



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

## IV. IKERGAZTE NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2021eko ekainaren 9, 10 eta 11a  
Gasteiz, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)

### ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

**Euskal kostako bi estuarioren  
osasun egoeren azterketa,  
organismo zentinelaren moduan  
muskuiluak erabilia**

*Anne San Román Martínez  
eta Beñat Zaldibar Aramburu*

59-65 or.  
<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.iv.05.07>



## Euskal kostako bi estuarioren osasun egoeren azterketa, organismo zentinela moduan muskuiluak erabilita

San Román Martínez, A.<sup>1,2</sup>, Zaldibar Aramburu, B.<sup>2,3</sup>

<sup>a</sup>*Kimika Analitikoa saila, UPV-EHU*

<sup>b</sup>*Itsas Biologia eta Bioteknologia Esperimentalen Ikerketa Zentroa, PiE-UPV-EHU*

<sup>c</sup>*Zoologia eta Animalia Zelulen Biologia saila, UPV-EHU*

[annesanroman@gmail.com](mailto:annesanroman@gmail.com)

### **Laburpena**

Kutsadura-historia desberdina izan duten eta oraindik ere duten Barbadun eta Butroe estuarioetako ur-egoera aztertzeko, bost laginketa-guneko adin ezberdineko muskuiluak erabili ziren. Honela, gonaden analisi histologikoez agerian jarri zuten sasoiarekin lotuta espero ziren heldutasun patroiak, soilik laginketa garaiaren arabera ezberdintasunak erakutsiz. Digestio-guruinaren analisiak, Barbadun estuarioko laginketa-gune batean erakutsi zuen atrofia maila altuena. Autometalografia bidezko zilarrezko hauspeakin beltzen kuantifikazioak agerian utzi zuen metalen presentzia digestio-lisosometan, gune guztietako muskuiluetan, eta bereziki, Barbadun estuarioko Punta Lucero gunean. Kasu honetan, Butroeko muskuilu handienak digestio-guruinean metalak metatzeko joera handiagoa erakutsi zuten. Bestalde, analisi kimikoez Al, Fe eta Zn kontzentrazio altuak erakusten zituzten muskuiluen ehun bigunetan eta Butroeko muskuiluek metal karga handiena izan zuten. Metal/maskor pisuek ez zuten informazio gehigarrik eman. Bestetik muskuiluen tamainak eragin diferentziala izan zuten ehun bigunetan metalak metatzeko gaitasunean, muskuilu txikiak izanik karga metaliko handiagoa zutenak. Maskorren eta digestio-guruinaren oinarritzko konposizioaren analisiak XRFren bidez elementuen banaketa eredu ezberdinak azaldu zituzten, ingurumenaren gaineko aldaketa posibleak ulertzen lagun zezaketenak. Orokorrean, Butroe estuarioan maiatzean ikusitako metal kontzentrazio altuek, eta Barbaduneko laginketa-puntu batzuetan behatutako alterazio patologikoez iradokitzen dute nolabait estuario hauek puntualki bada ere, estres iturrien presentzia nabarmena jasaten dutela.

Hitz gakoak: *Mytilus galloprovincialis*, Euskal estuarioak, metal aztarnak, histopatologia, biomarkatzaileak, analisi kimikoak

### **Abstract**

*In order to assess the possible effects of pollutants in two estuaries with different pollution history such as Barbadun and Butroe, mussels from five monitoring stations were collected as sentinel organisms. Gonad histological analyses revealed the expected seasonally related sexual pattern which was only affected by sampling season. Digestive gland analyses revealed slightly higher levels of atrophy in Barbadun. Black silver deposit quantification revealed the presence of metals in digestive lysosomes of mussels from all stations, especially in mussels from Barbadun. In this case, larger mussels from Butroe tended to accumulate more metals in digestive gland. On the other hand, chemical analyses revealed substantially high concentrations of Al, Fe and Zn in mussel soft tissues. Mussels from Butroe estuary had the highest metal burden. Metal/shell weight indices did not show additional information. Besides, mussel size has a differential effect on metal accumulation in soft tissues being small mussels the ones with a higher metal burden. Shell elemental composition analysis and digestive gland mapping by XRF revealed several patterns of elemental distribution which could help to understand possible changes on environment. Overall, the high metal concentration measured in mussels from Butroe in May and some pathological alterations detected in mussels from Barbadun estuary indicated that occasionally these estuaries suffer from some type of stress sources.*

*Key words: Mytilus galloprovincialis, Basque estuaries, trace metals, histopathology, biomarkers, chemical analyses*

## 1. Sarrera eta motibazioa

Kostaldeko ekosistemek eremu sentikorrek dira, eta bertan gizakiek egindako presioak, askotan, ondorio ekologiko negatiboak eragin ditzake (Mejdoub et al., 2018). Giza jarduerak, hala nola mineralen edo erregaien fabrikazioa, zein hondakin-uren isurketa, aspaldidanik ezagutzen dira kutsadura-eragile moduan kostaldeko inguruneetan. Kutsatzaile-maila altuak egoteak kostaldeko ekosistemak kaltetu ditzake, eremu horietan bizi diren organismoak kaltetuz, baina ez hori bakarrik, giza osasunarentzako ere kaltegarriak izan daitezke (Solaun et al., 2013). Estuarioak, hain zuzen, populazio-gune handietatik hurbil egoten direnez, kutsatzaileenganako arrisku handiagoa dute (Guendouzi et al., 2020).

Honen adibidea Bizkaiko kostaldean kokatutako Barbadun eta Butroe estuarioak dauzkagu. Barbadun ibaia Koltza mendian hasten da eta Kantauri itsasoan isurtzen da 4,53 kilometroko estuario bat osatuz Pobeña udalerraren ondoan. Bestalde, Butroe ibaia Bizkargi mendian hasten da eta Plentzian isuritzen da 8,53 kilometroko estuario handiago bat eratuz. Bi estuario hauek presio ezberdinak jasaten dituzte haien uren kalitatea murriztu edo kaltetu ditzaketena. Alde batetik, Barbadun estuarioak bai inguruko industria petrokimikoen eraginez, Cr, Ni, Cu eta Zn motatako metal astunak izan daitezkeenak, zein hiriko hondakin uren eraginak pairatzen ditu. Bestalde, Butroe estuarioak araztegi uren isuriak jasan izan ditu zenbait urteetan zehar eta nagusiki uda aldera hiriko hondakin uren eraginak pairatu ditzake. Azken urteotan egindako ur kalitate jarraipen programen arabera, Barbadun estuarioeko ur kalitatearen egoera ekologikoa “moderatu” bezala kontsideratu da eta Butroekoa, aldiz, “ona” bezala kontsideratu da (URA, 2020).

Estuarioen uren kalitatea monitorizatzeko zenbait estrategia existitzen dira, baina hedatuen dagoena bertako biotan ageri den kutsatzaileen bioakumulazioaren analisia da. Izan ere, kutsatzaileak estuarioen osasun-egoeran izan ditzaketen ondorioak egiaztatzeko, molusku bibalbio sesilak erabiltzen dira, hauek organismo zentinelak eraginkorrek baitira kostaldeko uren egoera, bai eta bertako joerak aztertzeko. Organismo erabiliak muskuilua da, bere ezaugarri iragazleekin batera, gazitasun, tenperatura eta oxigeno maila ezberdinak jasan ditzakelako, urte osoan zehar eskuragarri dagoen espeziea izanik. Muskuilu espezie ezberdinen artean, erabiliak *Mytilus* generokoa izan ohi da, zeinak kostaldeko eta estuarioetako habitatetan aurkitzen baita.

Gainera, ikerketa askoren arabera, ikusi da muskuiluak metalak metatzeko gai direla ingurunean eskuragarri dauden metalen proportzio berean. Hori dela eta, muskuiluak *Mussel Watch* programan erabili ohi dira (Kimbrough et al., 2008), non kutsatzaileen presentziaren aldaketa espazio-tenporala aztertzen den hainbat estatutan.

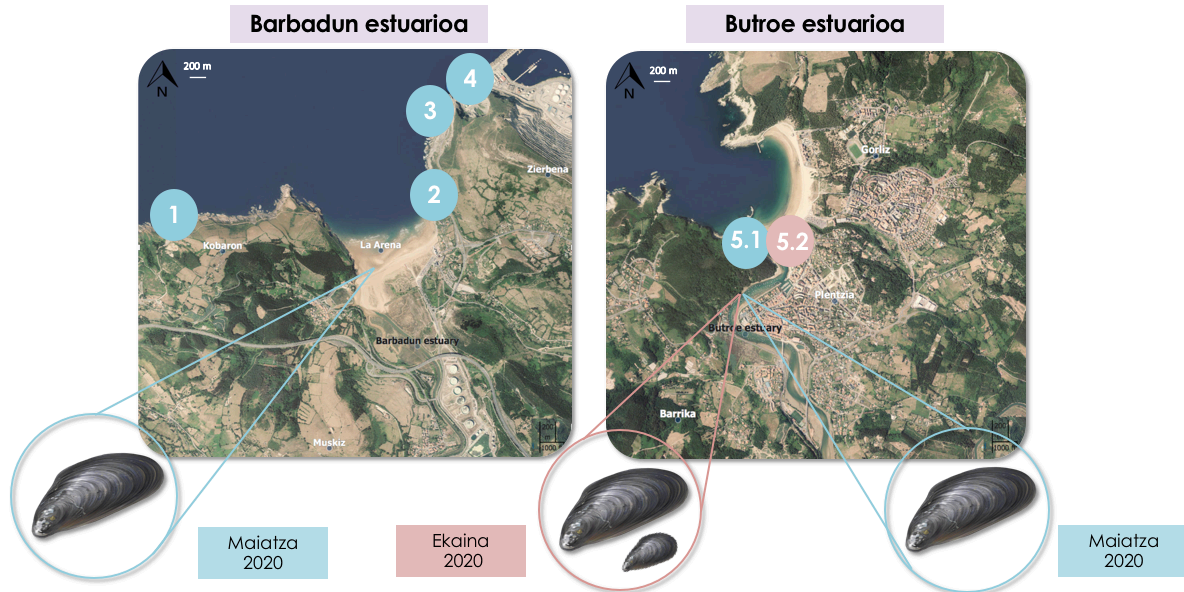
## 2. Ikerketaren helburuak

Ikerketa honek Barbadun eta Butroe estuarioen uren kalitatea ikuskatzea du helburu, bertako muskuiluetan ageri diren metalen bioakumulazioa eta ehun-mailako biomarkatzaileak aztertuz.

Kutsatzaileen presentzia eta horien banaketa muskuilu ehunetan aztertzeko eta haien ekosistemen osasun-egoerarekin erlazionatzeko, erabili diren biomarkatzaileak honako hauek izan dira: alde batetik, teknika histologikoak: esate baterako, digestio-guruinean dauden zilarrezko hauspeakin beltzen dentsitate bolumetrikoren neurketa (ingelesez *volumetric density of black silver deposits*,  $V_{vBSD}$ ) autometalografia teknikaren bidez, indize histopatologikoen azterketarekin batera (digestio-tubuluaren atrofia maila eta indize gonadalak). Eta bestetik, analisi kimikoak, besteak beste, masa espektrometriako detektagailua duen induktiboki akoplaturiko plasma (ICP-MS) muskuilu ehunetan metatutako metalen kontzentrazioa kuantifikatzeko eta X-izpiko Fluoreszentzia (XRF) teknika erdi kuantitatibo moduan metalen presentzia eta banaketa muskuiluen maskorretan eta ehunetan aztertzeko.

## 3. Ikerketaren muina

45 muskuilu espeziimen (*Mytilus galloprovincialis*) bildu ziren laginketa-puntu ezberdinetan (1. irudia) 2020ko maiatza eta ekaina bitartean. Barbadun estuarioeko laginketa-puntuak honela izendatu ziren: 1 Kobaron (43°21'08.5"N 3°08'32.9"W), 2 La Arena (43°21'15.2"N 3°06'48.3"W), 3 (43°21'45.6"N 3°06'37.1"W), eta 4 (43°21'37.2"N 3°06'43.0"W) azken bi hauek Punta Luceron kokatuta. Halaber, Butroe estuarioaren kasuan bi laginketa ezberdin burutu ziren laginketa-puntu berean, Plentzian (43°24'38.4"N 2°56'58.1"W), bat maiatzean, 5.1 izendatuta, eta bestea ekainean, 5.2. delakoa. Ekaineko laginketan bi tamainako muskuiluak hartu ziren, muskuiluen tamainaren eragina aztertzeko neurtutako parametroetan. Tamainaren sailkapena honela egin zen: 3 zentimetro arte “txikiak” kontsideratu ziren eta 3,5 zentimetro baino handiagoa zirenak “handi” moduan izendatu ziren.



**1. irudia.** Bizkaiko badiaren barruko azterketa-eremuaren mapa Barbadun eta Butroe estuarioren laginketa-guneekin. 1 (Kobaron), 2 (La Arena), 3 (Punta Lucero) eta 4 (Punta Lucero), eta 5.1, 5.2 (Plentzia hilabete ezberdinetan, 5.1 maiatzari dagokio eta 5.2 ekainari non muskuilu handiak eta txikiak eskuratu ziren). Eskala-barra 200 m.

### 3.1. Analisi histologikoa

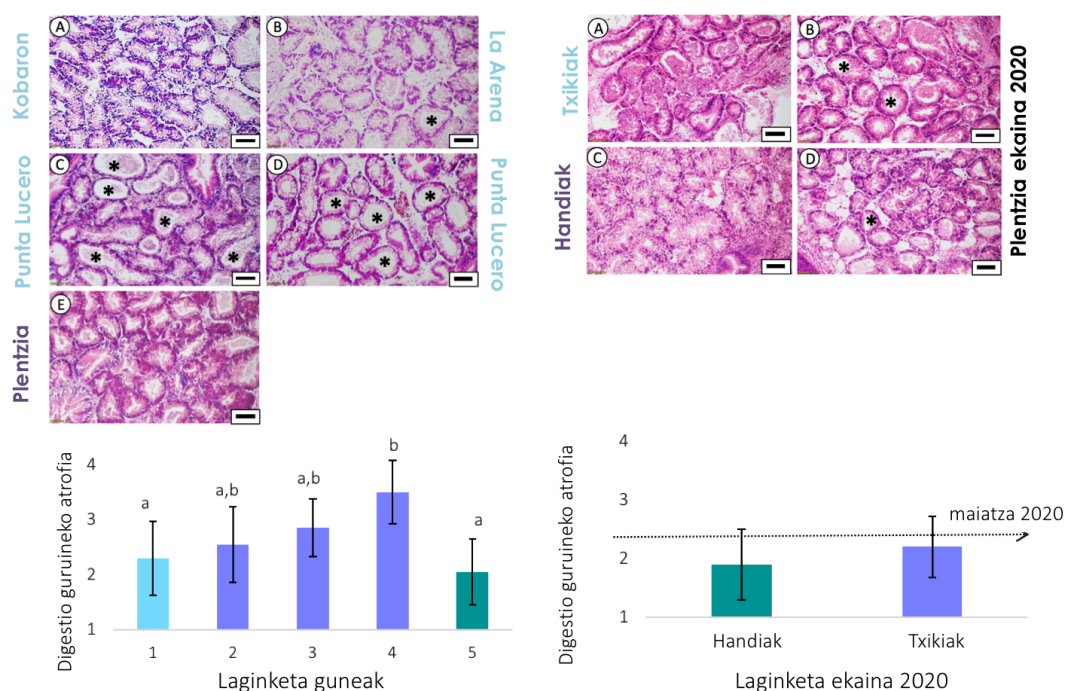
Gonadaren eta digestio-guruinaren deskribapen histologikoa egiterakoan, bi erataraz konparatu ziren: alde batetik, Barbaduneko laginketa-guneen eta Butroe laginketa-guneen arteko alderaketa eginez, eta, bestetik, Butroe estuarioko laginen arteko ezberdintasunak aztertuz hilabete bat geroago hartutako tamaina ezberdineko muskuiluekin.

Oro har, analizatutako gonada guztiek antzeko heldutasun patrioak erakutsi zituzten, laginketa-garaiarekin bat zetozenak. Orokorrean gonadaren fase nahiko aurreratua (gametogenesi aurreratua-heldua) erakutsi zuten urte garaiarekin (maiatza-ekaina) bat datorrena. Honela, muskuiluak eskaera energetiko handiko egoeran zeuden, gametogenesiaren ondorioz (Ojeda et al., 2019). Bestetik, ez zegoen alde nabarmenik laginketa-puntu ezberdineko muskuilu ar eta emeen gonaden estadioen artean.

Zenbait autoreek egiaztatu dute moluskuen digestio-guruinak kutsatzaileen metaketan, desintoxikazioan eta hauen ezabapen prozesuetan parte hartzen duela. Ondorioz, digestio-guruinaren morfologia eta haren epitelioko zelula moten azterketa oso lagungarriak dira estres faktoreen inpaktuak ulertzeko (Arrighetti et al., 2019). Kutsatzaileen presentzia nabarmenak itsas inguruneetan muskuiluen zeluletan aldaketa larriak eragin ditzake, esaterako digestio-guruineko zelula digestibo eta basofilikoen proportzioan, baita digestio-guruineko hodien atrofia mailan ere.

Aipatu ditugun bi alterazioen artean, digestio-guruinen atrofiari dagokionez, digestio tubuleko paretak argaltzea du ezaugarri (Garmendia et al., 2011). Baldintza honen eragileak estres mota askori egotzi zaizkie, hala nola, kutsatzaileei eta elikadura-horniduran gertatzen diren aldaketei.

Parametro honen emaitzei dagokienez (2. irudia), muskuiluen digestio-guruinen egitura Butroe estuarioan, ustez inpaktu gutxiko eremua, epitelio geruza bakarrez osatua zegoen non digestio-zelula zein zelula-basofilikoak ageri ziren lumen estu batekin batera (Arrighetti et al., 2019). Halaber, Punta Luceron 3. eta 4. laginketa-puntuetan bildutako muskuiluen digestio-guruinetan digestio-hodien atrofia maila altua zen, lumenaren handitze eta zelula epiteliaren lodiera murriztuz, ehun interstizial desegituratuekin batera.



**2. irudia.** Digestio-guruinaren atrofia maila, ezkerrean 1-5.1 (A-E) laginketa-puntuetan lortu diren emaitzak eta eskuinean 5.2 (A-D) (Plentzia ekaina 2020) lortutakoak. (\*) Bereziki atrofia-maila altua duten digestio-tubuluak.

Eskala-barra = 50  $\mu$ m. Behean, neurtutako atrofia mailen grafikoa ageri da, estatistikoki desberdinak diren taldeak letra desberdinez adierazita.

Parametro honetan ezberdintasun esangarriak 4. estazioko muskuiluen (Punta Lucero) eta 1. (Kobaron) eta 5. (Plentzia) puntuko muskuiluen artean aurkitu ziren, iradoki zutenak 4. puntuko muskuiluek estres handiagoa pairatzen zutela. 1. (Kobaron) estazioaren kasuan, digestio-guruinean lortutako indize histopatologikoen balio baxua, muskuiluak estuariotik pixka bat aldentuta eta nolabait itsaso zabalean egotearen ondorioz izan daiteke (Belzunce et al., 2004; Cuevas et al., 2015).

Muskuiluen tamaina, euren adin eta heldutasunarekin erlazionatzen da, eta eragina du animalien ingurumen-estreseko erantzunean (Richir & Gobert, 2014). Tamaina handiko muskuiluek ingurumen-aldaketekiko sentiberagoak zirela ikusi da, tamaina txikikoekin alderatuz. Horrela, *M. galloprovincialis*en kasuan ikusi zen atrofia mailak eragin handiagoa zuela muskuilu handietan txikietan baino. Hala ere, lagin gehiago analizatu beharko liriteke ondorio sendoagoak lortzeko zentzu honetan.

### 3.2. Metal ioien kuantifikazio autometalografikoa muskuiluen digestio-guruinen ebakietan

Lortutako  $V_{\text{BDS}}$  balioak  $2,5 \mu\text{m}^3/\text{m}^3$ -tik beheragoak edo hurbilekoak izan ziren kasu guztietan, eta horrek metalen presentzia moderatua duen laginketa-puntuak ditugula adierazi zuen, eta beraz aztertutako muskuiluen digestio-guruinean metal-maila ertaina dela ondoriozta daiteke (Soto & Marigómez, 1997). Aurreko urteetan egindako ikerketetan lortutako balioak laginketa-puntu horietan bertan konparatuz, ondoriozta daiteke joera murrizten jarraitzen dutela. Guztira, emaitzek parametro honen hobekuntza erakusten dute urteetan zehar, azterketa-eremuko muskuiluetan hauteman den metalen bio-eskuragarritasunaren arabera.

### 3.3. Metalen kuantifikazioa muskuiluen ehun bigunetan masa espektrometriako detektagailua duen induktiboki akoplaturiko plasmaren (ICP-MS) bidez

Lan honetan, metalen kontzentrazioak bi modutan eman ziren: kontzentrazio gordin bezala ( $\mu\text{g}$  metal/g ehun pisu lehorra) eta metal/maskor, MSI, indizearen arabera (ingelesetik *metal shell index*) normalizatua ( $\mu\text{g}$  metal/g maskor pisu lehorra). Modu honetan, bi parametro erabili daitezke metalen kontzentrazioetan aldaketak aztertzen direnean.

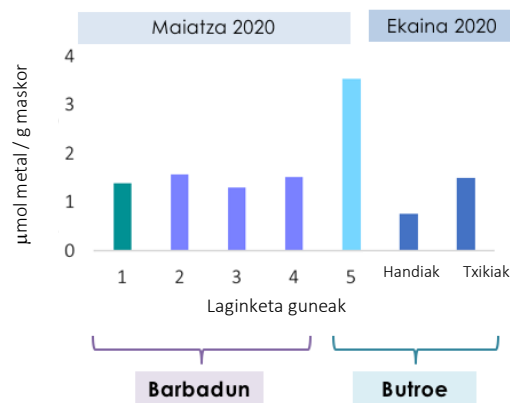
Metalak neurtzeko bi moduek oso antzeko joera erakutsi zuten, eta horren arrazoia egoera gametogeniko zein indize gonadalen balio antzekoen ondorio izan zitekeen, izan ere, muskuilu guztiak antzeko garapen-fasean egoteak ehun/maskor pisu erlazioa antzekoa izango dela iradokitzen du. Zentzu honetan, ikerketa honetan MSIrentzat lortutako balioek ez zuten informazio gehiagorik ematen metalen bioeskuragarritasunari buruz, eta, beraz, ehun bigunetan lortutako balioak metal-kontzentrazioei dagokienez beste autore batzuek lortutako balioekin alderatu ziren.



$\mu\text{g}$  metal/g pisu lehor kontzentrazioak handitik txikira 1-5.1 tokietan, honako hauek izan ziren:  $\text{Fe} > \text{Al} > \text{Zn} > \text{V} > \text{Se} > \text{Cu} > \text{Ni} > \text{Pb} > \text{Cr} > \text{Co} > \text{Cd}$ ; aldiz, tamaina ezberdineko muskuiluen metal-kontzentrazioak  $\text{Zn} > \text{Fe} > \text{Al} > \text{Cu} > \text{Se} > \text{Cr} > \text{Ni} > \text{Pb} > \text{V} > \text{Co} > \text{Cd}$  izan ziren. Horrela, ehun bigunetan metal-karga osoaren ekarpenik handiena Fe, Al eta Zn-i egotzi zitzairen, kasu bietan.

1-5 estazioen emaitzek adierazi zutenenez, hiru metal-talde zeuden, estatistikoki antzekoak ziren balioak zituztenak: lehena V, Cd, Co, Cr, Pb, Ni, Cu eta Se, bigarrena Zn eta Al, eta, azkenik, Fe zegoen, gainerako metalen aldean oso ezberdina zena haren balio altuagatik. Aipagarria da Butroeko estuarioan maiatzeko muskuiluetan neurtutako metal kontzentrazio altua eta baita ere hilabete bat beranduago behatutako metalen kontzentrazioen jaitsiera, metalen mailak Barbaduneko muskuiluen mailetara (edo beheragoetara) jaitsiz.

Azkenik, ehun bigunetan metalen kargaren emaitzek (3. irudia) baieztatu zuten metalen kontzentrazio handiagoa muskuilu txikietan handietan baino, beste ikerketa batzuen arabera lortu ziren emaitzekin bat datozenak, non muskuilu-ehunen pisu lehorra handitu zenean ehunetako metal-kontzentrazioa gutxitu egin zela deskribatu zuten (Sparks et al., 2014).



**3. irudia.** Laginketa-puntuetan neurtutako metal bioeskuragarritasun totala (Al, Fe, Zn, V, Cr, Co, Ni, Cu, Se, Cd eta Pb) 1 (Kobaron), 2 (La Arena), 3 and 4 (Punta Lucero), 5.1 (Plentzia maiatza 2020) eta 5.2 (Plentzia ekaina 2020, muskuilu txikiak eta handiak).

### 3.4. Muskuiluen maskorren eta digestio-guruinen analisi elemental X-izpien Fluoreszentziaren bidez

Muskuiluak garatzen ari diren bitartean, bestelako elementuak gehitu ditzakete maskorren karbonato matrizean. Horrela, maskorren kimikak inguruko ur-masaren oinarritzko kimika islatu ahal izango du geokimikoki pasiboa eta biologikoki aktiboa den garraioaren bidez maskorretan metatuz (Honig et al., 2020), elementu hauek, garapen garaian, banakoak bizi izan zituen ingurumen-baldintzekin erlazionatuta egongo baitira (Becker et al., 2005). Hala ere, maskorretan metalen inkorporazio hau prozesu geldoa da ehunetako metalen metaketarekin alderatuz, eta interpretazio konplexuago baten beharra izango luke.

Korrelazio analisisien bidez frogatu zen lehen mailako elementuak, edo oinarritzko elementuak (Na, Mg, Sr, Ca) era positiboan korrelazionatzen zirela haien artean bi estuarioko maskor laginetan, eta gauza bera gertatzen zela kutsatzaile susmagarrientzat (Al, Cu, Zn, Mn), kasu batzuetan, ustezko kutsatzaileen eta maskorren oinarritzko elementuen arteko korrelazio negatiboa izanik.

Aldagai anitzeko analisiari dagokionez, *Partial Least Square Discriminant Analysis* (PLS-DA) aldagai anitzeko analisisia burutzeko erreminta erabili zen (MatLab). Maskorren analisirako emaitzek frogatzen zuten oinarritzko osagaiek antzeko eredu bat jarraitu zutela muskuiluen maskor osoan zehar (zati berrietik zati zaharrenera), banaketa argiagoa eginez orain dela gutxi formaturiko zatian, erosioak eta ingurumen-baldintzek oinarritzko osagaien mihiztaketan eragina izan dezaketela iradokiz. Gainera, kutsatzaile susmagarriek antzeko joera ere erakutsi zuten oskolaren alde bietan, Co bezalako elementu batzuetan aldaketa txikiak eginez.

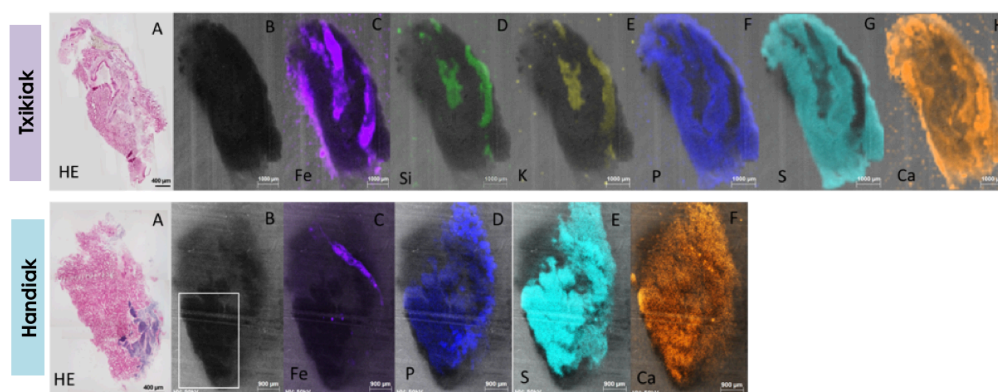
Ikusi zen Butroe estuarioan laginketa denborak eragina izan zuela elementuen portaeran, bereziki maskorretako oinarritzko elementuentzat hauek ezberdinak izanda. Hala ere, kutsatzaile susmagarriek ez zuten halako ezberdintasunik erakusten zentzu horretan. Bestalde, Barbadun estuarioari dagokionez, banaketa homogeenagoa behatu zen. Oinarritzko konposatuentzat, Barbaduneko kasuan, eredu sendoagoa iradokitzen da, laginketa-puntuaren arteko aldakortasun txikiagoekin eta beharbada aztertutako

puntuetan uretan dagoen aldakortasun baxuagoari egotzi ahal zaizkiona. Hala ere, batez ere maskorren alde zaharrenean, kutsatzaile susmagarrien banaketa aldakorragoa izan zen eratu berrian baino, metal ez-esentzialak denboran zehar kentzeko ahalegin bat egin dela somatuz bi kasuetan.

Gainera, maskorraren bi aldeetan, aldagai anitzeko analisisetatik ikusi zen Fe-k portaera ezberdina erakutsi zuela beste elementu batzuen aldean, batez ere Plentziako muskuiluetan, hauek ehun-bigunen analisisan lortutako emaitzekin bat zetozenak, alegia, teknika bien konbinazioa lagungarria izan daitekeela metalen ondorioak eta patua hobeto ulertzeko muskuiluetan.

### 3.5. Butroe estuarioko tamaina ezberdineko muskuiluen digestio-guruinaren analisi elementala X-izpien Fluoreszentziaren bidez

Ikerketa honetan, Fe, Si, K, S, eta Ca bezalako elementuak tamaina ezberdineko muskuiluen digestio-guruinen ehunetan detektatu ziren (4. irudia). Informazio koherenterik lortu ez zen arren, frogatuta geratu zen gauzatutako beste esperimentu batzuekin zenbait harreman lortu zirela, esaterako, Fe metaketa handiagoa egotea muskuilu txikietan handietan baino, ICP-MS-tan lortutako emaitzekin bat datozenak.



**4. irudia.** Butroe estuarioko tamaina ezberdineko muskuiluen digestio-guruin baten ebakiaren mapaketa X izpien fluoreszentzia analisiaren bidez lortua, bertan zenbait elementuen (Fe, Si, K, P, S eta Ca) distribuzioa ehunean ageri da. Zuriz markatutako area muskuilu handietan (B) bertako A irudiko hematxilina-eosinaz tindatutako zonaldea da. Eskala-barra 900  $\mu\text{m}$

Hala ere, azterketa sakonago bat egin behar da etorkizuneko proiektuetan, kontuan izanda aurkikuntza interesgarriak lor daitezkeela diseinu esperimental egoki batekin. Hala eta guztiz, lortutako emaitza nabariak, hala nola, P eta S-ren presentzia proteina-aberatsak izan daitezkeen zonaldeetan (sufre eta fosfato eduki altua) banaketa-bide bera ikuskatzea lehen urrats ona izan litezke.

## 4. Ondorioak

Muskuilu-ehunen analisi histologikoez garapen gametogenikoaren eta digestio-guruinaren atrofia mailari buruzko informazioa eman zuten. Lortutako informazioari esker ondoriozta dezakegu Barbadun eta Butroe estuarioetako muskuiluek antzeko ugalketa-ereduak erakutsi zituztela. Digestio-guruinen atrofia mailaren arabera, balio altuenetik baxuenera 4 (Punta Lucero) > 3 (Punta Lucero) > 2 (La Arena) > 1 (Kobaron) > 5.1 (Plentzia) laginketa-guneak izan ziren. Tamaina ezberdineko muskuiluen kasuan ez zegoen alderik parametro horretarako. Bestalde,  $V_{\text{VBSD}}$  baliorik baxuena Punta Luceroko bigarren laginketa-puntuari neurtu zen, 4, zeinak atrofia maila goreneko puntu ere izan zen, honek adierazi dezake digestio-zelulen gabeziak metalaren bahiketaren gaitasunean eragin dezakeela, metalak ez diren bestelako kutsatzaileek eraginda, esaterako PAHak.  $V_{\text{VBSD}}$ ren arabera, neurketa hau muskuiluen tamainak eragina zuen, muskuilu handietan  $V_{\text{VBSD}}$  balio altuagoak lortuz.

Analisi kimikoez aldeak erakutsi zituzten muskuiluen metalen metaketan, balio altuenak lortuz 5.1 laginketa-puntuari (Plentzia maiatza), eta jarraituz 2 (La Arena) > 4 (Punta Lucero) > 1 (Kobaron) > 3 (Punta Lucero) laginketa-puntuarekin. Plentziarako lortutako balioa deigarria da, izan ere Butroe estuarioa toki garbi bezala kontsideratu da, eta agian Butroe estuarioan gertatutako ezusteko gertaera baten ondorioa izan daiteke. Tamaina ezberdineko muskuiluei dagokienez, erantzun ezberdinak lortu ziren metalen ehun-kontzentrazioetan, muskuilu txikiak metalak metatzeko joera handiagoa erakutsiz.

Azkenik, Mikro-XRF analisisen bidez egindako neurketek tresna analitiko potentzial bat erakutsi zuten, maskorren oinarriko konposizioa eta muskuiluen bizitzan zehar kutsadurak eragindako aldaketa

posibleak aztertzeo adierazle gisa aplikatzeko. Hala ere, bere egiazkotasuna ez dago guztiz frogatuta literaturan dauden datuen gabezia dela eta, eta horrek datuen interpretazioa zailtzen du.

## 5. Etorkizunerako planteatzen den norabidea

Orokorrean, lan honetan lortutako emaitzen arabera, komenigarria litzateke bi estuario hauen monitorizazioa egiten jarraitzea. Butroe estuarioan maiatzean ikusitako metal kontzentrazio altuek, eta Barbaduneko laginketa-puntu batzuetan (3. eta 4. puntuak, Punta Luceron) neurtutako digestio tubuluen atrofia maila altuek iradokitzen dute nolabait estuario hauek, puntualki bada ere, estres iturrien presentzia jasaten dutela zeinak denborarekin ekosistema hauetan arazo larriak ekarri ditzakenak.

Bestalde, egun mota honetako lanetan XRF bezalako tekniken aplikazioa oso mugatua den arren, eta literaturaren gabeziak ezartzen dituen mugak datuen interpretazioa zailtzen duen arren, gure ustez pena merezi du honelako tekniken inplementazioan esfortzu bat egitea, izan ere, potentzial interesgarria baitute.

## 6. Erreferentziak

- Arrighetti, F., Landro, S. M., Lambre, M. E., Penchaszadeh, P. E., & Teso, V. (2019). Multiple-biomarker approach in the assessment of the health status of a novel sentinel mussel *Brachidontes* in a harbor area. *Marine Pollution Bulletin*, 140, 451-461.
- Becker, B. J., Fodrie, F. J., McMillan, P. A., & Levin, L. A. (2005). Spatial and temporal variation in trace elemental fingerprints of *Mytilid* mussel shells: A precursor to invertebrate larval tracking. *Limnology and Oceanography*, 50(1), 48-61.
- Belzunce, M. J., Solaun, O., Valencia, V., & Pérez, V. (2004). Contaminants in estuarine and coastal waters. *Elsevier Oceanography Series*, 70, 233-251.
- Cuevas, N., Zorita, I., Costa, P. M., Franco, J., & Larreta, J. (2015). Development of histopathological indices in the digestive gland and gonad of mussels: Integration with contamination levels and effects of confounding factors. *Aquatic Toxicology*, 162, 152-164.
- Garmendia, L., Soto, M., Vicario, U., Kim, Y., Cajaraville, M. P., & Marigómez, I. (2011). Application of a battery of biomarkers in mussel digestive gland to assess long-term effects of the Prestige oil spill in Galicia and Bay of Biscay: Tissue-level biomarkers and histopathology. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(4), 9-15.
- Guendouzi, Y., Soualili, D. L., Fowler, S. W., & Boulahdid, M. (2020). Environmental and human health risk assessment of trace metals in the mussel ecosystem from the Southwestern Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 151, 110-820.
- Honig, A., Etter, R., Pepperman, K., Morello, S., & Hannigan, R. (2020). Site and age discrimination using trace element fingerprints in the blue mussel, *Mytilus edulis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 522, 151-249.
- Kimbrough, K. L., W. E. Johnson, G. G. Lauenstein, J. D. Christensen and D. A. Apeti. 2008. An Assessment of Two Decades of Contaminant Monitoring in the Nation's Coastal Zone. Silver Spring, MD. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 74. 105-106.
- Mejdoub, Z., Zaid, Y., Hmimid, F., & Kabine, M. (2018). Assessment of metals bioaccumulation and bioavailability in mussels *Mytilus galloprovincialis* exposed to outfalls pollution in coastal areas of Casablanca. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 48, 30-37.
- Ojeda, M., Boy, C. C., & Giménez, J. (2019). Reproductive aspects and energy allocation compromise to aerial exposure in the intertidal mussel *Brachidontes*. A case study at two tidal levels. *Journal of Sea Research*, 155, 101-824.
- Richir, J., & Gobert, S. (2014). The effect of size, weight, body compartment, sex and reproductive status on the bioaccumulation of 19 trace elements in rope-grown *Mytilus galloprovincialis*. *Ecological Indicators*, 36, 33-47.
- Soto, M., & Marigómez, I. (1997). Metal bioavailability assessment in mussel-watch programmes by automated image analysis of autometallographical black silver deposits (BSD) in digestive cell lysosomes. *Marine Ecology Progress Series*, 156, 141-150.
- Solaun, O., Rodríguez, J. G., Borja, A., González, M., & Saiz-Salinas, J. I. (2013). Biomonitoring of metals under the water framework directive: Detecting temporal trends and abrupt changes, in relation to the removal of pollution sources. *Marine Pollution Bulletin*, 67(1-2), 26-35.
- Sparks, C., Odendaal, J., & Snyman, R. (2014). An analysis of historical Mussel Watch Programme data from the west coast of the Cape Peninsula, Cape Town. *Marine Pollution Bulletin*, 87(1-2), 374-380.
- URA, 2020. Red de seguimiento del estado ecológico de las aguas de transición y costeras de la Comunidad Autónoma del País Vasco. Informe de resultados. Campaña 2019. 410-411.