

Estudio morfológico y microestructural de *Crassostrea gigas* en estuarios y puertos deportivos del oeste de la costa de Bizkaia

Morphological and microstructural study of Crassostrea gigas in stuaries and yachting harbours of the western Biscay coast

R. Ibisate y J. Elorza

Departamento de Mineralogía y Petrología. Universidad del País Vasco, Apartado 644; 48080 Bilbao. ruth.ibisate@ehu.es

ABSTRACT

This work analyses the morphology and the microstructural characteristics of some specimens of Crassostrea gigas collected in different points of the Biscay coast. Oysters recollected in yachting harbours, where they are in contact with tributyl-tin (TBT), have morphological and microstructural shell anomalies. The presence of TBT in the sea water and the associated shell anomalies in oyster are more obvious and detectable in spring because of the maintenance of the ships. In other sampling areas, although the bivalves have not shown any malformations, other morphological variations associated to the abundance of nutrients have been determined.

Key words: *Crassostrea gigas, Biscay coast, tributyl-tin, microstructure, morphology.*

Geogaceta, 43 (2007), 99-102

ISSN: 0213683X

Introducción

El estudio histológico de las partes blandas (gónada y glándula digestiva) de los bivalvos filtradores, complementado con una analítica específica, es la metodología habitual para un completo análisis bacteriológico. Además con estas herramientas, también se extraen evidencias concluyentes sobre la presencia de diferentes contaminantes inorgánicos y orgánicos que afectan al medio natural. Las ostras, por su carácter sésil y su condición de filtradoras, incorporan elementos como metales pesados y compuestos orgánicos, tanto en sus partes blandas como en sus valvas carbonatadas. Estos bivalvos segregan su caparazón carbonatado en equilibrio isotópico con el medio marino en el que habitan (Bathurst, 1975). Sin embargo el estudio morfológico, microestructural y químico de las valvas está menos desarrollado, a pesar de que en ellas queda registrada de forma continuada su relación con el medio y los posibles eventos estresantes sufridos a lo largo de su periodo vital.

Este estudio es continuación del trabajo iniciado por Higuera-Ruiz y Elorza (2004), en los estuarios contaminados y no contaminados de Cantabria. En este caso, nos centramos en la parte oeste de la costa de Bizkaia, con características fluviales marcadamente diferentes y so-

metida a una fuerte presión antrópica (núcleos urbanos, industriales y portuarios). La ostra *Crassostrea gigas* (ostra japonesa) especie invasora, lleva años perfectamente adaptada a estas condiciones y se reproduce con facilidad, siendo muy abundante en los 8 puntos de muestreo escogidos. En estos puntos, resulta evidente la contaminación tanto ocasional como crónica y con una mayor o menor intensidad. Como referente no contaminado utilizamos las ostras procedentes del parque de cultivo "Ostranor" situado en San Vicente de la Barquera (Cantabria).

Nuestro objetivo ha sido caracterizar morfológica y microestructuralmente las ostras contaminadas y las no contaminadas, intentando detectar evidencias de algún agente tóxico. A falta de un análisis específico, pero basados en la similitud morfológica y microestructural con las ostras de Cantabria entendemos que la presencia del elemento tóxico Tributilestano (TBT) es el causante de las malformaciones en las ostras de la costa oeste bizkaína. Este biocida, prohibido por la Unión Europea en embarcaciones de menos de 25 m de eslora, genera importantes malformaciones en ostras y otros organismos con concentraciones muy bajas (ng/l), por lo que estamos frente a un bioindicador de la contaminación de bajo coste, que podría considerarse adecuado para futuras campañas ambientales.

Puntos de muestreo y Metodología

Se han recogido un total de 103 ostras adultas en los siguientes puntos: en Muskiz (43 ejemplares; 29 en Pobeña (PbI y PbII) y 14 Playa de La Arena (PIA) zona noroeste); en el puerto de Zierbena (Zi) 12 ejemplares; en el puerto deportivo de Getxo (Gt) 12 ejemplares; en el puerto de Plentzia (Pl) 12 ejemplares y en Gorliz, Astondo (Ast) 12 ejemplares. Como referencia no contaminada, 12 ejemplares adultos (SV) y 19 ejemplares de semilla (SS) del parque de cultivo "Ostranor" en San Vicente de la Barquera (Figs. 1A-E)

Después de mantener las ostras 24 horas en lejía diluida para sacrificar al organismo y eliminar la materia orgánica externa, se han medido los siguientes parámetros: a) pesos de la valva derecha e izquierda con una balanza de precisión (0,01 grs), b) longitud, espesor y anchura de la valva derecha utilizando un calibre y c) volumen (ml) externo e interno, basándonos en el Método de Arquímedes. Para el cálculo del volumen interno se han utilizado moldes de plastilina. Con los datos obtenidos, se han calculado tres índices biométricos. Para cada uno de estos índices se han seleccionado los ejemplares con valores extremos, que supuestamente muestran el mayor y el menor grado de contaminación y se han cortado las valvas



Fig.1.- Situación geográfica y esquema de las zonas muestreadas.

Fig. 1.- Geographical situation and sketch of the sampling zones.

derechas e izquierda con una sierra de precisión Buelher (modelo Isomet 2000). En todos los casos, el corte ha sido paralelo al sentido de crecimiento y de migración del músculo aductor. Posteriormente, de alguno de los ejemplares se ha retirado el sedimento alojado en las diferentes cámaras y se ha analizado su composición mineralógica total por medio de Difracción de Rayos X (DRX). Por último, se han preparado 19 láminas delgadas con objeto de estudiar las diferentes microestructuras formadoras de la concha.

Morfología e Índices biométricos

Las ostras son moluscos bivalvos sésiles que viven adheridos por su valva izquierda a sustratos de diferente naturaleza, tanto en zonas submareales como en zonas intermareales. El desarrollo de las dos valvas, unidas por un ligamento orgánico en la zona denominada umbo, se produce gracias al manto que segrega el carbonato cálcico (calcita y aragonito) necesario. La valva izquierda y la valva derecha son asimétricas y en ellas es fácilmente reconocible la impresión dejada por el músculo aductor, responsable de los movimientos de apertura durante la filtración y cierre durante su emersión en las horas de bajar mar.

Las morfologías de las conchas de los ejemplares recogidos son muy variadas, responden a los tipos de sustratos en los que se han asentado y a las diferentes condiciones ambientales que han soportado. La disponibilidad de nutrientes influye de forma decisiva en su tasa de cre-

cimiento y controla la distribución geográfica de los organismos. En este sentido, es relevante el menor tamaño, la forma irregular y la escasa abundancia de las ostras recogidas en una zona alejada del área de afección del río Barbadún en Pobeña (Pb II) frente a las muestras procedentes de una zona más rica en nutrientes (Pb I). En lo que a los rasgos morfológicos se refiere, las ostras "control" procedentes del parque de cultivo "Ostranor" presentan diferencias importantes con respecto a las recogidas en zonas portuarias contaminadas como Plentzia (Pl), Zierbena (Zi) o Getxo (Gt). En las primeras, las valvas derechas tienen morfología planar y las izquierdas muestran una morfología fuertemente cóncava, lo que implica una cavidad paleal muy desarrollada. Se puede observar una clara migración del músculo aductor y un umbo poco desarrollado (Fig. 2D). Por el contrario, las ostras contaminadas (Pl; Zi y Gt), presentan una morfología subredondeada con una valva derecha fuertemente engrosada en la que se pueden reconocer un importante número de cámaras y una cavidad paleal disminuida (Figs. 2A-C). Estas variaciones morfológicas pueden cuantificarse utilizando tres índices biométricos: a) Índice de Engrosamiento (IE) (Alzieu *et al.*, 1982); que es el cociente entre la longitud y el espesor de la valva derecha. b) Índice de peso (IP) (Higuera-Ruiz y Elorza, 2004); es el cociente entre el peso de la valva derecha y el peso de la valva izquierda. c) Índice de volumen (IV) (Higuera-Ruiz y Elorza, 2004); es el cociente entre el volumen externo y el volumen interno (Figs. 3A-C).

Microestructuras

Microestructura simple prismática (SP)

Corresponde a la capa más externa y está formada por pequeñas unidades calcíticas, prismáticas, paralelas entre sí y delimitadas por un componente orgánico, que muestran una morfología en "panal de abeja" en sección transversal. Los contactos entre los prismas suelen ser zonas de ruptura que permiten observar restos de la materia orgánica inter e intraprismática así como las líneas de crecimiento (Figs. 4A, B). Estas características hacen de la microestructura RF un entramado muy compacto que podría actuar como una estructura de refuerzo frente al oleaje. Esta microestructura puede definirse también en el *Myostracum*, donde los prismas además de ser más delgados y de menor tamaño son de naturaleza aragonítica.

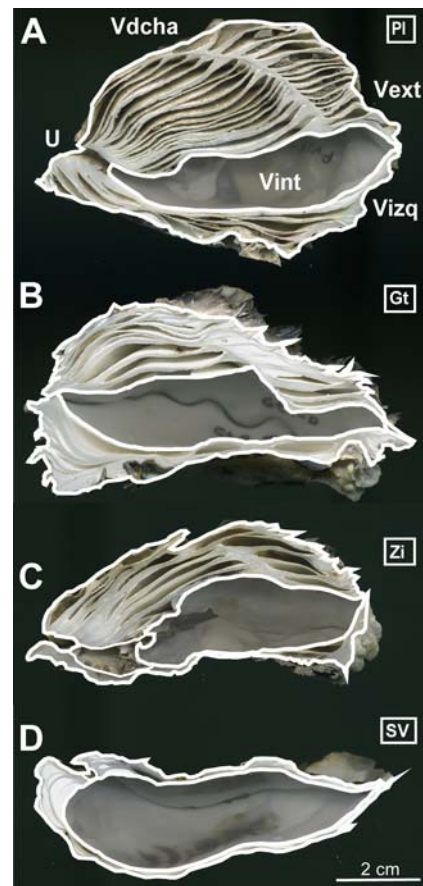


Fig. 2.- Secciones longitudinales de los ejemplares de las diferentes áreas muestreadas. Explicación en el texto.

Fig. 2.- Longitudinal sections of specimens from the different sampling areas. See text.

Microestructura regular foliada (RF)

Formada por pequeñas lamelas calcíticas, es la más masiva y la situada en una zona más interna. Las pequeñas lamelas que la forman parecen tener continuidad tanto en la microestructura SP como en la *Chalk*, lo que indicaría una formación coetánea para las restantes microestructuras. Aunque algunos autores han propuesto un control lunar o mareal para la formación de la misma (Andrus y Crowe, 2000), en este trabajo se relaciona más con un control puramente funcional, según el cual esta microestructura actuaría como el armazón principal del organismo (Surge *et al.*, 2001).

Microestructura foliada cruzada compleja en cono (c-FCC)

Es una microestructura similar a la RF en la que las lamelas calcíticas presentan orientaciones muy variadas y contactos complejos entre sí. Se ha comprobado como esta microestructura es más abundante en las conchas procedentes de lugares con cierto grado de estrés am-

biental por lo que podría relacionarse con una mayor velocidad de crecimiento (Fig. 4C). Este aumento de la tasa de crecimiento, podría ser un acto de defensa del organismo frente a condiciones adversas en el medio.

Microestructura "Chalk"

Es una microestructura de naturaleza calcítica y muy porosa, en la que pueden diferenciarse pequeñas láminas denominados "blades" perpendiculares a la superficie de la concha y otros denominados "leaflets" que forman diferentes ángulos con los blades (Fig. 4D). Esta disposición le proporciona una apariencia esponjosa característica en la que pueden encontrarse trazas de materia orgánica de coloración más oscura. En las muestras estudiadas se ha podido comprobar cómo el desarrollo de la chalk ocurre en las zonas flexionadas en las que la potencia de las cámaras es mayor, por lo que su formación se asocia a un proceso de ocupación rápido con un gasto de carbonato cálcico mínimo (Korringa, 1951).

Discusión

Basados en la morfología de la concha y ayudados de los tres índices biométricos descritos anteriormente se han detectado malformaciones y valores anómalos que indican la presencia de contaminantes en diferentes puntos de la costa vizcaína. En este trabajo, se intuye la presencia en las aguas de TBT (Tributilo de estaño), producto biocida asociado a las pinturas de las embarcaciones cuyas afecciones sobre ostras fueron definidas por primera vez en la costa francesa (Alzieu *et al.*, 1982) y confirmadas en Cantabria (Díaz *et al.*, 2007). Los ejemplares recogidos en los puertos de Zierbena (Zi), Getxo (Gt) y Plentzia (PI) presentan morfologías subredondeadas con la valva derecha anormalmente engrosada y con desarrollo de un importante número de cámaras vacías o rellenas con sedimento compuesto principalmente por calcita, cuarzo, feldespato potásico, plagioclasa y filosilicatos. La migración del músculo aductor tiene una importante componente vertical, lo que genera una hendidura característica de los organismos recogidos en las zonas contaminadas. Los índices morfológicos (IE, IP e IV) evidencian las malformaciones observadas en un primer estudio visual. Los ejemplares correspondientes a Zi, Gt y PI muestran valores del IE inferiores a 10, con un valor medio de 6,5; 6,0 y 4,7 respectivamente, lo que indica cierto grado

de contaminación. Por el contrario, las muestras sigladas como SS, SV, Pb I, Pb II, PIA y Ast, con valores medios de 33,8; 18,4; 15,5; 25,8; 14,3 y 12,7 respectivamente, señalan ausencia de contaminación en las zonas de muestreo a las que hacen referencia (Fig. 3A). En lo que al IP se refiere, valores superiores a 1,0 como los obtenidos para las muestras Zi, Gt y PI (con valores medios de 1,2; 1,1 y 1,1 respectivamente) indican que los organismos han sido sometidos a cierto grado de estrés ambiental. Las muestras SS, SV, PbI, PbII, PIA y Ast alcanzan valores medios (0,5; 0,6; 0,6; 0,6; 0,7 y 0,6 respectivamente) inferiores a este valor de referencia (Fig. 3B). El IV define como ejemplares contaminados aquellos que

presentan valores superiores a 2.5. En este sentido, las muestras Zi, Gt y PI vuelven a caracterizarse como contaminadas obteniéndose para ellas valores medios de 3,0; 2,9 y 3,0 respectivamente. Para el resto de las zonas muestreadas (SS, SV, Pb I, Pb II, PIA y Ast) se han obtenido valores medios de 1,7; 1,9; 2,0; 2,3; 2,1 y 2,2 respectivamente (Fig. 3C).

En el estudio microestructural de las muestras recogidas se han podido reconocer las microestructuras características de la concha; simple prismática (SP), regular foliada (RF), foliada compleja cruzada en cono (c-FCC) y chalk. En estas microestructuras se pueden detectar diferencias al comparar conchas anormalmente engrosadas con referentes

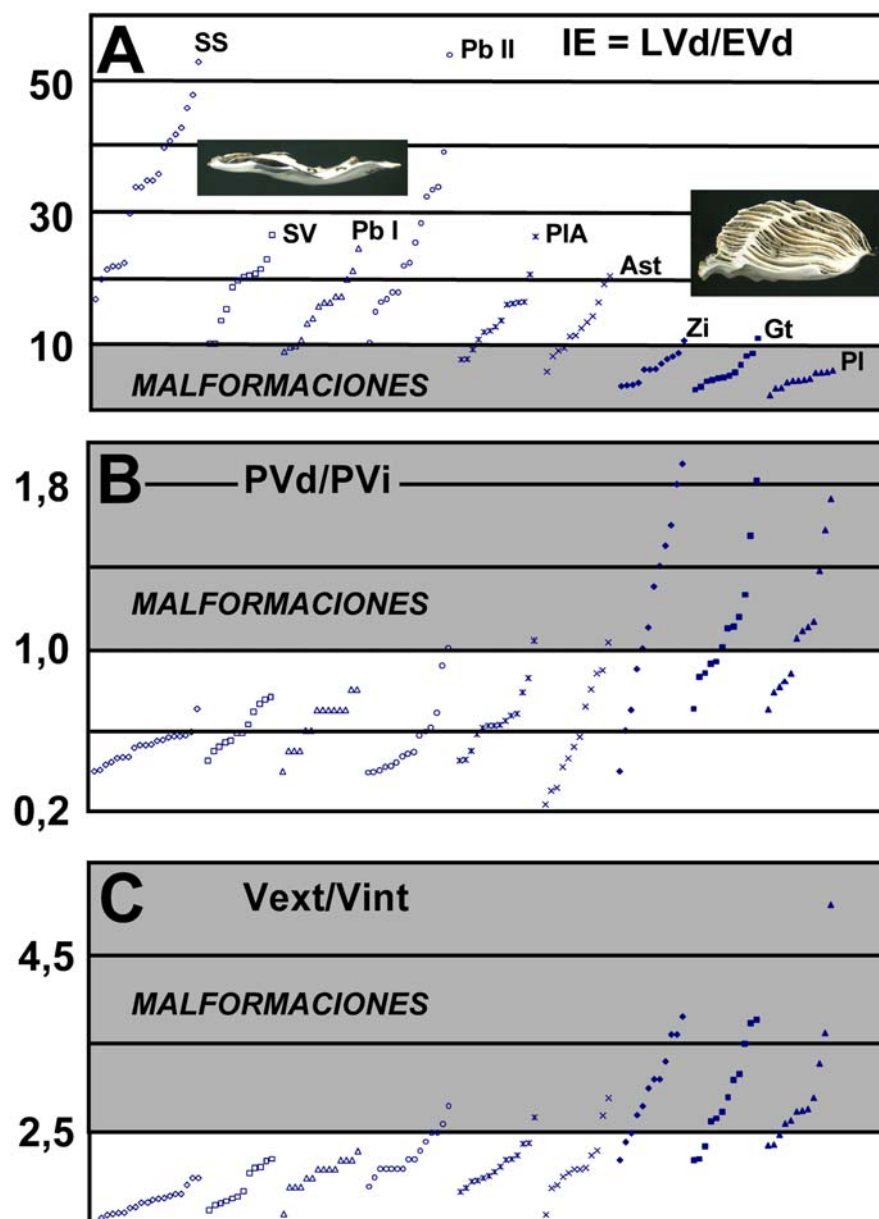


Fig. 3.- A) Índice de engrosamiento (IE). B) Índice de peso (IP). C) Índice de volumen (IV). Explicación en el texto.

Fig. 3.- A) Shell thickness index (IE). B) Weight index (IP). C) Volumen index (IV). See text.

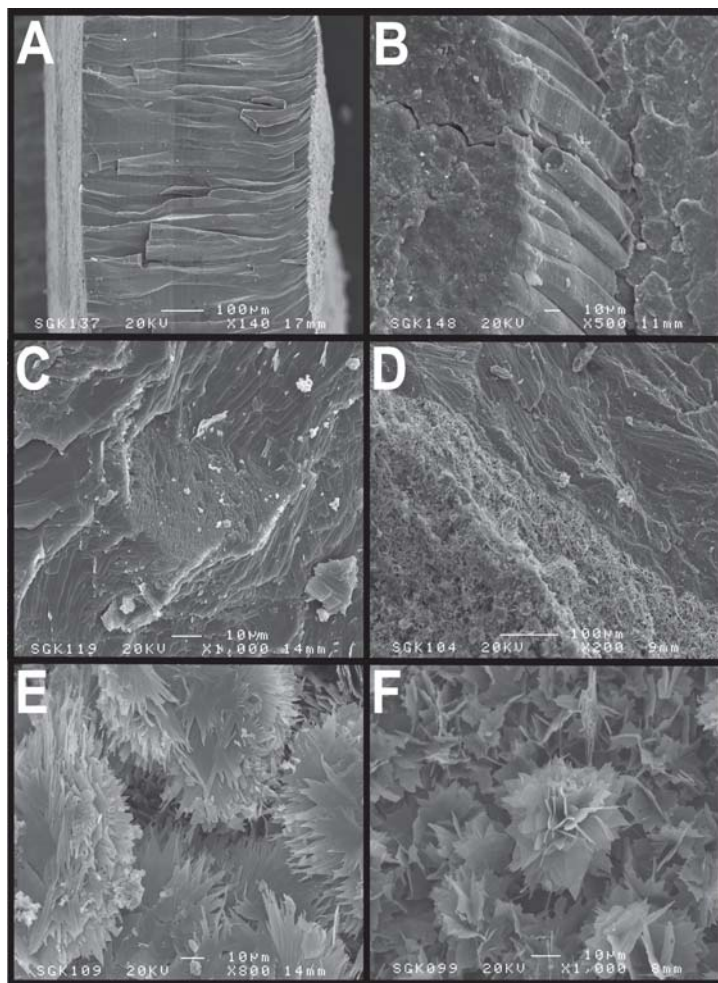


Fig. 4.- Principales microestructuras en ostras contaminadas (A, C, E) y no contaminadas (B, D, F). Explicación en el texto.

Fig. 4.- Principal microstructures in contaminated (A, C, E) and no contaminated (B, D, F) oyster shells. See text.

no contaminados que en nuestro caso, son las ostras procedentes del parque de cultivo "Ostranor". La microestructuras SP y RF aparecen representadas tanto en ostras contaminadas como en no contaminadas aunque en el caso de la RF, es más abundante y la organización de los cristales parece ser más ordenada en los ejemplares procedentes de zonas con ausencia de elementos tóxicos. Por el contrario, el desarrollo de la microestructura c-FCC es mucho más importante en las ostras contaminadas ya que estas han desarrollado un mayor número de cámaras y la microestructura c-FCC es característica de zonas próximas a las mismas. Sin embargo, las mayores diferencias se han podido definir en la *chalk* ya que en ejemplares no contaminados ofrecen una apariencia compacta, con bordes netos (Fig 4F) y en los ejemplares contaminados, estos bordes se caracterizan por presentar ramificaciones tipo "raíces" (Fig. 4E). Al

llevar acabo estas observaciones, se ha comprobado cómo en ostras que se han desarrollado en zonas portuarias y bajo influencia del TBT, puede encontrarse en una misma valva *chalk* con un crecimiento normal y *chalk* con malformaciones, lo que se justifica con periodos de carencia y alta concentración de esta sustancia contaminante en una misma zona. Estas variaciones microestructurales atienden a cierta estacionalidad en el contenido de TBT, ya que el mantenimiento y pintado de los barcos se lleva acabo en los meses de primavera, momento en el que se produce la mayor liberación en las aguas de TBT.

Conclusiones

Mediante el análisis morfológico y microestructural de 103 ejemplares de *Crassostrea gigas* se ha podido detectar: a) crecimientos normales, con una mayor

o menor talla en función de la cercanía a la fuente de nutrientes; b) malformaciones de las ostras recogidas en los puertos de Zierbena, Getxo y Plentzia, al presentan un engrosamiento anormal de su valva derecha con un aumento notable del número de cámaras y peso de la misma, evidenciado por los Índices biométricos IE e IP. También se advierte una verticalización de la impresión muscular, una disminución importante de la cavidad paleal (reflejado en el Índice IV) y un umbo más desarrollado en los ejemplares procedentes de estas zonas portuarias. Los análisis microestructurales han aportado diferencias en relación a las ostras contaminadas por TBT. Estas últimas están formadas en su mayoría por la microestructura c-FCC, mientras que la microestructura RF es la más abundante en las ostras libres de malformaciones. La *chalk* ha proporcionado las diferencias más significativas, detectándose formas "ramificadas" alternando con formas normales en las ostras consideradas como contaminadas, todo ello producido por episodios de mayor concentración a menor o incluso ausencia temporal de TBT.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de investigación GIU05/48 y forma parte de la Tesis Doctoral de R. Ibisate. Agradecemos al Dr. Rubén Higuera – Ruiz su apoyo y, al Dr. Sergio Fernández, técnico del microscopio electrónico, su ayuda en la obtención de las imágenes de SEM

Referencias

- Alzieu, C.L., Heral, M., Thibaud, Y., Dardignac, M.J. y Feuillet, M. (1982). *Revue des Travaux de l'Institut des Peches Maritimes*, 45, 100-116.
- Andrus, C.F.T. y Crowe, D.E. (2000). *Journal of Archaeological Science*, 27, 33-42.
- Bathurst, R.G.C. (1975). *Developments in Sedimentology*, 12, Elsevier, Amsterdam, 658p.
- Díaz, J., Higuera-Ruiz, R., Elorza, J., Iribien, A. y Ortiz, I. (2007). *Chemosphere*, 67, 623-629.
- Higuera-Ruiz, R. Y Elorza, J. (2004). *Geogaceta*, 36, 147-150.
- Koringa, P. (1951). *Proceedings of the California Academy of Sciences*, 27, 133-158.
- Surge, D., Lohmann, K.C. y Dettman, D.L. (2001). *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 172, 283-296.