



Instituto Español de Oceanografía

CENTRO OCEANOGRÁFICO DE MURCIA



Universidade da Coruña

**EFEECTO DE INDICADORES DE LA CALIDAD DEL
ALIMENTO SOBRE EL BIOMARCADOR DE LA
CONTAMINACIÓN SFG (scope for growth) EN
*Mytilus galloprovincialis***

LUCÍA ZAMORA LÓPEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER: MÁSTER DE BIOLOGÍA MARINA.

Tutora: *Marina Albentosa Verdú*

JULIO, 2016



D^a. **Marina Albentosa Verdú**, Científico Titular del Instituto Español de Oceanografía
en el Centro Oceanográfico de Murcia

AUTORIZO:

La presentación del Trabajo Fin de Máster titulado “*Efecto de indicadores de la calidad del alimento sobre el biomarcador de la contaminación SFG (scope for growth) en Mytilus galloprovincialis*”, que presenta **Lucía Zamora López**, y que ha sido realizado bajo mi dirección y supervisión, en el Centro Oceanográfico de Murcia.

En Murcia, a 23 de Junio de 2016

Fdo: Marina Albentosa Verdú

Fdo. Lucía Zamora López

Abstract

Uno de los objetivos del presente trabajo ha sido estudiar la calidad ambiental de cinco estaciones del programa de seguimiento del IEO mediante el uso de biomarcadores fisiológicos en mejillón silvestre (*Mytilus galloprovincialis*). Otro de los objetivos propuestos ha sido determinar y analizar la relación que estos biomarcadores tienen con el estado de los mejillones, así como su relación con dos indicadores de la calidad de la dieta en los lugares de recolección: índice branquias/palpos e índice O:N.

Se midieron el biomarcador SFG y las tasas fisiológicas que lo integran para determinar el balance energético de cada estación como indicadores de contaminación ambiental. En general, ciertos compuestos químicos pueden tener un efecto negativo sobre el SFG, aunque dicho efecto es menor que el que ejercen algunos parámetros biológicos como el índice de condición o la edad, que actúan como factores de confusión enmascarando el efecto real de la contaminación presente en el medio marino. En este estudio, sin embargo, no se ha podido establecer una relación directa de los biomarcadores fisiológicos ni con la contaminación ni con el índice de condición o la edad relativa de los individuos. Al igual que en otros trabajos del IEO, estos resultados no invalidan el uso de datos biológicos en los programas de vigilancia, sino que sugieren la necesidad de analizar todos los factores que afectan a cada variable biológica. Respecto a la calidad del alimento, nuestra hipótesis fue ver si ésta ejercía o no alguna influencia sobre los biomarcadores fisiológicos. Los análisis de correlación mostraron, sin embargo, que no existe relación significativa entre ambas variables, de modo que no podemos suponer que el biomarcador SFG esté condicionado por la calidad de la dieta.

1. Introducción

El equipo de Contaminación Marina del IEO lleva desde los años 90 desarrollando proyectos de investigación sobre la contaminación del litoral español. Gracias al trabajo realizado, el IEO ha sido el encargado, por parte de la Secretaria de Estado de Medio Ambiente, de llevar a cabo el diseño y aplicación de un Plan Nacional de Monitorización de la Contaminación Marina desde el año 2007.

Los programas de vigilancia marina se basan principalmente en el seguimiento espacio-temporal de la concentración de contaminantes químicos en diversas matrices (Bellas *et al.*, 2011a). La exposición de los organismos a diferentes contaminantes ambientales genera respuestas adaptativas en estos con el fin de contrarrestar el efecto negativo que ejercen sobre su salud. Si la exposición se prolonga y los mecanismos de defensa no consiguen neutralizarla, pueden llegar a generarse efectos tóxicos que afecten, a la larga, al crecimiento, reproducción e incluso a la propia supervivencia de los organismos, lo que finalmente supone un deterioro de los ecosistemas (Albentosa *et al.*, 2012). Dado que el principal objetivo de cualquier política de conservación medioambiental es proteger los ecosistemas, es de vital importancia estudiar el conjunto de efectos biológicos que son provocados por la exposición a las sustancias nocivas en el medio. Esta idea ha motivado un cambio en los programas de seguimiento y evaluación de la calidad del medio marino hasta el desarrollo de programas de vigilancia integral que incluyen, además de la cuantificación de los niveles de contaminantes presentes en los organismos, la determinación de los efectos de esos contaminantes mediante medidas biológicas.

De esta forma se ha llegado al desarrollo de los biomarcadores, los cuales actúan como indicadores tempranos del peligro medioambiental derivado de la exposición a compuestos tóxicos. Uno de los más utilizados, que a su vez es el resultado de una variedad de funciones vitales (filtración, ingestión, absorción y respiración) y nos va a permitir conocer qué cantidad de energía destina cada individuo al crecimiento y reproducción, es la predicción del crecimiento, más conocido como *scope for growth* (SFG) (Albentosa *et al.*, 2012). Este biomarcador fisiológico ayuda a medir el grado de estrés al que está sometido un individuo y nos proporciona, además, una respuesta sensible, cuantitativa e integrada que puede relacionarse directamente con el nivel de contaminación en los tejidos (Albentosa *et al.*, 2012).

Los organismos marinos, sobre todo los bivalvos, presentan una alta capacidad de acumulación de contaminantes en sus tejidos, por lo que son comúnmente utilizados en estudios de contaminación. Uno de los más empleados es el mejillón *Mytilus galloprovincialis*, debido principalmente a su naturaleza sedentaria, su distribución geográfica generalizada, su gran capacidad para acumular contaminantes y su facilidad de muestreo (Widdows & Donkin, 1992; Besada *et al.*, 2011a; González-Fernández *et al.*, 2015).

Gracias al programa de seguimiento del IEO durante años se ha podido observar que la aplicación e interpretación de estos biomarcadores ha generado ciertos problemas, derivados principalmente de la influencia sobre los biomarcadores de factores bióticos y abióticos, por lo que convendría realizar un estudio control (sin contaminación) paralelo para así discriminar las alteraciones que son debidas a la presencia de contaminantes de las que son debidas a las variaciones habituales del ciclo anual (Moriarty, 1999). Además de la variabilidad temporal también hay que tener en cuenta la variabilidad espacial producida en programas que abarcan una amplia zona geográfica y con características ambientales diferentes, como es nuestro caso. Con todo ello resulta muy difícil establecer los niveles basales de los biomarcadores, y eso supone que, por ahora, su uso esté limitado.

Se conoce que estas variables actúan como *factores de confusión* que pueden sobreestimar o subestimar la respuesta de los biomarcadores, por lo que es imprescindible establecer ciertos criterios y metodologías estándar a la hora de poner en marcha un programa de monitoreo, garantizando así la posibilidad de comparación entre regiones (Albentosa *et al.*, 2012). En general, se habla de *confusión* cuando existen diferencias importantes entre la relación causa-efecto de dos variables y se puede enmascarar el efecto que dichas variables ejercen por separado. Existen diversos factores de confusión, como la temperatura, edad, el ciclo reproductivo, el sexo o la disponibilidad de alimento (Koehler, 1989; Regoli, 1998; Viarengo *et al.*, 2007; Albentosa *et al.*, 2012). En este trabajo, la variable *causa* considerada es la contaminación y la variable *efecto* es la respuesta biológica a la contaminación (biomarcadores), seleccionándose como factor de confusión la calidad de alimento.

Existen varios índices para medir la calidad del alimento, como el *índice branquias/palpos* y el *índice O:N*. El *índice branquias/palpos* actúa como un indicador

del tipo de alimento predominante en la dieta debido a que el tamaño de estos órganos refleja la alimentación que siguen estos organismos. Se piensa que este índice puede actuar como un rasgo funcional útil al servir para comparar la utilización de ciertos recursos entre las especies y, aunque estudios previos sugieren que la dieta está relacionada con el tamaño relativo de las branquias y palpos labiales en estos organismos, realmente todavía no hay una evidencia firme (Compton *et al.*, 2008). También, dentro de una especie, el tamaño relativo de las branquias y palpos está relacionado con cambios en las condiciones locales de alimentación. Mientras que las branquias se encargan de arrastrar las partículas de las corrientes de agua y transferirlas a los palpos, estos actúan como órgano de selección, discriminando entre partículas orgánicas e inorgánicas (Compton *et al.*, 2008). Conocer el tamaño relativo de los palpos nos ayuda a comparar estaciones entre sí en cuanto a la naturaleza del alimento presente. Esta calidad del alimento que nutre a los mejillones podría constituir un factor de confusión en el uso de los biomarcadores fisiológicos como indicadores de la contaminación.

Por otro lado, para establecer las características metabólicas de una especie o población podemos utilizar el *índice O:N* como indicador fisiológico. Este índice nos permite conocer el tipo mayoritario de sustrato utilizado para obtener energía, que pueden ser proteínas, carbohidratos o lípidos. Con respecto a este índice, tomamos como hipótesis que la composición bioquímica del alimento puede afectar a los biomarcadores fisiológicos que usamos como indicadores de contaminación ambiental al actuar como posible factor de confusión. La utilización de un sustrato u otro, dependiendo de la composición bioquímica del alimento, puede tener un efecto sobre los biomarcadores. Además de indicar la naturaleza del alimento, el índice O:N es un indicador de estrés nutritivo, ya que cuando el alimento es escaso, los organismos utilizan sus propias proteínas como sustratos metabólicos, disminuyendo así el índice O:N. Se ha utilizado un valor bajo del índice O:N (por debajo de 30, aproximadamente) como indicador de estrés nutricional para los bivalvos marinos, ya que muestra una mayor dependencia del catabolismo proteico en lugar de un catabolismo de carbohidratos y lípidos. Nuestra hipótesis inicial sobre este punto es que, en función de la composición de la dieta, el índice puede variar, pues aunque las variaciones estacionales en el índice no siempre deriven de estrés fisiológico, a menudo reflejan los

ajustes metabólicos de la composición de la dieta, así como la demanda de los nutrientes necesarios para sostener la gametogénesis (Huang & Newell, 2002).

Dentro de este escenario, el objetivo principal del presente trabajo es valorar la calidad ambiental de cinco estaciones del programa de seguimiento del IEO (Región Nor-Atlántica) a través de biomarcadores fisiológicos en mejillón silvestre. Además, se pretende estudiar la relación que estos biomarcadores tienen con el estado de los mejillones así como su relación con dos indicadores del tipo/calidad de alimento de los lugares de recolección: el índice branquias/palpos y el índice O:N.

2. Materiales y Métodos.

2.1. Muestreo.

De los cuarenta puntos de muestreo de la red de vigilancia del Plan Nacional de Monitorización de la Contaminación Marina del año 2015, se seleccionaron cinco para este trabajo en función de su contaminación y la ecología de su lugar de recolección: Oia, Pontevedra Raxó, Coruña Mera, Avilés y Santander Pedreña, repartidos a lo largo de la zona de estudio (Figura 1). Una vez recogidos los mejillones se enviaron al IEO de Murcia para la realización del experimento.

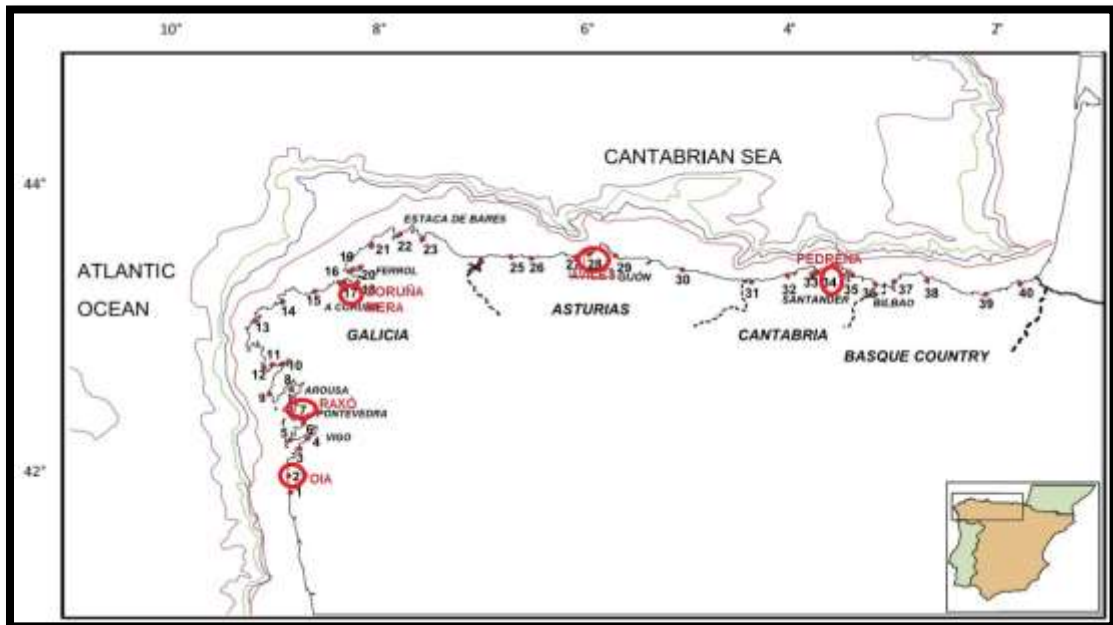


Figura 1. Mapa de la costa N-NW española con la ubicación de los puntos de muestreo (Bellas et al., 2014).

2.2. Descripción de los puntos de muestreo.

Los puntos escogidos han sido estudiados previamente para conocer su nivel de contaminación. A continuación, en la *Tabla 1* se muestran las condiciones de cada una de las estaciones, según [Albentosa et al. 2012](#). Los datos del CPI (índice de contaminación química) fueron sacados de [Bellas et al., 2014](#).

Tabla 1

Puntos de muestreo de mejillones del Programa Español de Seguimiento de Contaminación Marina (Albentosa et al., 2012).

Estación	Código	Localización	Coordenadas		Fuentes de contaminación cercanas	CPI
			Latitud N	Latitud W		
<i>Oia</i>	2	Costa Atlántica	41° 58.212	08° 53.199	Ninguna	-1.0
<i>Pontevedra Raxó</i>	7	Costa Atlántica	42° 24.172	08° 44.968	Industria Cloroalcalina y Fábrica de pasta de papel	1.1
<i>Coruña Mera</i>	17	Costa Atlántica	43° 22.946	08° 20.639	Área urbana	0.47
<i>Avilés</i>	28	Costa Cantábrica	43° 34.759	05° 58.180	Actividades urbanas, industriales y mineras; puerto	3.4
<i>Santander Pedreña</i>	34	Costa Cantábrica	43° 26.929	03° 45.173	Área industrial y urbana	0.7

2.3. Aclimatación en el laboratorio.

Tras recibir los mejillones, estos se mantuvieron en acuarios de 40 L de agua de mar filtrada para su aclimatación a las condiciones de laboratorio de alimentación y temperatura (15°C). Durante este período de aclimatación, los mejillones fueron alimentados con la microalga *Isochrysis galbana*, clone T-ISO, en un sistema aireado para recuperarse de la exposición al aire y del transporte prolongado.

2.4. Diseño del experimento.

Una vez en el laboratorio, se dejaron pasar 12 horas antes de tomar las medidas fisiológicas con el fin de purgar el contenido del tubo digestivo. Tras la purga, los mejillones (15 mejillones por estación) se colocaron en el circuito abierto de fisiología con condiciones estándar de cantidad y calidad de alimento y de temperatura. Este circuito estaba compuesto por vasos de metacrilato enumerados del 1 al 15, con agua de mar a 15 C° y una conexión a una bomba multicanal (ISMATEC MCP) que introducía el alimento. Este sistema era alimentado desde un tanque mezcla; el nivel de este tanque se mantuvo constante mediante una entrada continua de agua de mar filtrada y estaba regulado por una válvula de nivel. La mezcla generada a partir del agua de mar filtrada junto con la dosis continua de alimento permitió una concentración constante de éste, el cual se mantuvo siempre en suspensión mediante aireación.

La primera muestra de heces se recogió y se desechó; a partir de este momento y durante cuatro horas, se tomaron cuatro medidas de aclaramiento y la muestra de heces producidas durante estas cuatro horas. Las muestras de agua para medir la tasa de aclaramiento se tomaban en una probeta de plástico de 100 ml y se transferían a unas duquesitas para después analizarlas con el contador de partículas Coulter Counter Multisizer III (MSIII), para determinar así su concentración (número de partículas y volumen).

Transcurridas cuatro horas se tomaron las muestras de heces con la ayuda de una micropipeta, depositando su contenido en tubos falcon previamente etiquetados. Estos se mantuvieron en el congelador a – 28° C hasta la filtración de las heces. Cuatro horas después del inicio aproximadamente, tras las pruebas de aclaramiento, los individuos fueron trasladados a unos acuarios grandes de metacrilato, dentro de los cuales estaban dispuestos los respirómetros de 300 ml para tomar las medidas de respiración. Se tomaron cuatro medidas y al final de la prueba se tomaron dos réplicas de 10 ml para los análisis de amonio. Al final de la jornada los individuos fueron llevados a unos acuarios de 40 ml y al día siguiente se realizó la toma de sus medidas biométricas y su disección.

2.5. Medidas fisiológicas.

- Condiciones estandarizadas.

El balance energético de los mejillones expuestos se estimó bajo las siguientes condiciones: salinidad de 36‰, temperatura de 15°C y concentración de alimento (microalga *I. galbana*, clone T-ISO) de 0.990 mg MO/L (materia orgánica) y 0.502 mg MI/L (materia inorgánica).

- Tasa de aclaramiento (CR) y Tasa de ingestión (IR).

La *tasa de aclaramiento* se define como el volumen de agua totalmente aclarado de partículas por unidad de tiempo, y se calcula a partir de la variación en la concentración del agua que circula a través de las cámaras experimentales del circuito abierto de fisiología. Se tomaron cuatro medidas por cada estación y se realizaron los contajes en el contador MS III.

$$CR = f * (C_e - C_s) / C_e$$

donde **CR** es la tasa de aclaramiento expresada en L por individuo y h, **f** es el flujo expresado en L/h, **C_e** es la concentración de entrada y **C_s** es la concentración de salida, ambas expresadas en unidades de volumen por L.

La *eficiencia del funcionamiento de las branquias* refleja la capacidad filtradora que tiene un organismo por unidad de órgano filtrador, es decir, por unidad de branquia. Esta variable se calculó siguiendo la fórmula: **CR / Peso seco branquia**. La *tasa de ingestión* (orgánica) se define como la cantidad de alimento (orgánico) ingerido por unidad de tiempo y se obtiene a partir del producto de la tasa de aclaramiento por la concentración de alimento. El cálculo se realizó de acuerdo con la expresión:

$$IR = CR * C_e$$

donde **IR** es la tasa de ingestión expresada en unidades de materia orgánica ingerida por individuo, **CR** es la tasa de aclaramiento y **C_e** es la concentración de entrada.

- Eficiencia de absorción (AE).

Este parámetro representa la eficiencia con la que el organismo absorbe la materia orgánica del alimento que ha ingerido, y se calcula a partir del porcentaje de materia orgánica del alimento y de las heces, siguiendo la expresión de [Conover \(1966\)](#):

$$AE = (F - E) / ([1 - E] F)$$

donde **F** es el porcentaje de materia orgánica (peso seco libre de cenizas) del alimento y **E** es el porcentaje de materia orgánica en las heces. Las heces producidas durante un período de cuatro horas, bajo condiciones estandarizadas, fueron recolectadas con la ayuda de una pipeta y congeladas hasta su análisis. Luego se filtraron utilizando filtros Whatman GF/C previamente rotulados, lavados, precalcificados y tarados. Los filtros se lavaron con formiato amónico 0.5 M; posteriormente se secaron (24 h a 100°C), se calcinaron (1 h a 450°C) y se volvieron a pesar. Se consideró el porcentaje de materia orgánica de las heces como la diferencia entre el peso seco y el peso calcinado, expresado como porcentaje del peso seco. Al mismo tiempo que se procesaban las muestras de heces se procesaron también las muestras de alimento.

- Tasa de absorción (AR).

Su valor se obtiene multiplicando la tasa de ingestión por la eficiencia de absorción, y se define como la cantidad de alimento absorbido por unidad de tiempo.

- Tasa de respiración (RR).

La *tasa de respiración* se midió en los respirómetros. La concentración de oxígeno se midió utilizando una sonda YSI 5905 conectada a un oxímetro YSI 52. Se tomaron cuatro medidas por individuo cada 50 minutos, aproximadamente. La tasa de respiración (RR), expresada en mg de oxígeno consumido por individuo y por unidad de tiempo, se calculó siguiendo la ecuación:

$$RR = [(O_2 \text{ bl} - O_2 \text{ exp}) / t] * V$$

donde **O₂ bl** y **O₂ exp** son las concentraciones de oxígeno en el blanco y en los respirómetros experimentales, expresadas en mg O₂/ml, **t** es el tiempo expresado en h y **V** es el volumen expresado en ml.

- Tasa de Excreción (ER).

Para determinar la *tasa de excreción*, los mejillones se colocaron de forma individual en el interior de los respirómetros con agua de mar filtrada, sellados y mantenidos a temperatura constante (15°C). También se colocó un recipiente vacío

como blanco por cada estación. Estas condiciones se mantuvieron durante el tiempo que duró la prueba de respiración. Al finalizar, se tomaron dos muestras de 10 ml de cada uno de los respirómetros y de los blancos. Posteriormente la valoración se realizó utilizando una sonda de amonio Orion Dual Star™ pH/ISE, de Thermo Scientific. La tasa de excreción (ER) se calculó siguiendo la siguiente expresión:

$$ER = [(NH_4^+ \text{ exp} - NH_4^+ \text{ bl}) / t] * V$$

donde la **ER** se expresa como µg de amonio producidos por unidad de tiempo, **NH₄⁺ exp** es la concentración de amonio experimental expresada en µg NH₄⁺/ml, **NH₄⁺ bl** es la concentración de amonio del blanco expresada en µg NH₄⁺/ml, **t** es el tiempo expresado en h y **V** es el volumen de los respirómetros expresado en ml.

- Estandarización.

Las tasas fisiológicas normalmente se estandarizan para un individuo de 1g de peso seco de carne utilizando el exponente alométrico $b = 0.67$, que relaciona la variación de las tasas fisiológicas con el tamaño (peso) del animal (Bayne & Newell, 1983). Sin embargo, teniendo en cuenta el fuerte efecto que el estado de condición de los mejillones ejerce sobre las tasas estandarizadas a peso, todas las variables fisiológicas fueron estandarizadas a talla, en concreto para un individuo de 60 mm de longitud, utilizando el exponente alométrico $b = 1.7$ (Filgueira *et al.*, 2008). Las tasas fisiológicas fueron convertidas en equivalentes de energía ($J \text{ ind}_{st}^{-1} \text{ h}^{-1}$) a fin de estimar el balance energético. Se utilizaron los siguientes equivalentes energéticos:

- ✓ 1 mg de materia orgánica equivale a 23 J (Widdows & Johnson, 1988).
- ✓ 1 mg de oxígeno equivale a 0.6998 ml de oxígeno (Ansell, 1973).
- ✓ 1 ml de oxígeno equivale a 20.33 J (Widdows & Johnson, 1988).
- ✓ 1 mg de amonio equivale a 19.4 J (Widdows & Johnson, 1988).

- Balance energético (SFG).

Una vez estandarizadas las tasas fisiológicas, se utilizó la ecuación del balance energético para la estimación del SFG.

$$I = F + E + R + P \rightarrow P (SFG) = (I - F) - E - R = (I * AE) - E - R$$

donde **I** es el consumo de energía disponible en el alimento, **F** es la energía perdida en heces, **AE** es la eficiencia de absorción, **R** es energía consumida en la respiración, **E** es energía eliminada durante la excreción y **P** es la energía disponible para el crecimiento somático y gonadal (SFG).

2.6. Medidas biométricas.

La morfología de la concha se definió a través de la relación entre las tres dimensiones de ésta (L/H, L/W y H/W) (Alunno-Bruscia *et al.*, 2001): Longitud (L, máxima medida a lo largo del eje antero-posterior), altura (H, eje máximo dorsoventral) y anchura (W, eje lateral máximo). El grosor de la concha (ST), considerado como la masa media de la concha por unidad de área, se ha demostrado que da una buena indicación de la edad relativa de los bivalvos (Frew *et al.*, 1989; Yap *et al.*, 2003). El área de superficie de la concha se midió gravimétricamente cubriendo las conchas con láminas de aluminio cuyos pesos fueron directamente relacionados con el peso de un papel de aluminio rectangular de área conocida (Griffin *et al.*, 1980).

Los individuos fueron diseccionados y se extrajeron cuidadosamente las branquias, el manto (donde se aloja la gónada), la glándula digestiva y demás tejidos blandos, pesándose y almacenándose en sus recipientes correspondientes. Luego se secaron a 100° C durante 24 h para obtener la masa del tejido seco individual, y se calcularon algunos índices biológicos generales:

- ✓ Índice Branquias (Gill Index (GI) = (*peso seco branquias / total de carne en peso seco*) * 100
- ✓ Índice Gonadosomático (GSI) = (*peso seco manto / total de carne en peso seco*) * 100
- ✓ Índice Hepatosomático (HI) = (*peso glándula digestiva / total de carne en peso seco*) * 100

La condición del mejillón se evaluó a través de dos índices de condición sustancialmente diferentes: el de la concha (CI_{Shell}) y el volumétrico (CI_{Vol}). De acuerdo con Crosby y Gale (1990):

- ✓ Índice de Condición (CI_{Shell}) = (*peso total carne / peso seco corteza seca*) * 100
- ✓ Índice de Condición volumétrico (CI_{Vol}) = (*carne seca total en peso / volumen del mejillón*)* 100

El volumen del mejillón, expresado en ml y considerado como la cavidad interna del mejillón, se calculó a partir de las siguientes dimensiones de la concha:

$$\text{Volumen} = 4/3 * \Pi * (L/2) * (H/2) * (W/2).$$

2.7. Indicadores de la calidad del alimento.

Por un lado, el índice branquias/palpos se calculó dividiendo el peso total de la branquia entre el peso total de los palpos. Por otro lado, el índice O:N se calculó dividiendo los átomos de O₂ respirado entre los átomos de N₂ excretado. Los átomos se calcularon gracias al número de moles de NH₄⁺ y O₂, y con la ayuda del Número de Avogadro.

2.8. Estadística.

Los resultados obtenidos fueron analizados utilizando el paquete estadístico Statgraphics statistical. Se aplicó el análisis de la varianza (ANOVA) para comparar las diferencias existentes en las tasas de aclaramiento, ingestión, absorción, excreción, respiración y SFG entre las cinco estaciones, así como las diferencias entre las variables biométricas. La homogeneidad de las varianzas fue examinada utilizando el test de Levene ($p < 0.05$). Cuando las varianzas no fueron homogéneas, los datos fueron modificados mediante un análisis no paramétrico (Kruskal-Wallis). Las diferencias entre estaciones se establecieron usando los test de rango múltiple Tukey y DMS. Los datos expresados como porcentajes fueron sometidos a una transformación angular ($\sqrt{\text{porcentaje}}$).

3. Resultados.

3.1. Parámetros fisiológicos.

3.1.1. Análisis de ANOVA.

En la *Tabla 2* se muestran los resultados de los parámetros fisiológicos estudiados y el resultado del ANOVA realizado.

Tabla 2

*Parámetros fisiológicos (valor de las medias y desviación típica) de los mejillones de las cinco estaciones. CR tasa de aclaramiento; IR tasa de ingestión; AE eficiencia de absorción (expresada en porcentaje); AR tasa de absorción; ER tasa de excreción; AsR tasa de asimilación; RR tasa de respiración; Ef. Branq eficiencia de las branquias y SFG margen de crecimiento (scope for growth). Todos los parámetros se encuentran estandarizados a talla (*L-st*, para un individuo de 60 mm de longitud). Superíndices distintos indican que existen diferencias significativas entre los grupos.*

	Oia	Raxó	C Mera	Avilés	Pedreña
CR <i>L-st</i>	1.86 ± 0.62 ^a	2.76 ± 0.68 ^{bc}	2.13 ± 0.70 ^{ab}	3.04 ± 0.73 ^c	2.60 ± 0.72 ^{bc}
Ef. Branq	28.02 ± 10.81 ^a	41.02 ± 11.36 ^{bc}	30.81 ± 9.66 ^{ab}	49.91 ± 15.30 ^c	43.89 ± 12.79 ^c
IR <i>L-st</i>	42.46 ± 14.19 ^a	62.91 ± 15.45 ^{bc}	48.46 ± 16.03 ^{ab}	69.24 ± 16.67 ^c	58.19 ± 16.28 ^{bc}
AE (%)	65.40 ± 7.52 ^c	56.69 ± 5.19 ^b	60.29 ± 4.62 ^{bc}	35.90 ± 11.57 ^a	78.31 ± 7.23 ^d
AR <i>L-st</i>	27.67 ± 8.95 ^{ab}	35.78 ± 9.53 ^b	28.90 ± 8.42 ^{ab}	23.61 ± 6.23 ^a	45.76 ± 10.94 ^c
ER <i>L-st</i>	0.23 ± 0.05 ^a	0.34 ± 0.07 ^b	0.39 ± 0.11 ^{bc}	0.44 ± 0.09 ^c	0.36 ± 0.11 ^{bc}
AsR <i>L-st</i>	27.45 ± 8.93 ^{ab}	35.44 ± 9.53 ^b	28.51 ± 8.42 ^{ab}	23.18 ± 6.22 ^a	45.40 ± 10.90 ^c
RR <i>L-st</i>	4.78 ± 1.09 ^a	8.61 ± 1.21 ^c	5.99 ± 0.65 ^b	6.78 ± 0.89 ^b	6.83 ± 1.67 ^b
SFG <i>L-st</i>	22.67 ± 8.95 ^{ab}	26.83 ± 9.64 ^b	22.52 ± 8.13 ^{ab}	16.40 ± 6.12 ^a	38.56 ± 10.47 ^c

Tanto la *tasa de aclaramiento* como la eficiencia branquial muestran las mismas diferencias significativas entre estaciones, al igual que sucede con la tasa de ingestión, pudiendo diferenciar por un lado el grupo formado por Oia y Mera (*a*) con valores más bajos y, por otro, el formado por Raxó, Avilés y Pedreña (*c*) (*Figura 2*).

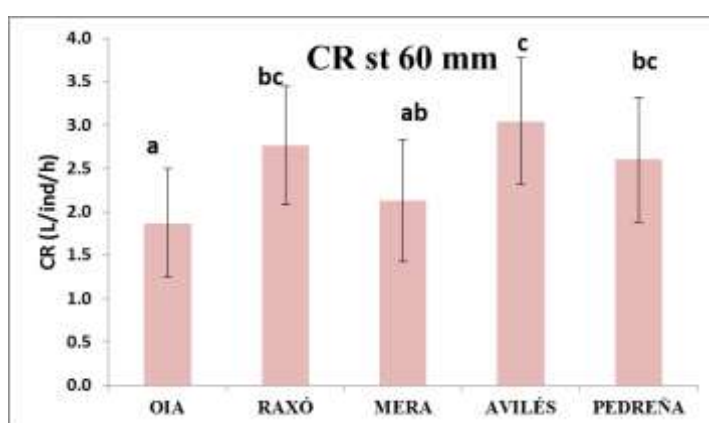


Figura 2. Diferencias significativas entre estaciones según el parámetro “tasa de aclaramiento” estandarizado a talla.

Respecto a la *eficiencia de absorción*, se aprecian grandes diferencias entre Avilés (*a*) y Pedreña (*d*) con el resto de estaciones (*Figura 3*). La menor AE se observó en Avilés con una eficiencia inferior al 40%, seguida del grupo de Raxó, Mera y Oia, presentando el valor más alto Pedreña con casi un 80% de AE.

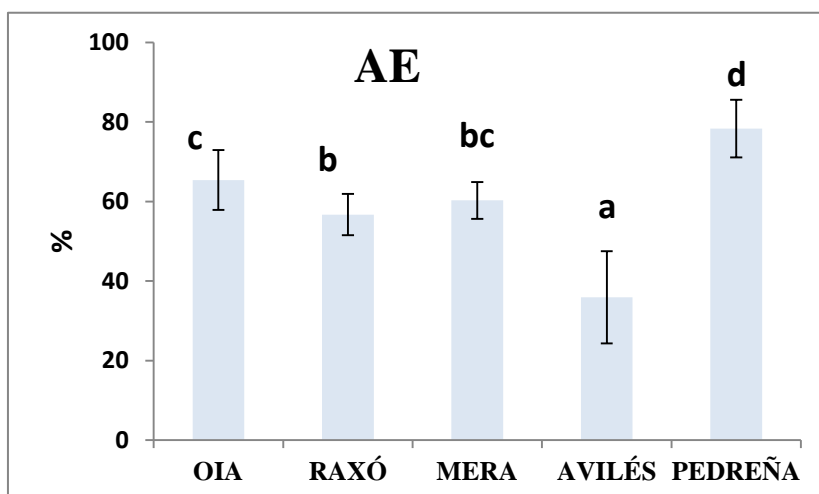


Figura 3.
Diferencias significativas en la eficiencia de absorción entre estaciones.

Tanto la *tasa de absorción* como la de *asimilación* reflejan diferencias significativas entre Pedreña (c) y las demás estaciones (a, b), siendo Avilés la estación con el valor más bajo. En cuanto a la *tasa de excreción*, Oia (a) se separa significativamente del resto, con un valor de 0.23 frente al 0.44 de Avilés (Tabla 2., Figura 4). Aun así, su contribución al balance energético final es mínima.

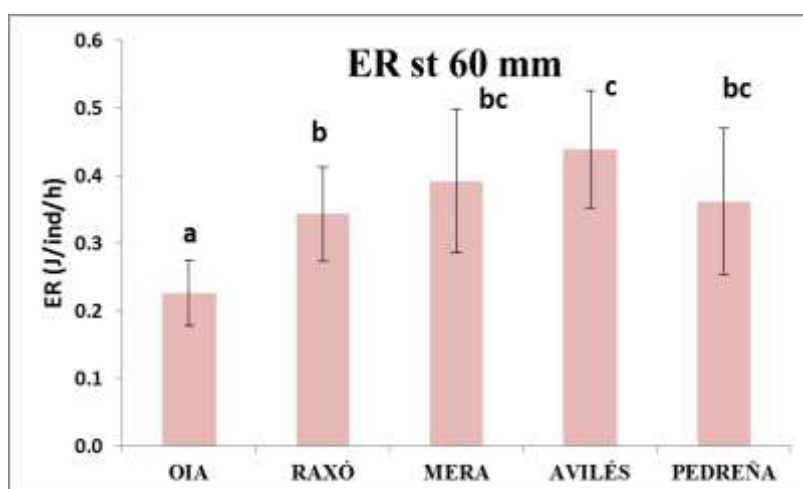


Figura 4.
Diferencias significativas en la tasa de excreción.

La *tasa de respiración* muestra diferencias significativas entre Raxó, que presenta el valor más elevado (c), y el resto de estaciones, destacando a Oia con un valor inferior a 5 J/ind/h. El *balance energético* final refleja grandes diferencias entre Avilés (a) y Pedreña (c) (Figura 5), lo que sugiere que los individuos de esta última destinan una mayor cantidad de energía al crecimiento que el resto (ver Tabla 2.). Podemos, por tanto, clasificar las estaciones, en función del SFG, en tres grupos: el valor más bajo en Avilés, el medio en Mera, Oia y Raxó, y el más alto en Pedreña.

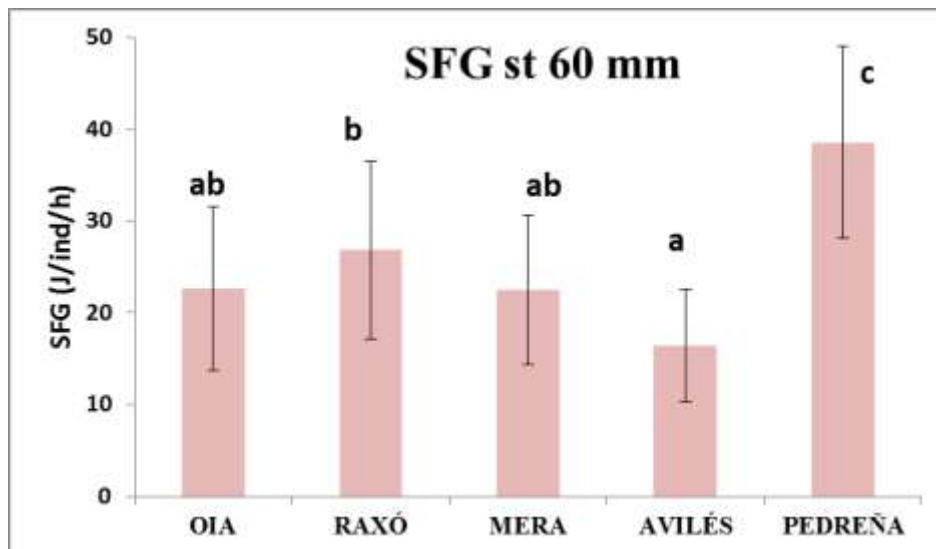


Figura 5. Balance energético de las cinco estaciones mostrando sus diferencias significativas.

Sobre el indicador fisiológico de la calidad de alimento O:N se diferencian dos grupos. Por un lado, Oia y Raxó (*b*) con valores superiores a 30 y, por otro, Mera, Avilés y Pedreña (*a*), con valores inferiores (Figura 6).

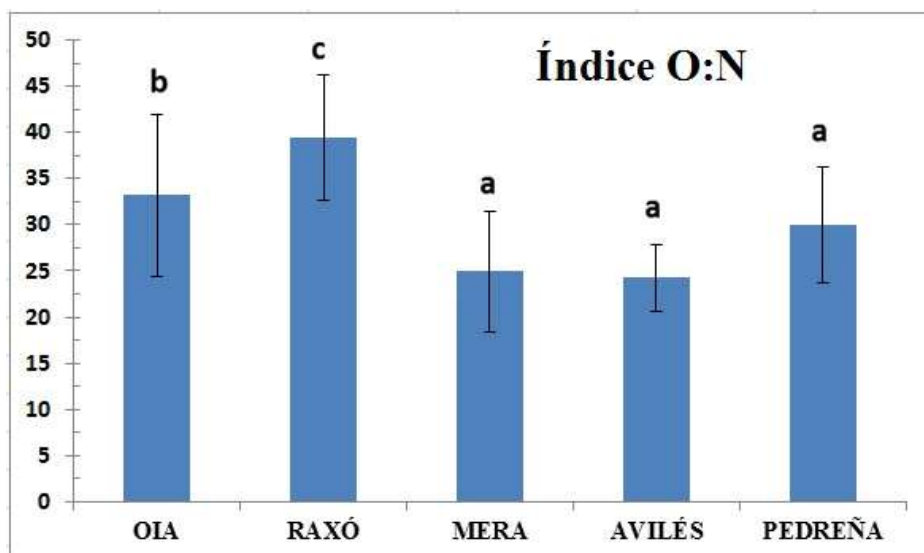


Figura 6. Índice O:N para las cinco estaciones de estudio.

3.1.2. Análisis de correlación.

Tanto la *tasa de aclaramiento* como la *eficiencia de las branquias* parecen estar relacionadas positivamente con el resto de variables fisiológicas excepto con la eficiencia de absorción, cuya relación es negativa, suponiendo que a mayor tasa de aclaramiento, menor eficiencia. Además de reflejar una relación negativa con estas variables, la *eficiencia de absorción* también muestra una correlación negativa con la *tasa respiratoria*, la cual parece estar relacionada de manera positiva con el resto de variables salvo la ya mencionada y la predicción del crecimiento (SFG), con las que no hay correlación. La *tasa de excreción*, por otro lado, parece no estar relacionada con la *tasa de absorción* y *asimilación*. El SFG muestra una relación positiva con el resto de variables (excepto la tasa de excreción), reflejando que cuanto mayor es el valor de la tasa, mayor es la predicción del crecimiento.

3.2. *Parámetros biométricos.*

3.2.1. Análisis de ANOVA.

Los *índices corporales* sobre la morfología de la concha muestran diferencias significativas entre estaciones en función del índice escogido, como puede verse en la *Tabla 3*. Según los resultados obtenidos, los individuos de Avilés presentan conchas más gruesas que el resto.

Tabla 3

Parámetros biométricos (valor de las medias y desviación típica) de los mejillones de las cinco estaciones. L/H, L/W y H/W índices de morfología de la concha; ST grosor de la concha; CI_{Shell}, CI_{vol} índice de condición e índice de condición volumétrico; GI, GSI y HSI índices corporales; RI índice del resto; Gill_Palp índice branquias/palpos. Superíndices distintos indican que existen diferencias significativas entre los grupos.

	Oia	Raxó	C Mera	Avilés	Pedreña
L/H	2.05 ± 0.11 ^c	1.79 ± 0.09 ^a	1.82 ± 0.10 ^{ab}	1.93 ± 0.17 ^b	1.72 ± 0.10 ^a
L/W	2.85 ± 0.22 ^{bc}	3.03 ± 0.21 ^c	2.72 ± 0.16 ^b	2.35 ± 0.17 ^a	2.83 ± 0.18 ^b
H/W	1.39 ± 0.12 ^b	1.69 ± 0.16 ^d	1.50 ± 0.13 ^{bc}	1.23 ± 0.17 ^a	1.65 ± 0.15 ^{cd}
ST mg/cm ²	121.85 ± 11.04 ^a	100.46 ± 14.85 ^a	181.50 ± 33.69 ^c	175.84 ± 39.88 ^{bc}	152.72 ± 23.71 ^b
CI_{shell}	9.82 ± 0.82 ^b	22.86 ± 3.90 ^c	10.15 ± 1.55 ^b	8.56 ± 2.74 ^a	9.12 ± 1.42 ^{ab}
CI_{vol}	3.80 ± 0.49 ^{ab}	6.10 ± 0.60 ^c	4.32 ± 0.62 ^b	3.67 ± 0.81 ^a	3.93 ± 0.50 ^{ab}
GI	13.91 ± 1.79 ^c	7.82 ± 1.82 ^a	10.08 ± 1.52 ^b	9.49 ± 1.88 ^{ab}	9.80 ± 1.73 ^b
GSI	14.21 ± 3.43 ^a	18.81 ± 6.62 ^b	18.68 ± 3.55 ^b	15.13 ± 3.39 ^{ab}	12.83 ± 4.02 ^a
HSI	17.95 ± 1.35 ^a	17.17 ± 3.11 ^a	17.46 ± 2.35 ^a	15.79 ± 2.68 ^a	18.26 ± 3.35 ^a
RI	51.80 ± 3.62 ^a	54.17 ± 4.44 ^{ab}	51.68 ± 2.93 ^a	57.19 ± 5.73 ^b	57.26 ± 3.21 ^b
Gill_Palp	6.79 ± 1.55 ^b	4.68 ± 2.47 ^a	5.25 ± 2.13 ^{ab}	4.15 ± 1.15 ^a	5.89 ± 1.85 ^{ab}

El *grosor de la concha* es una variable relacionada con la edad relativa del individuo, considerando que cuanto mayor es el grosor de la concha, mayor es la edad. En nuestro caso, el análisis diferenció Oia y Raxó (*a*) por un lado, y Mera, Avilés y Pedreña por otro. Mera y Avilés presentaron los niveles más altos de engrosamiento (ver *Tabla 3*). De las cinco estaciones, Avilés y Pedreña mostraron un *índice de condición* menor (*a*), con respecto a Oia y Mera. Destaca el índice de condición de Raxó, que fue significativamente superior, llegando a duplicar el índice de las otras estaciones (*Figura 7*).

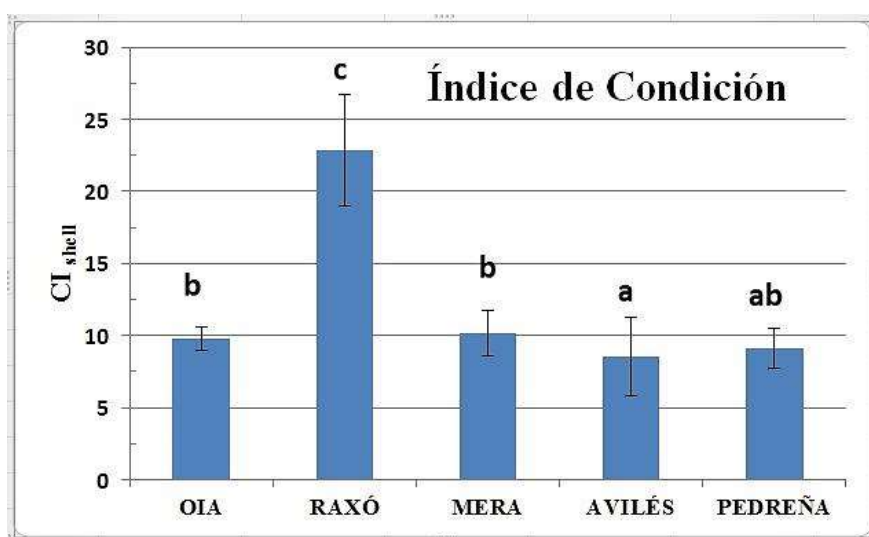


Figura 7.
Diferencias significativas en el índice de condición (CI_{Shell}) entre las cinco estaciones.

En referencia a los *índices corporales*, se aprecian diferencias significativas en el índice de branquias entre estaciones. Mientras que Oia presenta un valor mayor que el resto, es decir, por lo general branquias más grandes respecto al peso total del individuo, con Raxó sucede todo lo contrario. Podríamos entonces separar las estaciones en tres grupos, situando a Oia (*c*) por un lado, Raxó (*a*) por otro, y, finalmente, Mera, Avilés y Pedreña (*b*). Las diferencias entre estaciones para el *índice gonadosomático* nos permiten situar a Oia, Avilés y Pedreña (*a*) en un grupo, y Raxó y Mera (*b*) en otro, mientras que para el *índice hepatosomático* el análisis de ANOVA no encontró diferencias significativas entre las estaciones de estudio, como puede comprobarse en la *Tabla 3*.

Sobre el indicador biológico de la calidad de alimento, el *índice branquias-palpos* distingue por un lado Raxó y Avilés (*a*), y por otro Oia, Mera y Pedreña (*b*) (ver *Tabla 3*).

3.2.2. Análisis de correlación.

El *índice de condición* muestra una relación significativa con el resto de parámetros biométricos excepto con el índice branquias/palpos y el índice hepatosomático. A su vez, se ha visto una relación directamente proporcional con el índice H/W y el índice gonadosomático, e inversamente proporcional con el índice GI y el índice L/H.

Por otro lado, el *índice L/H* muestra una relación significativa e inversa con el índice H/W, el índice de branquias y, como se menciona, con el índice de condición. Sin embargo, el *índice H/W* no presenta correlación con el índice de branquias, pero sí lo hace con la variable del grosor de la concha. Por otro lado, el grosor de la concha presenta una relación negativa con el índice de condición (a los individuos –menor grosor de la concha- presentan un mayor índice de condición). Además de las relaciones ya mencionadas, el *índice de branquias* (GI) presenta una correlación negativa con el índice gonadosomático, pero no muestra relación alguna con el índice hepatosomático. Sin embargo, estos *índices biológicos* están relacionados entre sí de forma negativa (al aumentar el valor de uno, disminuye el del otro, y viceversa).

Respecto al *índice branquias/palpos*, éste sólo muestra una correlación positiva con el índice GI, pero con el resto de variables biométricas no se ha encontrado relación significativa.

3.3. Relación de los biomarcadores fisiológicos con la biometría.

La *tasa de aclaramiento* muestra una relación significativa inversamente proporcional con el índice de branquias, al igual que la tasa de excreción y la tasa de respiración, pero no con el resto de parámetros. La *tasa de respiración* muestra además una correlación positiva con el índice de condición, pero no con la variable del grosor de la concha (ST). Sin embargo, el análisis muestra una relación negativa con el índice branquias/palpos, indicando que a mayor tasa respiratoria, menor índice. La tasa de respiración es la única variable fisiológica que muestra correlación positiva con el índice gonadosomático. Por otro lado, tanto la *tasa de absorción* como el *SFG* parecen estar relacionados con el índice hepatosomático, pero no con el resto de variables biométricas, salvo el índice L/H de morfología de la concha, que además refleja una relación inversa con todos los parámetros fisiológicos (excepto la tasa de aclaramiento).

La *tasa de excreción* muestra una correlación positiva con la variable del grosor de la concha, pero no con el índice de condición, al revés de lo que sucede con la tasa respiratoria.

3.4. Relación de los biomarcadores fisiológicos con los índices de calidad.

En referencia a los marcadores de la calidad de alimento, tanto la tasa de respiración como la eficiencia de absorción parecen estar relacionadas con el *índice branquias/palpos*. Mientras que la eficiencia de absorción refleja una relación positiva, dando a entender que a mayor eficiencia, mayor índice, con la tasa de respiración sucede todo lo contrario. La tasa de respiración también se relaciona con el *índice O:N*, pero al revés que con el índice branquias-palpos, pues el valor aumenta conforme lo hace la tasa respiratoria. Este índice también está relacionado con la tasa de excreción pero de manera negativa. Con el resto de variables no se han encontrado correlaciones positivas.

3.5. Relación de los biomarcadores fisiológicos con la contaminación medida como CPI.

Los análisis de correlación muestran una relación significativa entre la tasa de aclaramiento, la tasa de excreción y la eficiencia de las branquias con el nivel de contaminación. En todos los casos las correlaciones fueron positivas, lo que indica que cuanto mayor es el nivel de contaminación en un medio, mayor son estas tasas.

4. Discusión.

4.1. SFG.

Los datos presentados en este trabajo se encuentran enmarcados en el Programa de Seguimiento del IEO. En trabajos previos publicados por el IEO ([Albentosa et al., 2012](#); [Bellas et al., 2014](#); [González-Fernández et al., 2015](#)), los datos de SFG obtenidos fueron del mismo orden de magnitud, utilizándose en todos ellos condiciones de laboratorio normalizadas similares (temperatura y cantidad y calidad de comida).

Tal y como puede apreciarse en la *Tabla 4*, los valores relativos del SFG entre las cinco estaciones cambian cada año. La estación con un mayor nivel de contaminación, Avilés, presenta el nivel más bajo en el muestreo del año 2015 pero el más alto en el año 2010. Teniendo en cuenta que los niveles de contaminantes son muy similares de un

año a otro, la variabilidad tan grande observada entre los años de estudio podría reflejar la existencia de otros factores, no contemplados en estos estudios, responsables de las variaciones en el SFG.

Tabla 4

Valores de SFG obtenidos por la red de seguimiento del IEO desde 2007. Con el fin de comparar los resultados de estos trabajos con los obtenidos en el presente estudio, se ha incluido una columna con nuestros valores de SFG. Los datos presentados en *Albentosa* (2012) corresponden con los estudios llevados a cabo durante los años 2007 y 2008; los datos de *Bellas* (2014) recogen los datos del año 2010, y los datos de *González-Fernández* (2015) recogen los datos del año 2012. En rojo aparecen los valores relativos dentro de cada año.

Año de muestreo	Albentosa <i>et al.</i> 2012		Bellas <i>et al.</i> 2014	González-Fernández <i>et al.</i> 2015	TFM 2016
	2007	2008	2010	2012	2015
<i>Oia</i>	37.13 (1)	-	31.01 (1)	25.6 (1)	22.67 (0.6)
<i>Pontevedra Raxó</i>	19.2 (0.5)	9.6 (0.3)	23.52 (0.8)	26.4 (1)	26.83 (0.7)
<i>Coruña Mera</i>	-	22.99 (0.8)	14.80 (0.5)	-	22.52 (0.6)
<i>Avilés</i>	32.7 (0.9)	18.5 (0.6)	29.52 (1)	21.6 (0.8)	16.40 (0.4)
<i>Santander Pedreña</i>	-	28.6 (1)	17.07 (0.6)	18.9 (0.7)	38.56 (1)

Trabajos previos (*Widdows et al., 2002*) establecieron posibles niveles de estrés en función del valor de SFG obtenido. Así, un valor superior al 60% del valor de referencia indica un nivel bajo de estrés (es decir, un alto potencial para el crecimiento), valores entre el 20-60% del valor de referencia reflejan una situación de estrés moderado, y, finalmente, valores inferiores al 20% supondrían la exposición a un nivel elevado de estrés (bajo potencial de crecimiento). Sin embargo, de acuerdo con *Bellas et al., 2014*, consideramos el valor de referencia establecido por *Albentosa et al., 2012*, reconociéndose tres grupos:

- ✓ SFG > 18 J/ind/h → zona libre de estrés
- ✓ SFG entre 6-18 J/ind/h → zona de estrés moderado
- ✓ SFG < 6 J/ind/h → zona con un alto nivel de estrés

Por lo general, según el ICES 2013, un valor de SFG superior a 25 J/ind/h sería indicativo de un buen estado de salud de las poblaciones y ecosistemas. En nuestro caso, guiándonos por la referencias establecidas por [Albentosa et al., 2012](#), Oia, Raxó, Mera y Pedreña son zonas “libres” de estrés, mientras que Avilés presenta unos niveles moderados. Estos datos concuerdan con lo que conocemos de las características ambientales resultado del impacto antropogénico de cada una de las estaciones, siendo Avilés la región con mayor contaminación. Sin embargo, la correlación entre el CPI y el SFG no fue significativa, por lo que deducimos que el gradiente de contaminación no supone un gradiente de SFG.

4.2. Relación del SFG con la biometría.

El índice de condición en bivalvos depende de las condiciones tróficas, el estado y la salud reproductiva. Por tanto, al ser un indicador de estrés nutritivo y patológico, así como de la actividad sexual, nos proporciona información sobre el estado fisiológico del organismo ([Albentosa et al., 2012](#)). Por lo general indica el estado nutritivo de los organismos al estar asociado con el peso del animal, pero hay que tener en cuenta la influencia que algunos factores ejercen sobre él, como la temperatura, cantidad y calidad de alimento y el estado reproductivo ([García-García et al., 2001](#)). En general, el SFG en mejillones está inversamente relacionado con el estado de condición (CI) y el grosor de la concha (ST), es decir, disminuye a medida que ambos aumentan ([Albentosa et al., 2012](#)). Sin embargo, en nuestro trabajo no se refleja una relación significativa entre dichas variables.

4.3. Relación de los biomarcadores fisiológicos con los índices de calidad.

4.3.1. Índice O:N.

La relación entre el oxígeno consumido y el nitrógeno excretado puede proporcionar un índice de equilibrio entre las tasas de catabolismo de proteínas, carbohidratos y lípidos en los tejidos del animal. Además, facilita una integración útil para comprender el nivel de actividad del metabolismo oxidativo y de proteínas del animal ([Bayne et al., 1976](#)). Bayne (1976) describió los cambios estacionales en la relación O:N para una población de *M. edulis* en la costa del mar del norte de Inglaterra. En junio y julio, después del desove, la proporción tomó valores más altos, lo que indicaba una utilización marcada de lípidos en un momento donde el glucógeno en el cuerpo era escaso y la síntesis de proteínas estaba activa. En invierno y primavera, cuando los

sustratos proteicos contribuyeron entre el 72 y el 83% a la pérdida total de energía durante el ayuno, el ratio O:N se redujo a valores muy bajos. En verano y otoño, cuando la contribución de carbohidratos y lípidos aumentó entre 70 y 100%, la relación O:N aumentó notablemente.

En general, un valor bajo del índice O:N es indicativo de una mayor degradación proteica respecto al catabolismo de carbohidratos y lípidos, mientras que un valor alto indica justo lo contrario. En *M. edulis* se ha citado un valor de 50 como representativo de animales saludables, siendo un valor de 30 o inferior indicativo de que el animal se encuentra bajo condiciones de estrés y con un catabolismo proteico relativamente elevado. En lo referente a este trabajo obtuvimos índices con valores por debajo de 30 (Mera, Avilés y Pedreña) y valores por encima (Oia y Raxó), lo que supone un mayor metabolismo proteico en las tres primeras estaciones.

Otros autores calcularon coeficientes O:N para *Donax vittatus* a temperaturas elevadas y expresaron que la relación podría ser de utilidad para describir la condición fisiológica del animal. Estos estudios sugieren, pues, que las integraciones de consumo de oxígeno y excreción de nitrógeno pueden ayudar en la comprensión de las interacciones entre el metabolismo oxidativo y el metabolismo del nitrógeno y, por lo tanto, pueden facilitarnos una importante herramienta ecológica (Bayne *et al.*, 1976).

4.3.2. Índice branquias/palpos.

Las especies de bivalvos bentónicos no sólo pueden seleccionar su dieta basándose únicamente en el tamaño de las partículas, sino que también tienen el potencial para hacerlo basándose en la calidad de las partículas. La función principal de las branquias es atrapar partículas de las corrientes de agua y transferirlas a los palpos, mientras que los palpos labiales se encargan predominantemente de ordenar las partículas orgánicas e inorgánicas y dirigir las orgánicas hacia la boca para ser ingeridas, desviando las inorgánicas a la formación de pseudoheces (Compton *et al.*, 2008).

A partir de su trabajo, estos autores pudieron establecer una correlación entre el tamaño relativo de branquias y palpos y las trazas de isótopo de carbono, sugiriendo que estos organismos son capaces de seleccionar su dieta. Su trabajo de seguimiento en Roebuck Bay les permitió describir que los bivalvos seleccionan diferentes dietas a

partir de un conjunto compartido de recursos y, por lo tanto, disminuyen la competencia por el alimento.

Los tamaños de branquias y palpos, en general, reflejan la dieta que han seguido los organismos en su hábitat. Un tamaño mayor de los palpos supone que el organismo se ha visto obligado a aumentar el tamaño de estos para poder discriminar la materia inorgánica de la orgánica en su entorno. En nuestro caso, los valores más altos se obtuvieron en Oia y Pedreña, pues las branquias mostraron un mayor grado de desarrollo respecto a los palpos. Un mayor tamaño de las branquias es indicativo de que la calidad del alimento en el medio es relativamente buena, pues el organismo necesita discriminar menos cantidad de materia. Por otro lado, un mayor desarrollo de los palpos (como muestran Avilés o Raxó, por ejemplo, con un índice menor) equivale a que el individuo necesita destinar más tiempo a separar la materia orgánica de la inorgánica, en principio porque la cantidad de materia inorgánica es mayor que en otros lugares del estudio, lo que refleja una peor calidad del alimento. Esto permite establecer una relación entre el desarrollo de estos órganos y la calidad de la dieta.

Por lo general, la calidad del alimento puede afectar a los biomarcadores fisiológicos e impedir que se visualice una relación de estos biomarcadores con la contaminación. Teniendo en cuenta nuestra hipótesis de partida: *la calidad del alimento de las poblaciones de mejillón influye en los biomarcadores fisiológicos que se utilizan en los programas de seguimiento de la contaminación marina*, y de acuerdo con los análisis de correlación realizados, no existe relación significativa de los biomarcadores fisiológicos con la calidad del alimento, medida como el índice branquias/palpos o el índice O:N, por lo que no podemos establecer que el biomarcador SFG se encuentre condicionado por el tipo o calidad de la dieta de los organismos.

4.4. Relación de los biomarcadores fisiológicos con la contaminación medida como CPI.

El SFG se utiliza generalmente como un biomarcador en estudios ambientales marinos en áreas más pequeñas, aunque también hay estudios realizados a gran escala espacial (>1000 km), como los estudios llevados a cabo por Widdows *et al.* en el Mar del Norte y el Mar de Irlanda. Estos estudios se refieren a la reducción del SFG por la presencia de contaminantes en el tejido del mejillón, por lo que es posible establecer la salud de los ecosistemas muestreados (Albentosa *et al.*, 2012).

El uso de índices de contaminación (como el CPI) calculados mediante la integración de los niveles de contaminación que se encuentran en la biota o los sedimentos facilita la clasificación general de las áreas muestreadas en función de su carga en los compuestos químicos de toxicidad reconocida, así como su correlación con los posibles impactos biológicos de tales compuestos (Albentosa *et al.*, 2012). Los valores del índice CPI se pueden clasificar en tres grupos con el fin de separar las estaciones de muestreo según su estado de contaminación (Bellas *et al.*, 2014):

- ✓ $CPI \leq 0 \rightarrow$ baja contaminación
- ✓ $0 \leq CPI \leq 1 \rightarrow$ contaminación moderada
- ✓ $CPI > 1 \rightarrow$ alta contaminación

Se ha demostrado la relación entre SFG y la presencia de contaminantes en el medio ambiente y, por lo tanto, su acumulación en el tejido de mejillón, gracias a estudios previos de exposición tanto en laboratorio (Widdows & Donkin, 1991; Donkin *et al.*, 1997; Richardson *et al.*, 2008) como en el medio natural. Debido a estos estudios de laboratorio se han podido determinar las relaciones entre la concentración de contaminantes en el tejido y la respuesta fisiológica del organismo (Albentosa *et al.*, 2012). Además, la aplicación del CPI ha demostrado ser muy útil para establecer relaciones entre las concentraciones de contaminantes y sus efectos en los recursos vivos, tanto en el organismo como a nivel de la comunidad (Bellas *et al.*, 2011b; Beiras *et al.*, 2012).

Trabajando a partir de las relaciones de toxicidad en laboratorio, el balance energético de los mejillones recolectados en el medio silvestre puede estar relacionado con los niveles de contaminantes acumulados, lo que permite, además, poder calcular la contribución relativa de cada contaminante a la pérdida de energía para el crecimiento. Sin embargo, los trabajos llevados a cabo por el IEO (Albentosa *et al.*, 2012; Bellas *et al.*, 2014; González-Fernández *et al.*, 2015) no han llegado a establecer una relación significativa entre el SFG y la contaminación, al igual que en nuestro caso, lo que supondría que el SFG no actúa directamente como un indicador de contaminación.

5. Conclusiones.

El propósito final de este trabajo es conocer si la calidad del alimento influye sobre los biomarcadores fisiológicos. Tras los análisis de correlación observamos que no

existe relación significativa entre ambas variables, de modo que no podemos suponer que el biomarcador SFG esté condicionado por la calidad de la dieta. Además, existen diversas variables que actúan como factores de confusión y que pueden enturbiar el efecto real de los biomarcadores. Por otro lado, al igual que en trabajos previos llevados a cabo por el IEO, no se ha podido establecer una relación significativa entre el SFG y la contaminación, de ahí que no sea posible afirmar con rotundidad que el SFG actúe directamente como un indicador de contaminación ambiental. Dada la cantidad de factores involucrados en esta clase de estudios, es necesario realizar más investigaciones que permitan desarrollar estrategias estándar para poder utilizar correctamente este índice en los programas de vigilancia.

6. Agradecimientos.

Este estudio ha sido realizado en las instalaciones del Centro Oceanográfico de San Pedro del Pinatar, Murcia. Agradezco al Instituto Español de Oceanografía por haberme permitido utilizar sus instalaciones en las cuales ha tenido lugar esta investigación. Mi más sincero agradecimiento a Marina Albentosa por la dirección de este trabajo, por su paciencia y su dedicación, así como al equipo técnico del centro por su asistencia y apoyo durante la realización del experimento. Quiero agradecer también a la dirección del Máster de Biología Marina por darnos la oportunidad de realizar actividades de carácter semi-profesional de cara a nuestro futuro como trabajadores e investigadores del sector. El presente trabajo se encuadra dentro del Plan Nacional de Monitorización de la Contaminación Marina llevado a cabo por el IEO y el proyecto BIOCUM, financiado por el Plan Nacional de I+D+i (CTM2012-30737), titulado *Factores de Confusión en la Biomonitorización de la Contaminación Marina*.

7. Bibliografía.

- Albentosa, M., Viñas, L., Besada, V., Franco, A., González-Quijano, A. 2012. First measurements of the scope for growth (SFG) in mussels from a large scale survey in the North-Atlantic Spanish coast. *Science of the Total Environment*. 430–445.
- Alunno-Bruscia, M., Bourget, E., Frechette, M. 2001. Shell allometry and length–mass–density relationship for *Mytilus edulis* in an experimental food-regulated situation. *Marine Ecology – Progress Series*. 219: 177–188.

- Ansell, A.D., 1973. Oxygen consumption by the bivalve *Donax vittatus* (da Costa). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 11: 311–328.
- Bayne, B.L., Widdows, J., Thompson, R.J. 1976. Physiological integrations. In: *Marine Mussels: their ecology and physiology* (Ed. B.L. Bayne). Cambridge University Press. Cambridge; pp. 261-291.
- Bayne, B. L., Newell, R. C. 1983. Physiological energetic of marine molluscs. In: Wilbur, K. M. (Ed), *The Mollusa, Physiology*, Vol. 4, Part. 1. Academic Press, New York.
- Beiras, R., Durán, I., Parra, S., Urrutia, M.B., Besada, V., Bellas, J., Viñas, L., Sánchez-Marín, P., González-Quijano, A., Franco, M.A., Nieto, O., González, J.J. 2012. Linking chemical contamination to biological effects in coastal pollution monitoring. *Ecotoxicology*; 21: 9-17.
- Bellas, J., González-Quijano, A., Vaamonde, A., Fumega, J., Soriano, J.A., González, J.J. 2011a. PCBs in wild mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the N–NWSpanish coast: Current levels and long-term trends during the period 1991–2009. *Chemosphere*; 85: 533–41.
- Bellas, J., Nieto, O., Beiras, R. 2011b. Integrative assessment of coastal pollution: development and evaluation of sediment quality criteria from chemical contamination and ecotoxicological data. *Cont. Shelf Res.* 31: 448-456.
- Bellas, J., Albentosa, M., Vidal-Liñán, L., Besada, V., Franco, A., Fumega, J., González-Quijano, A., Viñas, L., Beiras, R. 2014. Combined use of chemical, biochemical and physiological variables in mussels for the assessment of marine pollution along the N-NW Spanish coast. *Marine Environmental Research*. 96: 105-117.
- Besada, V., Andrade, J.M., Schultze, F., González, J.J. 2011a. Monitoring of heavy metals in wild mussels (*Mytilus galloprovincialis*) from the Spanish North-Atlantic coast. *Cont Shelf Res*; 31(5):457–65.
- Compton, T.J., Kentie, R., Storey, A.W., Veltheim, I., Pearson, G.B., Piersma, T. 2008. Carbon isotope signatures reveal that diet is related to the relative sizes of the gills and palps in bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 361: 104-110.
- Conover, R. J. 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 11: 338-345.
- Crosby, M.P., Gale, L.D. 1990. A review and evaluation of bivalve condition index methodologies with a suggested standard method. *J. Shellfish Res.* 9: 233–237.

- Donkin, P., Widdows, J., Evans, S.V., Staff, F.J., Yan, T. 1997. Effects of neurotoxic pesticides on the feeding rate of marine mussels (*Mytilus edulis*). *Pestic. Sci.* 49: 196-209.
- Filgueira, R., Labarta, U., Fernández-Reiriz, M.J. 2008. Effect of condition index on allometric relationships of clearance rate in *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 43: 391–398.
- Frew, R.D., Hunter, K.A., Beyer, R. 1989. Cadmium in the dredge oyster, *Ostrea lutaria* – dependence on age, body weight and distribution in internal organs. *Mar. Poll. Bull.* 20: 463–464.
- García-García, B., Cerezo, J. 2001. Variación del índice de condición en función del tipo de tanque de estabulación en el dentón (*Dentex dentex*). IMIDA-Acuicultura.
- González-Fernández, C., Albentosa, M., Campillo, J.A., Viñas, L., Fumega, J., Franco, A., Besada, V., González-Quijano, A., Bellas, J. 2015. Influence of mussel biological variability on pollution biomarkers. *Environmental Research.* 137: 14–31.
- Griffin, J.J., Koide, M., Hodge, V., Goldberg, E.A. 1980. Estimating the ages of mussels by chemical and physical methods. In: Goldberg, E.D., Horibe, Y., Saruhashi, K. (Eds.), *Isotope Marine Chemistry*. Rokakuho, Tokyo, pp. 193–209.
- Huang, S.C., Newell, R.I.E. 2002. Seasonal variations in the rates of aquatic and aerial respiration and ammonium excretion of the ribbed mussel, *Geukensia demissa* (Dillwyn). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 270: 241-255.
- Koehler, A. 1989. Cellular effects of environmental contamination in fish from the River Elbe and the North Sea. Responses to marine organisms to pollutants. *Mar. Environ. Res.* 28: 417-424.
- Mayzaud, P., Conover, R.J. 1988. O:N atomic ratio as a tool to describe zooplankton metabolism. *Marine Ecology – Progress Series.* 45: 289-302.
- Moriarty, F. 1999. *Ecotoxicology - the Study of Pollutants in Ecosystems*, third ed. Academic Press, London.
- Regoli, F. 1998. Trace metals and antioxidant enzymes in gills and digestive gland of the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34: 48-63.
- Richardson, B.J., Mak, E., De Luca-Abbott, S.B., Martin, M., McClellan, K., Lam, P.K.S. 2008. Antioxidant responses to polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides in green lipped mussels (*Perna viridis*): do mussels “integrate” biomarker responses? *Mar. Pollut. Bull.* 57: 503-514.

- Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., Koehler, A. 2007. The use of biomarkers in biomonitoring: A 2-tier approach assessing the level of pollutant induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Phys. C* 146: 281-300.
- Widdows, J., Johnson, D. 1988. *Physiological energetics of Mytilus edulis: scope for growth*. *Marine Ecology – Progress Series*. 46: 113–121.
- Widdows, J., Donkin, P. 1991. Role of physiological energetic in ecotoxicology. *Comp. Biochem. Phys.* 100C: 69-75.
- Widdows, J., Donkin, P. 1992. Mussels and environmental contaminants: bioaccumulation and physiological aspects. In: Gosling EM, editor. *The mussel Mytilus: ecology, physiology, genetics and culture*. Amsterdam: Elsevier; p. 383–424.
- Widdows J, Donkin P, Staff FJ, Matthiessen P, Law RJ, Allen YT, *et al.* 2002. Measurement of stress effects (scope for growth) and contaminant levels in mussels (*Mytilus edulis*) collected from the Irish Sea. *Mar Environ Res*; 53: 327–56.
- Yap, C.K., Ismail, A., Tan, S.G. 2003. Effects of total soft tissue and shell thickness on the accumulation of heavy metals (Cd, Cu, Pb and Zn) in the green-lipped mussel *Perna viridis*. *Russ. J. Mar. Biol.* 29 (5): 323–327.