Nuevo, Patagonia. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87, 755–759.
- Bigatti, G., Averbuj, A., Castro, I. B., Primost, M., Carranza, A., Commendatore, M., ... del Brio, F. (2014). Capítulo 13: Situación de contaminación en las costas del sur de Brasil, Uruguay y Argentina, luego de la prohibición mundial de TBT. En C. Goso (Ed.), *Nuevas miradas a la problemática de los ambientes costeros: Sur de Brasil, Uruguay y Argentina* (Vol. 1, pp. 277–301). DIRAC-Facultad de Ciencias.
- Blaber, S. (1970). The occurrence of a penis-like outgrowth behind the right tentacle in spent females of *Nucella lapillus* (L.). *Journal of Molluscan Studies*, 39(2–3), 231–233.
- Blackmore, G. (2000). Imposex in *Thais clavigera* (Neogastropoda) as an indicator of TBT (Tributyltin) bioavailability in coastal waters of Hong Kong. *Journal Molluscan Studies*, 66(1), 1–8.
- Borges, C. de L. L., Fernández, M. A. dos S., Castro, Í. B., y Fillmann, G. (2013). Organotin pollution from pleasure craft at Paraty, a tourist area of Southeastern Brazil: Amelioration or interference? *Brazilian Journal of Oceanography*, 61(3), 177–186.

- Boulding, E. G., Holst, M., y Pilon, V. (1999). Changes in selection on gastropod shell size and thickness with wave-exposure on northeastern pacific shores. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 232(2), 217–239.
- Bracker, E. (2019). Impacts of Shipping on Environment and Climate. In: Palocz-Andresen M., Szalay D., Gosztom A., Sípos L., Taligás T. (eds) International Climate Protection. Springer, Cham. pp 183-189.
- Bryan, G. W., Gibbs, P. E., Burk, G. R., y Hummerstone, L. G. (1987). The effect of tributyl tin (TBT) accumulation in dogwhelk *Nucella lapidus* long term fields and laboratory experiments. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 67, 525–544.
- Burrows, M., Harvey, R., y Robb, L. (2008). Wave exposure indices from digital coastlines and the prediction of rocky shore community structure. *Marine Ecology Progress Series*, 353, 1–12.
- Carić, H., Klobučar, G., & Štambuk, A. (2016). Ecotoxicological risk assessment of antifouling emissions in a cruise ship port. *Journal of Cleaner Production*, 121, 159–168.
- Castro, Í. B. de, Cascon, H. M., y Fernandez, M. A. dos S. (2000). Imposex em *Thais haemastoma* (Linnaeus, 1767) (Mollusca: Gastropoda) uma indicação da contaminação por organoestânicos na costa do município de Fortaleza–Ceará–Brasil. *Arquivos de Ciências do Mar*, 33, 143–148.
- Castro, Í. B. de, Meirelles, C. A. O. de, Matthews-Cascon, H., Rocha-Barreira, C. de A., Penchaszadeh, P., y Bigatti, G. (2008). Imposex in endemic volutid from northeast Brazil (Mollusca: Gastropoda). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 51(5), 1065–1069.
- Castro, Í. B., y Fillmann, G. (2012). High tributyltin and imposex levels in the commercial muricid *Thais chocolata* from two Peruvian harbor areas. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(5), 955–960.
- Castro, Í. B., Arroyo, M. F., Costa, P. G., y Fillmann, G. (2012). Butyltin compounds and imposex levels in Ecuador. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 62(1), 68–77.

- Castro, Í. B., Oliveira, C. A., Lopes, J. C., Matthews-Cascon, H. and C. Rocha-Barreira. (2005). The increasing incidence of imposex in *Stramonita haemastoma* (mollusca: gastropoda: muricidae) after the establishment of the Pecém Harbor, Ceará State, northeast Brazil. *Thalassas*, 21 (2), 71-75.
- Centro de investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Caribe (CIOH). (2019). Climatología del Caribe: Ciclones Tropicales. En: <https://www.cioh.org.co/meteorologia/Climatologia/ClimatologiaCaribe6.php>
- Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas del Caribe (CIOH). (2017). Guía Náutica Turística de Colombia. Cartagena de Indias: COSMOGUIAS.
- CIOH. (2012). Guía Náutica Turística de Colombia. Recuperado de http://cecoldodigital.dimar.mil.co/51/1/dimarcioh_2012_2256-5914_guia_nautica_turistica_colombia.pdf
- Coelho, M. R., Langston, W. J., y Bebianno, M. J. (2006). Effect of TBT on *Ruditapes decussatus* juveniles. *Chemosphere*, 63(9), 1499–1505.
- Crowe, T. P., Thompson, R. C., Bray, S., y Hawkins, S. J. (2000). Impacts of anthropogenic stress on rocky intertidal communities. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 7(4), 273–297.
- Cumplido, M., 2016. Evaluación del potencial pesquero de gasterópodos del Golfo San José (Chubut). Facultad de Ciencias Naturales y Museo. Universidad Nacional de La Plata, La Plata, pp. 267.
- Davies, R. B. (1987). Hypothesis testing when a nuisance parameter is present only under the alternative. *Biometrika*, 74(1), 33–43.
- Díaz Merlano, J., y Puyana Hegedus, M. (1994). *Moluscos del Caribe Colombiano un catálogo ilustrado*. Santafe de Bogotá: Colciencias, Fundación Natura, INVEMAR.
- DIMAR. *Radicado No. 29201706989 MD-DIMAR-SUBMERC-ATRANC en relación al Convenio Internacional sobre el Control de los Sistemas Antincrustantes Perjudiciales de los Buques*. (2017).
- Dirección General Marítima (DIMAR). (2018). Radicado No. MD-DIMAR-SUBMERC-ATRANC en relación a la entrega de información.

- Dobson, S., y Cabridenc, R. (1990). Tributyltin Compounds. USA: U.N.E. Programme.
- Donateo, A., Gregoris, E., Gambaro, A., Merico, E., Giua, R., Nocioni, A., & Contini, D. (2014). Contribution of harbour activities and ship traffic to PM2.5, particle number concentrations and PAHs in a port city of the Mediterranean Sea (Italy). *Environmental Science and Pollution Research*, 21(15), 9415–9429.
- Dudley, N., 2008. Guidelines for applying protected area management categories. IUCN.
- El Ayari, T., Abidli, S., Lahbib, Y., González, P. R., García Alonso, J. I., y Trigui-El Menif, N. (2015). The effect of size and epibiotic barnacles on imposex in *Stramonita haemastoma* collected from the northern coast of Tunisia. *Marine Biology Research*, 11(3), 313–320.
- Elhasni, K., Vasconcelos, P., Ghorbel, M. and J. Othman. (2013). Inshore/offshore gradients of imposex in *Bolinus brandaris* (Gastropoda: Muricidae) from the Gulf of Gabès (southern Tunisia, Central Mediterranean Sea). *Acta Adriatica*, 54 (2): 299-313.
- Elith, J., y Leathwick, J. (2017). Boosted Regression Trees for ecological modeling. R documentation. Recuperado de <https://cran.r-project.org/web/packages/dismo/vignettes/brt.pdf>
- EPA. (2003). *Ambient Aquatic Life Water Quality Criteria for Tributyltin (TBT)—Final*. Washington D.C., USA: United States Environmental Protection Agency.
- Fernández, M. A., Wagener, A. de L. R., Limaverde, A. M., Scofield, A. L., Pinheiro, F. M., y Rodrigues, E. (2005). Imposex and surface sediment speciation: A combined approach to evaluate organotin contamination in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Environmental Research*, 59(5), 435–452.
- Folk, R. L. (1974). *The petrology of sedimentary rocks*. Austin, Texas: Hemphill Publishing Co.
- Fujinaga, K., Ilano, A. S., Nomura, H., Miranda, R. T., y Nakao, S. (2006). Present state of imposex in neptune whelk *Neptunea arthritica* inhabiting shallow waters around Hokkaido, Japan. *Fisheries Science*, 72(5), 995–1003.
- Garaventa, F., Centanni, E., Fiorini, S., Noventa, S., Terlizzi, A., Faimali, M., y Pavoni, B. (2008). New implications in the use of imposex as a suitable tool for tributyltin

contamination: Experimental induction in *Hexaplex trunculus* (Gastropoda, Muricidae) with different stressors. *Cell Biology and Toxicology*, 24(6), 563–571.

Garay, J.A., B. Marín, G. Ramírez, J. Betancourt, W. Troncoso, M.L. Gómez, B. Cadavid, A.M. Vélez, D. y L.J. Vivas. (2003). Diagnóstico y evaluación de la calidad ambiental marina en el Caribe y pacífico colombiano. Red de vigilancia para la protección y conservación de la calidad de las aguas marinas y costeras. Diagnóstico 2002. INVEMAR. 263 p.

Garcés-Ordóñez, O., E. Arteaga, P. Obando, L.J. Vivas-Aguas, L. Espinosa, M. González, C. Giraldo y C. Ricaurte. (2016). Atención a eventuales emergencias ambientales en la zona marino-costera del departamento del Magdalena. Convenio CORPAMAG-INVEMAR No. 14 de 2014, código: PRY-CAM-011-14. Informe técnico final. Santa Marta. 79 p.

García-Ibáñez, S., Flores-Garza, R., Flores-Rodríguez, P., y Valdés-González, A. (2004). Densidad y tallas de *Plicopurpura patula pansa* relacionadas con el sustrato y oleaje en la costa rocosa de Guerrero, México. *Hidrobiológica*, 14(2), 127–136.

Gibbs, P. E., y Bryan, G. W. (1994). Biomonitoring of tributyltin (TBT) pollution using the imposex response of neogastropod molluscs. *Biomonitoring of coastal waters and estuaries*, 54, 205–226.

Gibbs, P. E., Bryan, G. W., Pascoe, P. L., y 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(3), 507–523.

GANP, 2020. Global Alliance of National Parks. Obtenido de Tayrona National Park. URL <https://national-parks.org/colombia/tayrona>. (accessed 4/3/20).

Goldberg, E. D. (1986). TBT - an environmental dilemma. *Environment*, 28, 17–44.

Gooding, M., Gallardo, C., y LeBlanc, G. (1999). Imposex in three marine gastropod species in Chile and potential impact on muriciculture. *Marine Pollution Bulletin*, 38(12), 1227–1231.

Gregoris, E., Barbaro, E., Morabito, E., Toscano, G., Donateo, A., Cesari, D., Contini, D. and A. Gambaro. (2016). Impact of maritime traffic on polycyclic aromatic hydrocarbons, metals and particulate matter in Venice air. *Environmental Science Pollution Research* 23, 6951–6959.

- Guisande C., Heine J., González-DaCosta J. y García-Roselló E. (2014). RWizard Software. Vigo, España.
- Guisande, C., Lise, A. V., y Felpeto, A. B. (2013). *Tratamiento de datos con R, Statística y SPSS*. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.
- Halpern, B. S., Frazier, M., Potapenko, J., Casey, K. S., Koenig, K., Longo, C., Stewart-Lowndes, J., Cotton-Rockwood, R., Selig, E. R., Selkoe, K. A. and Walbridge, S. (2015). Spatial and temporal changes in cumulative human impacts on the world's ocean. *Nature Communications*, 6(1).
- Harborne, A., Mumby, P., Zychaluk, K., Hedley, J., y Blackwell, P. (2006). Modeling the beta diversity of coral reefs. *Ecology*, 87, 2871–2881.
- Harding, M. J. C., Davies, I. M., Bailey, S. K., y Rodger, G. K. (1999). Survey of imposex in dogwhelks (*Nucella lapillus*) from North Sea coasts. *Applied organometallic chemistry*, 13(7), 521–538.
- Hassellöv, I.-M., Turner, D. R., Lauer, A., and Corbett, J. J. (2013). Shipping contributes to ocean acidification. *Geophysical Research Letters*, 40(11), 2731–2736.
- Hernández, S., y Stotz, W. B. (2004). Reproductive biology of the "Copey" snail *Melongena melongena* (Linnaeus, 1758) in Cispatá Bay on the Caribbean coast of Colombia. *Journal of Shellfish Research*, 23(3), 849–855.
- Horiguchi, T., Kojima, M., Hamada, F., Kajikawa, A., Shiraishi, H., Morita, M., y Shimizu, M. (2006). Impact of Tributyltin and Triphenyltin on Ivory Shell (*Babylonia japonica*) Populations. *Environmental Health Perspectives*, 114(Suppl 1), 13–19.
- IDEAM. (2019). Gráficos de seguimiento diario de la precipitación. Disponible desde internet en: <http://www.ideam.gov.co/web/tiempo-y-clima/graficos-seguimiento-diarioprecipitacion-principales-ciudades> (con acceso el 28/03/2019).
- IDEAM. (s/f). Características climatológicas de ciudades principales y municipios turísticos (pp. 1–48). Recuperado de Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales website: <http://www.ideam.gov.co/documents/21021/418894/Caracter%C3%ADsticas+de+Ciudades+Principales+y+Municipios+Tur%C3%ADsticos.pdf/c3ca90c8-1072-434a-a235-91baee8c73fc>

- IMO. (2003). Status of multilateral conventions and instruments in respect of which the International Maritime Organization or its Secretary-General performs depositary or other functions as at 31 December 2003. Recuperado de International Maritime Organization website:
<http://www.imo.org/About/Conventions/StatusOfConventions/Documents/Status%20-%202013.pdf>
- Incera, M., Cividanes, S. P., Lastra, M., y López, J. (2003). Temporal and spatial variability of sedimentary organic matter in sandy beaches on the northwest coast of the Iberian Peninsula. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 58, 55–61.
- INVEMAR. (2017). Diagnóstico y evaluación de la calidad de las aguas marinas y costeras en el Caribe y Pacífico colombianos. Garcés O., y L. Espinosa (Eds). Red de vigilancia para la conservación y protección de las aguas marinas y costeras de Colombia: INVEMAR, MADS y CAR costeras. Informe técnico 2016. Serie de publicaciones periódicas No. 4 (2017) del INVEMAR, Santa Marta. 260 p.
- INVEMAR. (2018). Diagnóstico y evaluación de la calidad de las aguas marinas y costeras en el Caribe y Pacífico colombianos. Bayona-Arenas, M. y Garcés-Ordóñez, O. (Ed). Red de vigilancia para la conservación y protección de las aguas marinas y costeras de Colombia – REDCAM: INVEMAR, MinAmbiente, CORALINA, CORPOGUAJIRA, CORPAMAG, CRA, CARDIQUE, CARSUCRE, CVS, CORPOURABÁ, CODECHOCÓ, CVC, CRC y CORPONARIÑO. Informe técnico 2017. Serie de Publicaciones Periódicas No. 4 del INVEMAR, Santa Marta. 336 p.
- INVEMAR. (2019). Diagnóstico y evaluación de la calidad de las aguas marinas y costeras en el Caribe y Pacífico colombianos. Luisa F. Espinosa y Ostin Garcés (Ed). Red de vigilancia para la conservación y protección de las aguas marinas y costeras de Colombia – REDCAM: INVEMAR, MinAmbiente, CORALINA, CORPOGUAJIRA, CORPAMAG, CRA, CARDIQUE, CARSUCRE, CVS, CORPOURABÁ, CODECHOCÓ, CVC, CRC y CORPONARIÑO. Informe técnico 2018. Serie de Publicaciones Periódicas N°. 4 del INVEMAR, Santa Marta. 212 p.
- INVEMAR-GEO. (2015). Variabilidad oceanográfica y climática en la bahía de Santa marta, ensenada de Gaira y zona de puertos (Caribe colombiano) y su relación con la dinámica sedimentaria del carbón. Actividad GEO – BPIN INVEMAR. Santa Marta. 64 p.
- Jenner, M. G. (1979). Pseudohermaphroditism in *Ilyanassa obsoleta* (Mollusca: Neogastropoda). *Science*, 205(4413), 1407–1409.

- Juretic, S., Cerovic, L. and T. Galovic. (2013). Optimal analytical instruments in the function of estimation of total trace in the port of Rijeka. Review article. *Scientific Journal of Maritime Research*, 27(2), 265-277.
- Kaschner, K., Kesner-Reyes, K., Garilao, C., Rius-Barile, J., Rees, T., y Froese, R. (2016). *AquaMaps: Mapas de alcance predichos para especies acuáticas*.
- Keen, A. M. (1971). *Sea Shells of Tropical West America (Second)*. California: University Press, Stanford.
- Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, 11(2), 353–357.
- Laitano, M. V., Nuñez, J. D., y Cledón, M. (2013). Shell alterations in the limpet *Bostrycapulus odites*: A bioindicator of harbour pollution and mine residuals. *Ecological Indicators*, 34, 345–351.
- Laranjeiro, F., Sánchez-Marín, P., Oliveira, I. B., Galante-Oliveira, S., y Barroso, C. (2018). Fifteen years of imposex and tributyltin pollution monitoring along the Portuguese coast. *Environmental Pollution*, 232, 411–421.
- Levene, H. (1960). Robust tests for equality of variances In: Olkin I, Ghurye SG, Hoefding W, Madow WG, Mann HB., editors. Contributions to probability and Statistics: Essays in honor of Harold Hotelling. Menlo Park, CA: Stanford University Press.
- Lima, A. F. A. de, Castro, Í. B. de, y Rocha-Barreira, C. de A. (2006). Imposex induction in *Stramonita haemastoma floridana* (Conrad, 1837) (Mollusca: Gastropoda: Muricidae) submitted to an organotin-contaminated diet. *Brazilian Journal of Oceanography*, 54(1), 85–90.
- Liubartseva, S., De Dominicis, M., Oddo, P., Coppini, G., Pinardi, N., and Greggio, N. (2015). Oil spill hazard from dispersal of oil along shipping lanes in the Southern Adriatic and Northern Ionian Seas. *Marine Pollution Bulletin*, 90(1-2), 259–272.
- Lopes-dos-Santos, R. M., Almeida, C., Pereira, M. de L., Barroso, C. M., y Galante-Oliveira, S. (2014). Morphological expression and histological analysis of imposex in *Gemophos viverratus* (Kiener, 1834) (Gastropoda: Buccinidae): A new bioindicator of tributyltin pollution on the West African coast. *Journal of Molluscan Studies*, 80(4), 412–419.

- Lucialli, P., Ugolini, P. y E. Pollini. (2007). Harbour of Ravenna: The contribution of harbour traffic to air quality. *Atmospheric Environment*, 41: 6421–6431.
- Mancera, J., G. Pinto y S. Vilardy. (2013). Patrones de distribución estacional de masas de agua en la bahía de Santa Marta, Caribe colombiano: importancia relativa del upwelling y outwelling. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 2: 329-360.
- Marigómez, I., Garmendia, L., Soto, M., Orbea, A., Izagirre, U., y Cajaraville, M. P. (2013). Marine ecosystem health status assessment through integrative biomarker indices: A comparative study after the Prestige oil spill “Mussel Watch”. *Ecotoxicology*, 22(3), 486–505.
- Marine Traffic. (2019). MarineTraffic: Global Ship Tracking Intelligence | AIS Marine Traffic [Monitoring and data]. Recuperado el 3 de octubre de 2019, de <https://www.marinetraffic.com/en/ais/home/centerx:-12.5/centery:22.9/zoom:2>
- Márquez, E. y J. Rosado. (2011). Clasificación e impacto ambiental de los residuos sólidos generados en las playas de Riohacha, La Guajira, Colombia. *Rev. Fac. Ing. Univ. Antioquia* N.º 60 pp. 118-128.
- Márquez, F., Gonzalez, R., y Bigatti, G. (2011). Combined methods to detect pollution effects on shell shape and structure in Neogastropods. *Ecological Indicators*, 11, 248–254.
- Márquez, F., Primost, M. A., y Bigatti, G. (2016). Shell shape as a biomarker of marine pollution historic increase. *Marine Pollution Bulletin*, 114(2), 816–820.
- Matthiessen, P., y Gibbs, P. E. (1998). Critical appraisal of the evidence for tributyltin-mediated endocrine disruption in mollusks. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 17(1), 37–43.
- McClanahan, T. R. (1992). Epibenthic gastropods of the Middle Florida Keys: The role of habitat and environmental stress on assemblage composition. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 160(2), 169–190.
- Merk, O. (2014). *Shipping Emissions in Ports*. International Transport Forum, Paris, France. 34 pp.

- Miloslavich, P., Penchaszadeh, P. E., y Bigatti, G. (2007). Imposex en gastrópodos de Venezuela. *Ciencias Marinas*, 33(3), 319–324.
- MinCit. (2012). Investigación internacional de mercados para la región de América. Informe del contrato No.FPT-113. Fondo de Promoción Turística de Colombia. 298p.
- MinSalud. (1984). Decreto No. 1594 del 26 de junio de 1984. Por el cual se reglamenta parcialmente el Título I de la Ley 9 de 1979, así como el Capítulo II del Título VI – Parte III - Libro II y el Título III de la Parte III – Libro I – del Decreto – Ley 2811 de 1974 en cuanto a usos del agua y residuos líquidos, Bogotá. 61 p.
- Miotke-Dzięgiel, J. (2007). Ports in development of maritime tourism – problems and challenges. The case of the Pomeranian region. *Tourism and Hospitality Management*, Vol. 13, No. 2, pp. 483-492.
- Morabito, R., Sonak, S., Bhosle, N., Chaudhury, R., Gipperth, L., Veld, G., y Mukherjee, A. (2009). *TBT IMPACTS: Towards improved management of organotin compounds*. T. T. E. a. R. Institute, European Commission.
- Moscarella, M.V., F. García y Palacio C. (2011). Calidad Microbiológica del agua de la Bahía de Santa Marta, Colombia. *Revista Dyna*, 167:132-141.
- Munim, Z. H. and Schramm, H-J. (2018). The impacts of port infrastructure and logistics performance on economic growth: the mediating role of seaborne trade. *Journal of Shipping and Trade* 3:1.
- Muñoz-Mancilla, E., Torres-García, M., y Velásquez-Guerrero, D. (2007). Descripción histológica de la gónada femenina del caracol de tinte *Purpura patula* (Linné, 1758), de la laguna de Tamiahua, Veracruz. En E. Ríos-Jara, M. C. Esqueda-González, y C. M. Galván-Villa (Eds.), *Estudios sobre la Malacología y Conquiliología en México* (pp. 90–91). México: Universidad de Guadalajara
- NTC. (1992). Pinturas y productos afines. Método estándar para ensayar paneles con anti-incrustantes en inmersión poco profunda. 3374 NTC.
- Nuñez, J. D., Laitano, M. V., y Cledón, M. (2012). An intertidal limpet species as a bioindicator: Pollution effects reflected by Shell characteristics. *Ecological Indicators*, 14, 178–183.

- OMI. (2012). La contribución de la OMI al desarrollo marítimo sostenible. Organización Marítima Internacional.
- OMI. (2012). *La contribución de la OMI al desarrollo marítimo sostenible*. Organización Marítima Internacional.
- Otegui, M. B., Zamprogno, G. C., França, M. A., Daros, B. N., Albino, J., y Costa, M. B. (2019). Imposex response in shell sizes of intertidal snails in multiple environments. *Journal of Sea Research*, 147, 10–18.
- Paz-Villarraga, C. A., Castro, Í. B., Miloslavich, P., y Fillmann, G. (2015). Venezuelan Caribbean Sea under the threat of TBT. *Chemosphere*, 119, 704–710.
- Penchaszadeh, P. E., Averbuj, A., y Cledón, M. (2001). Imposex in gastropods from Argentina (south-western Atlantic). *Marine Pollution Bulletin*, 42(9), 790–791.
- Peralta, A. C., Miloslavich, P., y Bigatti, G. (2014). Imposex in *Voluta musica* (Caenogastropoda: Volutidae) from Northeastern Península de Araya, Venezuela. *Revista de Biología Tropical*, 62(2), 523–532.
- Pettijohn, F., Potter, J., y Siever, R. (1973). *Sand and Sandstones* (Second). Berlin: Springer-Verlag.
- Primost, M. A., Bigatti, G., y Márquez, F. (2016). Shell shape as indicator of pollution in marine gastropods affected by imposex. *Marine and Freshwater Research*, 67(12), 1948-1954.
- Radke, B., Staniszewska, M., Wasik, A., Namieśnik, J., y Bolalek, J. (2008). Organotin Compounds in Marine Sediments. *Polish Journal of Environmental Studies*, 17(5), 643 – 654.
- Ramón, M., y Amor, M. J. (2002). Reproductive cycle of *Bolinus brandaris* and penis and genital duct size variations in a population affected by imposex. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 82(3), 435–442.
- Rees, C. M., Brady, B. A., y Fabris, G. J. (2001). Incidence of imposex in *Thais orbita* from Port Phillip Bay (Victoria, Australia), following 10 years of regulation on use of TBT.

- Rico, J. P. (2017). *Variación en la forma y estructura de la concha de neogastrópodos del Caribe colombiano, asociada al fenómeno de imposex* (Tesis M. Sc., Universidad Nacional de Colombia-Sede Caribe). Recuperado de http://www.bdigital.unal.edu.co/64364/1/rico_mora_jeimmy_paola_tesis.pdf
- Rico, J.P., Orozco, G.J., Rodríguez-Grimón, R.O., Campos, N.H. 2019. Imposex en neogastrópodos del Caribe colombiano: un acercamiento al estudio de la contaminación de las aguas marino-costeras de la región. *Ciencias de mar: una mirada desde la Universidad Nacional de Colombia*. 220 p.
- Rodríguez-Grimón, R. O., Arroyo Osorio, M. F., de Freitas, D. M., y Castro, Í. B. (2016). Tributyltin impacts in Galapagos Islands and Ecuadorian shore: Marine protected areas under threat. *Marine Policy*, 69, 24–31.
- Rohlf, F. J. (2004). *Software TPSDig Version 1.40*. New York: State University of New York.
- Rohlf, F. J., y D. E. Slice. (1990). Extensions of the Procrustes method for optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39, 40–59.
- Roos, N. (2016). Imposex in marine gastropods from the Atlantic coast of South Africa. Dissertation for the degree Magister Scientiae in Environmental Sciences at North-West University, 155p.
- Rossato, M., Costa, M. B., de Castro, Í. B., y Pinho, G. L. L. (2018). Size, season and origin of gastropods matter in imposex assessments. *Ecotoxicology and environmental safety*, 159, 324–331.
- Ruiz, J. M., Quintela, M., y Barreiro, R. (1998). Ubiquitous imposex and organotin bioaccumulation in gastropods *Nucella lapillus* from Galicia (NW Spain): A possible effect of nearshore shipping. *Marine Ecology Progress Series*, 164, 237–244.
- Schøyen, M., Green, N. W., Hjermmann, D. Ø., Tveiten, L., Beylich, B., Øxnevad, S., y Beyer, J. (2019). Levels and trends of tributyltin (TBT) and imposex in dogwhelk (*Nucella lapillus*) along the Norwegian coastline from 1991 to 2017. *Marine environmental research*, 144, 1–8.
- Shapiro, S. S., y Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52(3/4), 591–611.

- Sierra-Marquez, L., Sierra-Marquez, J., De la Rosa, J., y Olivero-Verbel, J. (2018). Imposex in *Stramonita haemastoma* from coastal sites of Cartagena, Colombia. *Brazilian Journal of Biology*, 78(3), 548–555.
- Slice, D. E. (1996). Introduction to landmark methods. En *Advances in Morphometrics* (pp. 113–115). Springer.
- Smolarz, K., y Bradtke, K. (2011). Bioindicative potential of shell abnormalities occurring in the clam *Macoma balthica* (L.) from the Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 62, 1421–1426.
- Sokołowski, A., Pawlikowski, K., Wołowicz, M., Garcia, P., y Namieśnik, J. (2008). Shell deformations in the Baltic clam *Macoma balthica* from southern Baltic Sea (the Gulf of Gdansk): Hypotheses on environmental effects. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 37(2), 93–101.
- Son, M., y Hughes, R. (2000). Sexual dimorphism of *Nucella lapillus* (Gastropoda: Muricidae) in north wales, UK. *Journal of Molluscan Studies*, 66(4), 489–498.
- Springer, M. (2010). Capítulo 3: Biomonitoring acuático. *Revista de Biología Tropical*, 58(4), 53–59.
- Statzner, B., y Holm, T. F. (1989). Morphological adaptation of shape to flow: Microcurrents around lotic macroinvertebrates with known Reynolds numbers at quasi-natural flow conditions. *Oecologia*, 78(2), 145–157.
- Strand, J., Jørgensen, A., y Tairova, Z. (2009). TBT pollution and effects in molluscs at US Virgin Islands, Caribbean Sea. *Environment international*, 35(4), 707–711.
- Susan, P. (2004). *Análisis de datos biométricos del molusco Purpura patula (Lineo, 1758) de la playa rocosa de Boca Andrea, Ver.* (Especialización, Universidad Veracruzana). Recuperado de <https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/47503/SusanTepetlanPalomaV.pdf?sequence=1>
- Tablado, A., y López Gappa, J. (2001). Morphometric diversity of the pulmonate limpet *Siphonaria lessoni* in different coastal environments. *Scientia Marina*, 65(1), 33–41.

- Ten Hallers-Tjabbes, C. C., Wegener, J.-W., (A.G.M.) Van Hattum, B., Kemp, J. F., Ten Hallers, E., Reitsema, T. J., and Boon, J. P. (2003). Imposex and organotin concentrations in *Buccinum undatum* and *Neptunea antiqua* from the North Sea: relationship to shipping density and hydrographical conditions. *Marine Environmental Research*, 55(3), 203–233.
- Terzaghi, K., y Peck, R. B. (1978). *Mecánica de suelos; en la ingeniería práctica*. Barcelona, España: P. Imprenta.
- Titley-O'Neal, C. P., Munkittrick, K. R., y MacDonald, B. A. (2011). The effects of organotin on female gastropods. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(9), 2360–2388.
- Tkachenko, K. S. (2000). Ecotype Variability of the Gastropod *Ceratostoma burnetti* from Pos'eta Bay (Sea of Japan). *Russian Journal of Marine Biology*, 26(1), 27–31.
- Trozzi, C., Vaccaro, R. and L. Nicolo. (1995). Air pollutants emissions estimate from maritime traffic in the italian harbours of Venice and Piombino. *The Science of the Total Environment*, 169: 257-263.
- Trussel, G. (2000). Predator-induced plasticity and Morphological trade-offs in latitudinally separated populations of *Littorina obtusata*. *Evolutionary Ecology Research*, 2(6), 803–822.
- Trussel, G., y Etter, R. J. (2001). Integrating genetic and environmental forces that shape the evolution of geographic variation in a marine snail. *Genetica*, 112–113, 321–337.
- Trussell, G., y Smith, D. (2000). Induced defenses in response to an invading crab predator: An explanation of historical and geographic phenotypic change. *PNAS*, 97(5), 2123–2127.
- UNCTAD (UN Conference on Trade and Development). (2016). Review of maritime transport 2016. Geneva, Switzerland: UNCTAD.
- UNESCO. (1984). Manual para la vigilancia del aceite y de los hidrocarburos del petróleo disueltos/dispersos en el agua de mar y en las playas. Manuales y guías No. 13 de la COI. 87 p.
- Ureña Robles, R. (2007). Metalotioneínas en peces y gasterópodos: Su aplicación en la evaluación de la contaminación. (Tesi Doctoral, Facultat de Ciències Biològiques,

Universitat de València). Recuperado de
<https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/9493/urena.pdf?sequence=1>

Vasconcelos, P., Cúrdia, J., Castro, M., y Gaspar, M. B. (2007). The shell of *Hexaplex (Trunculariopsis) trunculus* (Gastropoda: Muricidae) as a mobile hard substratum for epibiotic polychaetes (Annelida: Polychaeta) in the Ria Formosa (Algarve coast—Southern Portugal). *Hydrobiologia*, 575(1), 161–172.

Vasconcelos, P., Moura, P., Barroso, C. M., y Gaspar, M. B. (2011). Size matters: Importance of penis length variation on reproduction studies and imposex monitoring in *Bolinus brandaris* (Gastropoda: Muricidae). *Hydrobiologia*, 661(1), 363–375.

Via, S. (2002). The Ecological Genetics of Speciation. *The American Naturalist*, 159, S1–S7.

Vivas-Aguas, L.J., P.S. Obando y A.F. Herrera. (2015a). Hoja metodológica del indicador. Índice de Calidad de Aguas Marinas y Costeras - ICAM (Versión 1.0). INVEMAR-DANE. 16p.

Vivas-Aguas, L.J., K. Ibarra, J. Sánchez, M. Martínez, Y. Nieto, Y. Moreno, I. Cuadrado, P. Obando, O. Garcés, D. Sánchez, M. Villarraga y O. Sierra. (2015b). Diagnóstico y evaluación de la calidad de las aguas marinas y costeras del Caribe y Pacífico colombianos. Serie de publicaciones del Invemar No. 4 (2015). Red de vigilancia para la conservación y protección de las aguas marinas y costeras de Colombia (REDCAM). Informe Técnico 2014, INVEMAR, Santa Marta, 320 p.

Wahl, M. (1996). Caracoles con suciedad en el flujo: Potencial de los epibiontes en *Littorina littorea* para aumentar la resistencia y reducir las tasas de crecimiento de los caracoles. *Marine Ecology Progress Series*, 138, 157–168.

Wentworth, C. K. (1922). A scale of grade and class terms for clastic sediments. *The journal of geology*, 30(5), 377–392.

WoRMS. (2019a). *Gemophos auritulus* (Link, 1807) [Website and databases]. Recuperado el 27 de septiembre de 2019, de World Register of Marine Species website: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=419968>

WoRMS. (2019b). *Plicopurpura patula* (Linnaeus, 1758) [Website and databases]. Recuperado el 27 de septiembre de 2019, de World Register of Marine Species website: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=396994>

- WoRMS. (2019c). *Stramonita floridana* (Conrad, 1837) [Website and databases]. Recuperado el 27 de septiembre de 2019, de World Register of Marine Species website: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=140417>
- WoRMS. (2019d). *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1767) [Website and databases]. Recuperado el 27 de septiembre de 2019, de World Register of Marine Species website: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=140417>
- WoRMS. (2019e). *Vasula deltoidea* (Lamarck, 1822) [Website and databases]. Recuperado el 27 de septiembre de 2019, de World Register of Marine Species website: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=714225>
- Zabala, S. (2012). Ecología trófica, crecimiento y reproducción en el gasterópodo *Adelomelon ancilla* en el Golfo Nuevo (PhD Thesis, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires). Recuperado de https://bibliotecadigital.exactas.uba.ar/download/tesis/tesis_n5291_Zabala.pdf
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D., y Fink, W. L. (2004). *Geometric Morphometrics for Biologists: A Primer*. New York: Elsevier Academic Press.