



UNIVERSIDADE DA CORUÑA

Facultade de Ciencias

Grao en Bioloxía

Memoria do Traballo de Fin de Grao

Análisis de la evolución del imposex en Europa

Análise da evolución do imposex en Europa

Analysis of the evolution of imposex in Europe

Adrián Gil Fernández

Curso:2021-2022

Julio 2022

Director Académico: Jose Miguel Ruiz De la Rosa

Indice

Resumen

Palabras clave

1	Introducción	1
2	Objetivos.....	3
3	Material y Métodos	3
3.1	<i>Nucella lapillus</i>	3
3.2	VDSI.....	4
3.3	Datos.....	6
4	Resultados y discusión	7
4.1	Portugal.....	7
4.2	España.....	8
4.3	Francia	9
4.4	Reino Unido	11
4.4.1	Inglaterra y Gales	11
4.4.2	Irlanda del Norte	12
4.5	Islandia.....	14
4.6	Noruega	16
5	Conclusiones	17
6	Bibliografía.....	18
7	Anexos	23

RESUMEN

El TBT (tributilo de estaño) es un compuesto organoestánico que durante décadas se usó como agente biocida en las pinturas antiincrustantes de navíos. A partir de los años 80 se empezaron a percibir ciertos efectos perjudiciales en biota marina no objetivo del compuesto. Uno de los efectos más conocidos es el imposex que afecta a cientos de especies de gasterópodos marinos y consiste en la imposición sobre las hembras de características sexuales masculinas, lo que lleva a la esterilidad del individuo y la falta de reclutamiento poblacional.

La venta, uso y distribución de esta clase de pinturas fueron prohibidas a nivel europeo en 2003 y a nivel global en 2008 por la organización marítima internacional (IMO). En esta revisión se analizan los distintos estudios de biomonitorización sobre el gasterópodo *Nucella lapillus* (L.) en varios países europeos para analizar la efectividad de dichas prohibiciones. Se analiza en cada estudio la secuencia del vaso deferente (VDSI) elaborando gráficos de cajas y bigotes para comparar su evolución.

Tras este estudio se concluye que la tendencia europea apunta a una recuperación general en todos los países afectados. Sin embargo, es necesario continuar los estudios ya que ningún país (excepto Noruega) se ha recuperado totalmente, prestando especial atención a los posibles nuevos aportes que puedan haber de estos contaminantes.

Palabras clave: Compuestos organoestannicos (OT) , Europa, Imposex, *Nucella lapillus*, TBT, VDSI.

RESUMO

O TBT (tributilo de estaño) é un composto organoestánnico que durante décadas se usou como axente biocida nas pinturas antincrustantes de navíos. A partir dos anos 80 empezáronse a percibir certos efectos prexudiciais na biota mariña non obxectivo do composto. Un dos efectos máis coñecidos é o imposex que afecta a centos de especies de gasterópodos mariños e consiste na imposición sobre as femias de características sexuais masculinas, o que leva á esterilidade do individuo e á falta de reclutamento poblacional.

A venda, uso e distribución desta clase de pinturas foron prohibidas a nivel europeo en 2003 e a nivel global en 2008 pola organización marítima internacional (IMO). Nesta revisión analízanse os distintos estudos de biomonitorización sobre o gasterópodo *Nucella lapillus* (L.) en varios países europeos para analizar a efectividade das devanditas prohibicións. Analízase en cada estudo a secuencia do vaso deferente (VDSI) elaborando gráficos de caixas e bigotes para comparar a súa evolución.

Tras este estudo conclúese que a tendencia europea apunta a unha recuperación xeral en todos os países afectados. Con todo, é necesario continuar os estudos xa que ningún país (excepto Noruega) se recuperou totalmente, prestando especial atención ás posibles novas achegas que poidan haber destes contaminantes.

Palabras clave: Compostos organoestánnicos (OT), Europa, Imposex, , *Nucella lapillus* TBT, VDSI.

ABSTRACT

TBT (tributyltin) is an organotin compound that for decades was used as a biocide agent in antifouling paints for ships. Since the 1980s, certain detrimental effects on non-target marine biota of the compound began to be perceived. One of the best known effects is imposex, which affects hundreds of species of marine gastropods and consists in the imposition of male sexual characteristics on females, leading to sterility of the individual and lack of population recruitment.

The sale, use and distribution of this kind of paints were banned at European level in 2003 and at global level in 2008 by the International Maritime Organization (IMO). This review analyzes the different biomonitoring studies on the gastropod *Nucella lapillus* (L.) in several European countries to analyze the effectiveness of these bans. In each study, the sequence of the vas deferens (VDSI) is analyzed by elaborating box-and-whisker plots to compare their evolution.

After this study, it is concluded that the European trend points to a general recovery in all the countries concerned. However, it is necessary to continue the studies since no country (except Norway) has fully recovered, paying special attention to possible new contributions of these pollutants.

Key words: Europe, Imposex, *Nucella lapillus*, Organotin compounds (OT), TBT, VDSI.

1. Introducción

El tributilo de estaño o TBT por sus siglas en inglés forma parte de una familia de compuestos denominados compuestos organostánicos. Esta familia ha sido enormemente empleada como aditivos en plásticos, bactericidas e insecticidas en la agricultura, conservantes de la madera en la producción y otras funciones industriales. Concretamente el TBT forma parte de las pinturas antiincrustantes para embarcaciones (Zhang et al., 2021). Estas pinturas son de gran utilidad ya que estas incrustaciones animales, algales e incluso microbianas causan fricción, corrosión y pérdidas económicas en dique seco, así como un mayor consumo de combustible (Çetintürk & Ünlü, 2022).

El TBT se usa desde hace décadas en pinturas de este estilo y a partir de los años 80, debido a efectos sobre la fauna no objetivo del compuesto, muchos países tomaron medidas para regularlo o prohibirlo. En 2001 la organización marina internacional (IMO) decretó una prohibición por medio de la convención para el control de los sistemas antiincrustantes dañinos en barcos (AFS convention) por la cual a partir del 1 de enero de 2003 no se podrían aplicar compuestos organostánicos y el 1 de enero de 2008 se deberían de eliminar toda presencia de estos compuestos en los buques (Gipperth, 2009; Lee et al., 2015).

Sin embargo, a pesar de estas medidas, aún es posible detectar este compuesto en flora, fauna y sedimentos marinos, así como suspendido en el agua. Su presencia es preocupante ya que estos químicos funcionan como un potente disruptor endocrino a niveles muy bajos. Además, en sedimentos, su degradación es mucho más lenta que en el agua y pueden llegar a alcanzar una vida media de hasta una década. Esta es una de las razones por la que algunos sedimentos no están considerados como en buen estado por la MSFD (Directiva marco sobre la estrategia marina) (Concha-Graña et al., 2021). En el agua poco profunda, sin embargo, se degrada hasta en un 10% en 30 min solamente por acción de la luz ultravioleta. Los sedimentos tienen una mayor capacidad de absorción del contaminante que el agua debido a su naturaleza hidrófoba, sin embargo, esta absorción se puede revertir y liberarse de nuevo al medio líquido,

lo que convierte a los sedimentos en una fuente constante de estos compuestos organostánicos.

Como ya se mencionó anteriormente, el TBT es un disruptor endocrino que funciona incluso a concentraciones bajas. Este compuesto tiene multitud de efectos sobre la fauna como modificar el metabolismo de algunos peces (Zhang et al., 2016), disrupciones endocrinas en la tiroides de mamíferos (Sharan et al., 2014), anomalías en la concha de bivalvos como la ostra *Crassostrea gigas* que sufre un engrosamiento y formación de múltiples cámaras (Higuera-Ruiz & Elorza, 2011) o, en el que nos centramos en este trabajo, el imposex.

El imposex se define como la imposición de los caracteres sexuales masculinos en la hembra de ciertas especies de caracoles marinos. Fue nombrado así por Smith (1971) después de localizar una estructura similar a un pene tras el tentáculo derecho de las hembras de una especie de gasterópodo en Norteamérica, *Nassarius obsoletus*. La cantidad de especies afectadas por este síndrome ha ido creciendo desde las 132 en 1991 hasta las 268 en 2009 (Fernandez, 2019). Debido a este síndrome, durante los años de mayor incidencia, numerosas poblaciones de algunos de estos gasterópodos desaparecieron por completo debido a la esterilidad femenina acarreada por el imposex.

Aunque se encuentran diferencias en sensibilidad, uno de los gasterópodos más susceptibles al efecto masculinizante del TBT es *Nucella lapillus* (L.). En este molusco la imposición del pene y vaso deferente tiene lugar para concentraciones de TBT en agua de tan solo 1-2 ng/L, a niveles de 5 ng/L se ocasiona esterilidad y a concentraciones superiores de 25 ng/L se inicia la espermatogénesis (Couceiro, 2008). De esta forma se considera el imposex como un biomarcador muy útil en programas de monitorización de la MSFD y es ya de mandato obligatorio para la monitorización llevada a cabo por OSPAR (Convención para la Protección del Medio Ambiente Marino del Atlántico del Nordeste). Con esta clasificación es fácil detectar cuando un lugar no cumple los criterios de calidad, marcados en una concentración de TBT de 0.1 ng/L, ya que

a partir de dicha concentración se muestran efectos de imposex (Laranjeiro et al., 2018)

2. Objetivos

El objetivo de este trabajo es hacer una revisión de la monitorización llevada a cabo en distintos lugares de Europa mediante el control de poblaciones del gasterópodo *Nucella lapillus* afectadas por imposex. De esta forma se espera observar la efectividad de las medidas llevadas a cabo por los distintos organismos europeos para hacer una valoración de ellas mediante la evolución temporal de dichas poblaciones.

3. Material e métodos

3.1 *Nucella lapillus*

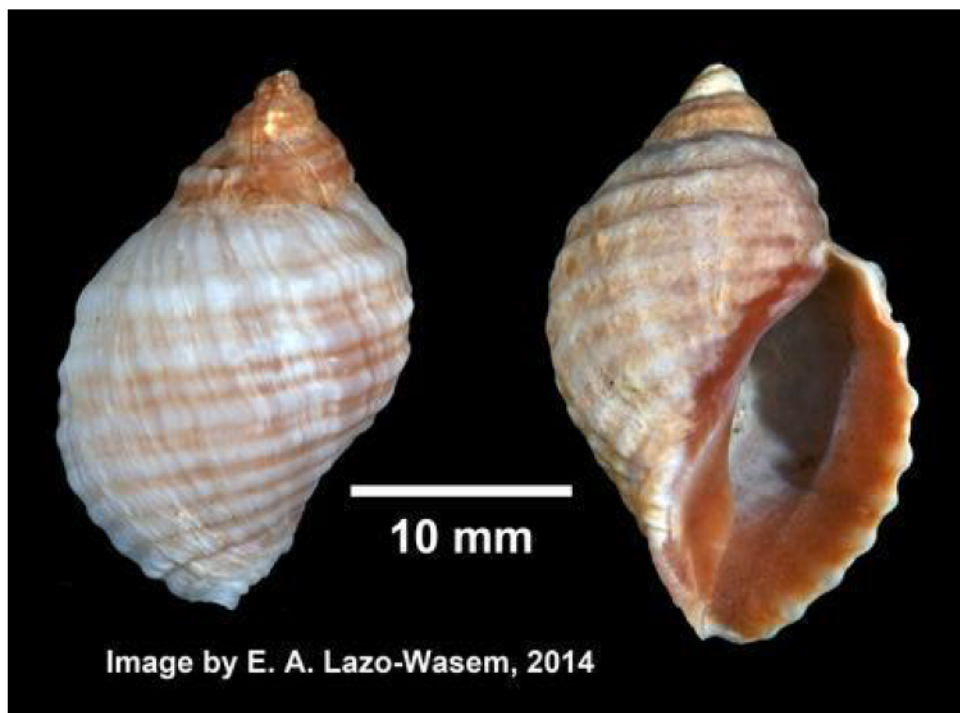


Fig. 1: Ejemplares de *Nucella lapillus*.

N. lapillus (Fig. 1) tiene una distribución geográfica bastante extensa por todo el atlántico norte, desde Rusia hasta el estrecho de Gibraltar, Islandia y Groenlandia e incluyendo la zona sur de Terranova hasta la región de Nueva York. Forma parte de la familia *Muricidae* y, como todos sus miembros, es

carnívoro. Concretamente, *N. lapillus* vive en las costas rocosas del intermareal donde se alimenta de mejillones y cirrípedos principalmente, aunque también pueden formar parte de su dieta diversos organismos incluyendo otros gasterópodos. Su morfología adulta consta de variaciones dependiendo del hábitat donde se encuentre aunque, en general, podemos decir que su concha posee una longitud entre los 25 y 35 mm; es blanquecina aunque se pueden encontrar un rango amplio de colores en diversas poblaciones, en parte debido a su cambio de dieta. La razón de esta variabilidad en tamaño y forma se suele justificar con la limitada movilidad que tiene esta especie ya que carecen de fase larvaria velígera nadadora (poseen desarrollo directo) y los adultos tienden a pasar su vida (entre 6 y 10 años) sin realizar grandes desplazamientos en el área costera donde viven. Son organismos dioicos y su reproducción es interna. (Gibbs, 1999; Rolan et al., 2004).

Estas características, entre otras, hacen a *N. lapillus* un candidato idóneo para la monitorización del TBT en Europa. De forma resumida, podemos decir que es un organismo adecuado porque: tiene una amplia distribución a ambos lados del atlántico, sin embargo, permanece en el mismo tramo de costa durante toda su vida; es fácil de identificar y resistente, lo cual permite experimentos de trasplante; y su sensibilidad al TBT es bastante elevada (Gibbs et al., 1987).

3.2 VDSI

Gibbs (1999) mantiene que el desarrollo del pene es el marcador del imposex más sencillo de detectar. Sin embargo, esto no supone ningún riesgo biológico. La esterilización de las hembras es causada por el bloqueo del oviducto que se produce por la formación del vaso deferente y no por el desarrollo de una estructura falica por ello, el parámetro de referencia para las poblaciones afectadas por el imposex debería de ser el índice de secuencia del vaso deferente (VDSI por sus siglas en inglés).

De esta forma el reconocimiento de diferentes estados del vaso deferente aporta un método mucho más sensible para categorizar la intensidad del imposex. Como se describe en Gibbs et al. (1987), el vaso deferente es un conducto formado por el plegamiento del epitelio de la cavidad del manto. En *N. lapillus*

este desarrollo se produce desde 2 extremos. Comienza a surgir la parte proximal del vaso deferente como un plegamiento del epitelio cercano al margen ventral de la prominente papila genital, luego comienza la formación distal. Tras el tentáculo derecho se inicia el crecimiento de una estructura similar a un pene y desde su base se comienza a desarrollar la parte distal del conducto hasta unirse con la parte proximal.

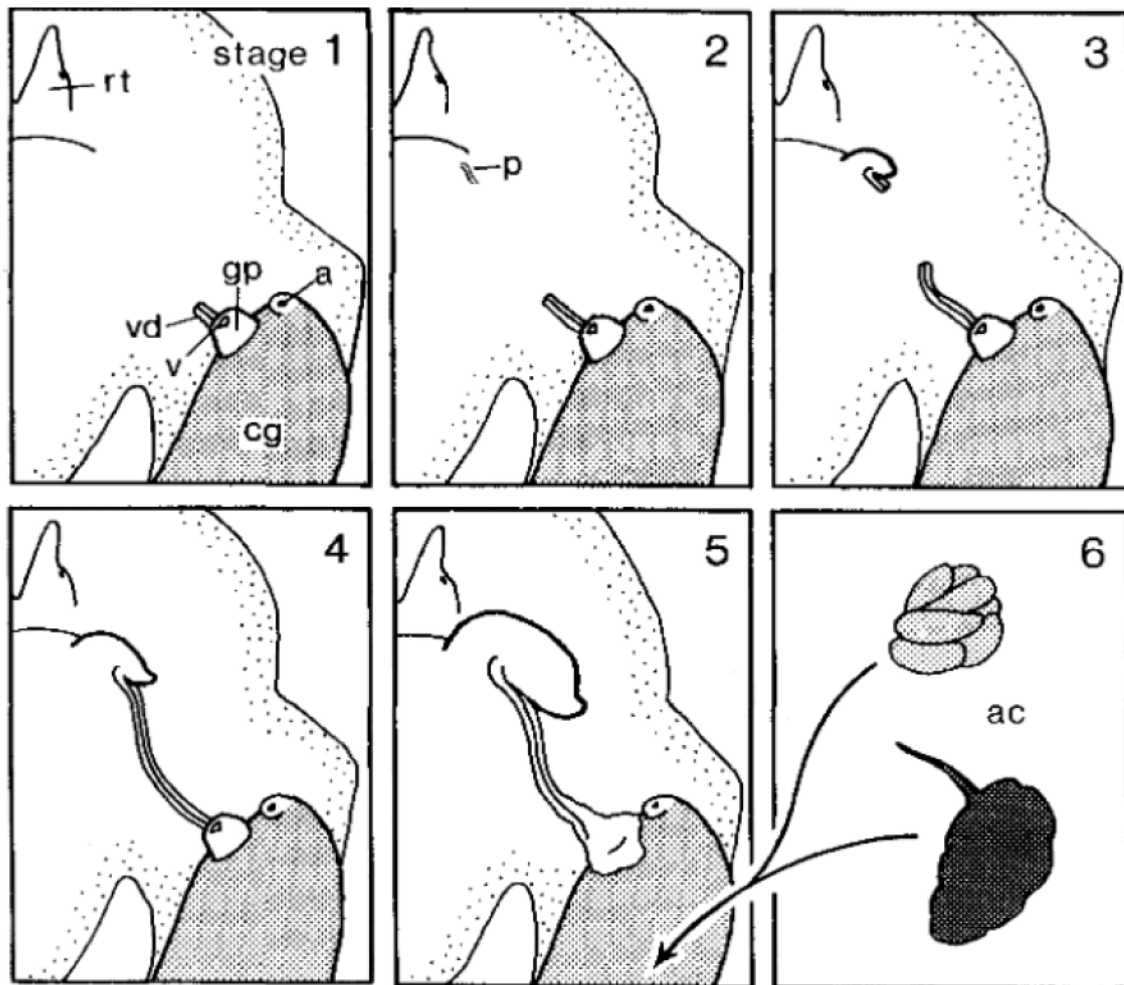


Fig. 2: Estados del desarrollo del vaso deferente en hembras de *Nucella lapillus*. Abreviaciones: a, ano; ac, acumulación de capsulas abortadas; cg, glándula de la capsula; gp papila genital; p, pene; rt, tentáculo derecho; v, vulva; vd, vaso deferente. (Gibbs et al., 1999)

Así diferenciamos 7 etapas de desarrollo de esta estructura (Fig. 2) que vienen categorizadas por: hembra no afectada (estadio 0); desarrollo inicial de la sección proximal del vaso deferente (estadio 1); comienzo del desarrollo del pene (estado 2); el pene tienen ya un tamaño pequeño y se empieza a desarrollar la sección distal del vaso (estadio 3); las secciones distal y proximal se unen

(estadio 4); la vulva deja de ser visible por un crecimiento sobredimensionado del tejido del vaso deferente (estadio 5); en el interior de la glándula de la capsula se encuentran capsulas abortadas (estadio 6) (Gibbs, 1999). Lo que se pretende es calcular la media del estadio del VD para tener un índice que se pueda comparar entre poblaciones. De esta forma cualquier población que muestre un índice mayor de 4 indicaría que contiene hembras esterilizadas y por lo tanto su capacidad reproductiva estaría reducida. Para hacer esta clasificación más sencilla se adoptó un criterio de clases por OSPAR (2004) que viene relatado en la Tabla 1.

Tabla 1: Clasificación del índice de secuencia del vaso deferente acorde con el criterio establecido por OSPAR (2004) para el gasterópodo Nucella lapillus. EAC: environmental assesment criterion, corresponde a la concentración sobre la cual se observan efectos negativos.

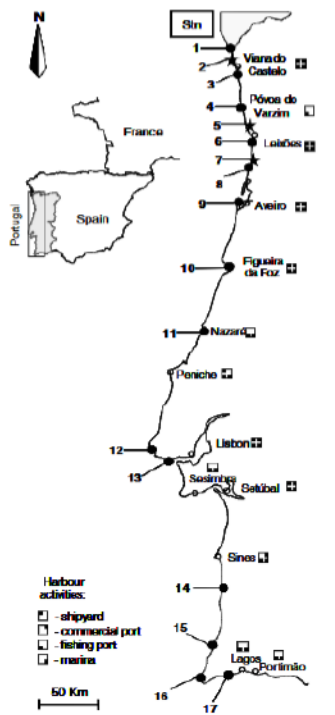
Clase	Definición	VDSI
A	El nivel de imposex es cercano a 0	<0.3
B	Indica exposición al TBT por debajo del EAC	0.3 - <2.0
C	Indica exposición al TBT por encima del EAC	2.0 - <4.0
D	Las capacidades reproductivas se ven afectadas pero todavía se encuentran algunas hembras fértiles	4.0 - 5.0
E	La población no es capaz de reproducirse	5.0 - 6.0
F	La Población esta ausente o colapsada	-

3.3 Datos.

Para este TFG se han recopilado los datos de VDSI de *N.lapillus* en varios países Europeos. En este trabajo se examinarán datos de Portugal, extraídos de Galante-Oliveira et al. (2006, 2011); España, extraídos de Ruiz et al. (2017, 2018); Francia, extraídos de Huet et al. (2003; 2004; 2006; 2010) y Toxem (2012.); Reino Unido, extraídos de Harrison et al. (2020) y Nicolaus & Barry (2015); Islandia, extraídos de Gudmundsdóttir et al. (2011) y Noruega, extraídos de Schøyen et al. (2019). Y con ellos elaboramos gráficos de cajas y bigotes para analizar la evolución temporal de cada región.

4. Resultados y discusión

Todos los datos recopilados en este trabajo se encuentran recogidos en tablas en los Anexos 1-7.



Mapa 1: Mapa de la costa portuguesa indicando los puntos de muestreo (1-17) y las principales actividades portuarias extraído de Galante-Oliveira et al., (2006).

4.1. Portugal

Galante-Oliveira et al. (2006, 2011) realizaron un estudio de 17 puntos de muestreo a lo largo de toda la costa lusa (Mapa 1) que abarcan los años 2000, 2003, 2006 y 2008 (Anexo 1). En estos datos, recogidos en la Fig. 3, se aprecia un estado intermedio del imposex (estadio C) en los primeros años del muestreo. Se puede observar que con el avance de los años cada vez se ha reducido más el índice de secuencia del vaso deferente. El primer cambio notable comienza en el 2003 con una dispersión más grande de los datos y un cambio en la media desde 3.5 (clase C) en el año 2000 a 2.78 (clase C) en el 2003. En este año ya existía una regulación parcial, aunque no una prohibición total, del uso de este compuesto en

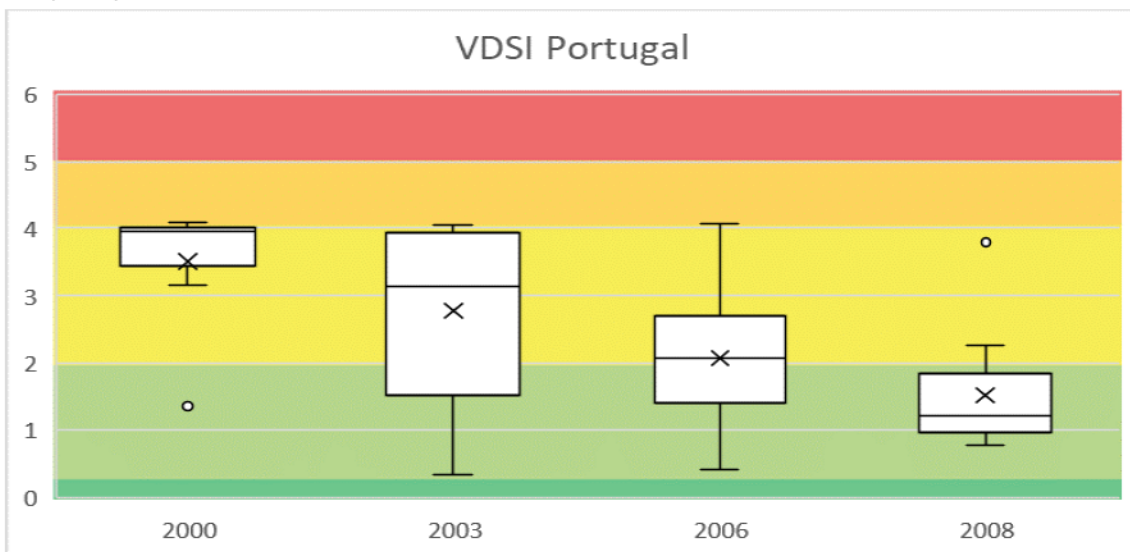
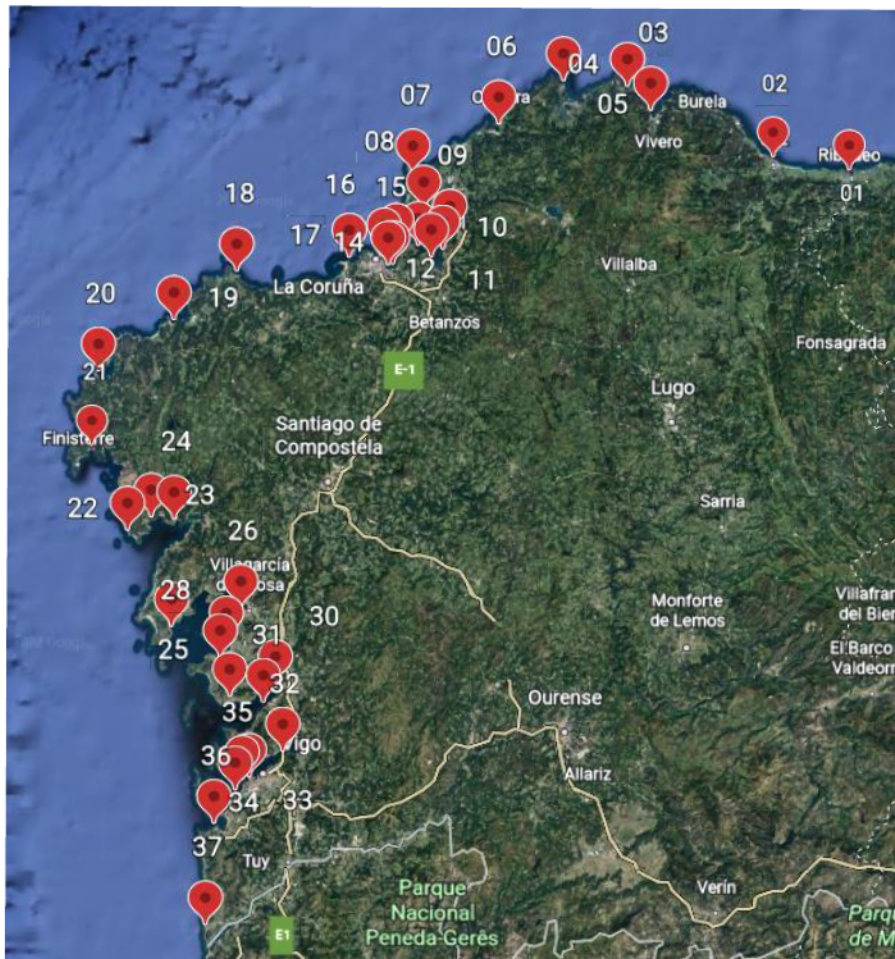


Fig. 3: Gráfica de cajas y bigotes elaborada a partir de los datos obtenidos en los artículos Galante-Oliveira et al., (2006, 2011)

navíos, por lo que se podría deducir que este descenso es debido a estas medidas. El cambio más notable, se lleva a cabo en el 2008, cuando ya si existía una prohibición total de presencia del TBT en las embarcaciones, donde el VDSI desciende por primera vez a la clase B llegando a tener una media de 1.51.

4.2. España

En las costas gallegas se realizó un estudio con hasta 37 puntos de muestreo por Ruiz et al. (2017, 2018) donde se controlaron en los años 1996, 2003, 2006, 2009, 2012 y 2015 (Anexo 2). En el Mapa 2 podemos observar la distribución de dichos puntos.



Mapa 2: Mapa de la zona de la costa gallega mostrando los datos de muestreo realizado por Ruiz et al. (2017).

A raíz de este análisis podemos ver una clara tendencia a descender a medida que pasan los años (Fig. 4). Las épocas donde más sencillo es apreciar este

descenso es entre los años 2003-2006 pasando de una media de 3.08 (clase C) a 2.33 (clase C) y 2006-2009 llegando a la clase B con una media de 1.35. Estos momentos son cercanos a la instauración de las regulaciones para pinturas antiincrustantes lo que evidencia su efectividad. Luego de estos cambios se mantiene sin mucha diferencia en el estadio B.

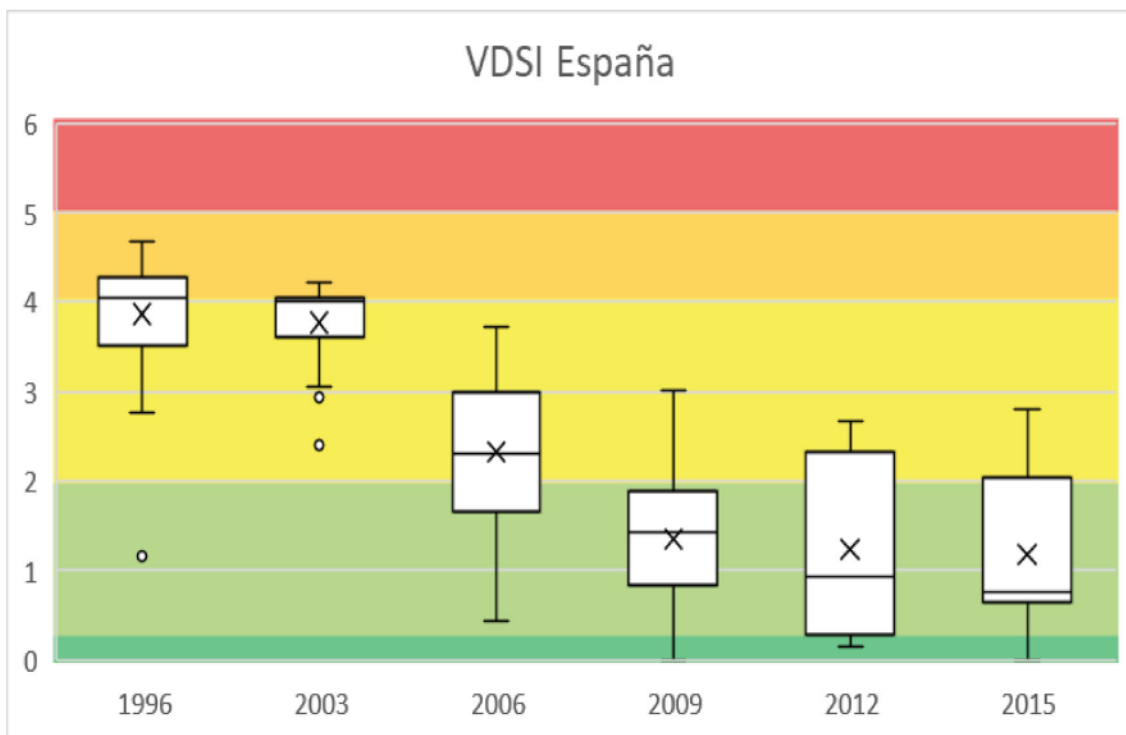
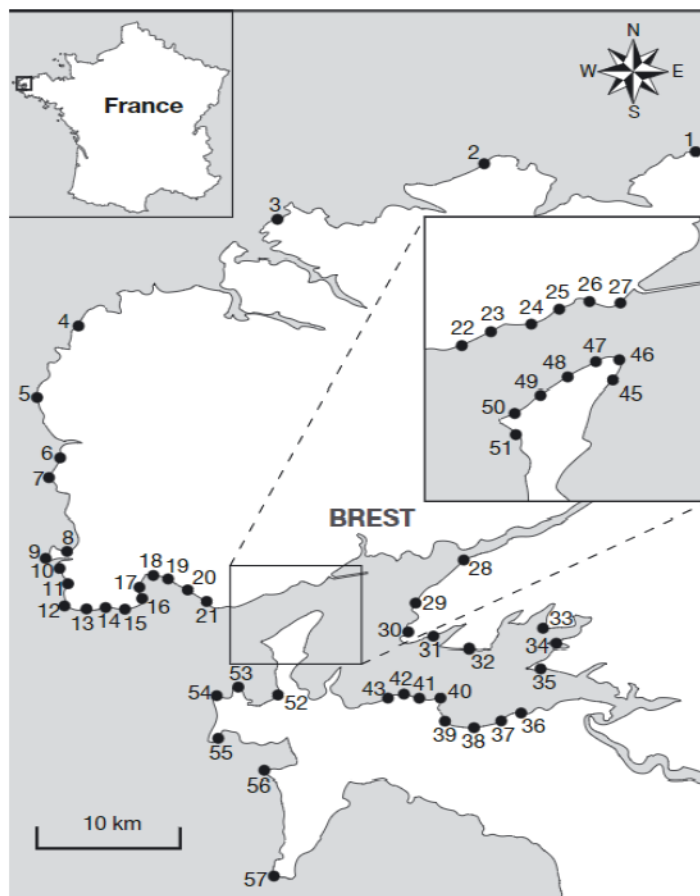


Fig. 4: Gráfica de cajas y bigotes elaborada a partir de los datos obtenidos en los artículos Ruiz et al. (2017, 2018).

4.3. Francia

En Francia se llevaron a cabo numerosos estudios de monitorización. En esta revisión se utilizarán los datos de la bahía de Brest en la Bretaña francesa (Mapa 3) donde se han realizado muestreos en hasta 56 puntos. Se han recuperado los datos de dos décadas obtenidos por Huet et al. (2003; 2004; 2006; 2010) y Toxem (2012) (Anexo 3) y se han expresado en un gráfico de cajas y bigotes (Fig. 5). Se observa como desde 1992 hasta 2003 el nivel de imposex en esta zona era elevado. Todos estos años fueron clasificados dentro de la clase D a excepción del año 2002 que obtuvo una media muy cercana al umbral (3.96). El primer punto importante de inflexión ocurre en el año 2006, cuando ya se había instaurado las primeras regulaciones. En este año se alcanza la clase



Mapa 3: Mapa de la zona de la Bretaña francesa mostrando los datos de muestreo realizado por Huet et al. (2004).

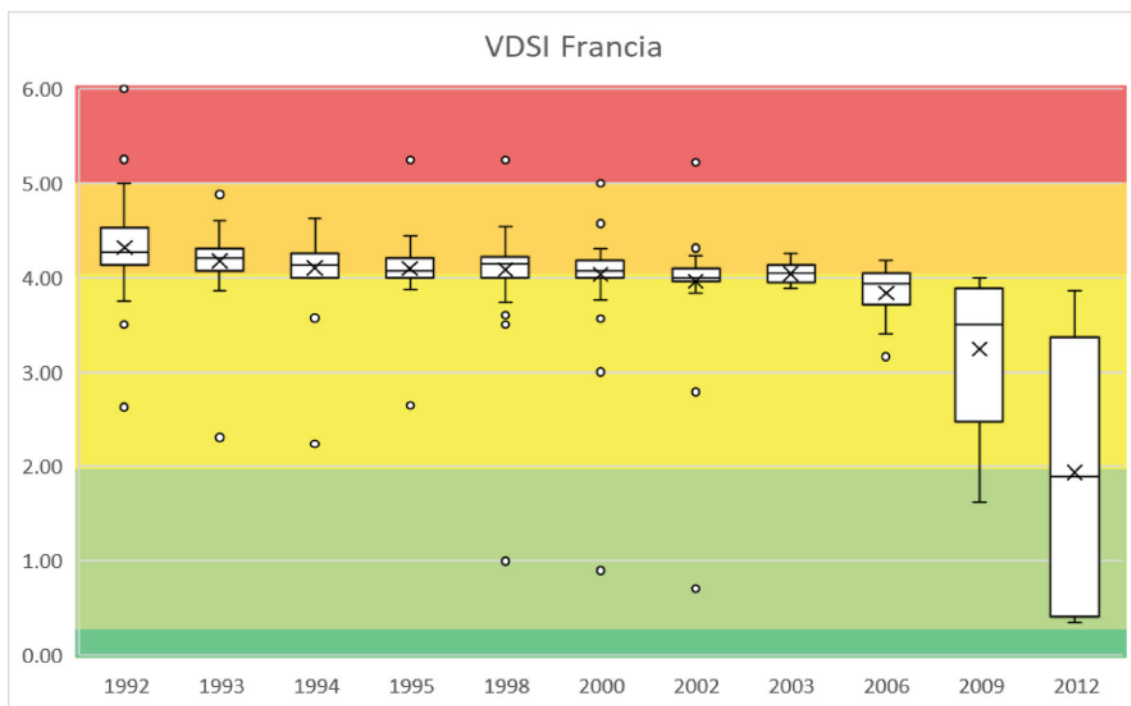


Fig. 5: Gráfica de cajas y bigotes elaborada a partir de los datos obtenidos en los artículos Huet et al. (2003; 2004; 2006; 2010) y Toxem (2012)

C con una media de 3.83 y continua su descenso hasta, en 2012, llegar a la clase B con una media de 1.93. Sin embargo, podemos observar a grandes rasgos que la disminución es lenta y paulatina.

4.4. Reino Unido

Los datos de Reino Unido están recogidos en dos artículos diferentes, uno para los datos de Inglaterra y Gales (Nicolaus & Barry, 2015) (Anexo 4) y otro para los datos de Irlanda del Norte (Harrison et al., 2020) (Anexo 5). A causa de la diferente metodología seguida en cada uno se debe analizar por separado.

4.4.1. Inglaterra y Gales

En este estudio se muestrearon 102 puntos que se indican en el Mapa 4. No se han clasificado las muestras de la misma manera que en los anteriores. Se recogieron los datos de VDSI anotando en que clase de evaluación de la OSPAR se encontraban y no por su número de estadio, de esta forma hemos decidido elaborar un histograma en lugar de un gráfico de cajas y bigotes (Fig. 6) En este



Mapa 4: Mapa de la zona de la costa británica mostrando los datos de muestreo realizado por Nicolaus & Barry (2015).

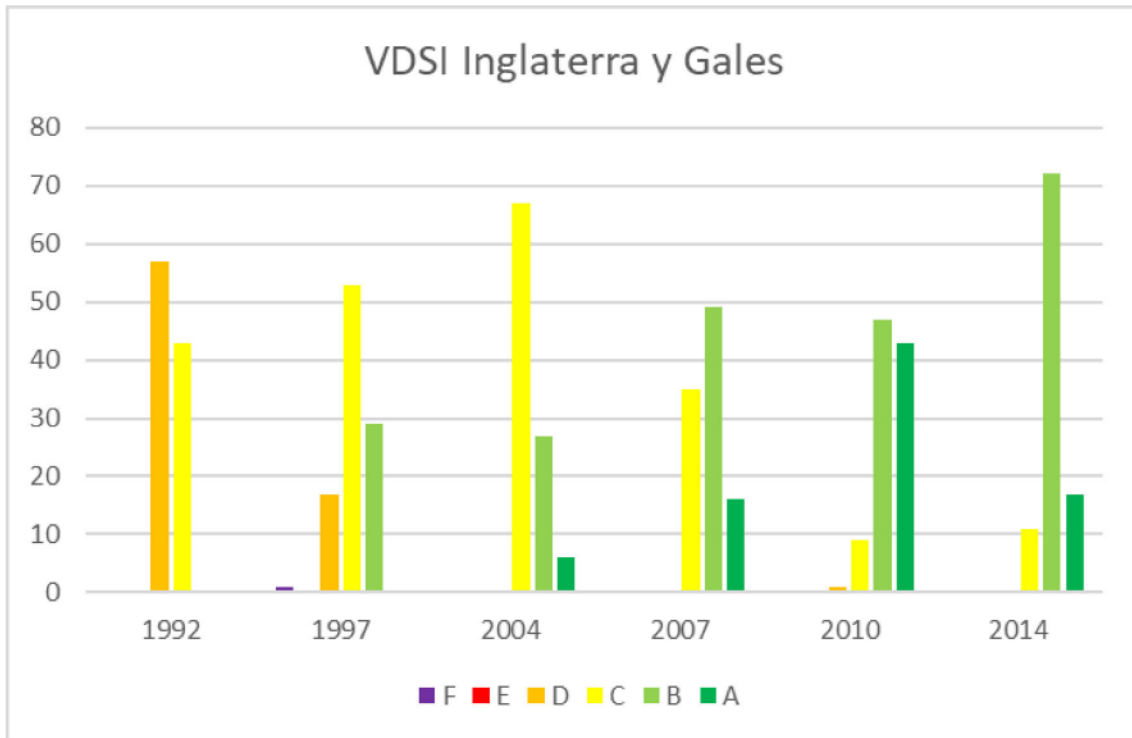
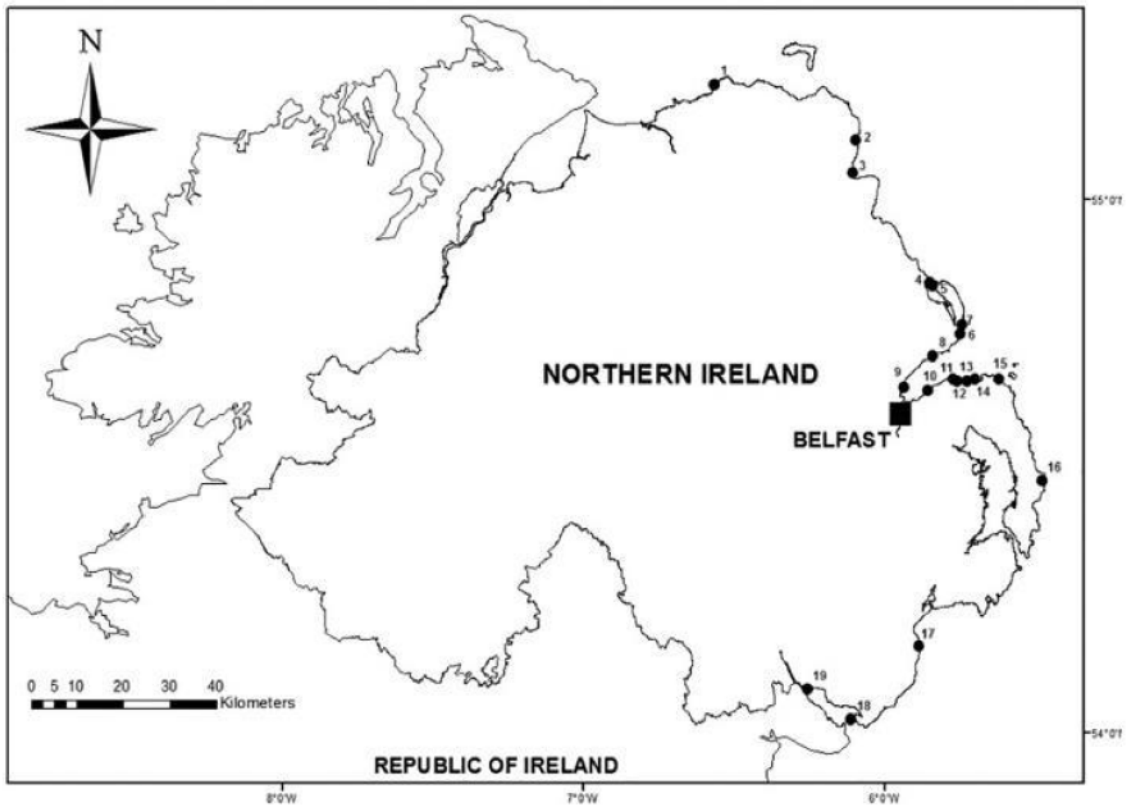


Fig. 6: Histograma elaborado a partir de los datos obtenidos en el Nicolaus & Barry (2015).

grafico se aprecia el aumento del número de individuos en estadios más tempranos de imposex, sobre todo a partir de 2004 cuando empiezan a aparecer organismos en estadio A. Nuevamente es posible observar una mejoría a partir de las fechas en las que las medidas fueron tomadas. Si bien también se encuentra alguna ligera mejoría en el año 1997 esta podría deberse al incremento de la preocupación que el efecto del TBT estaba causando, lo que llevo a las posteriores prohibiciones.

4.4.2. Irlanda del norte.

Fueron analizados 19 puntos de muestreo en Irlanda del Norte (Mapa 5) en los años 2004, 2007, 2010, 2013 y 2017 recogidos en Harrison et al. (2020). Según es posible observar en la gráfica (Fig. 7) la tendencia es nuevamente negativa llegando en el año 2017 a clasificarse la región en la clase A con una media de VDSI cercana a cero (0.21). Esto hace evidente el carácter positivo que han tenido las prohibiciones en esta región.



Mapa 5: Mapa de la zona de la costa irlandesa mostrando los datos de muestreo realizado por Harrison et al. (2020).

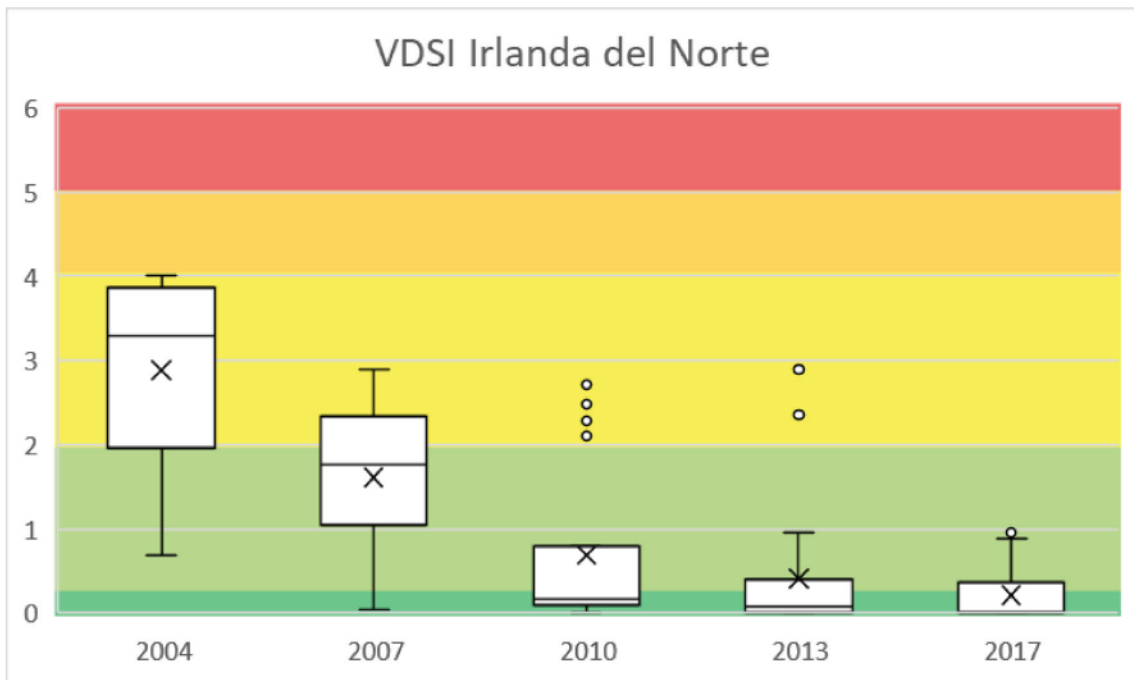
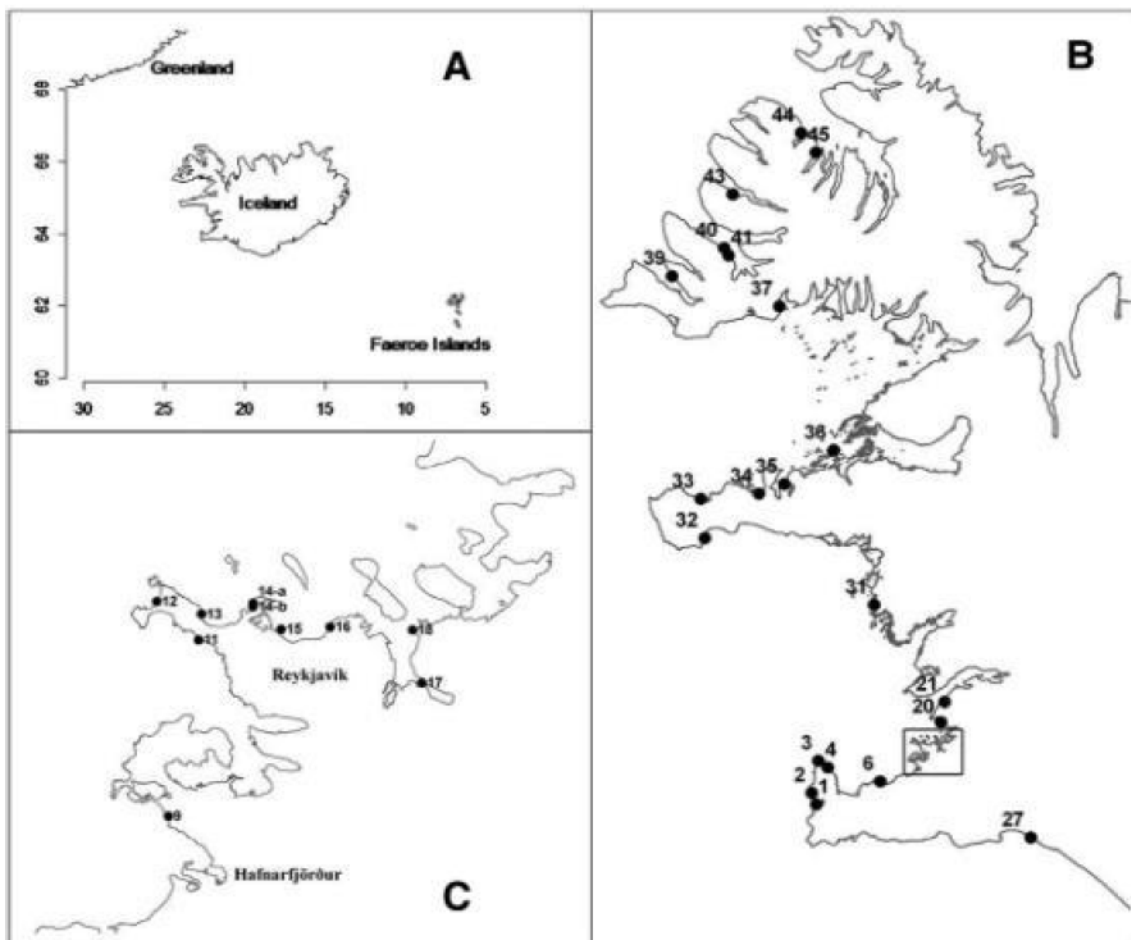


Fig. 7: Gráfica de cajas y bigotes elaborada a partir de los datos obtenidos en el artículo Harrison et al. (2020).

4.5. Islandia

En Islandia (Mapa 6A) se recogieron durante los años 1992/1993, 1998, 2003 y 2008 datos de 30 lugares de muestreo (Anexo 6) y fueron separados entre las muestras recogidas en lugares cercanos a puertos pequeños (n=19) (Mapa 6B) y lugares cercanos a puertos grandes (n=11) (Mapa 6C). De esta forma se observan aspectos interesantes. La tendencia en general del país es una tendencia a descender (clase C en 1993 y clase B en 2008) (Fig. 8A). Sin embargo el imposex es mucho más notable en aquellos lugares cercanos a los puertos grandes. Mientras que, en los puertos menores, la población alcanza la clase B ya en 1998 y en 2008 esta relativamente cerca de ser considerada de clase A con una media de 0.47 (Fig. 8B) en puertos grandes en 1993 se clasifico la región como clase D y en 2008 posicionándose muy cerca del límite entre la clase B y la clase C con una media de 1,93 (Fig. 8C).



Mapa 6: (A) Mapa de Islandia. (B) Lugares de muestreo de *Nucella lapillus* asociados a puertos pequeños. (C) lugares de muestreo de *Nucella lapillus* cerca de Reykjavík y Hafnarfjörðu, grandes puertos. (Gudmundsdóttir et al., 2011a),

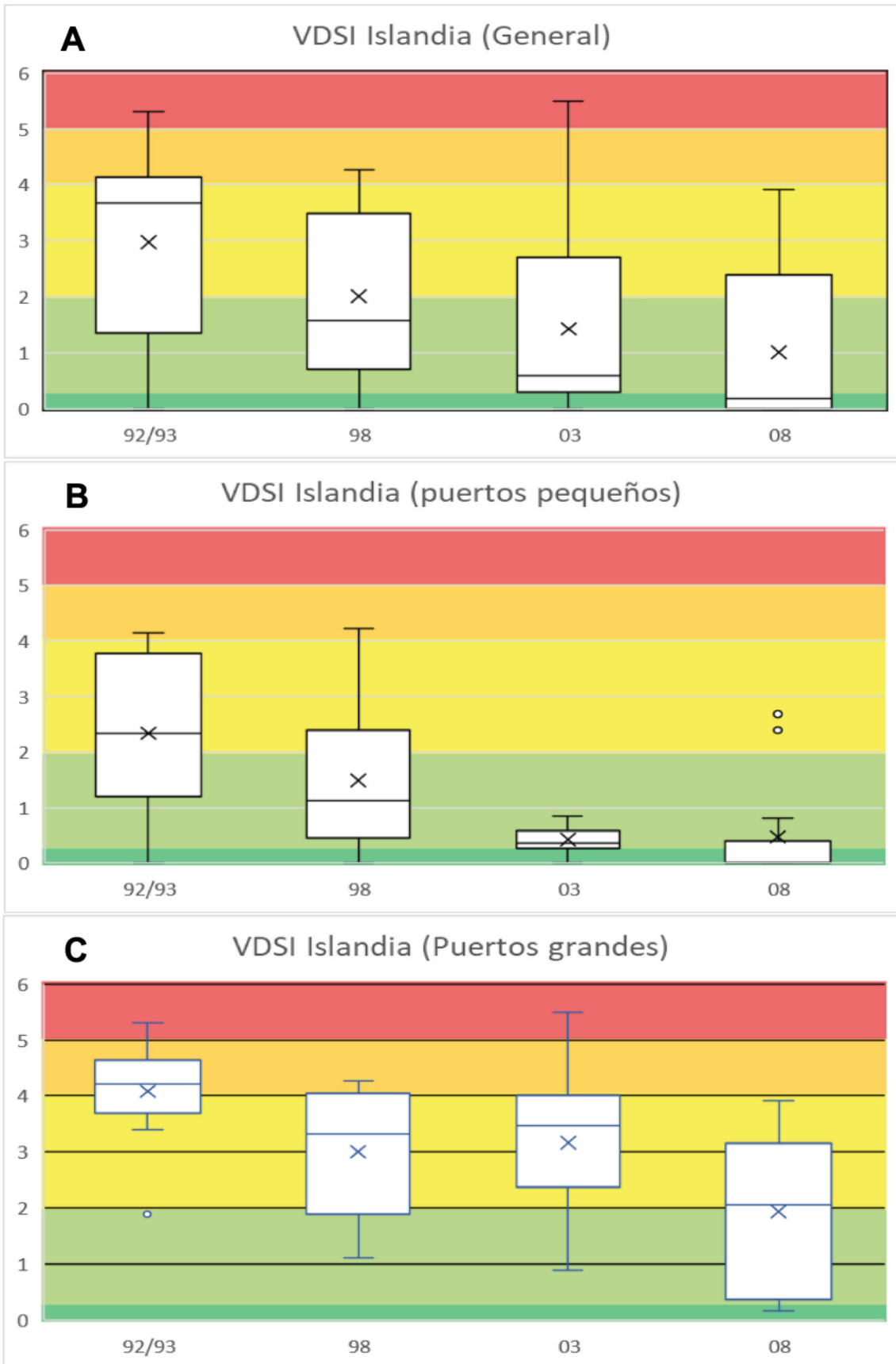


Fig. 8: Gráfica de cajas y bigotes elaborada a partir de los datos obtenidos en el artículo Gudmundsdóttir et al. (2011). (A) Datos del país completo. (B) Datos asociados a puertos pequeños (C) Datos asociados a puertos grandes.

4.6. Noruega

Schøyen et al. (2019) recopilaron datos de 8 puntos de muestreo en Noruega (Mapa 7) entre los años 1991 y 2017 a excepción de los años, 1992 y 1994-1996



(Anexo 7). Aunque hasta el año 2000 los datos venían solamente de 2 puntos de muestreo no se obtuvo una respuesta diferente de la esperada, los niveles de imposex eran elevados, todos los años fueron caracterizados en la clase D (a excepción de 1993 que obtuvo una media de 3.9, a solo una décima del umbral) (Fig. 9). A partir del año 2001 los niveles de imposex descendieron tímidamente hasta 2004 y a partir de 2005 la bajada fue más drástica obteniéndose en 2010 la clase A y en 2017 la desaparición por completo del síndrome. De esta forma Noruega es un país en el que los efectos positivos de la prohibición de las pinturas antiincrustantes con TBT son muy evidentes.

Mapa 7: Mapa de Noruega con las zonas muestreadas por Schøyen et al. (2019).

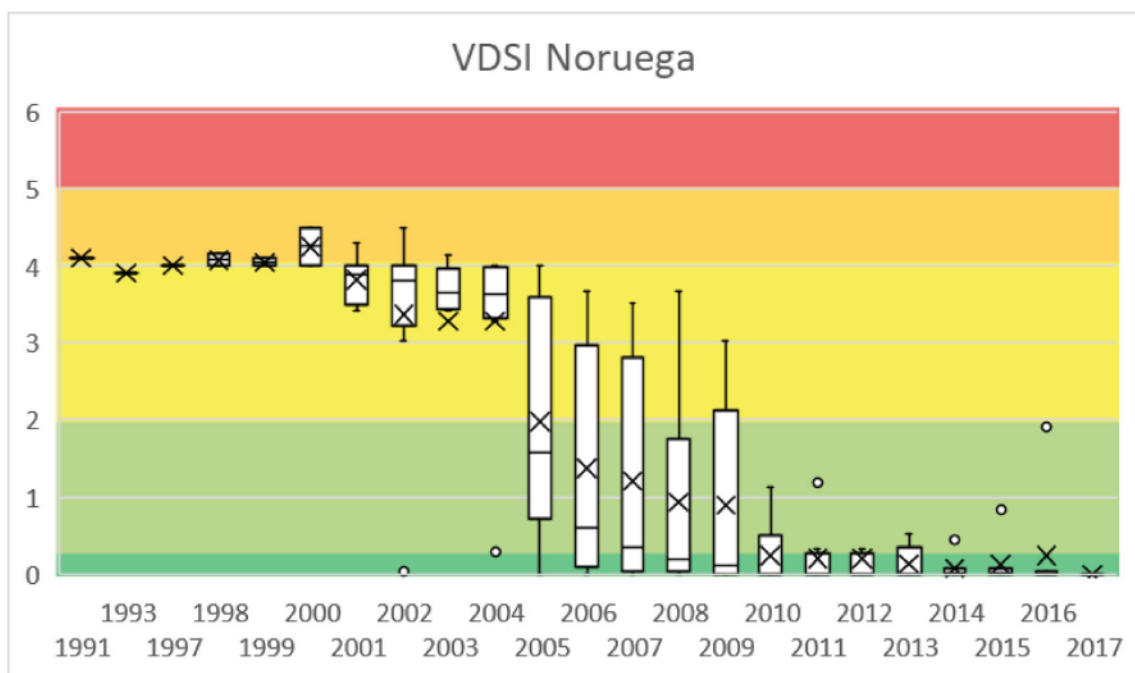


Fig. 9: Gráfica de cajas y bigotes elaborada a partir de los datos obtenidos en el artículo Schøyen et al. (2019)

5. Conclusiones

En conclusión se puede decir que tenemos motivos para ser optimistas en torno al imposex en Europa. En todos los países examinados hay una respuesta positiva a las medidas de prohibición del TBT tomadas. Sin embargo, solamente en las 2 regiones cuyo muestreo se extendió más en el tiempo, Noruega e Irlanda del norte, se ha observado un VDSI por debajo de 0.3 (Clase A) y solamente en Noruega se considera que no hay presencia del síndrome.

Es necesario llevar a cabo más monitorizaciones constantes, teniendo en consideración los lugares en los que puede haber más presencia de TBT como ya vimos en Islandia. Sobre todo, se debe de tener un control de nuevos aportes que puede haber en las aguas ya que se ha observado recientemente que pese a las prohibiciones de la IMO todavía se produce en países como Estados Unidos pinturas de este tipo y se comercializan incluso entre los países que firmaron el convenio AFS (Uc-Peraza et al., 2022).

Conclusións

En conclusión pódese dicir que temos motivos para ser optimistas en torno ao imposex en Europa. En todos os países examinados hai unha resposta positiva ás medidas de prohibición do TBT tomadas. Con todo, soamente nas 2 rexións cuxo mostraxe se estendeu máis no tempo, Noruega e Irlanda do norte, observouse un VDSI por baixo de 0.3 (Clase A) e soamente en Noruega considérase que non hai presenza da síndrome.

É necesario levar a cabo máis monitorizacións constantes, tendo en consideración os lugares nos que pode haber máis presenza de TBT como xa vimos en Islandia. Sobre todo, débese de ter un control de novas achegas que pode haber nas augas xa que se observou recentemente que a pesar das prohibicións da IMO aínda se produce en países como Estados Unidos pinturas deste tipo e comercialízanse mesmo entre os países que asinaron o convenio AFS (Uc-Peraza et ao., 2022)

Conclusions

In conclusion, it can be said that we have reason to be optimistic about imposex in Europe. In all the countries examined there is a positive response to the TBT ban measures taken. However, only in the 2 regions whose sampling was spread over the longest period of time, Norway and Northern Ireland, a VDSI below 0.3 (Class A) has been observed and only in Norway is imposex considered to be absent.

It is necessary to carry out more constant monitoring, taking into consideration the places where TBT may be more present as we saw in Iceland. Above all, it is necessary to have a control of new contributions that may be in the waters since it has been recently observed that despite the IMO bans, this type of paint is still produced in countries such as the United States and is even marketed among the countries that have signed the AFS agreement (Uc-Peraza et al., 2022).

6. Bibliografía

Çetintürk, K., & Ünlü, S. 2022. The first observation of antifouling organotin compounds and booster biocides in sediments from Samsun Port area, Black Sea, Turkey. *Marine Pollution Bulletin*, 176.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113408>

Concha-Graña, E., Moscoso-Pérez, C., Fernández-González, V., López-Mahía, P., Gago, J., León, V. M., & Muniategui-Lorenzo, S. 2021. Phthalates, organotin compounds and per-polyfluoroalkyl substances in semiconfined areas of the Spanish coast: Occurrence, sources and risk assessment. *Science of the Total Environment*, 780.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146450>

Couceiro, I., 2008. Nasáridos como organismos modelo en el Atlántico Nordeste: Imposex y estructura de poblaciones. Tesis doctoral. Universidade da Coruña.

- Fernandez, M. A. 2019. Populations Collapses in Marine Invertebrates Due to Endocrine Disruption: A Cause for Concern? In *Frontiers in Endocrinology* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00721>
- Galante-Oliveira, S., Langsten, W. J., Burt, G. R., Pereira, M. E., & Barroso, C. M. 2006. Imposex and organotin body burden in the dogwhelk (*Nucella lapillus* L.) along the Portuguese coast. *Applied Organometallic Chemistry*, 20(1), 1–4. <https://doi.org/10.1002/aoc.1011>
- Galante-Oliveira, S., Oliveira, I., Ferreira, N., Santos, J. A., Pacheco, M., & Barroso, C. 2011. *Nucella lapillus* L. imposex levels after legislation prohibiting TBT antifoulants: Temporal trends from 2003 to 2008 along the Portuguese coast. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(2), 304–312. <https://doi.org/10.1039/c0em00140f>
- Gibbs, P. E., Bryan, G. W., Pascoe, P. L., & Burt, G. R. 1987. The use of the dogwhelk, *nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (tbt) contamination. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 67(3), 507–523. <https://doi.org/10.1017/S0025315400027260>
- Gibbs, P. E. 1999. Biological effects of contaminants: Use of imposex in the dogwhelk (*Nucella lapillus*) as a bioindicator of tributyltin pollution. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, 24(24), 1–29.
- Gipperth, L. 2009. The legal design of the international and European Union ban on tributyltin antifouling paint: Direct and indirect effects. *Journal of Environmental Management*, 90(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2008.08.013>
- Gudmundsdóttir, L. Ó., Ho, K. K. Y., Lam, J. C. W., Svavarsson, J., & Leung, K. M. Y. 2011. Long-term temporal trends (1992-2008) of imposex status associated with organotin contamination in the dogwhelk *Nucella lapillus* along the Icelandic coast. *Marine Pollution Bulletin*, 63(5–12), 500–507. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.02.012>

- Harrison, T. D., Gilmour, G., McNeill, M. T., Armour, N., & McIlroy, L. 2020. Survey of imposex in *Nucella lapillus* as an indicator of tributyltin pollution in Northern Irish coastal waters, 2004 to 2017. *Marine Pollution Bulletin*, 159. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111474>
- Higuera-Ruiz, R., & Elorza, J. 2011. Shell thickening and chambering in the oyster *Crassostrea gigas*: Natural and anthropogenic influence of tributyltin contamination. *Environmental Technology*, 32(6), 583–591. <https://doi.org/10.1080/09593330.2010.506201>
- Huet, M., Michel, P., Averty, B., & Paulet, Y. 2003. La pollution par les organostanniques le long des côtes françaises, de La Manche et de L'Atlantique. *Ifremer Environnement*, november, 1–132.
- Huet, M., & Paulet, Y. 2006. Estimation de la pollution par le tributyletain en 2006 a l'aide de l'imposex. *Ifremer Environnement*, november, 1–40.
- Huet, M., & Koken, M. 2010. Intensité de l'imposex chez *Nucella lapillus* le long des côtes de la Manche et de l'Atlantique en 2009. *Ifremer Environnement*, april, 1–90..
- Huet, M., Paulet, Y. and Clavier, J. 2004. Imposex in *Nucella lapillus*: a ten year survey in NW Brittany. *Marine Ecology Progress Series*, 270, pp.153-161.
- Laranjeiro, F., Sánchez-Marín, P., Oliveira, I. B., Galante-Oliveira, S., & Barroso, C. 2018. Environmental quality status of the Portuguese coast regarding TBT pollution – Recommendations for considering imposex monitoring within the scope of the Marine Strategy Framework Directive. *Ecological Indicators*, 93, 966–974. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.05.054>
- Lee, M. R. N., Kim, U. J., Lee, I. S., Choi, M., & Oh, J. E. 2015. Assessment of organotin and tin-free antifouling paints contamination in the Korean

coastal area. *Marine Pollution Bulletin*, 99(1–2), 157–165.

<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.07.038>

Nicolaus, E. E. M., & Barry, J. 2015. Imposex in the dogwhelk (*Nucella lapillus*): 22-year monitoring around England and Wales. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187(12), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4961-0>

OSPAR, 2004. Provisional Assessment Criteria for TBT-Specific Biological Effects. OSPAR Commission, London, London.

Rolán, E., Guerra-Varela, J., Colson, I., Hughes, R. And Rolán-Alvarez, E. 2004. Morphological and genetic analysis of two sympatric morphs of the dogwhelk *nucella lapillus* (gastropoda: muricidae) from Galicia (northwestern Spain). *Journal of Molluscan Studies*, 70(2), pp.179-185.

Ruiz, J. M., Carro, B., Albaina, N., Barreiro, R., Rial, D., & Bellas, J. 2018. Extended imposex monitoring in N Atlantic Spain confirms punctual attainment of European environmental objectives for TBT. *Marine Pollution Bulletin*, 126, 462–466. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.11.048>

Ruiz, J. M., Carro, B., Albaina, N., Couceiro, L., Míguez, A., Quintela, M., & Barreiro, R. 2017. Bi-species imposex monitoring in Galicia (NW Spain) shows contrasting achievement of the OSPAR Ecological Quality Objective for TBT. *Marine Pollution Bulletin*, 114(2), 715–723. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.058>

Schøyen, M., Green, N. W., Hjermann, D., Tveiten, L., Beylich, B., Øxnevad, S., & 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* (Vol. 144, pp. 1–8). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.11.011>

- Sharan, S., Nikhil, K., & Roy, P. 2014. Disruption of thyroid hormone functions by low dose exposure of tributyltin: An in vitro and in vivo approach. *General and Comparative Endocrinology*, 206, 155–165.
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2014.07.027>
- Smith, B., 1971. Sexuality in the american mud snail, *nassarius obsoletus* say. *Journal of Molluscan Studies*, [online] 39(5), pp.377-378.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.mollus.a065117>
- TOXEM. 2012. Suivi de l'imposex sur le littoral français de la Manche et de l'Atlantique en 2012 avec integration des donnees 2010 et 2011. *Ifremer Environnement*, july, 1–117.
- Uc-Peraza, R. G., Castro, Í. B., & Fillmann, G. 2022. An absurd scenario in 2021: Banned TBT-based antifouling products still available on the market. *Science of the Total Environment* (Vol. 805). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150377>
- Zhang, J., Sun, P., Yang, F., Kong, T., & Zhang, R. 2016. Tributyltin disrupts feeding and energy metabolism in the goldfish (*Carassius auratus*). *Chemosphere*, 152, 221–228.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.127>
- Zhang, S., Li, P., & Li, Z. H. 2021. Toxicity of organotin compounds and the ecological risk of organic tin with co-existing contaminants in aquatic organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part - C: Toxicology and Pharmacology* (Vol. 246). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2021.109054>

7. Anexos

Anexo 1: Datos recopilados para Portugal.

Muestra	2008 (n=14)	2003 (n=17)	2006 (n=16)	2008 (n=13)
PT1	3.81	2.95	1.71	1.04
PT2	4.04	4.00	2.78	1.93
PT3	3.95	3.93	3.23	
PT4	3.96	3.94	1.66	
PT5	4.00	4.04	2.10	1.28
PT6	4.00	4.00	2.20	1.59
PT7		3.13	2.05	
PT8	3.77	1.84	1.38	1.02
PT9	4.00	3.90	2.82	2.27
PT10	3.55	3.74	1.46	0.95
PT11	4.08	3.72	2.38	1.48
PT12	1.35	1.37	1.27	0.84
PT13	4.00	1.54	1.23	1.15
PT14	3.15	2.80	2.50	
PT15		1.48	4.06	3.79
PT16		0.34	0.41	0.78
PT17	1.43	0.61		
MEDIA	3.51	2.78	2.08	1.51
SD	0.93	1.30	0.89	0.85
MAX	4.08	4.04	4.06	3.79
MIN	1.35	0.34	0.41	0.78

Anexo 2: Datos recopilados para España.

Muestra	1996 (n=37)	2003 (n=36)	2006 (n=35)	2009 (n=34)	2012 (n=9)	2015 (n=8)
SP1	3.22	4	3.08	0.65	0.15	
SP2	4.18	4	2.79	0.45		
SP3	3.57	4.02	1.18	2.31		
SP4	4.04	2.41	1.65	1.53	0.93	2.8
SP5	4.17	4	1.76			
SP6	4.07	4.03	2.71	1.78		
SP7	3.03	3.88	2.14	1.42		
SP8	4.3	4.12	3.55	2.62	2.68	0.71
SP9	3.4	3.42	1.88	2.41		
SP10	2.77	3.38	1.19	0.89		
SP11	4.05	3.05	3.65	2.07		
SP12	3.68	3.77	2.13	1.43		
SP13	4.18	4.02	2.86	1.4		
SP14	4.5	3.79	2.35	1.45		
SP15	4.27	4.07	3.37	2.14	2.05	0.8
SP16	4.3	4	1.42	0		
SP17	3.33	2.94	1.61	0.4		
SP18	3.57	3.74	0.44	0.06	0.17	0
SP19	4.09	4.1	2.05	1.42		
SP20	4.04	4.05	0.88	0.06		
SP21	4.28	4.03	2.97	1.43	0.8	0.63
SP22	3.89	4.06	2.2	1.23		
SP23	4.25	3.59	2.2	1.33		
SP24	4.58	3.64				
SP25	4.29	3.87	2.75	0.36		
SP26	4.46	4.19	3.72	1.5		
SP27	4	3.84	2.9	1.26		
SP28	4.33	4.21	3.29	0.98	0.4	0.69
SP29	4.09	3.09	1.86	0.93		
SP30	3.44					
SP31	4.05	3.87	2.65	2.32	1.37	1.68
SP32	4.68	3.93	3.36	3.02	2.61	2.15
SP33	3.23	4.09	3	1.98		
SP34	1.16	3.93	1.26	1		
SP35	3.15	3.5	2.31	1.86		
SP36	4	4.09	0.86	0.68		
SP37	4.39	4.09	3.5	1.54		
MEDIA	3.87	3.80	2.33	1.35	1.24	1.18
SD	0.66	0.40	0.88	0.76	1.00	0.93
MAX	4.68	4.21	3.72	3.02	2.68	2.80
MIN	1.16	2.41	0.44	0.00	0.15	0.00

Anexo 3: Datos recopilados para Francia.

Muestra	1992 (n=56)	1993 (n=53)	1994 (n=51)	1995 (n=54)	1998 (n=56)	2000 (n= 55)	2002 (n=53)	2003 (n=15)	2006 (n=15)	2010 (n=11)	2012 (n=6)
FR1	2.63	3.50	2.24	2.65	1.00	0.90	0.71				
FR2	3.50	4.00	3.57	4.00	3.60	3.00	2.86				
FR3	3.75	3.86	4.00	3.87	3.50	3.56	2.79				
FR4	3.95	4.00	4.00	3.90	3.74	3.76	3.94	3.96	3.16	2.86	2.13
FR5	4.07	4.15	4.00	4.07	4.11	4.07	4.00				
FR6	4.00	4.00	4.00	4.44	4.07	4.00	4.00				
FR7	4.24	4.24	4.00	4.00	4.00	4.06	4.08	3.88	3.82	3.59	
FR8	4.15	4.22	4.07	4.05	4.13	4.12	4.00				
FR9	4.20	4.27	4.00	4.00	4.32	4.20	4.00				
FR10	4.15	4.16	4.00	4.27	4.21	3.93	4.04				
FR11	4.17	4.26	4.17	4.06	4.19	4.00	4.00				
FR12	4.09	4.19	4.21	4.10	4.05	4.00	3.96	4.13	3.71	3.80	3.58
FR13	4.15	4.13	4.13	4.00	4.00	4.17	4.04				
FR14	4.50	4.29	4.07	4.21	4.11	4.00	4.00				
FR15	4.22	4.16	4.00	3.90	4.00	3.85	3.83				
FR16	4.40	4.31	4.20	4.29	4.22	4.18	4.00	4.11	4.08	4.03	
FR17	4.78	4.36	4.40	4.00	4.29	4.09	4.00				
FR18	4.41	4.12	4.17	4.19	4.17	4.00					
FR19	4.13	4.13	4.25	4.05	4.22	3.94	3.95				
FR20	4.29	4.00	4.00	4.00	4.20	4.00	4.05				
FR21	4.27	4.33	4.07	4.00	4.18	4.13	4.22				
FR22	4.20	4.16	4.36	4.31	4.00	4.07	4.00				
FR23	4.29	4.35	4.29	4.17	4.29	4.00	4.21				
FR24	4.00	4.35	4.31	4.20	4.15	3.90	4.00	4.10	4.18		
FR25	4.54	4.88	4.38	4.26	4.54	4.17	4.17				
FR26	4.61	4.31	4.25	4.00	4.28	4.15	4.17				
FR27	4.00	4.20	4.31	4.00	4.25	4.10	4.14	3.88	4.00	3.92	3.79
FR28	6.00			5.24	5.24	5.00	5.22				
FR29	5.00				4.29	4.57	4.18	4.16	3.93		
FR30	4.36	4.60	4.62	4.20	4.24	4.14	4.07	4.20	4.00	4.21	4.13
FR31	4.56	4.24	4.25	4.13	4.17	4.18	4.15				
FR32	4.62	4.60	4.62	4.29	4.11	4.15					
FR33	4.27	4.00	4.00	4.22	4.09	4.14	4.06	3.88	3.45	3.27	2.96
FR34	4.45	4.12	4.08	4.00	4.06	4.00					
FR35	4.43	4.17		4.08	4.13	4.17	4.17				
FR36	4.72	4.30	4.22	4.17	4.36	4.26	4.04	3.98	3.94	3.88	
FR37	4.68	4.31		4.25	4.00	4.00	4.05				
FR38	4.50	4.31	4.00	4.18	4.35	4.06	4.11				
FR39	5.25				4.00	4.00	4.00				
FR40	4.75	4.32	4.06	4.25	4.06	4.00	3.94				
FR41	4.77	4.27	4.15	4.05	4.06	4.18	3.88				
FR42	4.12	4.33	4.17	4.07	4.23	4.21	4.21				
FR43	4.47	4.33	4.15	4.00	4.21	4.25	4.06	4.25	3.91	4.03	
FR44	4.64	4.27	4.23	4.00	4.47	4.30	4.23				
FR45	4.18	4.09	4.08	4.08	4.20	4.00	4.31		4.05	4.01	
FR46	4.28	4.00	4.25	4.13	4.08	4.13	3.94	4.06			
FR47	4.22	4.40	4.30	4.27	4.19	4.21	4.07				
FR48	4.55	4.29	4.13	4.22	4.09		4.07				
FR49	4.33	4.13	4.00	4.00	4.17	4.00	4.00				
FR50	4.33	4.27	4.13	4.00	4.17	4.23	4.00				
FR51	4.18	4.00	4.00	4.20	4.15	4.18	4.09		4.09		
FR52	4.19	4.08	4.07	4.12	3.91	3.86	3.96	4.00			
FR53	4.22	4.06	4.13	4.07	3.95	4.13	3.88		3.80	3.63	2.81
FR54	4.06	4.00	4.17	4.00	4.00	4.00	4.00	4.05			
FR55	3.93	4.00	4.00	4.00	3.92	4.00	3.95				
FR56	3.95	4.00	4.00	4.00	3.90	4.00	3.95	3.94	3.40		
MEDIA	4.32	4.20	4.10	4.10	4.08	4.01	3.96	4.04	3.83	3.75	3.23
SD	0.44	0.20	0.32	0.28	0.48	0.49	0.55	0.12	0.29	0.39	0.74
MAXIMO	6.00	4.88	4.62	5.24	5.24	5.00	5.22	4.25	4.18	4.21	4.13
MINIMO	2.63	3.50	2.24	2.65	1.00	0.90	0.71	3.88	3.16	2.86	2.13

Anexo 4: Datos recopilados para Inglaterra y Gales.

Clase OSPAR	1992	1997	2004	2007	2010	2014
F	0	1	0	0	0	0
E	0	0	0	0	0	0
D	57	17	0	0	1	0
C	43	53	67	35	9	11
B	0	29	27	49	47	72
A	0	0	6	16	43	17

Anexo 5: Datos recopilados para Irlanda del Norte.

Muestra	2004 (n=17)	2007 (n= 17)	2010 (n=19)	2013 (n=19)	2017 (n=19)
IRL1	1.92	0.04	0.00	0.13	0.00
IRL2	1.24	0.25	0.17	0.00	0.00
IRL3	2.00	1.76	0.27	0.07	0.00
IRL4			0.56	0.08	0.37
IRL5			2.71	0.95	0.40
IRL6	1.64	0.86	0.00	0.00	0.00
IRL7	2.59	1.47	0.79	0.44	0.00
IRL8	4.00	2.60	2.11	2.90	1.00
IRL9	3.89	2.33	0.00	0.00	0.00
IRL10	2.30	1.22	0.62	0.33	0.96
IRL11	3.56	1.79	0.15	0.11	0.00
IRL12	3.70	1.22	0.13	0.00	0.00
IRL13	3.75	1.32	0.38	0.00	0.08
IRL14	3.91	2.82	0.17	0.10	0.00
IRL15	3.28	2.13	0.00	0.00	0.00
IRL16	2.68	2.10	2.29	2.35	0.30
IRL17	0.68	0.19	0.16	0.00	0.00
IRL18	4.00	2.89	2.48	0.40	0.88
IRL19	3.83	2.35	0.09	0.00	0.00
MEDIA	2.88	1.61	0.69	0.41	0.21
SD	1.08	0.90	0.94	0.82	0.35
MAX	4.00	2.89	2.71	2.90	1.00
MIN	0.68	0.04	0.00	0.00	0.00

Anexo 6: Datos recopilados para Islandia.

	Muestra	1992/1993 (n=30)	1998 (n=29)	2003 (n=30)	2008 (n=30)
Puertos pequeños	ISL1	4.14	1.33	0.35	0.00
	ISL2	1.21	0.48	0.69	0.00
	ISL3	1.39	1.00	0.24	0.00
	ISL4	1.78	1.50	0.84	0.00
	ISL5	1.19	0.28	0.29	0.00
	ISL6	1.23	0.31	0.26	0.00
	ISL7	0.28	0.88	0.74	0.00
	ISL8	4.04	3.57	0.44	0.80
	ISL9	0.91	2.46	0.59	0.12
	ISL10	3.90	2.39	0.41	0.39
	ISL11	0.00	0.06	0.27	0.00
	ISL12	3.28	4.00	0.52	0.00
	ISL13	2.33	4.22	0.57	0.00
	ISL14	3.78	0.45	0.27	2.68
	ISL15	0.33	0.00	0.00	0.00
	ISL16	3.67	2.07	0.59	2.39
	ISL17	3.82	0.50	0.29	0.13
	ISL18	3.45	1.13	0.29	0.00
	ISL19	3.71	1.56	0.33	2.46
Puertos grandes	ISL20	4.64	3.80	4.00	3.92
	ISL21	4.03	2.41	2.38	0.88
	ISL22	3.39	2.00	2.65	0.16
	ISL23	4.21	3.24	2.88	1.79
	ISL24	4.30	4.00	4.00	3.16
	ISL25	5.30	3.41	5.50	3.71
	ISL26	4.80	4.18	3.46	2.42
	ISL27	4.50	4.26	3.79	2.58
	ISL28	4.13	1.58	3.59	2.06
	ISL29	3.69	1.11	1.63	0.19
	ISL30	1.89		0.88	0.36
	MEDIA	2.98	2.01	1.42	1.01
	SD	1.54	1.44	1.54	1.31
	MAX	5.30	4.26	5.50	3.92
	MIN	0.00	0.00	0.00	0.00

Anexo 7: Datos recopilados para Noruega.

Muestra	91 (n=2)	93 (n=1)	97 (n=2)	98 (n=2)	99 (n=2)	00 (n=2)	01 (n=7)	02 (n=8)	03 (n=8)	04 (n=8)	05 (n=8)
NR1								0.03	0.00	0.29	0.00
NR2					3.50			3.76	3.80	4.00	3.43
NR3					4.00			4.00	3.95	4.00	4.00
NR4	4.10		4.00	4.15	4.09	4.50		4.50	4.13	3.92	3.65
NR5					3.69			3.86	3.42	3.43	1.28
NR6					3.89			3.77	3.47	3.63	1.86
NR7					3.41			3.03	3.50	3.28	0.64
NR8	4.10	3.90	4.00	4.00	4.00	4.00	3.95	4.00	3.96	3.65	0.96
MEDIA	4.10	3.90	4.00	4.08	4.05	4.25	3.82	3.37	3.28	3.28	1.98
SD	0.00	0.00	0.00	0.11	0.06	0.35	0.31	1.41	1.35	1.23	1.52
MAX	4.10	3.90	4.00	4.15	4.09	4.50	4.30	4.50	4.13	4.00	4.00
MIN	4.10	3.90	4.00	4.00	4.00	4.00	3.41	0.03	0.00	0.29	0.00

Muestra	06 (n=8)	07 (n=8)	08 (n=8)	09 (n=8)	10 (n=8)	11 (n=8)	12 (n=8)	13 (n=8)	14 (n=8)	15 (n=8)	16 (n=8)	17 (n=8)
NR1	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.04	0.00
NR2	2.97	2.95	1.88	3.03	1.12	0.33	0.33	0.46	0.03	0.08	0.00	0.00
NR3	2.96	2.41	1.41	1.58	0.13	0.07	0.07	0.00	0.08	0.04	0.00	0.00
NR4	3.66	3.52	3.67	2.32	0.64	1.19	1.19	0.53	0.45	0.83	1.91	0.00
NR5	0.13	0.00	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
NR6	1.08	0.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00
NR7	0.08	0.07	0.13	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00
NR8	0.13	0.58	0.24	0.22	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
MEDIA	1.38	1.21	0.93	0.89	0.24	0.20	0.20	0.13	0.07	0.13	0.24	0.00
SD	1.56	1.49	1.32	1.24	0.42	0.42	0.42	0.23	0.15	0.29	0.67	0.00
MAX	3.66	3.52	3.67	3.03	1.12	1.19	1.19	0.53	0.45	0.83	1.91	0.00
MIN	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00