

Inv. Pesq.	34 (2)	págs. 191-202	octubre 1970
------------	--------	---------------	--------------

Distribución anatómica de cobre, cinc,
hierro y manganeso en el ostion,
Cassostrea angulata (Lmk.)
y ostra, *Ostrea edulis* (L.)*

por

RAFAEL ESTABLIER y MANUEL GUTIÉRREZ **

La acumulación de metales pesados por algunos bivalvos y en particular por las ostras, es conocida desde hace bastante tiempo y adquiere un interés particular cuando se produce la acumulación de algunos metales que, en ciertas concentraciones, pueden ser nocivos para la salud. Así, determinadas concentraciones de Cu hacen incomedibles las ostras, confiriéndoles un color verdoso y un sabor característico (RANSON, 1951). La acumulación de metales por encima de su tasa normal en las ostras es debida, principalmente, a las condiciones químicas del medio ambiente (ESTABLIER, 1969), habiéndose podido comprobar experimentalmente que al colocar estos moluscos en medios enriquecidos en cobre, bien artificialmente (GALTSOFF, 1964) o naturales (IKUTA, 1968), aumentan extraordinariamente el contenido en este metal.

La distribución de los metales en los distintos órganos de la ostra americana (GALTSOFF, 1964) demostró que la acumulación se producía principalmente en las branquias y en el manto, siendo sólo el manganeso el que se acumulaba en mayor proporción en los ovarios. IKUTA (1968) estudia la acumulación de Cu y Zn en el manto, branquias, palpos labiales, músculo aductor y resto de órganos de las ostras japonesas al colocar éstas en zonas contaminadas de Cu, observando que el Cu se acumulaba en mayor proporción en los palpos labiales, seguido del manto y branquias. En cuanto al Zn, observa que se acumula principalmente en man-

* Recibido para su publicación el 11-II-1969.

** Laboratorio del Inst. de Invest. Pesq. Puerto Pesquero. Cádiz.

to, branquias y palpos labiales. WALTER y col. (1958), estudian la acumulación del Zn en varios organismos marinos, encontrando cantidades de 691, 802, 958, 61 y 669 mg/100 gr de producto fresco para el manto, branquias, palpos labiales, músculo aductor y resto de la ostra americana (*C. virginica*). Asimismo, BELTRÁN y VLADESCO (1921) determinaron la existencia de altas proporciones de Zn en las branquias del ostión (*C. angulata*), siendo el músculo aductor el órgano con menor proporción de este metal.

En trabajos anteriores (ESTABLIER, 1969 y 1969 a) hemos estudiado la concentración de Cu, Fe, Mn y Zn de los ostiones procedentes de distintas zonas de las costas de Cádiz, habiéndose comprobado que existen fuertes fluctuaciones en estos metales, según el lugar de procedencia. A la vista de lo expuesto anteriormente, hemos creído que sería de interés el efectuar un estudio sobre la distribución de estos metales en el manto, branquias, masa visceral, palpos, músculo aductor blanco, ídem. transparente y corazón de los ostiones procedentes de zonas contaminadas por cobre y zonas en las que el contenido de los ostiones en este metal se puede considerar normal. Asimismo, hemos comparado los resultados obtenidos con análisis que hemos efectuado sobre los mismos órganos de ostras (*Ostrea edulis*) procedentes de la Ría de Arosa, en Galicia (Costa NO de España).

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de ostras se adquirieron en un local comercial, indicándonos que procedían de la Ría de Arosa. Los ostiones, procedentes todos de las costas de Cádiz, los dividimos en dos partes, los de bajo contenido en cobre recolectados en Sancti-Petri y con alto contenido en este metal que denominamos «ostiones cobreados» cogidos en Sanlúcar de Barrameda, de los cuales unos proceden del corral de Montijo (29-3-68) y otros del banco sumergido denominado «Juan Pul» (29-5-68) (ESTABLIER, 1969 a). En todas las determinaciones se han utilizado de 12 a 18 ejemplares, los cuales, una vez hecha la disección y aislada cada parte anatómica, se procedió a la determinación del contenido hídrico y posterior calcinación. En la figura 1 se da un esquema donde están especificadas las partes anatómicas estudiadas. Éstas se separaron perfectamente bien al efectuar las disecciones con excepción de la masa visceral que incluye el hepatopáncreas y el tracto digestivo y, pese a los cuidados puestos, es posible que fuera impurificada con restos de gónadas.

Las determinaciones cuantitativas de Cu, Fe, Mn y Zn se hicieron empleando un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer modelo 303 y siguiendo las técnicas empleadas en trabajos anteriores (ESTABLIER, 1969 y 1969 a).

Para el estudio histoquímico el material se fijó en formol tamponado al 5 % o etanol y se incluyó en parafina obteniéndose cortes de 8μ . Para el hierro hemos usado el método del ferrocianuro potásico de PERLS modificado por LILLIE (1954), haciendo en algunos cortes tratamiento previo con peróxido de hidrógeno. Para el cobre se usó el método de la ditionia-mina (ac. rubeánico) de OKAMOTO y UTAMURA (1938) y para el Zn, el de la difeniltiocarbazona (di-tizona) de MAGER y col. (1953).

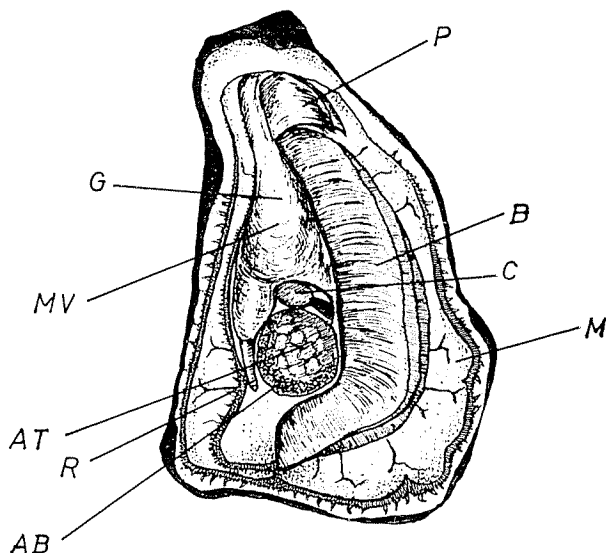


Fig. 1. — Dibujo original de la cara derecha de un ostión donde representamos diferentes zonas anatómicas. Músculo aductor blanco (AB), músculo aductor transparente (AT), branquias (B), corazón (C), en negro la aurícula y en blanco rayado el ventrículo, gonada (G), cubriendo los relieves de la masa visceral (MV), manto (M) con pequeños tentáculos, palpos (P) y recto (R).

Análisis de los resultados

En la tabla I se dan los resultados obtenidos en los análisis de Cu, Fe, Mn y Zn en las distintas partes anatómicas de las ostras (*O. edulis*) y ostiones (*C. angulata*) con alto y bajo contenido en cobre. Como se observa en esta tabla, se han efectuado análisis sobre dos lotes de ostras, dos de ostiones cobreados (Sanlúcar de Barrameda) y un lote de ostiones con bajo contenido en cobre (Sancti-Petri).

Con los valores medios de los análisis consignados en la tabla I se han dibujado las gráficas de las figuras 2, 3, 4 y 5.

En la figura 2 se aprecia que en todos los órganos estudiados, *C. angulata* tiene concentraciones de cobre superiores a *O. edulis*, viéndose también que las concentraciones más elevadas de este metal se encuen-

T A B L A I

Resultados de los análisis de Cu, Fe, Mn y Zn efectuados sobre las distintas partes anatómicas del Ostion (*C. angulata*) y de la Ostra (*O. edulis*).

ESPECIE	PROCEDENCIA	FECHA	ÓRGANO	Cu mg/100 g		Fe mg/100 g		Mn mg/100 g		Zn mg/100 g	
				FRESCO	SECO	FRESCO	SECO	FRESCO	SECO	FRESCO	SECO
<i>O. edulis</i>	Ría de Arosa	6-3-68	M. Visceral	3,64	15,07	5,67	23,47	0,19	0,79	61,78	255,65
»	»	6-3-68	Manto	2,72	22,11	4,64	37,72	1,10	8,93	48,41	393,28
»	»	6-3-68	Branquias	1,38	11,06	2,66	21,60	0,90	7,17	57,61	460,91
»	»	6-3-68	M. Aductor T.	0,26	1,26	1,55	7,59	0,06	0,30	6,79	33,14
»	»	6-3-68	M. Ad. blanco	0,37	2,05	1,65	9,21	0,08	0,43	8,24	45,92
»	»	6-3-68	Palpos	1,88	10,17	4,00	22,22	0,59	3,28	72,63	403,75
»	»	6-3-68	Corazón	3,03	16,34	25,52	137,66	—	—	57,78	311,66
<i>C. angulata</i>	Sanlúcar de Bde.	29-3-68	M. Aductor T.	5,15	22,83	1,25	5,54	0,06	0,26	24,57	108,95
»	(Corral de Montijo)	29-3-68	M. Ad. Blanco	6,84	36,67	3,31	17,14	0,13	0,69	28,47	152,65
»	»	29-3-68	Palpos	53,27	257,46	3,07	14,84	0,66	3,18	219,36	1060,22
»	»	29-3-68	Manto	43,51	284,56	4,30	28,12	0,63	4,11	174,05	1138,25
»	»	29-3-68	Branquias	45,16	305,74	4,19	28,28	1,33	9,03	180,65	1222,99
»	»	29-3-68	M. Visceral	33,87	167,50	10,67	52,78	0,50	2,47	129,33	639,56
»	»	22-4-68	Manto	8,24	38,07	3,73	17,24	0,72	3,33	126,27	583,50
»	»	22-4-68	Branquias	7,04	39,82	3,41	19,28	2,01	12,28	97,89	553,67
»	»	22-4-68	M. Aductor T.	1,12	4,63	1,18	4,88	0,10	0,41	21,74	89,98
»	»	22-4-68	M. Ad. blanco	1,98	9,79	1,82	9,00	0,25	1,23	36,82	182,09
»	»	22-4-68	M. Visceral	5,37	19,96	8,61	32,00	0,41	1,52	83,21	309,33
»	»	22-4-68	Palpos	3,52	11,97	2,31	7,86	0,70	2,38	68,26	232,16
»	»	22-4-68	Gónadas ♂	1,06	4,22	3,42	13,65	0,10	0,40	17,71	70,67
»	»	22-4-68	Gónadas ♀	2,63	10,15	3,34	12,90	2,21	8,53	37,67	145,38
»	»	22-4-68	Corazón	15,87	73,03	20,97	96,54	—	—	242,79	1117,81
<i>C. angulata</i>	Sanlúcar de Bda.	29-5-68	Branquias	68,15	351,46	4,78	24,65	1,40	7,22	288,76	1489,22
»	(Banco de Juan Pul)	29-5-68	Manto	66,91	333,71	4,46	22,24	0,47	2,34	241,34	1203,69
»	»	29-5-68	M. Visceral	67,07	250,72	10,00	37,38	0,57	2,13	302,84	1132,11
»	»	29-5-68	Palpos	70,35	264,37	4,75	17,85	0,51	1,92	276,94	1040,73
»	»	29-5-68	M. Aductor T.	12,12	49,48	1,47	6,00	0,08	0,33	52,05	212,53
»	»	29-5-68	M. Ad. blanco	17,30	86,54	3,45	17,25	0,29	1,45	72,31	361,73
»	»	29-5-68	Corazón	127,15	604,03	28,73	136,48	—	—	502,80	2388,59
<i>O. edulis</i>	Ría de Arosa	24-11-68	Manto	2,82	18,24	3,11	20,11	0,27	1,74	38,89	251,55
»	»	24-11-68	Branquias	2,90	19,88	2,46	16,86	0,26	1,78	55,50	383,02
»	»	24-11-68	M. Visceral	1,62	5,99	4,70	17,37	0,11	0,41	30,07	111,16
»	»	24-11-68	Palpos	1,36	5,57	2,29	9,38	0,10	0,41	33,40	136,88
»	»	24-11-68	M. Aductor T.	0,54	2,32	1,36	5,86	0,04	0,18	7,87	32,52
»	»	24-11-68	M. Ad. blanco	1,36	6,42	2,05	9,68	0,06	0,28	14,88	70,32
»	»	24-11-68	Corazón	4,53	25,90	16,98	97,08	—	—	50,15	286,73

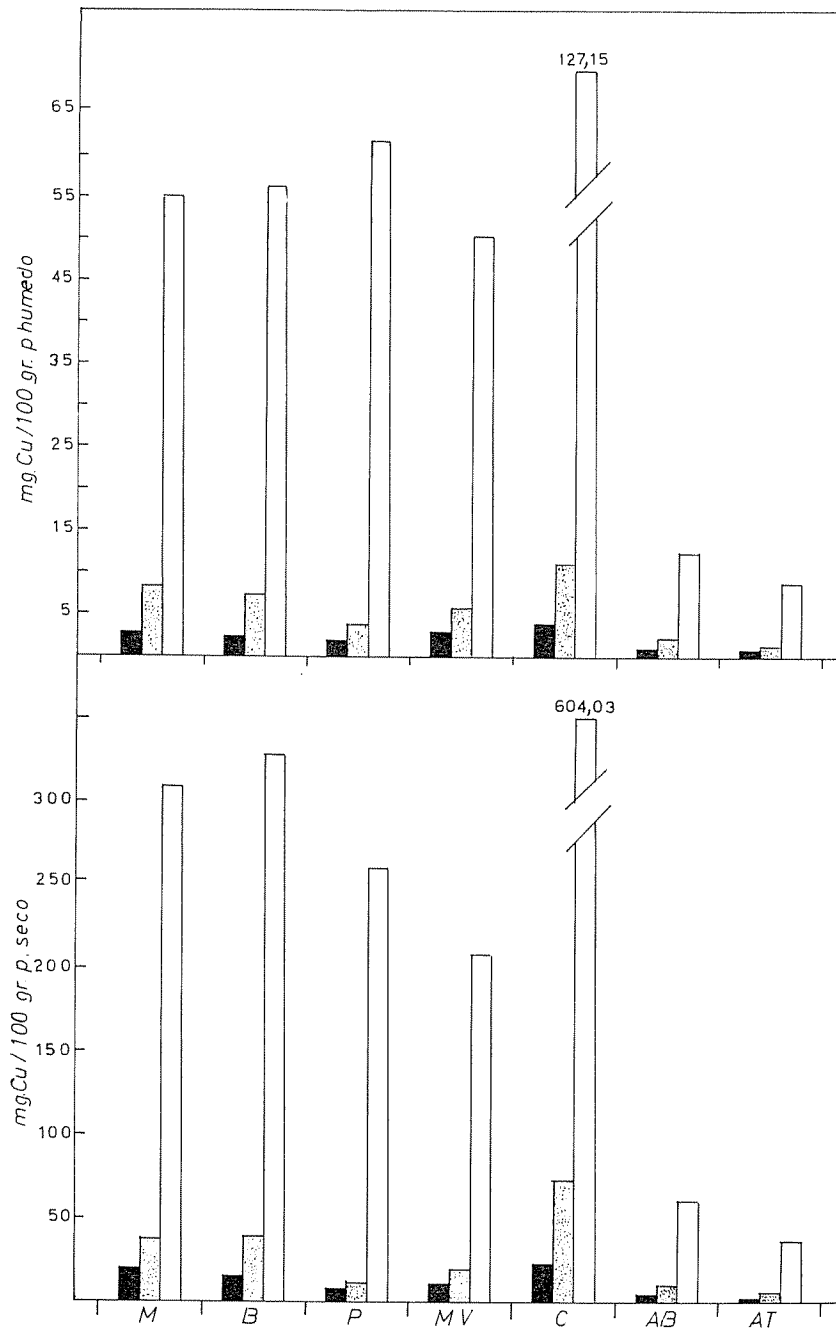


FIG. 2. — Representación gráfica de la acumulación de cobre en los órganos de la ostra (*O. edulis*) y ostión (*C. angulata*). Parte superior referido a peso húmedo y la inferior a seco. Para las abreviaturas ver leyenda figura 1. Rectángulos negros *O. edulis*, idem punteados *C. angulata* e idem blancos *C. angulata* cobreada.

tran en el corazón, manto, branquias y masa visceral, referidas tanto a producto fresco como seco. En los ostiones cobreados se aprecia que, al igual que ocurría con las ostras y ostiones sin cobrear, la máxima acumulación de cobre se efectúa en el corazón, alcanzando cantidades dos veces superiores a las obtenidas en los demás órganos. Considerando los resultados obtenidos sobre peso húmedo se ve que a continuación del corazón el órgano de máxima acumulación son los palpos, seguidos de branquias, manto y masa visceral. No obstante, sobre peso seco se ve que los porcentajes más altos se alcanzan en las branquias seguidos de manto, palpos y masa visceral. El hecho de que los palpos contengan menor proporción de cobre referido a peso seco es debido a que el contenido hídrico de estos órganos, en las muestras estudiadas, era bastante menor que el correspondiente al manto y branquias.

El contenido en Cu de los ovarios y testículos sólo se pudo analizar en una muestra de ostiones normales, apreciándose bajas concentraciones de este metal, pero viéndose una acumulación bastante más elevada en los ovarios.

En las determinaciones histoquímicas realizadas se ha comprobado que en los granulocitos de la sangre, la reacción es, en unos, positiva adoptando la forma de grumos gruesos que no llegan a invadir todo el citoplasma, no teniendo la misma intensidad en todas las células y en otras la reacción es negativa. Interpretamos como positivo de tipo difuso la reacción en el manto, epitelio gástrico, bránquias, tabique de gónadas y en algunas zonas de la parte estudiada de palpos. En las células de la sangre adopta la forma de grumos gruesos, especialmente en los elementos que se encuentran en el conectivo del tracto digestivo (porción interglandular del hepatopáncreas). En el contenido intestinal la reacción es moderada en forma de grumos. Es de hacer notar que todas las determinaciones histoquímicas se han realizado sobre ostiones fuertemente cobreados.

El contenido en Zn de los distintos órganos estudiados de estos moluscos está representado en la figura 3, viéndose que para *C. angulata* la máxima concentración de este metal se alcanza en corazón, manto, branquias y palpos. Mientras que en *O. edulis* se alcanzan concentraciones muy similares en branquias, corazón y manto sobre peso húmedo, mientras que sobre peso seco es en manto y branquias donde hay mayor concentración de este metal. Los análisis efectuados sobre los órganos de los ostiones cobreados revelan que existe también una fuerte acumulación de Zn paralela a la de cobre, viéndose que ésta se efectúa principalmente en corazón, palpos, branquias y masa visceral, considerando peso húmedo y en corazón branquias y manto al referir los análisis a materia seca. Siendo de destacar que al referir los porcentajes a peso seco, los de palpos y masa visceral quedan muy por debajo de los de las branquias y manto. En el músculo aductor transparente y el blanco, las concentra-

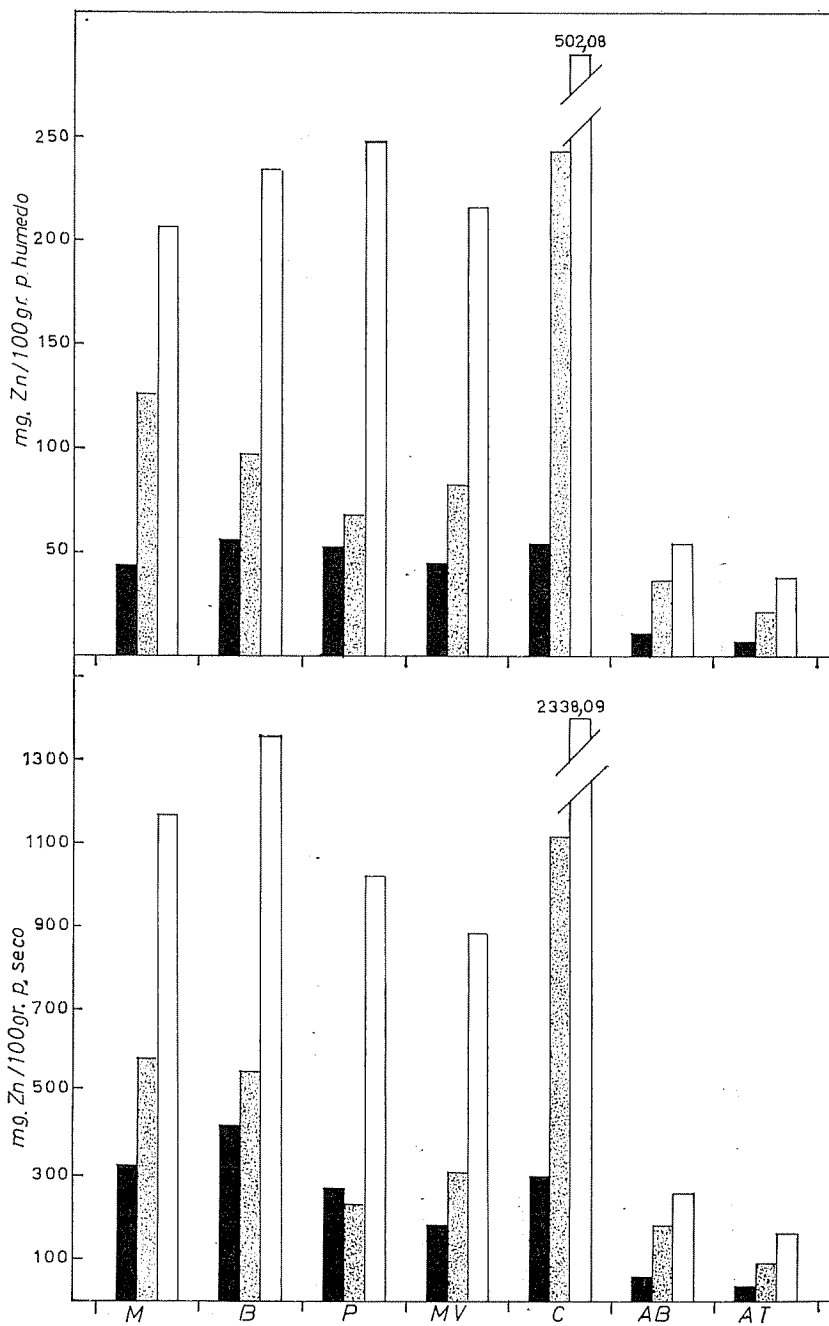


FIG. 3. — Representación gráfica de la acumulación de cinc en los órganos de la ostra (*O. edulis*) y ostión (*C. angulata*). Parte superior referido a peso húmedo y la inferior a seco. Para las abreviaturas ver leyenda figura 1. Rectángulos negros *O. edulis*, idem punteados *C. angulata* e idem blancos *C. angulata* cobreada.

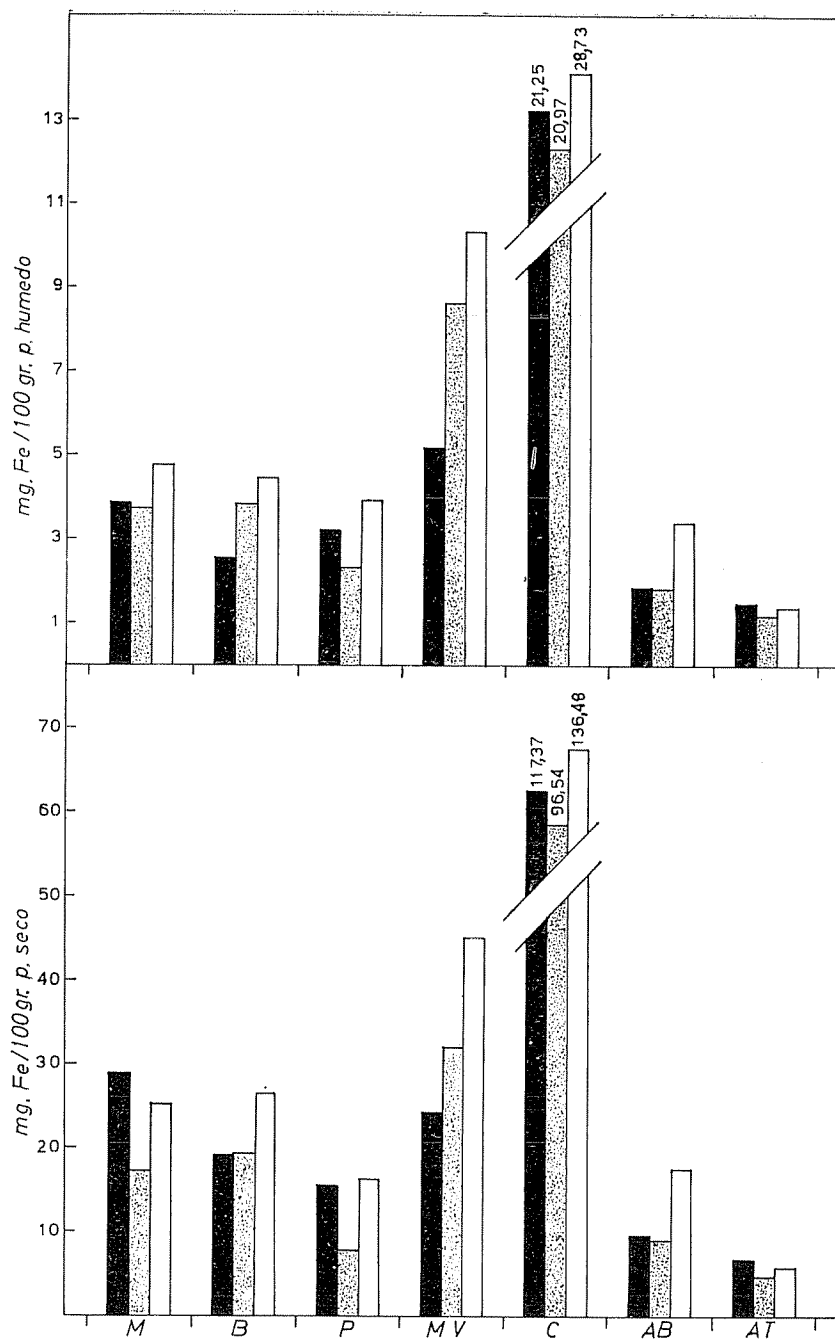


FIG. 4. — Representación gráfica de la acumulación de hierro en los órganos de la ostra (*O. edulis*) y ostión (*C. angulata*). Parte superior referido a peso húmedo y la inferior a seco. Para las abreviaturas ver leyenda figura 1. Rectángulos negros *O. edulis* idem punteados *C. angulata* e idem blancos *C. angulata* cobreada.

ciones son relativamente pequeñas, viéndose también que la acumulación de este metal, en estos órganos, en los ostiones cobreados es bastante menor que en los restantes.

En las determinaciones histoquímicas de Zn efectuadas en ostiones cobreados, se apreció que la reacción era negativa en el contenido intestinal en contraste con la reacción del cobre y especialmente del hierro. Se obtiene reacción positiva difusa en zonas repartidas irregularmente en la periferia del manto, branquias, palpos en la porción estudiada, epitelio gástrico y a nivel de pericardio y corazón. Dan reacciones positivas de tipo granular las células granulares de la sangre.

La mayor concentración de Fe, figura 4, referido a peso húmedo, se ha encontrado en el corazón y en la masa visceral tanto en *Ostrea edulis* como en *C. angulata*. Las concentraciones mayores referidas a peso seco fueron encontradas en el corazón y manto para *Ostrea edulis*. Con respecto al contenido en hierro, no se aprecian acumulaciones notables en los ostiones fuertemente cobreados que se han estudiado, observándose, no obstante, un porcentaje ligeramente más alto en estos últimos. Es de hacer notar que en las gónadas de *C. angulata* se obtienen cantidades casi iguales para los ovarios y testículos, a diferencia de las obtenidas del Cu, Fe y Mn que son muy superiores en los ovarios.

En las reacciones histoquímicas del Fe se ha observado fuerte reacción, con grumos gruesos de forma irregular, en el contenido intestinal. Reacción difusa o granular de tipo fino, en células sanguíneas del conectivo del tracto digestivo y en zonas aisladas del epitelio del manto. En los ambocitos, en forma granular, en elementos aislados. A nivel de corazón se observa un color difuminado en zonas aisladas siendo más visible en algunos elementos formes de la sangre.

En la figura 5 están representados los valores medios de los contenidos en Mn de los distintos órganos estudiados, no estando representados los contenidos del corazón, ya que estas determinaciones no se han podido realizar debido a un bajo contenido y al poco material de que disponíamos. Esta gráfica se aprecia en los contenidos más altos de este metal se encuentran en los ovarios y branquias del ostión y en el manto y branquias de *O. edulis*, no pudiéndose hacer determinaciones en los ovarios de esta última, ya que en la disección de las muestras no fue posible la separación de estos órganos. Es de observar que, sobre peso húmedo, la máxima concentración de Mn se encuentra en los ovarios seguido de las branquias, mientras que referido a peso seco, se invierten los términos, siendo bastante más elevada la concentración en branquias. Asimismo, se aprecia que el contenido en Mn de todos los órganos de los ostiones con un contenido en cobre bajo, es superior al de los ostiones cobreados. Es decir, que no se aprecia una acumulación correlativa al cobre como en el caso del cinc.

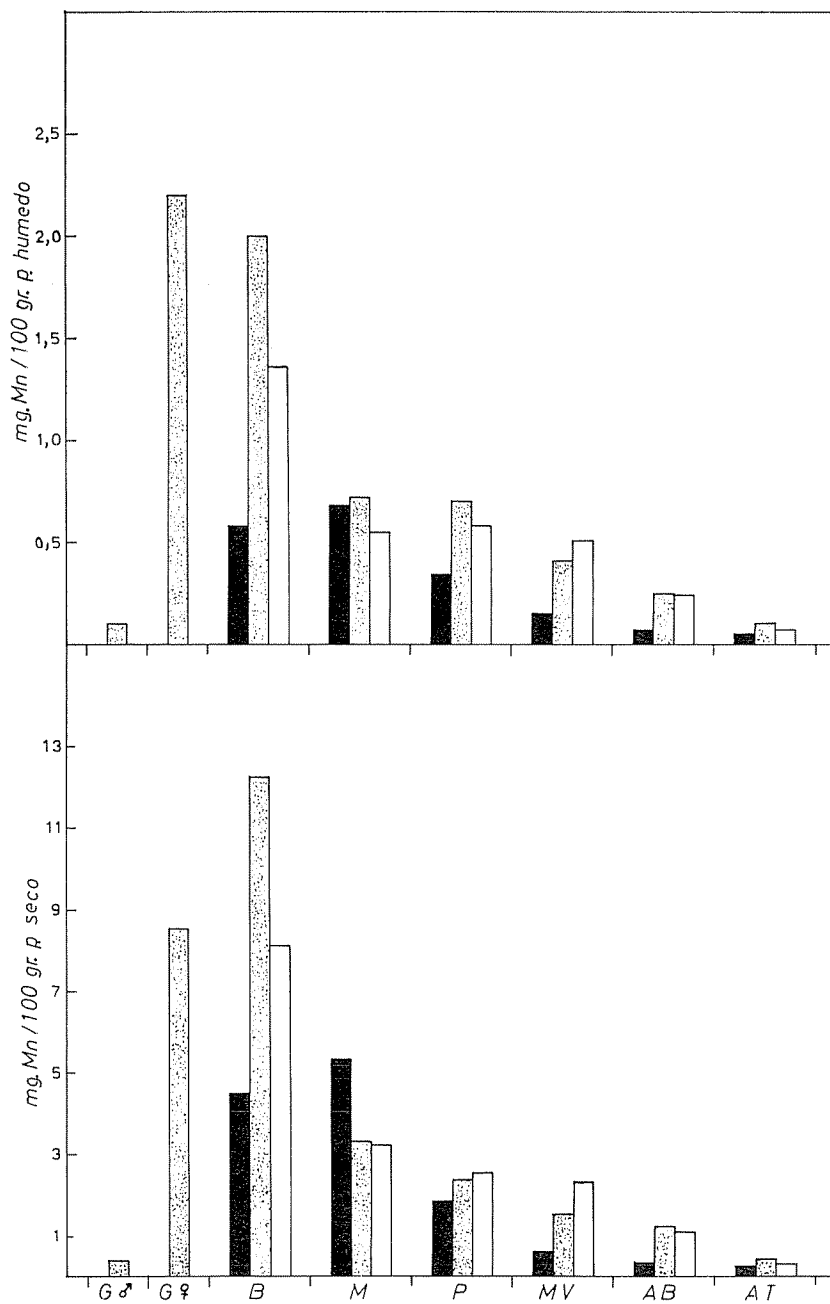


Fig. 5. — Representación gráfica de la acumulación de manganeso en los órganos de la ostra (*O. edulis*) y ostión (*C. angulata*). Parte superior referido a peso húmedo y la inferior a seco. Para las abreviaturas ver leyenda fig. 1. Rectángulos negros *O. edulis*, rectángulos punteados *C. angulata*, rectángulos blancos *C. angulata* cobreada.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se ha efectuado un estudio sobre la distribución del cobre, hierro, manganeso y cinc en distintos órganos de la ostra (*O. edulis*) y del ostión (*C. angulata*), estos últimos procedentes de zonas contaminadas por cobre y de zonas en las que el contenido en este metal se considera normal.

Se ha comprobado que el Cu se encuentra principalmente en corazón, branquias y manto de la ostra y del ostión no cobreados, mientras que en estos últimos se aprecia una acumulación de este metal en corazón, palpos, branquias y manto (Cu sobre materia fresca), siendo los porcentajes más elevados sobre peso seco los encontrados en corazón, branquias y manto.

En *O. edulis* los valores más altos de Zn se encuentran principalmente en las branquias, corazón y manto y en *C. angulata* en corazón, manto y branquias. En los ostiones cobreados se aprecian también grandes acumulaciones de este metal, efectuándose éstas principalmente en corazón, palpos y branquias (peso húmedo) mientras que al referir los porcentajes de Zn a peso seco la acumulación se efectúa principalmente en corazón seguido de branquias y manto.

Los mayores porcentajes de Fe tanto en *O. edulis* como en *C. angulata* se han encontrado en corazón, masa visceral y manto. Habiéndose podido apreciar en los ostiones cobreados que no parece existir una acumulación masiva de este metal paralela al cobre, como ocurre con el Zn. Se ha comprobado que los contenidos en Fe de los ovarios y testículos de *C. angulata* son prácticamente iguales, a diferencia de los restantes metales estudiados que su contenido es superior en los ovarios.

Los contenidos más altos de Mn se encuentran en los ovarios y branquias del ostión y en branquias y manto de la ostra. Siendo de notar que al referir los porcentajes de este metal a peso seco, la mayor proporción, en *C. angulata*, se encuentra en branquias. Asimismo, no parece existir ninguna relación entre la acumulación de cobre y el contenido en manganeso de los ostiones.

Del estudio histoquímico de la distribución anatómica de los cationes Cu, Fe y Zn en el ostión cobreado se han obtenido los resultados siguientes: En el contenido intestinal se demuestra la existencia del hierro y del cobre, siendo negativa la presencia del cinc. En los granulocitos sanguíneos se observan reacciones positivas de los cationes aunque no en todas las células. Las reacciones son más o menos intensas para el hierro en forma difusa o granular de tipo fino en el manto y corazón, mientras que para el cobre y cinc las reacciones son débiles en el manto, epitelio gástrico, branquias, tabiques de gónadas y porción estriada de

palpos, destacando el cinc en el pericardio y corazón. Comparando estos hallazgos con los datos cuantitativos, llegamos provisionalmente a la conclusión de que buena parte de dichos cationes deben estar enmascarados, por probable unión a proteínas o/y enzimas, siendo este punto motivo de futuras investigaciones.

SUMMARY

DISTRIBUTION OF COPPER, ZINC, IRON AND MANGANESE ION THE DIFFERENT REGIONS OF THE BODY OF OYSTERS (*Crassostrea angulata* AND *Ostrea edulis*). — Present research concerns the accumulation of copper, zinc, iron and manganese in mantle, gills, labial palps, transparent adductor muscle, white ductor muscle, visceral mass and heart of Oysters (*O. edulis*) and «Ostión» (*C. angulata*), these both normal and abnormal («green oyster»).

Table I summarizes the results of analysis of Cu, Fe, Mn and Zn (atomic absorption spectrophotometry) in the seven parts of oysters. Changes in the distribution of Cu, Fe, Mn and Zn in these parts of oysters and «ostion» are plotted in figures 2, 3, 4 and 5. Histochemical studies of the different organs of the oysters complement information on the accumulation of metals in the different parts of the body.

BIBLIOGRAFÍA

- BELTRÁN, G. y R. VLADESCO. — 1921. Citado por WALTER y col.
 ESTABLIER, R. — 1969. Estudios del contenido en cobre del agua de mar y ostiones (*Crassostrea angulata*) de las costas de Cádiz. *Inv. Pesq.*, 33:69-86.
 ESTABLIER, R. — 1969 a. Contenido en cobre, hierro, manganeso y cinc de los ostiones (*Crassostrea angulata*) de las costas de Cádiz. *Inv. Pesq.*, 33:335-343.
 GALTSOFF, P. S. — 1964. The American Oysters *Fishery Bulletin of the Fish and Wildlife Service*. 64: 480 pp.
 IKUTA, K. — 1968. Studies on accumulation of heavy metals in aquatic organisms. III On accumulation of copper and zinc in the parts of oysters: *Bull. Jap. Soc. Sci Fisheries*, 34 (2): 117-122.
 LILLIE, R. D. — 1954. *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry*. The Blakiston Co., N. Y.
 MAGER, M y COL. — 1953. The histochemical detection of zinc. *Journal Histochem. Cytochem*, 1: 486.
 OKAMOTO, K, y UTAMURA, M. — 1938. Biologische Untersuchungen der Kupfers. I Über die Histochemische Kupfernachweismethode. *Acta Scholae Med. Univ. Kyoto*, 20: 573-580.
 RANSON, G. — 1951. *Les Huitres*. Paul Lechevalier. Paris.
 WALTER CHIPMAN, W. A. y col. — 1958. Uptake and Accumulation of Radioactive Zinc by Marine Plankton, Fish, and Shellfish. *Fishery Bulletin, of the Fish and Wildlife Service*. Vol 58.