



UNIVERSIDAD LAICA “ELOY ALFARO” DE MANABÍ

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

INGENIERIA EN RECURSOS NATURALES Y AMBIENTALES

TRABAJO DE INVESTIGACION:

“Evaluación del efecto de las partículas de microplástico sobre la alimentación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)”.

AUTOR:

Bryan Alexis Benavides Mera

DIRECTORA DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN:

Dra. Dayanara Macías Mayorga

**MANTA – MANABÍ - ECUADOR
2017**

“Evaluación del efecto de las partículas de microplástico sobre la alimentación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)”.

DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, Bryan Alexis Benavides Mera, declaro bajo juramento que el trabajo de investigación aquí descrito es de mi autoría. El mismo fue realizado en el marco del proyecto “Análisis de la calidad del agua en un contexto ecotoxicológico: Respuesta de fuga (FUGAGUATOX)” ejecutado desde la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, bajo la Dirección de la Dra. Dayanara Macías Mayorga. Este trabajo no ha sido presentado previamente para ningún grado o calificación profesional y se han consultado todas las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

Bryan Alexis Benavides Mera

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

“Evaluación del efecto de las partículas de microplástico sobre la alimentación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)”.

Sometido a consideración del Honorable Consejo Directivo de la Facultad Ciencias Agropecuarias, como requisito para obtener el título de:

INGENIERO EN RECURSOS NATURALES Y AMBIENTALES

Ing. Yessenia García Montes M. Sc
DECANA DE LA FACULTAD

Dra. Dayanara Macías Mayorga
DIRECTORA DE TESIS

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Blgo. David Mero del Valle M. Sc.
Presidente del Tribunal

Blgo. Ricardo Castillo Ruperti M. Sc.
Miembro del Tribunal

Blgo. Carlos Chinga Panta M. Sc.
Miembro del Tribunal

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

Dra. Dayanara Macías Mayorga, Docente Titular Principal de la Facultad Ciencias Agropecuarias, certifico que la Sr. Bryan Alexis Benavides Mera realizó el Trabajo de Investigación titulado “**Evaluación del efecto de las partículas de microplástico sobre la alimentación del camarón blanco *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)**”, bajo mi dirección y responsabilidad. El mismo ha sido desarrollado previo a la obtención del título de Ingeniería en Recursos Naturales y Ambientales, de acuerdo al Reglamento para la Elaboración de Proyecto de Investigación de Tercer Nivel de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí (ULEAM).

Dra. Dayanara Macías Mayorga PhD
Directora de Trabajo de Investigación

AGRADECIMIENTO

En primer lugar a mi familia por ser un pilar fundamental en mi formación, al inculcarme los principios y valores para alcanzar cada meta que me he planteado.

Un especial agradecimiento a Dayanara Macías Mayorga por ser mi tutora, amiga y madre académica en estos años, que con sus sabios consejos, consideración y estima supieron encaminarme a ser un mejor profesional y una mejor persona.

A la Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí quien a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias me acogió como uno de sus estudiantes y dio la oportunidad de aprender y formarme profesionalmente.

A mis compañeros del proyecto Langosta Juan, David, Ricardo, Antonella por darme la oportunidad de adquirir experiencias y conocimientos junto a ustedes, y por haberse convertido en mis amigos más allá de ser mis compañeros de trabajo.

Agradezco a mi compañera del proyecto FUGAGUATOX Victoria por su apoyo en los trabajos de laboratorio para el desarrollo de esta tesis y por estar siempre dispuesta a colaborar.

Agradezco a Nicol Marcillo por haber compartido junto a mí en los últimos años, por su compañía y por haber sido un importante apoyo en momentos difíciles.

A mis amigos Jordano, Fernando y Miguel, por su amistad desinteresada, limpia y leal. Por demostrar su apoyo y comprensión en los momentos difíciles, y ayudarme a superar todos los obstáculos que se me presentaron.

Al Laboratorio LARDEMA S.A y a su propietario el Ing. Ignacio Andrade, por ayudar con la donación de las larvas de camarón blanco utilizadas en el desarrollo de esta tesis y por estar dispuesto a colaborar en la formación de los estudiantes.

Un especial agradecimiento a mi Padrino el Sr. Víctor Mera que se desempeña como técnico del Laboratorio LARDEMA S.A, por su enseñanza en todo lo relacionado al cultivo del camarón blanco.

A mi amigo Fernando Rey Diz por compartirme sus conocimientos, ser guía, consejeros y además por siempre demostrar su preocupación e interés en el desarrollo de esta investigación.

A todos los maestros que pasaron por las aulas en las que permanecí en el transcurso de la carrera y que aportaron con sus conocimientos a mi formación como estudiante.

A Don Atilio conserje de la facultad de Ciencias Agropecuarias de la ULEAM por su disposición a colaborar con el desarrollo de este trabajo, aún los fines de semana.

¡Muchas gracias a todos!

DEDICATORIA

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy. Por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo mi periodo de estudio.

A mi familia por ser el pilar fundamental de todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

A mi madre Virginia

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre Ramiro

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha inculcado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mi Abuela Yolanda

Por ser la gran responsable de mi personalidad y ser una persona decisiva que me ayudo a tomar decisiones que marcaron mi camino en momentos de indecisión y debilidad, esto en presencia de tentaciones lejanas a cumplir mis metas académicas.

A todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

¡Esto es para ustedes!

GLOSARIO

Microplástico: Fragmentos de plástico menores de 5 mm (Arthur et al. 2009).

Macroplásticos: Son fragmentos de plástico mayores de 5 mm

Degradación: A nivel ecológico hace referencia al proceso natural por el cual un producto u objeto sufre una descomposición resultando en metabolitos simples que pueden ser integrados en el medio ambiente.

Biota: Conjunto de la fauna y la flora de una región.

Bioacumulación: Acumulación de sustancias por los organismos vivos hasta alcanzar concentraciones más altas que las existentes en el medio ambiente.

Polietileno: El (PE) es químicamente el polímero más simple. Se representa con su unidad repetitiva (CH₂-CH₂). Es uno de los plásticos más comunes debido a su bajo precio y simplicidad en su fabricación. Es químicamente inerte. Se obtiene de la polimerización del etileno (de fórmula química CH₂=CH₂ y llamado eteno por la IUPAC), del que deriva su nombre.

Poliestireno: El (PS) es un polímero termoplástico que se obtiene de la polimerización del estireno monómero, que se emplea principalmente en la fabricación de lentes plásticas y aislantes térmicos y eléctricos.

Policloruro de Bifenilo: El (PCB) está considerado según el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) como uno de los doce contaminantes más nocivos fabricados por el hombre. Actualmente su uso está prohibido en casi todo el mundo.

Detritus: Residuos que provienen de la descomposición de la materia orgánica tanto animal como vegetal.

INDICE DE CONTENIDO

1	. INTRODUCCIÓN.....	11
1.1	Antecedentes	1
1.2	Biología de la especie <i>Litopenaeus vannamei</i>	5
1.3	Importancia económica de la especie <i>L. vannamei</i>	7
1.4	Objetivos del trabajo de investigación	11
	Objetivo General:	11
	Objetivos específicos	11
	Pregunta de investigación.....	11
	Hipótesis planteadas.....	11
2	. METODOLOGÍA.....	12
2.1	Descripción del sistema experimental	12
2.2	Descripción del bioensayo.....	13
2.3	Porcentaje de llenura en la especie <i>L. vannamei</i>	15
2.4	Presencia o ausencia de microplástico en el tracto digestivo.....	15
2.5	Procesamiento de datos.....	16
3	. RESULTADOS	17
3.1	Comportamiento alimentario de la especie <i>L. vannamei</i> ante una exposición forzada a microplástico	17
3.2	Porcentaje de llenura del tracto digestivo.....	17
3.3	Presencia o ausencia de microplástico en el tracto digestivo.....	18
4	.DISCUSIÓN.....	20
5	.CONCLUSIONES.....	23
6	.RECOMENDACIONES.....	24
7	.BIBLIOGRAFÍA.....	25

INDICE DE TABLAS

Tabla. 1 Clasificación taxonómica.....	5
Tabla 2. Estadios de muda de crustáceos decápodos braquiuros.....	7
Tabla 3. Producción mundial de camarón cultivado.....	8
Tabla 4. Exportaciones Ecuatorianas de camarón (Dólares).....	10
Tabla 5. Dunn's Multiple Comparisons Test.....	18

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo vital de un camarón peneido típico.....	6
Figura 2. Producción de camarón por provincia en Ecuador.....	9
Figura 3. Acuario de aclimatación del cultivo.....	12
Figura 4. Sistema de ensayo.....	13
Figura 5. Separación de individuos para depuración del tracto digestivo.....	14
Figura 6. Categorización del porcentaje de llenura del trato digestivo.....	15
Figura 7. Procesamiento y digitalización de las muestras.....	16
Figura 8. Porcentaje de llenura del tracto digestivo de especímenes de <i>L. Vannamei</i> expuesto a distintos tratamientos de microplástico más alimento convencional.....	17
Figura 9. Presencia de partícula de microplástico en el tracto digestivo de la especie <i>Litopenaeus vannamei</i>	19
Figura 10. Presencia de partícula de microplástico en el tracto digestivo de la especie <i>Litopenaeus vannamei</i>	19

1 . INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

Desde el desarrollo en EEUU de la “Baquelita” primera sustancia plástica totalmente sintética en 1907, se han optimizado numerosas técnicas de fabricación de bajo costo, lo que ha resultado en la producción masiva de una gran cantidad de plásticos ligeros, duraderos, inertes y resistentes a la corrosión (PlasticsEurope 2010). Por estas propiedades, el plástico se ha convertido en un producto casi indispensable con amplias aplicaciones comerciales, industriales y medicinales (PlasticsEurope 2012). Aunque su producción en masa comenzó en la década de 1940, la demanda de plásticos ha aumentado en un 5% cada año desde 1990 (Lettieri y Al-Salem 2011). Este aumento dramático pasó de 1,5 millones de toneladas en 1950 a 230 millones de toneladas en el 2009 (PlasticsEurope 2010), lo cual representó el 8% de la producción mundial de petróleo en ese año (Thompson et al., 2009) y aproximadamente 280 millones de toneladas en el 2011 (PlasticsEurope 2012).

La cantidad de desechos plásticos que entran en el medio marino aumentan en paralelo con las tasas de producción de los mismos (Moore 2008, Ryan et al. 2009 y Barnes et al. 2009). Es por ello, que el impacto que pueden tener los grandes residuos de plástico (macroplásticos) sobre el medio ambiente marino ha sido objeto de investigación.

Esta preocupación creciente es más latente ahora que hace cien años, por el uso del plástico en las actividades antropogénicas (Andrady 2003). Los beneficios sociales del plástico son de largo alcance por la durabilidad del mismo, es un material atractivo para ser utilizado, pero también es altamente resistente a la degradación (Andrady y Neal 2009). Por lo tanto, la disposición final de los residuos plásticos se plantea como un problema (Barnes et al. 2009, Sivan 2011).

Kukulka et al. (2012) sugirieron que puede haber 2,5 veces más del volumen medio de plástico en la superficie de los océanos, ya que el plástico presente en la columna de agua está siendo subestimado.

La legislación para detener la incorrecta disposición final de residuos plásticos ha surgido lentamente, pero en la actualidad existen normas internacionales establecidas que regulan la disposición de los mismos. Entre las que se pueden mencionar: la ISO 15270:2008 Plastics—Guidelines for the recovery and recycling of plastics waste (International Standardization Organization 2008). En el caso de Ecuador, existe la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2633:2012 Disposición de desechos plásticos post-industriales y la Norma NTE INEN 2634:2012 Disposición de Desechos Plásticos Post-Consumo. Requisitos (INEN 2012).

La problemática de la contaminación por residuos plásticos no se limita sólo a la deposición de éstos en el medio, sino a que su desintegración en partículas más pequeñas, aumenta el riesgo de ser ingeridos por la biota (Andrady 2011). La degradación debilita inevitablemente el plástico y el material se vuelve lo suficientemente frágil para romperse en fragmentos pulverulentos cuando se somete a movimientos del mar (Andrady 2011). Este proceso se produce de manera continua e indefinida (Barnes et al. 2009), incluyendo el nivel molecular (Andrady 2011).

En el año 1972, E. J. Carpenter y K. L. Smith se convirtieron en los primeros investigadores en hacer sonar la alarma sobre la presencia de gránulos de plástico en la superficie del Océano Atlántico Norte. Sólo meses más tarde, se informó de la presencia de los mismos gránulos de polietileno en tejidos de pescado (Carpenter y Smith 1972). La investigación realizada por Carpenter y Smith (1972) se estableció como el primer indicio para la comunidad científica que estudia la contaminación producida por los desechos plásticos de menor tamaño (Moore 2008, Barnes et al. 2009, Thompson et al. 2009, Ryan et al. 2009 y Andrady 2011). En consecuencia, en los últimos años existe una creciente preocupación ambiental sobre los gránulos de plástico utilizados como depuradores en cosméticos, dispersores de aire y fragmentos pequeños de plástico derivados de la descomposición de macroplásticos (Derraik 2002, Ryan et al. 2009, Thompson et al. 2004).

Aunque los problemas relacionados con los grandes artículos de plástico, como las bolsas de transporte, en grandes animales marinos están bien documentados, es sólo recientemente que se han considerado los impactos de los fragmentos de plástico más pequeños, en particular en los invertebrados. Los plásticos están entre los contaminantes primarios de aguas superficiales, aguas pelágicas y bentos marinos (Graham y Thompson, 2009).

Las muestras de plástico del oeste del océano Atlántico Norte de los últimos 24 años han puesto de manifiesto una disminución en el tamaño de partícula media de 10,66 mm en la década de 1990 a 5,05 mm en la década del 2000 (Morét- Ferguson et al. 2010). Según estos autores el 69% de los fragmentos de plásticos tenían un tamaño entre 2 a 6 mm, destacando un predominio de pequeñas partículas de plástico. Dada la fragmentación continua de los artículos de plástico, es probable que sus concentraciones en el medio marino aumenten con la disminución continua del tamaño de la partícula (Morét-Ferguson et al. 2010). Arthur et al. (2009) establecieron la definición de microplásticos como las partículas que resultan de la fragmentación de macroplásticos y plásticos que desde su origen sean menores de 5 mm, a fin de discernir una clase de tamaño específico de la contaminación por plástico.

La relevancia negativa de los microplásticos en el medio marino ha sido recientemente reconocida por su inclusión como un descriptor de prioridad en The Marine Strategy Framework Directive (MSFD) (DMEM) como descriptor 10 (Basura Marina) (Directiva 2008/56 / CE, del Parlamento Europeo y del Consejo 2008). Los microplásticos (<5 mm) proliferan, migran y se acumulan en los hábitats naturales de polo a polo, desde la superficie del océano hasta los fondos marinos (Moore 2008, Barnes et al. 2009, Thompson et al. 2009 y Ryan et al. 2009). Los microplásticos en el ambiente están disponibles para todos los niveles de la red trófica, desde los productores primarios (Oliveira et al. 2012) hasta los niveles tróficos superiores (Wright et al. 2013).

Los microplásticos son motivo de preocupación medioambiental ya que su pequeño tamaño hace que estén disponibles para una amplia gama de organismos en la biota marina. La ingestión de microplástico se ha demostrado

en los organismos marinos, incluyendo anfípodos, gusanos marinos, y percebes (Thompson, R. C et al. 2004), mejillones (Browne, M. A et al. 2008), crustáceos decápodos (Murray, F y Cowie, P. R. 2011), aves marinas (Van Franeker, J. A et al. 2011) y peces (Boerger, C. M et al. 2010). Además las partículas también pueden acumularse en el sedimento (Thompson et al., 2004), Lo que sugiere que estarían disponibles para muchas especies bentónicas.

Barnes et al. (2009) sugirieron que una evaluación crítica periódica de esta cuestión es fundamental, sobre todo porque este problema persistirá durante siglos, incluso si la contaminación se detiene inmediatamente. Los informes de estudios realizados sobre la contaminación por plásticos se han extendido rápidamente en términos de geografía, hábitat marino y la biota influenciada (Barnes et al. 2009 y Ryan et al. 2009).

Por otra parte, se ha demostrado que la lixiviación de los contaminantes constituyentes del plástico tales como monómeros y aditivos plásticos son capaces de provocar carcinogénesis y alteraciones endocrinas en una variedad de especies, incluyendo crustáceos (Oehlmann et al, 2009; Talsness et al, 2009). Además, los microplásticos son susceptibles de concentrar los contaminantes orgánicos persistentes (COPs), que tienen una mayor afinidad por la superficie hidrófoba del plástico en comparación con el agua de mar (Hirai et al, 2011;. Mato et al., 2001).

Los crustáceos decápodos comúnmente presentan una alimentación poco selectiva, lo cual los hace susceptibles a la ingesta de este tipo de contaminante (Dall, 1981).

Van Cauwenberghe y Janssen (2014) concluyeron que la exposición de los consumidores europeos a microplásticos alcanza cantidades de 11.000 partículas de plástico por año a través de la ingestión de mariscos.

1.2 Biología de la especie *Litopenaeus vannamei*

Tabla. 1 Clasificación taxonómica

Phylum	Arthropoda
Clase	Malacostraca
Orden	Decapoda
Suborden	Dendobranchiata
Superfamilia	Penaeoidea
Familia	Penaeidae
Genero	Litopenaeus
Especie	<i>Litopenaeus vannamei</i>



Fuente: Pérez-Farfante y Kensley, (1977)

El ciclo vital de un peneido típico como las especies que se hallan en Ecuador (*Penaeus stylirostris*, *P. vannamei*, *P. occidentalis*) se muestra en la Figura 1. La maduración y reproducción de estas especies se realiza en aguas profundas, entre 15 y 60m; las hembras fecundadas ponen huevos en cantidades variables de acuerdo con la especie (entre 10.000 y 1.000.000). Al cabo de un tiempo, estos eclosionan en una serie de estadios denominados larvas, cada uno de los cuales tiene características morfológicas determinadas y diferentes requerimientos nutricionales.

Como se puede observar en la Figura 1, postlarvas y/o juveniles migran hacia la costa, a aguas menos profundas y de baja salinidad: por ejemplo, zonas de manglar, esteros, lagunas, ricas en materia orgánica, donde crecen hasta alcanzar estadios de adulto o preadulto migrando luego a mar abierto para madurar y reproducirse.

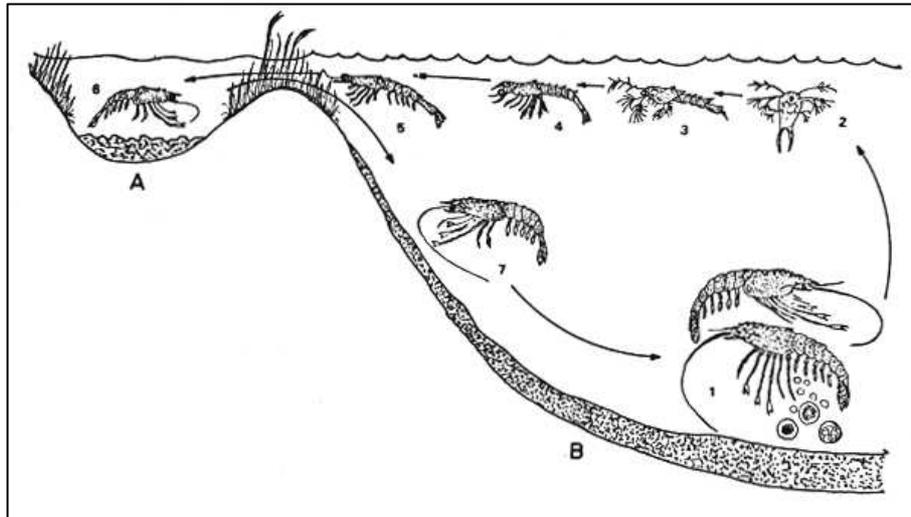


Figura 1. Ciclo vital de un camarón peneido típico: 1: maduración y reproducción; 2: nauplii; 3: protozoas; 4: mysis; 5: postlarvas; 6: juveniles; 7: adultos. (Modificado de Boschi, 1977).

Fuente: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB466S/AB466S02.htm>

En cuanto a juveniles y subadultos que viven en estuarios lagunas y manglares son los que mejor soportan mayores variaciones en las condiciones ambientales. En general los peneidos viven en fondos blandos de fango, constituidos por distintas proporciones de arena, limo y arcilla. Las especies como *P. vannamei* se entierran, hábito que aparece durante los primeros estadios postlarvales y permite a los camarones protegerse de predadores, principalmente durante el período de muda; este comportamiento parece estar regulado por factores como la luz, temperatura, concentración de oxígeno, etc.

Drach en 1939, determinó los estadios de muda de crustáceos decápodos braquiuros, sobre la base de cambios tegumentarios, extendiendo este trabajo a todos los decápodos en 1944, dividiendo el ciclo en 4 estadios (Tabla 2)

Tabla 2. Estadios de muda de crustáceos decápodos braquiuros

ESTADIOS	DESCRIPCION
Post-muda	Período de turgencia debido a la absorción de agua; los animales no se alimentan.
Intermuda	Período de actividad secretora de la epidermis, crecimiento de los tejidos, el animal se alimenta
Premuda	Se inicia la reabsorción del antiguo exoesqueleto y comienza a formarse una nueva cutícula, el animal no se alimenta.
Exuviación o ecdisis	Pérdida del viejo esqueleto.

Los camarones de aguas tropicales como *P. vannamei*, en las costas del Pacífico, tienen requerimientos de temperaturas superiores a 20 °C, como temperaturas para un crecimiento óptimo entre 26 y 32 °C. La concentración de oxígeno disuelto en el agua es de fundamental importancia; se ha comprobado que concentraciones de este elemento menores de 2 ppm producen una alta mortalidad en cultivos.

En Ecuador se capturan las larvas de *P. vannamei* a mano o con redes, para evitar a los predadores, obteniéndose hasta 427 Kg cola/Ha de *P. vannamei* (Cobo Cedeño, 1974).

1.3 Importancia económica de la especie *L. vannamei*

La producción de camarón puede provenir de dos procesos productivos diferentes: la pesca de camarón silvestre (de donde se obtiene aproximadamente el 60% de la producción mundial en la actualidad), y la producción acuícola. Aunque ambos métodos son utilizados en todos los países productores de camarón, el primer método es la principal fuente de producción en los países asiáticos, de dónde proviene el 75% de la producción total mundial de camarón, y el segundo método, la crianza de camarón en piscinas que es la principal fuente de producción de los países occidentales (FAO, 2007).

Entre la familia de los camarones Peneidos se destaca a *Litopenaeus vannamei* como la especie más cultivada en el mundo (FAO, 2007) (Tabla 3). La especie *L. vannamei* es nativa de la costa pacífica de América Central y del Sur, aunque su cultivo también se realiza en otras regiones. Esta es una especie de extrema importancia económica para América Latina y Asia (FAO, 2010).

Tabla 3. Producción mundial de camarón cultivado

Nombre español	Norme científico	Producción de cultivo en 2005 (ton)
Camarón patiblanco	<i>Penaeus vannamei</i>	1 594 039
Langostino jumbo	<i>Penaeus monodon</i>	710 806
Camarones <i>Penaeus</i> – nei	<i>Penaeus spp.</i>	125 025
Langostino banana	<i>Penaeus merguensis</i>	81 105
Langostino carnoso	<i>Penaeus chinensis</i>	51 300
Langostino japonés	<i>Penaeus japonicus</i>	43 181
Camarón blanco de la India	<i>Penaeus indicus</i>	31 875
Camarones <i>Metapenaeus</i> -nip	<i>Metapenaeus spp.</i>	14 600
Camarón azul	<i>Penaeus stylirostris</i>	3 170

Fuente: FAO, 2007

El Camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), es la principal especie de cultivo de la costa Ecuatoriana. La cual en el 2015 alcanzó una producción nacional de 211.984 ha cultivadas (Figura 2).

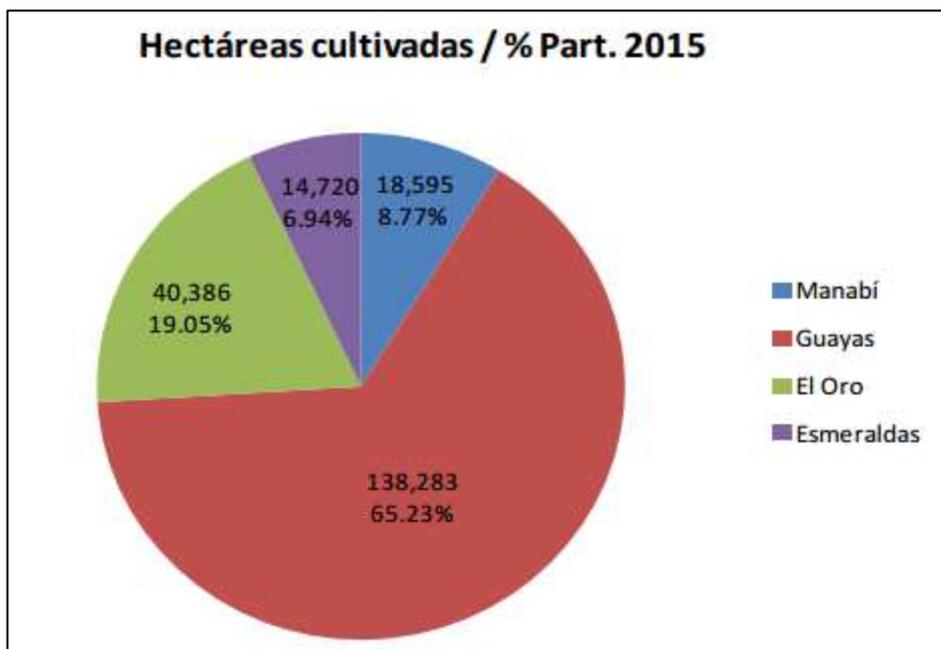


Figura 2. Producción de camarón por provincia en Ecuador

Fuente: Secretaría de Acuicultura, MAGAP

Elaboración: Dirección de Inteligencia Comercial e Inversiones, PRO ECUADOR

Las exportaciones del sector acuicultura están compuestas principalmente por esta especie de camarón, el mismo que por su exquisito sabor, color y textura es reconocido como un producto gourmet a nivel mundial. Este reconocimiento ha generado valiosas aportaciones a la economía ecuatoriana como se representa en la siguiente Tabla 4.

Tabla 4. Exportaciones Ecuatorianas de Camarón (Dólares)

AÑO	TOTAL	% Crecimiento Anual
1994	\$ 514.300.354,88	
1995	\$ 665.174.329,74	22,19%
1996	\$ 615.307.841,99	-1,22%
1997	\$ 871.664.843,90	27,30%
1998	\$ 875.050.894,01	5,41%
1999	\$ 616.942.114,94	-17,37%
2000	\$ 297.408.403,40	-60,32%
2001	\$ 280.694.073,08	20,31%
2002	\$ 263.859.174,42	3,24%
2003	\$ 303.820.895,88	23,02%
2004	\$ 350.147.733,06	25,02%
2005	\$ 480.251.487,00	34,15%
2006	\$ 597.670.743,40	24,36%
2007	\$ 582.028.512,15	3,32%
2008	\$ 673.469.146,78	7,91%
2009	\$ 607.254.114,25	1,56%
2010	\$ 735.480.173,53	7,68%
2011	\$ 993.365.390,70	21,76%
2012	\$ 1.133.323.708,56	14,61%
2013	\$ 1.620.611.908,12	5,43%
2014	\$ 2.289.617.267,94	28,85%
2015	\$ 2.304.901.984,29	17,88%
2016	\$ 2.455.284.864,49	11,04%

Elaborado por: Cámara Nacional de Acuicultura

A pesar que, Ecuador es un país en donde gran parte de su economía se sostiene por los recursos pesqueros, casi no existe preocupación por el efecto de las partículas de microplásticos sobre la biota marina, y los trabajos realizados sobre este tema son inexistentes. Es por ello, que el objetivo de esta investigación se centra en evaluar el efecto de las partículas de microplástico sobre la alimentación de la especie de interés comercial *L. vannamei*.

1.4 Objetivos del trabajo de investigación

Objetivo General:

Evaluar el efecto de las partículas de microplástico sobre la alimentación de la especie *L. vannamei*

Objetivos específicos

- Analizar el comportamiento alimentario de *L. vannamei* ante una exposición forzada a microplástico.
- Evaluar el contenido del tracto digestivo de la especie *L. vannamei* después de un ensayo de exposición a microplástico.
- Determinar la posible presencia de microplástico en el tracto digestivo de la especie *L. vannamei*.

Pregunta de investigación

¿La presencia de partículas de microplástico puede tener un efecto sobre la alimentación de la especie *L. vannamei*?

Hipótesis planteadas

H1. La presencia de partículas de microplástico afecta la alimentación de la especie *L. vannamei*.

H0. La presencia de partículas de microplástico no afecta la alimentación de la especie *L. vannamei*.

2 . METODOLOGÍA

2.1 Descripción del sistema experimental

Los especímenes de camarón blanco se obtuvieron de la granja de acuicultura LARDEMA S. A, localizada en la vía San Mateo. Los organismos con un estadio de PL15 fueron trasladados en bolsas plásticas a las instalaciones del laboratorio. Una vez en el laboratorio los organismos fueron aclimatados durante 2 semanas en tanques de 32 L, con agua de mar filtrada, fotoperiodo natural de 12 h / 12h (luz: oscuridad) y aireación constante (Figura. 3).



Figura 3. Acuario de aclimatación del cultivo

Cada dos días se realizó la limpieza y cambio de agua en los acuarios de cultivo. El fondo del acuario fue sifonado con una manguera de 1 m de longitud cubierta con una malla de 100 micras en uno de sus extremos. Los organismos se mantuvieron en agua de mar filtrada. La filtración del agua se dio a través de bolsos monofilamento de nylon de 1 micra de luz de filtro. Los organismos fueron alimentados con alimento convencional microparticulado (Start Plus, 300-500 micras).

Como se describe en la Figura 4 el sistema de ensayo estuvo conformado por recipientes plásticos en forma de embudo, fijados en una superficie plana. Cada una de las unidades experimentales se mantuvo con aireación constante con la utilización de motores de doble salida (2,5 W de potencia).

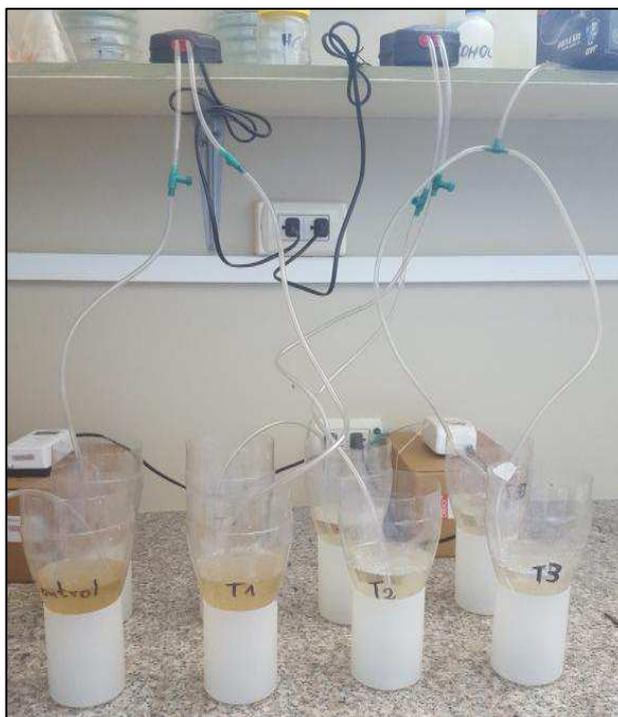


Figura 4. Sistema de ensayo

2.2 Descripción del bioensayo

Los ensayos fueron realizados con larvas en estadio PL30. Antes del inicio del experimento se separaron al azar grupos de 10 larvas de camarón blanco. Estos grupos de organismos se mantuvieron en vasos de precipitación de 50 ml con agua de mar filtrada durante 2 horas. Durante este periodo cada 15 minutos se realizó una renovación del agua de mar en cada uno de los vasos de precipitación (Figura. 5), con el objetivo de que los organismos tuvieran el tracto digestivo totalmente limpio antes de iniciar el ensayo. Se separaron un total de 8 grupos de 10 individuos para cada bioensayo realizado.

En cada unidad experimental se adicionaron 200 ml de agua de mar filtrada. Seguido se colocaron 10 organismos en cada una de estas unidades. Se utilizaron tres tratamientos de exposición más un control. El primer tratamiento (T1) 25% de microplástico + 75% de alimento; el segundo tratamiento (T2) 50% microplástico + 50% alimento; el tercer tratamiento (T3) 75% microplástico + 25% alimento; y el control (C) 100% alimento convencional. Cada tratamiento y el control tuvieron un peso total de 200 mg. Las partículas de microplásticos fueron extraídas de cremas exfoliante de marca comercial, siendo la composición del mismo principalmente de polietileno. Para determinar el tamaño de partícula, se tamizó la crema exfoliante determinando que el tamaño de partícula de microplástico utilizado era >500 micras. El alimento convencional microparticulado utilizado fue Start Plus (300-500 micras). Cada tratamiento fue testado en 8 réplicas. Cada ensayo tuvo una duración de media hora. Una vez cumplido el tiempo de exposición, las larvas de camarón fueron retiradas con el uso de pipetas Pasteur plásticas de 3 ml y de forma inmediata fueron fijadas en alcohol para su posterior análisis.



Figura 5. Separación de individuos para depuración del tracto digestivo

2.3 Porcentaje de llenura en la especie *L. vannamei*

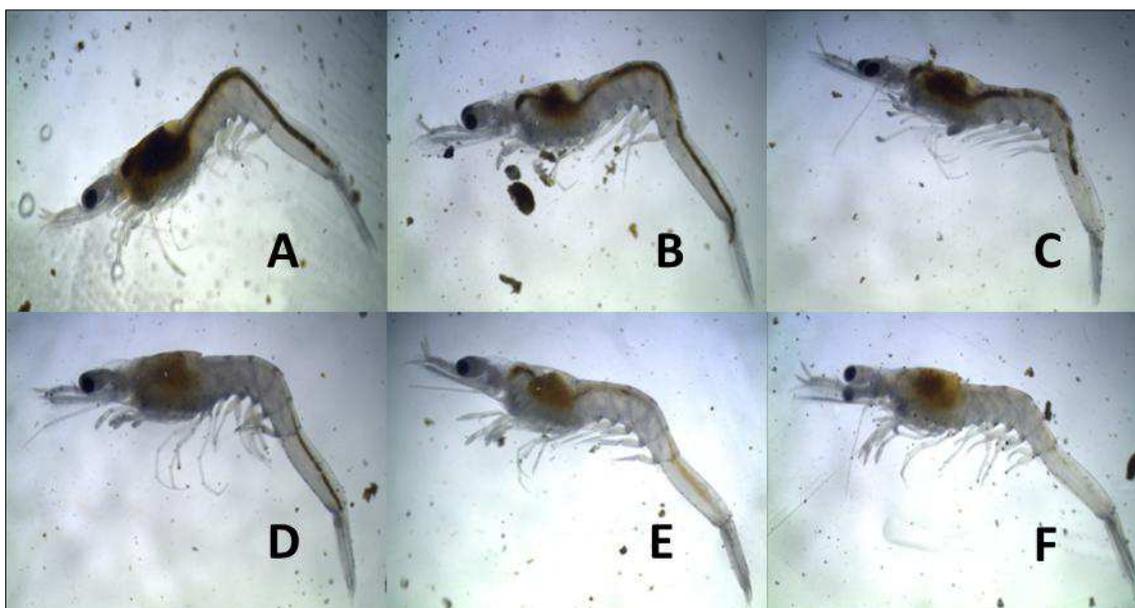


Figura 6. Categorización del porcentaje de llenura del trato digestivo. A (100% de 100); B (80% de 100); C (60% de 100); D (40% de 100); E (20% de 100); F (0% de 100)

Para la determinación del porcentaje de llenura se realizó una modificación de la metodología descrita Sori, et al. (2011). El tracto digestivo fue dividido en 5 partes iguales de las que se derivan 6 categorías de llenura (Figura.6).

2.4 Presencia o ausencia de microplástico en el tracto digestivo

La presencia o ausencia de microplástico en el tracto digestivo se determinó a través de observación directa mediante un estereoscopio. Se tomaron imágenes de cada organismo expuesto durante el ensayo. Las imágenes fueron procesadas a través del software TS View (Figura. 7)



Figura 7. Procesamiento y digitalización de las muestras

2.5 Procesamiento de datos

Los datos fueron procesados a través del test no paramétrico de Kruskal-Wallis seguido del test de múltiples comparaciones de Dunn para determinar la diferencia entre tratamientos. Los análisis se llevaron a cabo con la utilización del software estadístico InStat Pad Graphic versión 3.00.

3 . RESULTADOS

3.1 Comportamiento alimentario de la especie *L. vannamei* ante una exposición forzada a microplástico

Durante la realización del bioensayo se pudo observar que en cada tratamiento de exposición la presencia de partículas de microplástico dificultaba la captura del alimento por los organismos. Los individuos perdían tiempo manipulando las partículas de microplástico presentes en el medio y demoraban en captar el alimento.

3.2 Porcentaje de llenura del tracto digestivo

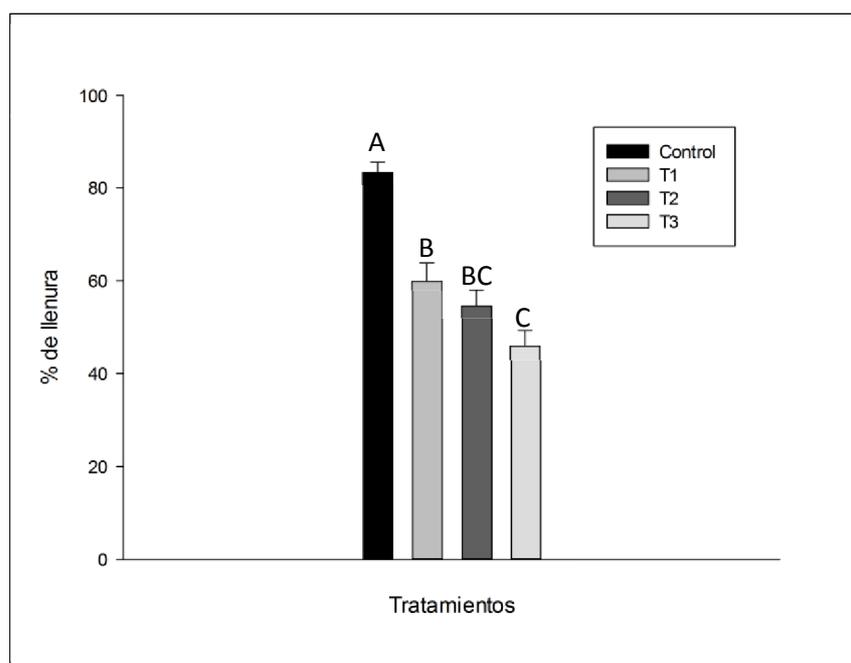


Figura 8. Porcentaje de llenura del tracto digestivo de especímenes de *L. Vannamei* expuesto a distintos tratamientos de microplástico más alimento convencional. (C= 100% alimento convencional microplarticulado; T1 = 25% de microplástico + 75% de alimento; T2 50% microplástico + 50% alimento; T3 = 75% microplástico + 25% alimento). Letras distintas indican diferencia significativa ($P < 0,05$)

Los resultados indican que a medida que aumentó la concentración de exposición a microplástico, el porcentaje de llenura del tracto digestivo

disminuyó en la especie *L. vanammei* (Figura. 8). Observándose diferencia significativa de los distintos tratamientos con el control ($P < 0,001$). Sin embargo, no existe diferencia entre los distintos tratamientos de exposición, a excepción del T1 y T3 que si fueron estadísticamente distintos (Tabla 4).

Tabla 5. Dunn's Multiple Comparisons Test

COMPARACION	DIFERENCIA MEDIA DE RANGOS	P value
CONTROL VS T1	65.581	*** P<0.001
CONTROL VS T2	83.723	*** P<0.001
CONTROL VS T3	105.51	*** P<0.001
T1 VS T2	18.142	ns P> 0.05
T1 VS T3	39.926	* P< 0.05
T2 VS T3	21.784	ns P> 0.05

3.3 Presencia o ausencia de microplástico en el tracto digestivo

El 2 % del total de individuos testados presentaron partículas de microplástico en el tracto digestivo, siendo los individuos pertenecientes al tratamiento T3 los que presentaron las partículas de microplásticos en su tracto digestivo (Figura. 9 y 10). Los resultados demuestran que el aumento de la concentración de exposición a microplástico, incrementó la presencia de las partículas de microplástico en el tracto digestivo de los organismos expuestos.



Figura 9. Presencia de partícula de microplástico en el tracto digestivo de la especie *Litopenaeus vannamei*.

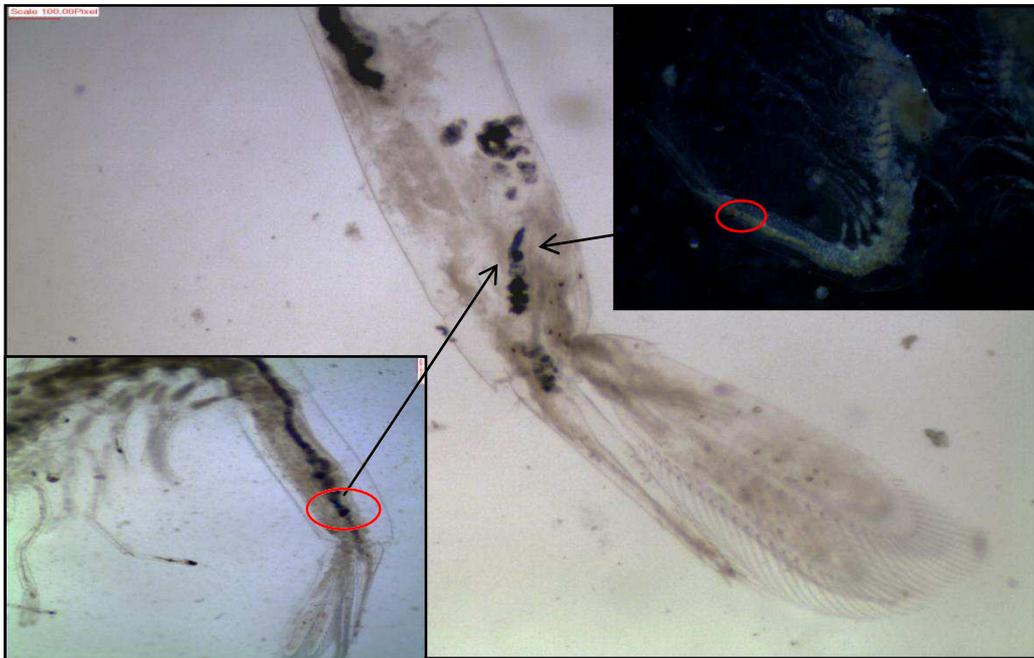


Figura 10. Presencia de partícula de microplástico en el tracto digestivo de la especie *Litopenaeus vannamei*.

4 .DISCUSIÓN

El presente estudio demuestra que la presencia de microplástico dificultó la obtención del alimento en la especie *L. vannamei*. La pérdida de tiempo al manipular las partículas de microplásticos en el medio antes de encontrar su alimento puede tener efectos negativos sobre el desarrollo de las larvas. Según Jones et al. (1997) la cantidad y calidad de los alimentos que se ofrecen a las larvas son aspectos que afectan el desarrollo de las mismas. Además la supervivencia de larvas y postlarvas depende de su condición nutricional (Racotta et al. 2003, Palacios et al. 2004, Andriantahina et al. 2012).

La disminución del porcentaje de llenura a medida que aumentaba la concentración de exposición a microplástico demuestra que un incremento de partículas de microplásticos en el ambiente tendría un efecto negativo sobre los hábitos alimenticios en la especie *L. vannamei*. El impacto de la presencia de microplástico sobre la biota en el medio marino es conocido (Andrady 2011; Derraik 2002). De hecho, existen estudios donde se reconoce el efecto de las partículas de microplásticos en otras especies de camarones (Setälä et al. 2014; Devriese et al. 2015). En el presente estudio se puede sugerir que la inhibición o la disminución en la capacidad de alimentación de la especie *L. vannamei*, puede llevar a consecuencias importantes como un retraso en su crecimiento y desarrollo.

Este es el primer trabajo en donde se evalúan los posibles efectos de la exposición a microplástico en la especie *L. vannamei*. Sin embargo la literatura necesaria para contrastar la información es escasa. No obstante, este estudio es comparable a un trabajo realizado en el camarón místico, después de una exposición de 12 h a micro esferas de plástico, en donde se sugirió que la sola presencia de microplástico en el medio se presenta como un efecto negativo, ya que condiciona el factor nutricional de la especie, lo cual es fundamental para el desarrollo larvario de crustáceos decápodos (Setälä et al. 2014)". Este

efecto podría estar relacionado a condiciones de estrés causados por la presencia de un agente extraño en el medio (Lignot et al. 2000). El microplástico al ser una partícula totalmente sintética podría ser un influyente para esta condición, al generar un cambio en su medio natural.

Por otra parte, es conocido que el tamaño de partícula resulta ser de mucha importancia en los ecosistemas, debido a las diversas estrategias de captación y alimentación de los organismos en los diferentes niveles de la red trófica (Wright et al, 2013), tales como el crustáceo decápodo *Nephops norvegicus* (Murray y Cowie, 2011), Percebes (*Lepas spp.*) (Goldstein y Goodwin, 2013), pescado (Foekema et al, 2013), peces pelágicos y bentopelágicos (Lusher et al, 2013), mejillón azul *Mytilus edulis* (De Witte et al, 2014), gusanos de río *Gobio gobio* (Sánchez et al, 2014), bivalvos (Van Cauwenberghe y Janssen, 2014), arenícola marina (Van Cauwenberghe et al, 2015). Los cuales han demostrado ser vulnerables a este tipo de contaminación ya que confunden las pequeñas partículas de plástico con su alimento convencional, debido a la similitud entre tamaños.

Lovell, T. (1989) expuso que la detección del alimento por parte de los camarones peneidos es realizada mediante mecanismos quimio sensitivos en vez de visuales y que la especie se alimenta de una variedad de organismos bénticos y detritus, pero no pueden ser colocados en un nivel trófico determinado, debido a que generalmente son oportunistas, característica que aumenta el riesgo de verse afectados por agentes exógenos a su medio natural. El microplástico al ser un contaminante actualmente considerado omnipresente podría estar en contacto permanente con las especies marinas como la especie objetivo de estudio.

En el Ecuador no existen estudios realizados para evaluar el efecto de la contaminación por microplástico. Sin embargo, el estudio realizado por Figueroa-Pico et al. (2016) señaló que más del 90% de los desechos marinos

encontrados en los arrecifes rocosos de la costa de Manabí-Ecuador fueron derivados del plástico. Este resultado sustenta la importancia sobre futuras investigaciones que evalúen el efecto de la contaminación por microplásticos en la zona. Es conocido que la fragmentación continua del plástico a consecuencia de diversos factores ambientales como rayos ultravioleta y corrientes marinas es una de las principales causas de la generación de micropartículas de plásticos (Browne et al. 2007; Barnes et al. 2009; Thompson et al. 2004; Andrady 2011).

Aunque solo un pequeño porcentaje de los organismos expuestos incorporaron microplástico en el tracto digestivo, este dato puede sugerir la hipótesis de que en otras condiciones de ensayo o en condiciones naturales esta especie podría ingerir las partículas de microplásticos en mayores proporciones. En este sentido, realizando bioensayos de exposición con la utilización de organismos en diferentes estadios, o ensayos en donde se utilice un tamaño de partícula de microplástico más pequeña, podría arrojar más información sobre la capacidad de ingesta de microplástico en la especie *L. vannamei*.

Hay estudios realizados con camarones que demuestran la transferencia de microplásticos a través de la red trófica (Farrell y Nelson 2013; Setälä et al. 2014). Este aspecto debe de ser tomado con mayor relevancia ya que la especie *Litopenaeus vannamei* es considerada de importancia como un producto que ayuda a mantener la seguridad alimentaria en el mundo, como alternativa para disminuir el hambre en países con una producción pobre de alimentos propios de su territorio. En el Ecuador en su mayoría se practica una acuicultura semi-extensiva, los camarones procedentes de este método de siembra están en menor riesgo a tener contacto con los contaminantes en relación con los de pesca silvestre. Sin embargo la pesca de camarón silvestre representa más del 60% de producción mundial de camarón y tienen una relación más íntima con las variaciones ambientales y el microplástico en el medio. En este sentido el efecto negativo que causaría la presencia de microplástico en el medio natural podría generar una escasez de larvas silvestres, lo cual se presenta como un problema, ya que en ocasiones son

necesarias para la producción y cultivo, obligando a los productores a la necesidad de importar esta materia prima, incrementando los costos de producción y perdiendo competitividad.

Sumado a esto la presencia de microplástico en el tracto digestivo de los camarones aumenta el riesgo de ingesta por las personas en poblaciones y comunidades que obtienen a estos crustáceos decápodos mediante una pesca artesanal.

En este tipo de camarones el tracto digestivo no siempre es retirado del animal previo a ser utilizado como producto alimenticio y posiblemente los microplásticos en el tracto digestivo pueden ser transferidos durante el consumo

5 .CONCLUSIONES

La disposición de partículas de plástico en el medio tiene un efecto negativo en el comportamiento alimentario de la especie *L. vannamei*. En presencia de microplástico los organismos reducen la cantidad de alimento que ingieren, pudiendo quedar comprometido su crecimiento y desarrollo normal en la etapa de postlarva. Por otra parte, la presencia de microplástico en el tracto digestivo de *L. vannamei* podría inferir la posibilidad de un proceso de bioacumulación que podría verse magnificado a través de la red trófica.

6 .RECOMENDACIONES

1. Realizar nuevos estudios para determinar si diferentes tamaños de partícula causan mayores efectos sobre la ingesta, en diferentes fases del ciclo de vida de *L. vannamei*.
2. Realizar estudios de campo para determinar la presencia de microplásticos en el medio natural y su efecto sobre la especie.
3. Realizar estudios de presencia de microplásticos en camarones de esta especie destinados al consumo humano, procedentes de pesquerías y de acuicultura.

7 .BIBLIOGRAFÍA

1. Andrady, AL. 2003. Common plastics materials: Andrady, AL. (ed), Plastics and the Environment. Hoboken. WILEY. p. 77-122.
2. Andrady, AL; Neal, MA. 2009. Applications and societal benefits of plastics. Philosophical Transactions of the Royal Society B. 364, 1977–1984.
3. Andrady, AL. 2011. Microplastics in the marine environment. Marine Pollution Bulletin. v.62, 8, p. 1596-160.
4. Andriantahina F; Liu X; Huang H; Xiang J; Yang C. 2012. Comparison of reproductive performance and offspring quality of domesticated Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture. v.324-325, p. 194-200.
5. Arthur, C; Baker, J; Bamford, H. (eds.). 2009. Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence: Effects and Fate of Microplastic Marine Debris: NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-30.
6. Barnes, DKA; Galgani, F; Thompson, RC; Barlaz, M. 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. Philosophical Transactions of the Royal Society B. v. 364, p.1985–1998.
7. Boerger, CM; Lattin, GL; Moore, SL; Moore, CJ. 2010. Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. Mar. Pollut. Bull. v. 60 (12), p.2275–2278.
8. Boschi, E.E. y M.A. Scelzo. 1977. Desarrollo larval y cultivo del camarón comercial de Argentina *Artemesia longinaris* Bate (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). FAO Inf. Pesca, 159(1): 187327.
9. Browne, MA; Galloway T; Thompson R. 2007. Microplastic—an emerging contaminant of potential concern? Integr. Environ. Assess. Manage. v. 3 (4), p. 559–561.
10. Browne, MA; Dissanayake, A; Galloway, TS; Lowe, DM; Thompson, RC. 2008. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). Environ. Sci. v. 42, p. S026–S031.

11. Carpenter, EJ; Smith L. 1972. Plastics on the Sargasso Sea Surface. v. 175, p. 1240-1241.
12. Cedeño CM. 1974. El cultivo del camarón en el Ecuador. Informe de Pesca No. 159. FAO, Roma, pp. 249-265.
13. Dall, W. 1981. Lipid absorption and utilisation in the Norwegian lobster *Nephrops norvegicus* (L.). J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 50, p.33–45.
14. Derraik, JGB. 2002. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. Mar. Pollut. Bull. v. 44, p.842–852.
15. Devriese, LI; Van der Meulen, MD; Maes, T; Bekaert, K; Paul-Pont, I; Frère, L; Vethaak, AD. 2015. Microplastic contamination in brown shrimp (*Crangon crangon*, Linnaeus 1758) from coastal waters of the Southern North Sea and Channel area. Marine pollution bulletin, v. 98(1), p. 179-187.
16. De Witte, B; Devriese, L; Bekaert, K; Hoffman, S; Vandermeersch, G; Cooreman, K; Robbens, J. 2014. Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*): comparison between commercial and wild types. Mar. Pollut. Bull. v. 85 (1), p. 146-155.
17. Diario oficial de la Union Europea. 2008. The Marine Strategy Framework Directive.
18. Drach, P. 1939. Mue et cycle t'intermue chez les crustacés décapodes. Ann. Inst. Océanogr. v. 19, p. 103-391.
19. FAO.2007. Departamento de Pesca y Acuicultura. Programa de información de especies acuáticas.
20. FAO. 2010. Departamento de Pesca y Acuicultura. Programa de información de especies acuáticas.
21. Farrell, P; Nelson, K. 2013. Trophic level transfer of microplastics: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). Environ. Pollut. v. 177, p. 1-3.

22. Figueroa-Pico, J; Mero-Del Valle, D; Castillo-Ruperti, R; Macías-Mayorga, D. 2016. Marine debris: Implications for conservation of rocky reefs in Manabi, Ecuador (Se Pacific Coast). *Marine pollution bulletin*, 109(1), 7-13.

23. Foekema, EM; De Gruijter, C; Mergia, MT; Van Franeker, JA; Murk, AJ; Koelmans, A. A. 2013. Plastic in north sea fish. *Environmental science & technology*, 47(15), 8818-8824.

24. Goldstein, MC; Goodwin, D S. 2013. Gooseneck barnacles (*Lepas spp.*) ingest microplastic debris in the North Pacific Subtropical Gyre. *PeerJ*. 1:184.

25. Graham, ER; Thompson, JT. 2009. Deposit and suspension-feeding sea cucumbers (*Echinodermata*) ingest plastic fragments. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* v.368. p.22–29.

26. Hirai, H; Takada, H; Ogata, Y; Yamashita, R; Mizukawa, K; Saha, M & Zettler, ER. 2011. Organic micropollutants in marine plastics debris from the open ocean and remote and urban beaches. *Marine Pollution Bulletin*, v.62 (8), p.1683-1692.

27. Kukulka, T., Proskurowski, G., Morét-Ferguson, S., Meyer, D.W., Law, K.L., 2012. The effect of wind mixing on the vertical distribution of buoyant plastic debris. *Geophysical Research Letters* 39, L07601.

28. Mato, Y., Isobe, T., Takada, H., Kanehiro, H., Ohtake, C., Kaminuma, T., 2001. Plastic resin pellets as a transport medium for toxic chemicals in the marine environment. *Environmental Science and Technology* 35, 318–324.

29. NTE INEN 2633. 2012. Disposición de Desechos Plásticos Post-Industriales. Requisitos. Instituto Ecuatoriano de Normalización.

30. NTE INEN 2634. 2012. Disposición de Desechos Plásticos Post-Consumo. Requisitos. Instituto Ecuatoriano de Normalización.

31. ISO 15270:2008 Plastics — Guidelines for the recovery and recycling of plastics waste. International Standardization Organization. 2008. <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15270:ed-2:v1:en>

32. Jones, DA; Kumlu, M; Le Vay, L; Fletcher, DJ. (1997). The digestive physiology of herbivorous, omnivorous and carnivorous crustacean larvae: a review. *Aquaculture*, v. 155(1-4), p. 285-295.

33. Lettieri P; Al-Salem, S. 2011. Thermochemical treatment of plastic solid waste. In: Letcher TM; Vallero D, editors. Waste: A handbook for management. p. 233–42.
34. Lignot, JH; Spanings-Pierrot, C; Charmantier, G. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture*, v. 191(1), p. 209-245.
35. Lovell, T. (1989). Nutrition and feeding of fish (Vol. 260). New York: Van Nostrand Reinhold.
36. Lusher, AL; McHugh, M; Thompson, RC. 2013. Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Marine pollution bulletin*, v. 67(1), p. 94-99.
37. Moore, CJ. 2008. Synthetic polymers in the marine environment: a rapidly increasing, long-term threat. *Environmental Research*. v. 108, p.131–139.
38. Morét-Ferguson, S; Law, KL; Proskurowski, G; Murphy, EK; Peacock, EE; Reddy, CM. 2010. The size, mass, and composition of plastic debris in the western North Atlantic Ocean. *Mar. Pollut. Bull.* v. 60 (10), p.1873-1878.
39. Murray, F; Cowie, PR. 2011. Plastic contamination in the decapod crustacean *Nephrops norvegicus* (Linnaeus, 1758). *Mar. Pollut. Bull.* 2011, v. 62 (6), p. 1207–1217.
40. Oehlmann, J; Schulte-Oehlmann, U; Kloas, W; Jagnytsch, O; Lutz, I; Kusk, KO; Wollenberger, L; Santos, EM; Paull, GC; Van Look, KJW; Tyler, CR. 2009. A critical analysis of the biological impacts of plasticizers on wildlife. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B: Biol. Sci.*v. 364, p.2047–2062.
41. Oliveia, M; Ribeiro, A; Guilhermino, L. 2012. Effects of exposure to microplastics and PAHs on microalgae *Rhodomonas baltica* and *Tetraselmis chuii*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* v.163, S19-S20.
42. Palacios E; Bonilla A; Pérez A; Racotta IS; Civera R. 2004. Influence of highly unsaturated fatty acids on the responses of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae to low salinity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. v. 299, p. 201-215.

43. Perez-Farfante, I; Kensley, B. 1997. Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the World: Keys and Diagnoses for the Families and Genera. Editions of the National Museum of Natural History, Paris, France.
44. PlasticsEurope, 2010. Plastics – The Facts 2010.
45. PlasticsEurope, 2012. Plastics – The Facts 2012.
46. Racotta IS; Palacios E; Ibarra AM. 2003. Shrimp larval quality in relation to broodstock condition. *Aquaculture* 227: 107-130.
47. Ryan, PG; Moore, CJ; Van Franeker, JA; Moloney, CL. 2009. Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. v. 364, p.1999–2012.
48. Sanchez, W; Bender, C; Porcher, JM. 2014. Wild gudgeons (*Gobio gobio*) from French rivers are contaminated by microplastics: preliminary study and first evidence. *Environmental research*, v. 128, p. 98-100.
49. Setälä, O; Fleming-Lehtinen, V; Lehtiniemi, M. 2014. Ingestion and transfer of microplastics in the planktonic food web. *Environmental pollution*, v. 185, p.77-83.
50. Sivan, A. 2011. New perspectives in plastic biodegradation. *Current Opinion in Biotechnology*. v. 22, p. 422–426.
51. Sorí, M. A; Alvarez, J. S; Pelegrin, E; Galindo, J. 2011. Conducta alimentaria del camarón *Litopenaeus vannamei* durante la época invernal en estanques de tierra. Congreso Internacional de Ciencias Veterinarias.
52. Thompson, RC; Olsen, Y; Mitchell, RP; Davis, A; Rowland, SJ; John, AWG; McGonigle, D; Russell, AE. 2004. Lost at sea: where is all the plastic? *Science*. p. 838.
53. Thompson, RC; Swan, SH; Moore, CJ; Vom Saal, FS. 2009. Our plastic age. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. v. 364, p. 1973–1976.

54. Van Cauwenberghe, L; Janssen, CR. 2014. Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environ. Pollut.* v. 193, p. 65–70.
55. Van Cauwenberghe, L; Claessens, M; Vandegehuchte, MB; Janssen, CR. 2015. Microplastics are taken up by mussels (*Mytilus edulis*) and lugworms (*Arenicola marina*) living in natural habitats. *Environmental Pollution*, v. 199, p. 10-17.
56. Van Franeker, JA; Blaize, C; Danielsen, J; Fairclough, K; Gollan, J; Guse, N; Hansen, PL; Heubeck, M; Jensen, JK; Le Guillou, G; Olsen, B; Olsen, KO; Pedersen, J. 2011. Monitoring plastic ingestion by the northern fulmar *Fulmarus glacialis* in the North Sea. v. 159, p. 2609–2615.
57. Wright, SL; Thompson, RC; Galloway, TS. 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review. *Environ. Pollut.* v. 178, p. 483-492.