

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

Descripción y cuantificación de microplásticos en las colonias de lobos marinos de Galápagos presentes en el oeste del archipiélago

Walter David Vivas Vaca

Biología

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito
para la obtención del título de
Biólogo

Quito, 18 de diciembre 2024

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ

Colegio de Ciencias Biológicas y Ambientales

**HOJA DE CALIFICACIÓN
DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Descripción y cuantificación de microplásticos en las colonias de lobos
marinos de Galápagos presentes en el oeste del archipiélago**

Walter David Vivas Vaca

Director: Diego Páez-Rosas, PhD

Quito, 18 de diciembre 2024

© DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Walter David Vivas Vaca

Código: 00321903

Cédula de identidad: 1754767257

Lugar y fecha: Quito, 18 de diciembre 2024

ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN

Nota: El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

UNPUBLISHED DOCUMENT

Note: The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

RESUMEN

Se ha demostrado que la contaminación plástica afecta principalmente a los ecosistemas marinos, ya que la fragmentación de plásticos de mayor tamaño genera partículas denominadas microplásticos (<5 mm), las cuales están presentes en grandes cantidades en los océanos del planeta. Los grandes depredadores marinos, como el lobo marino de Galápagos (*Zalophus wollebaeki*), ingieren microplásticos, de manera indirecta a través de la transferencia en la cadena trófica, lo cual se ha convertido en un problema de conservación. El presente estudio se centra en determinar la prevalencia de microplásticos en las colonias de *Z. wollebaeki* presentes en el oeste del archipiélago de Galápagos (islas Fernandina e Isabela). Se recolectaron muestras de excrementos frescos provenientes de hembras adultas (n=76), las cuales fueron sometidas a un protocolo de digestión química, seguido de caracterización física de las partículas y un análisis espectroscópico (μ FT-IR) para identificar los tipos de polímeros. Se hallaron un total de 67 partículas de microplásticos, correspondientes a ocho tipos diferentes de polímeros: celofán, celulosa, PA, PET-I, PE-PP, PET, PP y PVAc-PE, de las cuales el 85% de estas partículas tenía un origen antropogénico, logrando evidenciar una alta prevalencia de fibras sintéticas (86,04%) con longitudes que oscilaron entre 0,09 y 3,37 mm. Se observaron diferencias en el tamaño de los microplásticos entre las colonias y un predominio de colores de negro (46,28%) y azul (43,28%). Los resultados de este trabajo generan una línea base información para esta zona del archipiélago, y pueden ser considerados como un indicador de contaminación para esta especie en peligro de extinción considerada centinela del ecosistema en la región.

Palabras clave: microplásticos, *Zalophus wollebaeki*, red trófica, especie centinela, Polímeros sintéticos.

ABSTRACT

Plastic pollution has been shown to primarily affect marine ecosystems, as the fragmentation of larger plastics generates particles called microplastics (<5 mm), which are present in large quantities in the world's oceans. Large marine predators, such as the Galapagos sea lion (*Zalophus wollebaeki*), ingest microplastics indirectly through transfer in the food chain, which has become a conservation issue. The present study focuses on determining the prevalence of microplastics in *Z. wollebaeki* rookeries present in the west of the Galapagos archipelago (Fernandina and Isabela islands). Fresh scats samples were collected from adult females (n=76), which were subjected to a chemical digestion protocol, followed by physical characterization of the particles and spectroscopic analysis (μ FT-IR) to identify the types of polymers. A total of 67 particles of microplastics were found, corresponding to eight different types of polymers: cellophane, cellulose, PA, PET-I, PE-PP, PET, PP and PVAc-PE, of which 85% of these particles had an anthropogenic origin, showing a high prevalence of synthetic fibers (86.04%) with lengths ranging from 0.09 to 3.37 mm. Differences in the size of microplastics were observed between colonies and a predominance of black (46.28%) and blue (43.28%) colors. The results of this work generate a baseline of information for this area of the archipelago and can be considered as an indicator of contamination for this endangered species considered a sentinel of the ecosystem in the region.

Keywords: microplastics, *Zalophus wollebaeki*, trophic web, sentinel species, synthetic polymers.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	10
METODOLOGÍA	12
Recolección de muestras	12
Separación de Microplásticos (Mps)	13
Protocolo de control de calidad	14
Análisis para identificación de microplásticos	15
Correcciones con controles.....	15
Análisis estadísticos.....	16
RESULTADOS	17
Cuantificación y caracterización de partículas	17
Caracterización química mediante espectrometría μ FT-IR.....	20
Prevalencia de Mps.....	21
DISCUSIÓN	23
Morfología de los microplásticos	23
Predominancia de colores	23
Tamaño de los microplásticos	24
Identificación química y tipos de polímeros	25
Prevalencia y vías de consumo de microplásticos.....	27
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30
ANEXO A: FOTOS DE TIPO DE MICROPLÁSTICOS (MPS)	35
ANEXO B: EJEMPLO MAPA DE ESPECTROMETRÍA UFT-IR OMNIC-PICTA ...	36

ÍNDICE DE TABLAS

- Tabla 1.** Abundancia de microplásticos en muestras de heces de lobos marinos del Oeste del archipiélago. Se muestra el número total de muestras analizadas (n), y el conteo de los tipos de microplásticos (fibras, fragmentos y films) y el total de microplásticos por sitio.....**17**
- Tabla 2.** Comparaciones múltiples entre sitios de muestreo al oeste del archipiélago. Se presentan los valores de p ajustados obtenidos mediante una prueba ANOVA y la prueba post hoc de Tukey HSD. Los valores marcados con (*) indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los sitios.....**19**
- Tabla 3.** Prevalencia de MPs en las tres colonias de LMG del oeste de las Galápagos.....**21**

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Colonias reproductivas de LMG estudiadas en el oeste del archipiélago. Los puntos de Caleta Webb y Puerto Villamil corresponden a Isabela, y el punto de Cabo Douglas corresponde a Fernandina.....	13
Figura 2. Barplot de forma de diferentes tipos de microplásticos o partículas (fibras, fragmentos y films) encontrados por sitio.....	17
Figura 3. Barplot de forma de diferentes tipos de microplásticos o partículas (fibras, fragmentos y films) encontrados por sitio.....	18
Figura 4. Boxplot y violin plot de la longitud (en mm) de los microplásticos (fibras, fragmentos y films) en tres sitios de muestreo, el signo de la X refleja la media de los valores de cada sitio.....	19
Figura 5. Barplot de los colores de los microplásticos en las diferentes colonias de LMG.....	20
Figura 6. Barplot del tipo de microplásticos y su frecuencia en las diferentes colonias de LMG.....	21
Figura 7. Barplot de la prevalencia de microplásticos (MPs) en el LMG en las tres colonias ubicadas en diferentes sitios de las Islas Galápagos.....	22

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población humana a nivel global está haciendo que la gestión de residuos se convierta en un desafío cada vez más significativo (Gola et al., 2021). Para los ecosistemas marinos, los plásticos (i.e., polímeros sintéticos) son una de las principales amenazas (Horton & Barnes, 2020), con un estimado de producción de 300 millones toneladas por año (Horton y Barnes, 2020; Yu y Singh, 2023). La mayoría de estos residuos no se procesan para ser reutilizados ni reciclados, y al menos el 10% termina persistiendo en los ecosistemas marinos por su gran durabilidad (Pires et al., 2022). Los plásticos sintéticos están formados por cadenas largas de moléculas poliméricas que se crean de materia prima orgánicas e inorgánica obtenida de las industrias petrolera, de gas natural, y de carbón, como silicio, carbono, hidrogeno, cloruro y oxígeno (Shah et al., 2008). Actualmente, alrededor del 90% de la producción global de plásticos está constituida por los siguientes polímeros sintéticos: polietileno (PE), polipropileno (PP), cloruro de polivinilo (PVC), poliestireno (PS) y tereftalato de polietileno (PET) (Andrady y Neal, 2009; Ivar Do Sul & Costa, 2014). Sin embargo, los plásticos también pueden estar compuestos por biopolímeros naturales (obtenidos a partir de macromoléculas orgánicas) y sintéticos (obtenidos de ácido poliláctico y polihidroxialcanoato) (Rujnić-Sokele & Pilipović, 2017).

Existen varios procesos de degradación química, mecánica, y biológica, que reducen el tamaño de los residuos plásticos y forman micro partículas (Amelia et al., 2021); entre estas están los microplásticos (MPs), que son residuos fragmentados con un tamaño menor a 5 mm (Amelia et al., 2021). Generalmente se pueden clasificar por su morfología, densidad, tamaño, y composición química (Amelia et al., 2021). Hay dos vías de producción de MPs: (1) primaria, que son aquellos directamente fabricados en tamaños pequeños para ciertos productos

cosméticos y de limpieza, y (2) secundaria, que son el resultado de la degradación de plásticos más grandes (Amelia et al., 2021; Bakaraki-Turan et al., 2021).

Los MPs están altamente biodisponibles en los ecosistemas marinos (Bakaraki Turan et al., 2021). Uno de los grupos más vulnerable a ingerir estos contaminantes son los mamíferos marinos (Moore, 2008; Zantis et al., 2021). Dependiendo de las estrategias de alimentación de cada grupo existen dos rutas de ingestión de MPs: (1) directa, cuando se los ingiere por su presencia en la columna de agua, e (2) indirecta, mediante el consumo de presas contaminadas (transferencia trófica) (Gola et al., 2021; Moreira-Mendieta et al., 2023; Ortega-Borchardt et al., 2023).

La contaminación plástica está presente incluso en ecosistemas prístinos, como las Islas Galápagos (Muñoz-Pérez et al., 2023), donde habita un pinnípedo endémico y en peligro de extinción: el lobo marino de Galápagos (LMG, *Zalophus wollebaeki*) (Páez-Rosas et al., 2021). Esta especie ha enfrentado una reducción poblacional de alrededor del 60% en las últimas cuatro décadas (Riofrío-Lazo et al., 2017; Trillmich, F., 2014), debido a diversas amenazas, como son enfermedades emergentes, especies invasoras, cambio climático, y contaminación por desechos marinos (Denkinger et al., 2015; Gregory et al., 2023; Riofrío-Lazo et al., 2017; Trillmich, F., 2014; Moreira-Mendieta et al., 2023). Se ha evidenciado que los MPs ocurren en las colonias de LMG del sureste del archipiélago (Moreira-Mendieta et al., 2023), probablemente debido a que bioacumulan estos contaminantes mediante transferencia trófica. Además, se identificaron que consumen once polímeros distintos, y que su clasificación varía según la colonia, lo cual podría estar asociado a que el LMG muestra flexibilidad trófica según donde habita (Moreira-Mendieta et al., 2023).

Un factor clave para tener en cuenta para el estudio de MPs es la contaminación proveniente de las corrientes marinas (Jones et al., 2021). El oeste de las islas Galápagos (islas

Fernandina e Isabela), está influenciado por la corriente de Cromwell, que provee agua fría y rica en nutrientes para facilitar la alta biodiversidad en esa región del archipiélago; pero de la que se desconoce si influye en la transportación de MPs (Ceballos, 2024; Jones et al., 2021).

El objetivo principal es evaluar la contaminación por microplásticos en colonias reproductivas de *Zalophus wollebaeki* en el oeste del archipiélago de Galápagos. (Isabela y Fernandina) en las Islas Galápagos, los objetivos secundarios son a) cuantificar los MPs presentes en cada colonia. (MPs). b) Determinar las características fisicoquímicas de los MPs y evaluar su composición. c) Analizar la prevalencia de MPs en cada colonia reproductiva. Los datos obtenidos contribuirán al monitoreo de la contaminación plástica y proporcionarán un marco de referencia para investigaciones futuras. Además, servirán como base para promover políticas de conservación dentro del Parque Nacional Galápagos.

METODOLOGÍA

Recolección de muestras

Se recolectaron 76 muestras de excretas de individuos adultos de LMG en Caleta Webb (n=16), Puerto Villamil (n=30) y Cabo Douglas-Fernandina (n=30) (Figura 1). El muestreo se realizó buscando excretas frescas *in situ*. Las muestras se recogieron coincidiendo con las horas de descanso de LMG al amanecer (06h00) y atardecer (17h00). Para la recolección, se utilizaron instrumentos no plásticos (de metal o madera), previamente desinfectados con alcohol al 70%. En caso de que las muestras contuvieran arena, se removía la mayor cantidad posible utilizando materiales no plásticos para su posterior almacenamiento en sobres de papel aluminio. Si las excretas se encontraban sobre rocas, se almacenaban directamente en los sobres de papel aluminio etiquetados con la localidad y el número de individuo.

Posteriormente, las muestras se congelaron a -20°C hasta su procesamiento en los laboratorios del GSC-USFQ.

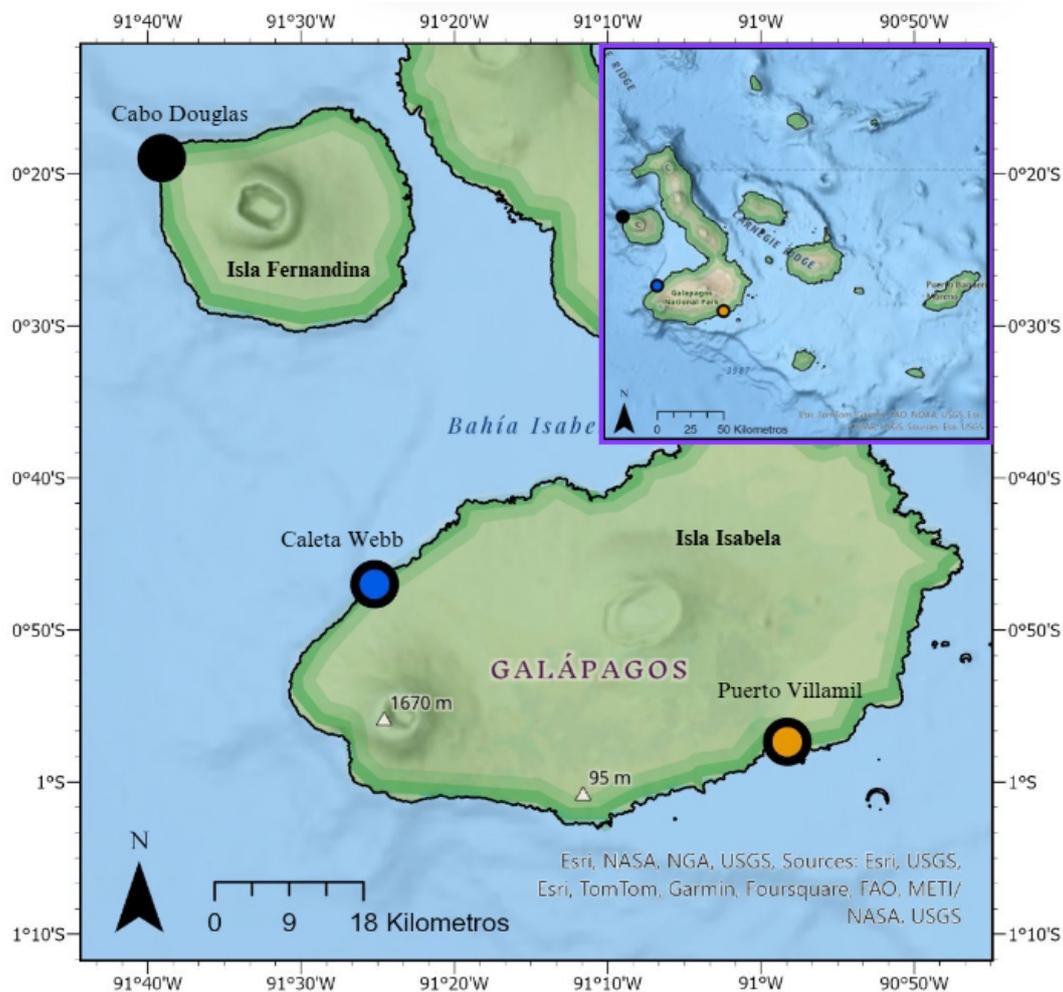


Figura 1. Colonias reproductivas de LMG estudiadas en el oeste del archipiélago. Los puntos de Caleta Webb y Puerto Villamil corresponden a Isabela, y el punto de Cabo Douglas corresponde a Fernandina.

Separación de Microplásticos (Mps)

Se siguió un protocolo de digestión química propuesto en diferentes estudios (Lusher & Hernandez-Milian, 2018; Moreira-Mendieta et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2020). Este consistió en remojar aproximadamente 15g de excretas en un vaso de precipitación con 100ml de agua destilada, por 24h. Posteriormente, la muestra remojada fue tamizada con un tamiz de 4mm, con una espátula metálica para facilitar el paso de todo el contenido a través del tamiz.

Se enjuagó el tamiz con agua destilada para asegurar que no se perdieran los Mps. Se prestó especial atención a que los tamices estuvieran completamente limpios, sin residuos de trabajos previos. El material no plástico recolectado del tamiz fue separado y almacenado, mientras que los meso- y macroplásticos, junto con restos de alimentos (i.e., otolitos, huesos, conchas, crustáceos, gusanos, picos de cefalópodos y parásitos) se almacenaron en tubos de vidrio con etanol al 70% para su posterior identificación (Lusher & Hernandez-Milian, 2018).

La solución restante fue homogeneizada con la espátula, y se tomó una alícuota de 50 ml, la cual se transfirió a frascos Boeco de 500 ml. A esta solución se le añadieron 150 ml de KOH al 30 % y 10 ml de H₂O₂ al 25 %, para proceder con la digestión química. Las muestras se incubaron a 50 °C durante 72 horas, tiempo en el que la solución se volvió transparente o de color amarillo claro, indicando que todo el material biológico había sido digerido (Ortega-Borchardt et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2018, 2020; Zhou et al., 2022). Una vez que la solución se enfrió, se procedió a filtrarla al vacío utilizando filtros de policarbonato (Sterlitech-0.020mm). Los filtros se depositaron en cajas Petri rotuladas y selladas con Parafilm.

Protocolo de control de calidad

Se implementó un protocolo de control de calidad en todas las etapas que involucraban las muestras, especialmente en el laboratorio. Durante la recolección de muestras en el campo, se utilizaron controles ambientales (filtros) en áreas en las cuales se realizaba la colección de muestras para detectar posibles contaminaciones por fibras transportadas por el aire, pero se descartaron debido a que se trabajó únicamente con el interior de las muestras.

En el laboratorio, antes de procesar las muestras, se forró la campana de extracción con papel aluminio para reducir la posible contaminación. Desde la preparación de reactivos hasta la filtración, todo el procedimiento se realizó dentro de una sorbona de flujo laminar. Se colocaron filtros expuestos en las áreas de trabajo para capturar posibles contaminantes del

entorno por cada 10 muestras que se procesaban. Además, todos los materiales utilizados, como recipientes de vidrio, pinzas e instrumentos se lavaron tres veces y se enjuagaron con agua destilada filtrada.

Las soluciones de KOH y H₂O₂ se filtraron al vacío con filtros antes de la digestión de los excrementos. También se incluyeron controles de reactivos para detectar posibles contaminaciones por fibras durante el proceso de digestión.

Análisis para identificación de microplásticos

Los filtros fueron analizados en un estereomicroscopio en busca de posibles candidatos a microplásticos, los cuales se clasificaron como fibras, fragmentos y films. A los microplásticos potenciales encontrados se les registraron datos sobre su coloración y la longitud de cada fragmento, fibra o film.

Después de la caracterización inicial, se procedió al análisis de la composición química utilizando espectroscopía de micro-transformada de Fourier por infrarrojos (μ FT-IR) en un espectrómetro PerkinElmer Frontier. Los datos obtenidos fueron procesados con el programa Omnic Picta, empleando una biblioteca compuesta por 14 paquetes específicos para el análisis de microplásticos, proporcionada por los Centros Científicos y Tecnológicos de la Universidad de Barcelona. Este enfoque permitió identificar ocho tipos específicos de polímeros en las muestras analizadas. Cabe destacar que, para validar la identificación de los polímeros, se estableció un criterio de similitud mínima del 60% entre las muestras y los espectros de referencia de la biblioteca.

Correcciones con controles

Para corregir la contaminación, se utilizaron los datos obtenidos de los controles. Se identificaron tres tipos de fibras: celofán, celulosa, y polietileno. Para realizar las correcciones antes de los análisis, se procedió a calcular la media de cada uno de los polímeros encontrados

en los controles de procedimiento, controles de recolección de muestras y controles de reactivo, utilizando la fórmula: $X_{\text{polímero}} = X_{\text{CR}} + X_{\text{CP}}$

Donde $X_{\text{polímero}}$ es el promedio general de cada polímero hallado en los tres controles; X_{CR} es el promedio de cada polímero hallado en los en los controles de reactivos; y X_{CP} es el promedio de cada polímero hallado en los controles de procedimientos que se realizaron durante el procesamiento de muestras y la caracterización química) en los laboratorios de la Universidad San Francisco de Quito y la Universidad de Barcelona. Los controles de reactivo y procedimiento se cambiaron cada 10 juegos de muestras.

En base a esto, se eliminó una fibra de celulosa (n=41) y una fibra de celofán (n=55) por muestra para corregir la contaminación externa de fibras; las fibras de polietileno halladas en los controles no fueron significativas, por lo que no se manipularon los valores de fibras de este polímero en las muestras.

Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron en RStudio, versión 4.4.1. Se aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para verificar la normalidad de los datos. Al comprobar que no se cumplía esta suposición, se procedió a normalizar los datos utilizando el paquete bestNormalize. Luego, se llevó a cabo un ANOVA de una vía para determinar si existen diferencias significativas en el largo de los MPs en los distintos sitios. Finalmente, todos los gráficos se generaron con ggplot2.

RESULTADOS

Cuantificación y caracterización de partículas

Se recuperaron 67 partículas de 76 muestras de heces fecales en los tres sitios de muestreo (Cabo Douglas, Caleta Webb y Puerto Villamil). El tipo de Mps que predominó en los tres sitios fueron las fibras (86.04%, $\bar{x} = 19 \pm 21.22$), seguido de los fragmentos (8.77%, $\bar{x} = 19 \pm 21.22$) y los films (5.26%, $\bar{x} = 19 \pm 21.22$) (Tabla 1 y Figura 2).

Tabla 1. Abundancia de microplásticos en muestras de heces de lobos marinos del Oeste del archipiélago. Se muestra el número total de muestras analizadas (n), y el conteo de los tipos de microplásticos (fibras, fragmentos y films) y el total de microplásticos por sitio.

Sitios	Isla	n	Fibras	Fragmentos	Films	Total
Cabo Douglas	Fernandina	30	15	0	1	16
Puerto Villamil	Isabela	30	27	5	2	34
Caleta Webb	Isabela	16	17	0	0	17
Total		76				67

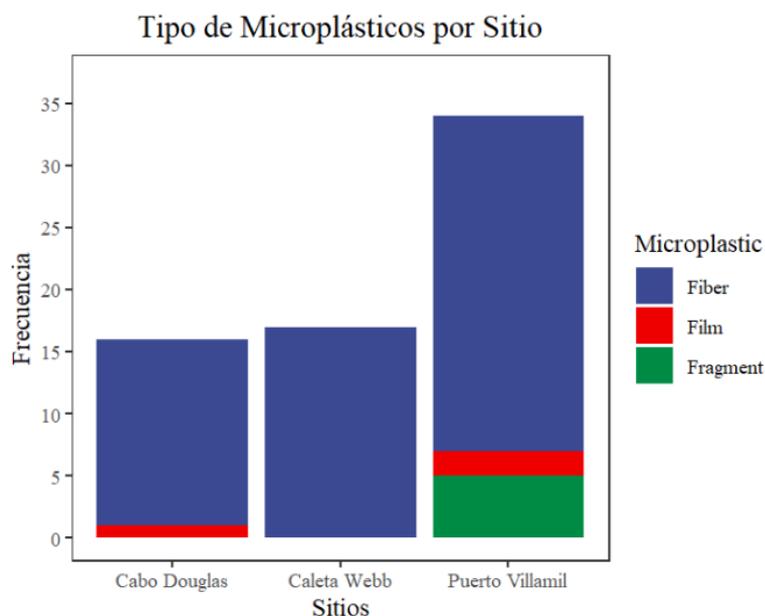


Figura 2. Barplot de tipos diferentes de microplásticos o partículas (fibras, fragmentos y films) encontrados por sitio.

La longitud de las partículas osciló entre 0.09 y 3.37 mm ($\bar{x} = 1.11 \pm 0.81$) (Figura 3). Se observaron diferencias en la abundancia de partículas entre sitios ($F_{2, 64} = 4.38, p = 0.017$). Donde Puerto Villamil y Cabo Douglas marcaron la significancia ($p < 0.05$) (Tabla 2 y Figura 4). Por último los colores más predominantes en todas las colonias fueron el negro (46.28%) y azul (43.28%) (Figura 5).

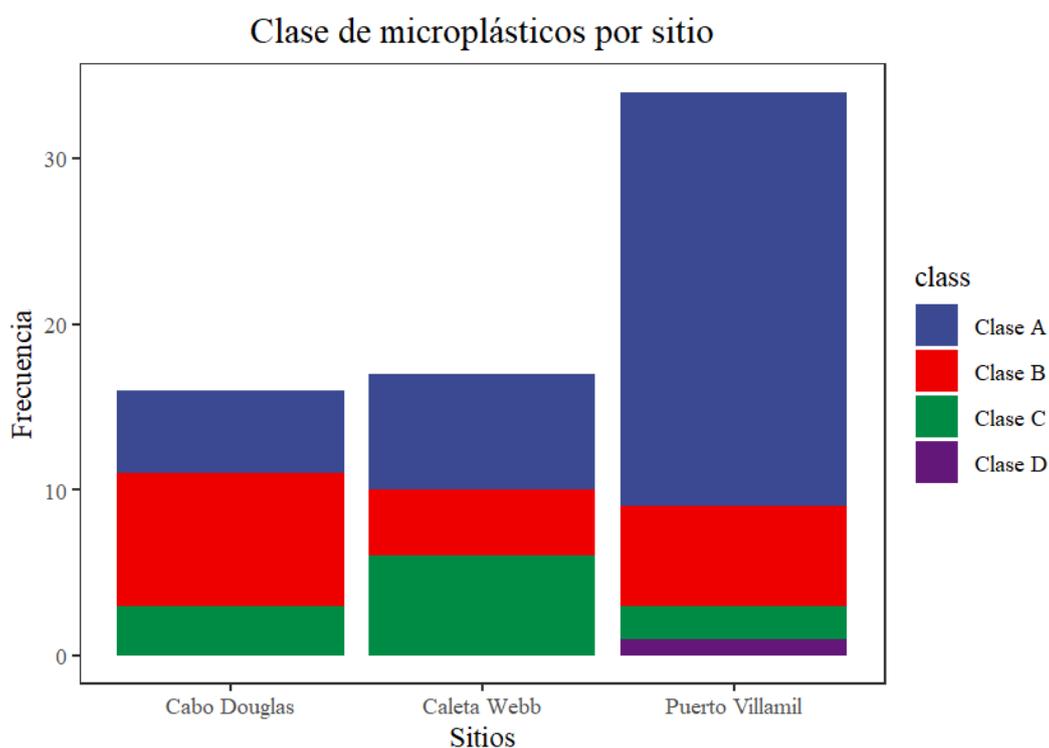


Figura 3. Barplot de la diferencia de composición de tamaños agrupados de MPs entre colonias de LMG separados por clases; Clase A*: 20 a 1000 μm , Clase B: 1001 a 2000 μm Clase C: 2001 a 3000 μm Clase D: 3001 a 4000 μm Clase E: 4001 a 5000 μm

Tabla 2. Comparaciones múltiples entre sitios de muestreo al oeste del archipiélago. Se presentan los valores de p ajustados obtenidos mediante una prueba ANOVA y la prueba post hoc de Tukey HSD. Los valores marcados con (*) indican diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los sitios.

Sitios	Cabo Douglas	Puerto Villamil	Caleta Webb
Cabo Douglas	-	0.0321*	0.8861
Puerto Villamil	0.0321*	-	0.0737
Caleta Webb	0.8861	0.0737	-

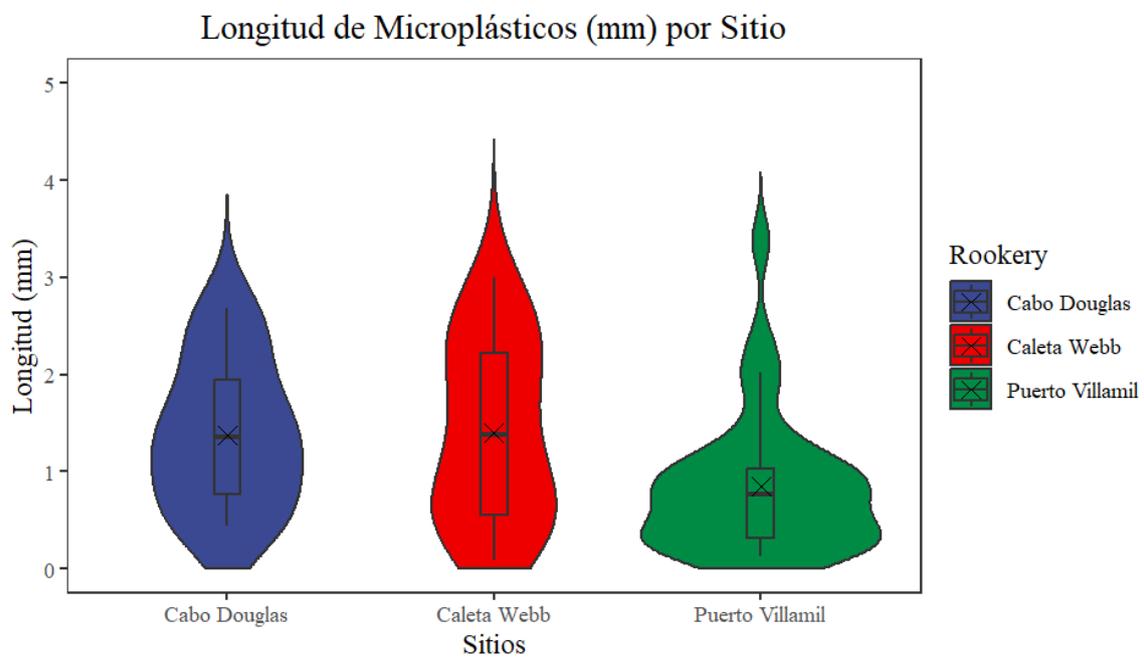


Figura 4. Boxplot y violin plot de la longitud (en mm) de los microplásticos (fibras, fragmentos y films) en tres sitios de muestreo, el signo de la X refleja la media de los valores de cada sitio.

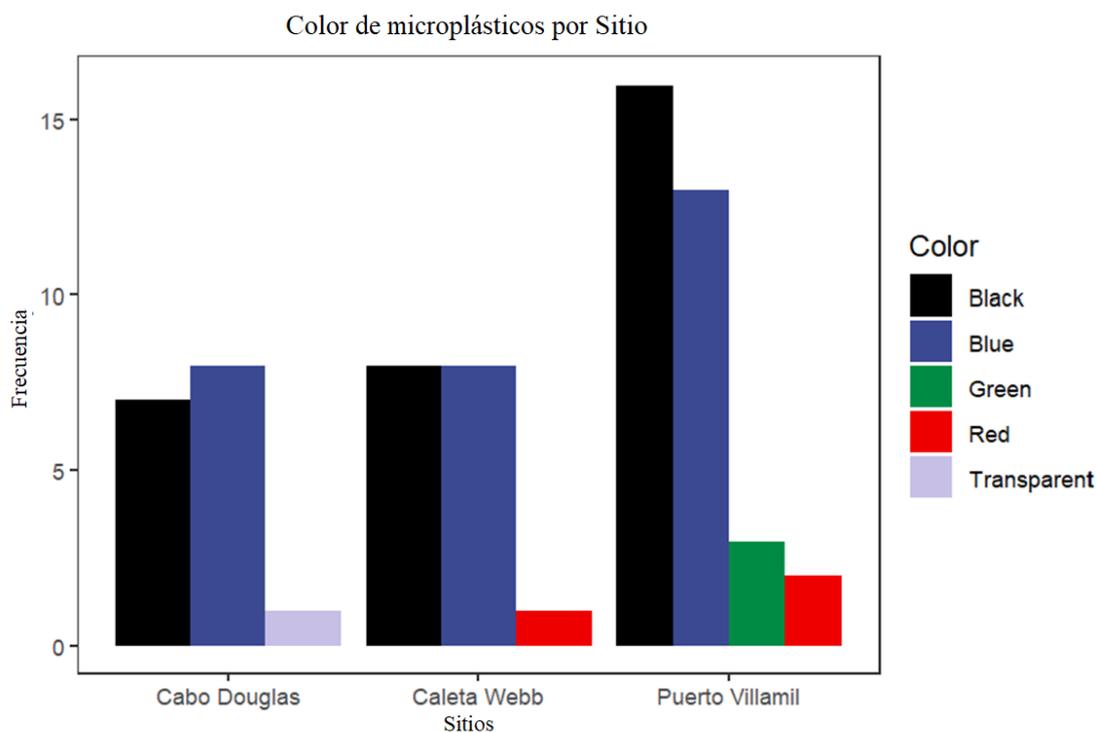


Figura 5. Barplot de los colores de los microplásticos en las diferentes colonias de LMG

Caracterización química mediante espectrometría μ FT-IR

Se caracterizaron químicamente 67 partículas mediante espectrometría μ FT-IR, confirmando que 57 de ellas eran de origen antropogénico. A partir de este análisis, se identificó un espectro de nueve tipos de polímeros: celofán, celulosa, nylon (PA), copolímero de tereftalato-isoftalato de poliéster. (PET-I), copolímero de polietileno-polipropileno (PE-PP), polietileno tereftalato (PET), polipropileno (PP), y copolímero de acetato de polivinilo y polietileno (PVAc-PE). De estos la colonia que obtuvo una mayor riqueza de polímeros fue Puerto Villamil, donde predominaron 3 tipos de polímeros celofán (58.8%), polietileno tereftalato (14.7%), y Nylon (5.9%) En Caleta Webb se halló una predominancia de copolímero de polietileno-polipropileno (29,4%) y polietileno tereftalato (29,4%), por último, en Cabo Douglas predominó celofán (37.5%), celulosa (18.8%) y polietileno tereftalato (18.8%)

(Figura 6).

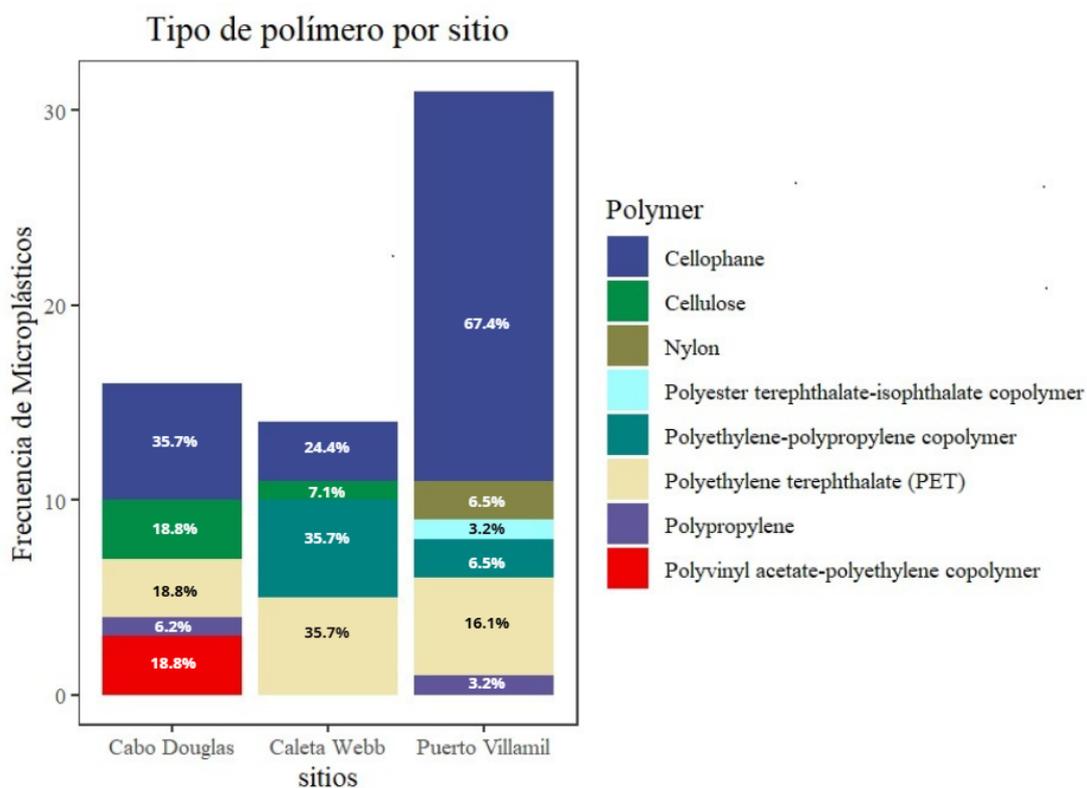


Figura 6. Barplot del tipo de microplásticos y su frecuencia en las diferentes colonias de LMG.

Prevalencia de Mps

Se encontró que la prevalencia de microplásticos del 48,88%, lo que indica que prácticamente la mitad de población presenta condiciones de contaminación por microplásticos. La prevalencia fue similar entre los sitios de muestreo; sin embargo, Puerto Villamil presentó la prevalencia más alta con un 53,33% y Cabo Douglas la prevalencia más baja con un 43,33%. (Tabla 3 y Figura 7).

Tabla 3. Prevalencia de MPs en las tres colonias de LMG del oeste de las Galápagos.

Isla	Colonias	n	Presencia (w/ MPs)	Ausencia (w/ NO MPs)	Prevalencia (%)
Isabela	Puerto Villamil	30	16	14	53.33
Isabela	Caleta Webb	16	8	8	50.00
Fernandina	Cabo Douglas	30	13	17	43.33

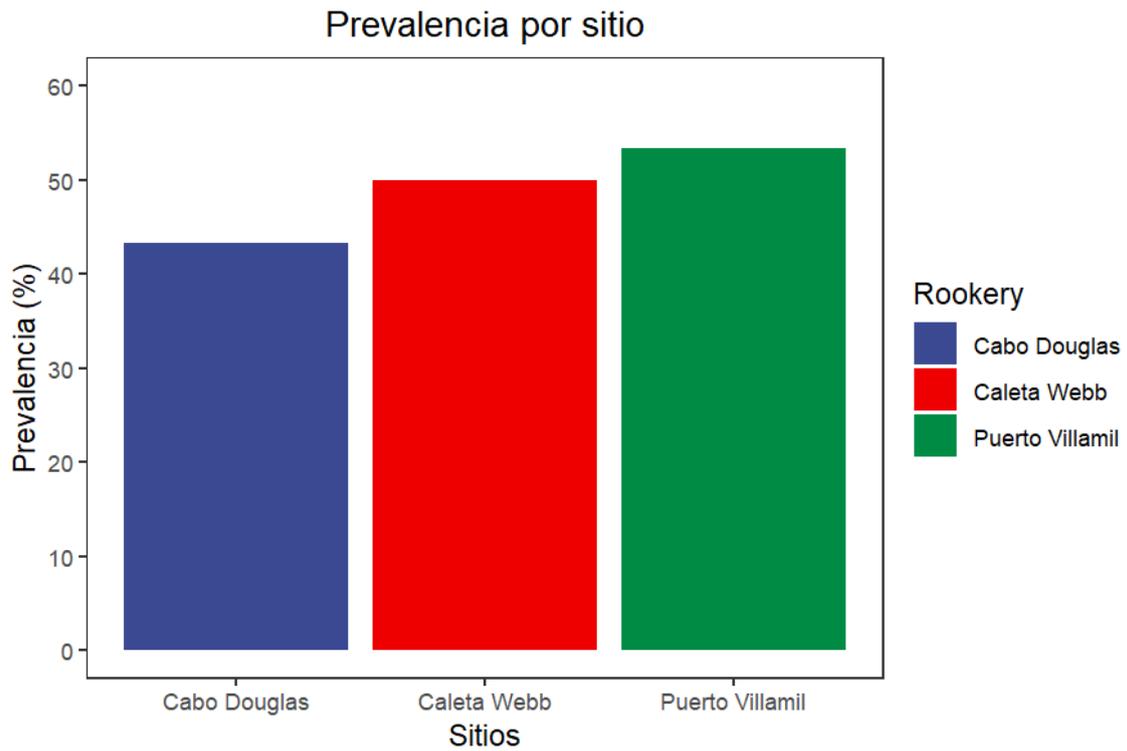


Figura 7. Barplot de la prevalencia de microplásticos (MPs) en el LMG en las tres colonias ubicadas en diferentes sitios de las Islas Galápagos.

DISCUSIÓN

Morfología de los microplásticos

Se identificaron tres tipos de morfología: fibras, films y fragmentos. De ellas, las fibras fueron las más predominantes en las colonias muestreadas. Este resultado es consistente con investigaciones previas en mamíferos marinos, particularmente en pinnípedos, donde las fibras son predominantes y tienen un mayor potencial de biomagnificación debido a su rol como depredadores topos en la cadena trófica (Moreira-Mendieta et al., 2023; Ortega-Borchardt et al., 2023; Ugwu et al., 2021).

Al comparar con las colonias del sureste del archipiélago, la información coincide en la predominancia de fibras (Moreira-Mendieta et al., 2023), mostrando que esta tendencia se mantiene. Una de las principales razones de esta prevalencia es la producción masiva de fibras debido a su alta demanda comercial y bajo costo de fabricación. La mayoría de estas fibras son sintéticas, y sus principales fuentes serían la industria textil, la pesca y el manejo deficiente de aguas residuales en el archipiélago. Este último factor es relevante, ya que se estima que el lavado de ropa puede liberar hasta 1900 fibras por prenda (Browne et al., 2011; Moreira-Mendieta et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2018).

Predominancia de colores

Se identificaron cinco tipos de colores: negro, azul, verde, rojo y transparente; de los cuales predominaron el azul y negro. Estos resultados son consistentes con la literatura existente, donde estos colores prevalecen en los microplásticos consumidos por los mamíferos marinos (Moreira-Mendieta et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2018, 2020; Ugwu et al., 2021).

Varios tipos de colores de los microplásticos pueden confundirse visualmente con partículas naturales o con alimentos de los organismos que ocupan niveles tróficos inferiores, (i.e., zooplancton y fitoplancton) (Perez-Venegas et al., 2018; Ugwu et al., 2021). Esta

similitud aumenta la probabilidad de que los microplásticos sean ingeridos de manera directa, ya que los organismos pueden percibirlos como presas naturales. Se ha demostrado que los peces planctívoros presentan en su organismo una gama de colores que incluye hasta seis tonalidades diferentes (Ugwu et al., 2021). En el caso del LMG, la ingestión de microplásticos se debe principalmente al consumo de presas contaminadas, debido a que estos pinnípedos consumen a sus presas por completo utilizando un método de alimentación llamado ingestión directa (Moreira-Mendieta et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2020).

Tamaño de los microplásticos

El tamaño de los microplásticos osciló entre 0.09 y 3.37 mm, estos resultados son consistentes con investigaciones previas realizadas en el archipiélago, donde los Mps pequeños son comunes especialmente en zonas urbanas (Moreira-Mendieta et al., 2023). Esto explica las diferencias entre las colonias de Puerto Villamil y Cabo Douglas, ya que en Puerto Villamil es la zona más poblada de la isla Isabela por ello las fuentes terrestres de contaminación son más abundantes, provocando un predominó de Mps de clase A (20 a 1000 μm). La alta densidad poblacional, junto con actividades como el turismo, la pesca, la construcción y el manejo inadecuado de aguas residuales, contribuyen a una mayor cantidad de desechos plásticos que llegan al océano. Adicionalmente, las escorrentías urbanas y las corrientes marinas facilitan la dispersión y fragmentación de los plásticos, generando partículas más pequeñas.

Por otro lado, Cabo Douglas que está menos expuesto a fuentes de contaminación terrestre, predominó la clase B (1001 a 2000 μm). Mientras que, en Caleta Webb, ubicada en una zona remota con menor presión antropogénica predominó la clase C (2001 a 3000 μm). Estos resultados refuerzan la hipótesis de que lugares con mayor influencia antropogénica, se convierten en espacios con mayor exposición a procesos de fragmentación de Mps.

Identificación química y tipos de polímeros

Se identificaron un total de 9 tipos de polímeros, de los cuales el celofán fue uno de los más abundantes. Esta partícula, aunque no se lo considera microplástico es una fibra orgánica derivada de la celulosa, aunque es biodegradable algunas celulosas son modificadas genéticamente para aumentar su resistencia por lo cual su degradación es lenta incluso estando presentes por mucho más tiempo que polímeros sintéticos. (Onwukamike et al., 2019)

Por otro lado, el polietileno tereftalato es uno de los plásticos más fabricados a nivel mundial (Ugwu et al., 2021). Este polímero termoplástico se utiliza ampliamente en una variedad de aplicaciones, como envases para alimentos, bebidas, fibras textiles entre otros (Sinha et al., 2010) por eso representa el 10% de la producción mundial. El nylon por su parte es empleado en textiles y redes de pesca, está asociado a equipos desechados en el mar aproximadamente, por lo que el 18 % de los desechos plásticos marinos encontrados en el ambiente oceánico se atribuyen a la industria pesquera (Andrady, 2011; Hinojosa & Thiel, 2009). Mientras que el copolímero de polietileno-polipropileno es uno de los más utilizados debido a que combina las propiedades térmicas y mecánicas de ambos polímeros. Esta versatilidad lo convierte en un material ideal para la producción de diversos productos sintéticos, como cuerdas, tuberías y empaques (Moreira-Mendieta et al., 2023; Teh et al., 1994; Ugwu et al., 2021). Por último, el copolímero de acetato de polivinilo combina las propiedades del acetato de polivinilo (PVAc) y el polietileno (PE), estas características lo hacen ideal para su uso en adhesivos, revestimientos, textiles y productos de papel (Zhang et al., 2020).

La gran variedad de polímeros presentes en las colonias de LMG puede deberse a la flexibilidad trófica de la especie. Esta variación en los polímeros puede explicarse por la existencia de al menos tres estrategias tróficas en la especie: epipelágica, mesopelágica y bentónica (Moreira-Mendieta et al., 2023; Páez-Rosas & Auriolles-Gamboa, 2010; Urquía

et al., 2024). Esto les permite ocupar una mayor cantidad de nichos aumentando la diversidad de sus presas, y por ende incrementando el riesgo de bioacumulación de microplásticos por transferencia trófica. Las presas varían dependiendo a la profundidad del ecosistema (Urquía et al., 2024), por lo que la densidad de los polímeros juega un papel crucial, ya que está directamente relacionada con su flotabilidad (Moreira-Mendieta et al., 2023). Esto determinaría la presencia de MPs en diferentes zonas del océano, como la epipelágica, mesopelágica y bentónica.

Los polímeros con alta densidad ($>1 \text{ g/cm}^3$), como la celulosa ($1.5\text{-}1.6 \text{ g/cm}^3$), el nylon (PA) (1.14 g/cm^3), el copolímero de tereftalato-isofalato de poliéster (PET-I) (1.35 g/cm^3) y el polietileno tereftalato (PET) (1.38 g/cm^3), tienden a hundirse fácilmente debido a que su densidad es mayor que la del agua, lo que hace que estén más presentes en zonas más profundas, o en fondos costeros. En contraste, los polímeros con baja densidad ($<1 \text{ g/cm}^3$), como el copolímero de polietileno-polipropileno (PE-PP) ($0.91\text{-}0.92 \text{ g/cm}^3$) y el polipropileno (PP) (0.90 g/cm^3), flotan debido a su densidad inferior a 1, lo que provoca que estén más presentes en zonas superficiales y pelágicas.

Mientras que el copolímero de acetato de polivinilo y polietileno (PVAc-PE) ($0.95\text{-}1.2 \text{ g/cm}^3$) también tienden a flotar, aunque su flotabilidad puede variar según la composición, por lo que puede que se encuentre en todas las zonas del océano (Erni-Cassola et al., 2019). Sin embargo, otros factores como afloramiento en especial de la corriente de Cromwell cuando las aguas profundas y ricas en nutrientes emergen hacia la superficie, también pueden transportar microplásticos de alta densidad que estén en zonas profundas por lo cual estos estén biodisponibles también en zonas pelágicas (Jones et al., 2021; Cevallos, 2024).

Prevalencia y vías de consumo de microplásticos

Se ha catalogado a los pinnípedos como especies centinela, siendo la familia Otariidae uno de los grupos más estudiados en relación con la presencia de microplásticos. Al comparar la prevalencia de MPs en colonias reproductoras, se encontró que, en promedio, las colonias de LMG del oeste del archipiélago presentan una prevalencia del 48,13%, mientras que, en el sureste la prevalencia es del 37% (Moreira-Mendieta et al., 2023). Esto indica que las colonias ubicadas en el lado oeste tienen una mayor exposición a este tipo de contaminantes.

En comparación con otras especies de la familia Otariidae, el LMG muestra una prevalencia baja de MPs. Por ejemplo el lobo fino sudamericano, *Arctocephalus australis*, el lobo marino sudamericano, *Otaria flavescens*, y el lobo fino del norte, *Callorhinus ursinus*, presentan prevalencias mucho más altas que alcanzan del 21-67%, 80% y el 100% respectivamente (Ayala et al., 2021; Donohue et al., 2019; Moreira-Mendieta et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2018).

En cuanto al color de los microplásticos el azul y negro es predominante tanto en el LMG, como en el lobo marino de California, *Zalophus californianus*, el lobo fino sudamericano, *A. australis*, y el lobo marino sudamericano, *O. flavescens* (Ayala et al., 2021; Moreira-Mendieta et al., 2023; Ortega-Borchardt et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2018). Mientras que, para el lobo fino del norte, *C. ursinus*, y el lobo fino subantártico, *Arctocephalus gazella*, el color blanco, marrón y azul son los más importantes. La importancia del color azul y negro se debería a que las presas de los lobos marinos (e.g. peces) consumen estas partículas por confusión con su alimento natural, ya que visualmente y morfológicamente son parecidos (Donohue et al., 2019; Perez-Venegas et al., 2018).

La morfología predominante de los MPs en estas especies corresponde a las fibras. Se ha reportado que todos los otáridos mencionados presentan una alta prevalencia de esta forma.

La elevada proporción de este tipo de MPs podría deberse a que pueden bioacumularse fácilmente en sus presas, desplazándose a través de diferentes niveles tróficos hasta alcanzar a los depredadores superiores (Ayala et al., 2021; Donohue et al., 2019; Moreira-Mendieta et al., 2023; Ortega-Borchardt et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2020).

La mayor abundancia de polímeros en las colonias del LMG ubicadas en el sureste del archipiélago (n=13) (Moreira-Mendieta et al., 2023), en comparación con los ocho polímeros identificados en las colonias del oeste podría deberse a la mayor flexibilidad trófica reportada para la especie en esa región (Páez-Rosas & Aurióles-Gamboa, 2010; Urquía et al., 2024). Sin embargo, la diversidad de polímeros reportados en las colonias de LMG en todo el archipiélago son mayores comparados con otras especies como el lobo marino de California, *Z. californianus*, y el lobo fino sudamericano, *A. australis*, quienes presenta una riqueza de 11 y tres polímeros respectivamente. Esto no significa que ambas especies están expuestas a menores fuentes de contaminación (Ortega-Borchardt et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2020), sino que se correlaciona con la menor diversidad de ecosistemas que explotan.

Por último, la probabilidad de ingestión indirecta es la más aceptada dado que los LMG muestran una cierta selectividad al cazar sus presas (Páez-Rosas & Aurióles-Gamboa 2010), condición que provocaría que esta especie consuma plásticos de forma deliberada; por lo tanto, la ingestión de microplásticos no estaría relacionada con la visión, sino con la transferencia trófica, tal como se ha documentado en otros depredadores marinos (Moreira-Mendieta et al., 2023; Ortega-Borchardt et al., 2023; Perez-Venegas et al., 2020)

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Esta investigación constituye un punto de partida para desarrollar más estudios enfocados en la contaminación plástica. En el futuro, sería relevante investigar la bioacumulación de microplásticos en tejidos, analizar su presencia en presas debido a su papel como vectores de transporte de estas partículas, y realizar estudios en un mayor número de grupos de animales. Asimismo, es importante evaluar cómo los componentes químicos y tóxicos de los MPs pueden afectar a nivel hormonal o inducir la formación de quistes, como se ha observado en otros grupos animales. Finalmente, se espera que en el futuro se estandaricen los métodos de extracción de microplásticos, así como las técnicas de corrección de datos, con el objetivo de mejorar la comparabilidad de los resultados obtenidos en distintas investigaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

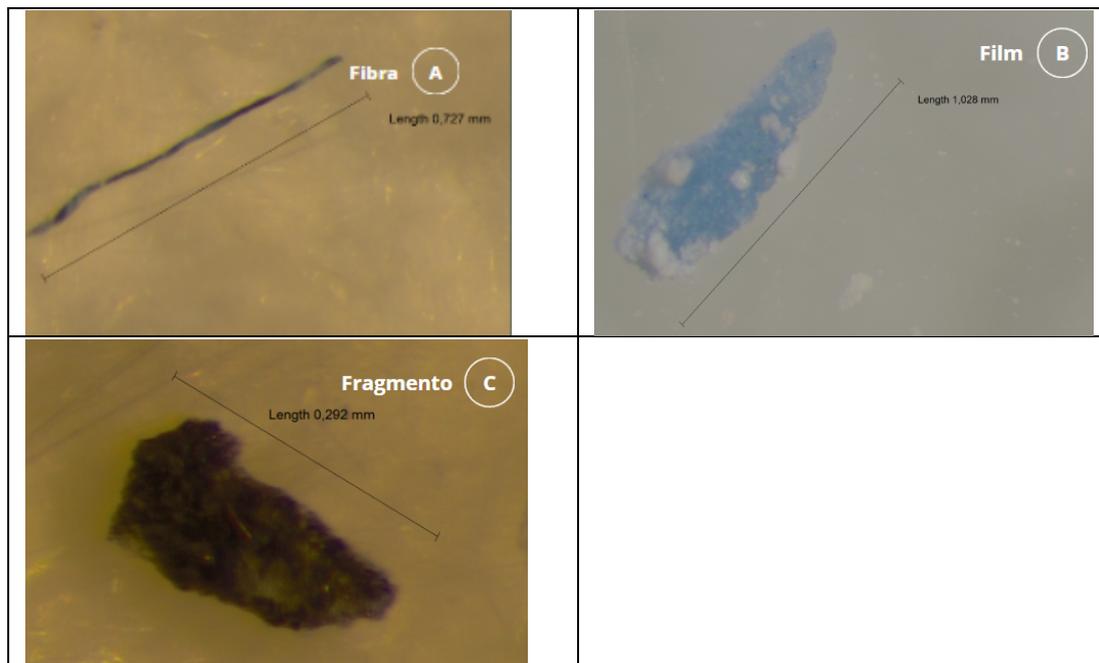
- Amelia, T. S. M., Khalik, W. M. A. W. M., Ong, M. C., Shao, Y. T., Pan, H.-J., & Bhubalan, K. (2021). Marine microplastics as vectors of major ocean pollutants and its hazards to the marine ecosystem and humans. *Progress in Earth and Planetary Science*, 8(1), 12. <https://doi.org/10.1186/s40645-020-00405-4>
- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596-1605. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
- Andrady, A. L., & Neal, M. A. (2009). Applications and societal benefits of plastics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1977-1984. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0304>
- Ayala, F., Cardaña, M., & Cárdenas-Alayza, S. (2021). REGISTRO PRELIMINAR DE MICROPLÁSTICOS EN FECAS DEL LEÓN MARINO SUDAMERICANO (*Otaria byronia* [de Blainville 1820]) RECOLECTADAS EN PUNTA SAN JUAN, PERÚ. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. <https://doi.org/10.20937/RICA.53745>
- Bakaraki Turan, N., Sari Erkan, H., & Onkal Engin, G. (2021). Current status of studies on microplastics in the world's marine environments. *Journal of Cleaner Production*, 327, 129394. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.129394>
- Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., & Thompson, R. (2011). Accumulation of Microplastic on Shorelines Woldwide: Sources and Sinks. *Environmental Science & Technology*, 45(21), 9175-9179. <https://doi.org/10.1021/es201811s>

- Ceballos. (2024). *Abundancia, volumen y tipo de microplásticos en Balanus amphitrite Darwin, 1854 en el archipiélago de Galápagos* [Universidad Estatal Península de Santa Elena]. <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/11796>
- Donohue, M. J., Masura, J., Gelatt, T., Ream, R., Baker, J. D., Faulhaber, K., & Lerner, D. T. (2019). Evaluating exposure of northern fur seals, *Callorhinus ursinus*, to microplastic pollution through fecal analysis. *Marine Pollution Bulletin*, 138, 213-221. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.11.036>
- Erni-Cassola, G., Zadjelovic, V., Gibson, M. I., & Christie-Oleza, J. A. (2019). Distribution of plastic polymer types in the marine environment; A meta-analysis. *Journal of Hazardous Materials*, 369, 691-698. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.02.067>
- Gola, D., Kumar Tyagi, P., Arya, A., Chauhan, N., Agarwal, M., Singh, S. K., & Gola, S. (2021). The impact of microplastics on marine environment: A review. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 16, 100552. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2021.100552>
- Hinojosa, I. A., & Thiel, M. (2009). Floating marine debris in fjords, gulfs and channels of southern Chile. *Marine Pollution Bulletin*, 58(3), 341-350. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.10.020>
- Horton, A. A., & Barnes, D. K. A. (2020). Microplastic pollution in a rapidly changing world: Implications for remote and vulnerable marine ecosystems. *Science of The Total Environment*, 738, 140349. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140349>
- Ivar Do Sul, J. A., & Costa, M. F. (2014). The present and future of microplastic pollution in the marine environment. *Environmental Pollution*, 185, 352-364. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.10.036>
- Jones, J. S., Porter, A., Muñoz-Pérez, J. P., Alarcón-Ruales, D., Galloway, T. S., Godley, B. J., Santillo, D., Vagg, J., & Lewis, C. (2021). Plastic contamination of a Galapagos Island

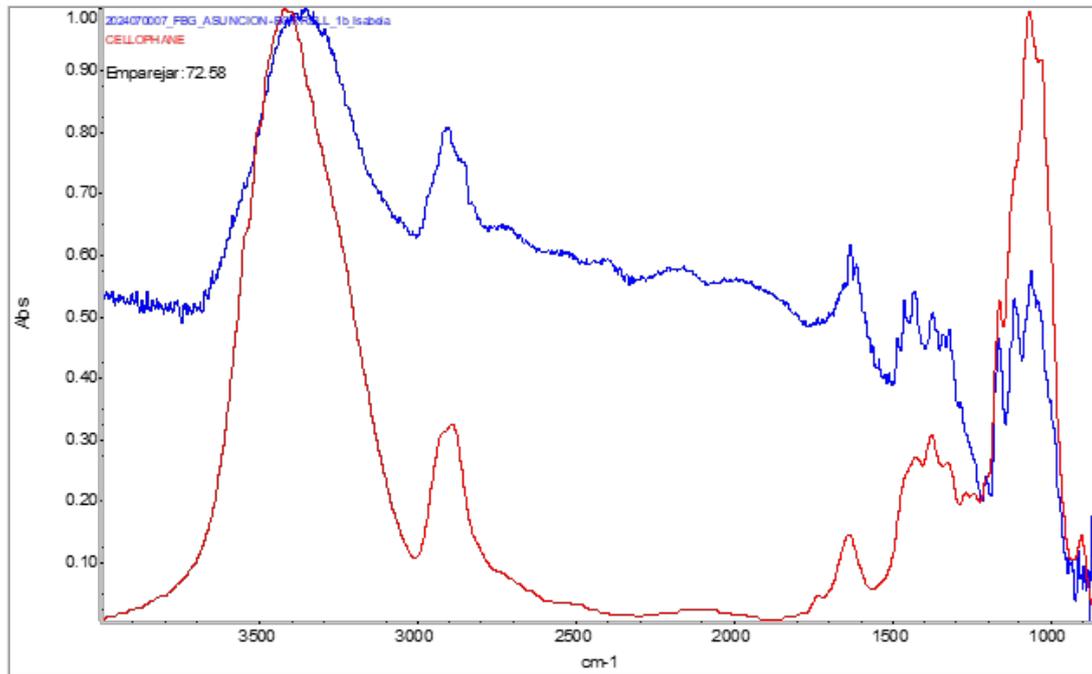
- (Ecuador) and the relative risks to native marine species. *Science of The Total Environment*, 789, 147704. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147704>
- Lusher, A., & Hernandez-Milian, G. (2018). Microplastic Extraction from Marine Vertebrate Digestive Tracts, Regurgitates and Scats: A Protocol for Researchers from All Experience Levels. *BIO-PROTOCOL*, 8(22). <https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3087>
- Moore, S. E. (2008). Marine mammals as ecosystem sentinels. *Journal of Mammalogy*, 89(3), 534-540. <https://doi.org/10.1644/07-MAMM-S-312R1.1>
- Moreira-Mendieta, A., Garcia-Garin, O., Muñoz-Pérez, J. P., Urquía, D. O., Drago, M., Borrell, A., & Páez-Rosas, D. (2023). Detection and quantification of microplastic pollution in the endangered Galapagos sea lion. *Science of The Total Environment*, 896, 166223. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.166223>
- Onwukamike, K. N., Grelier, S., Grau, E., Cramail, H., & Meier, M. A. R. (2019). Critical Review on Sustainable Homogeneous Cellulose Modification: Why Renewability Is Not Enough. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(2), 1826-1840. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b04990>
- Ortega-Borchardt, J. Á., Ramírez-Álvarez, N., Rios Mendoza, L. M., Gallo-Reynoso, J. P., Barba-Acuña, I. D., García-Hernández, J., Égido-Villarreal, J., & Kubenik, T. (2023). Detection of microplastic particles in scats from different colonies of California sea lions (*Zalophus californianus*) in the Gulf of California, Mexico: A preliminary study. *Marine Pollution Bulletin*, 186, 114433. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114433>
- Páez-Rosas, D., & Aurióles-Gamboa, D. (2010). Alimentary niche partitioning in the Galapagos sea lion, *Zalophus wollebaeki*. *Marine Biology*, 157(12), 2769-2781. <https://doi.org/10.1007/s00227-010-1535-0>

- Perez-Venegas, D. J., Seguel, M., Pavés, H., Pulgar, J., Urbina, M., Ahrendt, C., & Galbán-Malagón, C. (2018). First detection of plastic microfibers in a wild population of South American fur seals (*Arctocephalus australis*) in the Chilean Northern Patagonia. *Marine Pollution Bulletin*, *136*, 50-54. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.08.065>
- Perez-Venegas, D. J., Toro-Valdivieso, C., Ayala, F., Brito, B., Iturra, L., Arriagada, M., Seguel, M., Barrios, C., Sepúlveda, M., Oliva, D., Cárdenas-Alayza, S., Urbina, M. A., Jorquera, A., Castro-Nallar, E., & Galbán-Malagón, C. (2020). Monitoring the occurrence of microplastic ingestion in Otariids along the Peruvian and Chilean coasts. *Marine Pollution Bulletin*, *153*, 110966. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110966>
- Pires, J. R. A., Souza, V. G. L., Fuciños, P., Pastrana, L., & Fernando, A. L. (2022). Methodologies to Assess the Biodegradability of Bio-Based Polymers—Current Knowledge and Existing Gaps. *Polymers*, *14*(7), 1359. <https://doi.org/10.3390/polym14071359>
- Rujnić-Sokele, M., & Pilipović, A. (2017). Challenges and opportunities of biodegradable plastics: A mini review. *Waste Management & Research: The Journal for a Sustainable Circular Economy*, *35*(2), 132-140. <https://doi.org/10.1177/0734242X16683272>
- Shah, A. A., Hasan, F., Hameed, A., & Ahmed, S. (2008). Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, *26*(3), 246-265. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.12.005>
- Sinha, V., Patel, M. R., & Patel, J. V. (2010). Pet Waste Management by Chemical Recycling: A Review. *Journal of Polymers and the Environment*, *18*(1), 8-25. <https://doi.org/10.1007/s10924-008-0106-7>

- Teh, J. W., Rudin, A., & Keung, J. C. (1994). A review of polyethylene–polypropylene blends and their compatibilization. *Advances in Polymer Technology*, 13(1), 1-23. <https://doi.org/10.1002/adv.1994.060130101>
- Ugwu, K., Herrera, A., & Gómez, M. (2021). Microplastics in marine biota: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 169, 112540. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112540>
- Urquía, D. O., Anslan, S., Asadobay, P., Moreira-Mendieta, A., Vences, M., Chaves, J. A., & Páez-Rosas, D. (2024). DNA -metabarcoding supports trophic flexibility and reveals new prey species for the Galapagos sea lion. *Ecology and Evolution*, 14(3), e10921. <https://doi.org/10.1002/ece3.10921>
- Yu, R.-S., & Singh, S. (2023). Microplastic Pollution: Threats and Impacts on Global Marine Ecosystems. *Sustainability*, 15(17), 13252. <https://doi.org/10.3390/su151713252>
- Zantis, L. J., Carroll, E. L., Nelms, S. E., & Bosker, T. (2021). Marine mammals and microplastics: A systematic review and call for standardisation. *Environmental Pollution*, 269, 116142. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.116142>
- Zhang, N., Wang, S., Gibril, M. E., & Kong, F. (2020). The copolymer of polyvinyl acetate containing lignin-vinyl acetate monomer: Synthesis and characterization. *European Polymer Journal*, 123, 109411. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.109411>
- Zhou, Q., Chen, J., Zhang, D., & Pan, X. (2022). Evaluation of organic matter removal by H₂O₂ from microplastic surface by nano-physicochemical methods. *Green Analytical Chemistry*, 3, 100035. <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2022.100035>

ANEXO A: FOTOS DE TIPO DE MICROPLÁSTICOS (MPS)

Descripción: Se observan fotografías de diferentes morfologías de los Mps. En la figura A) se aprecia la morfología en forma de fibra; en la figura B) se observa la morfología de tipo film; y en la figura C) se distingue la morfología en forma de fragmento.

ANEXO B: EJEMPLO MAPA DE ESPECTROMETRÍA UFT-IR OMNIC-PICTA

Descripción: Se observa el espectro de una fibra identificada como celofán. La figura muestra el espectro estándar de celofán, representado por la línea de color rojo, y la muestra analizada, representada por la línea de color azul, la cual presenta un 72.58% de coincidencia, indicando una identificación positiva para celofán. El eje Y representa la intensidad de la señal, expresada en absorbancia, mientras que el eje X corresponde al número de onda (en cm^{-1} , el cual indica la frecuencia de vibración molecular).