



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Dpto. de Ciencia Animal

Microplásticos como vector de transferencia de
hidrocarburos en ostra japonesa (*Magallana gigas*)

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Acuicultura

AUTOR/A: Ferri Ibáñez, Mireia

Tutor/a: Asturiano Nemesio, Juan Francisco

Cotutor/a externo: Fouz Rodriguez, Belen

Director/a Experimental: Bordehore Fontanet, Cesar

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024



VNIVERSITAT
D VALÈNCIA



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Microplásticos como vector de transferencia de hidrocarburos en ostra japonesa (*Magallana gigas*)



Trabajo de Fin de Máster

Septiembre de 2024

Autora: Mireia Ferri Ibáñez

Tutores académicos: Belén Fouz Rodríguez, Juan Francisco Asturiano Nemesio

Tutor externo: César Bordehore Fontanet

RESUMEN

Los residuos plásticos presentes en el medio marino se fragmentan en microplásticos (≤ 5 mm), que son capaces de absorber contaminantes (hidrocarburos) y transferirlos a través de la cadena trófica, afectando al crecimiento y reproducción de los organismos, llegando incluso a causar mortalidad.

El objetivo de este trabajo ha sido determinar si las ostras, reconocidos bioindicadores de contaminación ambiental, son potenciales vectores de transferencia de contaminantes químicos y/o microplásticos (MP). Para ello, se estudió la palatabilidad de MP contaminados con y sin diésel en ostra y la capacidad de estas partículas para absorber y transmitir contaminantes a los organismos.

Se seleccionó la ostra rizada (*Magallana gigas*) y se realizaron pruebas con ejemplares dispuestos en suelo (posición natural) y en batea (simulando un sistema de producción). Se administraron microplásticos contaminados con diésel y sin contaminar, con unos tiempos de reposo de 1 y 7 días. En paralelo, se expusieron ostras a agua de mar contaminada con diésel y sin contaminar para evaluar la actividad de las valvas. Para detectar hidrocarburos en muestras de agua o tejido de ostra se realizó extracción asistida por microondas y análisis por cromatografía de gases masas.

Los resultados mostraron que las ostras podían ingerir y retener microplásticos contaminados o no con diésel, con una ingesta media de 4,92 MP/ejemplar y 0,23 MP/gramo peso húmedo. El tiempo de retención de los microplásticos contaminados con diésel fue significativamente mayor y el tiempo medio de filtración aumentó en presencia de diésel. Asimismo, la actividad de las valvas en presencia de diésel y en función del momento del día fue significativamente diferente. No se detectó presencia de diésel en muestras de tejido ni de agua, sugiriendo que la ostra podría actuar como organismo depurador de hidrocarburos, tanto si están presentes en el agua como adheridos a microplásticos.

Este trabajo se alinea con varios Objetivos de Desarrollo Sostenible (6, 8, 12 y 14) de la agenda 2030 al abordar aspectos relacionados con la contaminación marina y su impacto en la biodiversidad y con los sistemas de producción y consumo responsable que promuevan un crecimiento económico sostenible.

Palabras clave: ostra; *Magallana gigas*; microplásticos; hidrocarburo; diésel; contaminación; ingesta; filtración.

ABSTRACT

Plastic waste in the marine environment degrades into microplastics (≤ 5 mm), which are capable of absorbing contaminants (hydrocarbons) and transferring them through the food chain, affecting the growth and reproduction of organisms, and even causing mortality.

The aim of this study is to determine whether oysters, recognized bioindicators of environmental pollution, are potential vectors for the transfer of chemical contaminants and/or microplastics (MP). For this purpose, the palatability of diesel-contaminated and uncontaminated MPs for oysters was studied, as well as the ability of these materials to absorb and transmit contaminants to the organisms.

The Pacific oyster (*Magallana gigas*) was selected, and tests were conducted with specimens placed on the seabed (natural position) and in floating trays (simulating a production system). Microplastics contaminated or not with diesel were administered, with resting periods of 1 and 7 days. In parallel, oysters were placed in seawater contaminated or not with diesel to evaluate valve activity in the presence of environmental contaminants. The detection of hydrocarbons in water or oyster tissue samples was performed using microwave-assisted extraction and analysed by gas chromatography-mass spectrometry.

The results showed that oysters can ingest and retain microplastics, whether contaminated with diesel or not, with an average intake of 4.92 MPs per specimen and 0.23 MPs per gram of wet weight. The retention time of diesel-contaminated microplastics was significantly longer, and the average filtration time increased in the presence of diesel. In addition, the valve activity in presence of diesel and depending on the time of day was significantly different. No diesel was detected in tissue or water samples, suggesting that oysters could act as purifying organisms for hydrocarbons, whether present in the water or adhered to microplastics.

This work aligns with Sustainable Development Goals (SDGs) numbers 6, 8, 12, and 14 of the 2030 Agenda by addressing marine pollution and its impact on biodiversity, as well as promoting responsible production and consumption systems that support sustainable economic growth.

Keywords: oyster; *Magallana gigas*; microplastics; hydrocarbon; diesel; pollution; ingestion; filtration.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han contribuido a la realización de este trabajo que tanto tiempo y esfuerzo ha requerido.

En primer lugar agradecer a mi tutora Belén Fouz Rodríguez, por su guía, preocupación y apoyo incondicional a lo largo de este proceso. También agradecer al profesor César Bordehore Fontanet y la investigadora Eva Fonfría Subirós por todo su apoyo y enseñanza durante la realización del trabajo, en especial durante la estancia en el laboratorio marino UA-Dénia, así como a mis compañeros de laboratorio Adrian Flores, John Yañez y María Cañadilla , los cuales me han enseñado mucho en muy poco tiempo.

También agradecer al departamento de química analítica de la Universidad de Alicante por los recursos y el respaldo proporcionado, especialmente a la profesora Cristina Mellinas Ciller.

Y sobre todo a mis padres y mi hermana, por su amor, paciencia y constante apoyo, por estar siempre a mi lado.

A todos, mil gracias.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	10 -
1.1. Descripción de la ostra japonesa (<i>Magallana gigas</i>)	13 -
1.2. Importancia en acuicultura	16 -
2. OBJETIVOS	18 -
3. MATERIALES Y METODOLOGÍA.....	19 -
3.1. Agua de mar: preparación de mezclas con hidrocarburos	19 -
3.2. Preparación y contaminación de microplásticos.....	20 -
3.3. Ensayos de optimización del modelo experimental	21 -
3.4. Preparación de muestras para extracción y determinación de hidrocarburos.....	23 -
3.5. Ensayos experimentales con <i>Magallana gigas</i>	24 -
3.5.1. Mantenimiento de los animales	24 -
3.5.2. Administración de microplásticos.....	24 -
3.6. Extracción de hidrocarburos	26 -
3.6.1. Extracción asistida por microondas (MAE)	26 -
3.6.2. Extracción líquido – líquido	27 -
3.7. Análisis mediante cromatografía de gases - masas	27 -
3.8. Análisis estadístico de los datos	27 -
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	28 -
4.1. Ensayos de palatabilidad.....	28 -
4.2. Actividad de las ostras	33 -
4.3. Absorción de diésel	38 -
5. CONCLUSIONES.....	41 -
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42 -
7. ANEXO I.....	46 -

Índice de FIGURAS

- Figura 1.** *Morfología externa de Magallana gigas (Mercer et al., 2024).*
- Figura 2.** *Anatomía interna de Magallana gigas (Mercer et al., 2024).*
- Figura 3.** *Ciclo de vida de Magallana gigas (Mercer et al., 2024).*
- Figura 4.** *Ciclo de producción de Magallana gigas (FAO - Crassostrea gigas, 2009).*
- Figura 5.** *Sistema de captación y filtración del agua.*
- Figura 6.** *Esquema de la preparación de la mezcla diésel + agua de mar (ratio 1:1000).*
- Figura 7.** *Filamentos de poliéster de color rosa, verde y negro.*
- Figura 8.** *Preparación de microplásticos sin diésel (A) y con diésel (B).*
- Figura 9.** *Ejemplares de Magallana gigas (izquierda) y Ostrea edulis (derecha).*
- Figura 10.** *Disposición de las ostras en dos modalidades. Ostrea edulis en suelo (a), Ostrea edulis en batea (b), Magallana gigas en suelo (c) y Magallana gigas en batea (d).*
- Figura 11.** *Esquema del ensayo preliminar de ingesta de microplásticos en Ostrea edulis (1) y Magallana gigas (2).*
- Figura 12.** *Ostrea edulis (izquierda) y Magallana gigas (derecha).*
- Figura 13.** *Toma de medidas de las ostras Magallana gigas.*
- Figura 14.** *Ostras sin valvas guardadas en botes preparadas para congelar.*
- Figura 15.** *Grado de apertura de valvas observado durante los experimentos en Magallana gigas.*
- Figura 16.** *Acuarios de ostra Magallana gigas que reciben microplásticos contaminados con diésel (izquierda) y microplásticos sin contaminar (derecha).*
- Figura 17.** *Esquema del ensayo de administración de microplásticos a ostra (Magallana gigas).*
- Figura 18.** *Esquema del ensayo de administración de agua de mar con diésel en ostra (Magallana gigas).*
- Figura 19.** *Muestras de agua de mar de los acuarios.*
- Figura 20.** *Procedimiento para la extracción de hidrocarburos de tejidos de ostra Magallana gigas.*
- Figura 21.** *Esquema del procedimiento de extracción de hidrocarburos de agua de mar.*
- Figura 22.** *Filamentos de microplásticos totales ingeridos y no ingeridos en el ensayo de palatabilidad en Magallana gigas.*
- Figura 22.** *Filamentos de microplásticos totales ingeridos y no ingeridos en el ensayo de palatabilidad en Magallana gigas.*
- Figura 23.** *Ejemplar de Magallana gigas con un microplástico rosa ingerido (círculo azul).*
- Figura 24.** *Ingesta de microplásticos con diésel y sin diésel por las ostras (Magallana gigas).*
- Figura 25.** *Análisis de regresión de microplásticos ingeridos en relación al tamaño de la valva de la ostra (Magallana gigas).*
- Figura 26.** *Microplásticos de colores contaminados con diésel ingeridos (%) por ostra (Magallana gigas).*
- Figura 27.** *Microplásticos de colores sin diésel ingeridos (%) por ostra (Magallana gigas).*

Figura 28. Tiempo medio de retención de microplásticos (MP) contaminados o no con diésel en ostra (*Magallana gigas*).

Figura 29. Análisis de regresión entre el tiempo de retención de los microplásticos y el tamaño de las valvas de las ostras (*Magallana gigas*).

Figura 30. Actividad de las ostras (*Magallana gigas*) expuestas o no a diésel medida como porcentaje de filtración.

Figura 31. Número de filtraciones respecto al tamaño de las ostras *Magallana gigas*.

Figura 32. Actividad de las ostras (*Magallana gigas*) antes y después de suministrarles microplásticos con y sin diésel.

Figura 33. Actividad de las valvas de la ostra (*Magallana gigas*) por la mañana y por la tarde.

Figura 34. Relación entre el tiempo de filtración y el tamaño de las ostras (*Magallana gigas*).

Figura 35. Salinómetro CyberScan Series 600.

Figura 36. CTD Rinko-Profiler ASTD102.

Figura 37. Ejemplares de *Magallana gigas* al final de la etapa de experimentación.

Figura 38. Ostras control liofilizadas (izquierda) y molidas (derecha).

Figura 39. Preparación de las muestras para el tratamiento en microondas.

Figura 40. Microondas FlexiWAVE Milestone.

Figura 41. Comparación de las muestras de ostras control (izquierda) y ostras mantenidas en agua con diésel (derecha) después del tratamiento en microondas.

Figura 42. Centrífuga Gyrozen 1248 R.

Figura 43. Procedimiento de extracción de hidrocarburos líquido – líquido.

Figura 44. Filtración de las muestras para analizar en el cromatógrafo.

Figura 45. Muestras preparadas para analizar en el cromatógrafo.

Índice de TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Magallana gigas* (WoRMS - World Register of Marine Species - *Crassostrea Gigas* (Thunberg, 1793), 2024).

Tabla 2. Tabla resumen ANOVA de los resultados de la ingesta de microfilamentos en ostras en relación al tratamiento aplicado.

Tabla 3. Tiempo de retención (minutos) de microplásticos contaminados con diésel o no en ostra (*Magallana gigas*).

Tabla 4. Tabla resumen ANOVA de los resultados del tiempo de filtración en los diferentes grupos de ostras.

Tabla 5. Tabla resumen ANOVA de los datos de filtración antes y después de suministrar microplásticos.

Tabla 6. Tabla resumen ANOVA de los datos de filtración por la mañana y por la tarde.

Tabla 7. Tiempos medios de filtración (media, SD) en los diferentes grupos de ostras (*Magallana gigas*).

Tabla 8. Comparación de los tiempos de retención de los compuestos identificados en las muestras de agua y el patrón.

Tabla 9. Comparación de los tiempos de retención de los compuestos identificados en las ostras y el patrón.

Índice de ABREVIATURAS

<u>Sigla</u>	<u>Aclaración terminológica</u>
CH ₂ Cl ₂	diclorometano
GC - MS	cromatografía de gases – espectrometría de masas
HA	hidrocarburo alifático
HAP	hidrocarburo aromático policíclico
KOH	hidróxido de potasio
MP	microplástico
MP + D	microplástico contaminado con diésel
NaCl	cloruro sódico
Q	caudal

1. INTRODUCCIÓN

Los plásticos son polímeros sintéticos orgánicos de elevado peso molecular formados a través de un proceso de polimerización. Durante este proceso los monómeros se combinan químicamente para crear macromoléculas, las cuales se agregan formando un polímero. Posteriormente los polímeros se procesan para fabricar diferentes tipos de productos plásticos (Carretero, 2022).

Los plásticos y fibras más frecuentes empleados en producción son el polietileno (PE, 36%), el polipropileno (PP, 21%), el cloruro de polivinilo (PVC, 12%), el tereftalato de polietileno (PET, 10%), el poliuretano (PUR, 10%) y el poliestireno (PS, 10%). Cabe destacar el poliéster, que representa el 70% de la producción total de fibras acrílicas y poliamidas. Estos siete polímeros representan el 92% del total del plástico producido (Geyer et al., 2017).

El término 'plástico' apareció por primera vez en 1930 para describir un material que podía ser moldeado. Fue en la década de 1970 cuando la producción global de plásticos empezó a revolucionar la vida humana moderna debido a sus múltiples aplicaciones industriales, comerciales, médicas y tecnológicas (Carretero, 2022; Cruz-Salas et al., 2023).

Este aumento de la producción mundial vino acompañado de una notable acumulación de desechos plásticos, que se introducen en el medio marino a través del viento, ríos, lagos, canales, o corrientes (Cruz-Salas et al., 2023). Con el paso del tiempo, éstos se han ido degradando y fragmentado en pequeñas piezas, llegando a lugares de todo el mundo (Carretero, 2022).

Sucharitakul et al. (2020) han documentado que más de 690 especies marinas ingieren desechos marinos, de los cuales el 92% son plásticos. Predicciones futuras advierten que la cantidad de plástico que entra en el océano cada año aumentará a 16 millones de toneladas en 2030, y aproximadamente 32 millones de toneladas en 2050. Además, Carretero (2022) sugiere que, en términos de peso, en 2050 habrá más plástico que peces en los océanos.

Uno de los riesgos asociados a la presencia de plásticos en los ecosistemas naturales es la formación de microplásticos (MP), partículas de ≤ 5 mm que pueden ser generadas directamente o formarse por la fragmentación de otros plásticos. Los MP varían en tamaño, forma, color, densidad y composición química. Una vez en el mar, éstos pueden ser transportados por las corrientes marinas, flotar en el agua, mantenerse en la columna de agua o depositarse en las playas y sedimentos marinos (Cruz-Salas et al., 2023), representando un serio problema medioambiental a escala global (Fu et al., 2021).

Existen dos tipos de MP según su origen: primarios y secundarios. Los MP primarios son aquellos polímeros que han sido elaborados como materia prima a este tamaño, generalmente en forma de microperlas para usos cosméticos o como parte de producción de pellets de plástico virgen. Los MP secundarios son los más comunes en los océanos. Son el resultado de procesos de fragmentación y degradación de objetos de plástico (bolsas, botellas, embalajes y, especialmente, cuerdas y redes) en fragmentos más pequeños por la acción de las olas, el viento y las mareas (Carretero, 2022).

Los microplásticos pueden ser internalizados por organismos acuáticos mediante diferentes estrategias y causar diferentes efectos en los mismos (González-Soto et al.,

2022). Pueden introducirse en las células de las algas, inhibiendo su crecimiento y fotosíntesis (Li et al., 2020) o, pueden ser ingeridos por animales y causarles daños intestinales, pérdida de peso y necrosis hepática (Wang et al., 2020). Además, pueden alterar la actividad digestiva y reproductiva e incluso causar la muerte, como se ha visto en copépodos y bivalvos (González-Soto et al., 2022).

La peligrosidad de los microplásticos en el medio marino viene determinada por el tipo de exposición y por sus propiedades físicas y químicas (tamaño de partícula o toxicidad intrínseca) (CEDEX, 2017). Un riesgo adicional para la biota marina proviene de la capacidad de los MP para absorber contaminantes orgánicos persistentes en el medio ambiente debido a su gran superficie e hidrofobicidad (Fu et al., 2021; González-Soto et al., 2022).

Los efectos de los MP en los organismos acuáticos son objeto de intensa investigación en la actualidad, así como su papel como vectores de contaminantes orgánicos (Franzellitti et al., 2019). Si los organismos ingieren MP contaminados, pueden introducir compuestos tóxicos a la cadena trófica, generando alteraciones químicas, ecológicas y biológicas en las especies y los ecosistemas, provocando bioacumulación en organismos (Cruz-Salas et al., 2023).

Entre los contaminantes orgánicos más frecuentes y nocivos del medio marino se encuentran los hidrocarburos derivados del petróleo (HPs). Destacan por su toxicidad, bioacumulación, semivolatilidad y persistencia en el medio ambiente. Llegan principalmente a través de vertidos de petróleo y derrames de aguas residuales (Song et al., 2021).

La mayoría de los hidrocarburos flotan y se diseminan sobre la superficie del mar abarcando amplias zonas por el efecto del oleaje, las corrientes marinas y el viento (Nápoles et al., 2019). En ambientes acuáticos, forman una película de aceite en la superficie, interrumpiendo el proceso de reoxigenación, afectando a la calidad del agua y a los organismos. Además, son hidrofóbicos, con lo cual son fácilmente absorbidos por los microplásticos (Song et al., 2021).

Hay dos tipologías principales entre los hidrocarburos derivados del petróleo, los hidrocarburos alifáticos (HAs) y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). Los HAs son tóxicos a elevadas concentraciones mientras que los HAPs son los más peligrosos. Su presencia en el ambiente marino puede provocar impactos en la biota, como toxicidad o problemas respiratorios y reproductivos (Cavalcante et al., 2023).

Los efectos de la exposición a los hidrocarburos dependen de la especie, el ciclo de vida del organismo, y la duración e intensidad de la exposición. Por ejemplo, los organismos adultos pueden sufrir efectos letales cuando se exponen a concentraciones de hidrocarburos aromáticos en el rango de 10 a 100 ppm (Olaso, 2008).

Es importante destacar, además, que los ecosistemas marinos contaminados por compuestos derivados de la refinación del petróleo, tales como el diésel, requieren 10 o más años para su recuperación (Nápoles, 2019).

En el contexto de producción de organismos marinos (acuicultura), los hidrocarburos pueden provocar, además de mortalidad, importantes daños que derivan en sabor desagradable o daños más sutiles, relacionados con el comportamiento, alimentación, crecimiento y funciones reproductivas. Los animales en régimen de cría intensiva en jaulas en ubicaciones fijas y sus productos derivados se ven expuestos a mayor riesgo al no poder evitar la exposición a los contaminantes (hidrocarburos) presentes en el

agua circundante (ITOPF, 2011). Por ello, se necesitan medidas urgentes orientadas a reducir los daños en los ecosistemas marinos en aras de cumplir el objetivo de desarrollo sostenible (ODS) número 14, para conservar y utilizar de manera sostenible los recursos marinos, los mares y los océanos ()

La contaminación de organismos puede derivar en problemas de salud pública. Es difícil definir un consumo libre de riesgo pero pueden regularse/establecerse niveles aceptables de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) en pescado y marisco. A modo de referencia, en la Unión Europea, el nivel máximo permitido para el HAP benzo[a]pireno en moluscos bivalvos es <10 µg/kg (ITOPF, 2011).

Los bivalvos son organismos centinela ideales con alto valor ecológico y amplia distribución geográfica. Además, pueden bioacumular contaminantes y mostrar diferentes respuestas biológicas cuando se estresan o se exponen a factores contaminantes ambientales (Al-Shamary et al., 2023). Entre ellos, las ostras son de gran interés para consumo humano y, por ello, existe preocupación sobre los riesgos que suponen para la salud, debido a su capacidad de acumular compuestos tóxicos. Por ello, su papel como bioindicadores se ha revalorizado en las últimas décadas (Gan et al., 2021).

La potencial acumulación de MP en la cadena alimentaria, especialmente en los peces y mariscos, podría tener consecuencias para la salud del ser humano. Es el caso de los bivalvos filtradores como los mejillones y las ostras (CEDEX, 2017).

La basura marina (macro y microplásticos) puede traducirse en una pérdida de capturas y/o ventas para los pescadores y suponer un coste económico para el sector (CEDEX, 2017).

Los moluscos bivalvos de acuicultura han sido seleccionados para ser utilizados tanto en programas de monitoreo de campo como en estudios de laboratorio para investigar el impacto de MP en el medio marino. Son organismos abundantes y están ampliamente distribuidos, filtradores sésiles que acumulan contaminantes en sus tejidos reflejan niveles de contaminación ambiental y muestran respuestas significativas a contaminantes. Además, tienen un papel clave en los ecosistemas y son consumidos por varias especies de niveles tróficos superiores (González-Soto et al., 2022). Entre ellos, destaca la ostra rizada o japonesa (*Magallana gigas*), con distribución mundial. Por ello, son organismos ideales para cumplir con los ODS número 12 (Producción y consumo responsables) y número 8 (Trabajo decente y crecimiento económico) para promover el crecimiento económico sostenible mediante la producción de bivalvos marinos (*Ministerio De Derechos Sociales, Consumo y Agenda 2030*, 2021)

1.1. Descripción de la ostra japonesa (*Magallana gigas*)

La ostra rizada *Magallana gigas*, también denominada ostra japonesa, rizada o del Pacífico, es una especie endémica de las costas de Japón y de Corea que ha sido introducida en un gran número de países a lo largo de todo el mundo (CETMAR & Xunta de Galicia, 2017).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Magallana gigas* (WoRMS - World Register of Marine Species - *Crassostrea Gigas* (Thunberg, 1793), 2024).

Reino	Animalia
Filo	Mollusca
Clase	Bivalvia
Orden	Ostreida
Familia	Ostreidae
Género	<i>Magallana</i>
Especie	<i>Magallana gigas</i> (Thunberg, 1793)
Nombre común	Ostra rizada
	Ostra japonesa
	Ostra del Pacífico

M. gigas es un molusco inequivalvo cuya valva superior (derecha) es plana o ligeramente convexa, mientras que la valva inferior (izquierda) es ahuecada y contiene el cuerpo del organismo. Las conchas presentan diversidad de formas y colores influenciados por el entorno en que se encuentran y el método que se utiliza para su producción. La parte externa de la concha tiene una estructura laminar donde cada lámina o placa representa una fase de crecimiento (Figura 1). La parte interna es una superficie pulida lisa de nácar que proporciona un ambiente cómodo para vivir. Las valvas son de carbonato cálcico (CaCO_3) excepto una capa exterior muy fina no calcificada que se conoce como periostraco (Mercer et al., 2024). Ambas valvas están unidas por un músculo aductor y una charnela (ligamento proteico poco calcificado que se encuentra sobre la línea medio dorsal). El músculo aductor sirve para abrir y cerrar las valvas (Gomes, 2013).

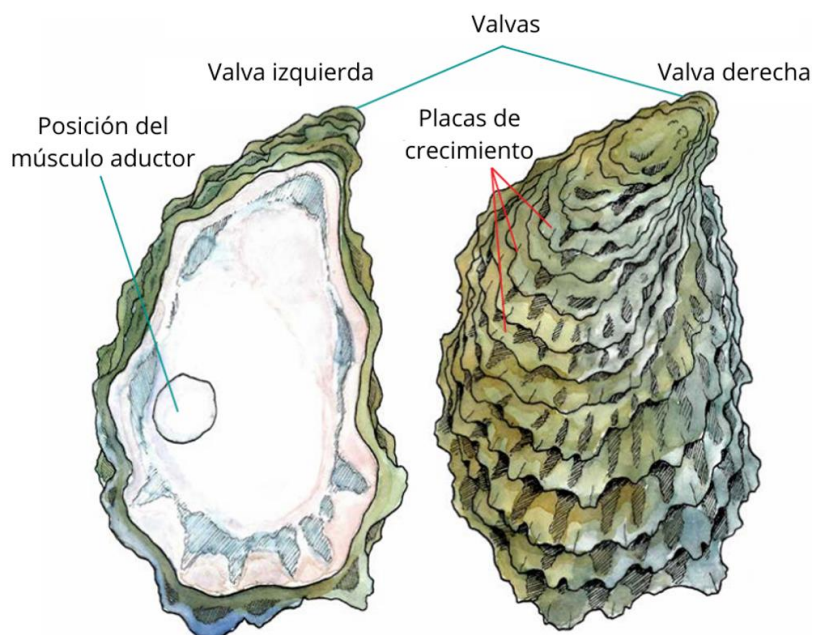


Figura 1. Morfología externa de *Magallana gigas* (Mercer et al., 2024).

Las partes blandas están cubiertas por el manto, el cual tiene funciones sensoriales, mecánicas y de protección. El espacio que hay entre los dos lóbulos del manto se denomina cavidad paleal y en ella se aloja la masa visceral, que contiene los órganos de la digestión, excreción, reproducción y respiración (Figura 2) (Gomes, 2013).

El sistema digestivo está formado por branquias, palpos labiales, boca, esófago, estómago, divertículos digestivos, intestino, recto y ano. El sistema excretor está constituido por el riñón y el pericardio. El sistema circulatorio es abierto y está formado por el corazón, las arterias y los vasos sanguíneos. El corazón consta de un ventrículo y de dos aurículas y se encuentra dentro de la cavidad del pericardio, situado entre la masa visceral y el músculo aductor. El sistema nervioso es reducido y está compuesto por ganglios cerebrales, viscerales y motores. El sistema reproductivo está constituido por las gónadas, estructuras difusas que en periodo de reposo sexual desaparecen casi por completo y, cuando alcanzan la madurez sexual, rodean la glándula digestiva y el resto de los órganos, ocupando el espacio libre que queda entre estos y presentando una coloración blanquecina y de aspecto lechoso (Gomes, 2013).

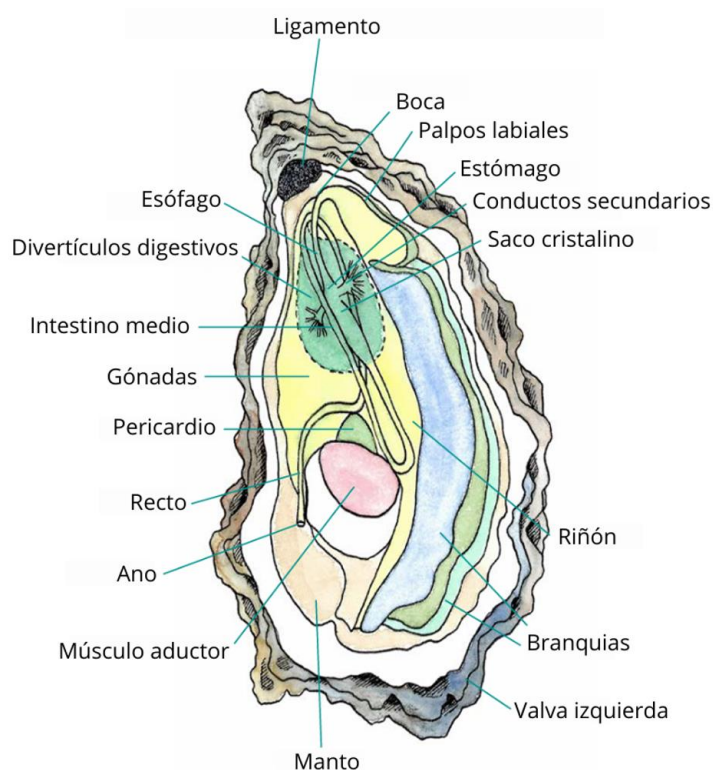


Figura 2. Anatomía interna de *Magallana gigas* (Mercer et al., 2024).

Es una especie ampliamente distribuida por el mundo. Se encuentra en aguas costeras y estuarios, preferentemente en la zona intermareal y submareal somera de aproximadamente 3 metros de profundidad, hasta los 40 metros de profundidad con preferencia sobre sustratos duros como rocas, piedras sueltas o estructuras artificiales aunque también se puede encontrar en áreas fangosas o de arena. También se fija sobre conchas de ostras de su misma especie o sobre bivalvos de otras especies como los mejillones (Gomes 2013; CETMAR & Xunta de Galicia, 2017; Guerra, 2004).

Este molusco bivalvo se alimenta por filtración y obtienen nutrientes principalmente del fitoplancton y en menor medida del zooplancton y materia orgánica del agua de mar que pasa a través de las branquias. Necesitan filtrar grandes cantidades de agua para obtener suficiente alimento para vivir. De hecho, un organismo adulto es capaz de filtrar hasta 5 litros por hora (CETMAR & Xunta de Galicia, 2017; Mercer et al., 2024).

La ostra rizada es una especie eurihalina y euriterma capaz de sobrevivir en periodos de baja salinidad regulando el grado de apertura de sus valvas (CETMAR & Xunta de Galicia, 2017; Mercer et al., 2024). El intervalo óptimo de salinidad para la especie es de 20-25 ppt, aunque puede soportar salinidades por debajo de 10 y por encima de 35 ppt. Tiene una amplia tolerancia a la temperatura con un rango óptimo de 10 a 22°C, aunque soporta temperaturas de 3 a 28°C (Gomes, 2013; Mercer et al., 2024). Respecto al pH tolera valores en el rango de 7 a 9 (Mercer et al., 2024).

M. gigas es una especie hermafrodita protándrica con reproducción sexual externa. Primero suelen madurar como machos y luego pueden cambiar a hembras (CETMAR & Xunta de Galicia, 2017; Gomes, 2013). El momento de la maduración y desove depende principalmente de la temperatura: los machos liberan esperma a más de 14°C y las hembras liberan huevos a más de 18°C (Mercer et al., 2024).

La fecundidad es muy alta y una sola hembra puede producir entre 20 y 100 millones de huevos en una única puesta. La puesta es sincrónica entre machos y hembras y la fertilización tiene lugar en un plazo de 10-15 horas (CETMAR & Xunta de Galicia, 2017; Mercer et al., 2024).

Las ostras pasan por varias etapas de desarrollo durante su ciclo de vida (Figura 3), que depende de la localización geográfica (Mercer et al., 2024). Primero se expulsan los gametos al agua, donde tiene lugar la fecundación externa. Luego se desarrolla el huevo hasta formar una larva trocófora. Esta larva se desarrolla hasta formar una larva veliger que continúa su desarrollo hasta formar el pie y pasa a llamarse larva pediveliger. Durante esta etapa la larva busca un sustrato para fijarse y con la metamorfosis se pone fin a la etapa de vida planctónica, pasando a la vida bentónica que se mantendrá el resto de la vida del animal. (Gomes, 2013; Guerra, 2004).

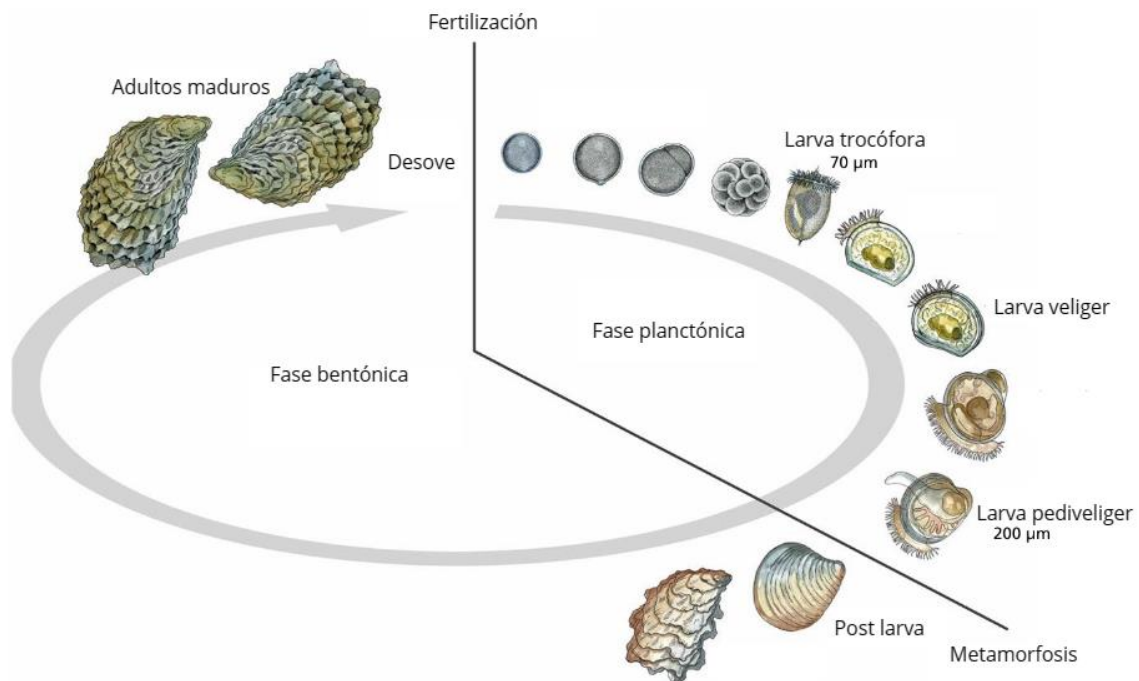


Figura 3. Ciclo de vida de *Magallana gigas* (Mercer et al., 2024).

1.2. Importancia en acuicultura

La ostra es un molusco de alto valor culinario y muy apreciado para consumo (CETMAR & Xunta de Galicia, 2017). Los productores de ostra más antiguos son los japoneses, los romanos (Guerra, 2004) y los griegos (Gomes, 2013).

En el mundo se producen cerca de 12 especies de ostras, aunque la ostricultura está dominada por la ostra japonesa, con un 96% de la producción mundial. Sus principales productores son China, Corea, Japón, Francia, Taiwán y Estados Unidos (Gomes, 2013).

España es el mayor productor de moluscos de acuicultura de la Unión Europea tanto en volumen de producción (toneladas) como en valor (millones de euros) (APROMAR, 2023). Las ostras son un grupo muy importante en términos económicos en España, siendo las especies más producidas la ostra plana (*Ostrea edulis*) y la ostra rizada u ostión japonés (*M. gigas*). En 2022 se produjeron 1226 toneladas de ostra rizada con un valor económico de 3,7 millones de euros, mientras que de ostra plana se produjeron 237 toneladas con un valor económico de 1,4 millones de euros (APROMAR, 2023).

El ciclo de producción de *M. gigas* (Figura 4) consiste en obtener la semilla por captación silvestre (A) o mediante producción en laboratorio (B), donde se utilizan reproductores a los cuales se les induce el desove mediante choque térmico o extrayendo directamente los gametos de las gónadas. Luego se fertilizan los huevos y se desarrollan en tanques de gran volumen (B1) hasta que se transforman en larvas pediveliger. Cuando las larvas están próximas a fijarse, se colocan sustratos de fijación (B2) en los tanques para que éstas se adhieran. Seguidamente se crían los juveniles hasta que alcanzan un tamaño entre 3 y 5 mm y son transferidos a los criaderos al aire libre (C) o se venden directamente a los ostricultores. En los criaderos se producen los juveniles hasta que alcanzan los 10-15 mm y se transfieren a charolas (D) donde se realiza el pre-engorde. Para el engorde se pueden utilizar varios métodos de producción: de fondo (E), separado del fondo (F) o en suspensión (G), en función de las características del medio. Luego se cosecha a tallas superiores a los 75 mm de longitud de concha y un peso vivo de 70-100g (FAO *Magallana gigas*, 2024) Finalmente se lleva a cabo la depuración (H), proceso que consiste en la inmersión total de las ostras en tanques donde se genera una corriente de agua de mar limpia para que los animales expulsen los contaminantes de su cuerpo durante un periodo de tiempo determinado (Lee et al., 2010)

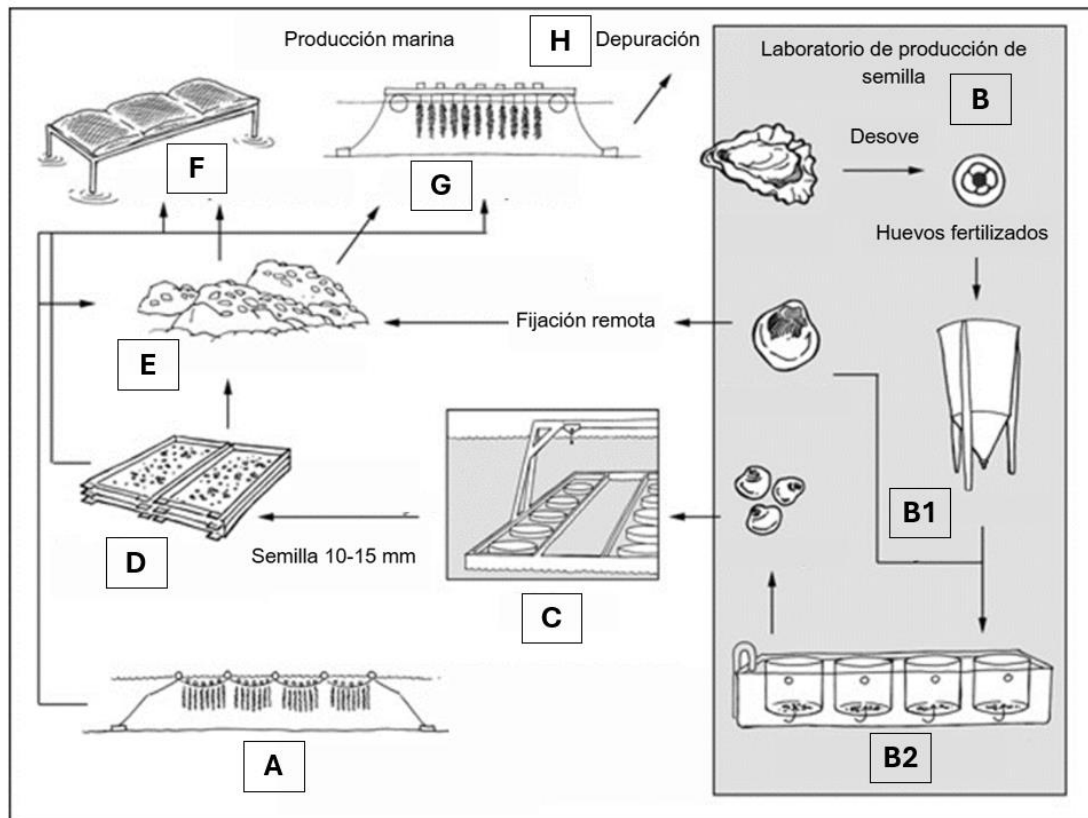


Figura 4. Ciclo de producción de *Magallana gigas* (FAO - *Crassostrea gigas*, 2009). A: captación silvestre, B: producción en laboratorio, B1: desarrollo en tanques, B2: sustratos de fijación, C: criadero, D: charola, E: producción de fondo, F: producción separada del fondo, G: producción en suspensión y H: depuración.

En este trabajo, se estudiará el comportamiento de la ostra en presencia de microplásticos contaminados o no con diésel cuantificando la tasa de ingestión y egestión y el tiempo de retención de éstos en su interior.

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este estudio será determinar si la ostra japonesa (*Magallana gigas*) puede considerarse un vector de transmisión de contaminantes y/o de residuos plásticos a través de la cadena trófica. Su potencial como vector dependerá de la cantidad de contaminante o residuo absorbida y del tiempo de retención en los tejidos.

Para ello se han planteado los siguientes objetivos secundarios:

- Determinar las tasas de ingestión y egestión y el tiempo de retención de microplásticos contaminados o no con diésel en las ostras.
- Determinar la absorción de hidrocarburos (diésel) por las ostras mediante la ingesta de microplásticos o filtración de agua de mar contaminados.
- Estudiar la posible variación de palatabilidad de microplásticos por parte de las ostras en función de su contaminación o no con diésel.
- Evaluar la relevancia de las ostras en la incorporación de materiales plásticos a la cadena trófica.

3. MATERIALES Y METODOLOGÍA

El trabajo experimental se ha realizado en el Laboratorio Marino UA-Dénia situado en Dénia (Alicante) y en el Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología de la Universidad de Alicante.

3.1. Agua de mar: preparación de mezclas con hidrocarburos

El agua de mar se recogió en la *Platja del Trampolí* en Dénia (Alicante), utilizando una bomba equipada con un sistema de filtración de hasta 5 micras que elimina las impurezas del agua y la transporta a través de una manguera hasta los bidones donde se almacena. Los bidones se trasladaron al laboratorio, introduciendo aireadores para mantener los niveles de oxígeno hasta su uso (Figura 5).



Figura 5. Sistema de captación y filtración del agua.

Se realizaron mezclas de diésel (adquirido en gasolinera BP) y agua de mar, a una ratio 1:1000 en botes de plástico, sellados y mantenidos en agitación durante 65 horas a 190 rpm (Figura 6). Según la ficha técnica, el diésel es un líquido muy poco soluble en agua con una densidad de 820-850 kg/m³ y necesita tiempos prolongados en agitación para solubilizarse en agua.



Figura 6. Esquema de la preparación de la mezcla diésel + agua de mar (ratio 1:1000).

3.2. Preparación y contaminación de microplásticos

Se seleccionaron plásticos de tres colores (rosa, negro y verde) y se cortaron hilos de poliéster 100% en filamentos de 2 mm con la ayuda de papel milimetrado y una lupa, para obtener 300 filamentos de 3 colores (100 de cada color). Los filamentos se almacenaron en tubos Eppendorf separados por colores (Figura 7).



Figura 7. Filamentos de poliéster de color rosa, verde y negro.

La elección de los tres colores se realizó para facilitar la visualización de los microplásticos en el interior de las ostras así como valorar posibles preferencias de color por parte de los animales.

Los filamentos de cada color se dividieron en dos subgrupos de 50 y se introdujeron en recipientes con agua de mar o con diésel 100%, manteniéndolos en agitación a 150 rpm durante 72 horas (Figura 8). En paralelo, se mantuvieron recipientes control con agua de mar o diésel, sin filamentos. El paso siguiente fue extraer los filamentos del recipiente con diésel y colocarlos en papel absorbente para eliminar el exceso de diésel. Se retornaron a un recipiente con agua de mar y se sometieron, de nuevo, a agitación a 170 rpm/28 horas para que liberasen el posible exceso de diésel. El tratamiento de los filamentos mantenidos en el recipiente con agua de mar fue similar. Finalmente, se extrajeron los filamentos y se almacenaron en recipientes hasta ser suministrados a las ostras.

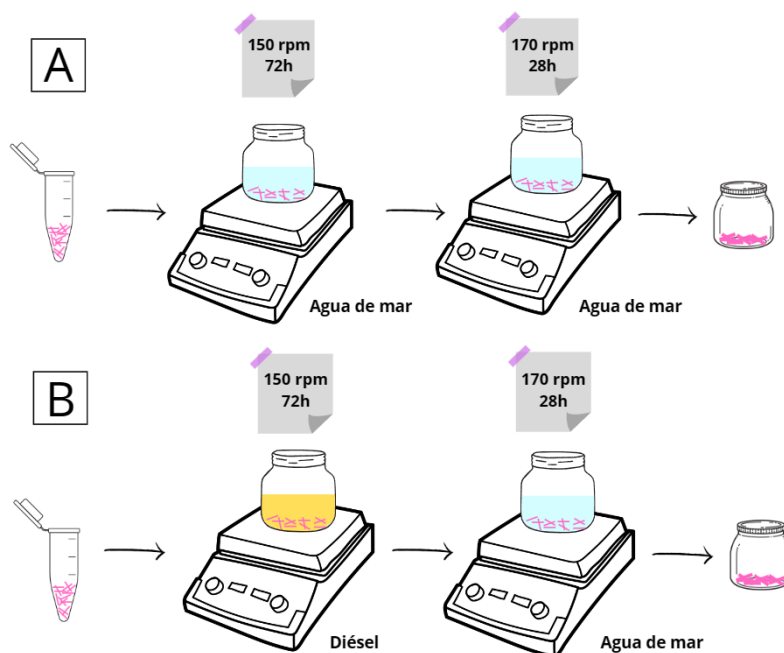


Figura 8. Preparación de microplásticos sin diésel (A) y con diésel (B).

3.3. Ensayos de optimización del modelo experimental

Se realizó un estudio preliminar sobre el comportamiento en acuario de dos especies de ostras, la ostra plana (*Ostrea edulis*) y la ostra rizada (*Magallana gigas*) para seleccionar el modelo experimental más adecuado para el estudio con microplásticos.

Se trabajó con 20 ejemplares de cada especie, suministrados por la empresa Jose M^a Daporta Leiro e Hijos S.L (Figura 9).



Figura 9. Ejemplares de *Magallana gigas* (izquierda) y *Ostrea edulis* (derecha).

Para mantener las ostras, se prepararon dos acuarios (de 50 x 25 cm y de 25 x 25 cm para las ostras rizada y planas, respectivamente), con un sistema de bombeo (MING.Y MY-365; Q = 350 l/h) y aireación (BPS-6089; Q = 300 l/h) en diagonal para generar una corriente en el tanque y lograr una mejor distribución del oxígeno y del alimento.

Para los ensayos de ingesta se prepararon cuatro acuarios de 30 x 30 cm y cuatro acuarios de 25 x 15 cm con el mismo sistema de bombeo y aireación.

Para valorar el efecto de la disposición de las ostras, ambas especies se colocaron de dos formas diferentes: cuatro ejemplares en el suelo, simulando su posición natural y cuatro ejemplares en batea simulando un sistema de producción acuícola (Figura 10). Asimismo, se colocó un ejemplar de cada especie solo en un acuario, tanto en suelo como en batea para valorar su comportamiento en solitario (Figura 11).

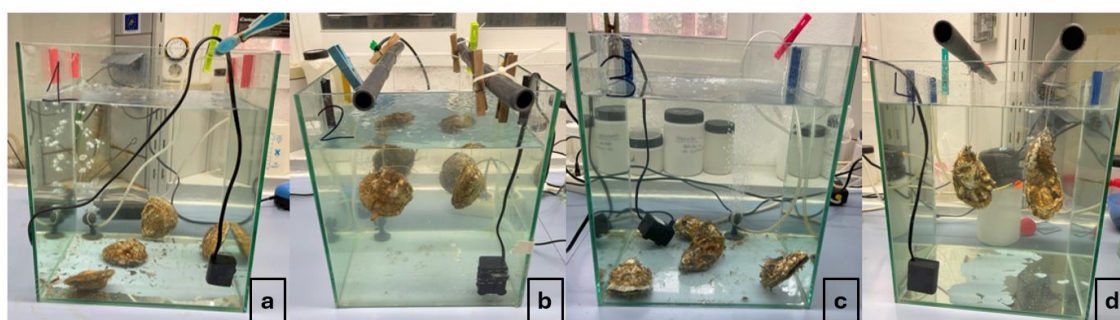


Figura 10. Disposición de las ostras en dos modalidades. *Ostrea edulis* en suelo (a), *Ostrea edulis* en batea (b), *Magallana gigas* en suelo (c) y *Magallana gigas* en batea (d).

Diariamente se realizó un cambio parcial de agua de cada acuario (1/4 del volumen) y se midieron la salinidad y la temperatura con el equipo CTD Rinko-Profilor ASTD102 (antes del cambio) y con un salinómetro CyberScan Series 600 (tras el cambio) para conseguir una temperatura entre 17 y 20°C y una salinidad entre 37 y 37,5 ppt.

Los ejemplares se alimentaron una vez al día con una mezcla de 150mL de agua de mar y 1mL de *Easy booster* (preparado de fitoplancton proporcionado por el Oceanográfico de València). Se les administró la dieta por la mañana o por la tarde, para ver cómo afectaba el horario a su comportamiento. El periodo de luz de mantenimiento fue de 12 horas (de 9h a 21h).

Una vez aclimatadas, se realizaron pruebas con microplásticos vírgenes para comprobar si las ostras eran o no capaces de ingerirlos y, en caso afirmativo, saber el tiempo que los mantenían en su interior.

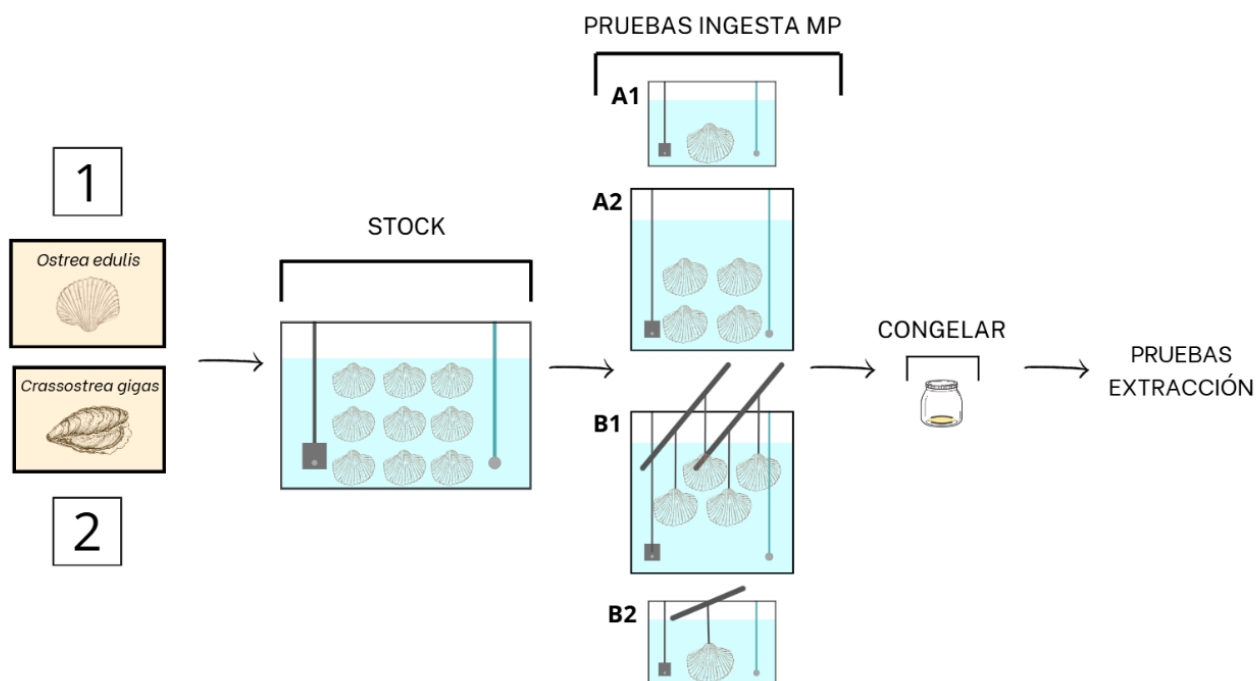


Figura 11. Esquema del ensayo preliminar de ingesta de microplásticos en *Ostrea edulis* (1) y *Magallana gigas* (2). A1: ejemplar en suelo en solitario, A2: ejemplar en suelo en grupo, B1: ejemplar en batea en grupo, B2: ejemplar en batea en solitario.

Para la elaboración del sistema de bateas se utilizaron tubos de plástico de PVC con hilos de pescar colgantes imitando las cuerdas que se utilizan en las bateas de acuicultura. Para suspender las ostras se les practicó un agujero en el umbo con un taladro (broca helicoidal de 2,5 mm) minimizando el estrés causado. En dos acuarios se colocaron dos ostras en cada hilo y en otros dos acuarios una ostra en cada hilo.

3.4. Preparación de muestras para extracción y determinación de hidrocarburos

Una vez distribuidas las ostras en los acuarios (apartado 3.3), se seleccionaron seis individuos de cada especie para hacer pruebas de extracción y determinación de hidrocarburos en tejidos (Figura 12). Se midió la altura y la anchura de las valvas con un pie de rey (Figura 13), se abrieron para extraer el animal completo, incluyendo el músculo, secándolo con papel absorbente. A continuación, se determinó el peso con una balanza de análisis (KERN ALT 100-4M) y se congelaron a -80°C (Figura 14).



Figura 12. *Ostrea edulis* (izquierda) y *Magallana gigas* (derecha).



Figura 13. Toma de medidas de las ostras *Magallana gigas*.



Figura 14. Ostras sin valvas guardadas en botes preparadas para congelar.

En las pruebas preliminares de extracción y determinación de hidrocarburos se utilizaron dos ejemplares de *Magallana gigas*, una sin manipular para conocer el contenido basal y otra contaminada con diésel para determinar la eficacia del método.

Tras observar el comportamiento de las dos especies en el estudio preliminar, se decidió trabajar con ostra rizada mantenida en suelo y en solitario por cuestiones de manejo y

fiabilidad de resultados, ya que la apertura y cierre de valvas es más frecuente en esta especie, el grado de apertura de valvas es mayor y la administración de los filamentos es más sencilla en los ejemplares dispuestos en suelo.

3.5. Ensayos experimentales con *Magallana gigas*

En esta fase del estudio se utilizaron 24 ejemplares de *M.gigas* con un tamaño de valva de 5,50 – 7,91 cm de ancho y 10,06 – 13,22 cm de largo, y un peso húmedo de 16,01 – 36,14 g.

3.5.1. Mantenimiento de los animales

Los ejemplares de ostra rizada suministrados por la empresa Jose M^a Daporta Leiro e Hijos S.L se aclimataron y mantuvieron en un acuario de 68 x 38cm con aireación y sistema de bombeo hasta su distribución en acuarios de experimentación (25 x 15 cm y/o 22 x 17 cm).

La temperatura del agua de los acuarios se mantuvo enfriando o calentando el agua de forma gradual empleando cubitos de hielo o calentadores, respectivamente.

Los ejemplares de ostra se alimentaron por la tarde, tras finalizar los experimentos de administración de microplásticos. Se utilizó “Reef Pulse” (Ocean Nutrition), alimento en polvo con tamaño de partícula entre 5-400 µm que contiene un 53% de proteína, 1% de fibra, 15% de grasa y 10% de ceniza. Se preparó un homogeneizado en agua de mar (150mL de agua de mar y media cucharada de “Reef pulse”) y se suministró con una Pipeta Pasteur de 5ml. El cambio de alimentación se debió a motivos de disponibilidad/logísticos y avalado por el equipo del Oceanogràfic de València.

3.5.2. Administración de microplásticos

Se administraron a las ostras tres tratamientos: microplásticos (MPs) vírgenes, MPs contaminados con diésel y agua de mar contaminada con diésel. Se mantuvo un grupo control sin tratar. Los experimentos se realizaron por triplicado y con dos tiempos de reposo, 24 horas y 7 días.

Se observó la frecuencia de apertura y cierre de las valvas en ciclos de 10 minutos en cuatro momentos diferentes a lo largo del día, dos veces por la mañana y dos veces por la tarde, dejando aproximadamente una hora entre ciclos.



Figura 15. Grado de apertura de valvas observado durante los experimentos en *Magallana gigas*.

La administración de MPs (Figura 16), se llevó a cabo por la mañana y por la tarde durante tres días, con el objetivo de detectar potencial capacidad acumulativa. En total se administraron seis filamentos a cada ostra, dos de cada color. Cada filamento se introdujo directamente dentro de la ostra con ayuda de pinzas cuando las valvas tenían un grado de apertura lo suficientemente amplio (Figuras 15 y 17). Se emplearon pinzas distintas, para los filamentos contaminados con diésel y para los no contaminados.



Figura 16. Acuarios de ostra *Magallana gigas* que reciben microplásticos contaminados con diésel (izquierda) y microplásticos sin contaminar (derecha).

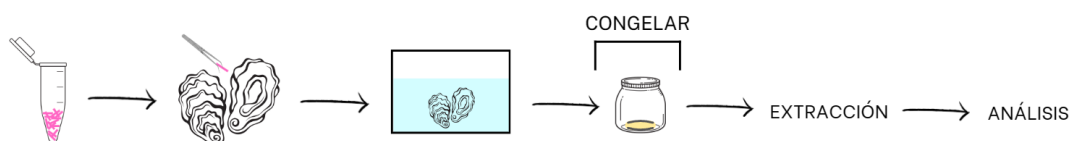


Figura 17. Esquema del ensayo de administración de microplásticos a ostra (*Magallana gigas*).

Para administrar diésel mezclado con agua de mar se utilizaron acuarios con una capacidad de 4 litros. Se desconectaron los aireadores y las bombas y se sustituyeron 80 mL de agua de mar por 80 mL de la mezcla con diésel empleando una pipeta de vidrio (Figura 18). La mezcla se homogeneizó en el volumen total y se reconectaron bombas y aireadores, dejando a los ejemplares en el baño con diésel durante 24 h. Pasado este tiempo, se vaciaron los acuarios y se realizó una renovación completa de todo el volumen de agua. Se ensayaron tiempos de reposo de 24 h y 7 días.

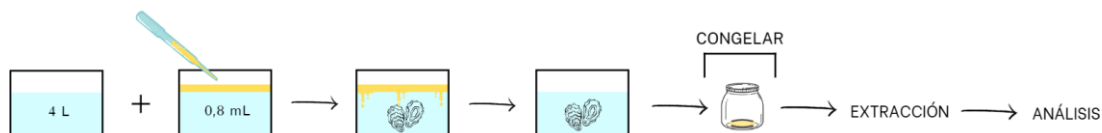


Figura 18. Esquema del ensayo de administración de agua de mar con diésel en ostra (*Magallana gigas*).

Tras cumplir los tiempos establecidos, se extrajeron las ostras de los acuarios (ver Anexo I, Figura 37) y se tomaron y procesaron las muestras siguiendo el protocolo explicado en el apartado 3.4 de esta memoria.

Adicionalmente, se tomaron muestras de agua (250 mL) de los acuarios con diferentes tratamientos antes de extraer los ejemplares y del agua que se utilizó diariamente en las renovaciones parciales de agua (Figura 19).

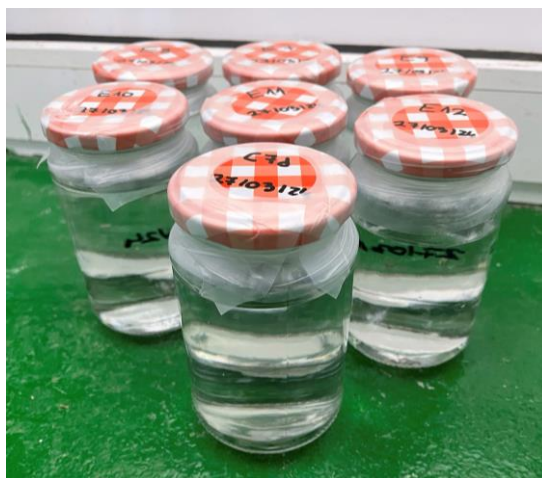


Figura 19. Muestras de agua de mar de los acuarios.

3.6. Extracción de hidrocarburos

Se utilizaron dos métodos para la extracción de hidrocarburos: extracción asistida por microondas (para las ostras) y extracción líquido – líquido (para el agua).

3.6.1. Extracción asistida por microondas (MAE)

Las muestras congeladas a -80°C , se liofilizaron y se molieron empleando un molinillo eléctrico VeoHome (Anexo I, Figura 38). A continuación, se introdujeron en los cilindros del microondas FlexiWAVE Milestone y se añadieron 8 ml de hidróxido de potasio (KOH) y 20 ml de hexano a cada una de ellas (Anexo I, Figura 39). Se sometieron a 129°C durante 27 minutos y, tras dejar enfriar, se extrajeron (Anexo I, Figuras 40 y 41). Se centrifugó (10000 rpm x10 minutos) en una centrifuga Gyrozen 1248 R para extraer la fracción orgánica (Anexo I, Figura 42). Dicha fracción se mezcló con una disolución saturada de cloruro sódico (NaCl) en el vórtex y se dejó reposar unos segundos hasta su separación en dos fases. Se recuperó la fase menos densa y se guardó en botes ámbar, que se almacenaron en el congelador hasta su posterior uso.

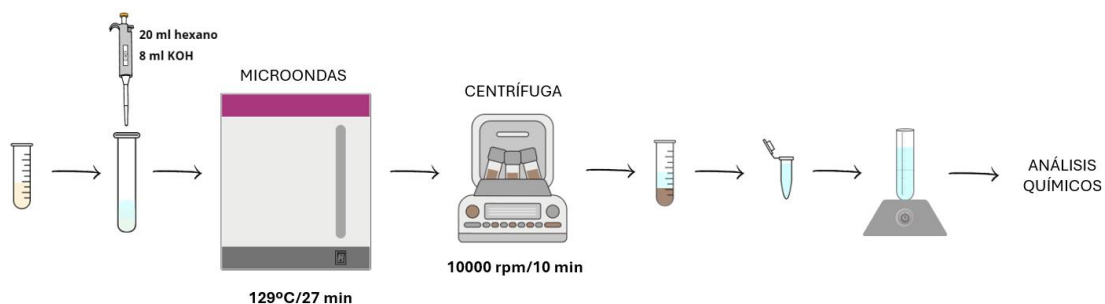


Figura 20. Procedimiento para la extracción de hidrocarburos de tejidos de ostra *Magallana gigas*.

3.6.2. Extracción líquido – líquido

Se introdujeron 250 ml de agua en un embudo de decantación junto a 3 alícuotas de 10 ml de diclorometano (CH_2Cl_2), se agitó el embudo y se dejó reposar hasta separación en dos fases (Anexo Figura 43). Tras recoger la fase inferior, se añadieron 5g de sulfato de magnesio (MgSO_4) para extraer el agua residual. A continuación, se filtró con un embudo y se almacenó en botes ámbar sellados con Parafilm en el congelador hasta su posterior uso.

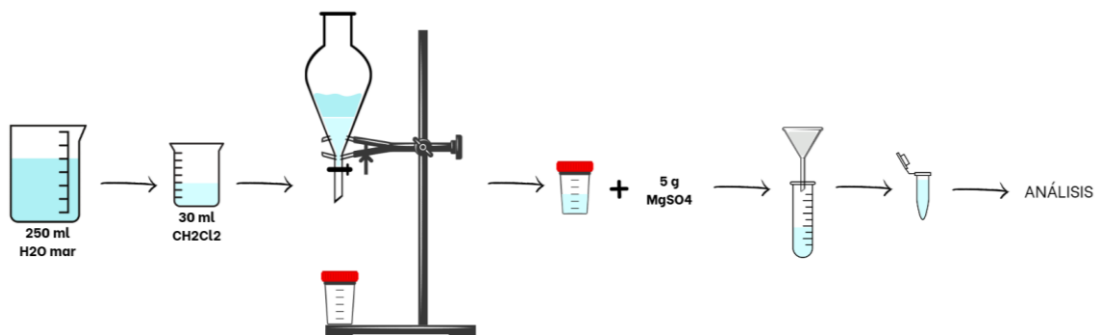


Figura 21. Esquema del procedimiento de extracción de hidrocarburos de agua de mar.

3.7. Análisis mediante cromatografía de gases - masas

Para analizar las muestras mediante cromatografía de gases – masas se realizaron diluciones 1:10 con hexano a las muestras de tejido de ostras y 1:100 con diclorometano a las muestras de agua. Se filtraron (0,22 micras) 2ml de cada muestra (Anexo I, Figuras 44 y 45).

Las muestras fueron enviadas a los Servicios Técnicos de la Universidad de Alicante para el análisis en el cromatógrafo Agilent 7890A GC System con una columna Agilent 19091S-433HP-5MS (30 m x 250 μm x 0.25 μm).

Los datos obtenidos se analizaron comparando las muestras experimentales con los patrones control, buscando diferencias entre las muestras de un mismo tratamiento y sus controles. Se identificaron los 10 compuestos con la mayor señal de identificación, teniendo en cuenta que el porcentaje de identificación del análisis fuese superior al 90%, y se analizaron las diferencias en las áreas de los compuestos. Los compuestos con un porcentaje de identificación inferior al 90% se descartaron para evitar posibles errores de detección.

3.8. Análisis estadístico de los datos

Los datos obtenidos se procesaron y analizaron estadísticamente con el programa informático R (versión 4.3.3). Se utilizó la prueba ANOVA o la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis en caso de que no se cumplan las condiciones de aplicación.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Ensayos de palatabilidad

En los ensayos de palatabilidad, los ejemplares de *M. gigas* (n=12) alcanzaron un porcentaje de ingestión del 92% (59 de los 64 microplásticos suministrados) (Figura 22), confirmando que tienen la capacidad de ingerir MP de 2 mm. Estos resultados son coherentes con los de Dao et al. (2023), quienes detectaron microfibras entre 0,3 y 2,9 mm en ostras. Asimismo, Martinelli et al. (2020) identificaron microplásticos de diversas formas con tamaños entre 0,2 y 13 mm. Otros autores encontraron microfibras de 1,34 mm en *M. gigas* (Baechler et al., 2019). La presencia de microplásticos de hasta 5 mm de longitud fue observada en ostras del Pacífico en la costa holandesa del Mar del Norte (Leslie et al., 2013).

La ingesta media fue de 4,92 MP por ostra, valor muy similar encontrado por Dao et al. (2023), que detectaron una concentración media de 4,07 MP por ostra en *Crassostrea angulata*. Otros autores confirmaron números medios de partículas ingeridas entre 0,69 y 3,3 MP/ejemplar (Ding et al., 2021; Martinelli et al., 2020; Phuong et al., 2018) e incluso de 10,95 (Baechler et al., 2019) en *Magallana gigas*.

En nuestro estudio, la ingesta media de filamentos (MP) por gramo de tejido húmedo fue de 0,23. En otros estudios, la carga media encontrada fue de 0,35 o 0,47 (Baechler et al., 2019; Van Cauwenberghe y Janssen, 2014) Dao et al. (2023) y Phuong et al. (2018) determinaron concentraciones medias próximas a la nuestra (0,15 – 0,18). Sin embargo, otros autores encontraron medias superiores (1,13 – 1,5) (Abidli et al., 2019; Jang et al., 2020 y Ding et al., 2021) en el rango de 0,3 a 3.

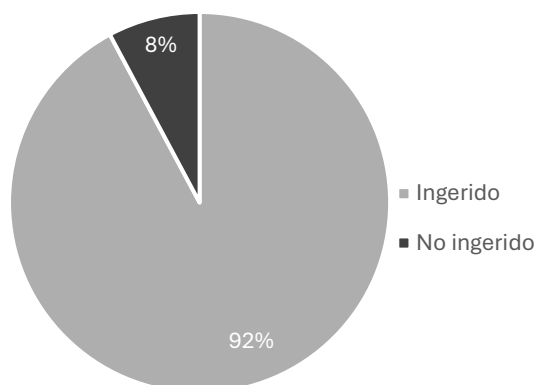


Figura 22. Filamentos de microplásticos totales ingeridos y no ingeridos en el ensayo de palatabilidad en *Magallana gigas*.



Figura 23. Ejemplar de *Magallana gigas* con un microplástico rosa ingerido (círculo azul).

Del total de MP ingeridos, 33 estaban contaminados con diésel y 26 no. La ingesta media de MP con diésel fue de 5,50 por ostra y de 0,27 por gramo de tejido húmedo, mientras que la ingesta media de MP sin contaminar fue de 4,33 por ostra y 0,19 por gramo de tejido húmedo (Figura 24).

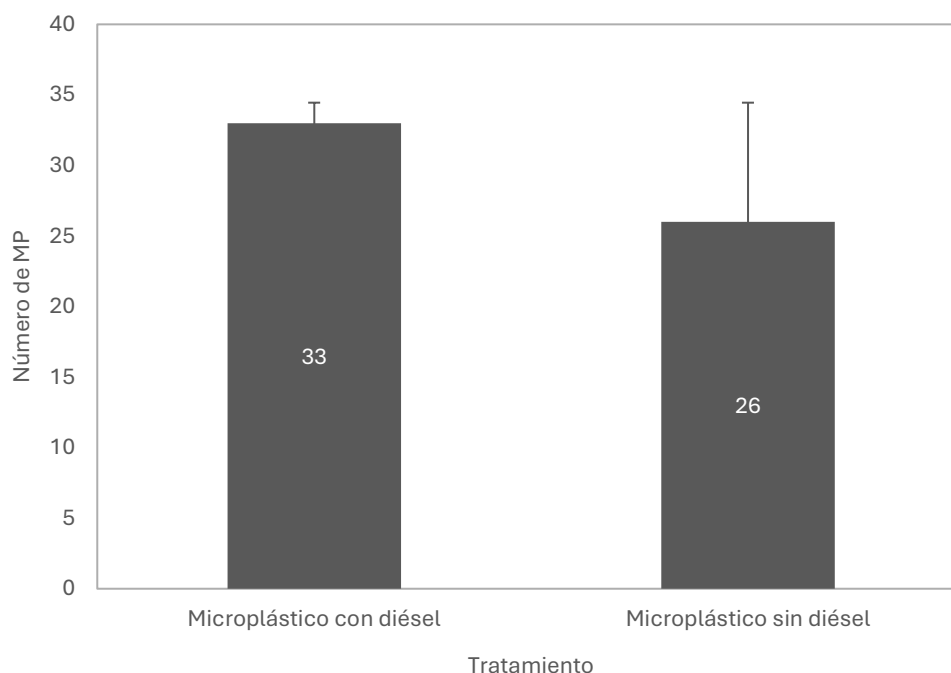


Figura 24. Ingesta de microplásticos con diésel y sin diésel por las ostras (*Magallana gigas*).

No obstante, el análisis estadístico puso de manifiesto que no hubo diferencias significativas (p -valor = 0,308) en la ingestión de MP en función del tratamiento aplicado (Tabla 2). Por tanto, la contaminación del diésel no afectó a la palatabilidad de los MP en las ostras.

Tabla 2. Tabla resumen ANOVA de los resultados de la ingestión de microfilamentos en ostras en relación al tratamiento aplicado.

	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Grados de libertad	F	p-valor
Tratamiento	0,069	0,06897	1	1,057	0,308
Residuales	3,655	0,06527	56		

Se realizó un análisis de regresión lineal entre la longitud de la valva derecha de las ostras respecto a la cantidad de MP ingerida y no se encontró correlación ($R^2 = 0,0908$). En consecuencia, la ingestión de MP no parece estar influenciada por el tamaño de la ostra (Figura 25). Estos resultados están en consonancia con los encontrados por Baechler et al. (2019) cuyo análisis mostró que ni la longitud de la valva ni el peso corporal presentaban correlación con el número de MP ingerido por ejemplar.

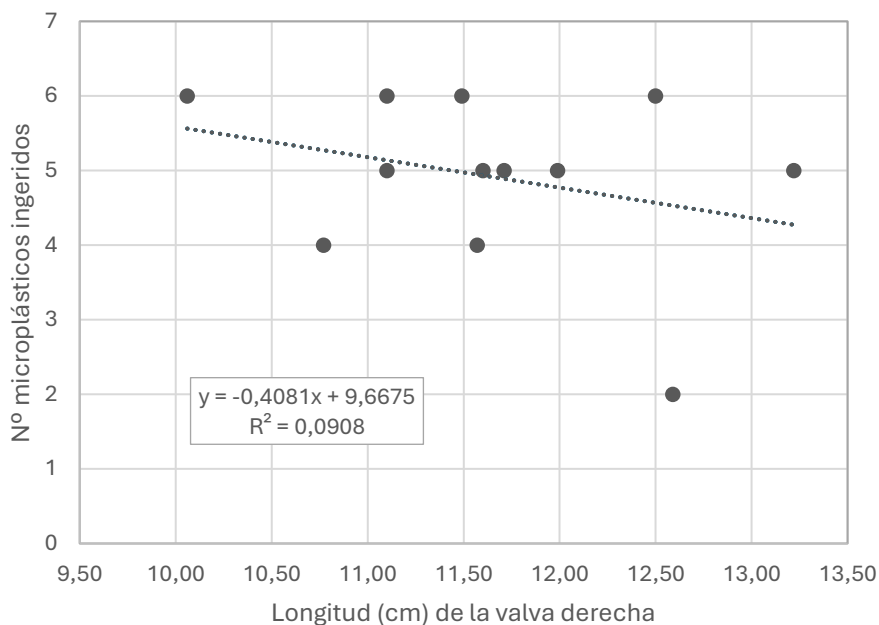


Figura 25. Análisis de regresión de microplásticos ingeridos en relación al tamaño de la valva de la ostra (*Magallana gigas*).

En relación al color del filamento, en el caso de MP contaminados con diésel (Figura 26), el 43% de los filamentos ingeridos fueron de color rosa (n=15), el 31% verdes (n=11) y el 26% negros (n=9). En el caso de los microplásticos sin contaminar con diésel (Figura 27) el 38% fueron rosa (n=11), el 34% verdes (n=10) y el 28% negros (n=8). Dado que no se detectaron diferencias estadísticas significativas en la ingesta asociadas al color del filamento (p-valor = 0,7299), se puede afirmar que las ostras no mostraron preferencia por ninguno de los tres colores ensayados. Dao et al. (2023) encontraron fibras de color azul y rojo en las ostras, siendo las azules las más comunes (83-100%). Martinelli et al. (2020) identificaron fibras de color azul, negro, amarillo, blanco, rojo, morado y verde y Baechler et al. (2019) de color azul, gris y negro.

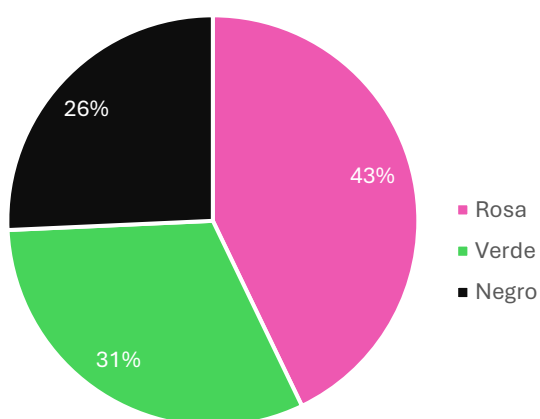


Figura 26. Microplásticos de colores contaminados con diésel ingeridos (%) por ostra (*Magallana gigas*).

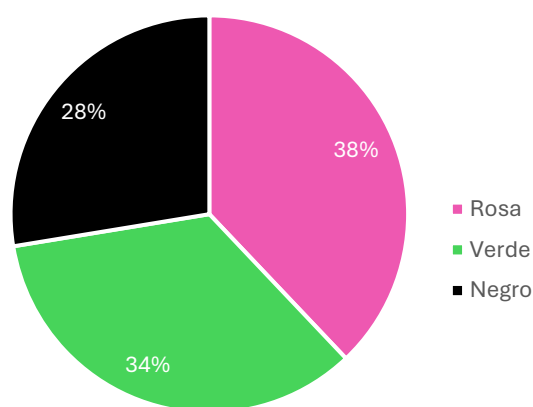


Figura 27. Microplásticos de colores sin diésel ingeridos (%) por ostra (*Magallana gigas*).

Se estimaron los tiempos de retención de 15 filamentos, 8 contaminados con diésel y 7 sin contaminar, resultando muy variados (Tabla 3). En el caso de los contaminados con diésel, el menor tiempo de retención fue de 6 minutos, el mayor de 24 horas y 5 minutos y el tiempo medio de 5 horas y 56 minutos (SD = 591,1). En los no contaminados, el menor tiempo de retención fue de 4 minutos, el mayor de 1 hora y 33 minutos y el tiempo medio de 21 minutos (SD =32,1).

Tabla 3. Tiempo de retención (minutos) de microplásticos contaminados con diésel o no en ostra (*Magallana gigas*).

Tiempo de retención (min) en ostra	
Microplástico con diésel	Microplástico sin diésel
6	8
8	4
30	21
31	11
1445	93
1165	4
111	9
56	-
Media: 357; SD: 591,1	Media: 21; SD: 32,1

Se detectaron diferencias estadísticas significativas (p -valor = 0,001327) en el tiempo de retención de los microfilamentos en función del tratamiento. El tiempo medio de retención de los microplásticos contaminados con diésel fue superior al de los no contaminados, diferencia que podría deberse a que alguno de los compuestos del diésel mejore la ingesta de los filamentos haciendo que las ostras los retengan durante más tiempo. Otras explicaciones posibles podrían ser: a) que las ostras estén absorbiendo el diésel presente en los filamentos, y por eso los retienen durante más tiempo o b) que el diésel facilite la retención de los filamentos en su interior generando adherencia o viscosidad. En relación a estas últimas hipótesis, durante la preparación y manejo de los MP contaminados con diésel se observó la tendencia a adherirse entre sí y a las paredes del recipiente. Además, algunos autores han demostrado que los MP de tamaño >1000 μm pueden ser filtrados por las ostras pero se quedan retenidos o adheridos en la cavidad interna de las valvas o en el tejido muscular sin incorporarse al interior del organismo (Choi et al., 2022; Graham et al., 2019)

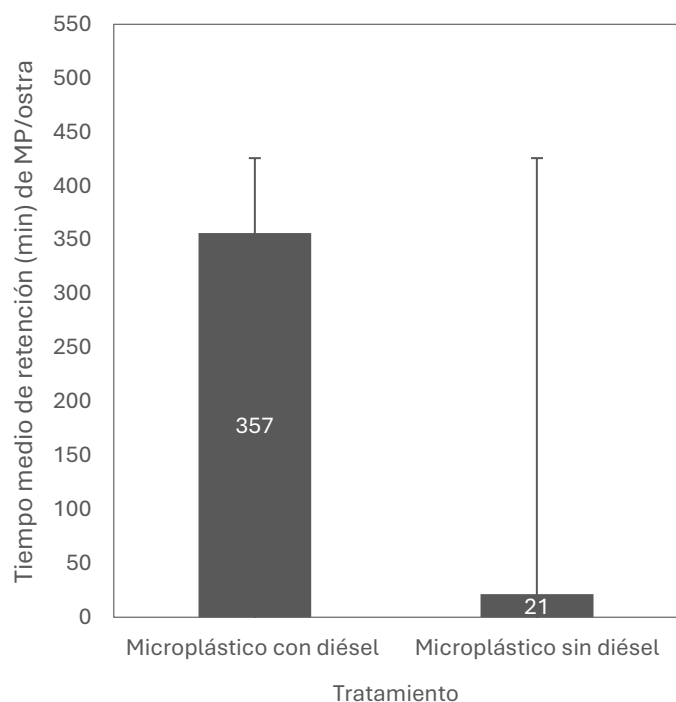


Figura 28. Tiempo medio de retención de microplásticos (MP) contaminados o no con diésel en ostra (*Magallana gigas*).

El análisis de regresión entre el tiempo de retención de microplásticos y el tamaño de la ostra puso de manifiesto que no hay dependencia entre estos caracteres ($R^2 = 0,0045$). Por tanto, el tiempo de retención de los microplásticos no depende del tamaño de las ostras.

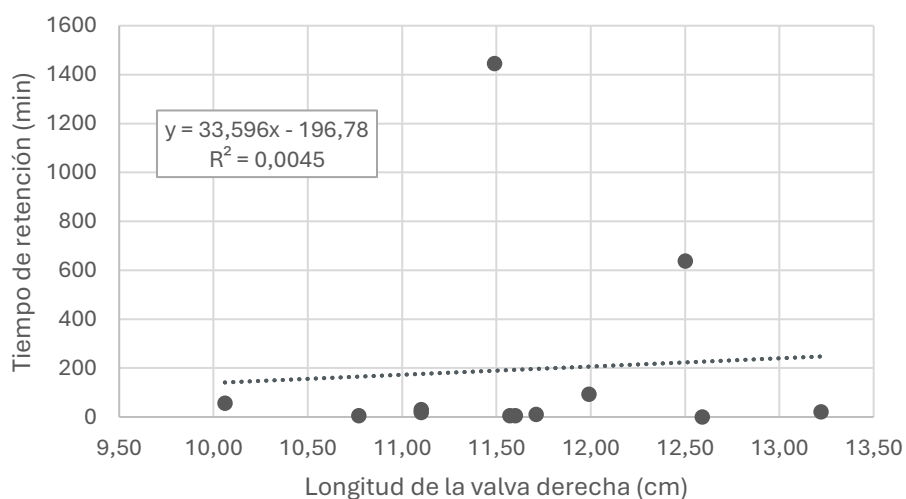


Figura 29. Análisis de regresión entre el tiempo de retención de los microplásticos y el tamaño de las valvas de las ostras (*Magallana gigas*).

Los resultados de eficiencia en ingesta de microplásticos por parte de las ostras observados en el presente estudio sugieren que estos organismos podrían actuar como vectores de transferencia de estos contaminantes. No obstante, dado que no los acumula durante tiempos prolongados, no podría considerarse un organismo relevante en la incorporación de materiales plásticos a la cadena trófica.

4.2. Actividad de las ostras

Analizando la actividad de los animales observamos que en el grupo control el 60% del tiempo las ostras estaban filtrando, de forma similar al grupo expuesto a microplásticos no contaminados (permanecieron filtrando el 58% del tiempo) (Figura 30). Sin embargo, las ostras expuestas a agua contaminada estuvieron filtrando el 79% del tiempo, como ocurrió en el grupo expuesto a microplásticos contaminados con diésel (Figura 30).

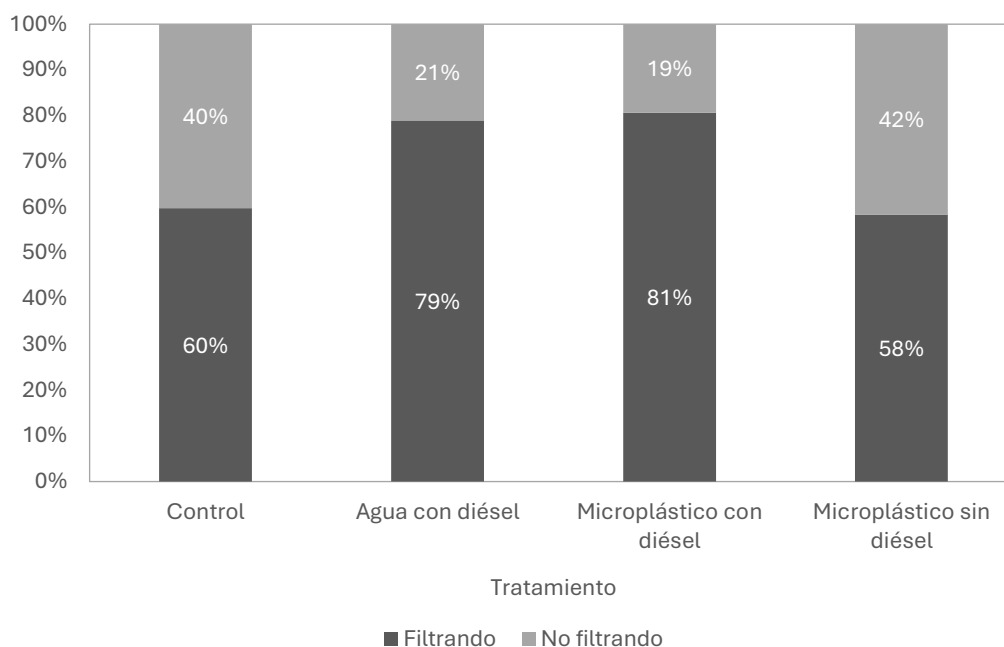


Figura 30. Actividad de las ostras (*Magallana gigas*) expuestas o no a diésel medida como porcentaje de filtración.

El análisis estadístico demostró que las diferencias en porcentaje de filtración entre los diferentes grupos eran significativas (p-valor 0,0000364) (Tabla 4). Por tanto, se podría afirmar que el comportamiento de las ostras cambia cuando el diésel está presente en el medio, incrementando el tiempo de filtración.

Tabla 4. Tabla resumen ANOVA de los resultados del tiempo de filtración en los diferentes grupos de ostras.

	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Grados de libertad	F	p-valor
Tratamiento	5,54	1,8457	3	9,516	0,00000364
Residuales	105,34	0,1929	546		

La diferencia de comportamiento de las ostras en presencia de diésel podría ser ventajosa para el cumplimiento del ODS número 6. En este sentido, el uso de organismos bivalvos filtradores capaces de absorber contaminantes del agua, como es el caso de las ostras, ayudaría a conseguir una agua limpia y servicios de saneamiento e higiene adecuados (*Ministerio De Derechos Sociales, Consumo y Agenda 2030, 2021*).

En un estudio sobre el comportamiento de apertura valvar del mejillón *Mytilus edulis* expuesto a petróleo, los autores demostraron una tendencia a aumentar el movimiento de apertura de valvas durante el primer día de exposición (Redmond et al., 2017), de forma similar a las observaciones realizadas en nuestro estudio con ostras. Además, la introducción de diésel en el medio no provocó el cierre de las valvas ni en las ostras ni en los mejillones.

Así mismo, se observó que no existe correlación entre el número de filtraciones y el tamaño de las ostras ($R^2 = 0,0848$) (Figura 31).

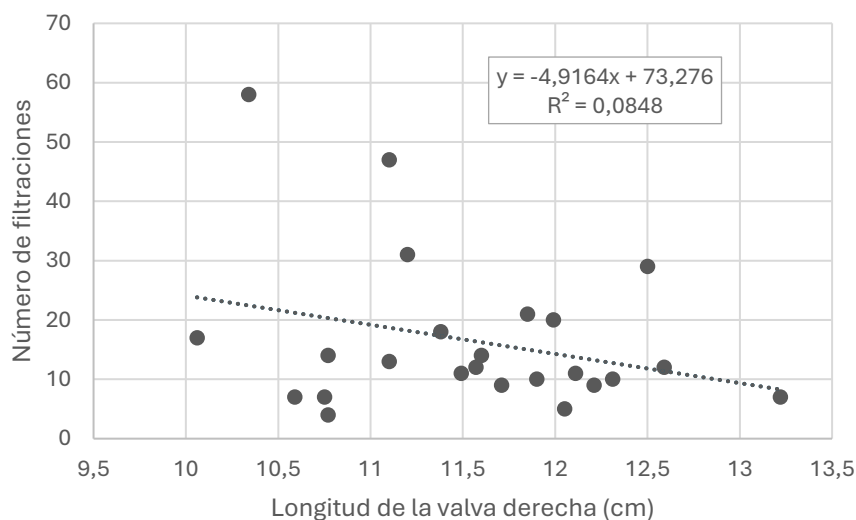


Figura 31. Número de filtraciones respecto al tamaño de las ostras *Magallana gigas*.

En cuanto a la actividad de las ostras, se observó que, aunque hubo mayor actividad antes del suministro de MP contaminados con diésel (71%) que a posteriori (29%) (Figura 32), la diferencia no fue significativa. En el caso de los filamentos no contaminados tampoco hubo diferencias significativas en la actividad (p -valor = 0,0824) antes (56%) y después (44%) de suministrarlos (Tabla 5).

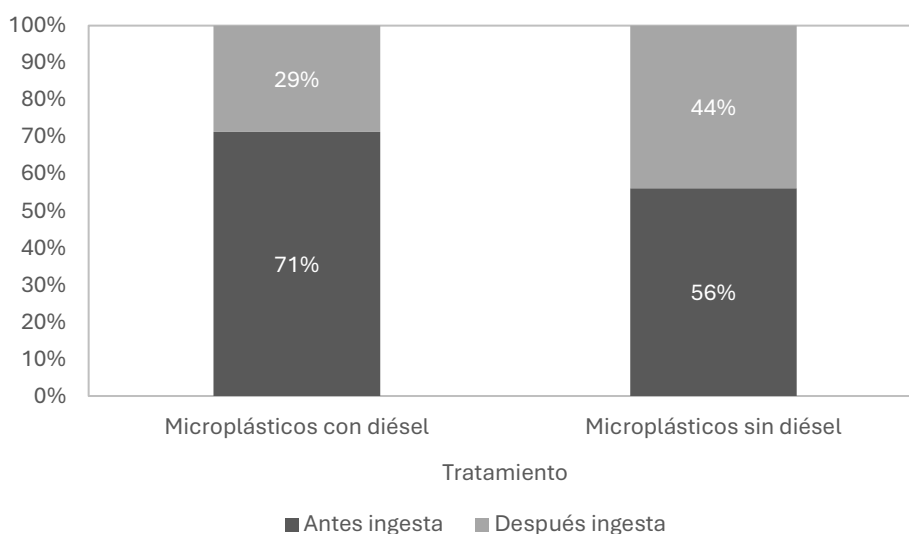


Figura 32. Actividad de las ostras (*Magallana gigas*) antes y después de suministrarles microplásticos con y sin diésel.

Tabla 5. Tabla resumen ANOVA de los datos de filtración antes y después de suministrar microplásticos.

	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Grados de libertad	F	p-valor
Tratamiento	0,673	0,7628	1	3,061	0,0824
Residuales	30,771	0,2198	140		

Al analizar la actividad de las valvas de las ostras en función del momento del día (Figura 33), se comprobó que en el grupo control las ostras tienen mayor actividad por la tarde (56%) que por la mañana (44%). Una situación similar se observó en el grupo tratado con microplásticos sin diésel (55% vs 45%). En el grupo tratado con agua contaminada con diésel las ostras están más activas por la mañana (71%) que por la tarde (29%), como también ocurrió en el tratamiento con microplásticos contaminados con diésel (65% vs 35%).

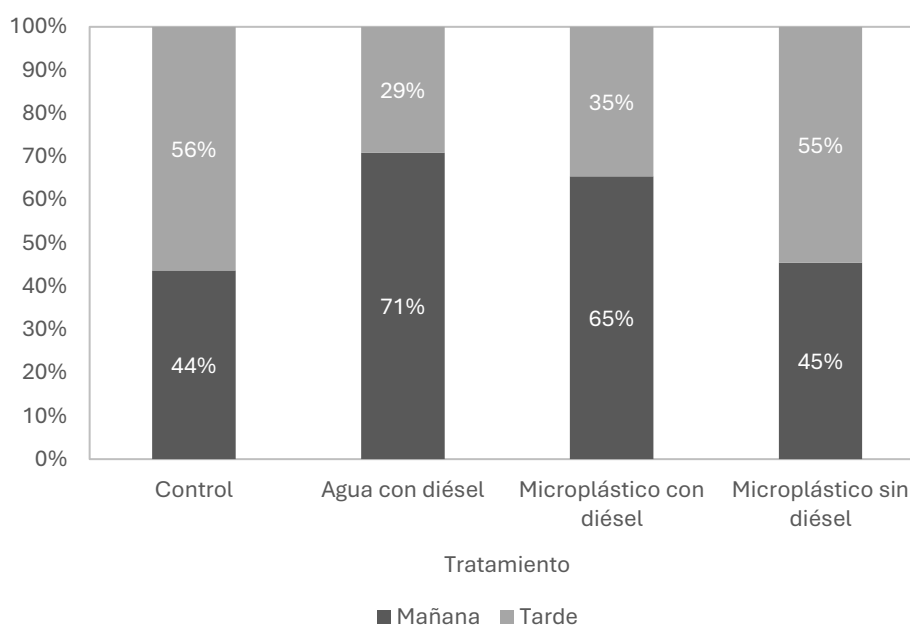


Figura 33. Actividad de las valvas de la ostra (*Magallana gigas*) por la mañana y por la tarde.

La actividad de las valvas en presencia de diésel en función del momento del día fue significativamente diferente (Tabla 6) (p -valor = 0,00013). Los tratamientos que contienen diésel generaron mayor actividad en las ostras por la mañana, mientras que en los grupos que recibieron tratamiento sin diésel la actividad fue similar a lo largo del día. Vásquez et al. (2024) también observaron diferencias en el comportamiento de las ostras entre la noche y el día, diferencias que podrían estar relacionadas con el ritmo circadiano, el cual suele estar sincronizado en estos animales con señales ambientales tales como la luz, la disponibilidad de alimento, las mareas y la temperatura.

Tabla 6. Tabla resumen ANOVA de los datos de filtración por la mañana y por la tarde.

	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Grados de libertad	F	p-valor
Tratamiento	4,81	1,6045	3	7,029	0,00013
Residuales	86,96	0,2282	381		

Cuando se analizó la actividad individual de las ostras se observó que cada ejemplar presentaba un comportamiento diferente (Tabla 7).

Tabla 7. Tiempos medios de filtración (media, SD) en los diferentes grupos de ostras (*Magallana gigas*).

Sin tratamiento (Control)			Tratamiento con Agua con diésel		
Ejemplar (OSTRA)	TIEMPO (seg)	SD	Ejemplar (OSTRA)	TIEMPO (seg)	SD
C1	402	168,29	D1	186	162,86
C2	254	177,23	D2	160	154,93
C3	328	164,70	D3	92	37,20
C4	107	64,71	D4	274	163,93
C5	141	88,94	D5	98	93,32
C6	166	76,52	D6	214	236,88
Control	233	115,58	Agua con diésel	171	69,96
Tratamiento con Microplásticos con diésel			Tratamiento con Microplásticos sin diésel		
Ejemplar (OSTRA)	TIEMPO (seg)	SD	Ejemplar (OSTRA)	TIEMPO (seg)	SD
E1	230	119,55	E4	207	111,58
E2	248	209,73	E5	207	79,82
E3	61	90,63	E6	250	154,34
E7	255	82,95	E10	346	190,50
E8	362	614,24	E11	274	161,00
E9	389	164,71	E12	257	188,40
Microplásticos con diésel	257	116,25	Microplásticos sin diésel	257	51,65

Tras realizar un estudio de correlación entre el tiempo de filtración y el tamaño de las valvas de las ostras (Figura 34), se puede observar que estas variables son independientes entre sí ($R^2 = 0,0295$).

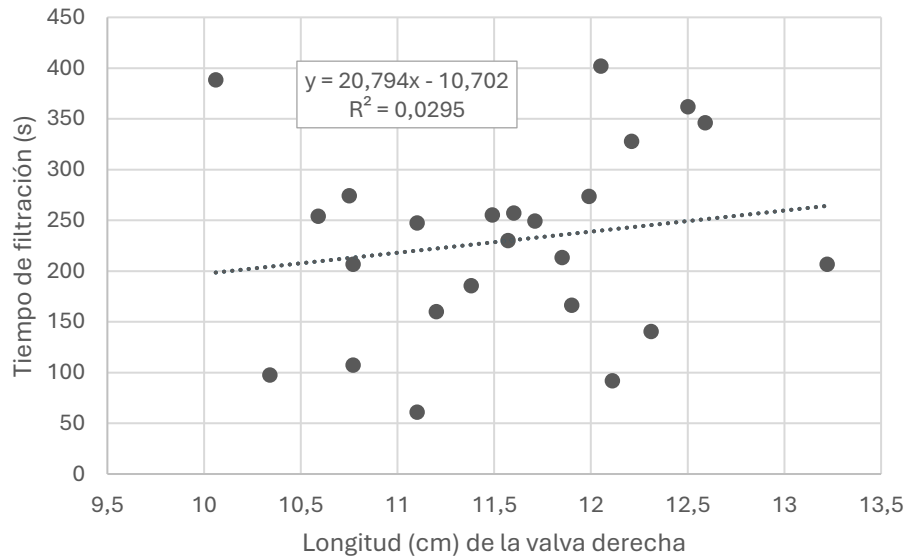


Figura 34. Relación entre el tiempo de filtración y el tamaño de las ostras (*Magallana gigas*).

La temperatura y la salinidad pueden afectar al comportamiento de apertura y cierre de valvas en las ostras. Bamber, S.D. (2023) comprobó que durante los periodos de caída de salinidad (de 33,6 a 18,2 ppt), las ostras europeas (*O. edulis*) redujeron el ancho de apertura de valvas y que la apertura de valva fue significativamente mayor en condiciones de luz reducida en periodos de 24h.

Los bivalvos modulan su relación con el entorno mediante movimientos valvares para responder a diferentes estímulos, desde la apertura activa cuando se alimentan y respiran hasta el cierre completo cuando detectan amenazas, como depredadores o condiciones de deterioro en la calidad del agua. En nuestro estudio, la actividad de filtración y la apertura valvar de las ostras mantenidas entre 17 y 20°C y una salinidad entre 37 y 37,5 ppt fueron mayores en agua contaminada con hidrocarburos. Es probable que otros parámetros del entorno en el que viven los bivalvos dicten el desarrollo de su comportamiento de apertura de valvas (efecto de la profundidad del agua y la fuerza de las corrientes de marea) (Bamber S.D., 2023).

4.3. Absorción de diésel

Las muestras de agua y tejido de ostra fueron analizadas mediante cromatografía de gases – espectrometría de masas y los resultados obtenidos se analizaron comparándolos con los patrones control. Los resultados no presentaron una tendencia regular en ninguno de los grupos en estudio sometidos a diferentes tratamientos.

En las muestras de agua solamente se ha detectado diésel en dos de ellas; un agua control utilizada en los acuarios de los tratamientos con un tiempo de descanso de 7 días y la del acuario de la ostra E9 tratada con microplásticos con diésel con un tiempo de descanso de 7 días. El único compuesto encontrado en estas muestras ha sido dodecano, con un tiempo de retención de 10,525 (Tabla 8). No obstante, en ninguno de los ejemplares que estuvieron en contacto con estas aguas se ha detectado diésel.

Tabla 8. Comparación de los tiempos de retención de los compuestos identificados en las muestras de agua y el patrón. En amarillo se muestran los compuestos de patrón, en verde los compuestos de las muestras de agua y en azul los compuestos que coinciden tanto en el patrón como en las muestras de agua.

COMPUESTOS	H2O control	H2O control	H2O control 7d	H2O Diésel 24h	H2O D6	H2O MPD	H2O Diésel 7d	H2O MP	H2O E7	H2O E9	H2O E10	H2O E11	H2O E12	TR PATRÓN DICLOROMETANO
Cyclotetrasiloxane, octamethyl-														9,662
Cyclopentasiloxane, decamethyl-														11,954
Dodecane		10,525								10,525				10,565
Oxalic acid, 6-ethyloct-3-yl hexyl ester														13,348
Decane, 2,3,5-trimethyl-														13,543
Oxalic acid, 6-ethyloct-3-yl ethyl ester														13,862
Trichloroacetic acid, 6-ethyl-3-octyl ester														13,956
Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-														14,074
Docosane														15,569
Cycloheptasiloxane, tetradecamethyl-														15,963
Heneicosane	17,997	17,998					17,997	17,998	17,997		17,997	17,998		16,289
Hexadecane														16,959
Heptadecane														17,904
2-Bromotetradecane														18,019
Octadecane											19,865			18,803
Dodecane			13,521				13,520							
Heptacosane			17,998			17,998								
Heptacosane						19,863	19,863							
Heptacosane			21,550	21,549		21,550							21,549	
Heneicosane	19,863	19,864	19,865					19,864	21,548	21,548			19,864	
9-Octacenamide, (Z)-	21,721								21,720					21,857
Hexadecanamide	21,858			21,857	21,857	21,858		21,857	21,857					
9-Octacenamide, (Z)-	23,192	23,192	23,189	23,187	23,191	23,189	23,182	23,196	23,192	23,182	23,186	23,190	23,931	
Octadecane, 1-iodo-											21,550	21,549		
Heptane, 2,4-dimethyl-						5,473								
Hexadecane		21,858												
Bis(2-ethylhexyl) phthalate					24,417			24,419						
Octacosane													23,981	
Isopropyl myristate											19,004			
Pentacosane					21,550									

En las muestras de tejido no se detectó diésel (Tabla 9), con excepción de la muestra de la ostra D6, perteneciente al tratamiento agua con diésel con un tiempo de descanso de 7 días. Se detectaron tres compuestos, heptano 2,4-dimethyl-, hexadecano y heneicosano, aunque solamente uno de ellos coincide con el tiempo de retención del patrón (heneicosano, 18,000 vs 18,020). Este ejemplar murió durante el periodo experimental, lo cual sugiere que fue capaz de absorber diésel e incorporarlo a los tejidos pero no pudo eliminarlo o transformarlo como, *a priori*, pueden haber hecho el resto de ostras. Se ha visto que las ostras realizan una serie de procesos tales como la biotransformación, en la que producen una variedad de enzimas y otras proteínas y la detoxificación, en la que alteran el metabolismo de los lípidos protegiéndolos del estrés oxidativo (Boutet et al., 2004). Otra posibilidad es que los tejidos absorban el diésel después de que la ostra haya muerto.

Choi et al. (2022) observaron en su estudio que la cantidad de sustancias contaminadas absorbidas a través de la ingesta de microplásticos puede cambiar según la condición fisiológica y ecológica de la ostra *M.gigas*. Además, calcularon un tiempo efectivo de depuración para eliminar los contaminantes de 24 horas.

Tabla 9. Comparación de los tiempos de retención de los compuestos identificados en las ostras y el patrón. En amarillo se muestran los compuestos de patrón, en verde los compuestos de las ostras y en azul los compuestos que coinciden tanto en el patrón como en las ostras.

COMPUESTOS	AGUA CON DIÉSEL						CONTROL						TR PATRÓN HEXANO
	TR D1 24h	TR D2 24h	TR D3 24h	TR D4 7d	TR D5 7d	TR D6 7d	TR C1 24h	TR C2 24h	TR C3 24h	TR C4 7d	TR C5 7d	TR C6 7d	
Heptane, 2,4-dimethyl-						5,584							13,342
Hexadecane						15,913							13,641
Henicosane													15,567
Eicosane													15,933
Henicosane						18,000							18,020
Henicosane													19,887
Heptacosane													20,230
Hexadecane, 2-methyl-													21,300
Heptadecane													21,576
Octacosane													21,880
Methyl tetradecanoate	18,149	18,149	18,154	18,155	18,131		18,137	18,143	18,134	18,145	18,123	18,136	
Methyl hexadec-9-enoate	19,728	19,729	19,735								19,702	19,714	
9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)-				19,735	19,710		19,716	19,723	19,715	19,722			
Hexadecenoic acid, methyl ester	19,965	19,958	19,979	19,987	19,919	19,863	19,929	19,948	19,921	19,957	19,898	19,933	
Heptadecanoic acid, methyl ester	20,693	20,691	20,701	20,707	20,680		20,681	20,688	20,680	20,698		20,684	
1,4,8-Dodecatriene, [E,E,E]-	21,207	21,207	21,215	21,222	21,185		21,191	21,204	21,187	21,207		21,196	
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester		21,259			21,243		21,247	21,257	21,234	21,258	21,232	21,249	
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester, (E)-	21,342			21,404	21,345		21,313	21,330	21,306		21,328	21,320	
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester, (E)-	21,384	21,380			21,306								
8-Octadecenoic acid, methyl ester		21,337	21,399	21,368			21,353				21,338	21,286	
Methyl stearate	21,510	21,501	21,516	21,525	21,473		21,477	21,495	21,478	21,501	21,462	21,488	
5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid, methyl ester, (all-Z)-	22,619	22,618	22,637	22,642	22,575		22,586	22,608	22,579	22,620	22,550	22,590	
11-Eicosenoic acid, methyl ester	22,773	22,768	22,783	22,792			22,749	22,762	22,747	22,771	22,733	22,754	
cis-13-Eicosenoic acid, methyl ester	22,836	22,830		22,850	22,806		22,810	22,823	22,810		22,795		
cis-11-Eicosenoic acid, methyl ester			22,844		22,746						22,834	22,817	
4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid, methyl ester, (all-Z)-	23,907	23,901	23,922	23,926	23,858		23,871	23,890	23,859	23,901	23,835	23,873	
Methyl 7,10,13,16,19-docosapentaenoate	23,949				23,915			23,936	23,915	23,947			
11-[3,4-Dimethyl-5-pentyl-2-furyl]-dodecanoic acid, methyl ester			24,050										

COMPUESTOS	MICROPLÁSTICOS SIN DIÉSEL						MICROPLÁSTICOS CON DIÉSEL						TR PATRÓN HEXANO
	TR E4 24h	TR E5 24h	TR E6 24h	TR E10 7d	TR E11 7d	TR E12 7d	TR E1 24h	TR E2 24h	TR E3 24h	TR E7 7d	TR E8 7d	TR E9 7d	
Heptane, 2,4-dimethyl-													13,342
Hexadecane													13,641
Henicosane													15,567
Eicosane													15,933
Henicosane													18,020
Henicosane													19,887
Heptacosane													20,230
Hexadecane, 2-methyl-													21,300
Heptadecane													21,576
Octacosane													21,880
Methyl tetradecanoate		18,147	18,159	18,137	18,139	18,144	18,137	18,137	18,139	18,129	18,122	18,127	
Methyl hexadec-9-enoate	19,719	19,725	19,732		19,718				19,719	19,709			
9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)-				19,715	19,711	19,723	19,716	19,720			19,702	19,710	
Hexadecenoic acid, methyl ester		19,950	19,977	19,942	19,941	19,958	19,936	19,936	19,937	19,915	19,894	19,914	
Heptadecanoic acid, methyl ester		20,687	20,699	20,687	20,685	20,692	20,685	20,685	20,685	20,679		20,680	
1,4,8-Dodecatriene, [E,E,E]-	21,198	21,203	21,220	21,196	21,207	21,207	21,198	21,198	21,198	21,182	21,171	21,183	
9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	21,250	21,256		21,250	21,254	21,259	21,251	21,251	21,251	21,240	21,232	21,241	
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester, (E)-		21,371	21,397	21,361		21,379	21,323	21,323	21,319	21,304	21,286	21,304	
9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester, (E)-							21,361	21,368		21,344	21,324	21,344	
8-Octadecenoic acid, methyl ester	21,321				21,325								
Methyl stearate	21,487	21,495	21,509	21,486	21,486	21,502	21,448	21,487	21,487	21,477	21,463	21,474	
5,8,11,14,17-Eicosapentaenoic acid, methyl ester, (all-Z)-	22,598	22,609	22,637	22,601	22,595	22,623	22,594	22,600	22,595	22,570	22,549	22,570	
11-Eicosenoic acid, methyl ester	22,755	22,760	22,785	22,760	22,757	22,769	22,755	22,757	22,754	22,743	22,732	22,744	
cis-13-Eicosenoic acid, methyl ester		22,826					22,814	22,820			22,805		
cis-11-Eicosenoic acid, methyl ester	22,817		22,851	22,820		22,830			22,816		22,794	22,805	
4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid, methyl ester, (all-Z)-	23,883	23,888	23,921	23,904	23,882	23,907	23,881	23,888	23,883	23,856	23,834	23,854	
Methyl 7,10,13,16,19-docosapentaenoate			23,962	23,987		23,949	23,929	23,933	23,931			23,913	
11-[3,4-Dimethyl-5-pentyl-2-furyl]-dodecanoic acid, methyl ester		24,027	24,057			24,037				24,007			

En el presente estudio no se detectó presencia de diésel en las ostras en ninguno de los tratamientos (ni en las que ingirieron microplásticos contaminados con diésel ni en las que estuvieron en contacto directo con agua de mar contaminada), pero en otros trabajos sí se ha demostrado que estos organismos son capaces de acumular hidrocarburos en sus tejidos. Boutet et al. (2004) cuantificaron un incremento de 1,4 mg/kg a 34,6 mg/kg de tejido de peso seco en ostras expuestas a hidrocarburos en condiciones experimentales y Fiori et al. (2024) detectaron metales (zinc y cobre) en tejidos de las ostras expuestas a diferentes concentraciones de hidrocarburos. Además, estos autores observaron que las ostras presentaban alteraciones morfológicas en las glándulas digestivas y mayores índices de oxidación lipídica, lo que indica un potencial daño celular (Fiori et al., 2024).

La exposición a hidrocarburos se considera un importante estrés para la ostra. Jeong y Cho (2007) demostraron que cuando hay una exposición prolongada a estos compuestos, las ostras minimizaban la ingesta de energía metabólica y facilitaban el metabolismo excretor para eliminar las toxinas intrusivas. También observaron que cuando se exponían a concentraciones variables, las ostras se adaptaban con diferentes estrategias según el nivel de exposición. A niveles bajos, inicialmente mantenían su metabolismo a ritmo normal y, si la exposición se prolongaba, tendían a disminuir su gasto energético. A niveles más altos de exposición, la ostra suprimía la ingesta de energía metabólica y facilitaba el metabolismo excretor desde el inicio de la exposición.

Los resultados positivos en las muestras de agua podrían deberse a la presencia de contaminación cruzada en los acuarios o el material del laboratorio. Finalmente, destacar que los periodos de descanso de 24h y 7 días podrían haber sido suficientes para que las ostras hayan depurado los hidrocarburos de sus tejidos o los hayan

metabolizado y transformado, como otros autores han sugerido (Boutet et al., 2004; Jeong y Cho, 2007).

Los resultados del presente estudio sugieren que la ostra podría actuar como organismo depurador de hidrocarburos, tanto si estos compuestos están presentes en el agua como adheridos a microplásticos. Por ello, en un entorno de producción de ostras, la presencia de hidrocarburos en el medio (provenientes de actividades marítimas) no representaría una amenaza para su comercialización, al no retenerlos ni acumularlos, ya que los “depurarían” con eficiencia (eliminándolos o transformándolos), en función de la concentración presente en el agua.

5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el estudio de exposición de ostra japonesa (*Magallana gigas*) a contaminantes permiten concluir que:

1. No podría ser considerada un vector de transmisión de hidrocarburos tales como el diésel al no detectarse restos de este contaminante en los tejidos.
2. Podría considerarse un vector de transferencia de microplásticos por su capacidad de ingesta de estos productos. No obstante, dado que no los acumula durante tiempos prolongados, no puede considerarse un organismo relevante en la incorporación de materiales plásticos a la cadena trófica.
3. Son capaces de ingerir microplásticos. No se han observado diferencias de ingesta entre microplásticos contaminados con diésel y sin contaminar pero el tiempo de retención de los contaminados es significativamente mayor.
4. Se comporta de manera diferente en presencia de diésel en el medio, tanto si está adherido a microplásticos como “disuelto” en el agua, incrementando significativamente su actividad de filtración.
5. La ausencia de diésel en los tejidos tras la exposición a este hidrocarburo podría indicar una buena detoxificación, lo cual podría tener ventajas competitivas frente a otras especies cuando el medio está contaminado. Sin embargo, sería necesario comprobar con más investigación si el diésel se detoxifica lentamente con menores tiempos de exposición.

Comprender el comportamiento de las ostras puede llevarnos a implementar mejores prácticas de acuicultura. Sincronizar las actividades de producción de ostras (alimentación) con los ritmos circadianos podría optimizar las tasas de filtración, el crecimiento, el éxito reproductivo y la salud de los organismos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abidli, S., Lahbib, Y., & Menif, N. T. E. (2019). Microplastics in commercial molluscs from the lagoon of Bizerte (Northern Tunisia). *Marine Pollution Bulletin*, 142, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.03.048>
- Al-Shamary, N., Hassan, H., Leitão, A., Hutchinson, S. M., Mondal, D., & Bayen, S. (2023). Baseline distribution of petroleum hydrocarbon contamination in the marine environment around the coastline of Qatar. *Marine Pollution Bulletin*, 188. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.114655>
- APROMAR. (2023). La acuicultura en España 2023. <https://apromar.es/>
- Baechler, B. R., Granek, E. F., Hunter, M. V., & Conn, K. E. (2020). Microplastic concentrations in two Oregon bivalve species: Spatial, temporal, and species variability. *Limnology and Oceanography Letters*, 5(1), 54-65. <https://doi.org/10.1002/lol2.10124>
- Bamber, S. (2023). Valve gaping behaviour in the European oyster (*Ostrea edulis*) in response to changes in light intensity when combined with variations in salinity and seawater temperature. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 568, 151943. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2023.151943>
- Boutet, I., Tanguy, A., & Moraga, D. (2004). Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hydrocarbon contamination under experimental conditions. *Gene*, 329, 147–157. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2003.12.027>
- bp España (2024). https://www.bp.com/es_es/spain/home/productos-y-servicios/fichas-de-seguridad.html
- Carretero, O. (2022). Study of microplastics in the Galician marine environment: Quantification and Identification. Tesis doctoral. Escuela Internacional de Doctorado, Universidad de Vigo, p 122.
- Cavalcante, R. M., Lima, A. D. F., de Souza Abessa, D. M., Gilberto D. de Alkimin, L. M. B. M. S., Mello, L. C., & Soares, M. O. (2023). Oil Spill Impacts on Marine Food Webs: Lessons From Contamination in Tropical Coasts. En *Treatise on Estuarine and Coastal Science* (2)(0071). <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90798-9.00071-8>
- CEDEX. (2017). Asistencia técnica en las tareas de implantación de la Directiva Marco de la Estrategia Marina. Estudio sobre identificación de fuentes y estimación de aportes de microplásticos al medio marino. https://www.miteco.gob.es/content/dam/mitesco/es/costas/temas/temas-pm/basuras-marinas/acciones/basuras-acciones-informe_identificaciondefuentes.pdf
- CETMAR, & Xunta de Galicia. (2017). El cultivo de la ostra rizada en Galicia. Pasado, presente y futuro.
- Choi, H., Im, D., Park, Y., Lee, J., Yoon, S., & Hwang, U. (2022). Ingestion and egestion of polystyrene microplastic fragments by the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Environmental Pollution*, 307, 119217. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119217>
- Cruz-Salas, A. A., Velasco-Pérez, M., Mendoza-Muñoz, N., Vázquez-Morillas, A., Beltrán-Villavicencio, M., Alvarez-Zeferino, J. C., & Ojeda-Benítez, S. (2023). Sorption of Total Petroleum Hydrocarbons in Microplastics. *Polymers*, 15(9). <https://doi.org/10.3390/polym15092050>

Dao, T., Kieu-Le, T., La, X., Truong, N. X., Thuong, Q., Nguyen, V., Nguyen, Q. H., & Strady, E. (2023). Microplastic accumulation in oysters: Insights from aquaculture and laboratory conditions. *Regional Studies in Marine Science*, 68, 103251. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2023.103251>

Ding, J., Sun, C., He, C., Li, J., Ju, P., & Li, F. (2021). Microplastics in four bivalve species and basis for using bivalves as bioindicators of microplastic pollution. *Science of the Total Environment*, 782, 146830. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146830>

FAO - Crassostrea gigas. (s.f.) https://www.fao.org/fishery/docs/CDrom/aquaculture/I1129m/file/es/!32795!es_pacificc_uppedoyster.htm

FAO (2024). *Magallana gigas*. Cultured Aquatic Species Information Programme. Pesca y acuicultura. Roma https://www.fao.org/fishery/es/culturedspecies/crassostrea_gigas_es/es

Fiori, S. M., Simonetti, P., La Colla, N.S., Giménez, J., Otegui, M.P.B., Palacios, P., Orazi, M., Arias, A.H., Ronda, A.C., & Botté, S.E. (2024). Assessment of coastal pollutants and health status of Pacific oysters (*Magallana gigas*) in the Bahía Blanca Estuary and adjacent beaches (Argentina). *Marine Pollution Bulletin*, 205, 116652. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2024.116652>

Franzellitti, S., Canesi, L., Auguste, M., Wathsala, R. H. G. R., & Fabbri, E. (2019). Microplastic exposure and effects in aquatic organisms: A physiological perspective. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 68, 37–51. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.009>

Fu, L., Li, J., Wang, G., Luan, Y., & Dai, W. (2021). Adsorption behavior of organic pollutants on microplastics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 217. Academic press. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112207>

Gan, N., Martin, L., & Xu, W. (2021). Impact of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Accumulation on Oyster Health. *Frontiers in Physiology*, 12. Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.734463>

Geyer, R., Jambeck, J., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science Advances*, 3(7). <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>

Gomes, Í. (2013). Cultivo, biología reproductiva y bioquímica de la ostra japonesa *Crassostrea gigas* en la Ría de Arousa. Universidade da Coruña.

González-Soto, N., Campos, L., Navarro, E., Bilbao, E., Guilhermino, L., & Cajarville, M. P. (2022). Effects of microplastics alone or with sorbed oil compounds from the water accommodated fraction of a North Sea crude oil on marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*). *Science of the Total Environment*, 851. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157999>

Graham, P., Palazzo, L., Andrea de Lucia, G., Telfer, T. C., Baroli, M., & Carboni, S. (2019). Microplastics uptake and egestion dynamics in Pacific oysters, *Magallana gigas* (Thunberg, 1793), under controlled conditions. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 252, 742-748. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.002>

Guerra, A. (2004). Impulso, Desarrollo y Potenciación de la Ostricultura en España. Fundación Alfonso Martín Escudero.

- ITOPF. (2011). Efectos de la contaminación por hidrocarburos en el sector de la pesca y acuicultura. <https://www.itopf.org/es/knowledge-resources/documents-guides/11-efectos-de-la-contaminacion-por-hidrocarburos-en-el-sector-de-la-pesca-y-acuicultura/>
- Jang, M., Shim, W. J., Cho, Y., Han, G. M., Song, Y. K., & Hong, S. H. (2020). A close relationship between microplastic contamination and coastal area use pattern. *Water Research*, 171, 115400. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115400>
- Jeong, W., & Cho, S. (2007). Long-term effect of polycyclic aromatic hydrocarbon on physiological metabolisms of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture*, 265(1–4), 343–350. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.021>
- Lee, R., Lovatelli, A., Ababouch, L. (2010). Depuración de bivalvos: aspectos fundamentales y prácticos. FAO Documento Técnico de Pesca. 511. Roma. <https://www.fao.org/4/i0201s/i0201s00.htm>
- Leslie, H. A., van Velzen, M. J. M., y Vethaak, A. D. (2013). *Estudio de microplásticos en el medio ambiente holandés: nuevo conjunto de datos de microplásticos en sedimentos del Mar del Norte, efluentes de aguas residuales tratadas y biota marina*. https://science.vu.nl/en/Images/IVM_report_Microplastic_in_sediment_STP_Biota_2013_tcm296-409860.pdf
- Li, S., Wang, P., Zhang, C., Zhou, X., Yin, Z., Hu, T., Hu, D., Liu, C., & Zhu, L. (2020). Influence of polystyrene microplastics on the growth, photosynthetic efficiency and aggregation of freshwater microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*. *Science of the Total Environment*, 714. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136767>
- Martinelli, J. C., Phan, S., Luscombe, C. K., & Padilla-Gamiño, J. L. (2020). Low incidence of microplastic contaminants in Pacific oysters (*Crassostrea gigas* Thunberg) from the Salish Sea, USA. *Science of the Total Environment*, 715, 136826. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136826>
- Mercer, M., Gennari, L., & Lovatelli, A. 2024. *Pacific oyster farming – A practical manual*. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Papers, No. 696. FAO, Rome. <https://doi.org/10.4060/cc9396en>
- Ministerio de Derechos Sociales, Consumo y Agenda 2030. (2021). Agenda 2030. <https://www.mdsocialesa2030.gob.es/agenda2030/index.htm>
- Nápoles Alvarez, J., Bahín Deroncelé, L., Gutiérrez Rojas, M., Del Toro Álvarez, D., & Abalos Rodríguez, A. (2019). Degradación de diesel en agua de mar utilizando un consorcio bacteriano. *Tecnología Química*, 39(2), 403-420.
- Olaso, S. (2008). Análisis de la expansión de manchas de vertidos de crudo en el mar. Universidad Politécnica de Madrid.
- Phuong, N. N., Duong, T. T., Le, T. P. Q., Hoang, T. K., Ngo, H. M., Phuong, N. A., Pham, Q. T., Doan, T. O., Ho, T. C., Da Le, N., Nguyen, T. A. H., Strady, E., Fauvelle, V., Ourgaud, M., Schmidt, N., & Sempere, R. (2022). Microplastics in Asian freshwater ecosystems: Current knowledge and perspectives. *Science of the Total Environment*, 808, 151989. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151989>
- Song, X., Wu, X., Song, X., Shi, C., & Zhang, Z. (2021). Sorption and desorption of petroleum hydrocarbons on biodegradable and nondegradable microplastics. *Chemosphere*, 273. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128553>

Sucharitakul, P., Pitt, K. A., & Welsh, D. T. (2020). Limited ingestion, rapid egestion and no detectable impacts of microbeads on the moon jellyfish, *Aurelia aurita*. *Marine Pollution Bulletin*, 156. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111208>

Van Cauwenberghe, L., & Janssen, C. R. (2014). Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environmental Pollution* (Barking, Essex: 1987), 193, 65-70. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>

Vásquez, H. E., Yin, Z., Chen, Y., Mao, J., Wang, L., Zhang, M., Lan, S., You, F., Zheng, X., & Gu, Z. (2024). Exploring diurnal and nocturnal valve gaping behavior in winged pearl oyster *Pteria penguin* juveniles. *Aquaculture Reports*, 35, 101999. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.101999>

Wang, W., Ge, J., & Yu, X. (2020). Bioavailability and toxicity of microplastics to fish species: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 189. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109913>

WoRMS - World Register of Marine Species - *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793). (2024). <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=140656>

7. ANEXO I



Figura 35. Salinómetro CyberScan Series 600.



Figura 36. CTD Rinko-Profilor ASTD102.

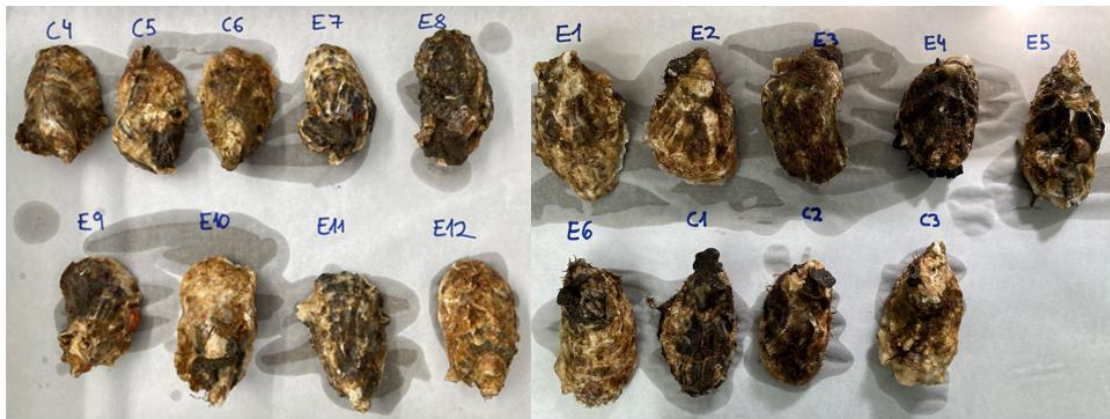


Figura 37. Ejemplares de *Magallana gigas* al final de la etapa de experimentación.



Figura 38. Ostras control liofilizadas (izquierda) y molidas (derecha).



Figura 39. Preparación de las muestras para el microondas.



Figura 40. Microondas FlexiWAVE Milestone.



Figura 41. Comparación de las muestras de ostras control (izquierda) y agua con diésel (derecha) después del microondas.



Figura 42. Centrifuga Gyrozen 1248 R.



Figura 43. Extracción líquido – líquido.



Figura 44. Filtración de las muestras para el cromatógrafo.

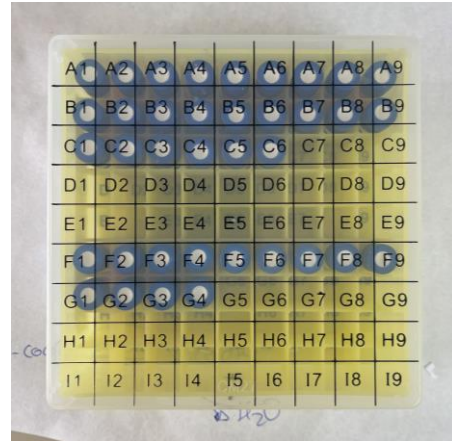


Figura 45. Muestras preparadas para el cromatógrafo.