



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA Y TECNOLOGIAS

CARRERA DE BIOLOGÍA

TRABAJO DE INTEGRACION CURRICULAR

Modalidad Artículo Académico

REPELENCIA DE LARVAS DEL CAMARÓN BLANCO (*Penaeus vannamei*) EXPUESTAS A QUÍMICOS DE PROTECTORES SOLARES

Bryan Ismael Mera-Arroyo

Jonathan Fabricio Espinales Villegas

Tutora

Blga. Sandra Solórzano Barcia, MGs.

Cotutor

Blgo. José Javier Alió Mingo, M.A

Manta, Ecuador

Agosto 2024



FACULTAD CIENCIAS DE LA VIDA Y TECNOLOGÍAS
CARRERA DE BIOLOGÍA

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Modalidad Artículo Académico

Tema


**REPELENCIA DE LARVAS DEL CAMARÓN BLANCO (*Penaeus vannamei*)
EXPUESTAS A QUÍMICOS DE PROTECTORES SOLARES**

Autores


Bryan Ismael Mera Arroyo
Jonathan Fabricio Espinales Villegas



Dra. Dolores Muñoz Verduga, Ph.D
Presidenta del tribunal de Titulación



Blgo. Xavier Pico Lozano, Ph.D
Miembro del tribunal de Titulación



Blgo. Dario Del Valle Calderón, Mg.
Miembro del tribunal de Titulación

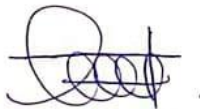
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Jonathan Fabricio Espinales Villegas declaro que hemos contribuido a la realización del trabajo de titulación bajo la modalidad de Artículo Académico previo a la obtención del título de Biólogo con tema:


Repelencia de larvas del camarón blanco (*Penaeus vannamei*) expuestas a químicos de protectores solares.

He revisado la versión final del manuscrito y aprobamos su presentación para publicación. También garantizamos que este trabajo es original, no ha sido publicado previamente y no está bajo consideración para su publicación en otro lugar.

Además, declaramos que no tenemos conflictos de interés en relación con este trabajo.



Espinales Villegas Jonathan Fabricio
C.I.: 0804206498

 <p>Uleam ELOY ALFARO DE MANABÍ</p>	<p>NOMBRE DEL DOCUMENTO: CERTIFICADO DE TUTOR(A).</p>	<p>CÓDIGO: PAT-04-F-004</p>
	<p>PROCEDIMIENTO: TITULACIÓN DE ESTUDIANTES DE GRADO BAJO LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</p>	<p>REVISIÓN: 1</p> <p>Página 1 de 1</p>

CERTIFICACIÓN

En calidad de docente tutor(a) de la Facultad Ciencias de la vida y tecnologías, matriz manta, de la Universidad Laica “Eloy Alfaro” de Manabí, CERTIFICO:

Haber dirigido, revisado y aprobado preliminarmente el Trabajo de Integración Curricular modalidad articulo académico, bajo la autoría del estudiante **Espinales Villegas Jonathan Fabricio, C.I. 080420649-8** legalmente matriculado en la carrera Biología, período académico 2024-2025, cumpliendo el total de 192 horas, cuyo tema del proyecto es: **“Repelencia de larvas del camarón blanco *Penaeus vannamei* expuestas a químicos de filtros solares”**

La presente investigación ha sido desarrollada en apego al cumplimiento de los requisitos académicos exigidos por el Reglamento de Régimen Académico y en concordancia con los lineamientos internos de la opción de titulación en mención, reuniendo y cumpliendo con los méritos académicos, científicos y formales, y la originalidad del mismo, requisitos suficientes para ser sometida a la evaluación del tribunal de titulación que designe la autoridad competente.

Particular que certifico para los fines consiguientes, salvo disposición de Ley en contrario.

Lugar, 01 de agosto de 2024

Lo certifico,



Blga. Sandra Solórzano Barcia MgGA
Docente Tutor(a)
Área: Acuicultura

REPELENCIA DE LARVAS DEL CAMARÓN BLANCO (*Penaeus vannamei*) EXPUESTAS A QUÍMICOS DE PROTECTORES SOLARES

Jonathan Fabricio Espinales-Villegas^{1,3}, Bryan Ismael Mera-Arroyo^{1,4}, Sandra Solorzano¹, José Javier Alió Mingó²

¹ Carrera de Biología, Facultad de Ciencias de la Vida y Tecnologías, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Manta,

² Maestría en Recursos Acuáticos, Facultad de Ciencias de la Vida y Tecnologías, Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Manta, Ecuador.

³ Correo institucional: e0804206498@live.uleam.edu.ec

⁴ Correo institucional: e1316317724@live.uleam.edu.ec

RESUMEN

La contaminación de franja marina más cercana a la costa se ha incrementado por el uso de bloqueadores solares entre los residentes y turistas visitantes, especialmente en épocas de asueto, y esto puede causar perturbación a la fauna en las zonas de crianza. El presente estudio tiene como propósito medir la respuesta de fuga de larvas de camarón blanco *Penaeus vannamei* expuestas a dosis de bloqueadores solares por medio de un sistema multicompartimentado de exposición no forzada, diseñado para simular gradientes de contaminación. Además, se analizó la dosis letal y mortalidad tras 48 horas en escenario de exposición forzada. Se evaluaron experimentalmente la repelencia de tres protectores solares comerciales [A (Nivea®), B (Neutrogena®) y C (Tanga®)] mediante la evaluación del escape. Los protectores fueron homogenizados en agua de mar de 33 ppm con un batidor de leche por 10 min. La concentración letal media estimada fue (A 2,5 g/L, B 4,0 g/L y C 3,2 g/L) Los individuos fueron expuestos durante 4 h a gradientes de concentración de protectores solares (0-300 mg/L) en un escenario heterogéneo de exposición no forzada. Se homogenizaron las mezclas para los compartimientos, se evidenció una respuesta de repelencia de los individuos a los químicos de filtros solares

Palabras claves: Repelencia, contaminación, gradientes de concentración, mortalidad, preferencia, disolución

Abstract

The purpose of the present study is to measure the escape response of white shrimp *Penaeus vannameie* larvae exposed to doses of sunscreens through a multicompartimental system of non-forced exposure, designed to simulate pollution gradients. A system of fifteen compartments was established and a test was carried out to test the scenario and analyze the distribution of the larvae in the absence of contaminants, which demonstrated that the organisms moved freely in the system without showing preference for any of the compartments. cameras. The repellency of three commercial sunscreens [A (Nivea), B (Nitrogena) and C (Tanga)] were experimentally evaluated by evaluating escape. In a heterogeneous non-forced exposure scenario, individuals were exposed for 4 hours to concentration gradients (0-300 mg/L) of sunscreens. In addition, the lethal dose and mortality after 48 hours in the forced exposure

scenario were analyzed. The compartments' mixtures were homogenized, and the individuals' repellent response to the sunscreen chemicals was evident.

Key words: Repellence, *Penaeus vannamei*, gradients, mortality, preference, dissolution.

1 INTRODUCCIÓN

La industria acuícola desempeña un papel crucial en la producción de alimentos a nivel mundial, contribuyendo en el crecimiento económico y proporcionando importantes oportunidades de empleo en los países en desarrollo (Espinosa et al., 2021) (Armijos et al., 2015). Ecuador en la década del sesenta dio sus primeros pasos en la industria camaronera (Azuero et al., 2021), debido a que posee excelentes condiciones como el clima tropical con altas temperaturas y humedad, además de disponer de una buena calidad del agua, condiciones que ha concedido que el camarón ecuatoriano se convierta en un pilar de la economía nacional (Rimbardo et al., 2024).

El camarón blanco *Penaeus vannamei* Bonne, 1931, es una de las especies más cultivadas en Ecuador, debido a su rápido crecimiento, tolerancia a altas densidades de siembra y resistencia a ciertas enfermedades. Esta especie se ha caracterizado por tener un cuerpo segmentado, un caparazón duro y un par de ojos compuestos (Armijos et al., 2015). Su comportamiento es principalmente bentónico, viviendo cerca del fondo del estanque o del mar (Uzcátegui et al., 2016).

Actualmente la producción camaronera se concentra en las provincias costeras como: Guayas, El Oro, Manabí, Esmeraldas y Sta. Elena (Pulgarín-Sánchez y Mora-Coello, 2022), siendo una gran fuente de empleo y estabilidad económica en la región, empleando a miles de trabajadores que realizan diversas tareas bajo condiciones ambientales desafiantes (Uzcátegui et al., 2016) como la sobreexposición a los rayos UV solares causando riesgo a la salud con efectos perjudiciales en el instante como son la respuesta aguda de eritema (quemazón solar) (Blumthaler, 2018) y el riesgo a largo plazo ya que ha sido clasificada como un carcinógeno humano establecido (Rezaei et al., 2024). Por otra parte, la visita de turistas en la franja más costera del mar, especialmente en épocas de asueto, tiene asociado un uso intenso de bloqueadores solares. Los químicos derivados de estos productos pueden afectar la estabilidad y supervivencia de esta fauna (Aráujo et al., 2020).

En este contexto, la implementación de bloqueadores solares emerge como una medida preventiva para mitigar los efectos adversos de la radiación ultravioleta (UV) en los trabajadores y turistas, pero, a su vez, podría influir en el entorno acuático y la vida larval del camarón. Sin embargo, los filtros solares contienen una mezcla de sustancias que podrían incluir nutrientes (por ejemplo, silicatos, fosfatos y nitratos), y metales como, (Al, Cd, Cu, Co, Mn, Mo, Ni, Pb, y Ti) que pueden tener efectos negativos en el medio ambiente acuático (Tovar-Sánchez, 2019). Debido a las diferentes presentaciones de los

protectores solares (por ejemplo, cremas, lociones, aerosoles), su dilución directa y los ingredientes liberados en ecosistemas marinos varían, como la cantidad o fracción de estos compuestos que llegan a estos sitios pudiendo afectar a los individuos y podría ejercer un efecto tóxico (Sureda et al., 2018).

Sin embargo a pesar de las dificultades que se presentan en estos tipos de estudios para poder simular de manera realista la liberación de sustancias contenidas en los protectores solares en medios naturales o ambientes de cultivos para el *P. vannamei*, y poder realizar una evaluación precisa del riesgo que puedan enfrentar los organismos que allí habitan o son cultivados, se ha logrado proporcionar evidencias de estudios de laboratorio sobre el daño potencial que los protectores solares pueden causar en grandes cantidades a la biota acuática.

Ejemplos del impacto de las sustancias derivadas de los protectores solares sobre la fauna, indican que, el mejillón silvestre *Mytilus galloprovincialis* bioacumula sustancias derivadas de los filtros UV presentes en los protectores solares (Vidal et al., 2018)-, la toxicidad de tres filtros UV orgánicos en el crustáceo cladóceros *Daphnia magna* (Park et al., 2017)-, los efectos de los filtros UV en medios marinos y sus consecuencias (toxicidad y bioacumulación en la cadena alimentaria) (Rainieri et al., 2017)-, la evaluación de la toxicidad por filtros UV en organismos modelo que representan diferentes niveles tróficos: la microalga *Isochrysis galbana*, el mejillón *Mytilus galloprovincialis* y el erizo *Paracentrotus lividus* (Giraldo et al., 2017), el impacto de los filtros UV inorgánicos por contacto de inmersión directa o en dilución en los arrecifes de coral (Corinaldesi et al., 2018)-, los cambios en los patrones de alimentación y movimientos natatorios del pez payaso, *Amphipion ocellaris*, por motivos de gradientes de contaminación relacionados a filtros solares (Barone et al., 2019). En estas investigaciones se han demostrado las respuestas bioquímicas y fisiológicas a causa de los protectores solares, lo cual comprueba que pueden afectar el comportamiento de los organismos ya que los protectores solares en cierta medida podrían alterar los rasgos ecológicos de los individuos de estudio (Scott, 2004).

Muchos de estos estudios sobre el comportamiento de los organismos se han realizado en sistemas de exposición forzada, donde los especímenes se exponen a contaminantes de manera continua y obligatoria, investigaciones recientes utilizando sistemas de exposición no forzada y de libre elección han demostrado que diversos compuestos pueden desencadenar una respuesta de evitación espacial (Tierney, 2016; Moreira-Santos et al., 2019; Araújo et al., 2018.) Este tipo de estudios permite evaluar el potencial repelente de los productos químicos y la capacidad de los organismos para detectarlos y evitarlos simulando un ambiente heterogéneo con diferentes niveles de contaminación. Bajo este contexto el sistema de exposición multi-habitat HeMHAS (Heterogeneous Multi-Habitat Assay System) es uno de los sistemas de exposición multi-habitat no forzados que han demostrado ser adecuados para estudios de evitación con pequeños peces y camarones (Vera et al., 2019) así como los efectos de toxicidad en camarones *Palaemon varians* por métodos de exposición (Araújo et al., 2020).

El objetivo principal de este estudio fue evaluar la repelencia de 3 marcas distintas de bloqueadores solares comerciales, tomando como organismo experimental la capacidad de postlarvas de *P. vannamei* para detectar los diferentes gradientes de concentración de estos productos y moverse hacia áreas donde la concentración de sustancias derivadas de protectores solares es menor o nula. Para ello, se llevaron a cabo varios experimentos de evitación utilizando el sistema de exposición multi-habitat (HeMHAS) ya que se ha demostrado que este escenario permite simular gradientes sutiles de contaminación y evaluar la capacidad de los organismos para percibirlos y evitarlos, y permite analizar los efectos de los protectores solares sobre la supervivencia y la movilidad de larvas de camarón (Araújo et al., 2020). Como mecanismo para evaluar el riesgo que podrían representar los protectores solares a nivel local, se realizaron pruebas NOEC (No Observed Effect Concentration) que representa la concentración del tóxico a la cual no se observan efectos estadísticamente significativos en comparación con el control, mientras que las pruebas LOEC (Lowest Observed Effect Concentration) es la menor concentración tóxica de las empleadas en un bioensayo que causa un efecto estadísticamente significativo con relación al control (Fernández, 2024).

Para el estudio se planteó la siguiente hipótesis, si las larvas de camarón blanco son capaces de detectar concentraciones subletales de bloqueadores (UV) en respuesta, exhibirán un comportamiento de evitación significativo, lo se manifestará en una reducción en su presencia en áreas con mayor concentración de estos compuestos. Esta hipótesis se fundamenta en que las larvas de camarón pueden percibir cambios en su entorno, incluyendo la presencia de sustancias químicas como los bloqueadores (UV). Se espera que, al detectar estas concentraciones subletales, las larvas modifiquen su comportamiento y eviten áreas donde la exposición de bloqueadores sea elevada.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se basó en diseños experimentales descriptivos. Aunque el desarrollo del estudio se llevó a cabo en la ciudad de Manta, algunas de las pruebas experimentales se establecieron en la empresa LARDERMA cerca de San Mateo del cantón Manta, Provincia de Manabí. Este enfoque permitió no solo la recopilación de información relevante, sino también en la aplicación práctica de los conceptos teóricos en un ambiente simulado, lo que enriqueció los resultados obtenidos y su relevancia en el contexto local, nacional e internacional.

2.1 Especie: Característica, obtención y mantenimiento

El trabajo consistió en el estudio del efecto de repelencia de larvas del camarón blanco *Penaeus vannamei* expuestas a tres marcas de filtros solares. Los organismos ensayados tenían una edad aproximadamente de 14 días y cerca de 1 cm de longitud. Los individuos se aclimataron a una temperatura de 32 ± 1 °C y durante un fotoperiodo de 12/12 h de luz/oscuridad) durante 24 h en una pecera de 15 L con agua marina filtrada

(0,5 mm) (pH: 7,6 y salinidad: 33 UPS) con aireación continua. Se suministró alimento (nauplios de *Artemia salina* recién eclosionados) cada 12 h. Se eliminaron los organismos que murieron durante la aclimatación (se registró una mortalidad <1%). A resultados

2.2 Protectores solares: composición.

Para llevar a cabo este estudio se seleccionaron tres protectores solares de amplio uso: NIVEA™ que en lo posterior se denominará A, seleccionado de una encuesta a estudiantes de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias de la vida y Tecnologías, ULEAM; NEUTROGENA™® que en lo posterior se denominará B seleccionado de una encuesta a trabajadores acuícolas de la empresa LARDEMA; y TANGA™ que en lo posterior se denominará C, escogido de entre todas las marcas por ser uno de los más económicos en el mercado. En la tabla 1 se describen los principales ingredientes (filtros UV) que el fabricante proporciona, su factor de protección solar (SPF) y la forma de presentación del contenido. Por añadidura se analizaron por triplicado el efecto toxicológico de cada uno de los protectores solares (Tabla 1)

Tabla 1

Características de los 3 protectores solares seleccionados: FPS (factor de protección solar), formato (tipo de aplicación) y filtros UV

Protector solar	SPF	Formato	Filtros UV
A	50	Crema	Octocrileno, avobenzona, oxybenzona, homosalato, octinoxato (Ethylhexyl Methoxycinnamate), benzofenona, TiO ₂ , ZnO
B	50	Crema	Homosalato, octinoxato, avobenzona, octocrileno, oxibenzona, octizalato
C	50	Crema	Ácido benzoico, octinoxato (Ethylhexyl salicylato), DHHB, MBBT, estearato de glicerilo

2.3 Determinación de la concentración letal media (CL₅₀) de los protectores solares para los organismos de ensayo

Para la evaluación de los efectos letales de los protectores solares A, B y C, se prepararon concentraciones graduadas de cada uno de los protectores solares con exposición a pruebas estáticas (Islam et al., 2019), en la que se hicieron soluciones con una concentración de 0 (sin protector solar, como control), 720, 1500, 3000, 6000 y 12000 mg/L para la prueba de la concentración a la cual ocurre el 50% de mortalidad de los individuos de estudios. Para lograr una adecuada homogenización de los gradientes de bloqueadores solares, se utilizó un batidor de leche de la marca MIGVELA. Este dispositivo se seleccionó por su capacidad para generar una mezcla uniforme y consistente. Se prepararon tres replicas para cada concentración de los protectores solares utilizando 1 L de agua de mar con salinidad de 33% a una temperatura controlada de 32 °C. En cada réplica, se añadió una cantidad específica de bloqueador solar (gradientes que fueron mencionados recientemente) asegurando que todas las muestras fueran tratadas de manera uniforme.

El proceso de homogenización se llevó a cabo mediante la agitación continua con el espumador durante un total de 10 min por cada concentración. Este tiempo para la mezcla fue elegido para garantizar que los componentes del bloqueador solar se dispersaran completamente en el agua, evitando la formación de grumos o sedimentación. La agitación prolongada no solo facilitó la dilución de los ingredientes activos, sino que también permitió una mejor simulación de las condiciones que podrían encontrarse en un entorno acuático natural.

En cada réplica se introdujeron 6 post larvas de *P. vannamei* de 14 días. También se estableció un número igual de controles negativos y sin tratamiento utilizando solo agua de mar con salinidad de 33 %. La mortalidad de las larvas se monitoreó constantemente y los datos se registraron cada 30 min en un intervalo de 3 h para determinar la dosis letal.

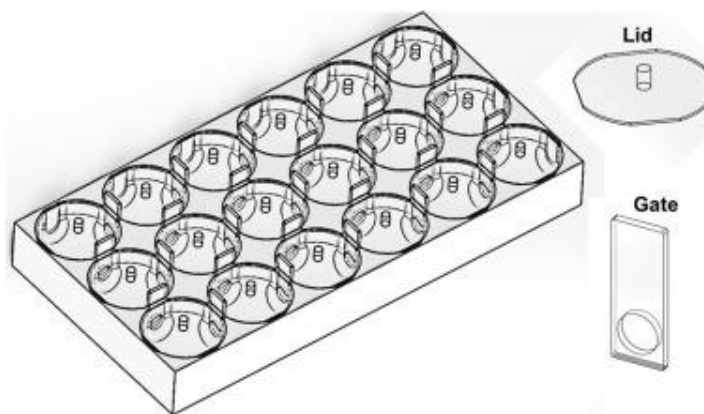
Para analizar los datos de mortalidad en la dosis letal, se utilizó el software estadístico R Studio que permite realizar un análisis detallado y una visualización de los resultados como se puede observar en la (Figura 1) a resultados. Además, se empleó el programa de análisis Toxicity Relationship Analysis Program (TRAP), el cual fue fundamental para poder calcular la concentración letal media (CL₅₀) (Figura 2) a resultafos. Este cálculo es crucial, ya que nos permite establecer de manera más precisa los gradientes de concentración que se utilizaron en la presente investigación.

2.4 Implementación del sistema de ensayo (HeMHAS - Heterogeneous Multi-Habitat Assay System)

Se elaboró un sistema para los ensayos de fuga de exposición no forzada replicando el sistema HeMHAS (Araújo et., 2018) (Figura 1), con 15 recipientes ovalados de polietileno para evitar la adsorción del producto con dimensiones de 10 x 7 x 5 cm; largo, ancho y alto, con una capacidad individual de 250 mL para un volumen total de 3750 mL en el sistema de ensayo. Los 15 recipientes estaban, dispuestos en 3 columnas, 5 filas conectados entre sí, permitiendo a los individuos moverse libremente. Una vez terminado el sistema, se dejó en reposo hasta 48 h, El pegamento usado (SS-1200) no se considera tóxico.

Figura 1

Diagrama esquemático del Heterogeneous Multi-Habitat Assay System (HeMHAS)
Fuente (Araújo et al., 2018)



Nota* Se utilizó el sistema de ensayo denominado HeMHAS (Araújo et al., 2018), ya que consta de varios compartimientos interconectados. Los organismos estudiados (*P. vannamei*) pueden desplazarse libremente entre los diferentes compartimientos que conforman el sistema

2.5 Prueba de mortalidad a las 48 h en relación con gradientes de contaminación

El objetivo de esta prueba fue verificar si los resultados obtenidos en muestras anteriores, como la Dosis Letal (DL) y la Concentración Letal Media (CL50), proporcionaron los gradientes de concentración adecuados para el presente proyecto. Para llevar a cabo esta evaluación, se emplearon los mismos procedimientos utilizados en experimentos anteriores.

Se utilizó 1 L de agua de mar de 33‰ en cada cámara, donde se introdujeron los organismos. Se prepararon soluciones con las siguientes concentraciones: 0 mg/L (sin protector solar, como control), 20, 60, 140 y 300 mg/L. Estas dosis fueron seleccionadas

para realizar una prueba de rango y determinar si se cumplían las normas establecidas para las pruebas de evitación.

Se utilizaron 55 postlarvas larvas de *P. vannamei* por cada gradiente de concentración, y el experimento se replicó tres veces. Los organismos utilizados en el ensayo tenían aproximadamente 17 días de edad y medían alrededor de ± 1 cm. Antes de la prueba, las postlarvas fueron aclimatadas a una temperatura de 32 ± 1 °C y mantenidas en un fotoperiodo de 12:12 h de luz oscuridad durante 24 h en una pecera de 15 L con agua marina filtrada (0.5 mm). Las condiciones del agua se mantuvieron con un pH de 7.6 y una salinidad de 33 ‰, asegurando una aireación continua.

Adicionalmente, se suministró alimento (nauplios de *Artemia salina*) cada 12 h. Este enfoque integral permite evaluar de manera efectiva la respuesta de evitación de las larvas ante diferentes concentraciones de bloqueadores solares (Figura 4) asegurando que los resultados sean representativos y confiables (Cunningham et., al 2020)

2.6 Regulación de la dispersión aleatoria de organismos en el sistema HeMHAS

Para probar el mecanismo de este escenario, se llevó a cabo un experimento de control que consistió en 3 réplicas, en el cual no se utilizó gradientes de contaminación (filtro solar). El objetivo de este ensayo fue comprobar si los camarones mostraban alguna tendencia a evitar o preferir ciertas cámaras dentro del sistema experimental, todos los compartimientos fueron llenados con el mismo tipo de agua que se había utilizado previamente para el mantenimiento de los organismos. Se introdujeron larvas de *P. vannamei* en cada cámara, totalizando 15 individuos al inicio del experimento. Posteriormente se registró la cantidad de individuos presentes en cada compartimiento a intervalos de 30 min durante un periodo total de 120 min, lo que resultó en cinco momentos de observación por replica presentada. Investigaciones anteriores como (Araújo et al., (2018); Ehiguese et al., (2019)) han indicado que los intervalos de tiempos son adecuados para detectar patrones de evitación espacial consistentes en los camarones.

Para llevar a cabo la exposición y el registro de datos, se realizó el experimento en condiciones de oscuridad, con el fin de minimizar cualquier interferencia externa que pudiera afectar los resultados durante el conteo de los organismos. Para ello se utilizó una luz roja lo que permitió evitar perturbaciones por parte de los observadores y asegurar la precisión en la contabilización de los camarones, ya que los crustáceos perciben de manera muy limitada la luz roja. Este enfoque metodológico se basa en adaptaciones de estudios previos (Araújo et al., 2019), lo que garantizó que los datos obtenidos fueran fiables, permitiendo una evaluación clara del comportamiento de estos individuos en relación con su entorno experimental.

2.7 Pruebas de evitación con filtros solares

En primer lugar, se cerraron las compuertas que conectan los compartimientos del sistema de ensayo HeMHAS antes de introducir los gradientes de contaminación, posteriormente, se añadieron los filtros solares ya homogenizados en cada uno de los recipientes. Una vez que los contaminantes fueron añadidos, se colocaron 3 larvas de *P. vannamei* en cada compartimiento, después de la introducción de los organismos, dando una totalidad de 45 individuos por replica, se abrieron las compuertas, permitiendo así que las larvas tuvieran acceso a todos los compartimientos del sistema.

El lugar donde se ubicó el escenario HeMHAS se mantuvo en oscuridad y a una temperatura de 23°C. al igual que la prueba de control de evitación, se registró la posición de las larvas cada 30 min durante 4 h, dando un total de 8 observaciones. Para realizar estas observaciones, se utilizó una luz roja, lo que ayudó a reducir el estrés en los organismos y a obtener datos más precisos sobre su compartimiento (Araújo et al., 2020).

2.8 Análisis de datos

Para analizar la respuesta de evitación de las larvas de camarón en los diferentes tratamientos, se evaluaron las diferencias estadísticas en la distribución de las larvas de camarón en los distintos tratamientos de los bloqueadores solares. De acuerdo a la literatura científica como detalla (Araújo et al., 2019) el uso de un ANOVA factorial (diseño mixto con medidas repetidas), para comparar la distribución de las larvas en los diferentes tratamientos, este enfoque no resultó eficaz para identificar diferencias significativas entre los grupos.

Dado que los resultados a lo largo del tiempo (un factor intragrupo en el diseño de medidas repetidas) no mostraron diferencias estadísticamente significativas, se observó que la distribución de las larvas era similar durante todo el periodo de estudio. Por lo tanto, se optó por analizar la media de las observaciones realizadas en los distintos tiempos de exposición. Inicialmente, las distribuciones porcentuales de las larvas se evaluaron mediante un ANOVA unidireccional. En caso de detectar diferencias significativas ($p < 0.05$), se aplicó la prueba de hoc de Bonferroni para identificar comparaciones específicas entre grupos.

La normalidad de los datos se verificó previamente utilizando la prueba de Shapiro-Wilk. Para calcular el porcentaje de repelencia, se siguió el procedimiento descrito por (Moreira-Santos et., 2008). Este método proporciona una forma sistemática de cuantificar la respuesta de evitación de las larvas ante diferentes concentraciones de contaminantes, permitiendo así una interpretación de los resultados. Además, se realizó un análisis adicional de los datos mediante la utilización de tablas cruzadas y pruebas de chi-cuadrado. Las tablas cruzadas permiten visualizar la relación entre dos o más variables categóricas, facilitando la identificación de patrones y tendencias en la distribución de los datos.

Para garantizar la validez de los experimentos realizados, se establecieron tres condiciones que debían cumplirse: (I) no se registró mortalidad en el tratamiento de control durante las pruebas de toxicidad, este criterio es fundamental para descartar cualquier factor externo que pueda estar causando la muerte de las larvas (II) no se observó mortalidad en las concentraciones subletales utilizadas en las pruebas de evitación, al mantener la supervivencia de los organismos, se asegura que las decisiones de distribución espacial sean una reacción conductual y no una consecuencia de la mortalidad, (III) la distribución aleatoria de los individuos en la prueba de control de evitación sin contaminante fue aleatoria (Araujo et., al 2020).

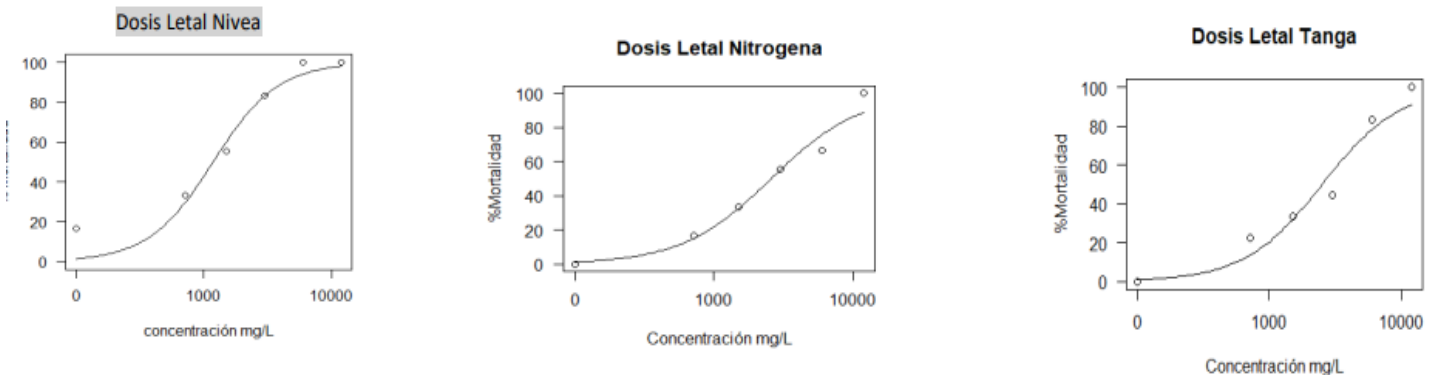
3 RESULTADOS

3.1 Respuesta de mortalidad

Se registró una mortalidad significativa en las larvas de *P. vannamei* expuestas a diferentes concentraciones de bloqueadores solares. La mortalidad alcanzó aproximadamente el 28,0% en la concentración más alta (300 mg/L) del protector solar C, mientras que el protector solar A mostró una mortalidad del 17,9% en la misma concentración Tabla 2. En el caso del protector solar B, la mortalidad fue del 11,4% a 300 mg/L, como se puede ver en la Figura 4.

Aunque no se observaron signos evidentes de pérdida de motilidad en las larvas expuestas a concentraciones más bajas de los protectores solares, se notó que un porcentaje considerable de individuos (alrededor del 20% en el caso C) pudieron haber presentado inmotilidad a concentraciones intermedias (60 mg/L y 140 mg/L) de ambos protectores solares A y C. En general, la mortalidad y la pérdida de motilidad fueron más pronunciadas en las concentraciones más altas.

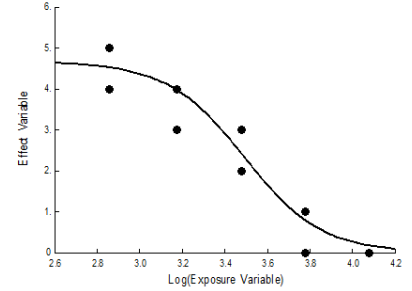
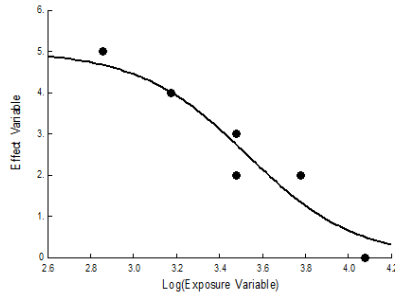
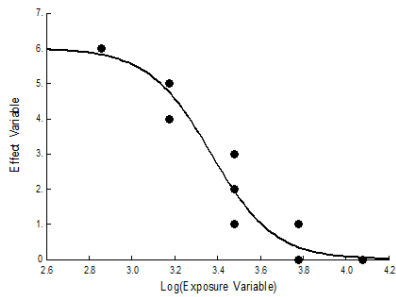
Figura 1



Mortalidad de las larvas de camarón en respuesta a la Dosis Letal (DL): Análisis de 6 observaciones

Figura 3

durante 3 horas



Concentración Letal Media (CL50)

Nota* La Concentración Letal Media (CL50) se calculó utilizando el software Toxicity Relationship Analysis Program (TRAP). El valor de CL50 se determinó estadísticamente a partir de los datos de dosis letal en escala logarítmica. Imagen 1 corresponde al bloqueador (A), 2 (B), 3(C)

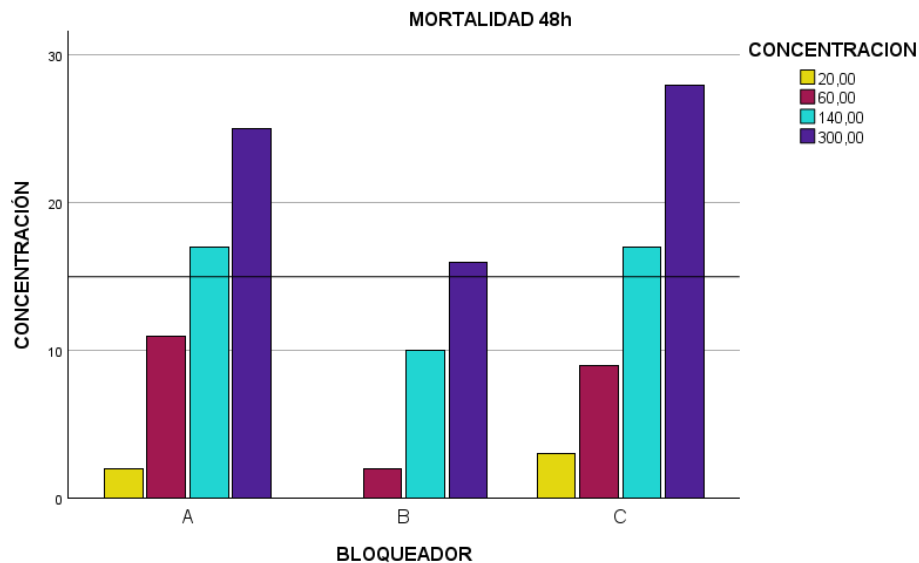
Tabla 2

Mortalidad observada en distintas concentraciones de los tres tipos de bloqueadores

		CONCENTRACION (mg/L)					
		20,00	60,00	140,00	300,00	Total	
Bloqueador	A	Recuento	2	11	17	25	55
		% del total	1,4%	7,9%	12,1%	17,9%	39,3%
	B	Recuento	0	2	10	16	28
		% del total	0,0%	1,4%	7,1%	11,4%	20,0%
	C	Recuento	3	9	17	28	57
		% del total	2,1%	6,4%	12,1%	20,0%	40,7%
Total	Recuento	5	22	44	69	140	
	% del total	3,6%	15,7%	31,4%	49,3%	100,0%	

Figura 2

Prueba de mortalidad en 48 horas en individuos expuestos a contaminantes de forma continua

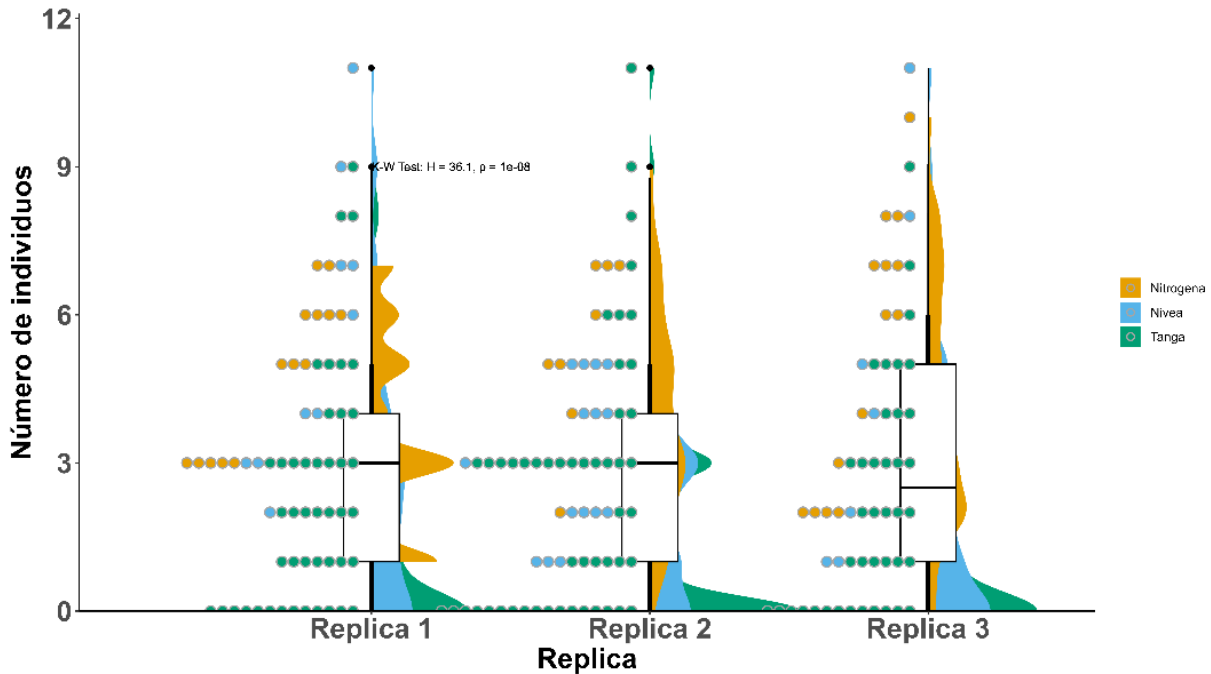


3.2 Respuestas de evitación

La distribución de los organismos en los diferentes compartimentos del experimento mostró un patrón notablemente similar para las tres marcas en las pruebas de control evaluadas, considerando la diferencia de medias en la frecuencia de individuos entre la concentración 20 mg/L y las concentraciones 60 mg/L, 140 mg/L y 300 mg/L Figura 5. Esto indica que la distribución de los organismos en el sistema experimental se vio afectada de manera diferente a partir de la concentración de 60 mg/L en comparación con el control y 20 mg/L; sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre la concentración 60 mg/L y la concentración 140 mg/L ($P= 0.096$), Este resultado sugiere que el efecto sobre la distribución de los organismos fue similar en estos dos niveles de contaminación. En contraste, la diferencia de medias entre la concentración de 60 mg/L y la concentración de 300 mg/L si fue estadísticamente significativa ($p < 0.05$), esta diferencia indica que la distribución en los organismos se vio afectada a la concentración más alta de 300 mg/L en comparación con la de 60 mg/L.

Figura 3

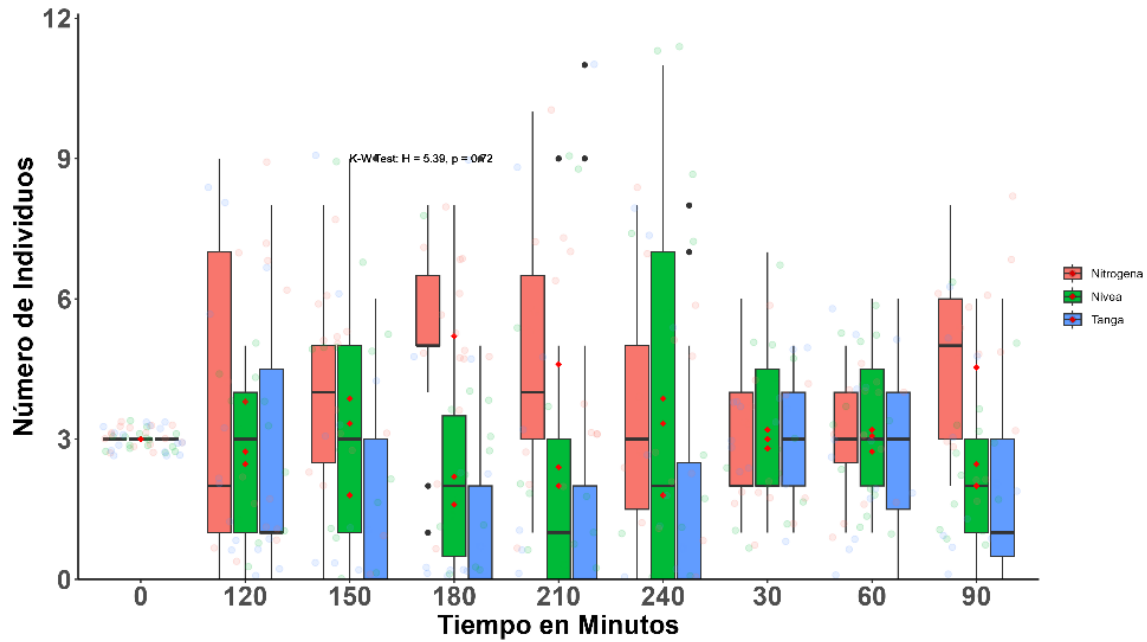
Grafica combinada de Violin: Relación entre el Número de Individuos y Réplicas



Se llevó a cabo una prueba Kruskal-Wallis para evaluar la respuesta de evitación de las larvas *P. vannamei* en relación con el tiempo de exposición a los químicos. No se observaron diferencias significativas en la cantidad de evitación observada entre los diferentes intervalos de tiempo (K-W 5.39; $P= 0.72$). La Figura 6, proporciona una explicación más detallada de los resultados, manteniendo el enfoque en la respuesta de evitación de las larvas de *P. vannamei*.

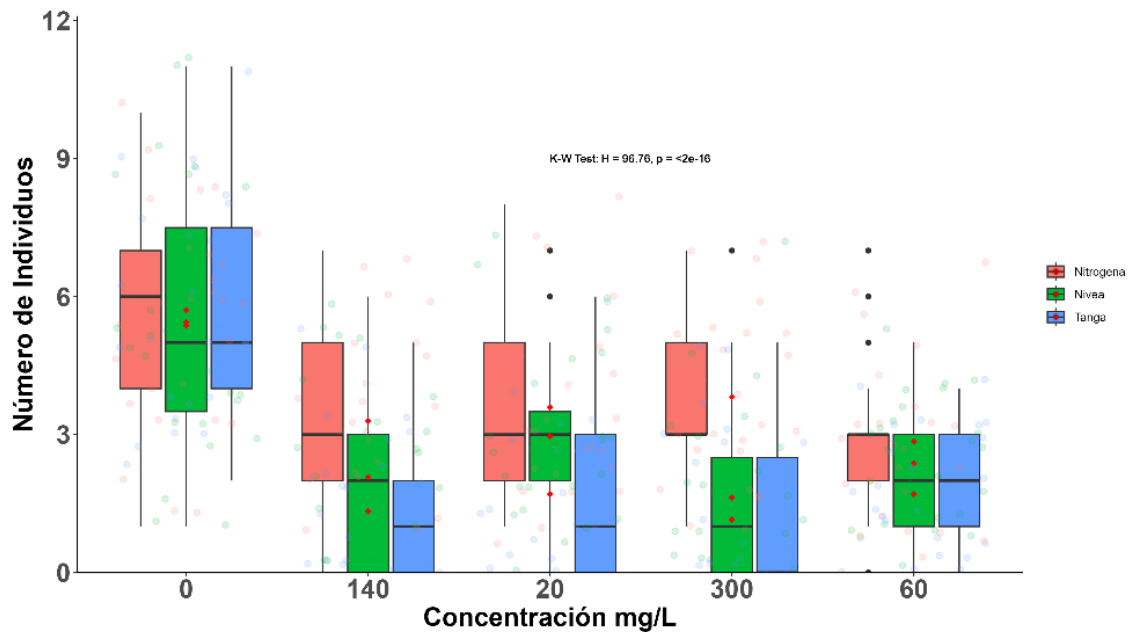
Considerando la respuesta de evitación de individuos en función de los gradientes de contaminación (Figura 7), se observaron diferencias altamente significativas en la cantidad de individuos presentes entre las diversas concentraciones de bloqueador solar con respecto al control (K-W 96.76; $P<0.001$), junto con un p-valor ($<2e-16$). Estos resultados indican la existencia de diferencias altamente significativas en la cantidad de individuos observados entre las diversas concentraciones de bloqueador solar Figura 7

Figura 4



Respuesta de evitación de individuos en función del tiempo

Figura 5



Respuesta de evitación de individuos en función de la concentración

4 DISCUSIÓN

Los estudios que evalúan la respuesta de fuga de los organismos generalmente se basan en sistemas experimentales con dos compartimientos (con agua control y contaminante) (Araújo et al., 2018, 2019; Vera et al., 2019). Sin embargo, el presente estudio adoptó un enfoque más detallado al evaluar la capacidad de las larvas de camarón blanco para evadir gradientes de contaminación y la toxicidad potencial de tres protectores solares comerciales. Para ello se utilizaron dos criterios de evaluación: la respuesta de evitación y la mortalidad. La evaluación de ambas respuestas permitió calcular la disminución inmediata de la población en exposiciones a corto plazo. El sistema empleado en este estudio fue diseñado para replicar un escenario más realista donde los individuos pudieran desplazarse libremente en cada compartimiento evadiendo así las concentraciones más altas, el presente estudio se basó en el enfoque metodológico desarrollado por Araújo et al. (2018), quienes utilizaron camarones carideos como modelos biológicos para medir la respuesta de evitación ante gradientes de cobre. En la presente investigación, se aplicó una estrategia similar, aunque con algunas modificaciones para adaptarla a los objetivos específicos sobre el comportamiento de camarón peneideo *P. vannamei*.

En lugar de utilizar un sistema de flujo continuo, se calcularon los gradientes de concentración a partir de los resultados obtenidos en las pruebas de Dosis de Letalidad (DL) y la Concentración Letal Media (CL50). Esto permitió verter diluciones estáticas en las cámaras del sistema experimental, manteniendo la exposición de los organismos a diferentes niveles de contaminación, pero menor a la concentración letal media.

Para validar la idoneidad del sistema HeMHAS en el estudio de evitación y confirmar su adecuación para aplicar los gradientes calculados, se llevaron a cabo pruebas preliminares. El ensayo de control demostró que los individuos no presentaban una preferencia marcada por ningún compartimiento en particular, observándose un desplazamiento normal de las larvas en ausencia de contaminantes. Además, se determinó que el tiempo de homogenización de 10 minutos era suficiente para garantizar la estabilidad de los gradientes, evitando así la transferencia de contaminantes entre cámaras adyacentes.

Los resultados obtenidos en este estudio indican que las larvas de camarón blanco *P. vannamei* son capaces de evitar ambientes con concentraciones más elevadas de bloqueadores solares en comparación con la concentración de 0 mg/L y 20 mg/L. En particular, las diluciones de 60, 140 y 300 mg/L fueron las que los organismos evitaron en mayor medida, tanto para los bloqueadores solares (A) y (C), en contraste con el bloqueador (B), donde se observó una mayor distribución de las larvas en los gradientes más altos. Las pruebas de mortalidad respaldan estos hallazgos, ya que se registró una menor mortalidad en los individuos expuestos a las concentraciones de 60, 140 y 300 mg/L del bloqueador (B) durante un período de 48 horas. Este patrón sugiere que las

larvas puedan detectar y evitar concentraciones de bloqueadores solares que podrían ser perjudiciales para su supervivencia.

El método de homogenización directa del bloqueador solar permitió establecer una relación clara entre los compuestos químicos presentes en los filtros UV. Esta técnica favorece una respuesta más rápida de los organismos expuestos a los bloqueadores solares en comparación con aquellos que son sumergidos directamente, lo que podría resultar en una respuesta más lenta o una menor evitación debido a la distribución gradual del protector solar en el medio acuático. Mas allá de establecer un método estándar para diluir protectores solares en el medio de prueba, nuestros resultados indican que la solubilización de estos productos es un factor crucial a considerar al interpretar los datos. Dependiendo del método utilizado, la viscosidad del agua puede variar, lo que podría afectar la movilidad de los organismos (Díaz-Gil et al., 2017).

En cuanto a la repelencia de los individuos de ensayo, no se observaron variaciones significativas a lo largo del tiempo de exposición a los químicos de los filtros solares. Una característica notable de este estudio fue el uso de los propios protectores en lugar de enfocarse únicamente a sus compuestos activos. Se ha demostrado que muchos de estos elementos tienen efectos adversos en especies como *Mytilus galloprovincialis*, *Daphnia magna*, *Isochrysis galbana* y *Paracentrotus lividus* (Vidal et al., 2018; Park et al., 2017; Giraldo et al., 2017; Berone et al., 2019).

Además, la exposición a una mezcla de octocrileno, avobenzona y octinoxato mostró un efecto tóxico reducido debido a interacciones antagónicas entre los componentes, en comparación con la exposición a un solo compuesto (Park et al., 2017). En relación con los efectos de los protectores solares sobre el compartimiento, se espera que la repelencia no dependa únicamente de los componentes conocidos (Tovar-Sánchez et al., 2013; Cunningham et al., 2020). El potencial de los protectores solares para inducir evitación en las larvas de *P. vannamei*, sugiere que esta respuesta podría ser común en otras especies de cultivo. Se ha demostrado que los contaminantes juegan un papel importante como perturbadores del hábitat, y los resultados del presente estudio demostraron que los bloqueadores solares pueden desencadenar la respuesta de evitación del camarón blanco, donde el escape podría ser la respuesta más relevante en la reducción de las poblaciones en un nicho ecológico, por el desplazamiento hacia zonas más favorables.

5 CONCLUSIONES

- El sistema de fuga utilizado en este estudio resultó ser eficaz para evaluar la respuesta de evitación de las larvas de camarón blanco *Penaeus vannamei* expuesta a gradientes de contaminantes de bloqueadores solares

- En el ensayo control donde no se aplicó ningún contaminante, las larvas de *P. vannamei* mostraron una distribución aleatoria en el sistema, sin preferencia por ninguno de los compartimientos. Esto confirma que la respuesta de evitación observada en los organismos fue inducida específicamente por la presencia del contaminante y no por factores externos
- Un periodo de 4 horas fue suficiente para estimar la respuesta de fuga del camarón blanco ante la exposición bloqueadores solares.
- Los resultados indicaron que las larvas de *P. vannamei* presentan diferentes niveles de repelencia frente a los bloqueadores solares analizados, siendo Nitrogena el más efectivo en inducir evitación
- Este estudio demostró que las larvas de *P. vannamei* son capaces de detectar y evitar ambientes con concentraciones de bloqueadores solares, confirmando la hipótesis planteada inicialmente
- Finalmente, la baja mortalidad registrada en los ensayos indica que la respuesta de evitación desempeña un papel importante en la disminución de la población en áreas contaminadas. Los organismos se desplazan hacia zonas más favorables, lo que puede llevar a una disminución local de sus poblaciones, incluso cuando las concentraciones en el ecosistema sean subletales.

6 AGRADECIMIENTOS

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo , C., & Blasco, J. (2018). Spatial avoidance as a response to contamination by aquatic organisms in nonforced, multicompartmented exposure systems: A complementary approach to the behavioral response. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38, 312-320. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/etc.4310>
- Araújo, C., Gómez, L., Silva, D., Pintado-Herrera, M., Lara-Martín, P., Hampel, M., & Blasco, J. (2019). Risk of triclosan based on avoidance by the shrimp *Palaemon varians* in a heterogeneous contamination scenario: How sensitive is this approach? *Chemosphere*, 235, 126-135. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.139>
- Araújo, C., Rodríguez Romero, A., Fernández Marco, Sparaventi Erica, Márquez Medina , M., & Tovar Sánchez, A. (2020). Repellency and mortality effects of sunscreens on the shrimp *Palaemon varians*: Toxicity dependent on exposure

- method. *Chemosphere*, 257.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127190>
- Araújo, C., Roque, D., Blasco, J., Ribeiro, R., Moreira-Santos, M., Toribio, A., Aguirre, E., & Barro, S. (2018). Stress-driven emigration in complex field scenarios of habitat disturbance: The heterogeneous multi-habitat assay system (HeMHAS). *Science of The Total Environment*, 644, 31-36.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.336>
- Armijos-Suárez, M., Macuy-Calle, J., Mayorga-Quinteros, E., Rodríguez-Valencia, L., & Clavijo-Basantés, M. (2015). Análisis del impacto económico de la aplicación del Decreto N° 1391 en la regularización de la Industria Acuícola Camaronera del Ecuador. . *Revista Ciencia UNEMI*, 8(16), 11-20.
- Azuero, E. S, Montealegre, V. J., Campoverde, J. M, & Unda, S. B. (2021). Análisis del pronóstico de las exportaciones del camarón en el Ecuador a partir del año 2019. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 2(1), 55-61.
<https://doi.org/https://remca.umet.edu.ec/index.php/REMCA/article/view/238>
- Barone, A. N., Hayes, C. E., & Kerr, J. J. (2019). Acute toxicity testing of TiO₂-based vs. oxybenzone-based sunscreens on clownfish (*Amphiprion ocellaris*). *Environ Sci Pollut*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11356-019-04769-z>
- Blumthaler, M. (2018). UV Monitoring for Public Health. *Journal of Geographic Information System*. <https://doi.org/10.3390/ijerph15081723>
- Corinaldesi, C., Marcellini, F., Nepote, E., & Damiani, E. (2018). Impact of inorganic UV filters contained in sunscreen products on tropical stony corals (*Acropora* spp.). *Science of The Total Environment*, 637-638, 1279-1285.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.108>
- Cunningham, B., Torres-Duarte, C., Cherr, G., & Adams, N. (2020). Effects of three zinc-containing sunscreens on development of purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) embryos . *Aquatic Toxicology*, 218.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105355>
- Díaz-Gil, C., Cotgrove, L., Louise Smee, S., Simón-Otegui, D., Hins, H., Grau, A., Palmer, M., & Catalán , I. (2017). Anthropogenic chemical cues can alter the swimming behaviour of juvenile stages of a temperate fish. *Marine Environmental Research*, 125, 34-41.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.11.009>
- Ehiguese , V., Corada Fernandez, M., Lara-Martín , P., Martín-Díaz, L., & Araújo, C. (2019). Comportamiento de evitación del camarón *Palaemon varians* con respecto a un gradiente contaminante de galaxolide y tonalide en agua de mar. *Quimiosfera*, 113-120.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.05.196>

- Espinosa Montagut, N. (2021). *Fagoterapia en sistemas acuícolas: antecedentes y perspectivas*. Universidad de los Andes.
- Fernández, Á. A. (20 de Febrero de 2024). *R Pubs*.
<https://rpubs.com/aafernandez1976/noec>
- Giraldo, A., Montes, R., & Rodil, R. (2017). Ecotoxicological Evaluation of the UV Filters Ethylhexyl Dimethyl p-Aminobenzoic Acid and Octocrylene Using Marine Organisms *Isochrysis galbana*, *Mytilus galloprovincialis* and *Paracentrotus lividus*. *Arch Environ Contam Toxicol*, 606-611.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s00244-017-0399-4>
- Islam, M. A., Blasco, J., & Araújo, C. (2019). Spatial avoidance, inhibition of recolonization and population isolation in zebrafish (*Danio rerio*) caused by copper exposure under a non-forced approach. *Science of The Total Environment*, 504-511.
- Moreira-Santos, M., Donato, C., Lopes, I., & Ribeiro, R. (2008). Avoidance tests with small fish: determination of the median avoidance concentration and of the lowest-observed-effect gradient. *Environmental Toxicology*, 27.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1897/07-094.1>
- Moreira-Santos, M., Ribeiro, R., & Araújo, C. V. M. (2019). What if aquatic animals move away from pesticide-contaminated habitats before suffering adverse physiological effects?
<https://doi.org/https://doi.org/10.1080/10643389.2018.1564507>
- Park, C., B., Jang, J., & Kim, S. (2017). Toxicidad de una y mezcla de tres filtros UV orgánicos, metoxicinamato etilhexyl, octocrieno y avobenzona en *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137, 57-63.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.11.017>
- Pulgarín-Sánchez, R. J., & Mora-Coello, R. A. (10 de Febrero de 2022). *Comportamiento de las exportaciones de camarón y su incidencia en el crecimiento económico del Ecuador en el periodo 2011 – 2021*. Universidad de Machala: file:///C:/Users/CompuStore/Downloads/Dialnet-ComportamientoDeLasExportacionesDeCamaronYSuIncidencia-8354931.pdf
- Rainieri, S., Barranco, A., & Langerholc, T. (2017). Occurrence and toxicity of musks and UV filters in the marine environment. *Food and Chemical Toxicology*, 104, 57-68. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.11.012>
- Rimbaldo Luzon, C. A., Prado Carpio, E. C., Valarezo Macías, C. A., & Carvajal Romero, H. R. (2024). Análisis de la Producción y Exportación del Sector Camaronero en Ecuador. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(1), 82-95. https://doi.org/https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i1.10028
- Scott, G. R. (2004). The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquatic*

- Toxicology*, 369-392.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.016>
- Sureda, A., & Capó, X. (2018). Acute exposure to sunscreen containing titanium induces an adaptive response and oxidative stress in *Mytilus galloprovincialis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58-63.
- Tang, J. Y. (2024). Incidence of Nonkeratinocyte Skin Cancer After Breast Cancer Radiation Therapy. *JAMA Network Open*, 7(3).
<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2024.1632>
- Tierney, K. B. (2016). Chemical avoidance responses of fishes. *Aquatic Toxicology*, 228-241. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.02.021>
- Tovar-Sánchez, A. (2019). Massive coastal tourism influx to the Mediterranean Sea: The environmental risk of sunscreens. *Science of The Total Environment*, 316-321.
- Uzcátegui, C., Solano, J., & Figueroa, P. (2016). Perspectiva Sobre la Sostenibilidad de los Recursos Naturales a Largo Plazo Caso Industria Camaronera Ecuatoriana. *Universidad y Sociedad*, 3, 8-10.
https://doi.org/http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2218-
- Vera Vera, V., Guerrero, F., Blasco, J., & Araújo, C. (2019). Habitat selection response of the freshwater shrimp *Atyaephyra desmarestii* experimentally exposed to heterogeneous copper contamination scenarios. *Science of The Total Environment*, 816-823.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.304>
- Vera-Vera, V., Francisco, G., Julián, B., & Araújo, C. (2019). Habitat selection response of the freshwater shrimp *Atyaephyra desmarestii* experimentally exposed to heterogeneous copper contamination scenarios. *Science of the Total Environment*, 662, 816-823.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.304>
- Vidal-Liñán, L., Villaverde-de-Sáa, E., Rodil, E., & Beiras, R. (2018). Bioaccumulation of UV filters in *Mytilus galloprovincialis* mussel. *Chemosphere*, 267-271.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.144>