

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar

Asesoría al Parque Nacional Galápagos (PNG) para la determinación del nivel de contaminantes emergentes (Microplásticos) en organismos marinos selectos

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Ingeniera Oceanográfica

Presentado por:

Calle Macas Lisseth Estefanía

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2021

DEDICATORIA

A mis padres Jorge y Saida, que supieron darme todo su amor y apoyo durante esta etapa que la he culminado con gran satisfacción y éxito.

Mis hermanos Jorge Luis y Fernanda por ser un modelo a seguir a través de sus logros alcanzados, y por su cariño brindado.

De igual manera, demás familiares y amigos que siempre estuvieron apoyándome en cada paso dado y me animaron a superarme cada vez más, hasta obtener mis logros deseados.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por concederme fortaleza y sabiduría para mantenerme en este largo camino de preparación profesional y personal.

A mis padres y familiares que de alguna u otra manera me dieron un apoyo constante e incondicional para el desarrollo de este trabajo.

Mi más sincero agradecimiento a mi director de proyecto, Dr.rer.nat. Rafael Bermúdez, la Escuela Superior Politécnica del Litoral, al Parque Nacional Galápagos, a la fundación The Ocean Fundation y SY Acadia, por su gran ayuda en mi trabajo de investigación, desde el inicio hasta la culminación del mismo.

DECLARACIÓN EXPRESA

“Los derechos de titularidad y explotación, me corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Liseth Estefanía Calle Macas* doy mi consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual”



Liseth Estefanía Calle Macas

EVALUADORES

MSc. Luis Altamirano Pérez

PROFESOR DE LA MATERIA

MSc. Jonathan Cedeño Oviedo

COORDINADOR OCEANOGRAFÍA
(EN REPRESENTACIÓN DEL
PROFESOR TUTOR, DR. RAFAEL
BERMÚDEZ MONSALVE)

RESUMEN

La producción de plásticos sigue aumentando de una forma exponencial, y en las últimas décadas se ha registrado una gran contaminación ambiental en los océanos. Estos residuos plásticos se fragmentan en pequeñas partículas llamadas microplásticos y se han detectado hasta en los lugares más remotos. El presente estudio pretende comparar la abundancia y las características de los microplásticos acumulados en el tracto digestivo de los erizos de mar *Eucidaris galapagensis*, *Tripneustes depressus*, *Toxopneustes roseus* y *Lytechinus semituberculatus* en 13 estaciones a lo largo de la Reserva Marina de Galápagos. Los resultados mostraron que los erizos de mar (n=165) en todos los sitios, estaban contaminados por microplásticos con una tasa de incidencia del 76,36%. La abundancia media de microplásticos fue de $3,72 \pm 4,86$ ítems/individuo en el tracto digestivo de los erizos de mar. El tamaño de los microplásticos estuvo entre 50-250 μm . Los microplásticos blancos representaron el 53% del total de partículas, y el tipo más común fueron los fragmentos que constituyeron el 49,10% de las partículas analizadas. Basándose en los resultados, los erizos de mar muestran una alta presencia de microplásticos, encontrándose en 3 de cada 4 individuos dentro de la reserva; este es un valor alto en comparación con otras especies y proporciona una nueva visión sobre la biodisponibilidad de estos microplásticos. La alta abundancia de erizos en la reserva marina, y la elevada presencia de microplásticos en ellos, hace que sea posible recomendarlos como organismos apropiados para el biomonitoreo de la contaminación por microplásticos en ecosistemas bentónicos.

Palabras Clave: Contaminación por microplásticos, erizo de mar, bioindicadores, organismos bentónicos, Galápagos.

ABSTRACT

*The production of plastics continues to increase exponentially, and in recent decades there has been a great deal of environmental pollution in the oceans. These plastic wastes are fragmented into small particles called microplastics and have been detected even in the most remote places. The present study aimed to compare the abundance and characteristics of microplastics accumulated in the digestive tract of sea urchins *Eucidaris galapagensis*, *Tripneustes depressus*, *Toxopneustes roseus* and *Lytechinus semituberculatus* at 13 stations throughout the Galapagos Marine Reserve. Results showed that sea urchins (n=165) at all sites were contaminated by microplastics with an incidence rate of 76.36%. The mean abundance of microplastics was 3.72 ± 4.86 items/individual in the digestive tract of sea urchins. The size of microplastics ranged from 50-250 μm . White microplastics accounted for 53% of the total particles, and the most common type was fragments which constituted 49.10% of the particles analyzed. Based on the results, sea urchins show a high presence of microplastics, being found in 3 out of 4 individuals within the reserve; this is a high value compared to other species and provides new insight into the bioavailability of these microplastics. The high abundance of urchins in the marine reserve, and the high presence of microplastics in them, makes it possible to recommend them as appropriate organisms for biomonitoring microplastic contamination in benthic ecosystems.*

Keywords: *Microplastic pollution, sea urchin, bioindicators, benthic organisms, Galápagos.*

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	I
<i>ABSTRACT</i>	II
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS	VI
SIMBOLOGÍA	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	IX
ÍNDICE DE TABLA	X
CAPÍTULO 1	1
1. Introducción	1
1.1 Descripción del problema	1
1.2 Justificación del problema	2
1.3 Objetivos	3
1.3.1 Objetivo General	3
1.3.2 Objetivos Específicos	3
1.4 Marco Teórico	4
1.4.1 Antecedentes	4
1.4.2 Bases teóricas	6
1.4.2.1 Microplásticos	6
1.4.2.1.1 Definición	6
1.4.2.1.2 Clasificación	6
1.4.2.1.3 Destino y transporte en el ecosistema marino	6
1.4.2.1.4 Efectos en la biota marina	7
1.4.2.2 Métodos de análisis de microplásticos en biota	7
1.4.2.2.1 Selección de especie indicadora	7

1.4.2.2.2	Recolección de muestra	8
1.4.2.2.3	Procesamiento de muestra	8
1.4.2.2.4	Proceso de Identificación.....	9
CAPÍTULO 2	11
2.	Metodología.....	11
2.1	Materiales y equipos.....	11
2.2	Área de estudio y recolección de muestras	12
2.3	Control de calidad.....	14
2.4	Procesamiento de muestras	15
2.4.1	Disección de los erizos de mar.....	16
2.4.2	Digestión con agente básico	16
2.4.3	Separación por densidad	16
2.4.4	Filtración y fluorescencia.....	17
2.5	Observación y análisis de microplásticos.....	17
2.6	Análisis de datos	18
CAPÍTULO 3	20
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS	20
3.1	Control de calidad.....	20
3.2	Características de los erizos de mar	20
3.3	Relación entre la abundancia de MPs y el peso húmedo de los erizos de mar	20
3.4	Características de los MPs	22
3.5	Abundancia de MPs por estación de muestreo.....	25
3.6	Abundancia de MPs por especie de erizo de mar	28
3.7	Abundancia de MPs de las especies de erizo de mar en los sitios de muestreo.	30

3.8	Interpolaciones espaciales de la abundancia de MPs.....	31
3.9	Análisis de Costos	33
CAPÍTULO 4		34
4.	Conclusiones Y Recomendaciones.....	34
4.1	Conclusiones.....	39
4.2	Recomendaciones.....	40
BIBLIOGRAFÍA		42
APÉNDICES.....		52
Apéndice A. Características de los microplásticos.....		52
Apéndice B. Análisis Pairwise-Comparación múltiple de ANOVA de una vía de la abundancia de MPs en los sitios de muestreo.....		68
Apéndice C. Análisis Kruskal-Wallis comparación múltiple de la abundancia de MPs en la especie <i>Eucidaris galapagensis</i>		70
Apéndice D. Análisis Pairwise-Comparación múltiple de ANOVA de una vía de la abundancia de MPs en la especie <i>Tripneustes depressus</i>		72
Apéndice E. Análisis de costos unitarios de los rubros.....		73
Apéndice F. Protocolo de extracción e identificación de microplásticos en erizos de mar		77

ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de la Varianza
BA	Bartolomé
CD	Corona Diablo
CG	Control Graciela
CO	Corales
CP	Concha Perla
CPUE	Captura por Unidad de Esfuerzo
CR	Cousins Rock
DAP	Dispositivo de Agregación de Peces
DPGN	Dirección del Parque Nacional Galápagos
DS	Desviación Estándar
EB	Elizabeth Bay
EG	Eucidaris galapagensis
HDPE	Polietileno de Alta Densidad
ID	Identificación
LDPE	Polietileno de Baja Densidad
LS	Lytechinus semituberculatus
ME	Media Estandarizada
MP	Microplástico
PA	Poliamida
PC	Policarbonato
PE	Punta Espejo
PES	Punta Espinosa
PET	Tereftalato de Polietileno
PEVA	Polietilenvinil Acetato
PNG	Parque Nacional Galápagos
PP	Polipropileno
PS	Poliestireno
PU	Poliuretano
PVC	Cloruro de Polivinilo

PVR	Punta Vicente Roca
RMG	Reserva Marina de Galápagos
RMSE	Error Cuadrático Medio
RMSSE	Error Cuadrático Medio Estandarizado
SB	Shark Bay
SEM	Error Estándar Medio
TD	Tripneustes depressus
TR	Toxopneustes roseus
XA	Xarifa

SIMBOLOGÍA

CsCl	Cloruro de Cesio
gr	Gramo
h	Hora
HClO ₄	Ácido Perclórico
HNO ₃	Ácido Nítrico
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrógeno
km ²	Kilómetro Cuadrado
KOH	Hidróxido de Potasio
K ₂ S ₂ O ₈	Peroxodisulfato de Potasio
m	Metro
M	Mol
m ³	Metro Cúbico
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
NaCl	Cloruro de Sodio
NaClO	Hipoclorito de Sodio
T	Tonelada
Tm	Tonelada Métrica
µg	Microgramo
µm	Micrómetro
v	Volumen
°C	Grados Centígrados

ÍNDICE DE FIGURAS

Ilustración 2.1 <i>Ubicación geográfica de los sitios de muestreo a lo largo de la RMG.</i>	13
Ilustración 2.2 <i>Pasos del procedimiento para la extracción e identificación de MPs del tracto gastrointestinal de erizos de mar.</i>	15
Ilustración 3.1 <i>Análisis de correlación entre la abundancia de MPs y el peso húmedo de los erizos de mar.</i>	21
Ilustración 3.2 <i>Abundancia de MPs (media \pm DS) en relación al peso húmedo de la especie <i>Eucidaris galapagensis</i>.</i>	22
Ilustración 3.3 <i>Abundancia de MPs (media \pm DS) en relación al peso húmedo de la especie <i>Eucidaris galapagensis</i> en cada sitio de muestreo de la RMG.</i>	22
Ilustración 3.4 <i>Abundancia de MPs categorizados por tamaño.</i>	23
Ilustración 3.5 <i>Abundancia de MPs. Fibras (A), Fragmentos (B) y Pellets (C).</i>	24
Ilustración 3.6 <i>Tipos de microplásticos</i>	25
Ilustración 3.7 <i>Abundancia de MPs (media \pm DS) en trece diferentes sitios de muestreo en la RMG.</i>	26
Ilustración 3.8 <i>Abundancia relativa de formas (A) y colores (B) de los MPs en los sitios de muestreo de la RMG.</i>	27
Ilustración 3.9 <i>Abundancia de MPs (media \pm DS) en cuatro diferentes especies de erizo de mar de la RMG.</i>	28
Ilustración 3.10 <i>Abundancia relativa de formas (A) y colores (B) de los MPs en las especies de erizo de mar.</i>	29
Ilustración 3.11 <i>Abundancia de MPs (media \pm DS) de las especies de erizos de mar en cada sitio de muestreo de la RMG.</i>	30
Ilustración 3.12 <i>Interpolación espacial de la abundancia de MPs en la RMG, utilizando los valores conocidos de las concentraciones de partículas microplásticas (ítems/individuo).</i>	32

ÍNDICE DE TABLA

<i>Tabla 2.1 Características de los sitios de muestreo.</i>	13
<i>Tabla 2.2 Características de los erizos de mar.</i>	14
<i>Tabla 3.1 Cálculo del RMSE, MS, RMSS y ASE para cuatro métodos de interpolación. Todos los valores son en metros.</i>	31
<i>Tabla 3.2 Presupuesto total de las actividades del proyecto.</i>	33

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

La producción de plástico sigue aumentando exponencialmente, desde el año 1950 hasta el 2017 se ha estimado una producción total de 8,3 billones Tm de plástico (Boucher y Friot, 2017). Entre 5 y 13 millones de Tm de plásticos mal gestionados en tierra entran anualmente en nuestros océanos (Brooks, Jambeck y Mozo, 2020), representando el 80% de la basura marina (Harding, 2016). La fragmentación y degradación de estos plásticos (Amelia et al., 2021), generan un gran número de partículas denominadas microplásticos (MPs) que son partículas con una longitud inferior o igual a 5 mm (Chatterjee y Sharma, 2019).

Los MPs supone un riesgo para el medio marino, la biovigilancia debe utilizarse para monitorear su presencia (Li et al., 2019). Los bioindicadores son una buena herramienta de información sobre la calidad del entorno, los equinodermos se han utilizado como indicadores biológicos debido a su amplia distribución, abundancia, comportamiento bentónico, respuesta rápida, alta sensibilidad a los contaminantes, vida media mayor que otros organismos; como algas, moluscos o algunos crustáceos, por lo que son capaces de acumular más contaminantes (Parra et al., 2020).

1.1 Descripción del problema

Cada año se generan cerca de 300 millones de toneladas (T) de plástico a nivel global (Fuhr y Franklin, 2019), en el año 2017 y 2018 se generaron 348 y 359 millones de T de plástico (PlasticsEurope, 2019), como consecuencia, los MPs en el océano también se encuentran en estado creciente (Munoz-Pinheiro, 2017).

La contaminación marina por basura plástica tiene diversas fuentes, principalmente la causada por las actividades antropogénicas, y una de las causas

es la disposición no controlada de basura. En Ecuador y Perú se generan 79,063 y 250,364 Tm al año de residuos costeros mal gestionados (Brooks, Jambeck y Mozo, 2020), parte de estos residuos se depositan por acción de vientos y corrientes en la Reserva Marina de Galápagos (RMG) (Jones et al., 2021). Hasta el 2018, en la RMG se recolectaron un total de 22 T de residuos de sus playas, donde más del 90% fueron plásticos (Carrasco, 2018).

La RMG constituye un importante recurso natural y turístico, así como una forma de ingreso para las poblaciones locales. Los potenciales impactos de la contaminación por plásticos supondrían importantes consecuencias ecológicas y socioeconómicas, especialmente para la industria del turismo que representa el 80% de la economía local (Jones et al., 2021).

1.2 Justificación del problema

En las últimas cuatro décadas se ha producido un aumento significativo de la concentración de MPs en los cuerpos de agua oceánicos, por esto se le ha dado una mayor importancia, por sus posibles y potenciales impactos en el medio ambiente marino, por lo cual las investigaciones sobre este tema han aumentado. La persistencia de los MPs seguirá aumentando, los informes indican que para el año 2050 habrá más MPs en nuestros océanos que peces (Auta, Emenike y Fauziah, 2017).

La contaminación del ecosistema marino es un problema potencial; la prevención y posibles medidas de gestión son un problema para la salud ambiental y la economía. Por ende, este proyecto pretende determinar la contaminación por MPs en la RMG con la finalidad de construir una línea base y ayudar a diagnosticar el estado actual de esta problemática ambiental. El plan de muestreo plantea recoger equinodermos, distribuidos espacialmente en 13 sitios de la RMG, dada su gran abundancia y potencial capacidad de ingerir MPs. Con los resultados obtenidos se espera determinar la contaminación existente de MPs en estos

animales y así evaluar su potencial uso como bioindicadores de contaminación por MPs.

En base a los datos obtenidos y los posteriores resultados de este proyecto, se pretende establecer una comunicación entre las partes interesadas locales, políticos e investigadores sobre los actuales y futuros retos que plantea la contaminación por MPs en el ecosistema marino de la RMG, y, por lo tanto, en los motores económicos como la pesquería y el turismo. Además, servirá de catalizador para ayudar al desarrollo de futuras investigaciones e iniciativas de sostenibilidad y medidas de conservación centradas en una comprensión más profunda del papel que desempeñan los MPs como contaminantes.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Desarrollar capacidades de monitoreo para determinar el nivel de contaminación por microplásticos en organismos marinos selectos en el área de la Reserva Marina de Galápagos.

1.3.2 Objetivos Específicos

1. Desarrollar un protocolo de extracción e identificación de MPs en organismos marinos.
2. Determinar la abundancia, características físicas y morfológicas de los MPs en los erizos de mar.
3. Analizar la relación de la abundancia de MPs y el peso húmedo de los erizos de mar.

4. Establecer la distribución espacial de los MPs en la Reserva Marina de Galápagos, identificando las zonas de mayor y menor concentración.

1.4 Marco Teórico

1.4.1 Antecedentes

En un primer trabajo de Feng et al. (2020), titulado: “Microplastics in specific tissues of wild sea urchins along the coastal areas of northern China”, investigaron la abundancia y características de los MPs en tejidos específicos de erizos de mar salvajes en 12 lugares de la costa en el norte de China. Emplearon métodos de disección, digestión del tejido con KOH al 10 %, filtración y posterior análisis. Evaluaron la diferencia de la abundancia y el tamaño de los MPs, e investigaron las relaciones entre la abundancia de MPs y el tamaño del ano/diámetro del exoesqueleto.

Estos autores concluyeron que los erizos de mar de todos los sitios tenían MPs, la forma fibra y el color azul-verde predominaban. La abundancia de MPs en los erizos de mar osciló entre $2,20 \pm 1,50$ y $10,04 \pm 8,46$ elementos/individuo. El tamaño de los MPs osciló entre 27 y 4742 μm . La abundancia de MPs aumentó con la disminución del tamaño del ano. Este estudio de Feng et al. (2020) se relaciona con uno de los objetivos de este trabajo que es analizar la correlación existente entre la abundancia de MPs por individuo y su peso húmedo, y en esta investigación se indica que existe una correlación negativa.

Una segunda investigación corresponde a Alfaro-Núñez et al. (2021), denominada: “Microplastic pollution in seawater and marine organisms across the Tropical Eastern Pacific and Galápagos”, realizaron un análisis de la cantidad de MPs en muestras de agua y organismos en el Pacífico Oriental Tropical y el archipiélago de las Galápagos en 40 estaciones. Cuantificaron MPs en el tejido

del tracto digestivo de moluscos, peces y crustáceos, y así identificaron potenciales diferencias estadísticas entre los tamaños de las partículas y las estaciones de monitoreo.

En este trabajo encontraron partículas microplásticas en el 100% en los organismos marinos, el tamaño entre 150 y 500 μm y el tipo de microplástico fibra fueron los más predominantes. Además, realizaron un análisis de distribución espacial interpolando los datos, donde visualizaron que, para las estaciones de Galápagos Oriental y Occidental, hubo una concentración de 0,24 y 0,28 MPs/ m^3 respectivamente. Este trabajo se relaciona con el proyecto en curso, ya que estudia la misma zona objetivo, y aporta datos cualitativos y cuantitativos de la existencia, tipo y tamaño de microplásticos encontrados en los organismos marinos.

Un estudio final de Jones et al. (2021) quienes realizaron el estudio denominado: “Plastic contamination of a Galapagos Island (Ecuador) and the relative risks to native marine species”, donde exploraron la presencia y composición de los plásticos de las Islas Galápagos. Para el análisis de los invertebrados (ostras palmeadas, herbívoros como los caracoles nerita, chitón escultural y erizo lápiz de Galápagos y una especie de pepino de mar) efectuaron la disección, digestión, filtrado y microscopía.

La investigación concluyó que todos los organismos contenían MPs. El 60% de individuos de los erizos (*Eucidaris galapagensis*) contenían microplástico, la abundancia fue de $0,68 \pm 0,18$ partículas/individuo; y el tamaño entre 106 y 3270 μm . No encontraron ninguna correlación entre el número de partículas y el peso seco de los invertebrados. De este trabajo se consideró los resultados que obtuvieron para la especie de erizo lápiz, la cual es objeto de este estudio, aportando la metodología seleccionada para su procesamiento y además del análisis de la correlación de las partículas ingeridas y el peso del individuo.

1.4.2 Bases teóricas

1.4.2.1 Microplásticos

1.4.2.1.1 Definición

Los MPs son partículas sólidas y persistentes, con una longitud menor o igual a 5 mm (Shim y Thomposon, 2015) compuestas por polímeros sintéticos o semisintéticos (Lassen et al., 2015), y contienen una mezcla de sustancias químicas añadidas durante la fabricación, los llamados aditivos como por ejemplo compuestos ignífugos y plastificantes, y se ha demostrado que sorben eficazmente contaminantes bioacumulativos y tóxicos persistentes en el medio ambiente (Sarmah et al., 2018).

1.4.2.1.2 Clasificación

Los MPs pueden clasificarse en función de su tamaño original, morfología, densidad, material y fuente (Amelia et al., 2021; Rodríguez y Pereira, 2017). Acorde a la fuente se tiene MPs primarios producidos para su uso directo (Sarmah et al., 2018), y MPs secundarios que proceden de la fragmentación de artículos de plástico de mayor tamaño (Lassen et al., 2015; Shim y Thomposon, 2015). Acorde a su morfología se tienen fibras, fragmentos, pellets, filamentos (Cau et al., 2019) y films de poliestireno (Amelia et al., 2021). Por su densidad, de baja densidad, como el PE y el PP, y de alta densidad (Amelia et al., 2021).

1.4.2.1.3 Destino y transporte en el ecosistema marino

La fragmentación de plástico en el medio ambiente es causada por la acción química (fotólisis, hidrólisis y térmica), mecánica (abrasión) y biológica (bacterias y hongos) (Amelia et al., 2021). En los océanos, se sabe que la formación, degradación, transporte, distribución de tamaño, forma, tipo de

polímero (ligero o de alta densidad) y ubicación de las fuentes de los MPs están influenciadas por una combinación de factores ambientales como los vientos (Auta et al., 2017) y las corrientes oceánicas que se sabe que varían con la profundidad (Lassen et al., 2015).

1.4.2.1.4 Efectos en la biota marina

Los principales efectos son: exposición por ingestión, egestión o translocación y transferencia de MPs en la red alimentaria; y dependen del nivel de exposición (Lassen et al., 2015), estos efectos se han observado en muchas especies, incluidos peces e invertebrados (Sarmah et al., 2018; Chatterjee y Sharma, 2019). Al ingerir las partículas de plástico al confundirlas con presas; reduce significativamente la alimentación (Lassen et al., 2015); y esta creará dificultades para crecer, reproducirse y funcionar normalmente (Sarmah et al., 2018).

Otros efectos que pueden causar los MPs, aun sin contener contaminantes, son estrés fisiológico, alteración del balance energético, metabolismo anormal, alterar la respuesta inmunitaria, alteración del comportamiento, incidir en la mortalidad (Amelia et al., 2021) y la falsa saciedad (Pinto Da Cost, Rocha Santos y Duarte, 2020). La disminución de estos organismos en el medio acuático podría suponer una grave amenaza para muchos niveles tróficos (Auta et al., 2017).

1.4.2.2 Métodos de análisis de microplásticos en biota

1.4.2.2.1 Selección de especie indicadora

El uso de especies indicadoras adecuadas es indispensable para garantizar la calidad de un estudio de MPs. Por lo general, las especies elegidas son consumidores no selectivos, de fácil captura-muestreo, manejo e identificación, son abundantes y su biología se conoce bien. Las especies de

niveles tróficos inferiores pueden ser especies indicadoras adecuadas en el seguimiento debido a su posición en la base de la cadena alimentaria (Wesch et al., 2016).

1.4.2.2.2 Recolección de muestra

Las muestras se recogen del tracto digestivo de los animales (Sharma, 2019; Miller, Kroon y Motti, 2017), pueden ser recogidas de forma manual, por redes, comprados en mercados o procedentes de laboratorios; debe ser una cantidad representativa de los individuos por cada especie, tomados aleatoriamente (esto da lugar a tamaños de muestra muy variables y en consecuencia, los datos sobre las diferencias de ingestión de microplásticos entre las distintas clases de edad están poco documentados) (Wesch et al., 2016), conservándose a -20°C (Toledo-Martínez, 2019), con fijadores a base de formaldehído (Miller et al., 2017).

1.4.2.2.3 Procesamiento de muestra

Digestión

Los principales agentes de digestión para eliminar materiales orgánicos son: ácidos, bases, agentes oxidantes y enzimas (Karami et al., 2017). El agente oxidante más utilizado es el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), en concentraciones de 15%, 30% y 35%; también emplean NaClO al 9% (Toledo-Martínez, 2019) o 0,27 M de peroxodisulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, agente oxidante; ácido en el agua) (Miller et al., 2017).

El agente ácido más indicado es el ácido nítrico (HNO_3) al 69% por su alta capacidad para disolver el material orgánico. Para esto, se debe dejar la muestra a temperatura ambiente durante toda la noche, seguido de 2 horas a 100°C (Toledo-Martínez, 2019). También se puede utilizar asimismo ácido perclórico al 65% (HClO_4 , ácido fuerte), o una mezcla 4:1 v:v de 65% de HNO_3

al 65% y de HClO₄ al 68% (Miller et al., 2017). En la digestión básica se emplea mayormente el reactivo hidróxido de potasio (KOH) al 10%, por 24 h a 60 °C. La digestión enzimática se realiza con la proteinasa-K (50 µg/ml) y es capaz de digerir más del 97% de la materia orgánica (Toledo-Martínez, 2019).

Separación por densidad

Se basa en la densidad de los MPs, por ejemplo, el polietileno y polipropileno, dos de los MPs más comunes, poseen una baja densidad y por lo tanto flotan en medios con una densidad mayor como en el agua de mar, esto es lo que permite su separación en una muestra con materia orgánica o sedimentos. Generalmente se utiliza una solución saturada como NaCl, CsCl o politungstato de sodio de densidad variable. Se coloca la solución en la muestra contenida en un Erlenmeyer o vaso de precipitación, se agita y se deja sedimentar, luego se recoge el sobrenadante y se filtra (Toledo-Martínez, 2019).

Filtración

Este proceso se lleva a cabo antes o después de la separación por densidad; se recomiendan filtros de acero o fibra de vidrio de un poro apropiado. En este caso se utilizaron filtros de 0,7 µm y de papel con poros de 1-2 µm, enjuagando el vaso que contiene la muestra sobre el filtro varias veces para evitar la pérdida de partículas al realizar el trasvase previo al filtrado (Toledo-Martínez, 2019).

1.4.2.2.4 Proceso de Identificación

Microscopía de Fluorescencia

Los tintes lipofílicos, como el Rojo de Nilo, se utiliza para teñir lípidos neutros en muestras y para visualizar MPs bajo el microscopio de fluorescencia,

antes de la tinción es importante eliminar la materia orgánica de la muestra (Shim et al., 2016; Kang et al., 2020). Este método es satisfactorio para polietileno de alta densidad (HDPE) y baja densidad (LDPE), polipropileno (PP), policarbonato (PC), poliuretano (PU) y polietilenvinil acetato (PEVA) (Karakolis et al., 2019), pero no así para cloruro de polivinilo (PVC), poliamida (PA) y poliestireno (PS). Los fragmentos de diferentes tipos de plásticos generan colores diferentes, al utilizar luz fluorescente azul (Toledo-Martínez, 2019).

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

2.1 Materiales y equipos

A continuación, se detallan los materiales y equipos utilizados durante el proceso de recolección y procesamiento de las muestras:

- Guantes de nitrilo
- Papel aluminio
- Bolsas ziploc
- Bolsas de malla
- Cubo de 5-8 L
- Filtros de jeringa Sartorius RC (0,20 μm)
- Equipo de disección
- Pinza metálica
- Agitador de vidrio
- Tubos de ensayo de vidrio
- Gradilla
- Placas Petri
- Portaobjetos (75x25 mm)
- Vasos de precipitación de vidrio (50ml, 250 ml y 500 ml)
- Filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F (diámetro 25 mm; poro 0,7 μm)
- Agua destilada
- Hidróxido de potasio (KOH; 10%)
- Cloruro de sodio (NaCl; 50%)
- Rojo de Nilo
- Balanza digital de precisión Mettler Toledo SB-16000

- Luz Ultravioleta SFA
- Sistema de filtración al vacío
- Estereomicroscopio Zeiss Stemi 305
- Congelador
- Estufa de secado Yamato DX 302
- Cámara digital (Canon EOS 1000D)
- Perfilador CTD Seabird SBE 19+
- Equipo de buceo
- Muestras del tracto digestivo de los erizos de mar

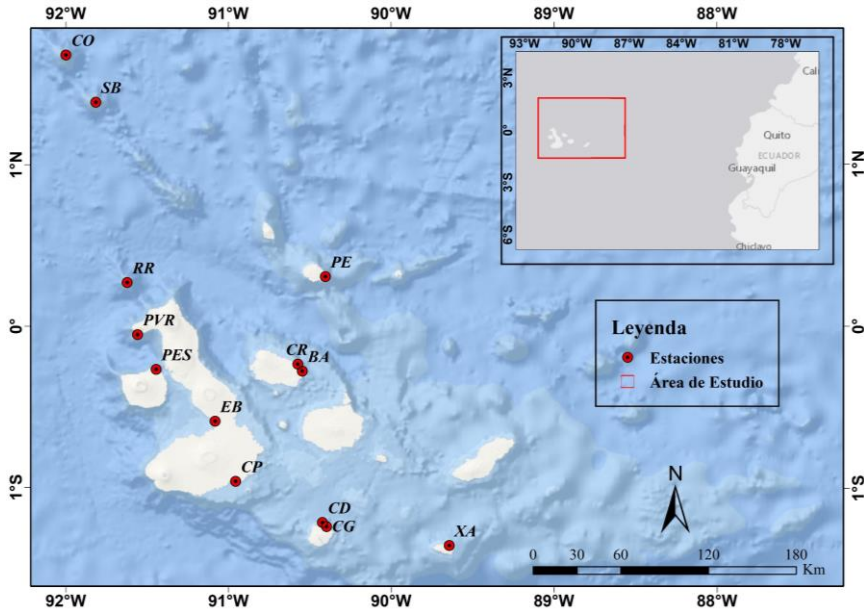
2.2 Área de estudio y recolección de muestras

Las muestras de erizos de mar se colectaron en 13 sitios de monitoreo en ocho islas (Floreana, Bartolomé, Marchena, Isabela, Darwin, Fernandina, Española y Wolf) a lo largo de la Reserva Marina de Galápagos durante febrero del 2021 (Ilustración 2.1 y Tabla 2.1). Estos sitios fueron elegidos por su distribución espacial; abarcando toda la reserva marina, además de ser sitios sin actividad antropogénica cercana, son hábitats típicos de los erizos de mar, en donde se los encuentra en abundancia.

Los individuos se recogieron manualmente de forma aleatoria entre los 10-25 m de profundidad y en un radio aproximado de 50 m del punto exploratorio, y colocados en una bolsa de malla. Entre 2 y 22 erizos de mar se colectaron de cada sitio (Tabla 2.2) y fueron congelados a bordo hasta el momento de su procesamiento y análisis.

Ilustración 2.1

Ubicación geográfica de los sitios de muestreo a lo largo de la RMG.



Nota. Sitios de muestreo: Bartolomé (BA), Concha Perla (CP), Control Graciela (CG), Corales (CO), Corona Diablo (CD), Cousins Rock (CR), Elizabeth Bay (EB), Punta Espejo (PE), Punta Espinoza (PES), Punta Vicente roca (PVR), Roca Redonda (RR), Shark Bay (SB) y Xarifa (XA).

Tabla 2.1

Características de los sitios de muestreo.

Isla	Sitio	ID Sitio	Coordenadas			Temperatura (°C)	Salinidad PSU
			Este (X)	Norte (Y)	Zona		
Bartolomé	Cousins Rock	CR	769952,509	9973925,327	15	26,284	33,267
	Bartolomé	BA	773046,160	9969137,954	15	26,284	33,267
Darwin	Corales	CO	611253,780	10185795,760	15	27,153	33,122
Española	Xarifa	XA	205729,404	9849742,326	16	21,037	34,577
Fernandina	Punta Espinosa	PES	672983,725	9970353,589	15	18,363	35,213
Floreana	Control Graciela	CG	789564,638	9862548,341	15	22,782	34,367
	Corona Diablo	CD	786780,334	9865437,863	15	21,621	34,770
Isabela	Roca Redonda	RR	653125,696	10029863,830	15	19,013	35,175
	Elizabeth Bay	EB	713259,808	9934855,027	15	18,363	35,213
	Punta Vicente Roca	PVR	660281,137	9994182,833	15	19,013	35,175
	Concha Perla	CP	727299,076	9893604,165	15	21,621	34,770
Marchena	Punta Espejo	PE	788774,205	10033945,200	15	27,153	33,122
Wolf	Shark Bay	SB	631698,473	10153386,940	15	25,467	33,627

2.3 Control de calidad

Para minimizar la contaminación por MPs en las muestras del tracto digestivo de los erizos de mar, se procuró utilizar materiales de vidrio y metal. Todos los líquidos utilizados para el análisis (hidróxido de potasio, agua destilada y solución salina) se filtraron con filtros Sartorius RC con un tamaño de poro de 0,20 µm.

Tabla 2.2

Características de los erizos de mar.

Sitio	Especie	ID Especie	Número de erizos		Peso Húmedo (gr)	
			Por especie	Total	Media ± DS	
Control Graciela	Eucidaris galapagensis	EG	10	10	78,130 ±	59,176
Corona Diablo	Eucidaris galapagensis	EG	10	10	110,770 ±	50,421
Cousins Rock	Tripneustes depressus	TD	5	15	352,487 ±	109,012
	Toxopneustes roseus	TR	10			
Bartolomé	Eucidaris galapagensis	EG	10	11	111,700 ±	50,083
	Tripneustes depressus	TD	1			
Punta Espejo	Eucidaris galapagensis	EG	11	11	84,518 ±	44,443
Roca Redonda	Eucidaris galapagensis	EG	7	8	151,563 ±	142,890
	Tripneustes depressus	TD	1			
Elizabeth Bay	Eucidaris galapagensis	EG	10	20	45,865 ±	41,680
	Lytechinus semituberculatus	LS	10			
Punta Vicente Roca	Eucidaris galapagensis	EG	2	2	88,150 ±	14,354
Concha Perla	Lytechinus semituberculatus	LS	10	21	40,857 ±	29,279
	Eucidaris galapagensis	EG	11			
Corales	Eucidaris galapagensis	EG	9	11	201,009 ±	174,469
	Tripneustes depressus	TD	2			
Punta Espinosa	Eucidaris galapagensis	EG	2	12	26,550 ±	29,807
	Lytechinus semituberculatus	LS	10			
Xarifa	Eucidaris galapagensis	EG	11	12	91,750 ±	99,409
	Tripneustes depressus	TD	1			
Shark Bay	Tripneustes depressus	TD	10	22	297,686 ±	181,829
	Toxopneustes roseus	TR	12			
Total				165	137,446 ±	146,133

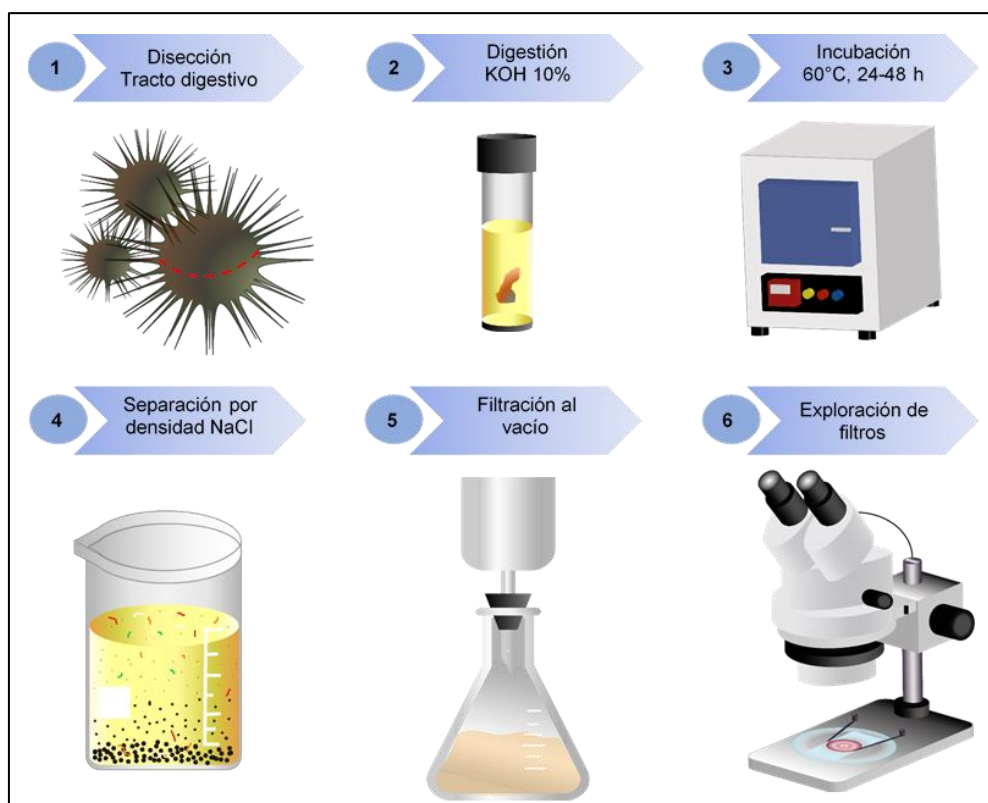
Los recipientes y las herramientas utilizadas se enjuagaron con agua destilada filtrada y se cubrieron con papel aluminio antes y después de su uso durante la digestión, separación por densidad y la filtración. La zona del estereomicroscopio se limpió antes de hacer el análisis de cada muestra. Se realizaron blancos de control; simultáneamente durante la extracción e inspección de microplásticos para analizar la contaminación por partículas en la zona donde se analizaron las muestras.

2.4 Procesamiento de muestras

El procesamiento de extracción de los MPs de las muestras del tracto gastrointestinal de los erizos de mar se realizó según los pasos descritos en la Ilustración 2.2.

Ilustración 2.2

Pasos del procedimiento para la extracción e identificación de MPs del tracto gastrointestinal de erizos de mar.



2.4.1 Disección de los erizos de mar

Los organismos enteros fueron pesados (peso húmedo) con una balanza digital de precisión Mettler Toledo SB-16000 (Tabla 2.2), y luego procesados. Para la disección de los erizos de mar se siguió el protocolo establecido por Whalen *et al.* (2008). Las espinas se retiraron manualmente, se dividió el caparazón con una incisión inicial con un bisturí y con ayuda de unas tijeras se lo cortó longitudinalmente y se tuvo cuidado de no cortar demasiado profundo en la cavidad del cuerpo para no dañar los órganos internos; se separaron las dos mitades y con ayuda de pinzas metálicas se procedió a extraer el tracto gastrointestinal (esófago, estómago, intestino grueso y delgado y el recto), que fue colocado en tubos de ensayo de vidrio.

2.4.2 Digestión con agente básico

Para realizar la digestión de los tejidos, a cada muestra se le agregó una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir el tejido por completo; no se utilizó un volumen fijo de KOH debido a que el tamaño del tracto digestivo fue variable dependiendo de la especie y tamaño del erizo de mar, luego se agitó la muestra aproximadamente por 5 min para que se mezcle completamente y se la colocó en una estufa durante 24-48 h a 60°C como se recomienda en el estudio de Karami *et al.* (2017).

2.4.3 Separación por densidad

Tras la digestión completa de la materia orgánica de las muestras, la solución se trasvasó a un vaso de precipitado y se añadió una solución saturada de NaCl (relación 1:2 de NaCl y agua destilada) para hacer flotar los MPs. Se colocó 20 ml en las muestras de erizo de mar de *Eucidaris galapagensis* y *Lytechinus semituberculatus* y se dejó reposar alrededor de 10 minutos. Para las especies *Tripneustes depressus* y *Toxopneustes roseus*, debido a que tenían una

gran cantidad de sedimentos en su tracto digestivo, se empleó 80 ml y se dejó reposar por 2 h. Este procedimiento se repitió 4 veces por cada muestra para asegurar una máxima recuperación de microplásticos.

2.4.4 Filtración y fluorescencia

Luego de la separación por densidad (4 veces por muestra), el líquido sobrenadante se colocó en el sistema de filtración al vacío, teniendo cuidado que los sedimentos no se resuspendan e introduzcan en el sistema. Para colectar las muestras se utilizó un filtro de fibra de vidrio Whatman GF/F con un diámetro de 25 mm y tamaño de poro de 0,7 μm . Luego de filtrar se agregó unas gotas de Rojo de Nilo en el filtro para la teñir los MPs y cada filtro se colocó en medio de dos portaobjetos para su posterior análisis.

2.5 Observación y análisis de microplásticos

Cada portaobjetos con una muestra se colocó bajo un estereoscópico Zeiss Stemi 305 acoplado con una fuente de luz ultravioleta (SFA) para una mejor visualización dado que el Rojo de Nilo es fluorescente. La identificación de los microplásticos en los filtros se la realizó gradualmente con magnificaciones de 8X, 10X, 20X, 30X y 40X, se tabuló el número, el tamaño (largo y ancho), la forma y el color de los microplásticos (Apéndice A). En función de la morfología se describió fibras, pellets y fragmentos y el color dominante de la superficie visualizada. Los microplásticos identificados fueron registrados fotográficamente con una cámara digital (Canon, EOS 1000D).

2.6 Análisis de datos

Todos los datos obtenidos se expresaron como media \pm desviación estándar (DS). Para el procesamiento estadístico de los datos se utilizó el software RStudio 1.4.1717, para determinar la relación entre la cantidad de MPs y el peso húmedo de los erizos de mar, se realizó una prueba de correlación a nivel de Spearman y Kendall con $\alpha < 0,05$.

La abundancia de MPs en cada sito de monitoreo se comparó utilizando un ANOVA de una vía, el nivel de significación para el rechazo de la hipótesis nula se fijó en $p < 0,05$ y se utilizó la comparación posthoc (prueba de Pairwise-Método de ajuste Tukey) para discriminar entre grupos. La abundancia de MPs por especie no cumplió los supuestos necesarios para realizar un ANOVA paramétrico, por lo que se aplicó una prueba de Kruskal-Wallis con un nivel de confianza del 95%.

La abundancia de MPs en función de la especie y sitio se comparó realizando un ANOVA de una vía, con un intervalo de confianza del 95% y se utilizó la prueba de comparación Pairwise con método de ajuste Tukey, a excepción de la prueba de comparación por sitios de la especie *Eucidaris galapagensis* se realizó un análisis no paramétrico Kruskal-Wallis y la prueba de comparación de Dunn-Método de ajuste Benjamini-Hochberg.

Se realizó una interpolación espacial con el software ArcGIS 10.5.1, utilizando dos herramientas, Interpolation y Create Contours. El método de interpolación fue Kriging y se utilizó una primera capa de un mapa base de la librería interna de ArcMap, luego se añadió la capa que contenía las coordenadas de los 13 sitios de muestreo con los datos respectivos de la concentración de microplásticos. Se definió un área de estudio que abarcó la reserva marina para utilizarla como una capa límite para la interpolación. Finalmente, se hizo uso de la herramienta Create Contours para crear 0,1 unidades (ítems/individuo) a partir de la imagen ráster producida por la herramienta de interpolación Kriging.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Control de calidad

El análisis de los blancos de control reveló la presencia de fibras blancas y fragmentos naranjas únicamente. En total, se encontraron entre 4 a 8 fibras y 1 fragmento por membrana de control; con una media de $5,67 \pm 2,08$ fibras y 1,00 fragmento por membrana. Las partículas presentes sugieren una contaminación durante el análisis de las muestras; por lo cual se restó el número medio de partículas en todos los datos antes de los análisis posteriores.

3.2 Características de los erizos de mar

Se recolectó 165 erizos de mar en 13 sitios de ocho islas de la RMG (Floreana, Bartolomé, Marchena, Isabela, Darwin, Fernandina, Española y Wolf) (Tabla 2.2). Las especies fueron *Eucidaris galapagensis*, *Tripneustes depressus*, *Toxopneustes roseus* y *Lytechinus semituberculatus*. El peso húmedo de los erizos de mar osciló entre 2,80 gr y 673,50 gr; con una media total de $137,45 \pm 146,13$ gr.

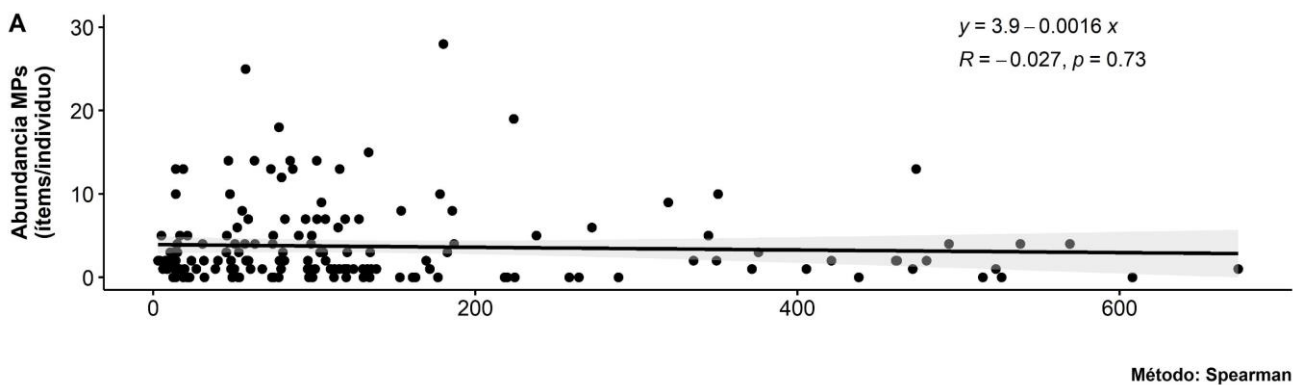
3.3 Relación entre la abundancia de MPs y el peso húmedo de los erizos de mar

El 76,36% de los erizos de mar contenían al menos 1 partícula de MP. Para explorar el efecto que podría tener la estructura fisiológica de los erizos de mar en la acumulación de MPs, se investigó la correlación entre la abundancia de MPs y el peso húmedo; para esto se analizó solo la especie *Eucidaris galapagensis* al

encontrarse en la mayoría de los sitios de monitoreo. Se determinó que la abundancia de MPs no está relacionada con el peso húmedo de los erizos de mar ($r = -0,027$; $p = 0,73$; método: Spearman) (Ilustración 3.1).

Ilustración 3.1

Análisis de correlación entre la abundancia de MPs y el peso húmedo de los erizos de mar.



Sin embargo, el análisis de abundancia media de MPs en relación al peso húmedo de los erizos de mar para la especie *Eucidaris galapagensis*, la cual se monitoreó en la mayoría de los sitios, indica que los erizos de peso medio entre 39,2-64,8 gr y 64,8-90,3gr presentan una abundancia media de 5,04 y 5,56 ítems/individuo respectivamente; la cual es mayor que la abundancia de MPs en los erizos con pesos mayores >90 gr los cuales tienen una abundancia media menor de 3,86 ítems/individuo (Ilustración 3.2), lo que quiere decir que cuanto mayor es el peso húmedo del erizo de mar, estos contienen una menor cantidad de microplásticos en su organismo, este mismo efecto se observó de manera similar al analizar la misma especie *Eucidaris galapagensis* en cada sitio monitoreado, a excepción de la estación Corona Diablo donde los erizos con peso entre 64,8-90,3 gr tuvieron una abundancia menor que los erizos con un peso mayor a 90 gr (Ilustración 3.3). Según la prueba Kruskal-Wallis, no hubo diferencias significativas en la abundancia de MPs entre los rangos de pesos del erizo de mar (valor $p = 0,409$).

Ilustración 3.2

Abundancia de MPs (media \pm DS) en relación al peso húmedo de la especie *Eucidaris galapagensis*.

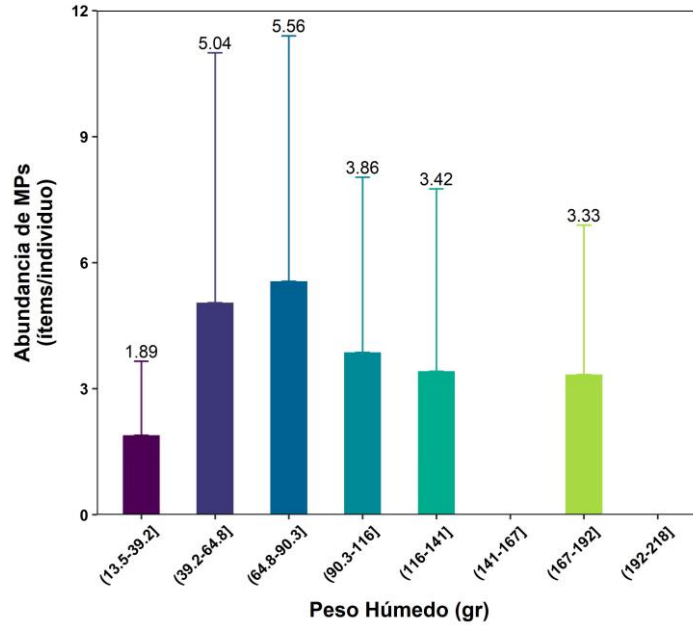
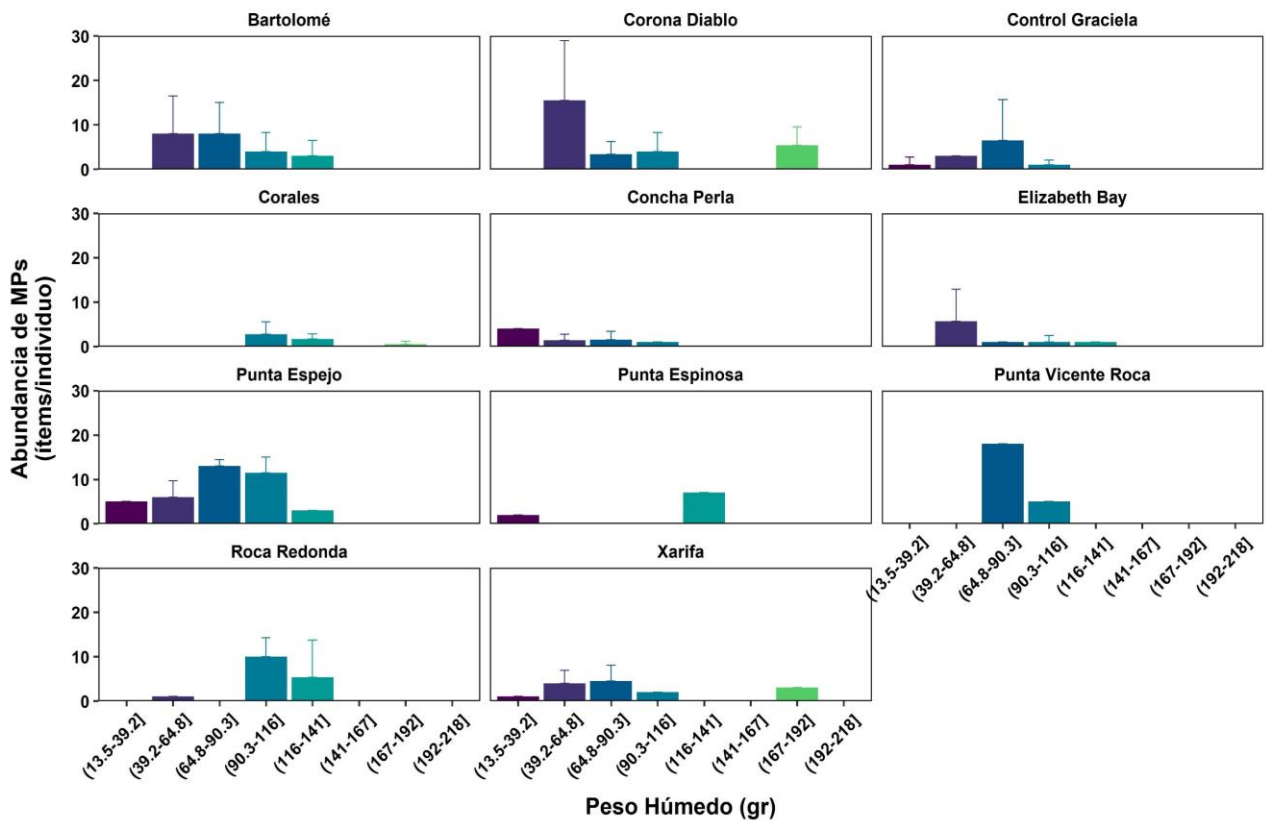


Ilustración 3.3

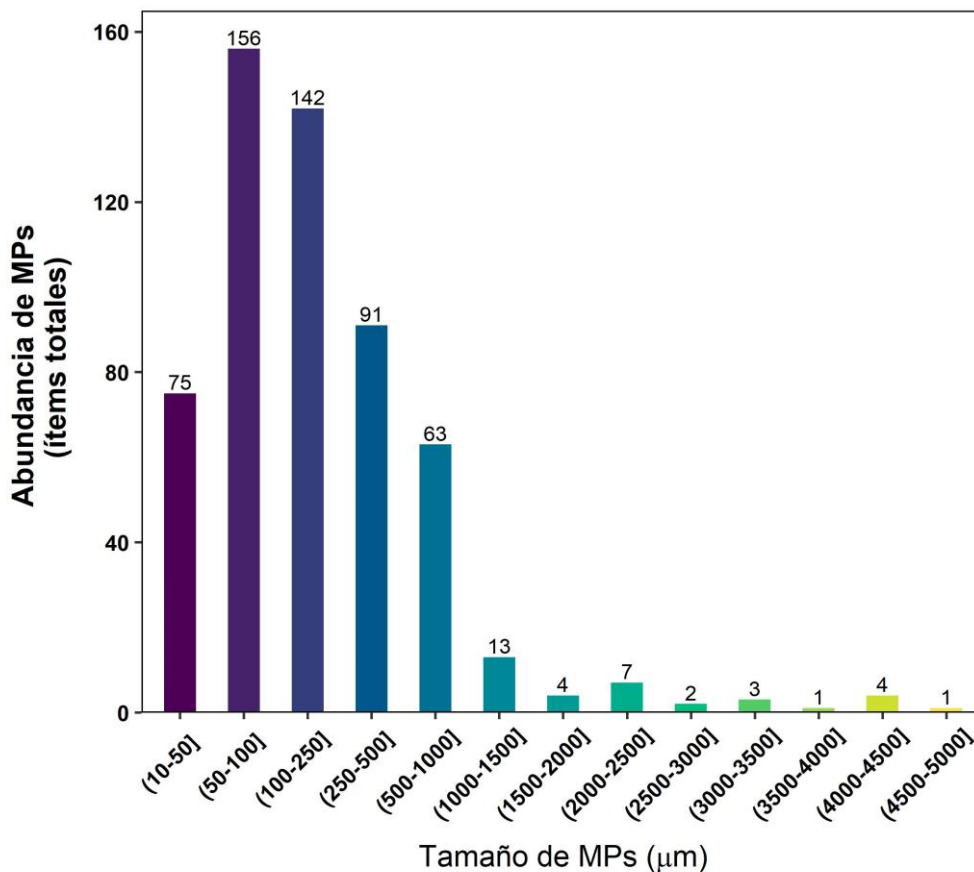
Abundancia de MPs (media \pm DS) en relación al peso húmedo de la especie *Eucidaris galapagensis* en cada sitio de muestreo de la RMG.



La eficiencia de recuperación de MPs por resuspensión con solución saturada de NaCl fue del 72,82%. Se identificó diferentes tamaños de MPs, la mayoría tuvo un tamaño $\leq 1000 \mu\text{m}$, la proporción de MPs entre 50-250 μm representó el 53% del total de MPs identificados (Ilustración 3.4), la abundancia de MPs disminuyó en una fórmula de función de potencia en relación con el aumento del tamaño de los MPs.

Ilustración 3.4

Abundancia de MPs categorizados por tamaño.



Se registraron múltiples colores de MPs. La proporción de colores blanco (29,46%), naranja (26,35%), transparente (20,14%) y verde (14,74%) fue mayor que la proporción de colores azul (4,58%), rosado (3,60%), amarillo (0,49%), rojo (0,32%) y negro (0,32%) (Ilustración 3.5). Los tipos de MPs fueron fibras, fragmentos y pellets (Ilustración 3.6). La mayor proporción fue de fragmentos (49,1%) y fibras (40,75%) y en menor proporción los pellets (10,15%). En las fibras

predominó el color blanco (38,55%), verde (29,71%) y transparente (24,09%) (Ilustración 3.5A), en los fragmentos el naranja (42,67%), blanco (27,67%) y transparente (19,67%) (Ilustración 3.5B), mientras que en los pellets el naranja (46,77%) y azul (40,32%) (Ilustración 3.5C).

Ilustración 3.5

Abundancia de MPs. Fibras (A), Fragmentos (B) y Pellets (C).

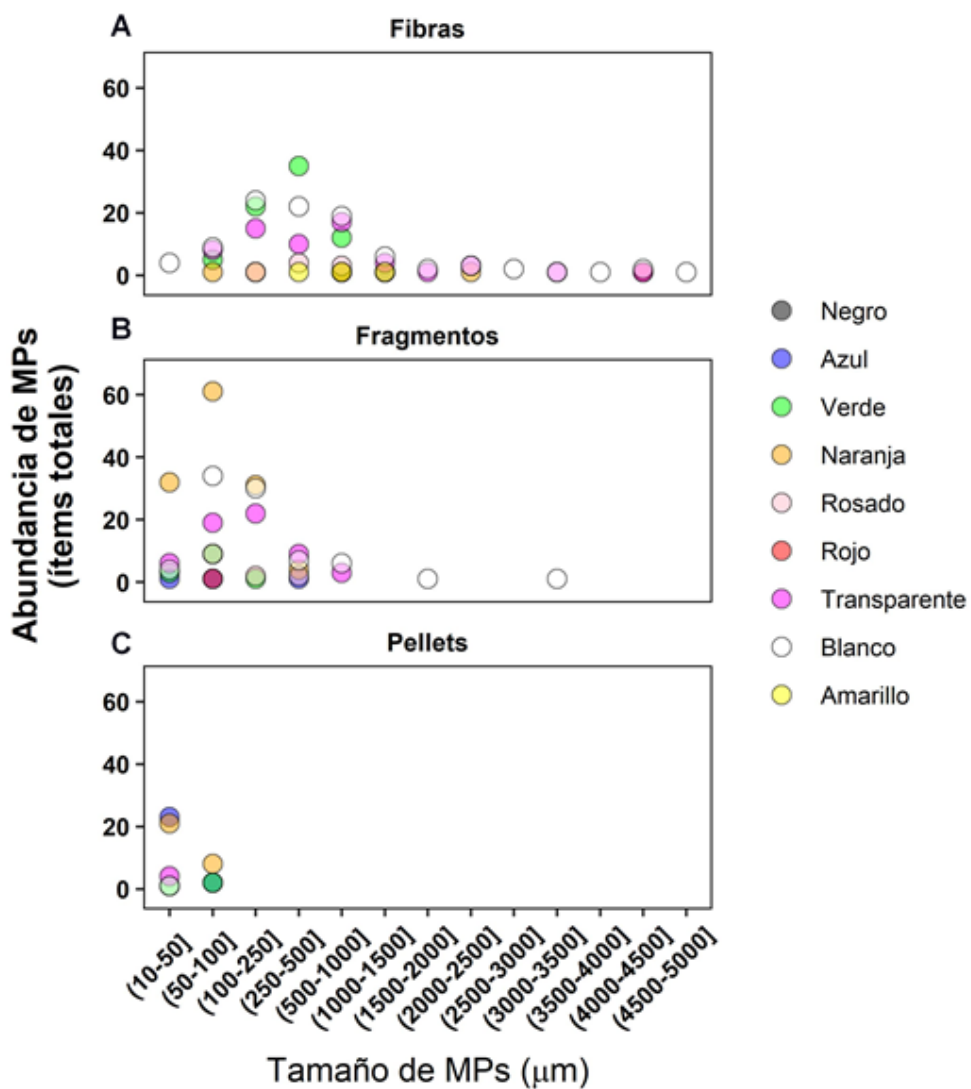
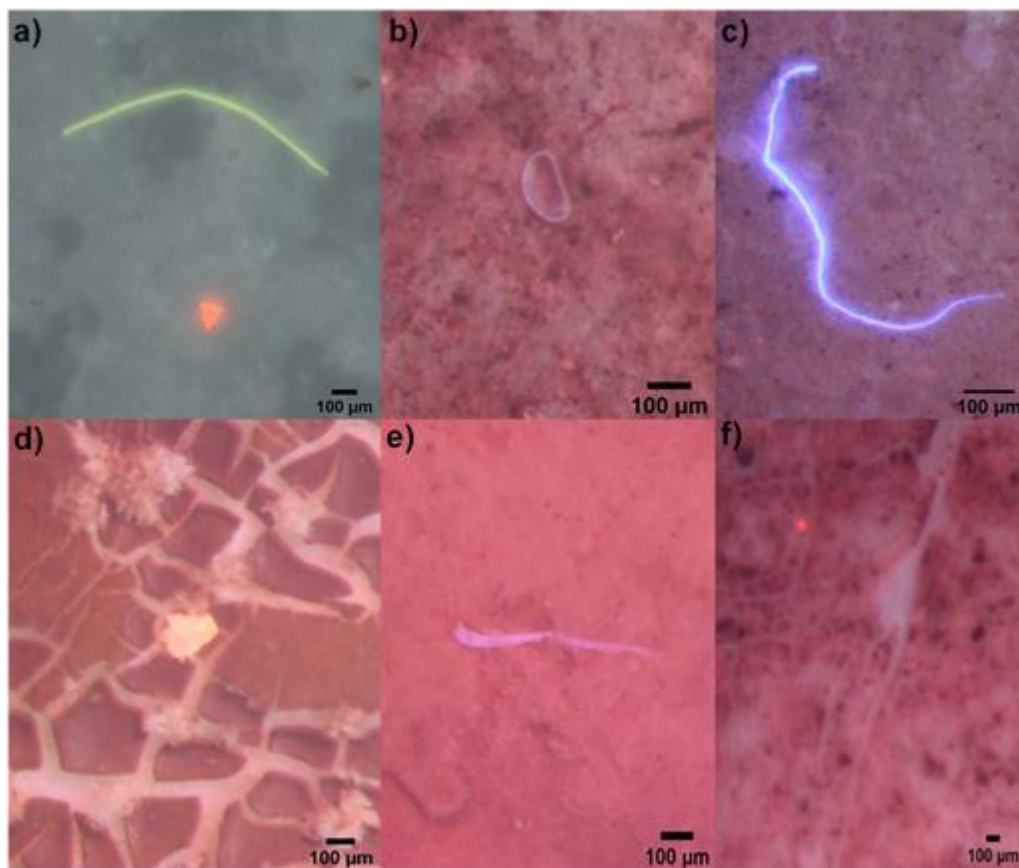


Ilustración 3.6
Tipos de microplásticos



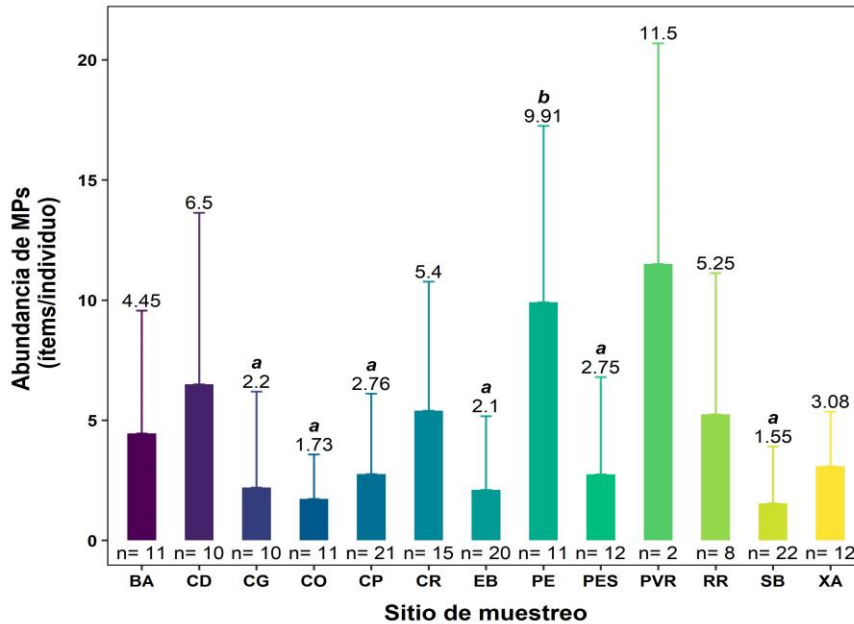
Nota. La imagen muestra los diferentes MPs identificados bajo el estereomicroscopio Stemi 305. Fibra verde a), blanca c) y rosada e); fragmento transparente b) y naranja a)-d); pellet naranja f).

3.5 Abundancia de MPs por estación de muestreo

La abundancia media de MPs fue de $3,72 \pm 4,86$ ítems/individuo. Se observó que la abundancia de MPs en Punta Vicente Roca ($11,50 \pm 9,19$ ítems/individuo), Punta Espinosa ($9,91 \pm 7,34$ ítems/individuo) y Corona Diablo ($6,50 \pm 7,14$ ítems/individuo) era ligeramente superior a los demás sitios de monitoreo. La menor abundancia se registró en Shark Bay ($1,55 \pm 2,36$ ítems/individuo) y Corales ($1,73 \pm 1,84$ ítems/individuo) (Ilustración 3.7).

Ilustración 3.7

Abundancia de MPs (media \pm DS) en trece diferentes sitios de muestreo en la RMG.



Nota. Las barras de error representan la desviación estándar, el valor encima de las barras indica la media de cada sitio de monitoreo. n representa el número de muestras en cada sitio de monitoreo. Diferentes letras sobre las barras de error indican diferencias significativas entre los sitios de monitoreo según la prueba Pairwise-Comparación múltiple de ANOVA de una vía ($p < 0,05$).

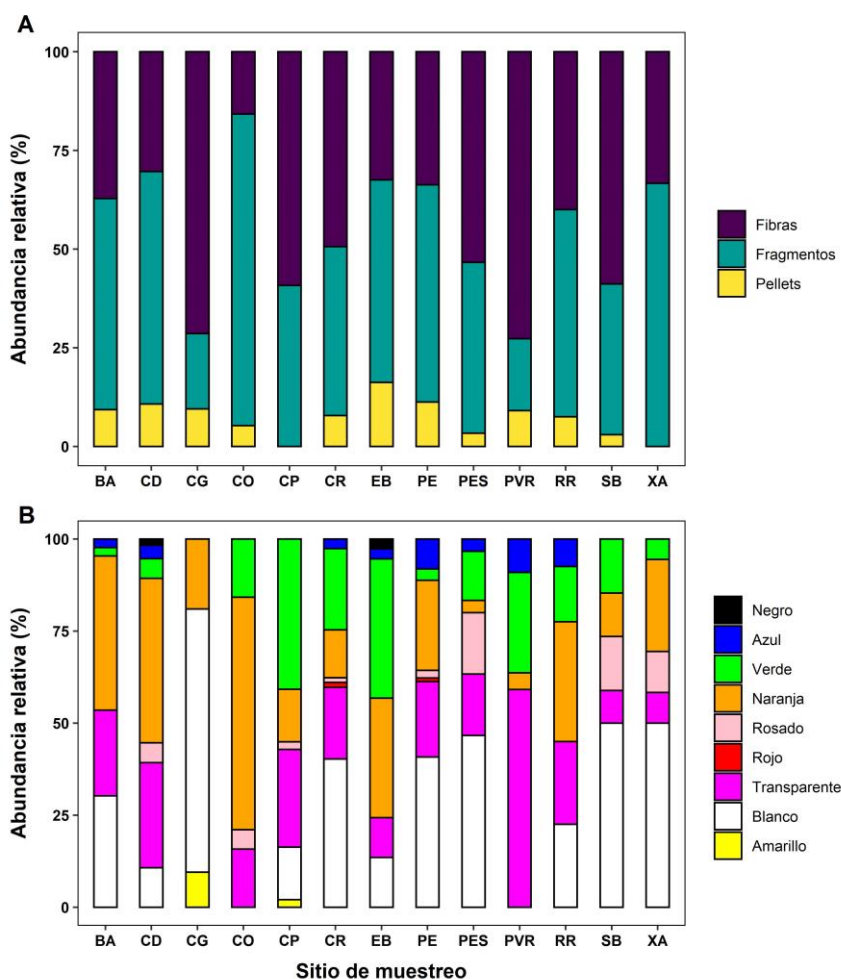
Según la prueba ANOVA de una vía, hubo diferencias significativas en la abundancia de MPs en los sitios de muestreo (valor $F=4,038$ y $p < 0,05$). La estación Punta Espejo mostró diferencias en relación a Control Graciela (posthoc, $p=0,003$); Corales (posthoc, $p=0,007$); Concha Perla (posthoc, $p=0,007$); Elizabeth Bay (posthoc, $p=0,002$); Punta Espinosa (posthoc, $p=0,015$) y Shark Bay (posthoc, $p=0,001$) (Apéndice B).

La forma característica de los MPs encontrados fueron los fragmentos y fibras. Los fragmentos representaron entre el 51,35% y 78,95% más abundantes en este orden: Corales (78,95%) > Xarifa (66,67%) > Corona Diablo (58,93%) > Punta Espejo (55,10%) > Bartolomé (53,49%) > Roca Redonda (52,50%) > Elizabeth Bay (51,35%). Las fibras representaron entre 49,35% y 72,73% siendo la secuencia: Punta Vicente Roca (72,73%) > Control Graciela (71,43%) > Concha

Perla (59,18%) > Shark Bay (58,82%) > Punta Espinosa (53,33%) > Cousins Rock (49,35%) (Ilustración 3.8A).

Ilustración 3.8

Abundancia relativa de formas (A) y colores (B) de los MPs en los sitios de muestreo de la RMG.



Nota. Sitios de muestreo: Bartolomé (BA), Concha Perla (CP), Control Graciela (CG), Corales (CO), Corona Diablo (CD), Cousins Rock (CR), Elizabeth Bay (EB), Punta Espejo (PE), Punta Espinosa (PES), Punta Vicente Roca (PVR), Roca Redonda (RR), Shark Bay (SB) y Xarifa (XA).

Los colores característicos de los MPs fueron el blanco y el naranja. El color blanco representó entre el 40,96% y 71,43%, el orden de abundancia relativa fue: Control Graciela (71,43%) > Shark Bay (50,00%) > Xarifa (50,00%) > Punta Espinosa (55,10%) > Punta Espejo (40,82%) > Cousins Rock (40,26%). El color

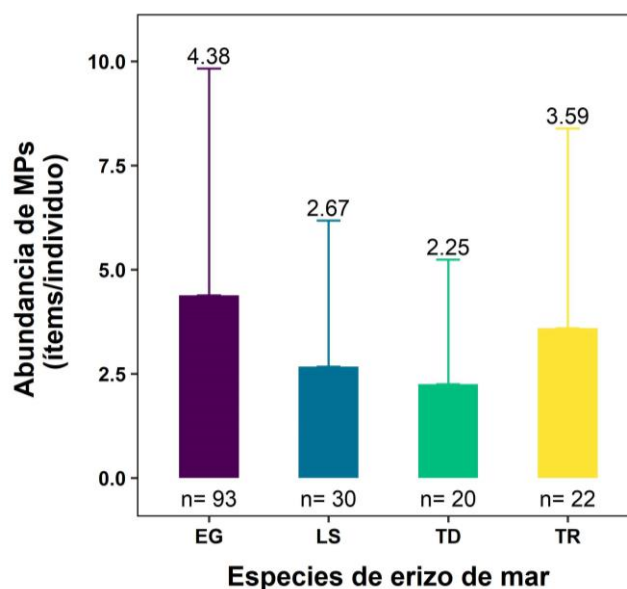
naranja significó entre 32,50% y 63,16% siendo la secuencia: Corales (63,16%) > Corona Diablo (44,64%) > Bartolomé (41,86%) > Roca Redonda (32,50%). Además, se encontró una alta proporción de color verde en Concha Perla (40,82%) y Elizabeth Bay (37,84%), y de color transparente en Punta Vicente Roca (59,10%) (Ilustración 3.8B).

3.6 Abundancia de MPs por especie de erizo de mar

La abundancia media global fue de $3,70 \pm 4,85$ ítems/individuo. La abundancia de MPs en *Eucidaris galapagensis* ($4,38 \pm 5,46$ ítems/individuo) y *Toxopneustes roseus* ($3,59 \pm 4,80$ ítems/individuo) fue ligeramente superior a la de *Lytechinus semituberculatus* ($2,67 \pm 3,51$ ítems/individuo) y *Tripneustes depressus* ($2,25 \pm 2,99$ ítems/individuo) (Ilustración 3.9). Según la prueba Kruskal-Wallis, no hubo diferencias significativas en la abundancia de MPs entre las especies de erizo de mar (valor $p=0,248$).

Ilustración 3.9

Abundancia de MPs (media \pm DS) en cuatro diferentes especies de erizo de mar de la RMG.

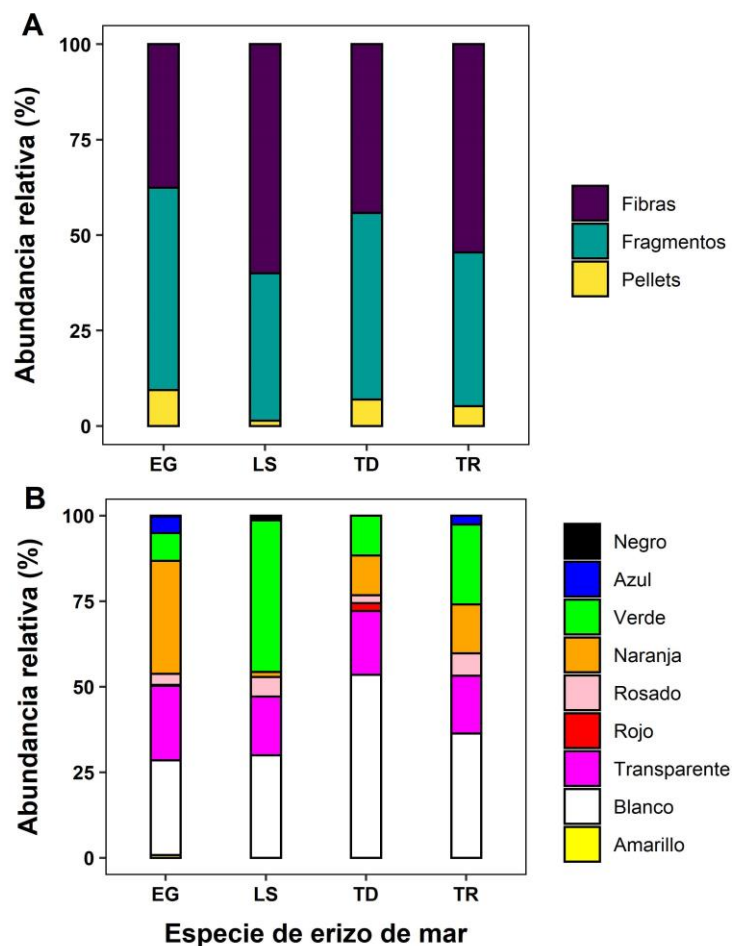


Nota. Las barras de error representan la desviación estándar, el valor encima de las barras indica la media de cada especie de erizo de mar.

La forma característica de los MPs en las diferentes especies fueron los fragmentos y fibras. El porcentaje de fragmentos en *Eucidaris galapagensis* fue 52,96% y en *Tripneustes depressus* de 48,84%. Las fibras representaron en *Lytechinus semituberculatus* el 60% y en *Toxopneustes roseus* el 54,55% (Ilustración 3.10A). Los colores característicos de los MPs fueron el blanco, naranja y verde. El porcentaje de color blanco en *Tripneustes depressus* fue 53,49% y en *Toxopneustes roseus* 36,36%, el porcentaje de color naranja en *Eucidaris galapagensis* fue 33,06% y el porcentaje de color verde en *Lytechinus semituberculatus* llegó al 44,29% (Ilustración 3.10B).

Ilustración 3.10

Abundancia relativa de formas (A) y colores (B) de los MPs en las especies de erizo de mar.



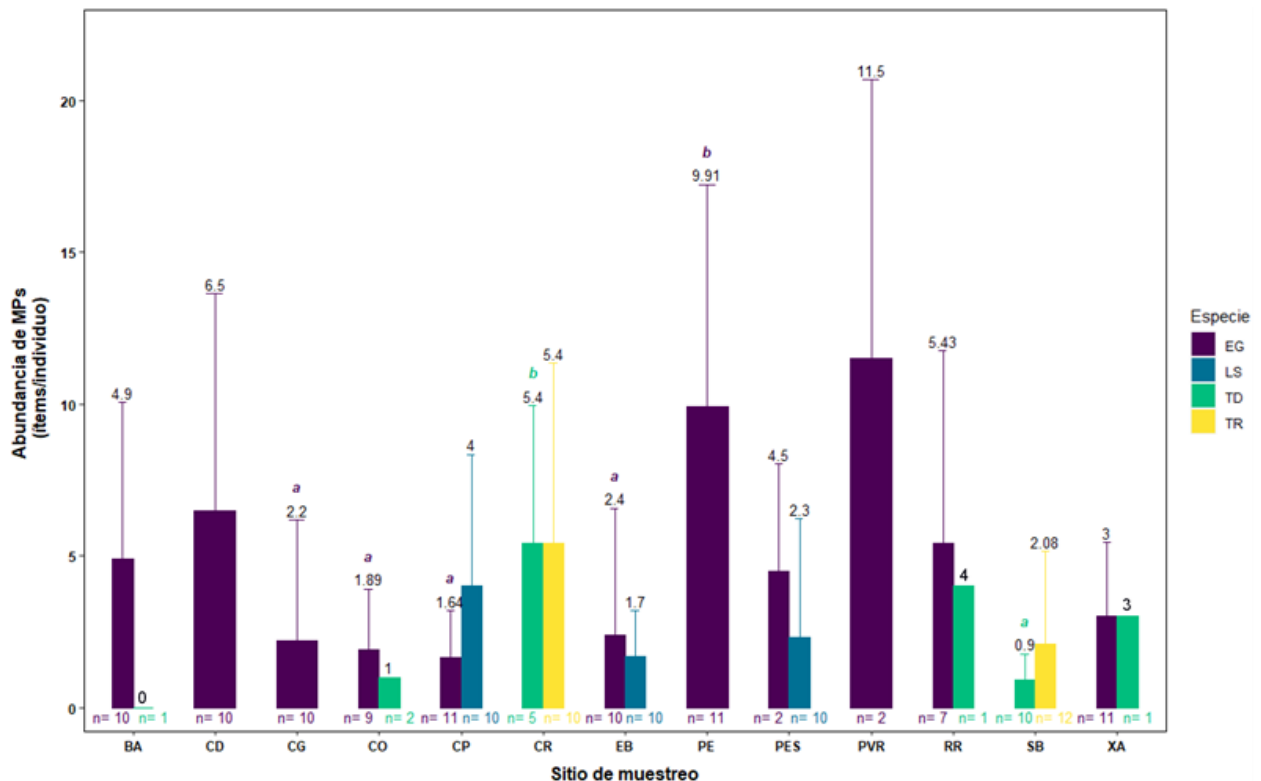
Nota. Especies de erizo de mar en la Reserva Marina de Galápagos: *Eucidaris galapagensis* (EG), *Lytechinus semituberculatus* (LS), *Tripneustes depressus* (TD) y *Toxopneustes roseus* (TR).

3.7 Abundancia de MPs de las especies de erizo de mar en los sitios de muestreo.

La abundancia media de MPs en las especies de erizo de mar y en los sitios de muestreo fue mayor en *Eucidaris galapagensis* en Punta Vicente Roca (11,50±9,19 ítems/individuo), *Tripneustes depressus* (5,40±4,56 ítems/individuo) y *Toxopneustes roseus* (5,40±5,97 ítems/individuo) en Cousins Rock, y *Lytechinus semituberculatus* en Concha Perla (4,00±4,35 ítems/individuo) (Ilustración 3.11).

Ilustración 3.11

Abundancia de MPs (media ± DS) de las especies de erizos de mar en cada sitio de muestreo de la RMG.



Nota. Las barras de error representan la desviación estándar, el valor encima de las barras indica la media de cada especie de erizo de mar. n representa el número de muestras de cada especie de erizo de mar. Especies de erizo de mar: *Eucidaris galapagensis* (EG), *Lytechinus semituberculatus* (LS), *Tripneustes depressus* (TD) y *Toxopneustes roseus* (TR). Diferentes letras sobre las barras de error de la especie *Eucidaris Galapagensis* indican diferencias significativas entre los sitios de monitoreo según la prueba Dunn-Comparación múltiple de Kruskal-Wallis ($p < 0,05$) y las letras sobre las barras de error de la especie *Tripneustes depressus* indican diferencias significativas entre los sitios de monitoreo según la prueba Pairwise-Comparación múltiple de ANOVA de una vía ($p < 0,05$).

Según la prueba Kruskal-Wallis, la especie *Eucidaris galapagensis* mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) de la abundancia de MPs en Punta Espejo con los sitios Control Graciela (posthoc, $p = 0,012$); Corales (posthoc, $p = 0,016$); Concha Perla (posthoc, $p = 0,012$) y Elizabeth Bay (posthoc, $p = 0,013$) (Apéndice C). La prueba ANOVA de una vía no señaló diferencias significativas de la abundancia media de MPs de la especie *Lytechinus semituberculatus* (valor $F = 1,00$ y $p = 0,38$) y *Toxopneustes roseus* (valor $F = 2,50$ y $p = 0,13$) en los sitios de monitoreo, mientras que *Tripneustes depressus* mostró diferencias significativas (valor $F = 4,35$ y $p = 0,01$); según la prueba post hoc, entre Cousins Rock y Shark Bay ($p = 0,014$) (ver Apéndice D).

3.8 Interpolaciones espaciales de la abundancia de MPs

Los cálculos del RMSE mostró que las interpolaciones Kriging Ordinario y Kernell se comportaron mejor que el Kriging universal y el IDW (Tabla 3.1). Kriging Ordinario fue el más consistente en su precisión de los cálculos del error cuadrático medio (RMSE), la media estandarizada (ME), el error cuadrático medio estandarizado (RMSSE), y el error estándar medio (SEM); por lo que se escogió como el mejor modelo para la interpolación de los datos de la abundancia de MPs.

Tabla 3.1

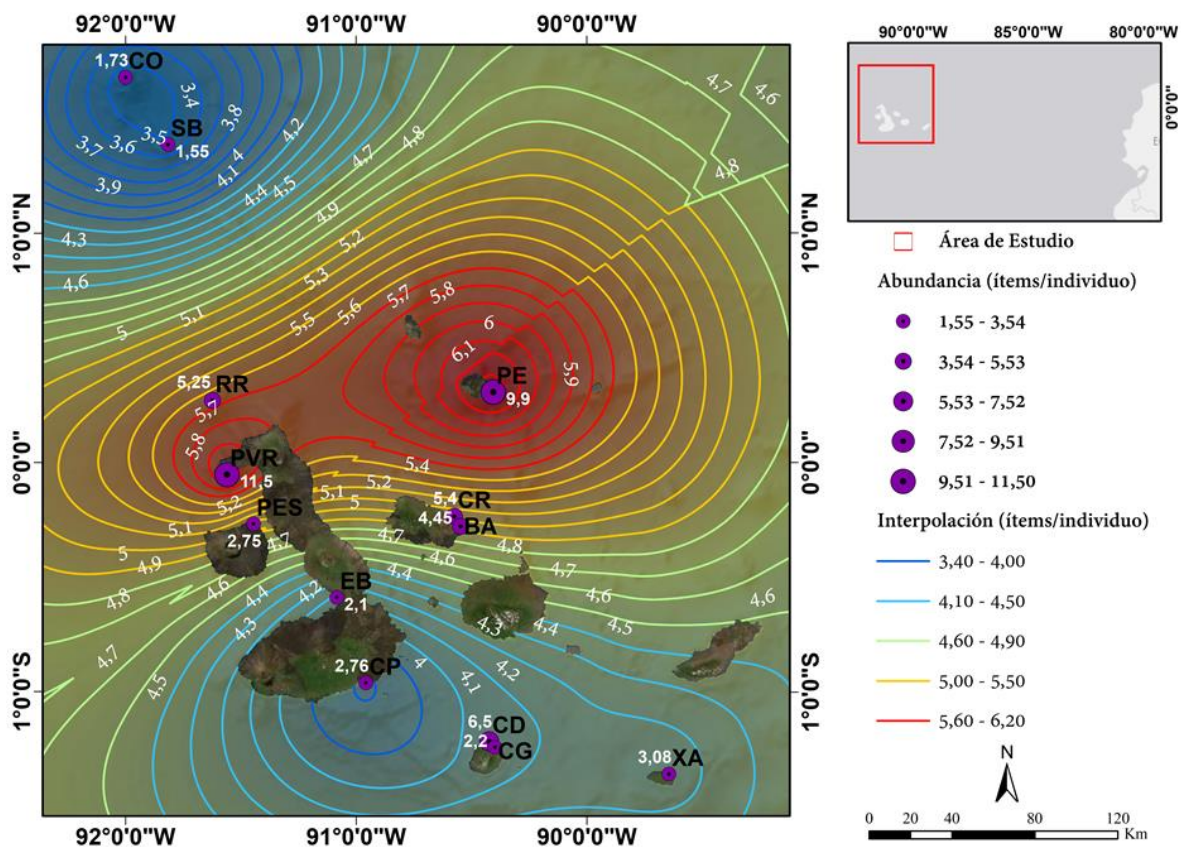
Cálculo del RMSE, MS, RMSS y ASE para cuatro métodos de interpolación. Todos los valores son en metros.

Métodos	Errores de predicción			
	RMSE	ME	RMSSE	SEM
IDW	3,65	-0,42	1,74	4,32
Kernell	3,42	0,003	0,90	3,85
Kriging Ordinario	3,13	-0,05	1,07	3,30
Kriging Universal	3,31	-0,35	1,35	5,66

La interpolación espacial indicó que las regiones al noroeste (entre 92° de longitud y 1° de latitud) estación Shark Bay ($1,55 \pm 2,36$ ítems/individuo) y al sureste (entre 90° de longitud y -1° de latitud) estación Control Graciela ($2,20 \pm 3,99$ ítems/individuo) presentaron menor concentración de MPs, con la adición de una pequeña región en Elizabeth Bay ($2,10 \pm 3,07$ ítems/individuo). La mayor concentración de MPs se observó en la región 90°- 91° de longitud y 0°-1° de latitud con la mayor acumulación registrada en las estaciones Punta Vicente Roca ($11,50 \pm 9,19$ ítems/individuo) y Punta Espejo ($9,90 \pm 7,34$ ítems/individuo) (Ilustración 3.12). De manera general, la RMG presenta valores altos en toda la zona protegida, a excepción de la zona noroeste.

Ilustración 3.12

Interpolación espacial de la abundancia de MPs en la RMG, utilizando los valores conocidos de las concentraciones de partículas microplásticas (ítems/individuo).



Nota. Sitios de muestreo: Bartolomé (BA), Concha Perla (CP), Control Graciela (CG), Corales (CO), Corona Diablo (CD), Cousins Rock (CR), Elizabeth Bay (EB), Punta Espejo (PE), Punta Espinoza (PES), Punta Vicente roca (PVR), Roca Redonda (RR), Shark Bay (SB) y Xarifa (XA).

3.9 Análisis de Costos

A continuación, se presenta el análisis de presupuesto del proyecto (Tabla 3.2). El análisis del precio unitario para cada rubro se encuentra en el Anexo D.

Tabla 3.2

Presupuesto total de las actividades del proyecto.

Ítems	Actividades	Unidades	Cantidad	Costo Unitario	Costo Total
1	Monitoreo Biológico				27.551,16
1,1	Recolección de muestras biológicas	Hora	120	224,52	26.942,14
1,2	Pretratamiento de muestras biológicas	Hora	80	7,61	609,02
2	Análisis de laboratorio				6.101,69
2,1	Disección de muestras biológicas	Hora	100	7,97	796,65
2,2	Procesamiento de muestras	Hora	160	20,61	3.296,80
2,3	Análisis microscópico de las muestras	Hora	100	20,08	2.008,24
3	Análisis de datos				1.025,62
3,1	Control de calidad de datos	Hora	40	3,72	148,75
3,2	Procesamiento de datos	Hora	80	7,31	584,58
3,3	Elaboración de reporte	Hora	80	3,65	292,29
	Subtotal				34.678,48
	IVA			12%	4161,417
	Total				38.839,89

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

MPs y el peso húmedo de los erizos de mar

Las características fisiológicas de los erizos de mar (peso húmedo) no mostraron ninguna correlación con la abundancia de MPs, confirmando lo señalado en un estudio por Jones et al. (2021), quienes no encontraron correlación entre el número de partículas y el peso de los invertebrados. Por otro lado, en un estudio de Feng et al. (2020) indicaron una correlación negativa entre la abundancia de MPs y el tamaño del erizo. Sin embargo, al realizar el análisis de frecuencia de la abundancia de MPs en relación al peso húmedo, se evidenció que en erizos con peso medio la ingesta de MPs era mayor.

Wang et al. (2019) y Abrahams (2021) indicaron que los organismos más pequeños tenían un mayor nivel de MPs en el tracto digestivo, así mismo Fernandez y Boudouresque (2000) determinaron que los niveles de ingestión disminuyen con el tamaño del erizo, siguiendo un modelo de regresión logarítmica, los más pequeños comen relativamente tres veces mucho más rápido que los más grandes (Moore y McPherson, 1965), y tienen una rápida eliminación de MPs (Capolupo et al., 2018), aunque un tamaño más pequeño del ano puede impedir la descarga de MPs del cuerpo (Feng et al., 2020).

En otro estudio se menciona el tiempo de retención de las partículas en el tracto intestinal, demostrando que este tiempo aumenta por la presencia de MPs (Porter, Smith y Lewis, 2019) y es más evidente en erizos jóvenes debido a que no expresan preferencias alimentarias, depredando selectivamente elementos planctónicos como ocurre en los adultos (Capolupo et al., 2018), además, en comparación con otros equinodermos, presentan una circulación relativamente lenta

en el sistema acuífero (Murano et al., 2020), por lo que conlleva la posibilidad de una mayor retención de partículas. Todo esto podría explicar el hallazgo en el presente estudio de que los erizos de menor peso contengan mayor cantidad de MPs en su tracto gastrointestinal.

Características de la contaminación por MPs de los erizos de mar en la Reserva Marina de Galápagos

En este estudio se observaron diferentes tamaños de MPs entre 10-5000 μm . En la Isla San Cristóbal se ha determinado que el rango de tamaño de MPs encontrados en los erizos de mar fue de 106-3270 μm (Jones et al., 2021). En las zonas costeras del norte de China en erizos de mar salvajes fue de 27-4742 μm (Feng et al., 2020), y en el estuario del río Pearl, China; en ostras fue de 20-5000 μm (Li et al., 2018). Los MPs pequeños fueron los más frecuentemente observados, y disminuyen conforme el tamaño aumenta, esto se ha demostrado en varios estudios (Feng et al., 2020; Wang et al., 2019).

El tamaño entre 50-250 μm representó el 53% del total de partículas, comparable con la proporción de MPs de tamaño <250 μm entre el 17%-79% del total de MPs en mejillones (Li et al., 2016), en el Pacífico Oriental Tropical y las Galápagos se encontró en muestras de agua de mar una mayor proporción de tamaño entre 150 y 500 μm . Se ha informado que los MPs de tamaño pequeño tienden a estar más biodisponibles y pueden ser ingeridos por los organismos marinos, y luego acumularse en los tejidos de los mismos (Sawalman et al., 2021; Browne et al., 2008; Feng et al., 2020; Li et al., 2018); también este tamaño de MPs es común de la distribución del tamaño del plástico en los océanos (Alfaro-Núñez et al., 2021; Feng et al., 2020). Los organismos que se alimentan por depósito están más expuestos a los MPs que los que se alimentan por filtración, tanto en términos de frecuencia como de número de partículas encontradas por organismo (Bour et al., 2018).

En relación al tipo de MPs: fragmentos (49,10%) y fibras (40,75%) y los colores: blanco (29,46%), naranja (26,35%), transparente (20,14%) y verde (14,74%) fueron los más abundantes en todos los sitios monitoreados, este resultado es consistente con las muestras del erizo de mar *Eucidaris galapagensis* estudiado en la Isla San Cristóbal, Galápagos por Jones et al. (2021), donde los fragmentos representaron el 53% y las fibras el 44%. La abundancia de fragmentos se explicaría debido a que los herbívoros pueden tener más rutas potenciales de captación de MPs, directamente del medio ambiente o indirectamente a través del consumo de partículas asociadas a las algas (Gutow et al., 2016), o del pastoreo en biofilm (Jones et al., 2021; Huseini, Suryanda y Patria, 2021), también observaron marcas de mordedura en fragmentos recuperados de erizos (Jones et al., 2021), lo que indica un proceso de fragmentación mecánica, un solo erizo pastando sobre macroplástico produce >90 fragmentos en 10 días (Porter et al., 2019). Las fibras se han encontrado como la forma más común en varios estudios (Wang et al., 2019; Li et al., 2018; De-la-Torre et al., 2020; Li et al., 2016), debido a la alta tasa de uso de herramientas de pesca de plástico (Wang et al., 2019).

Nivel de contaminación por MPs y el riesgo potencial en los erizos de mar en la Reserva Marina de Galápagos

La reserva investigada cubre aproximadamente 138'000 km² de área marítima, distribuidos alrededor del grupo de islas que conforman el Archipiélago de Galápagos (Guime, 2000). La tasa de detección de MPs en los erizos de mar (76,36%) indica que los fondos marinos de la RMG están generalmente contaminados por MPs, la abundancia media de MPs fue de 3,70±4,85 ítems/individuo, que es comparable a la observada en tejidos específicos de erizos de mar silvestres (4,94±4,64 ítems/individuo, tasa de detección 89,52%) (Feng et al., 2020) y en mejillones (1,50 a 7,60 ítems/individuo) de las zonas costeras de China (Li et al., 2016), en crustáceos *Aristeus antennatus* (5,50±0,80 MPs/individuo, tasa de detección 67%) en el mar Mediterráneo (Cau et al., 2019), y en el tracto gastrointestinal del erizo de mar *Tetrapygus niger* (3,22±0,49 MPs/individuo) en Perú (De-la-Torre et al., 2020).

Es interesante que estos resultados son los más altos detectados en las islas Galápagos en especies de invertebrados como los percebes ($0,71 \pm 0,29$ ítems/individuo, tasa de detección 57%), percebes gigantes ($1,17 \pm 0,67$ ítems/individuo, tasa de detección 83%), ostras palmeadas ($0,67 \pm 0,30$ ítems/individuo, tasa de detección 47%), caracoles gasterópodos ($0,65 \pm 0,19$ ítems/individuo, tasa de detección 39%), quitones ($0,50 \pm 0,50$ ítems/individuo, tasa de detección 25%), erizos de mar *Eucidaris galapagensis* ($0,68 \pm 0,18$ ítems/individuo, tasa de detección 60%), y pepinos de mar ($0,99 \pm 0,34$ ítems/individuo, tasa de detección 55%) en la isla San Cristóbal, Galápagos (Jones et al., 2021), esto proporciona nuevos conocimientos sobre el nivel de contaminación y la biodisponibilidad de los MPs en la RMG.

Los resultados indicaron una importante variabilidad espacial, lo que debería estar relacionado con la contaminación por MPs en el agua de mar, debido a que los datos mostraron en la estación Punta Espejo una mayor abundancia de MPs para la misma especie en comparación con las demás zonas. En la RMG se supone que provienen principalmente de fuentes externas, en el estudio de Jones et al., (2021) mencionan principalmente fragmentos de plástico, artículos marítimos en su mayoría cuerdas, trampas flotantes de polipropileno para anguilas, dispositivos DAP.

Con la creación de la reserva se ha dado una protección frente a la pesca industrial, y el pequeño tamaño de la flota pesquera artesanal que comprende pangas, fibras y botes (Zapata, 2006), podría ser fuente de contribución baja a nivel local (Van Sebille et al., 2019), sin embargo, en la flota industrial las capturas, el esfuerzo pesquero y la CPUE aumentaron agrupándose al límite occidental y sudoccidental de la RMG, y disminuyeron al sur y sureste del archipiélago de Galápagos (Bucaram, 2018; Boerder, Bryndum y Worm, 2017) pudiendo ser una fuente de contribución alta, otra fuente potencial son los dispositivos DAPs, su uso se ha visto en aumento en las últimas décadas dentro de la RMG, mas no en los límites donde la pesca es abundante (Boerder et al., 2017; Moina et al., 2019), todo esto puede ser una conexión importante para el aumento focalizado de MPs.

Por otro lado, las características topográficas submarinas también pueden aumentar la retención de MPs en lugares concretos (Woodall et al., 2014), influenciados principalmente por las corrientes de turbidez (Pohl et al., 2020), como cañones submarinos, taludes continentales, cuencas, llanuras abisales, respiraderos hidrotermales y montes submarinos (Pohl et al., 2020; Cau et al., 2017; Cau et al., 2018; Tubau et al., 2015; Cau et al., 2019; Woodall et al., 2014; Boteler et al., 2020). Existen respiraderos hidrotermales en el Rift de las Galápagos (Boteler et al., 2020), formaciones volcánicas, montes submarinos, taludes, zonas de rift y fuentes hidrotermales, existen registros en regiones cercanas a las zonas de estudio, tres montes submarinos en parte del lineamiento volcánico Wolf-Darwin y uno al oeste de Santiago y las llanuras abisales al oeste de la isla Fernandina (Arnés-Urgellés et al., 2020), sin embargo, no hay más datos que indiquen la presencia de más formaciones en toda la zona de la RMG para determinar puntos de acumulación de MPs.

La distribución espacial de los MPs se explica principalmente por los modelos de circulación oceánica (Alfaro-Núñez et al., 2021), por lo cual, las corrientes oceánicas juegan un papel importante en el origen, transporte, distribución y acumulación de MPs. En este estudio, la distribución de los MPs en la RMG se ve influenciada por las cuencas oceánicas del sur, predominantemente en el sur de Ecuador y en el norte de la costa de Perú por la corriente de Humboldt. Van Sebille et al., (2019) y Jones et al., (2021) en su estudio indicaron que la mayoría de las partículas plásticas se limitaron al este del Océano Pacífico tropical, a la costa sudamericana y a la corriente circumpolar antártica, es probable que la corriente ecuatorial predominante arrastre los MPs flotantes lejos de Galápagos y hacia los giros subtropicales, pero también destacan que casi ninguna partícula en su modelo llegó a Galápagos desde las zonas de acumulación de los giros subtropicales del Pacífico Norte o Sur.

En varios estudios se ha demostrado el riesgo potencial de MPs en los erizos de mar, provocando efectos tóxicos en el desarrollo anómalo del embrión, el alto número de MPs encontrados en las gónadas podrían inducir un daño notable a ellos mismos y a la red alimentaria relacionada (Feng et al., 2020; Sawalman et al., 2021;

De-la-Torre et al., 2020; Martínez-Gómez et al., 2017). El polietileno provoca una fuerte respuesta inflamatoria y la desestabilización de la membrana lisosomal (Wang et al., 2019), el poliestireno y polimetilmetacrilato inducen una disminución del éxito de la fecundación (De-la-Torre et al., 2020). Los erizos de mar desempeñan una importante función ecológica en el entorno marino bentónico, por lo que la biodisponibilidad de los MPs supone una amenaza para el desarrollo y la supervivencia de las poblaciones de erizos de mar.

Los resultados generales en este estudio sugieren que el erizo de mar podría ser un valioso bioindicador, debido a que podrían acumular contaminantes presentes en la columna de agua, incluidos los MPs, a través de al menos dos vías diferentes, la ingestión de alimentos y el sistema vascular del agua (Murano et al., 2020). El biofouling, generado por materia orgánica y bacterias, favorece el hundimiento de los microplásticos y la deposición en los sedimentos marinos (Kaiser, Kawasaki y Waniek, 2017; Kooi et al., 2017), por lo cual estas partículas serían fácilmente ingeridas por los erizos al tener un modo de alimentación de pastoreo, lo que implica que reflejarían la contaminación por MPs en el agua en los hábitats bentónicos.

Es así que se recomienda a los erizos de mar como un potencial biomonitor para detectar la contaminación por MPs en la RMG; sin embargo, se necesitan más estudios para construir un sistema de biomonitorización válido, utilizando los erizos de mar y más investigaciones a gran escala para encontrar la relación cuantitativa de los MPs en los erizos de mar y sus entornos vitales.

4.1 Conclusiones

- Quedó demostrado que el protocolo diseñado para la extracción e identificación de microplásticos en organismo marinos; es por demás eficiente, esto se pudo corroborar en base a los resultados obtenidos en la práctica, recalcando, además que su aplicación no genera daños ambientales en el ecosistema marino al emplear especies con una gran abundancia.

- Se investigó por primera vez la contaminación por MPs en cuatro especies de erizos en la RMG. La abundancia fue de $3,72 \pm 4,86$ ítems/individuo con una tasa de detección del 76,36%, lo que pone de manifiesto la alta concentración de estas partículas en la biota. Los MPs encontrados en el tracto gastrointestinal de todas las especies de erizos y en todos los sitios tienen características similares en cuanto al color predominantemente blanco 29,46%, naranja 26,35%, transparente 20,14% y verde 14,74%, la forma dominaba los fragmentos 49,10% y fibras 40,75%, y el tamaño entre 50-250 μm es el más abundante.
- No existieron diferencias en la abundancia de MPs entre las especies de erizos de mar, según los resultados del ANOVA, pero sí hay diferencias en la abundancia de MPs en los 13 sitios monitoreados, según la prueba Kruskal Wallis, lo que indica una importante variabilidad espacial. La estación Punta Espejo tiene una mayor abundancia de MPs en base a las comparaciones posthoc. La corriente de Humboldt es el factor más importante en la tasa y distribución espacial de la acumulación de MPs en la RMG.
- Este estudio proporcionó datos novedosos sobre la presencia de MPs en los animales bentónicos, a pesar de ser una amenaza para las redes alimentarias del medio marino, por la relación entre la contaminación por MPs y el medio acuático, se propone que puedan utilizarse como biomonitores de la contaminación por MPs en ambientes bentónicos.

4.2 Recomendaciones

- Para estudios similares, se recomienda utilizar tamaños de muestras mayores y con un número constante de individuos basadas en clases de la edad de los erizos de mar, además, de considerar períodos de tiempo adecuados para la recolección y el análisis de las muestras, pues la baja potencia estadística se

presenta con tamaños de muestra pequeños, lo que reduce la probabilidad de encontrar un efecto estadísticamente significativo. En este estudio la cantidad variable de muestras por especie pudo tener significancia en los resultados encontrados. La recopilación de datos adicionales al peso húmedo, como medidas del caparazón y peso de los diferentes tejidos, podría aportar información para un mejor entendimiento de las diferencias en la tasa de alimentación relacionadas con el tamaño.

- Es necesario realizar una evaluación de las posibles fuentes y vías de contaminación por MPs mencionadas en esta investigación para comprender los impactos ecológicos y socioeconómicos, y así tomar iniciativas de mitigación y prevención a una escala efectiva. La comprensión de los procesos oceanográficos también es una herramienta clave que debe estudiarse a una microescala dentro de la RMG para determinar a dónde van a parar los MPs.
- Para próximos estudios se deberían considerar las formaciones submarinas de la RMG que son puntos de acumulación para los MPs, para proporcionar información sedimentológica básica junto con información sobre los MPs. Esto permitiría una evaluación rápida de los posibles puntos focales y, por lo tanto, su pronta remediación.

BIBLIOGRAFÍA

- Abrahams, A. (2021). *Ingestion and egestion of microplastic fibers in the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*: An experimental exposure* [Master thesis, The Arctic University of Norway]. <https://hdl.handle.net/10037/21785>
- Alfaro-Núñez, A., Astorga, D., Cáceres-Farías, L., Bastidas, L., Soto Villegas, C., Macay, K., y Christensen, J. H. (2021). Microplastic pollution in seawater and marine organisms across the Tropical Eastern Pacific and Galápagos. *Scientific Reports*, 11(6424), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85939-3>
- Amelia, T. S. M., Khalik, W. M. A. W. M., Ong, M. C., Shao, Y. T., Pan, H. J., y Bhubalan, K. (2021). Marine microplastics as vectors of major ocean pollutants and its hazards to the marine ecosystem and humans. *Progress in Earth and Planetary Science*, 8(12). <https://doi.org/10.1186/s40645-020-00405-4>
- Arnés Urgellés, C., Buglass, S., Ahyong, S. T., y Salinas-de-León, P. (2020). Arthropoda; Crustacea; Decapoda of deep-sea volcanic habitats of the Galapagos Marine Reserve, Tropical Eastern Pacific. *Biodiversity Data Journal* 8: E54482. <https://doi.org/10.3897/BDJ.8.e54482>
- Auta, H. S., Emenike, C. U., y Fauziah, S. H. (2017). Distribution and importance of microplastics in the marine environment A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environment International*, 102, 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013>
- Boerder, K., Bryndum-buchholz, A., y Worm, B. (2017). Interactions of tuna fisheries with the Galápagos marine reserve. *Marine Ecology Progress Series*, 585, 1–15. <https://doi.org/10.3354/meps12399>

- Boteler, B., Wanless, R., Dias, M., Packeiser, T., Awad, A., Yannicelli, B., Zapata Padilla, L. A., Aburto, J., Seeger, I., Hampton, S., Jackson, L., Wienrich, N., Ajagbe, A., Hazin, C., Castellanos Galindo, G. A., Naranjo, L. G., Suárez, C. F., Prussmann, J., Valenzuela, S., ... Thiel, M. (2020). Summary for Decision- Makers – Ecological Baselines for the Southeast Pacific: Status of Marine Biodiversity and Anthropogenic Pressures in Areas Beyond National Jurisdiction. *STRONG High Seas Project*. <https://doi.org/10.2312/iass.2019.061>
- Boucher, J., y Friot, D. (2017). *Primary Microplastics in the Oceans: A Global Evaluation of Sources*. Gland, Switzerland: IUCN. <https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2017.01.en>
- Bour, A., Giacomo, C., Gorbi, S., Regoli, F., y Hylland, K. (2018). Presence of microplastics in benthic and epibenthic organisms : Influence of habitat , feeding mode and trophic level. *Environmental Pollution*, 243, 1217–1225. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.115>
- Brooks, A., Jambeck, J., & Mozo-Reyes, E. (2020). *Plastic Waste Management and Leakage in Latin America and the Caribbean*. <https://doi.org/10.18235/0002873>
- Browne, M. A., Dissanayake, A., Galloway, T. S., Lowe, D. M., y Thompson, R. C. (2008). Ingested Microscopic Plastic Translocates to the Circulatory System of the Mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science and Technology*, 42(13), 5026–5031. <https://doi.org/10.1021/es800249a>
- Bucaram, S. J., Hearn, A., Trujillo, A. M., Rentería, W., Bustamante, R. H., Morán, G., Reck, G., & García, J. L. (2018). Assessing fishing effects inside and outside an MPA: The impact of the Galapagos Marine Reserve on the Industrial pelagic tuna fisheries during the first decade of operation. *Marine Policy*, 87, 212–225.

<https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.10.002>

Capolupo, M., Franzellitti, S., Valbonesi, P., Lanzas, C. S., y Fabbri, E. (2018). Uptake and transcriptional effects of polystyrene microplastics in larval stages of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental Pollution*, 241, 1038–1047. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.06.035>

Carrasco R., T. (2018). La utilización de plásticos y su impacto ambiental en las Islas Galápagos. *Explorador Digital*, 2(2), 16–25.
<https://doi.org/10.33262/exploradordigital.v2i2.329>

Cau, A., Alvito, A., Moccia, D., Canese, S., Pusceddu, A., Rita, C., Angiolillo, M., y Follesa, M. C. (2017). Submarine canyons along the upper Sardinian slope (Central Western Mediterranean) as repositories for derelict fishing gears. *Marine Pollution Bulletin*, 123, 357–364. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.09.010>

Cau, A., Avio, C. G., Dessì, C., Follesa, M. C., Moccia, D., Regoli, F., y Pusceddu, A. (2019). Microplastics in the crustaceans *Nephrops norvegicus* and *Aristeus antennatus*: Flagship species for deep-sea environments? *Environmental Pollution*, 255, 113107. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113107>

Cau, A., Bellodi, A., Moccia, D., Mulas, A., Pesci, P., Cannas, R., Pusceddu, A., y Follesa, M. C. (2018). Dumping to the abyss: single-use marine litter invading bathyal plains of the Sardinian margin (Tyrrhenian Sea). *Marine Pollution Bulletin*, 135, 845–851. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.007>

Chatterjee, S., y Sharma, S. (2019). Microplastics in our oceans and marine health. *Field Actions Science Report, Special Issue 19*, 54–61.
<http://journals.openedition.org/factsreports/5257>

- De-la-Torre, G. E., Dioses-Salinas, D. C., Huamantupa-Aybar, S., & Davila-Carrasco, J. (2020). Preliminary observations of plastic debris in the gastrointestinal tract of sea urchin *Tetrapygus niger*. *Brazilian Journal of Natural Sciences*, 3(2), 316–320. <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.94>
- Feng, Z., Wang, R., Zhang, T., Wang, J., Huang, W., Li, J., Xu, J., & Gao, G. (2020). Microplastics in specific tissues of wild sea urchins along the coastal areas of northern China. *Science of The Total Environment*, 728, 138660. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138660>
- Fernandez, C., & Boudouresque, C. (2000). Nutrition of the sea urchin *Paracentrotus lividus* (Echinodermata: Echinoidea) fed different artificial food. *Marine Ecology Progress Series*, 204, 131–141. <https://doi.org/10.3354/meps204131>
- Fuhr, L., y Franklin, M. (2019). Atlas del plástico datos y cifras sobre el mundo de los polímeros sintéticos (2nd ed.). Creative Commons.
- Guime, M. P. (2000). La Reserva Marina de Galápagos. *Informe Galápagos 1999-2000*, 8–14.
- Gutow, L., Eckerlebe, A., Giménez, L., & Saborowski, R. (2016). Experimental Evaluation of Seaweeds as a Vector for Microplastics into Marine Food Webs. *Environmental Science & Technology*, 50(2), 915–923. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02431>
- Harding, S. (2016). Marine Debris: Understanding, Preventing and Mitigating the Significant Adverse Impacts on Marine and Coastal Biodiversity. *Secretariat of the Convention on Biological Diversity*, 8(4), 2–2. <https://doi.org/10.1080/14888386.2007.9712830>
- Huseini, D. R., Suryanda, A., & Patria, M. P. (2021). Comparative analysis of microplastic content in water, sediments, and digestive traces of sea urchin *Diadema setosum* (Leske, 1778) on Untung Jawa Island and Tidung Island,

- Seribu Islands, Jakarta. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 1098(5), 052051. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/1098/5/052051>
- Jones, J. S., Porter, A., Muñoz-Pérez, J. P., Alarcón-Ruales, D., Galloway, T. S., Godley, B. J., Santillo, D., Vagg, J., y Lewis, C. (2021). Plastic contamination of a Galapagos Island (Ecuador) and the relative risks to native marine species. *Science of The Total Environment*, 789, 147704. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147704>
- Kaiser, D., Kowalski, N., y Waniek, J. J. (2017). Effects of biofouling on the sinking behavior of microplastics. *Environmental Research Letters*, 12(12), 124003. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa8e8b>
- Kang, H., Park, S., Lee, B., Ahn, J., & Kim, S. (2020). Modification of a Nile Red Staining Method for Microplastics Analysis: A Nile Red Plate Method. *Water*, 12(11), 3251. <https://doi.org/10.3390/w12113251>
- Karakolis, E. G., Nguyen, B., You, J. B., Rochman, C. M., & Sinton, D. (2019). Fluorescent Dyes for Visualizing Microplastic Particles and Fibers in Laboratory-Based Studies. *Environmental Science & Technology Letters*, 6, 334–340. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.9b00241>
- Karami, A., Golieskardi, A., Choo, C. K., Romano, N., Ho, Y. Bin, y Salamatina, B. (2017). A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Science of the Total Environment*, 578, 485–494. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.213>
- Kooi, M., Van Nes, E. H., Scheffer, M., y Koelmans, A. A. (2017). Ups and Downs in the Ocean: Effects of Biofouling on Vertical Transport of Microplastics. *Environmental Science and Technology*, 51(14), 7963–7971.

<https://doi.org/10.1021/acs.est.6b04702>

Lassen, C., Hansen, S. F., Magnusson, K., Hartmann, N. B., Rehne Jensen, P., Nielsen, T. G., & Brinch, A. (2015). *Microplastics: Occurrence, effects and sources of releases to the environment in Denmark*. Danish Environmental Protection Agency.

<http://mst.dk/service/publikationer/publikationsarkiv/2015/nov/rapport-om-mikroplast>

Li, H., Ma, L., Lin, L., Ni, Z., Xu, X., Shi, H., Yan, Y., Zheng, G., y Rittschof, D. (2018). Microplastics in oysters *Saccostrea cucullata* along the Pearl River. *Environmental Pollution*, 236, 619–625. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.01.083>

Li, J., Lusher, A. L., Rotchell, J. M., Deudero, S., Turra, A., Bråte, I. L. N., Sun, C., Shahadat Hossain, M., Li, Q., Kolandhasamy, P., y Shi, H. (2019). Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Environmental Pollution*, 244, 522–533. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.032>

Li, J., Qu, X., Su, L., Zhang, W., Yang, D., y Kolandhasamy, P. (2016). Microplastics in mussels along the coastal waters of China. *Environmental Pollution*, 214, 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.012>

Martínez-Gómez, C., León, V. M., Calles, S., Gomáriz-Olcina, M., y Vethaak, A. D. (2017). The adverse effects of virgin microplastics on the fertilization and larval development of sea urchins. *Marine Environmental Research*, 130, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.06.016>

Miller, M. E., Kroon, F. J., y Motti, C. A. (2017). Recovering microplastics from marine samples: A review of current practices. *Marine Pollution Bulletin*, 123, 6–18. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.08.058>

- Moina Quimi, E., Visaira-Coronel, R., Andrade-Vera, S., Marín-Jarrín, J., y Ramírez González, J. (2019). Assessment of the use of Fishes Aggregating Devices to ensure the sustainability of fisheries in Galapagos. Ramírez-González J, editor. Reporte Técnico NO.1, Año 2019. Charles Darwin Foundation. Puerto Ayora, Galápagos, Ecuador. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.10716.64641>
- Moore, H., y McPherson, B. (1965). A Contribution to the Study of the Productivity of the Urchins *Tripneustes Esculentus* and *Lytechinus Variegatus*. *Bulletin of Marine Science*, 15(4), 855–871.
- Munoz-Pinheiro, M. A. (2018). Microplastics - Focus on Food and Health. *European Union, Joint Research Centre (JRC)*. EUR N/A, Publications Office of the European Union, Luxembourg, 2018, ISBN N/A, JRC110629
<https://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC110629>
- Murano, C., Agnisola, C., Caramiello, D., Castellano, I., Casotti, R., Corsi, I., y Palumbo, A. (2020). How sea urchins face microplastics: Uptake, tissue distribution and immune system response. *Environmental Pollution*, 264, 114685.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114685>
- Parra-Luna, M., Martín-Pozo, L., Hidalgo, F., & Zafra-Gómez, A. (2020). Common sea urchin (*Paracentrotus lividus*) and sea cucumber of the genus *Holothuria* as bioindicators of pollution in the study of chemical contaminants in aquatic media. A revision. *Ecological Indicators*, 113, 106185.
<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106185>
- Pinto Da Costa, J., Rocha Santos, T., & Duarte, A. (2020). The environmental impacts of plastics and micro-plastics use , waste and pollution: EU and national

- measures. In *European Union*. <https://doi.org/10.2861/45156>
- PlasticsEurope. (2019). Plásticos – Situación en 2019. Un análisis de los datos sobre producción y residuos de plásticos en Europa. Plastic Europe. <https://www.plasticseurope.org/es/resources/publications/2511-plasticos-situacion-en-2019>
- Pohl, F., Eggenhuisen, J. T., Kane, I. A., & Clare, M. A. (2020). Transport and Burial of Microplastics in Deep-Marine Sediments by Turbidity Currents. *Environmental Science and Technology*, 54(7), 4180–4189. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b07527>
- Porter, A., Smith, K. E., & Lewis, C. (2019). The sea urchin *Paracentrotus lividus* as a bioeroder of plastic. *Science of The Total Environment*, 693, 133621. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133621>
- Rodríguez, A., y Pereira, R. (2017). Morphological and Physical Characterization of Microplastics. *Comprehensive Analytical Chemistry*, 75, 49–66. <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2016.10.007>
- Sarmah, R., Dutta, R., Baishya, S., y Borah, S. (2018). Microplastic pollution: An emerging environmental issue. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(6), 340–344.
- Sawalman, R., Werorilangi, S., Ukkas, M., Mashoreng, S., Yasir, I., & Tahir, A. (2021). Microplastic abundance in sea urchins (*Diadema setosum*) from seagrass beds of Barranglompo Island, Makassar, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 763(1), 012057. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/763/1/012057>
- Sharma, R. (2019). *Experimental analysis of microplastics in beach sediment samples*

by density separation and microscopic examination [Degree Thesis, Arcada].

<http://urn.fi/URN:NBN:fi:amk-201901231515>

- Shim, W. J., Song, Y. K., Hong, S. H., y Jang, M. (2016). Identification and quantification of microplastics using Nile Red staining. *Marine Pollution Bulletin*, 113(1–2), 469–476. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.049>
- Shim, W. J., & Thomposon, R. C. (2015). Microplastics in the Ocean. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 69(3), 265–268. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0216-x>
- Toledo-Martínez, Á. (2019). *Revisión bibliográfica de los métodos de análisis de micro(nano)plásticos en el medioambiente y en la biota marina*. [Trabajo de fin de Máster, Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED)]. <http://e-spacio.uned.es/fez/view/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Matoledo>
- Tubau, X., Canals, M., Lastras, G., Rayo, X., Rivera, J., y Amblas, D. (2015). Marine litter on the floor of deep submarine canyons of the Northwestern Mediterranean Sea: The role of hydrodynamic processes. *Progress in Oceanography*, 134, 379–403. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2015.03.013>
- Van Sebille, E., Delandmeter, P., Schofield, J., Denise Hardesty, B., Jones, J., y Donnelly, A. (2019). Basin-scale sources and pathways of microplastic that ends up in the Galápagos Archipelago. *Ocean Science*, 15(5), 1341–1349. <https://doi.org/10.5194/os-15-1341-2019>
- Wang, J., Wang, M., Ru, S., & Liu, X. (2019). High levels of microplastic pollution in the sediments and benthic organisms of the South Yellow Sea, China. *Science of the Total Environment*, 651, 1661–1669. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.007>

- Wesch, C., Bredimus, K., Paulus, M., y Klein, R. (2016). Towards the suitable monitoring of ingestion of microplastics by marine biota : A review. *Environmental Pollution*, 218, 1200–1208. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.076>
- Whalen, K. (2008). *Sea Urchin Dissection Protocol*.
[http://www.whoi.edu/science/B/students/kwhalen/Sea Urchin Dissection Protocol.pdf](http://www.whoi.edu/science/B/students/kwhalen/Sea%20Urchin%20Dissection%20Protocol.pdf)
- Woodall, L. C., Sanchez-Vidal, A., Canals, M., Paterson, G. L. J., Coppock, R., Sleight, V., Calafat, A., Rogers, A. D., Narayanaswamy, B. E., & Thompson, R. C. (2014). The deep sea is a major sink for microplastic debris. *Royal Society Open Science*, 1(4), 140317. <https://doi.org/10.1098/rsos.140317>
- Zapata, F. (2006). *La pesca artesanal vivencial en Galápagos Sistematización del Proceso*.

APÉNDICES

Apéndice A. Características de los microplásticos

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)			
Control Graciela	Eucidaris galapagensis	CG07 EL1	Fragmento	Naranja	1	125,00	125,00			
			Fibra	Blanco	1	700,00	25,00			
			Fibra	Blanco	1	800,00	50,00			
			Fibra	Blanco	1	400,00	50,00			
			Fibra	Blanco	1	2500,00	50,00			
			Fibra	Blanco	1	650,00	100,00			
			Fibra	Blanco	1	250,00	50,00			
			Fibra	Blanco	1	450,00	25,00			
			Fragmento	Naranja	1	133,33	100,00			
			Fibra	Amarillo	1	1100,00	100,00			
			Fibra	Blanco	1	1100,00	50,00			
			Fibra	Blanco	1	950,00	25,00			
			Fibra	Blanco	1	350,00	25,00			
					CG07 EL2	NA	NA	NA	NA	NA
					CG07 EL3	NA	NA	NA	NA	NA
		CG07 EL4	Fibra	Amarillo	1	450,00	25,00			
			Fibra	Blanco	1	75,00	12,50			
		CG07 EL5	NA	NA	NA	NA	NA			
		CG07 EL6	Pellet	Naranja	1	50,00	0,00			
		CG07 EL7	NA	NA	NA	NA	NA			
		CG07 EL8	Pellet	Naranja	2	75,00	0,00			
			Fragmento	Blanco	1	250,00	225,00			
		CG07 EL9	NA	NA	NA	NA	NA			
		CG07 EL10	Fibra	Blanco	1	300,00	33,33			
			Fibra	Blanco	1	133,33	16,67			
			Fragmento	Blanco	1	125,00	50,00			
Corona Diablo	Eucidaris galapagensis	COR14 EL1	Pellet	Azul	1	50,00	0,00			
			Pellet	Naranja	2	50,00	0,00			
			Fibra	Transparente	1	175,00	50,00			
			Fragmento	Naranja	1	62,50	25,00			
			Fragmento	Naranja	2	50,00	25,00			
			Fragmento	Naranja	1	133,33	133,33			
			Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67			
			Fragmento	Naranja	2	50,00	50,00			
		Fragmento	Naranja	1	75,00	25,00				

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)
			Fibra	Transparente	1	350,00	50,00
			Fragmento	Naranja	2	50,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	75,00	75,00
			Fibra	Transparente	1	500,00	25,00
			Fragmento	Transparente	1	50,00	25,00
			Fibra	Transparente	1	600,00	33,33
			Fragmento	Transparente	1	100,00	66,67
			Fibra	Transparente	1	125,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	50,00
			Fibra	Transparente	1	533,33	33,33
			Fibra	Transparente	1	733,33	16,67
			Fragmento	Naranja	1	100,00	33,33
		COR14 EL2	Fragmento	Blanco	3	100,00	66,67
			Fragmento	Transparente	1	133,33	133,33
			Fragmento	Blanco	1	66,67	33,33
			Fragmento	Blanco	1	133,33	100,00
			Fragmento	Blanco	1	100,00	66,67
		COR14 EL3	NA	NA	NA	NA	NA
		COR14 EL4	Fragmento	Transparente	1	66,67	66,67
		COR14 EL5	Fibra	Negro	1	1000,00	25,00
			Pellet	Naranja	2	50,00	0,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	75,00	50,00
		COR14 EL6	Fragmento	Naranja	1	50,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	25,00
			Fibra	Transparente	1	725,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	100,00
		COR14 EL7	Fibra	Naranja	1	133,33	16,67
			Pellet	Naranja	1	50,00	0,00
			Fibra	Verde	1	300,00	12,50
			Fibra	Transparente	1	400,00	66,67
			Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67
		COR14 EL8	Fibra	Rosado	1	600,00	33,33
			Fibra	Verde	1	366,67	16,67
		COR14 EL9	Fragmento	Naranja	1	100,00	50,00
			Pellet	Naranja	2	100,00	0,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)
		COR14 EL10	Fibra	Verde	1	700,00	50,00
			Fragmento	Rosado	1	75,00	75,00
			Fragmento	Blanco	1	100,00	75,00
			Pellet	Azul	2	50,00	0,00
			Fragmento	Blanco	1	100,00	50,00
			Fibra	Transparente	1	100,00	25,00
			Fragmento	Rosado	1	100,00	50,00
			Fibra	Transparente	1	225,00	25,00
			Fragmento	Transparente	1	150,00	50,00
Cousins Rock	Tripneustes depressus	CR02 EB1	Fibra	Blanco	1	350,00	75,00
			Fibra	Blanco	1	700,00	100,00
			Fibra	Blanco	1	500,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	25,00
			Pellet	Transparente	3	50,00	0,00
			Fragmento	Blanco	1	100,00	75,00
			Fragmento	Blanco	1	50,00	50,00
			Fibra	Blanco	1	200,00	2,50
			Fragmento	Blanco	1	150,00	100,00
			Fragmento	Blanco	1	100,00	100,00
			Fibra	Blanco	1	900,00	100,00
		CR02 EB2	Fibra	Verde	1	375,00	12,50
			Pellet	Transparente	1	25,00	0,00
		CR01 EB3	Fibra	Blanco	1	100,00	12,50
			Fibra	Blanco	1	1400,00	25,00
			Fragmento	Blanco	1	100,00	50,00
			Fragmento	Blanco	1	50,00	50,00
		CR01 EB4	Fibra	Blanco	1	650,00	25,00
			Fibra	Blanco	1	775,00	75,00
			Fibra	Blanco	1	125,00	25,00
			Fragmento	Blanco	1	250,00	100,00
			Fragmento	Rojo	1	75,00	25,00
			Fibra	Blanco	1	250,00	25,00
		CR01 EB5	Fragmento	Transparente	1	175,00	100,00
			Fragmento	Transparente	1	75,00	75,00
	Toxopneustes roseus	CR03 ER6	Fragmento	Transparente	1	525,00	125,00
			Fragmento	Transparente	1	175,00	50,00
		CR03 ER7	Fragmento	Transparente	1	150,00	75,00
			Fragmento	Transparente	2	50,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00
			Fragmento	Verde	1	50,00	25,00

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)
			Fragmento	Verde	1	50,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	200,00	200,00
			Pellet	Naranja	2	50,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	75,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	50,00
			Fragmento	Verde	1	75,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	100,00
			Fibra	Blanco	1	925,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	75,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	225,00	200,00
			Pellet	Azul	1	50,00	0,00
			Fibra	Blanco	1	50,00	12,50
			Fibra	Blanco	1	175,00	25,00
		CR03 ER8	Fibra	Blanco	1	3000,00	33,33
			Pellet	Naranja	1	50,00	0,00
			Fibra	Blanco	1	200,00	50,00
			Pellet	Azul	1	50,00	0,00
		CR04 ER1	Fibra	Blanco	1	475,00	25,00
			Fragmento	Verde	1	100,00	75,00
			Fragmento	Transparente	1	125,00	50,00
			Fragmento	Transparente	1	62,50	25,00
			Fibra	Blanco	1	1000,00	12,50
		CR04 ER2	NA	NA	NA	NA	NA
		CR04 ER3	NA	NA	NA	NA	NA
		CR04 ER4	Fragmento	Blanco	1	366,67	166,67
			Fibra	Verde	1	1000,00	33,33
			Fibra	Verde	1	266,67	16,67
			Fragmento	Transparente	1	100,00	50,00
			Fragmento	Rosado	1	400,00	200,00
			Fibra	Verde	1	733,33	33,33
			Fragmento	Transparente	1	100,00	66,67
			Fibra	Transparente	1	400,00	33,33
			Fibra	Verde	1	566,67	33,33
		CR05 ER1	Fibra	Transparente	1	4333,33	33,33
			Fibra	Verde	1	366,67	66,67
			Fibra	Verde	1	533,33	33,33
			Fibra	Verde	1	600,00	33,33
			Fibra	Verde	1	400,00	66,67
			Fibra	Verde	1	333,33	33,33
			Fibra	Verde	1	400,00	100,00

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)
			Fibra	Transparente	1	166,67	66,67
			Fibra	Verde	1	700,00	33,33
			Fibra	Verde	1	600,00	33,33
		CR05 ER2	NA	NA	NA	NA	NA
		CR05 ER3	Fragmento	Blanco	1	133,33	100,00
			Fibra	Blanco	1	300,00	33,33
			Fibra	Blanco	1	600,00	33,33
			Fibra	Blanco	1	100,00	33,33
			Fibra	Blanco	1	366,67	33,33
Bartolomé	Eucidaris galapagensis	BA02 EL1	Fragmento	Blanco	1	75,00	50,00
		BA02 EL2	Fibra	Blanco	1	4800,00	100,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00
			Fibra	Blanco	1	250,00	50,00
			Fibra	Blanco	1	125,00	25,00
			Fragmento	Naranja	2	133,33	100,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67
			Fragmento	Naranja	1	233,33	233,33
			Fibra	Blanco	1	200,00	66,67
			Fibra	Blanco	1	2233,33	33,33
			Fragmento	Naranja	1	200,00	100,00
			Fibra	Blanco	1	4100,00	50,00
			Fibra	Transparente	1	2066,67	16,67
		BA02 EL3	Fragmento	Naranja	1	100,00	75,00
			Fibra	Transparente	1	2166,67	33,33
			Fibra	Transparente	1	533,33	66,67
			Fragmento	Transparente	1	250,00	150,00
			Fragmento	Transparente	1	166,67	166,67
			Fragmento	Transparente	1	733,33	33,33
			Fibra	Transparente	1	833,33	33,33
		BA02 EL4	NA	NA	NA	NA	NA
		BA02 EL5	Fragmento	Transparente	1	200,00	100,00
			Fragmento	Transparente	1	350,00	25,00
			Fibra	Blanco	1	400,00	100,00
			Fragmento	Naranja	1	200,00	150,00
			Fibra	Blanco	1	200,00	50,00
			Fibra	Blanco	1	1250,00	50,00
			Pellet	Naranja	1	50,00	0,00
			Fibra	Blanco	1	350,00	50,00
			Pellet	Naranja	2	50,00	0,00
			Pellet	Azul	4	50,00	0,00

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)
			Fragmento	Naranja	1	100,00	50,00
			Fragmento	Transparente	3	50,00	25,00
		MPE07 EL5	Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00
			Fibra	Blanco	1	4166,67	33,33
			Fragmento	Naranja	1	266,67	166,67
			Pellet	Azul	1	50,00	0,00
			Fibra	Blanco	1	1066,67	33,33
			Fragmento	Naranja	1	50,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67
			Pellet	Naranja	1	50,00	0,00
			Pellet	Azul	1	25,00	0,00
			Fragmento	Rosado	1	75,00	75,00
			Fibra	Transparente	1	1375,00	100,00
			Fragmento	Azul	1	50,00	50,00
		MPE07 EL6	Fragmento	Azul	1	333,33	266,67
			Fibra	Blanco	1	37,50	25,00
			Fragmento	Naranja	1	66,67	16,67
			Fragmento	Rosado	1	100,00	66,67
			Fragmento	Naranja	1	125,00	75,00
			Fragmento	Naranja	1	200,00	100,00
			Fibra	Blanco	1	966,67	66,67
			Fibra	Blanco	1	2466,67	66,67
			Fibra	Blanco	1	250,00	25,00
		MPE07 EL7	Fibra	Blanco	1	75,00	25,00
			Fibra	Transparente	1	400,00	25,00
			Fragmento	Transparente	1	75,00	50,00
			Fibra	Transparente	1	100,00	12,50
			Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00
			Fibra	Blanco	1	300,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	25,00
			Pellet	Azul	1	25,00	0,00
			Fibra	Blanco	1	100,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	75,00
			Fragmento	Blanco	1	75,00	50,00
			Fragmento	Naranja	2	75,00	50,00
			Pellet	Naranja	4	12,50	0,00
			Fibra	Blanco	1	50,00	25,00
			Fragmento	Transparente	2	75,00	75,00
			Pellet	Naranja	1	50,00	0,00
			Fragmento	Transparente	1	150,00	100,00
			Fragmento	Naranja	1	75,00	75,00
			Fibra	Blanco	1	125,00	25,00

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)
			Fragmento	Transparente	1	100,00	50,00
			Fragmento	Transparente	1	100,00	75,00
			Pellet	Azul	1	50,00	0,00
			Fibra	Transparente	1	1050,00	25,00
		MPE07 EL8	Fragmento	Blanco	1	133,33	100,00
			Fragmento	Verde	1	100,00	66,67
			Fibra	Rojo	1	4333,33	33,33
		MPE07 EL9	Fibra	Transparente	1	425,00	100,00
			Fibra	Transparente	1	75,00	25,00
			Fragmento	Blanco	1	125,00	75,00
			Fibra	Transparente	1	175,00	25,00
			Fragmento	Blanco	1	275,00	50,00
			Fragmento	Blanco	1	675,00	25,00
			Fragmento	Blanco	1	50,00	50,00
			Fibra	Transparente	1	175,00	12,50
			Fragmento	Blanco	1	50,00	25,00
			Fragmento	Blanco	2	75,00	50,00
			Fibra	Transparente	1	200,00	50,00
			Fibra	Transparente	1	700,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00
		MPE07 EL10	Fragmento	Blanco	1	200,00	133,33
			Fragmento	Verde	1	50,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	75,00
			Fragmento	Blanco	1	100,00	50,00
		MPE07 EL11	Fragmento	Blanco	1	3400,00	150,00
			Fragmento	Blanco	1	900,00	200,00
			Fragmento	Blanco	1	700,00	200,00
			Fragmento	Blanco	1	700,00	100,00
			Fragmento	Blanco	1	1600,00	100,00
			Fibra	Blanco	1	250,00	25,00
			Fibra	Blanco	1	50,00	25,00
			Fragmento	Blanco	1	75,00	50,00
Roca Redonda	Eucidaris galapagensis	RR05 EL1	Fragmento	Naranja	1	300,00	250,00
		RR05 EL2	Fibra	Verde	1	100,00	25,00
		RR05 EL3	Fragmento	Naranja	1	133,33	133,33
			Fibra	Transparente	1	400,00	33,33
			Fibra	Transparente	1	100,00	16,67
			Fragmento	Blanco	1	133,33	100,00
			Fibra	Transparente	1	200,00	50,00
			Pellet	Azul	1	50,00	0,00

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)
			Fragmento	Transparente	1	200,00	200,00
		RR05 EL4	Fibra	Transparente	1	166,67	16,67
		RR05 EL5	Fragmento	Naranja	2	100,00	66,67
			Fragmento	Blanco	1	75,00	50,00
			Fragmento	Naranja	2	75,00	75,00
			Fragmento	Verde	1	75,00	50,00
			Fragmento	Naranja	1	50,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	150,00	125,00
			Pellet	Azul	1	50,00	0,00
			Fragmento	Verde	1	125,00	75,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	75,00
			Pellet	Azul	1	50,00	0,00
			Fibra	Transparente	1	325,00	50,00
		RR05 EL6	NA	NA	NA	NA	NA
		RR05 EL7	Fibra	Transparente	1	3066,67	33,33
			Fibra	Blanco	1	200,00	33,33
			Fibra	Blanco	1	133,33	33,33
			Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67
			Fibra	Blanco	1	366,67	16,67
			Fibra	Blanco	1	166,67	33,33
			Fragmento	Blanco	1	100,00	66,67
			Fibra	Blanco	1	266,67	33,33
			Fibra	Blanco	1	166,67	33,33
			Fragmento	Naranja	1	233,33	166,67
			Fibra	Verde	1	366,67	3,33
			Fragmento	Naranja	1	100,00	100,00
			Fragmento	Transparente	1	166,67	133,33
			Fibra	Verde	1	233,33	16,67
			Fragmento	Naranja	1	200,00	66,67
	Tripneustes depressus	RR06 EB1	Fragmento	Transparente	1	333,33	266,67
			Fibra	Verde	1	333,33	66,67
			Fragmento	Naranja	1	133,33	66,67
			Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67
Elizabeth Bay	Eucidaris galapagensis	EB01 EL1	Fibra	Verde	1	500,00	33,33
			Fibra	Transparente	1	166,67	33,33
		EB01 EL2	Fragmento	Naranja	2	75,00	75,00
			Pellet	Naranja	1	50,00	0,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	50,00
			Pellet	Azul	1	50,00	0,00
			Fragmento	Naranja	2	50,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	75,00	50,00

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)	
			Fragmento	Naranja	1	100,00	75,00	
			Fragmento	Naranja	3	50,00	50,00	
			Pellet	Naranja	1	75,00	0,00	
			Fragmento	Naranja	1	75,00	25,00	
		EB01 EL3	Fragmento	Blanco	1	75,00	75,00	
		EB01 EL4	Fragmento	Naranja	1	75,00	75,00	
		EB01 EL5	Fragmento	Transparente	1	133,33	66,67	
			Fragmento	Verde	1	100,00	66,67	
			Pellet	Verde	1	100,00	0,00	
		EB01 EL6	Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00	
		EB01 EL7	Fragmento	Blanco	1	125,00	50,00	
		EB01 EL8	NA	NA	NA	NA	NA	
		EB01 EL9	Pellet	Naranja	1	100,00	0,00	
		EB01 EL10	NA	NA	NA	NA	NA	
	Lytechinus semitubercu- lus	EB02 EV1	Fragmento	Transparente	1	166,67	66,67	
			Fibra	Verde	1	500,00	16,67	
			Fibra	Negro	1	1066,67	33,33	
			Fibra	Verde	1	300,00	50,00	
			Fibra	Verde	1	233,33	33,33	
			EB02 EV2	Fragmento	Verde	1	100,00	66,67
				Fragmento	Verde	1	75,00	37,50
			EB02 EV3	Fibra	Verde	1	233,33	3,33
				Fragmento	Blanco	1	133,33	100,00
			EB02 EV4	Pellet	Verde	1	75,00	75,00
			EB02 EV5	Fibra	Verde	1	200,00	33,33
			EB02 EV6	Fibra	Transparente	1	166,67	33,33
			EB02 EV7	Fibra	Verde	1	400,00	16,67
				Fibra	Verde	1	133,33	16,67
			EB02 EV8	NA	NA	NA	NA	NA
			EB02 EV9	Fragmento	Blanco	1	100,00	33,33
				Fragmento	Blanco	1	166,67	100,00
				Fibra	Verde	1	500,00	16,67
			EB02 EV10	NA	NA	NA	NA	NA

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)		
Punta Vicente Roca	Eucidaris galapagensis	PVR02 EL1	Fragmento	Transparente	1	100,00	50,00		
			Fragmento	Transparente	1	100,00	75,00		
			Fibra	Transparente	1	900,00	50,00		
			Fibra	Transparente	1	675,00	25,00		
			Fibra	Transparente	1	250,00	25,00		
			Fibra	Transparente	1	150,00	25,00		
			Fragmento	Transparente	1	250,00	75,00		
			Fibra	Transparente	1	550,00	50,00		
			Fibra	Verde	1	325,00	50,00		
			Fibra	Verde	1	325,00	25,00		
			Fibra	Transparente	1	75,00	12,50		
			Pellet	Azul	2	50,00	0,00		
			Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00		
			Fibra	Transparente	1	675,00	50,00		
			Fibra	Verde	1	300,00	25,00		
		Fibra	Transparente	1	525,00	25,00			
		Fibra	Transparente	1	75,00	37,50			
				PVR02 EL2	Fibra	Verde	1	325,00	50,00
					Fibra	Transparente	1	500,00	25,00
					Pellet	Azul	1	50,00	0,00
		Fibra	Verde		1	400,00	33,33		
		Fibra	Verde		1	133,33	33,33		
Concha Perla	Lytechinus semitubercula tus	CP05 EV1	Fragmento	Blanco	1	75,00	50,00		
			Fibra	Transparente	1	1125,00	25,00		
			Fibra	Transparente	1	625,00	25,00		
				CP05 EV2	Fibra	Verde	2	233,33	3,33
					Fragmento	Transparente	1	400,00	200,00
					Fibra	Verde	2	166,67	3,33
					Fibra	Verde	1	133,33	3,33
					Fibra	Verde	2	100,00	3,33
					Fibra	Verde	1	300,00	3,33
					Fibra	Transparente	1	900,00	33,33
				CP05 EV3	Fibra	Verde	1	200,00	3,33
					Fragmento	Blanco	1	100,00	66,67
					Fragmento	Blanco	2	133,33	33,33
					Fragmento	Blanco	1	100,00	33,33
					Fibra	Verde	2	133,33	3,33
					Fibra	Transparente	1	500,00	33,33
		Fibra	Verde		2	300,00	16,67		
			Fragmento	Verde	1	100,00	66,67		
			Fibra	Verde	2	266,67	3,33		

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)	
		CP05 EV4	Fibra	Verde	1	266,67	3,33	
			Fibra	Verde	1	100,00	16,67	
			Fibra	Verde	1	233,33	16,67	
			Fibra	Verde	1	166,67	3,33	
		CP05 EV5	Fragmento	Transparente	3	333,33	166,67	
			Fibra	Verde	1	100,00	16,67	
			Fibra	Verde	1	200,00	16,67	
		CP05 EV6	NA	NA	NA	NA	NA	
		CP05 EV7	Fibra	Transparente	1	700,00	66,67	
			Fibra	Verde	1	133,33	16,67	
			Fragmento	Transparente	1	266,67	133,33	
		CP05 EV8	Fibra	Verde	1	400,00	3,33	
		CP05 EV9	Fragmento	Verde	1	100,00	66,67	
		CP05 EV10	NA	NA	NA	NA	NA	
	Eucidaris galapagensis	CP01 EL1	Fragmento	Naranja	1	50,00	50,00	
			Fibra	Blanco	1	75,00	25,00	
			Fragmento	Naranja	1	75,00	50,00	
			Fibra	Verde	1	450,00	12,50	
			CP01 EL2	NA	NA	NA	NA	NA
			CP01 EL3	NA	NA	NA	NA	NA
			CP01 EL4	Fragmento	Transparente	1	100,00	100,00
				Fibra	Naranja	1	100,00	33,33
				Fibra	Amarillo	1	833,33	66,67
			CP01 EL5	Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67
				Fibra	Transparente	1	175,00	50,00
			CP01 EL6	Fragmento	Naranja	1	100,00	75,00
				Fragmento	Transparente	1	125,00	125,00
				Fibra	Transparente	1	1375,00	25,00
				Fibra	Transparente	1	1675,00	25,00
			CP01 EL7	NA	NA	NA	NA	NA
		CP01 EL8	Fragmento	Blanco	1	100,00	100,00	
			Fragmento	Blanco	1	166,67	100,00	
		CP01 EL9	NA	NA	NA	NA	NA	

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)	
Corales	Eucidaris galapagensis	CP01 EL10	Fragmento	Rosado	1	233,33	166,67	
			Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67	
		CP01 EL11	Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67	
		DA10 EL1	Fragmento	Naranja	1	100,00	33,33	
			Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67	
			Fragmento	Rosado	1	100,00	66,67	
			Fragmento	Naranja	1	50,00	12,50	
		DA10 EL2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		DA10 EL3	Pellet	Naranja	1	100,00	0,00	
		DA10 EL4	Fragmento	Naranja	1	100,00	33,33	
			Fragmento	Naranja	1	166,67	66,67	
			Fragmento	Naranja	1	50,00	25,00	
		DA10 EL5	Fragmento	Naranja	1	50,00	25,00	
		DA10 EL6	Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67	
		DA10 EL7	Fragmento	Naranja	1	250,00	150,00	
			Fibra	Verde	1	500,00	50,00	
			Fragmento	Naranja	1	200,00	100,00	
			Fragmento	Naranja	1	100,00	100,00	
			Fibra	Verde	1	500,00	33,33	
Fibra	Verde		1	266,67	33,33			
DA11 EL1	NA	NA	NA	NA	NA	NA		
DA11 EL2	Fragmento	Transparente	1	200,00	125,00			
Tripneustes depressus	DA14 EB1	Fragmento	Transparente	1	366,67	66,67		
	DA14 EB2	Fragmento	Transparente	1	300,00	66,67		
Punta Espinosa	Eucidaris galapagensis	PE13 EL1	Fragmento	Rosado	1	125,00	75,00	
			Fibra	Transparente	1	900,00	50,00	
	PE13 EL2	Fibra	Transparente	1	100,00	3,33		
		Pellet	Azul	2	100,00	0,00		
		Fibra	Verde	1	300,00	33,33		
		Fibra	Verde	1	1000,00	33,33		
		Fibra	Verde	1	533,33	33,33		
		Fibra	Transparente	1	100,00	16,67		
	Lytechinus semituberculatus	PE05 EV1	Fibra	Rosado	1	466,67	66,67	
			Fibra	Transparente	1	133,33	66,67	

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)	
Xarifa	Eucidaris galapagensis	PE05 EV2	Fibra	Blanco	1	100,00	33,33	
			Fibra	Blanco	1	400,00	33,33	
		PE05 EV3	Fragmento	Blanco	1	166,67	100,00	
			Fragmento	Blanco	1	100,00	33,33	
			Fragmento	Blanco	1	100,00	66,67	
		PE05 EV4	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		PE05 EV5	Fragmento	Transparente	1	100,00	100,00	
			Fibra	Verde	1	333,33	16,67	
		PE05 EV6	Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67	
		PE05 EV7	Fibra	Blanco	1	900,00	33,33	
			Fibra	Blanco	1	3266,67	16,67	
			Fragmento	Blanco	1	166,67	66,67	
			Fragmento	Blanco	1	300,00	166,67	
			Fragmento	Blanco	1	200,00	66,67	
			Fragmento	Blanco	1	100,00	100,00	
			Fragmento	Blanco	2	200,00	100,00	
			Fibra	Rosado	1	733,33	66,67	
			Fibra	Rosado	1	133,33	33,33	
			Fibra	Rosado	1	666,67	33,33	
			Fragmento	Blanco	1	116,67	66,67	
			Fragmento	Blanco	1	133,33	133,33	
		PE05 EV8	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		PE05 EV9	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		PE05 EV10	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		ES14 EL1	Fibra	Naranja	1	2250,00	100,00	
			Fragmento	Blanco	1	666,67	166,67	
			Fragmento	Blanco	1	100,00	100,00	
			Fragmento	Naranja	1	166,67	166,67	
			Fragmento	Blanco	1	100,00	66,67	
			Fragmento	Blanco	1	100,00	33,33	
Fragmento	Blanco		1	166,67	133,33			
Fragmento	Blanco		1	166,67	133,33			
ES14 EL2	Fragmento	Transparente	1	250,00	150,00			
ES14 EL3	Fragmento	Rosado	1	100,00	66,67			
ES14 EL4	Fragmento	Naranja	1	133,33	133,33			
ES14 EL5	Fibra	Blanco	1	1150,00	50,00			
	Fibra	Blanco	1	600,00	25,00			

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (µm)	Tamaño B (µm)
			Fibra	Blanco	1	150,00	50,00
			Fibra	Rosado	1	500,00	50,00
		ES14 EL6	Fibra	Blanco	1	200,00	50,00
			Fibra	Blanco	1	350,00	25,00
			Fragmento	Blanco	1	300,00	150,00
			Fragmento	Blanco	1	200,00	100,00
			Fibra	Blanco	1	550,00	25,00
		ES14 EL7	NA	NA	NA	NA	NA
		ES14 EL8	Fragmento	Naranja	1	175,00	125,00
			Fragmento	Rosado	1	75,00	75,00
			Fragmento	Naranja	1	150,00	125,00
			Fragmento	Naranja	1	175,00	125,00
			Fragmento	Naranja	1	100,00	75,00
			Fragmento	Naranja	1	275,00	150,00
			Fragmento	Naranja	1	125,00	100,00
		ES14 EL9	Fibra	Verde	1	1000,00	33,33
			Fragmento	Rosado	1	450,00	350,00
		ES14 EL10	Fragmento	Transparente	1	200,00	133,33
			Fragmento	Blanco	1	133,33	100,00
		ES14 EL11	Fragmento	Blanco	1	233,33	66,67
			Fragmento	Transparente	1	800,00	500,00
			Fibra	Verde	1	733,33	33,33
	Tripneustes depressus	ES09 EB1	Fibra	Blanco	1	1066,67	33,33
			Fibra	Blanco	1	600,00	33,33
			Fragmento	Blanco	1	133,33	66,67
Shark Bay	Tripneustes depressus	WO1 EB1	NA	NA	NA	NA	NA
		WO1 EB2	Fragmento	Transparente	1	133,33	100,00
			Fragmento	Rosado	1	100,00	100,00
		WO2 EB3	Fragmento	Blanco	1	100,00	66,67
			Fibra	Verde	1	200,00	16,67
		WO2 EB4	NA	NA	NA	NA	NA
		WO3 EB 5	NA	NA	NA	NA	NA
		WO3 EB6	Fibra	Blanco	1	266,67	66,67
		WO4 EB7	Fragmento	Naranja	1	100,00	66,67
		WO4 EB8	NA	NA	NA	NA	NA

Sitio	Especie	ID Muestra	Forma	Color	Número	Tamaño A (μm)	Tamaño B (μm)
		WO5 EB9	Pellet	Naranja	1	100,00	0,00
		WO5 EB10	Fibra	Verde	1	233,33	33,33
			Fibra	Verde	1	200,00	33,33
	Toxopneustes roseus	WO6 ER1	NA	NA	NA	NA	NA
		WO6 ER2	NA	NA	NA	NA	NA
		WO6 ER3	NA	NA	NA	NA	NA
		WO6 ER4	NA	NA	NA	NA	NA
		WO6 ER5	Fibra	Verde	1	166,67	33,33
			Fibra	Verde	1	333,33	33,33
			Fragmento	Blanco	1	100,00	66,67
			Fragmento	Blanco	1	266,67	133,33
			Fibra	Rosado	1	300,00	33,33
			Fibra	Blanco	1	100,00	13,33
			Fibra	Blanco	1	300,00	33,33
			Fibra	Blanco	1	200,00	3,33
		WO6 ER6	Fibra	Blanco	1	150,00	25,00
			Fibra	Rosado	1	400,00	25,00
			Fragmento	Rosado	1	75,00	50,00
			Fragmento	Transparente	1	150,00	100,00
			Fragmento	Blanco	1	150,00	100,00
			Fibra	Blanco	1	650,00	25,00
			Fragmento	Naranja	1	125,00	50,00
			Fragmento	Blanco	1	650,00	25,00
		WO6 ER7	Fibra	Blanco	1	133,33	3,33
			Fibra	Naranja	1	1000,00	66,67
			Fragmento	Transparente	1	125,00	100,00
		WO7 ER8	Fragmento	Blanco	1	75,00	75,00
		WO7 ER9	Fibra	Blanco	1	800,00	33,33
		WO7 ER10	NA	NA	NA	NA	NA
		WO7 ER11	NA	NA	NA	NA	NA
		WO7 ER12	Fibra	Rosado	1	1500,00	33,33
			Fibra	Blanco	1	300,00	33,33
			Fibra	Blanco	1	300,00	16,67
			Fibra	Blanco	1	266,67	33,33
Total					611		

**Apéndice B. Análisis Pairwise-Comparación múltiple de ANOVA de una vía
de la abundancia de MPs en los sitios de muestreo.**

Sitios Contraste	Abundancia de MPs (ítems/individuo)			
	Df	Valor p	Ajuste de P	Significancia
BA - CD	152	0,271	0,996	ns
BA - CG	152	0,113	0,930	ns
BA - CO	152	0,189	0,983	ns
BA - CP	152	0,368	0,999	ns
BA - CR	152	0,505	1,000	ns
BA - EB	152	0,182	0,981	ns
BA - PE	152	0,008	0,279	ns
BA - PES	152	0,311	0,998	ns
BA - PVR	152	0,080	0,864	ns
BA - RR	152	0,752	1,000	ns
BA - SB	152	0,034	0,633	ns
BA - XA	152	0,934	1,000	ns
CD - CG	152	0,009	0,300	ns
CD - CO	152	0,018	0,456	ns
CD - CP	152	0,035	0,643	ns
CD - CR	152	0,595	1,000	ns
CD - EB	152	0,012	0,354	ns
CD - PE	152	0,135	0,954	ns
CD - PES	152	0,036	0,652	ns
CD - PVR	152	0,261	0,996	ns
CD - RR	152	0,481	1,000	ns
CD - SB	152	0,001	0,054	ns
CD - XA	152	0,229	0,992	ns
CG - CO	152	0,761	1,000	ns
CG - CP	152	0,351	0,999	ns
CG - CR	152	0,020	0,483	ns
CG - EB	152	0,620	1,000	ns
CG - PE	152	<0,0001	0,003	*
CG - PES	152	0,527	1,000	ns
CG - PVR	152	0,009	0,292	ns
CG - RR	152	0,078	0,858	ns
CG - SB	152	0,802	1,000	ns
CG - XA	152	0,125	0,944	ns
CO - CP	152	0,544	1,000	ns
CO - CR	152	0,039	0,675	ns
CO - EB	152	0,875	1,000	ns
CO - PE	152	0,000	0,007	*
CO - PES	152	0,741	1,000	ns
CO - PVR	152	0,014	0,385	ns

Sitios Contraste	Abundancia de MPs (ítems/individuo)			
	Df	Valor p	Ajuste de P	Significancia
CO - RR	152	0,129	0,948	ns
CO - SB	152	0,536	1,000	ns
CO - XA	152	0,208	0,988	ns
CP - CR	152	0,077	0,857	ns
CP - EB	152	0,594	1,000	ns
CP - PE	152	0,000	0,007	*
CP - PES	152	0,808	1,000	ns
CP - PVR	152	0,024	0,531	ns
CP - RR	152	0,246	0,994	ns
CP - SB	152	0,138	0,956	ns
CP - XA	152	0,406	1,000	ns
CR - EB	152	0,026	0,558	ns
CR - PE	152	0,029	0,592	ns
CR - PES	152	0,077	0,857	ns
CR - PVR	152	0,149	0,965	ns
CR - RR	152	0,789	1,000	ns
CR - SB	152	0,002	0,090	ns
CR - XA	152	0,440	1,000	ns
EB - PE	152	<0,0001	0,002	*
EB - PES	152	0,829	1,000	ns
EB - PVR	152	0,013	0,378	ns
EB - RR	152	0,122	0,941	ns
EB - SB	152	0,352	0,999	ns
EB - XA	152	0,202	0,987	ns
PE - PES	152	0,000	0,015	*
PE - PVR	152	0,778	1,000	ns
PE - RR	152	0,034	0,640	ns
PE - SB	152	<0,0001	<0,0001	*
PE - XA	152	0,006	0,208	ns
PES - PVR	152	0,021	0,499	ns
PES - RR	152	0,212	0,989	ns
PES - SB	152	0,307	0,998	ns
PES - XA	152	0,342	0,999	ns
PVR - RR	152	0,128	0,947	ns
PVR - SB	152	0,004	0,168	ns
PVR - XA	152	0,071	0,836	ns
RR - SB	152	0,024	0,539	ns
RR - XA	152	0,691	1,000	ns
SB - XA	152	0,037	0,658	ns

Nota. Pairwise-Comparación múltiple de ANOVA. Ajuste del valor P: método Tukey. Valor aceptado de significancia: $P > 0,05$. Df: grado de libertad, *: significativo, ns: no significativo.

Apéndice C. Análisis Kruskal-Wallis comparación múltiple de la abundancia de MPs en la especie *Eucidaris galapagensis*.

Sitios Contraste	Abundancia de MPs (ítems/individuo)			
	Df	Valor P	Ajuste de P	Significancia
BA-CD	10	0,506	0,678	ns
BA-CG	10	0,091	0,312	ns
BA-CO	10	0,188	0,413	ns
BA-CP	10	0,138	0,413	ns
BA-EB	10	0,162	0,413	ns
BA-PE	10	0,051	0,192	ns
BA-PES	10	0,699	0,854	ns
BA-PVR	10	0,184	0,413	ns
7BA-RR	10	0,862	0,930	ns
BA-XA	10	0,685	0,854	ns
CD-CG	10	0,018	0,166	ns
CD-CO	10	0,049	0,192	ns
CD-CP	10	0,030	0,179	ns
CD-EB	10	0,039	0,179	ns
CD-PE	10	0,204	0,432	ns
CD-PES	10	0,998	0,998	ns
CD-PVR	10	0,345	0,512	ns
CD-RR	10	0,437	0,632	ns
CD-XA	10	0,277	0,462	ns
CG-CO	10	0,742	0,888	ns
CG-CP	10	0,805	0,918	ns
CG-EB	10	0,770	0,900	ns
CG-PE	10	0,000	0,012	*
CG-PES	10	0,173	0,413	ns
CG-PVR	10	0,021	0,166	ns
CG-RR	10	0,174	0,413	ns
CG-XA	10	0,185	0,413	ns
CO-CP	10	0,924	0,977	ns
CO-EB	10	0,965	0,983	ns
CO-PE	10	0,001	0,016	*
CO-PES	10	0,247	0,453	ns
CO-PVR	10	0,036	0,179	ns
CO-RR	10	0,302	0,479	ns
CO-XA	10	0,341	0,512	ns
CP-EB	10	0,958	0,983	ns
CP-PE	10	0,000	0,012	*
CP-PES	10	0,218	0,443	ns
CP-PVR	10	0,029	0,179	ns
CP-RR	10	0,244	0,453	ns

Sitios Contraste	Abundancia de MPs (ítems/individuo)			
	Df	Valor P	Ajuste de P	Significancia
CP-XA	10	0,269	0,462	ns
EB-PE	10	0,001	0,013	*
EB-PES	10	0,233	0,453	ns
EB-PVR	10	0,033	0,179	ns
EB-RR	10	0,273	0,462	ns
EB-XA	10	0,305	0,479	ns
PE-PES	10	0,472	0,649	ns
PE-PVR	10	0,818	0,918	ns
PE-RR	10	0,052	0,192	ns
PE-XA	10	0,016	0,166	ns
PES-PVR	10	0,465	0,649	ns
PES-RR	10	0,631	0,807	ns
PES-XA	10	0,535	0,701	ns
PVR-RR	10	0,164	0,413	ns
PVR-XA	10	0,116	0,377	ns
RR-XA	10	0,850	0,930	ns

Nota. Dunn-Comparación múltiple de Kruskal-Wallis. Ajuste del valor P: método Benjamini-Hochberg. Valor aceptado de significancia: $P > 0,05$. Df significa grado de libertad, * significativo, ns no significativo.

Apéndice D. Análisis Pairwise-Comparación múltiple de ANOVA de una vía de la abundancia de MPs en la especie Tripneustes depressus.

Sitios Contraste	Abundancia de MPs (ítems/individuo)			
	Df	Valor P	Ajuste de P	Significancia
BA-CO	14	0,298	0,881	ns
BA-CR	14	0,011	0,094	ns
BA-RR	14	0,046	0,309	ns
BA-SB	14	0,345	0,918	ns
BA-XA	14	0,082	0,457	ns
CO-CR	14	0,041	0,277	ns
CO-RR	14	0,175	0,711	ns
CO-SB	14	0,707	0,999	ns
CO-XA	14	0,298	0,881	ns
CR-RR	14	0,906	1,000	ns
CR-SB	14	0,001	0,014	*
CR-XA	14	0,619	0,995	ns
RR-SB	14	0,071	0,414	ns
RR-XA	14	0,768	0,999	ns
SB-XA	14	0,145	0,644	ns

Nota. Pairwise-Comparación múltiple de ANOVA. Ajuste del valor P: método Tukey. Valor aceptado de significancia: $P > 0,05$. Df: grado de libertad, *: significativo, ns: no significativo.

Apéndice E. Análisis de costos unitarios de los rubros

Análisis de Costos Unitarios de Rubros				
Rubro: Recolección de muestras biológicas			Unidad:	h
Detalle: 1,1				
EQUIPOS				
Descripción	Horas-Herramientas	Costo Hora	Rendimiento	Total
Equipos de buceo	1,0000	2,54	0,8250	2,10
Perfilador CTD	1,0000	4,37	0,8250	3,61
Instrumentos de laboratorio	1,0000	1,17	0,8250	0,97
Subtotal de Equipo:				6,67
MANO DE OBRA				
Descripción	Horas-Hombre	Costo Hora	Rendimiento	Total
Tripulantes	1,0000	50,00	0,6000	30,00
Buzo científico	1,0000	45,00	0,6000	27,00
Técnico de campo	1,0000	8,00	0,6000	4,80
Subtotal de Mano de Obra:				61,80
TRANSPORTE				
Descripción	Unidad	Cantidad	Tarifa/U	Total
Transporte a los sitios de monitoreo	h	1,0000	104,24	104,24
Subtotal de Transporte:				104,24
Costo Total Directo				172,71
Indirectos y Utilidades			20%	34,54
Otros Indirectos			10%	17,27
Costo Total del Rubro				224,52
Valor Ofertado				224,52
Rubro: Pretatamiento de muestras biológicas			Unidad:	h
Detalle: 1,2				
EQUIPOS				
Descripción	Horas-Herramientas	Costo Hora	Rendimiento	Total
Nevera	1,0000	0,1100	0,8250	0,09
Instrumentos de laboratorio	1,0000	1,1700	0,8250	0,97
Subtotal de Equipo:				1,06
MANO DE OBRA				
Descripción	Horas-Hombre	Costo Hora	Rendimiento	Total
Técnico de campo	1,0000	8,00	0,6000	4,80
Subtotal de Mano de Obra:				4,80
Costo Total Directo				5,86
Indirectos y Utilidades			20%	1,17
Otros Indirectos			10%	0,59
Costo Total del Rubro				7,61
Valor Ofertado				7,61

Análisis de Costos Unitarios de Rubros

Rubro: Disección de muestras biológicas**Unidad:** h**Detalle:** 2,1

EQUIPOS

Descripción	Horas-Herramientas	Costo Hora	Rendimiento	Total
Balanza digital	1,0000	0,0500	0,6000	0,03
Instrumentos de laboratorio	1,0000	0,5000	0,6000	0,30
Subtotal de Equipo:				0,33

MANO DE OBRA

Descripción	Horas-Hombre	Costo Hora	Rendimiento	Total
Laboratorista	1,0000	5,0000	0,7700	3,85
Auxiliar de laboratorista	1,0000	2,5300	0,7700	1,95
Subtotal de Mano de Obra:				5,80

Costo Total Directo				6,13
Indirectos y Utilidades			20%	1,23
Otros Indirectos			10%	0,61
Costo Total del Rubro				7,97
Valor Ofertado				7,97

RUBRO: Procesamiento de muestras**Unidad:** h**DETALLE:** 2,2

EQUIPOS

Descripción	Horas-Herramientas	Costo Hora	Rendimiento	Total
Cámara de incubación	1,0000	0,1000	0,6000	0,06
Equipo de filtración	1,0000	0,1000	0,6000	0,06
Nevera	1,0000	0,0500	0,6000	0,03
Instrumentos de laboratorio	1,0000	0,5000	0,6000	0,30
Subtotal de Equipo:				0,45

MANO DE OBRA

Descripción	Horas-Hombre	Costo Hora	Rendimiento	Total
Laboratorista	1,0000	10,00	0,7700	7,70
Auxiliar de laboratorista	1,0000	10,00	0,7700	7,70
Subtotal de Mano de Obra:				15,40

Costo Total Directo				15,85
Indirectos y Utilidades			20%	3,17
Otros Indirectos			10%	1,59
Costo Total del Rubro				20,61
Valor Ofertado				20,61

Rubro: Análisis microscópico de las muestras**Unidad:** h**Detalle:** 2,3

EQUIPOS

Descripción	Horas-Herramientas	Costo Hora	Rendimiento	Total
Microscopio	1,0000	0,0400	0,6000	0,02
Cámara fotográfica	1,0000	0,0400	0,6000	0,02
Subtotal de Equipo:				0,05

Análisis de Costos Unitarios de Rubros

MANO DE OBRA				
Descripción	Horas-Hombre	Costo Hora	Rendimiento	Total
Laboratorista	1,0000	20,00	0,7700	15,40
Subtotal de Mano de Obra:				15,40
Costo Total Directo				15,45
Indirectos y Utilidades			20%	3,09
Otros Indirectos			10%	1,54
Costo Total del Rubro				20,08
Valor Ofertado				20,08

Rubro: Control de calidad de datos

Detalle: 3,1

Unidad: h

EQUIPOS				
Descripción	Horas-Herramientas	Costo Hora	Rendimiento	Total
Insumos de oficina	1,0000	0,0500	/	0,05
Subtotal de Equipo:				0,05

MANO DE OBRA				
Descripción	Horas-Hombre	Costo Hora	Rendimiento	Total
Técnico de servicios estadísticos	1,0000	3,65	0,7700	2,81
Subtotal de Mano de Obra:				2,81
Costo Total Directo				2,86
Indirectos y Utilidades			20%	0,57
Otros Indirectos			10%	0,29
Costo Total del Rubro				3,72
Valor Ofertado				3,72

Rubro: Procesamiento de datos

Detalle: 3,2

Unidad: h

MANO DE OBRA				
Descripción	Horas-Hombre	Costo Hora	Rendimiento	Total
Técnico servicios GIS	1,0000	3,65	0,7700	2,81
Técnico servicios estadísticos	1,0000	3,65	0,7700	2,81
Subtotal de Mano de Obra:				5,62
Costo Total Directo				5,62
Indirectos y Utilidades			20%	1,12
Otros Indirectos			10%	0,56
Costo Total del Rubro				7,31
Valor Ofertado				7,31

Rubro: Elaboración de reporte

Detalle: 3,3

Unidad: h

MANO DE OBRA				
Descripción	Horas-Hombre	Costo Hora	Rendimiento	Total
Técnico	1,0000	3,65	0,7700	2,81
Subtotal de Mano de Obra:				2,81

Análisis de Costos Unitarios de Rubros

Costo Total Directo		2,81
Indirectos y Utilidades	20%	0,56
Otros Indirectos	10%	0,28
Costo Total del Rubro		3,65
Valor Ofertado		3,65

Apéndice F. Protocolo de extracción e identificación de microplásticos en erizos de mar



Parque Nacional
GALÁPAGOS
Ecuador

PARQUE NACIONAL GALÁPAGOS

PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE MICROPLÁSTICOS EN ERIZOS DE MAR

1. INTRODUCCION

Al realizar un muestro es indispensable conocer claramente el objetivo del mismo, ya que en base a esto se definen las condiciones y recursos a emplear (materiales, procedimiento, manejo de muestras, traslado y conservación). Además, se deberá planificar previamente la disposición del laboratorio donde se realizará el análisis.

El muestreo debe realizarse con el debido cuidado, la persona encargada de las muestras y traslado hasta el laboratorio es la responsable de la validez de los resultados, por lo cual se debe asegurar que la muestras sea representativa, que no se deteriore ni se contamine hasta su procesamiento.

2. MUESTREO BIOLÓGICO

2.1. Materiales de muestreo

- ✓ Hoja de inventario de muestras (incluida en anexos)
- ✓ Agua destilada
- ✓ Bolsas ziploc
- ✓ Bolsas de malla
- ✓ Cubos de 5-8 L
- ✓ Cámara o teléfono móvil
- ✓ Utilitarios de oficina
- ✓ Perfilador CTD
- ✓ Equipo de buceo

2.2. Identificación de los sitios de la toma de la muestra

1. Rellenar hoja de inventario de muestras
2. Nombre del sitio (Sitio), y un código unívoco (ID Sitio), con un GPS determinar la georreferenciación (Latitud y Longitud)
3. Condiciones de monitoreo (Fecha y Hora)
4. Nombre de quien realizó el monitoreo
5. Observaciones que se consideren relevantes

2.3. Identificación de las muestras biológica

1. Rellenar hoja de inventario de muestras
2. Rotular los envases o bolsas donde se colocarán las muestras con la identificación del sitio (ID Sitio), la fecha y hora.
3. Nombre de la especie (Especie)

2.4. Recolección de muestras biológicas

1. Medir las condiciones de cada sitio con el perfilador CTD (temperatura y salinidad)
2. Realizar el buceo en cada sitio de muestreo, entre los 10 y 25 metros de profundidad
3. Recolectar manual y aleatoriamente una muestra de 10 individuos de erizos de mar en un radio de 50 metros del sitio de monitoreo y colocarlos en las bolsas de malla.

2.5. Conservación de las muestras

1. Una vez abordado, colocar los erizos de mar en cubos con agua hasta su posterior limpieza, mantener una adecuada asepsia para evitar la contaminación accidental de las muestras.
2. Colocar los erizos en sus respectivas bolsas rotuladas verificando que la información es correcta
3. Mantener en congelación las muestras hasta su desembarque y procesamiento

3. PROCESAMIENTO DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

3.1. Materiales de laboratorio

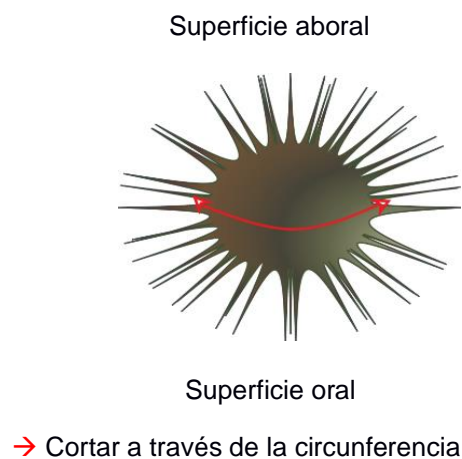
- ✓ Hoja de registro de laboratorio (incluida en anexos)
- ✓ Guantes de nitrilo
- ✓ Papel aluminio
- ✓ Filtros de jeringa Sartorius RC (0,20 µm)
- ✓ Equipo de disección
- ✓ Agitador de vidrio
- ✓ Tubos de ensayo de vidrio
- ✓ Gradilla
- ✓ Placas Petri
- ✓ Portaobjetos (75x25 mm)
- ✓ Vasos de precipitación de vidrio (50ml, 250 ml y 500 ml)
- ✓ Filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F (diámetro 25 mm; poro 0,7 µm)
- ✓ Agua destilada
- ✓ Hidróxido de potasio (KOH; 10%)
- ✓ Cloruro de sodio (NaCl; 50%)
- ✓ Rojo de Nilo
- ✓ Balanza digital de precisión
- ✓ Luz Ultravioleta
- ✓ Sistema de filtración al vacío
- ✓ Estereomicroscopio
- ✓ Congelador
- ✓ Estufa de secado
- ✓ Cámara digital

3.2. Disección de los erizos de mar y extracción del tracto digestivo

1. Para evitar la contaminación de las muestras de los erizos de mar, se debe enjuagar con agua destilada todos los instrumentos que van a estar en contacto con las muestras como el equipo de disección, tubos de ensayo, envases, etc. Usar delantal de laboratorio y guantes de nitrilo para limitar contaminación por microplásticos y fibras presentes en el lugar de trabajo. Cubrir todos los recipientes antes y después de uso con papel aluminio.

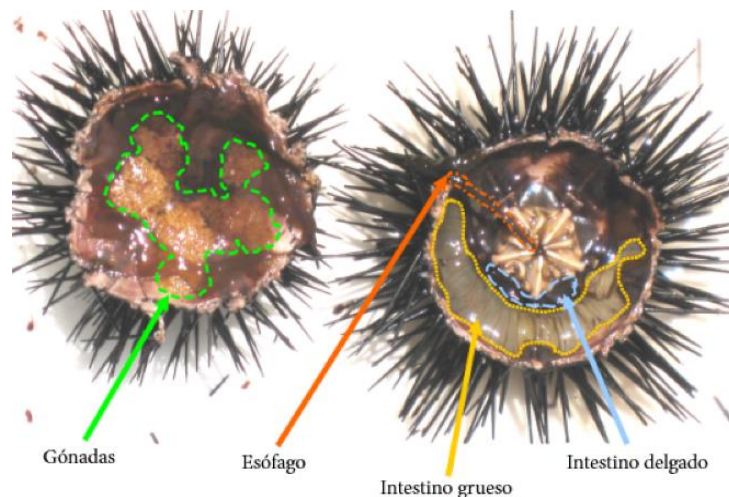
2. Rellenar la hoja de registro de laboratorio con cada erizo que se procese, colocar el nombre del sitio de donde se extrajo la especie (Sitio), el nombre de la especie (Especie), y asignar un código unívoco a cada muestra de erizo de mar (ID Muestra).
3. Tomar el peso húmedo de cada erizo, y registrarlo en la hoja de registro de laboratorio (Peso gr).
4. Diseccionar cada erizo de uno en uno, utilizar una bandeja de plástico limpia y cubrirla con papel aluminio para la disección.
5. Retirar las espinas del exoesqueleto, longitudinalmente por donde se va a realizar el corte para una mayor facilidad.
6. Con unas tijeras afiladas cortar a través de la circunferencia del erizo (Figura 1), no realizar el corte demasiado profundo en la cavidad del cuerpo para evitar cortar los órganos internos.

Figura 1. Corte longitudinal del erizo de mar



7. Separar con cuidado las dos mitades para no dañar los órganos internos.
8. Con ayuda de unas pinzas limpias retirar con cuidado el tracto digestivo, que incluye el esófago, estómago, intestino grueso y delgado y el recto (Figura 2).

Figura 2. Tracto digestivo del erizo de mar



9. Colocar el tracto digestivo en un tubo de ensayo, y rotularlo con la identificación de la muestra (ID Muestra).

3.3. Extracción de microplásticos del tracto digestivo del erizo de mar

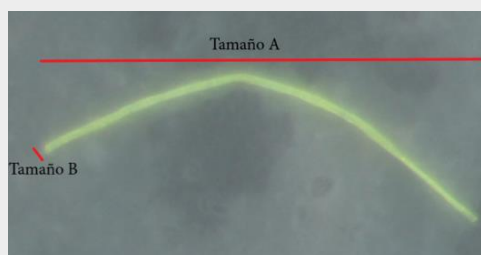
1. Preparar una solución de hidróxido de potasio al 10% y una solución de cloruro de sodio en una relación v 1:2 con agua destilada.
2. Filtrar todos los líquidos a utilizar en el proceso (solución de hidróxido de potasio, agua destilada y solución de cloruro de sodio) con filtros Sartorius RC con un tamaño de poro de 0,20 µm.
3. En cada tubo con el tejido del tracto digestivo agregar la solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir el tejido por completo para su eliminación.
4. Agitar la muestra aproximadamente por 5 min para mezclar completamente.
5. Colocar los tubos de ensayo en una estufa durante 24-48 h a 60°C.
6. Sacar los tubos de ensayo de la estufa, y trasvasar cada muestra a un vaso de precipitado y agregar 20 ml de la solución saturada de cloruro de sodio NaCl (relación 1:2 de NaCl y agua destilada) para hacer flotar los microplásticos y dejar reposar por 10 minutos.
7. Repetir el paso anterior 4 veces por cada muestra para asegurar una máxima recuperación de microplásticos.
8. Colocar el líquido sobrenadante de cada repetición en el sistema de filtración al vacío, teniendo cuidado que los sedimentos no se resuspendan e introduzcan en el sistema.
9. Filtrar el líquido utilizando filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F con un diámetro de 25 mm y tamaño de poro de 0,7 µm.
10. Luego de filtrar cada muestra, agregar unas gotas de Rojo de Nilo en el filtro para la teñir los microplásticos.
11. Colocar cada filtro en medio de dos portaobjetos para su posterior análisis.

4. ANÁLISIS DE MICROPLÁSTICOS

4.1. Identificación de los microplásticos

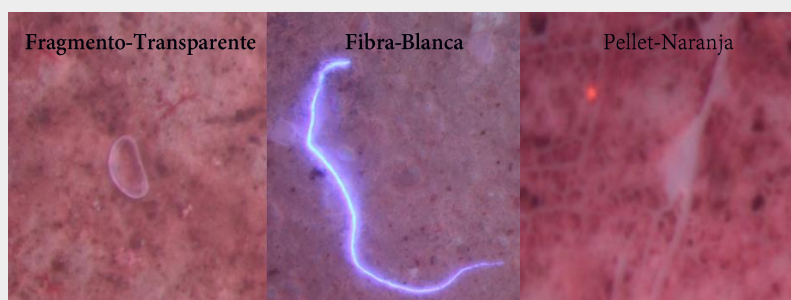
1. Colocar cada portaobjetos con el filtro que contiene los microplástico bajo un estereomicroscopio acoplado con una fuente de luz ultravioleta para mejorar la visualización dado que el Rojo de Nilo es fluorescente.
2. Utilizar gradualmente las magnificaciones 8X, 10X, 20X, 30X y 40X para la identificación de los microplásticos (Magnificación).
3. Rellenar la hoja de registro de laboratorio, tabular el número de veces que observamos un microplástico con las mismas características en cuanto a la forma, color y tamaño (Número).
4. Medir con la regla de calibración del estereomicroscopio el tamaño de la partícula. Largo (Tamaño A) y ancho (Tamaño B), en el caso de ser un pellet se registra el diámetro como Tamaño A (Figura 3).

Figura 3. Medidas del microplástico



5. Registrar la morfología del microplástico (Forma) si es fibra, pellet o fragmento y su color (Figura 4).

Figura 4. Morfología de los microplásticos



5. ANEXOS

5.1. Hoja de inventario de muestras

	Fecha	Hora	Sitio	Latitud	Longitud	ID Sitio	Especie
1							
2							
3							
4							
5							
Encargado del monitoreo:							
Observaciones:							

5.2. Hoja de registro de laboratorio

	Sitio	Especie	ID Muestra	Peso (gr)	Forma	Color	Número	Magnificación	Tamaño A	Tamaño B
1										
2										
3										
4										
5										
Encargado del análisis:										
Observaciones:										