



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**

ESCUELA INTERNACIONAL DEL DOCTORADO

TESIS DOCTORAL

Caracterización y evaluación de la exposición a contaminantes  
ambientales en cetáceos del sureste español

**D. Gabriel López Berenguer**

**2023**









**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD  
DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

*Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022*

D./Dña. Gabriel López Berenguer

doctorando del Programa de Doctorado en

Biodiversidad y Gestión Ambiental

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Caracterización y evaluación de la exposición a contaminantes ambientales en cetáceos del sureste español

y dirigida por,

D./Dña. Emma Martínez López

D./Dña.

D./Dña.

**DECLARO QUE:**

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

*Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:*

- *La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- *En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 12 de Enero de 2023

Fdo.: Gabriel López Berenguer

*Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del Título de Doctor*

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados	
Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia





*En memoria de Dorrit Rosenberg.*

*Falleció el 1 de marzo de 2022, sin darme suficiente tiempo para poder contarle que, contra lo esperado, había terminado ese proyecto con los “peces” que llevó a cruzar nuestros caminos.*



## *AGRADECIMIENTOS*

A Emma, por guiarme a lo largo de este proyecto y haberme dado la oportunidad de estudiar sobre un tema que siempre fue mi pasión.

A José Peñalver, por su ayuda inestimable y por compartir con nosotros sus conocimientos y su entusiasmo por las especies que protagonizan este trabajo.

A Silvia, Pilar, Irene y al resto de personal del Área de Toxicología de la Facultad de Veterinaria, por haberme ayudado siempre que lo he necesitado.

A Christian, Rossana, Charlotte, Rune, Inga y toda la gente de los Departamentos de Ciencias Biológicas y Ciencias Medioambientales de la Universidad de Aarhus. Gracias por acogerme como a uno más y enseñarme nuevas perspectivas.

Al Centro de Recuperación de Especies “el Valle” y a la Dirección General de Medio Ambiente de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, por ceder las muestras que han hecho posible este trabajo.





## Resumen

A pesar de su pequeña extensión relativa y su condición oligotrófica, el mar Mediterráneo acumula aproximadamente un 7 % de la biodiversidad global. Históricamente el mar Mediterráneo ha alojado algunas de las mayores civilizaciones que ha visto el mundo, y en la actualidad está rodeado de varios de los países más industrializados del globo. Su cuenca no es solo una región con una gran densidad de habitantes, sino que además es uno de los principales destinos turísticos del planeta. La constante presión antropogénica a la que se ha visto sometida esta región desde hace varios siglos ha dado lugar a una crisis de conservación con una preocupante pérdida de biodiversidad, que es esencial para las poblaciones humanas que habitan esta región. La contaminación química supone una de las principales amenazas actuales a las que se enfrenta la humanidad a escala global, y específicamente en el Mediterráneo. Durante los últimos siglos se han liberado inmensurables cantidades de contaminantes al medio ambiente, ocasionando la exposición de los seres vivos a estos. En la actualidad, la contaminación química es ubicua en todo el planeta, alcanzando incluso aquellas regiones más alejadas de la influencia humana. Los océanos son particularmente susceptibles a la acumulación de contaminantes químicos ya que actúan como el desagüe global de muchos de estos compuestos que finalmente acaban allí a través de la atmósfera, los ríos, los vertidos, *etc.*

Los cetáceos, además de ser unas especies emblemáticas para gran parte de la población, tienen un papel fundamental en el mantenimiento de la salud y la integridad de los ecosistemas marinos debido, entre otras cosas, a su influencia en el control poblacional de muchas especies y su participación significativa en los ciclos biogeoquímicos oceánicos. Este rol ecológico y otras características de su particular biología los ha llevado a ser considerados como buenos bioindicadores de la salud de los ecosistemas marinos, así como centinelas de la contaminación oceánica. Debido a las dificultades éticas y técnicas de su estudio, los varamientos suponen una fuente de información extremadamente valiosa e irremplazable. La UICN estima que el 25 % de los mamíferos marinos del mundo se encuentran en peligro, y, en el Mediterráneo, los cetáceos son considerados una de las especies más susceptibles a las amenazas humanas. A pesar de que sus poblaciones en esta región están protegidas por diversos acuerdos y leyes (p. ej., ACCOBAMS), su abundancia en las últimas décadas ha sufrido un importante descenso. Por lo tanto, evaluar la exposición a contaminantes ambientales de estas especies puede proporcionar información sobre el estrés químico al que están sometidas sus poblaciones, lo que tiene influencia directa sobre su supervivencia.

En este trabajo hemos utilizado muestras de diversos tejidos de las siete especies de odontocetos presentes en las aguas del Mediterráneo obtenidas a partir de los varamientos ocurridos en las costas de la Región de Murcia entre 2009 y 2021 para i) caracterizar la exposición a contaminantes



ambientales de diferente naturaleza, origen y características en cetáceos presentes en las aguas de la Región de Murcia; ii) estudiar la relación de los resultados obtenidos con las características de las diferentes especies estudiadas, los individuos muestreados, y los contaminantes evaluados; iii) comparar nuestros resultados con respecto a las referencias dadas en estas y otras especies así como en el Mediterráneo y en otras regiones del globo; e iv) interpretar las posibles implicaciones que estas concentraciones pueden tener sobre la salud de los individuos y las poblaciones. Los contaminantes estudiados fueron mercurio (Hg), pesticidas organoclorados (POCs), policlorobifenilos (PCBs), polibromodifenil éteres (PBDEs), hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y compuestos perfluorados (PFASs), todas ellas sustancias de distinto origen y naturaleza que tienen en común el haber sido liberados al medio ambiente en grandes cantidades, su ubicuidad en todos los ecosistemas del globo, una elevada persistencia medioambiental y su potencial toxicidad para los seres vivos incluso en pequeñas concentraciones.

A pesar de que la inmensa mayoría de los contaminantes estudiados en este trabajo han sido prohibidos o regulados en Europa y gran parte del mundo, muchos de ellos aún continúan siendo detectados en los tejidos de los cetáceos del Mediterráneo. En la línea de muchos estudios previos y contemporáneos, en este trabajo observamos concentraciones detectables de todas las familias de compuestos estudiados, aunque las concentraciones de algunos compuestos o congéneres individuales se situaron por debajo del límite de cuantificación. Estos resultados se suman a la extensa evidencia existente sobre la relativa ineficiencia de las medidas y acciones previas desarrolladas con el fin de hacer desaparecer estos contaminantes del medio natural. Los casos más extremos fueron el DDT y los PCBs, los cuales fueron generalmente los contaminantes detectados con las mayores concentraciones a pesar de que comenzaron a ser restringidos y prohibidos en Europa en las décadas de 1970 y 1980. El uso extensivo de estos compuestos y su elevada persistencia medioambiental son probablemente algunas de las principales causas responsables de estos resultados.

Por orden descendente, encontramos el siguiente patrón general de concentraciones: Hg (hígado) >> Hg (cerebro) > ΣPCBs (grasa) ≈ POCs (grasa) >> PFASs (hígado) > PAHs (grasa) > PBDEs (grasa) > PFASs (músculo). En muchos casos observamos claras diferencias entre las concentraciones de estos contaminantes en unas especies y otras. Por lo general fueron las especies con una dieta más variada y con un componente ictiófago, y que se alimentaban en aguas más superficiales (delfín listado, delfín mular y delfín común), aquellas especies que acumularon mayores cantidades de contaminantes, en contraposición con aquellas especies con una dieta exclusiva o fundamental teutófaga y que se alimentaban en aguas más profundas (calderón común, calderón gris, zifio de Cuvier y cachalote). En este último grupo, el cachalote destacó como la especie con mayores cargas de contaminantes, lo que atribuimos a su mayor tamaño. A



pesar de que existen indudablemente otras diferencias interespecíficas (p. ej., metabolismo, mecanismos de detoxificación) con algún grado de influencia sobre la incorporación y acumulación de contaminantes ambientales más allá de la composición de la dieta y la zona de alimentación, nuestros resultados sugieren que estas dos variables pueden determinar en gran medida las concentraciones de contaminantes observadas en los tejidos de estas especies. Aunque hipotetizamos que aquellas especies que utilizan las aguas más costeras – y por tanto más cercanas a las principales vías localizadas de entrada de contaminantes al medio marino – mostrarían mayores niveles de contaminantes. Sin embargo, esta situación solo se dio de manera particular en los PFASs. Para el resto de compuestos no encontramos una relación clara entre ambas variables ya que las concentraciones de mayor magnitud se dieron en la mayoría de casos en el delfín listado, una de las especies más oceánicas. No obstante, tanto el delfín mular como el delfín común, las dos especies más costeras, presentaron concentraciones superiores a la mayoría de las especies teutófagas que habitan aguas más profundas. Por otro lado, las distintas especies también mostraron diferencias en los patrones de distribución de los compuestos individuales estudiados con respecto a la suma del total de compuestos de esa familia, lo que podría tener su origen en la dieta y/o en las particularidades metabólicas de cada una de las diferentes especies.

En muchas ocasiones no solo la especie, sino el sexo y la edad de los individuos demostró tener influencia sobre las concentraciones de los contaminantes. En sintonía con la bibliografía disponible, encontramos diferencias observables en la concentración de contaminantes liposolubles y bioacumulables estudiados (*i.e.*, POCs, PCBs, PBDEs) en base al sexo y la edad. Aunque este patrón no fue constante, generalmente se detectaron concentraciones superiores para los machos adultos, seguidos de los individuos juveniles y las crías, que a su vez mostraron concentraciones superiores a las de hembras adultas. Sin embargo, no encontramos una relación estadística significativa entre estos parámetros y las concentraciones de contaminantes, lo que atribuimos al escaso número de muestras valorados. En cuanto a los PFASs, no encontramos una influencia estadísticamente significativa de las variables longitud y sexo, aunque en este caso tampoco fuimos capaces de observar un patrón claro en ninguno de los dos tejidos. En este caso no solo lo achacamos al escaso tamaño del set de muestras utilizado para el análisis, sino también a sus características, esencialmente a la homogeneidad en el tamaño de los individuos (longitud media  $175 \pm 36$  cm) y al escaso número de hembras maduras ( $n = 4$ ). En cualquiera de los casos anteriores, existen otros factores que pueden haber enmascarado estos procesos, como la inclusión de animales de diferentes épocas en las que haya existido una variación significativa en las concentraciones de contaminantes. Por otro lado, ni en el Hg ni en los PAHs encontramos relación entre sexo/longitud y concentraciones. Aunque en los PAHs los procesos de transferencia maternal también ocurren, su rápida metabolización y eliminación hace que el proceso no pueda ser percibido tan fácilmente.



Los cetáceos son considerados buenos bioindicadores del estado de contaminación del mar. Las concentraciones de contaminantes observadas en este trabajo sugieren un grado de contaminación de las aguas del sureste español de un grado variable en función del contaminante. En relación con otras áreas geográficas, nuestros resultados sugieren que el área de estudio tiene un nivel de contaminación significativamente alto de Hg y PFASs, mientras que los contaminantes liposolubles aparecen en menores concentraciones relativas. Sin embargo, no podemos descartar consecuencias para la salud de las poblaciones estudiadas en relación con la exposición a cualquiera de los compuestos de estudio. A pesar de que la información sobre este aspecto es extremadamente limitada, las concentraciones encontradas superaron en numerosos casos los umbrales de toxicidad establecidos para los cetáceos. Además, no podemos descartar la acción sinérgica de unos contaminantes con otros, así como del conjunto con otros estresores ambientales que afecten a la salud y la supervivencia de las poblaciones estudiadas.



## Abstract

Despite its relatively small size and oligotrophic condition, the Mediterranean Sea accumulates approximately 7% of global biodiversity. Historically, the Mediterranean Sea has been home to some of the greatest civilizations the world has ever seen, and today it is surrounded by some of the most industrialized countries in the world. Its basin is not only a densely populated region, but also one of the world's major tourist destinations. The constant anthropogenic pressure to which this region has been subjected for several centuries has resulted in a conservation crisis with a worrying loss of biodiversity, which is essential for the human populations that inhabit this region. Chemical pollution is one of the main current threats facing humanity on a global scale, and specifically in the Mediterranean. Over the past centuries, immeasurable amounts of pollutants have been released into the environment, exposing living beings to them. Today, chemical pollution is ubiquitous throughout the planet, reaching even those regions farthest from human influence. The oceans are particularly susceptible to the accumulation of chemical pollutants as they act as the global drain for many of these compounds that eventually end up there through the atmosphere, rivers, runoff, *etc.*

Cetaceans, in addition to being emblematic species for a large part of the population, play a fundamental role in maintaining the health and integrity of marine ecosystems. This is caused by their influence in the population control of many species and their significant participation in oceanic biogeochemical cycles. This ecological role and other characteristics of their particular biology have led them to be considered as good bioindicators of the health of marine ecosystems, as well as sentinels of ocean pollution. Due to the ethical and technical difficulties of their study, strandings are an extremely valuable and irreplaceable source of information. The IUCN estimates that 25% of the world's marine mammals are endangered. Specifically in the Mediterranean Sea, cetaceans are considered one of the species most susceptible to human threats. Although their populations in this region are protected by various agreements and laws (e.g. ACCOBAMS), their abundance in recent decades has suffered a significant decline. Therefore, assessing the exposure of these species to environmental contaminants can provide information on the chemical stress to which their populations are subjected, which has a direct influence on their survival.

In this work we have used samples of different tissues of the seven species of odontocetes present in Mediterranean waters obtained from strandings occurred in the coasts of the Region of Murcia between 2009 and 2021. Our aim was to i) characterize the exposure to environmental pollutants of different nature, origin and characteristics in cetaceans present in the waters of the Region of Murcia; ii) study the relationship of the results obtained with the characteristics of the different species studied, the individuals sampled, and the pollutants evaluated; iii) compare our results with respect to the references given in these and other species as well as in the Mediterranean and



other regions of the globe; and iv) interpret the possible implications that these concentrations may have on the health of individuals and populations. The pollutants studied were mercury (Hg), organochlorine pesticides (OCPs), polychlorinated biphenyls (PCBs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and perfluorinated compounds (PFASs), all of them substances of different origin and nature that have in common the fact that they have been released into the environment in large quantities, their ubiquity in all ecosystems of the world, their high environmental persistence and their potential toxicity to living beings even in small concentrations.

Although the vast majority of the contaminants studied in this work have been banned or regulated in Europe and much of the world, many of them continue to be detected in the tissues of Mediterranean cetaceans. In line with many previous and contemporary studies, in this work we observed detectable concentrations of all families of compounds studied, although the concentrations of some individual compounds or congeners were below the limit of quantification. These results add to the extensive existing evidence on the relative inefficiency of previous measures and actions developed in order to remove these pollutants from the natural environment. The most extreme cases were DDT and PCBs, which were generally the organic pollutants detected with the highest concentrations despite the fact that they began to be restricted and banned in Europe in the 1970s and 1980s. The extensive use of these compounds and their high environmental persistence are probably some of the main causes responsible for these results.

In descending order, we found the following general pattern of concentrations: Hg (liver) >> Hg (brain) > ΣPCBs (fat) ≈ OCPs (fat) >> PFASs (liver) > PAHs (fat) > PBDEs (fat) > PFASs (muscle). In many cases we observed clear differences between the concentrations of these contaminants in some species and others. In general, it was the species with a more varied diet and with an ichthyophagous component, and feeding in shallower waters (striped dolphin, bottlenose dolphin and common dolphin), that accumulated higher amounts of contaminants, as opposed to those species with an exclusive or primarily teutophagous diet and feeding in deeper waters (short-finned pilot whale, Risso's dolphin, Cuvier's beaked whale and sperm whale). In the latter group, the sperm whale stood out as the species with the highest contaminant loads, which we likely attribute to its larger size. Although there are undoubtedly other interspecific differences (e.g., metabolism, detoxification mechanisms) with some degree of influence on the incorporation and accumulation of environmental contaminants beyond diet composition and feeding zone, our results suggest that these two variables may largely determine the contaminant concentrations observed in the tissues of these species. Although we hypothesized that those species using the most coastal waters - and therefore closest to the main localized pathways of contaminant entry into the marine environment - would show higher contaminant levels. However, this was only true for PFASs, while we did not find a clear relationship for the rest of compounds. On the



contrary, the highest concentrations generally occurred in striped dolphin, which is among the most oceanic species. On the other hand, the different species also showed differences in the distribution patterns of the individual compounds studied with respect to the sum of the total compounds of that family, which could have its origin in the diet and/or in the metabolic particularities of each of the different species.

In many cases, not only the species, but also the sex and age of the individuals showed to have an influence on the concentrations of the contaminants. According to the existing literature, there were observable differences in the concentration of fat-soluble and bioaccumulative contaminants studied (i.e., OCPs, PCBs, PBDEs) based on sex and age. Although this pattern was not constant, generally higher concentrations were detected for adult males, followed by juveniles and hatchlings, which in turn showed higher concentrations than adult females. However, we did not find a significant statistical relationship between these parameters and contaminant concentrations, which we attribute to the small number of samples assessed. As for PFASs, we did not find a statistically significant influence of the variables length and sex, although in this case we were not able to observe a clear pattern in either tissue. In this case we attribute this not only to the small size of the sample set used for the analysis, but also to its characteristics, essentially the homogeneity in the size of the individuals (mean length  $175 \pm 36$  cm) and the small number of mature females ( $n = 4$ ). In any of the above cases, there are other factors that may have masked these processes, such as the inclusion of animals from different periods in which there was a significant variation in contaminant concentrations. On the other hand, neither in Hg nor in PAHs did we find a relationship between sex/length and concentrations. Although in PAHs maternal transfer processes also occur, their rapid metabolization and elimination means that the process cannot be perceived as easily.

Cetaceans are considered good bioindicators of the state of contamination of the sea. The concentrations of pollutants observed in this work suggest a degree of contamination of the waters of southeastern Spain of a variable degree depending on the pollutant. In relation to other geographical areas, our results suggest that the study area has a significantly high level of contamination of Hg and PFASs, while fat-soluble pollutants appear in lower relative concentrations. However, we cannot rule out health consequences for the populations studied in relation to exposure to any of the study compounds. Although information on this aspect is extremely limited, the concentrations found exceeded in numerous cases the toxicity thresholds established for cetaceans. In addition, we cannot rule out the synergistic action of some pollutants with others, as well as of the whole with other environmental stressors affecting the health and survival of the populations studied.



## Estructura de la tesis doctoral

La presente tesis se estructura de manera más o menos clásica.

El texto comienza con una **introducción general** que actúa simultáneamente a modo de revisión bibliográfica, donde se describe el contexto teórico en el que se asientan los tres pilares de esta tesis: el área de estudio, las especies de estudio y los contaminantes de estudio. Estos tres temas se van entrelazando a lo largo del desarrollo de este apartado hasta comprender los motivos que dan lugar a esta investigación y que definen los **objetivos**, descritos al final de esta sección.

Posteriormente se describen en común los **materiales y métodos** utilizados en las diferentes investigaciones. Este apartado se ha considerado en conjunto y no de manera individual en cada trabajo por el hecho de compartir todos los trabajos ciertos aspectos comunes al respecto. Tras esto, se desarrolla el cuerpo de la investigación, en un apartado denominado **capítulos**, organizado como su nombre indica en cuatro diferentes capítulos que se vertebran en torno a uno o varios grupos de contaminantes agrupados por compartir ciertas características que facilitan su investigación conjunta. Cada uno de estos capítulos se corresponde con un trabajo científico original publicado o en vías de publicación, al completo o parcialmente, en revistas científicas internacionales indexadas en los campos de las ciencias ambientales y la toxicología. Las referencias de cada uno de estos trabajos aparecen en la portada del capítulo correspondiente. Cada capítulo es completamente independiente de los demás, y tiene el estilo y la estructura típica de un artículo científico, con la excepción de no tener materiales y métodos. Por lo tanto, cada uno de ellos contiene los siguientes apartados: resumen en inglés y en español, introducción, resultados y discusión, y conclusiones. La información contenida en las tablas y figuras de los diferentes capítulos se han mantenido en inglés, el idioma original en el que fueron concebidas en sus publicaciones correspondientes.

Tras estos capítulos, se ha escrito una **discusión general** breve donde se tratan los hallazgos encontrados en todos los capítulos en conjunto en un intento de proporcionar una visión más holística de los resultados de este trabajo y sus implicaciones.

Finalmente se presentan de manera breve y concisa las **conclusiones** de mayor relevancia extraídas de este trabajo, seguidas de la **bibliografía** utilizada para la redacción de todo el manuscrito.





## Índice

<b>I. Introducción y objetivos.....</b>	<b>19</b>
<b>I.1. Área de estudio: la costa mediterránea de la Región de Murcia .....</b>	<b>20</b>
I.1.1. El mar Mediterráneo: la idiosincrasia de un mar semicerrado .....	20
I.1.1.1. Características físico-químicas: geografía, oceanografía, climatología y bioquímica .....	20
I.1.1.2. Biodiversidad y conservación.....	22
I.1.2. La costa de la Región de Murcia y el golfo de Vera: área de estudio.....	24
<b>I.2. Especies de estudio: Cetáceos.....</b>	<b>28</b>
I.2.1. Generalidades .....	28
I.2.1.1. Filogenia y taxonomía .....	29
I.2.1.2. Características y adaptaciones morfológicas y fisiológicas .....	31
I.2.1.3. La cetología: valor y métodos de estudio .....	34
I.2.1.4. Los varamientos como fuente de información esencial en la cetología.....	37
I.2.2. Especies residentes del mar Mediterráneo: descripción y estado de conservación .....	39
I.2.2.1. Generalidades .....	39
I.2.2.2. Amenazas y conservación de los cetáceos del mar Mediterráneo .....	40
I.2.2.3. Importancia del golfo de Vera y sus inmediaciones para la conservación de los cetáceos del mar Mediterráneo.....	44
I.2.2.4. Especies de cetáceo con poblaciones residentes en el mar Mediterráneo y el golfo de Vera.....	46
<b>I.3. Compuestos de estudio .....</b>	<b>62</b>
I.3.1. Contaminantes ambientales .....	62
I.3.1.1. La contaminación química en el medio ambiente y los océanos .....	62
I.3.1.2. Contaminantes de estudio.....	66
I.3.2. Contaminantes ambientales en cetáceos: exposición, acumulación y efectos .....	89
I.3.2.1. Exposición y bioacumulación de contaminantes ambientales en cetáceos .....	89
I.3.2.2. Efectos tóxicos de los contaminantes en cetáceos .....	91
I.3.3.3. Contaminación química en el Mediterráneo: el caso de los cetáceos .....	94
<b>I.4. Objetivos.....</b>	<b>98</b>
<b>II. Materiales y métodos.....</b>	<b>100</b>
II.1. Muestreo (Capítulos 1-4) .....	101
II.2. Revisión sistemática y análisis de los datos asociados (Capítulo 1) .....	102
II.3. Análisis de mercurio (Hg) y selenio (Se) (Capítulo 1).....	102
II.4. Análisis de contaminantes orgánicos liposolubles (Capítulos 2 y 3) .....	103
II.5. Análisis de PFASs (Capítulo 4) .....	105
II.6. Análisis de isótopos estables (Capítulo 4).....	107
II.7. Análisis estadístico (Capítulos 1-4).....	108
<b>III. Capítulos.....</b>	<b>109</b>
<b>III.1. Mercurio y selenio en cetáceos varados en el sureste español entre 2009 y 2021: un enfoque neurotóxico.....</b>	<b>110</b>
III.1.1.a. Resumen.....	111
III.1.1.b. Abstract.....	112
III.1.2. Introducción.....	113
III.1.3. Resultados y discusión.....	116
III.1.3.1. Concentraciones actualizadas de Hg en el cerebro de las especies de mamíferos marinos de todo el mundo.....	116
III.1.3.2. Mecanismos de protección cerebral frente al Hg en mamíferos marinos.....	122



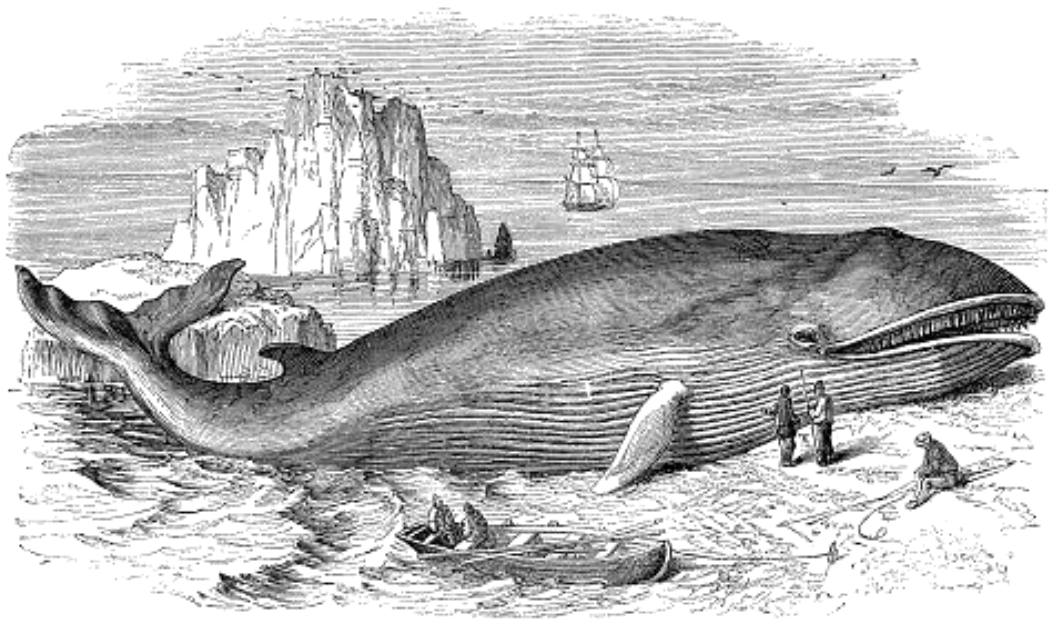
III.1.3.3. Interpretación de las concentraciones cerebrales .....	126
III.1.4. Conclusión .....	128
<b>III.2. Compuestos orgánicos persistentes, liposolubles y biomagnificables en cetáceos varados en el sureste español entre 2011 y 2018: pesticidas organoclorados, PCBs y PBDEs .....</b>	<b>129</b>
III.2.1.a. Resumen.....	130
III.2.1.b. Abstract.....	131
III.2.2. Introducción.....	132
III.2.3. Resultados y discusión.....	134
III.2.3.1. Concentraciones de COPs en cetáceos varados en la Región de Murcia .....	134
III.2.3.2. Perfiles químicos de COPs en cetáceos varados en la Región de Murcia .....	141
III.2.3.3. Fuentes de variación: variación interespecífica.....	145
III.2.3.4. Fuentes de variación: variación intraespecífica.....	148
III.2.3.5. Evaluación del riesgo .....	151
III.2.4. Conclusión .....	154
<b>III.3. Compuestos orgánicos persistentes liposolubles no biomagnificables en cetáceos varados en el sureste español entre 2011 y 2018: HAPs .....</b>	<b>155</b>
III.3.1.a. Resumen.....	156
III.3.1.b. Abstract.....	157
III.3.2. Introducción.....	158
III.3.3. Resultados y discusión.....	160
III.3.3.1. Concentraciones de PAHs en cetáceos varados en la Región de Murcia .....	160
III.3.3.2. Perfiles de PAHs en cetáceos varados en las costas de la Región de Murcia.....	165
III.3.3.3. Implicaciones toxicológicas .....	168
III.3.4. Conclusión .....	171
<b>III.4. Compuestos orgánicos persistentes, no liposolubles y biomagnificables en cetáceos varados en el sureste español entre 2009 y 2018: PFASs .....</b>	<b>172</b>
III.4.1.a. Resumen.....	173
III.4.1.a. Abstract.....	174
III.4.2. Introducción.....	175
III.4.3. Resultados y discusión.....	176
III.4.3.1. Concentraciones de PFASs en cetáceos varados en la Región de Murcia .....	176
III.4.3.2. Perfiles de PFASs en cetáceos varados en la Región de Murcia.....	179
III.4.3.3. Fuentes de variación interespecíficas .....	182
III.4.3.4. Fuentes de variación intraespecíficas .....	184
III.4.3.5. Comparación global y análisis de riesgo preliminar .....	187
III.4.4. Conclusión .....	189
<b>IV. Discusión general .....</b>	<b>190</b>
IV.1. Concentraciones de contaminantes .....	191
IV.2. Variables intraespecíficas influentes en la concentración de contaminantes .....	195
IV.3. Cetáceos como bioindicadores de la contaminación marina y contextualización de los datos .....	196
IV.4. Interpretación toxicológica .....	198
IV.5. Utilidad de los varamientos y necesidad de las redes de varamientos .....	199
<b>V. Conclusiones.....</b>	<b>201</b>
<b>VI. Listado de referencias .....</b>	<b>206</b>
<b>VII. Extended abstract .....</b>	<b>250</b>



## Índice de acrónimos y siglas

- **e.c.** era común
- **a.e.c.** antes de la era común
- **CBI** Comisión Ballenera Internacional
- **WWF** *World Wide Fund for Nature* (Fondo Mundial para la Naturaleza)
- **UICN** Unión Internacional por la Conservación de la Naturaleza
- **p.h.** peso húmedo
- **p.s.** peso seco
- **p.l.** peso lipídico
- **COPs** compuestos orgánicos persistentes
- **DDT** dicloro difenil tricloroetano
- **PCBs** policlorobifenilos o bifenilos policlorados
- **FET** factor de equivalencia tóxica
- **EQT** Equivalentes tóxicos
- **PBDEs** polibromodifenil éteres o éteres de polibromodifenilo
- **HAPs** hidrocarburos aromáticos policíclicos
- **PFASs** Sustancias perfluoroalquiladas
- **PFCAs** ácidos perfluorocarboxílicos / Carboxilatos perfluorocarboxílicos
- **PFSAs** ácidos perfluorosulfónicos / Sulfonatos de perfluoroalcanos
- **PFASAs** sulfonamidas de perfluoroalcanos
- **PFOS** ácido perfluorosulfooctanoico / Sulfonato de perfluorooctano
- **PFOA** ácido perfluorooctanoico / Carboxilato de perfluorooctano
- **PFOSA** sulfonamida de perfluorooctano





## **I. Introducción y objetivos**



## I.1. Área de estudio: la costa mediterránea de la Región de Murcia

### I.1.1. El mar Mediterráneo: la idiosincrasia de un mar semicerrado

El nombre del mar Mediterráneo proviene del latín '*Mar Medi Terraneum*' que significa «Mar en Medio de las Tierras», tal y como se le conoce desde el siglo IV. Este mar ha sido una de las bases del origen y desarrollo de algunas de las civilizaciones más importantes y desarrolladas de diversas épocas, incluyendo el Antiguo Egipto, la Antigua Grecia, el Imperio Romano, el Imperio Otomano, y la Europa medieval, moderna y contemporánea; lo que le ha conferido un papel central en el desarrollo de la historia y la cultura de occidente y del mundo entero. El mar Mediterráneo mantuvo como el eje de la civilización occidental hasta los siglos XVII y XVIII, cuando este eje se trasladó al océano Atlántico. Sin embargo, en la actualidad se mantiene como uno de los mares económicamente más importantes del mundo y es un motor económico de los países rivereños, tanto por la extracción de sus recursos como por el turismo que genera no solo por sus costas, sino también por el clima que condiciona y la cultura que le rodea. Se estima que el mar Mediterráneo genera aproximadamente 450.000 millones de dólares anuales (Randone *et al.*, 2017) y ocupa, de manera directa o indirecta, a un porcentaje muy importante de la población de su cuenca. Por ejemplo, se estima que únicamente el sector pesquero en el Mediterráneo ocupa a 505.000 personas (Randone *et al.*, 2017).

#### I.1.1.1. Características físico-químicas: geografía, oceanografía, climatología y bioquímica

El mar Mediterráneo tal y como lo conocemos hoy se formó hace aproximadamente 5,4 millones de años, cuando tras un periodo de aislamiento del océano Atlántico que ocasionó la evaporación de la práctica totalidad del agua de su cuenca, se volvió a reabrir la conexión con el océano Atlántico. Es un mar continental cuya cuenca baña veinticuatro países repartidos en tres continentes: el sur de Europa; el norte de África y el oeste de Asia. A su vez, la cuenca del Mediterráneo se subdivide a su vez en la cuenca occidental, con una superficie de  $0,85 \cdot 10^6$  km<sup>2</sup> y la cuenca oriental, con  $1,65 \cdot 10^6$  km<sup>2</sup> separadas por el estrecho de Sicilia. Es el segundo mar semicerrado más extenso del planeta, solo por detrás del mar del Caribe, y el mayor de Europa, por delante del mar Báltico. Tiene una superficie de aproximadamente 2,5 millones de kilómetros cuadrados, representando el 0,8 % del total de la superficie oceánica a escala global. Tiene una profundidad media de 1.460 metros, lo que lo hace un mar relativamente profundo, alcanzando una profundidad máxima de 5.270 metros en la fosa de Calipso, en el mar Jónico. En su extremo occidental, el mar Mediterráneo está conectado al océano Atlántico norte a través del estrecho de Gibraltar, de 14 kilómetros de ancho y 320 metros de profundidad. En el extremo oriental está



naturalmente conectado en la cuenca norte del mar Egeo al mar Negro a través de los estrechos del Bósforo y los Dardanelos. Además, entre 1860 y 1870 se creó el canal de Suez, un canal artificial navegable que conecta el sur del extremo oriental del Mediterráneo con el golfo de Suez, en el mar Rojo.

Es un mar cálido, con una temperatura superficial con una amplia variabilidad estacional y con un gradiente creciente de norte a sur y de oeste a este. La temperatura superficial anual promedio oscila entre 16,6 y 22,3 °C en función del lugar, con una variación de más de 10 °C a lo largo del año. Se encuentra en latitudes templadas y tropicales y su nombre da lugar al clima mediterráneo, que se caracteriza por inviernos moderados, veranos secos y calurosos, y un periodo de lluvia concentrado generalmente en primavera.

Más de trescientos ríos vierten al Mediterráneo (Stanley, 1997) siendo los principales el Nilo (Egipto), el Rhône (Francia), el Po (Italia) y el Ebro (España). El mar Mediterráneo tiene un balance negativo de agua, de manera que el agua perdida por los procesos de evaporación supera en volumen a la entrada a través de los ríos y las precipitaciones, lo que condiciona la circulación de agua en su interior (Pinet, 2019). Se estima que, en caso de ausencia de agua entrante desde el océano Atlántico, el nivel de agua del Mediterráneo decrecería a un ritmo anual de 0,5-1 metros (Millot y Taupier-Letage, 2005). Este balance negativo es compensado mediante la entrada de agua del océano Atlántico. Debido a este proceso, la salinidad de las aguas del Mediterráneo se incrementa en sentido oriental. Conforme accede a la cuenca del Mediterráneo, el agua procedente del océano Atlántico se desplaza superficialmente en dirección este y adquiere las características propias del Mediterráneo (*i.e.*, mayor salinidad y densidad). Debido al efecto Coriolis, este agua recorrerá todo el mar Mediterráneo en sentido antihorario. Avanzará hacia el este como una corriente superficial a lo largo del borde meridional del talud continental y eventualmente volverá al océano por el borde septentrional, en este caso como una corriente de profundidad intermedia debido a su mayor densidad, por debajo de la nueva corriente superficial que entra desde el Atlántico, cerrando de esta manera el ciclo (Millot, 1999; Millot y Taupier-Letage, 2005). Estas dinámicas tienen implicaciones directas sobre la distribución de la biomasa en el mar Mediterráneo, y por tanto sobre la distribución de la vida y de los cetáceos que habitan sus aguas.

En cuanto a su bioquímica, el mar Mediterráneo se considera una región oligotrófica (*i.e.*, baja concentración de clorofila y nutrientes), con un gradiente de oligotrofia creciente hacia el oeste y las aguas pelágicas (Sournia, 1973; Uitz *et al.*, 2012). Esto se debe parcialmente a un hundimiento de masas de agua intermedias sobre el afloramiento de masas de agua profundas, lo que determina la acumulación de nutrientes en los fondos y su consiguiente escasez en aguas superficiales, donde podrían ser usados por el fitoplancton (Uitz *et al.*, 2012). Sin embargo, existen ciertas zonas localizadas de mayor productividad donde se dan mayores densidades de fitoplancton, ya sea



durante todo el año o tras un florecimiento primaveral o '*spring bloom*'. El primer caso ocurre en zonas donde se produce un afloramiento constante de nutrientes resultante de la combinación de las aguas profundas ascendentes con las aguas superficiales, mientras que en el segundo caso las causas incluyen tanto movimientos de masas de agua, dinámicas hidrológicas concretas o la entrada de nutrientes alógenos. Las áreas donde se dan estos fenómenos son esencialmente el golfo de León y el mar de Liguria junto al mar de Alborán y sus alrededores, desde el estrecho de Gibraltar hasta las costas de Murcia y Alicante (d'Ortenzio y d'Alcalà, 2009; Uitz *et al.*, 2012).

### *1.1.1.2. Biodiversidad y conservación*

A pesar de su oligotrofia y su relativa escasa extensión, se estima que el mar Mediterráneo aloja el 7 % de la biodiversidad del planeta (> 17.000 especies catalogadas), por lo que se considera uno de los focos de mayor biodiversidad a escala global (Coll *et al.*, 2012; Lejeusne *et al.*, 2010). Esta biodiversidad se organiza en un diverso número de ecosistemas, desde las praderas marinas costeras hasta las fosas del lecho marino. Por otro lado, el grado, la abundancia y la distribución de la biodiversidad en el Mediterráneo están condicionadas por la abundancia y distribución de los nutrientes, dando lugar a ciertas regiones o áreas localizadas con mayor biodiversidad y a otras áreas más "desérticas". Las condiciones físico-químicas más favorables de la cuenca occidental, especialmente en la vertiente norte, dan lugar a una mayor biodiversidad y concentración de especies en esta zona. Además, la biodiversidad del Mediterráneo tiene un alto grado de endemismo debido a las características particulares de esta región y su escasa comunicación con el resto de las aguas marinas mundiales (Coll *et al.*, 2010).

La biodiversidad del Mediterráneo es esencial para el mantenimiento y la subsistencia de las poblaciones humanas que habitan su cuenca. Sin embargo, este espacio natural es también uno de los más impactados globalmente debido a las crecientes amenazas que afectan a su biodiversidad (Costello *et al.*, 2010; Halpern *et al.*, 2008). Así, la incesante y creciente presión antrópica a la que se ha sometido el mar Mediterráneo en los últimos siglos y especialmente a partir de la segunda mitad del siglo XVIII ha dado lugar a una terrible crisis de conservación que ya está causando una importante pérdida de la biodiversidad (Benoit y Corneau, 2005). Además, el mar Mediterráneo está considerado a escala global como una de las regiones más sensibles a los efectos del cambio climático (Lejeusne *et al.*, 2010). Diversas estimaciones han demostrado un aumento exponencial de la temperatura de sus aguas desde finales del siglo XX, experimentando en las últimas décadas aumentos superiores a 1 °C las aguas superficiales (< 80 m) de diversas zonas, pero también en las aguas profundas, aunque de menor magnitud (Bethoux *et al.*, 1990; Rixen *et al.*, 2005; Vargas-Yanez *et al.*, 2008). Por ejemplo, datos de un periodo de 30 años (1974-2005) en la costa catalana (España) demostraron el calentamiento de las aguas en todo el





litoral, con un aumento de hasta 1,4 °C a una profundidad de 20 m (Vargas-Yanez *et al.*, 2008). Por otro lado, el litoral del Mediterráneo está intensamente urbanizado, especialmente en el noroeste, y tanto la costa sur como la costa oriental están experimentando un crecimiento exponencial de su población en las últimas décadas. Se estima que en su cuenca viven más de 300 millones de personas, con un incremento de 100 millones durante la época estival. Esta presión da lugar a numerosas amenazas para el ecosistema como la sobreexplotación de los recursos – según WWF (*World Wide Fund for Nature*) el 75 % de las pesquerías están sobreexplotadas – o la degradación y pérdida de hábitats. Por ejemplo, el área abarcada por praderas de posidonia *Posidonia oceánica* (Delie, 1813), un importante foco de biodiversidad que actúa como depósito de carbono y tampón frente a la acidificación del mar, ha disminuido un 34 % en los últimos 50 años (Hendricks *et al.*, 2014; Telasca *et al.*, 2015). Otros problemas de origen antropogénico y de gran magnitud incluyen la contaminación de las costas, las aguas y los fondos, la desaparición de especies y poblaciones endémicas y la introducción de especies invasoras (Coll *et al.*, 2010; Katsanevakis *et al.*, 2013; Pace *et al.*, 2015). De manera preocupante, se espera que estas presiones aumenten en las próximas décadas.

En las últimas décadas se ha desarrollado una conciencia creciente en torno a la protección del Mediterráneo que en muchas ocasiones se ha traducido en la creación de acuerdos, convenios, protocolos y leyes a nivel nacional e internacional que han tratado de conferir mayor protección a esta región. El mayor acuerdo internacional para la protección del mar Mediterráneo es el Convenio para la protección del mar Mediterráneo contra la contaminación, también conocido como el Convenio de Barcelona, desarrollado en 1976 y actualmente firmado por todos los estados con costa en el Mediterráneo. Este convenio sirvió como marco jurídico del Plan de Acción para la protección y el desarrollo de la cuenca del Mediterráneo (PAM), creado en 1975 en el marco del Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). Actualmente un 9,68 % de la superficie del Mediterráneo está organizada en más de 1.200 Áreas Marinas Protegidas (AMP), una figura de protección internacional y una herramienta clave en la protección de los mares y su biodiversidad. Sin embargo, esto no siempre es suficiente para lograr una conservación efectiva, y solo el 13,1 % de estas AMPs tiene un plan de manejo implementado.



### I.1.2. La costa de la Región de Murcia y el golfo de Vera: área de estudio

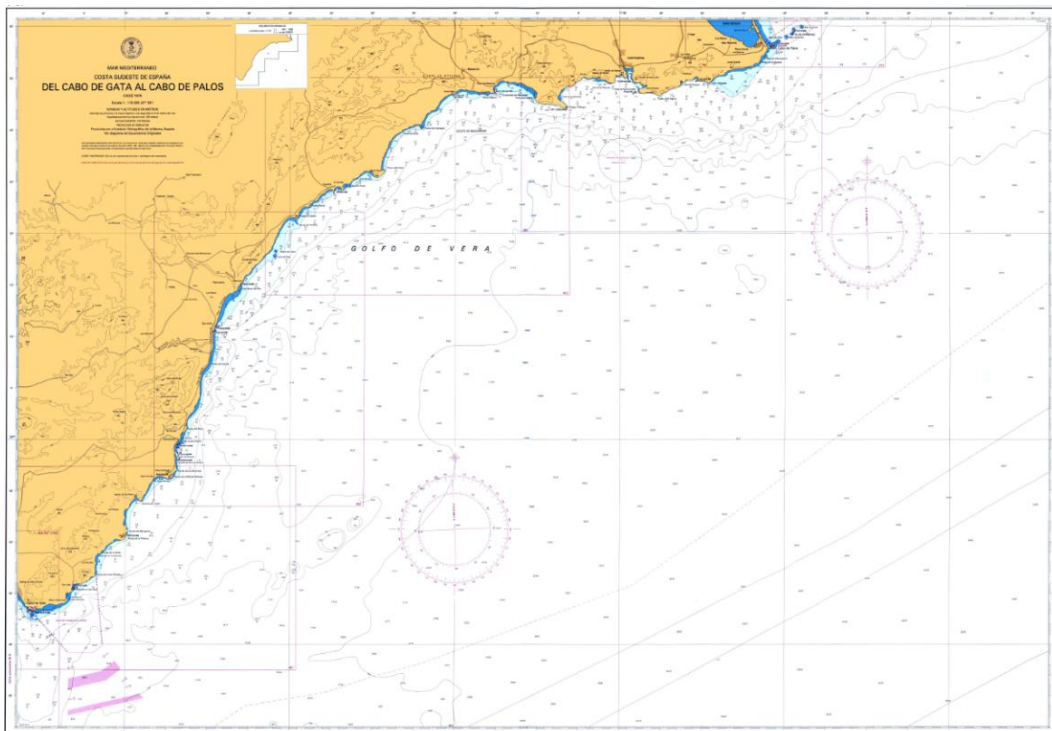
La costa de la Región de Murcia tiene 215 km que se extienden fundamentalmente a lo largo de la mitad oriental del golfo de Vera. Este litoral está relativamente poco urbanizado y tiene un mayor grado de conservación con respecto a otras costas de España. Tiene un entorno natural rico y variado, lo que ha llevado a la creación de numerosas figuras de protección de diferente jerarquía en torno a su litoral, sus aguas y sus islas e islotes (Tabla I.1.1). Sin embargo, esta zona ha sido paralelamente protagonista de diversas catástrofes medioambientales de gran importancia en la historia reciente (p. ej., los vertidos mineros en la Bahía de Portman en la segunda mitad del S. XX o la crisis actual de la laguna salada del Mar Menor).

**Tabla I.1.1.** Figuras de protección de las diferentes áreas del litoral de la Región de Murcia y sus aguas adyacentes.

Marco jurídico	Figura	Área
Ley 4/92	Parque Regional	Calblanque, Monte de las Cenizas y Peña del Águila Calnegre y Cabo Cope
Ley 3/2001	Reserva Marina de Interés Pesquero	Cabo Tiñoso Cabo de Palos e Islas hormigas
Directiva 92/43/CEE (Habitat) – Red Natura 2000	Zona de Especial Conservación (ZEC)	Salinas y arenales de San Pedro del Pinatar (ES0000175)
		Mar Menor (ES6200030)
		Espacios abiertos e islas del Mar Menor (ES6200013)
		Franja litoral sumergida de la R. de Murcia (ES6200029)
		Islas e islotes del litoral mediterráneo (ES6200007)
		Valles sumergidos del escarpe de Mazarrón (ES6200048)
		Calnegre (ES6200012)
		Cabo Cope (ES6200031)
Directiva 2009/147/CE (Aves) – Red Natura 2000	Zona de Especial Protección para las Aves (ZEPA)	Salinas y arenales de San Pedro del Pinatar (ES0000175)
		Mar Menor (ES6200030)
		Isla Grosa (ES00002000)
		Islas Hormigas (ES0000256)
		Isla Cueva de Lobos (ES0000270)
		Isla de las Palomas (ES0000271)
		Almenara-Morenas-Cabo Cope (ES0000261)
		Islotes litorales de Murcia y Alicante (ES0000507)
Convenio de Barcelona, Protocolo SPA	Zona Especialmente Protegida de Importancia para el Mediterráneo (ZEPIM)	Área del Mar Menor y zona oriental mediterránea de la costa de la Región de Murcia (ZEPIM0004)



El golfo de Vera ([Figura I.1.1](#)) es, junto con la zona adyacente comprendida entre cabo de Palos y el cabo de la Nao (litoral de la provincia de Alicante), la región del litoral Mediterráneo español más desconocida, probablemente por su escasa definición geográfica, en contraste con el mar de Alborán (al oeste) y el mar Balear (al norte), y por el limitado peso político y económico de las provincias de este litoral a nivel nacional. Geográficamente el golfo de Vera está delimitado hacia el oeste por el cabo de Gata y hacia el este por el cabo de Palos, y dibuja una parte importante de la costa sureste de la península ibérica. Administrativamente, la mitad norte de su costa pertenece a la Provincia de Murcia, mientras que la mitad sur pertenece a la Provincia de Almería. Su batimetría se caracteriza por una plataforma continental estrecha, especialmente hacia el este, muy inclinada e irregular, y un talud continental igualmente estrecho (~ 10 km) y de pendiente también pronunciada, que es rápidamente sustituido por una topografía irregular salpicada por cañones submarinos profundos y diversos puntos de dorsales y montes submarinos. En la zona existen multitud de hábitats diferentes como arrecifes o praderas de posidonia, además de los ya mencionados cañones submarinos, que dan cobijo a un sinfín de especies diferentes de peces e invertebrados marinos, pero también a aves, tortugas marinas y cetáceos. Algunos accidentes geográficos submarinos de importancia ecológica son el Seco de Palos, el Cañón de Tiñoso o el Escarpe de Mazarrón.



**Figura I.1.1.** Golfo de Vera representado en la sección cabo de Gata – cabo de Palos de la carta náutica A46 del Instituto Hidrográfico de la Marina, España. Cádiz, 1979.



Por su cercanía al estrecho de Gibraltar, las aguas del golfo de Vera aún reciben cierta influencia de las aguas que entran desde el Atlántico norte, aunque su efecto es limitado ya que la mayor parte de las aguas atlánticas que pasan por el mar de Alborán se dirigen hacia la costa de Argelia, en el norte de África, siguiendo la dinámica antihoraria de las corrientes del Mediterráneo (Millot, 1985; Tintoré *et al.*, 1988). Sin embargo, esta influencia es suficiente para que sus aguas aún no tengan características completas del agua del Mediterráneo. Estas aguas se enmarcan en el régimen estacional de temperaturas físicas del Mediterráneo, con una homotermia fría en invierno y termoclina en verano. En verano, las aguas superficiales sobrepasan los 25 °C, mientras que en invierno la temperatura disminuye por debajo de los 14 °C. Las aguas profundas (> 100 m), en cambio, se mantienen a unos constantes 13 – 14 °C. Debido a la influencia atlántica, las aguas tienen unos valores de salinidad inferiores a las típicas del Mediterráneo, especialmente en primavera y otoño, y los niveles de nitratos y fosfatos son generalmente más altos que en otras zonas del Mediterráneo. Además, a pesar de que las causas son aún incomprendidas y de que su magnitud es menor que en el mar de Alborán, esta zona se incluye entre las escasas áreas localizadas del Mediterráneo donde existe una mayor densidad de nutrientes y clorofila, fundamentalmente de carácter estacional, alejándose así de la oligotrofia característica de la mayor parte de esta región (d'Ortenzio y d'Alcalà, 2009; Uitz *et al.*, 2012). Este fenómeno resulta esencial para la aparición y abundancia de numerosas especies, incluidos los cetáceos.

Las actividades económicas predominantes en el golfo de Vera y en el resto de la costa de la Provincia de Murcia son el sector primario y el turismo, este último concentrado en ciertas áreas localizadas y con un marcado carácter estival. La actividad agrícola tiene un valor económico esencial y, a diferencia del turismo, se reparte a lo largo de todo el litoral, aunque destacan dos núcleos de especial concentración, uno en el Campo de Cartagena y otro en los alrededores de cabo de Gata. También existe una actividad ganadera significativa, especialmente de porcino, aunque esta suele situarse más lejos de la costa y, aunque se encuentra repartida por todo el territorio, existe un gradiente de concentración creciente en torno a los grandes núcleos del sector porcino como Lorca o Alhama de Murcia. El sector acuícola y pesquero, por su lado, tiene una importancia desigual a lo largo del litoral, aunque en las últimas décadas la Región de Murcia está experimentando un gran desarrollo de la acuicultura, fundamentalmente con granjas piscícolas en mar abierto de lubina *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), dorada *Sparus aurata* (Linnaeus, 1758) y atún rojo *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758). La actividad industrial, en cambio, es limitada, y se concentra fundamentalmente en torno al valle de Escombreras, en Cartagena. Esta zona se vertebraba en torno al puerto industrial de Cartagena, el único de todo el golfo de Vera, y concentra empresas químicas y de producción energética de gran calibre entre las que destacan una de las refinerías de petróleo más importantes del país y la central térmica de Escombreras, a las que se unen empresas productoras de lubricantes, fertilizantes, *etc.* De manera



similar, el único enclave urbano importante (> 40.000 habitantes) en toda la zona es la ciudad Cartagena, con una población ligeramente superior a los 200.000 habitantes que se mantiene durante todo el año, aunque ya fuera del área del golfo de Vera encontramos la ciudad de Almería hacia el oeste y la ciudad de Alicante hacia el noroeste. Además, existen ciertas zonas turísticas que congregan importantes volúmenes de población durante la época estival, como la Manga del Mar Menor, los alrededores del puerto de Mazarrón o el litoral de Águilas, en la Región de Murcia, y las zonas de Mojácar, Carboneras y la cara oeste del cabo de Gata, en la Provincia de Almería.



## I.2. Especies de estudio: Cetáceos

### I.2.1. Generalidades

Los mamíferos marinos conforman un grupo parafilético de mamíferos caracterizados por su dependencia del mar. Algunos de ellos desarrollan la totalidad de sus vidas en el medio marino, mientras que otros no se han desligado completamente del medio terrestre. En función de su grado de dependencia del medio marino, las especies incluidas en este grupo han desarrollado diversas adaptaciones y mecanismos que permiten y facilitan su desenvolvimiento en este medio. Los cetáceos (suborden Cetacea) y los sirénidos (orden Sirenia) son las únicas especies que se han independizado completamente del medio terrestre y se alimentan, aparean y reproducen en el medio marino, lo que los ha llevado a desarrollar las adaptaciones más extremas a este medio. Los pinnípedos (superfamilia Pinnipedia), en cambio, aún desarrollan una parte de su vida en la tierra (o el hielo), ya que, aunque se alimentan exclusivamente en el mar, necesitan la tierra para descansar, reproducirse y amantar a sus crías. Finalmente, el oso polar *Ursus maritimus* (Phipps, 1774), el chungungo *Lontra felina* (Molina, 1782) y la nutria marina *Enhydra lutris* (Linnaeus, 1758) están completamente adaptados a la vida en tierra, lo que lleva a algunos autores a excluirlos de este grupo; sin embargo, su dependencia del medio marino para alimentarse permite encasillarlos en él.

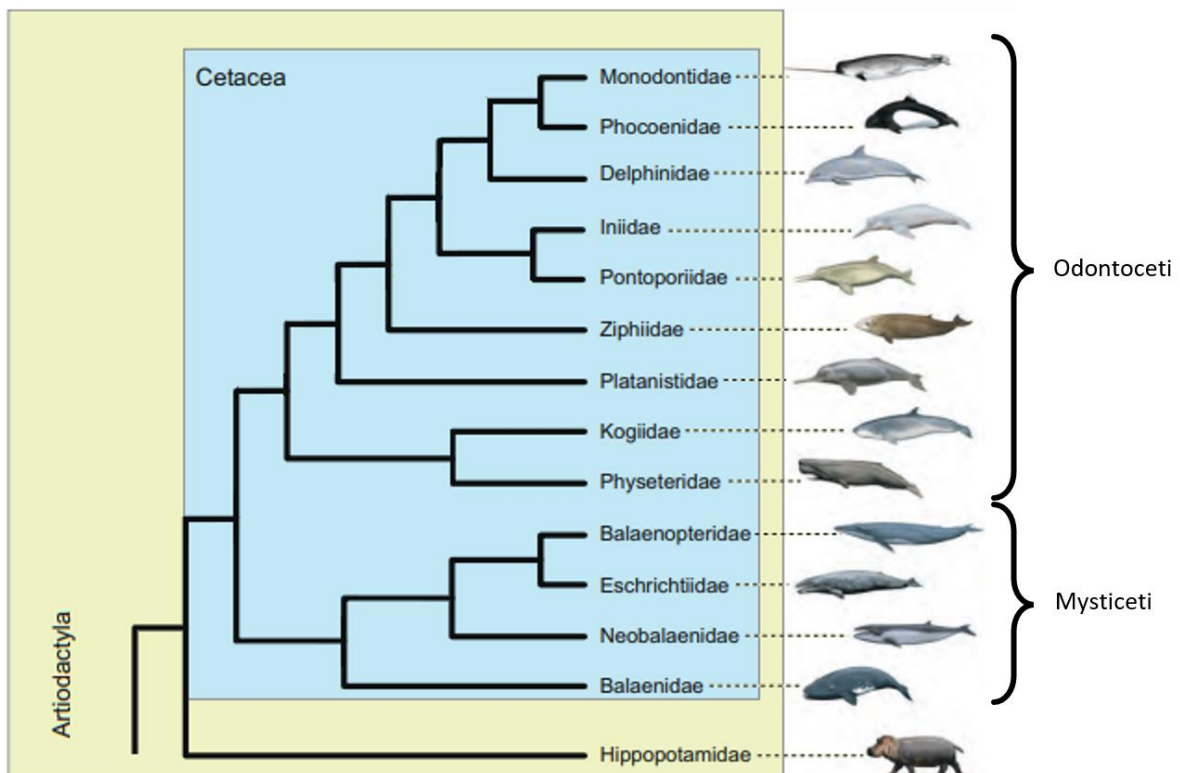
Entre todos ellos, los cetáceos son el grupo que incluye el mayor número de especies. El nombre de este grupo proviene del griego ‘*ketos*’, que significa ballena o monstruo marino. Este orden de mamíferos marinos está distribuido por todos los mares y océanos e incluye algunas de las especies animales más cosmopolitas del planeta. Los cetáceos han sido objeto de admiración – o temor – por parte de la humanidad desde tiempos inmemoriales, formando parte de innumerables mitos y leyendas. Pruebas de esta admiración provienen de la representación temprana de estos animales en el arte paleolítico o en el propio uso de sus partes corporales con fines artísticos (*i.e.*, grabados en huesos y colmillos; [Pigeaud, 2017](#)). En la actualidad, los cetáceos son considerados como especies emblemáticas con una gran capacidad para despertar interés y preocupación en la sociedad, lo que viene acompañado de un interés político notorio. Tienen un valor socio-cultural importante para la mayoría de la sociedad; sin embargo, en muchos casos el conocimiento que la población tiene de estas especies está envuelto en misticismo y no existe una conciencia de compartir el entorno cercano con ellas, percibiéndose como especies exóticas. Por ello no solo la investigación sino la divulgación sobre estas especies y su entorno resulta esencial para su conservación.



### 1.2.1.1. Filogenia y taxonomía

Debido a su morfología particular y externamente similar al de los peces, en el pasado se incluía a los cetáceos dentro de este grupo. Por ejemplo, en las primeras ediciones de la obra *Systema Naturae* (1735), Lineo los clasificó de esta manera. Con el tiempo y gracias a los hallazgos de mayor evidencia fósil y al desarrollo primero de las técnicas morfológicas y posteriormente de las técnicas moleculares, se ha ido esclareciendo la filogenia y la historia evolutiva de este grupo de mamíferos marinos. Actualmente se reconoce su pertenencia al orden Artiodactyla (Geisler, 2007; O'Leary *et al.*, 2004) y la hipótesis más aceptada los emparenta estrechamente con los hipopótamos modernos (familia Hippopotamidae), a los que se considera sus parientes vivos más cercanos, de los que divergieron hace aproximadamente 55 millones de años (Gatesy *et al.*, 1996, 1997; Geisler, 2003).

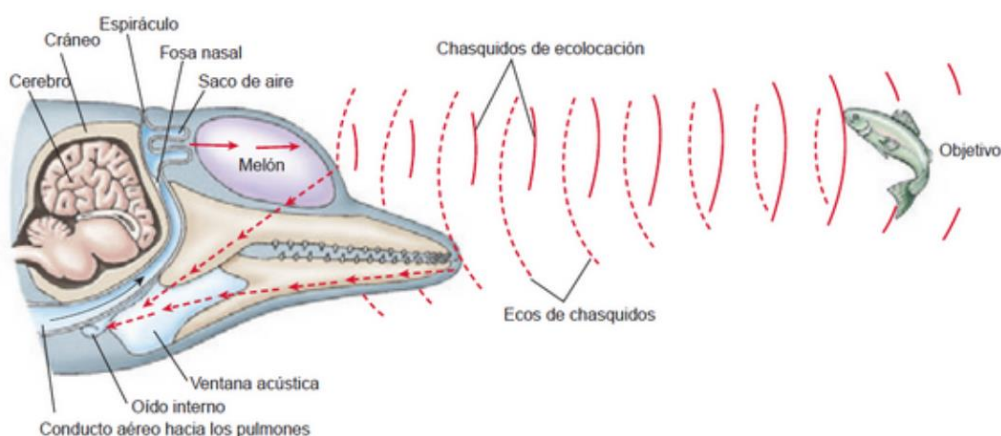
Los cetáceos son un grupo monofilético de mamíferos placentarios dividido en dos grandes ramas (también monofiléticas): los misticetos o ballenas barbadas (infraorden Mysticeti) y los odontocetos o cetáceos dentados (infraorden Odontoceti). La siguiente figura (Figura 1.2.1) muestra la separación de estos dos infraórdenes así como de las familias que componen cada uno de ellos:



**Figura 1.2.1.** Cladograma de Cetacea mostrando las familias que la componen y su división en los dos grandes subgrupos Mysticeti y Odontoceti. Imagen creada por Carl Buell para Gatesy *et al.*, 2013 y modificada para este trabajo.



En base al registro fósil y diversas técnicas moleculares, se estima que estos grupos divergieron durante el Eoceno, hace aproximadamente 35 millones de años (Árnason *et al.*, 2004; Barnes *et al.*, 1985). Los misticetos se subdividen en cuatro familias diferentes que incluyen aquellos animales coloquialmente llamados ballenas, aunque técnicamente incluyen tanto a las ballenas como a los rorcuales. La principal característica que define a este grupo es la ausencia de dientes, que son sustituidos por las barbas, unas placas de queratina dispuestas en lámina y sujetas en el maxilar superior que permiten su alimentación mediante filtración. Otras características distintivas son la presencia de un espiráculo doble y su gran tamaño (entre 6 m y 3 t la más pequeña y hasta 30 m y 180 t la más grande). Los odontocetos, por el contrario, son un grupo más diverso que incluye nueve familias diferentes y una mayor variedad morfológica. Su característica principal y la que da nombre al grupo es la presencia de dientes, al menos en alguna etapa de su vida, de forma cónica que utilizan para cazar activamente gracias a su sentido de ecolocalización. Dicho sentido se basa en la emisión de sonidos generados en las estructuras respiratorias superiores que son orientados y modulados por un órgano graso situado en el cráneo llamado melón. Los sonidos emitidos rebotan contra los elementos que encuentran a su paso (p. ej., presas y la orografía marina) y son transportados al oído interno mediante un canal óseo en la mandíbula para ser posteriormente interpretados en el cerebro (Figura I.2.2). Otras características que los diferencian de los misticetos son la presencia de un único espiráculo, una asimetría craneal y un menor tamaño en la mayoría de las especies (1,4 m, 54 kg – 20 m, 55 t). Además, algunas de las especies incluidas en este grupo y especialmente aquellas de la familia Delphinidae son consideradas de los animales más inteligentes del planeta, siendo capaces de desarrollar comportamientos y estructuras sociales complejas.



**Figura I.2.2.** Esquema general del proceso de ecolocalización de un odontoceto. Extraído de Castro y Huber, 2007.





### 1.2.1.2. Características y adaptaciones morfológicas y fisiológicas

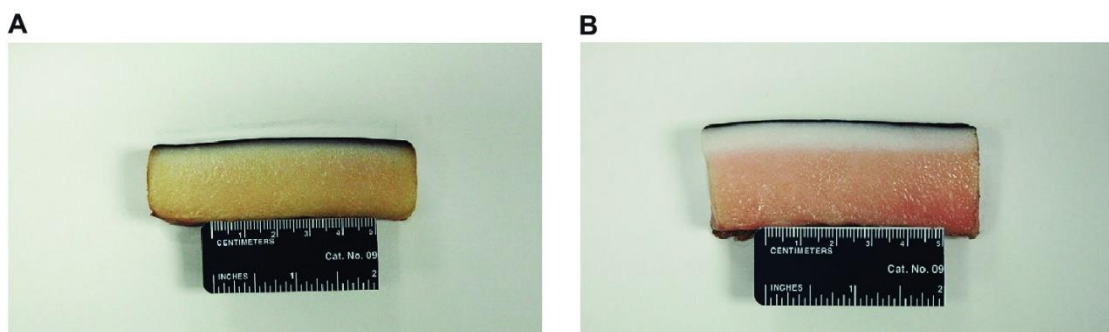
Los cetáceos tienen una serie de características distintivas que los hacen especialmente particulares con respecto a otros mamíferos. Suelen ser animales de gran tamaño y entre ellos se encuentra el animal más grande que haya habitado la Tierra del que se tiene registro, la ballena azul *Balaenoptera musculus* (Linnaeus, 1758), cuyos ejemplares pueden llegar a superar los 30 metros y las 180 toneladas. Por el contrario, la especie de menor tamaño es la vaquita marina *Phocoena sinus* (Norris y McFarland, 1958), con un tamaño promedio de 1,5 metros y 45 kilogramos. Además, están ampliamente distribuidos por todos los mares y océanos del globo, con el caso extremo de algunas especies completamente cosmopolitas, como la orca *Orcinus orca* (Linnaeus, 1758), la cual, después del ser humano, es el animal más extendido del planeta. Por otro lado, todos los cetáceos son depredadores y se encuentran generalmente en la cima de las redes tróficas de aquellas regiones que habitan, siendo raramente presas de otras especies. Mientras que los mysticetos generalmente se alimentan de organismos planctónicos o pequeños peces a los que cazan en grupo, los odontocetos se alimentan de presas individuales de mayor tamaño y tienen una dieta más variada, incluyendo peces, cefalópodos, crustáceos e incluso mamíferos marinos. Generalmente se caracterizan por tener vidas largas, con una vida media relativamente variable entre diferentes especies, entre 30 y 70 años para los odontocetos y entre 50 y 100 años para los mysticetos, siendo la ballena de Groenlandia *Balaena mysticetus* (Linnaeus, 1758) la especie más longeva, con individuos superando los 150 o incluso los 200 años (Seim *et al.*, 2014). Sus periodos de gestación suelen ser largos, dando lugar a una única cría por parto, de gran tamaño en comparación a otros mamíferos, que generalmente alcanzará la madurez sexual tras un periodo de tiempo prolongado durante el cual se mantendrá con su madre. Lo más habitual es que los ciclos biológicos tengan una duración de dos años. Generalmente la madre es la encargada de la crianza, aunque en algunas especies esta tarea se reparte entre todo el grupo familiar. En la mayoría de especies se da un dimorfismo sexual que no suele ser excesivamente acusado, siendo los machos generalmente de mayor tamaño en el caso de los odontocetos, y de menor tamaño en el caso de los mysticetos. La mayoría de especies son gregarias, aunque es común que los machos adultos se separen de los grupos y vaguen solos o en grupos con otros machos y solo se reúnan con las hembras para el apareamiento.

Los cetáceos poseen numerosas adaptaciones que han ido desarrollando a lo largo de su historia evolutiva para adaptarse a la vida marina, siendo algunas de las más conocidas:

- Cuerpo fusiforme e hidrodinámico adaptado al desplazamiento en el medio marino.
- Piel carente de pelo y glándulas sebáceas, con una hipodermis hiperdesarrollada (*'blubber'* en inglés; [Figura 1.2.3](#)) compuesta mayormente por lípidos y tejido conectivo, que tiene las funciones de reservorio energético, aislamiento térmico y control de la flotabilidad.



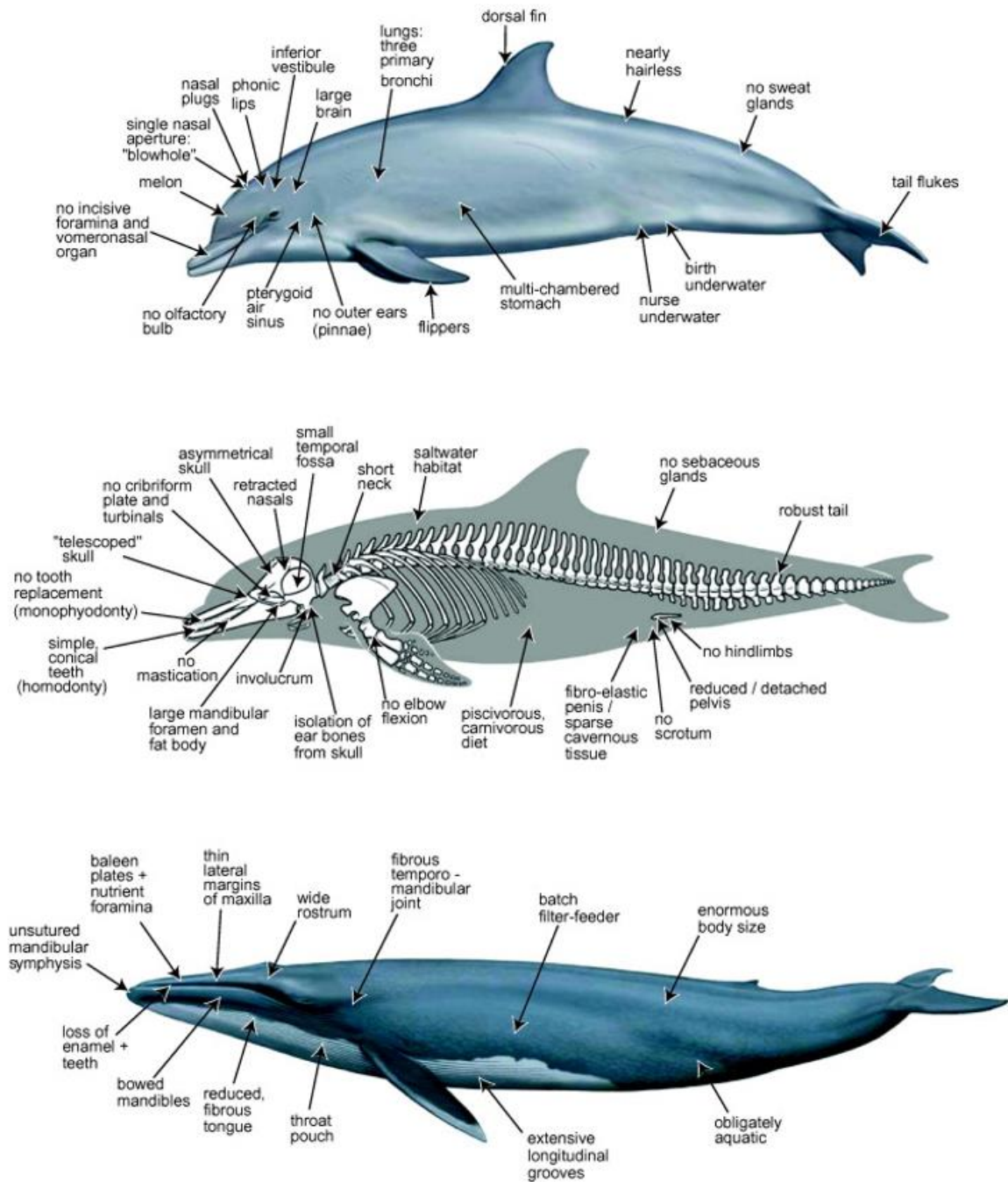
- Desplazamiento de las narinas a la región dorsal del cráneo para facilitar la respiración durante el nado, constituyendo el espiráculo (simple en odontocetos y doble en misticetos), que cuenta con mecanismos que impiden la entrada de agua durante la inmersión.
- En los misticetos, desaparición de la dentición y desarrollo de barbas queratinosas que permiten la alimentación mediante filtración.
- Aletas pectorales soportadas por una estructura ósea homóloga a la existente en las extremidades anteriores de otros mamíferos marinos, con la función de proporcionar estabilidad durante los desplazamientos y permitir los movimientos laterales.
- Ausencia de extremidades traseras, cuya estructura ancestral ha quedado representada por alguna estructura ósea vestigial de pequeño tamaño.
- Aleta caudal horizontal y bilobulada y aleta dorsal, ambas de tejido conectivo, que permiten respectivamente la propulsión y la estabilidad durante el desplazamiento.
- Ausencia de pabellones auriculares y sentido del oído especializado para diferentes funciones en odontocetos (ecolocalización mediante sonidos a alta frecuencia) y en misticetos (comunicación a largas distancias mediante sonidos de muy baja frecuencia).
- En odontocetos, desarrollo encefálico y de la corteza cerebral similares en ciertos aspectos con los de primates y humanos, que da lugar a un desarrollo cognitivo elevado y comportamientos complejos (Marino *et al.*, 2007; Wursic, 2008).
- Adaptaciones del sistema circulatorio (p. ej., disminución de la frecuencia cardiaca durante el buceo, o alta concentración de hemoglobina en sangre y de mioglobina en músculo) que permiten inmersiones largas y/o profundas.
- Adaptaciones del sistema excretor para lidiar con un medio hiperosmótico.
- En los machos, testículos interiorizados en la cavidad abdominal y pene retráctil completamente oculto en un bolsillo genital.
- En las hembras, vagina oculta junto al ano en el interior de un bolsillo genital y glándulas mamarias retraídas en unas hendiduras mamarias.



**Figura 1.2.3.** Fotografía de una muestra tegumentaria de A) calderón tropical *Globicephala macrorhynchus* y B) cachalote pigmeo *Kogia breviceps*, mostrando el gran desarrollo del tejido graso hipodérmico. Extraído de Bagge *et al.*, 2012.



La siguiente figura (Figura I.2.4) representa gráficamente algunas de estas adaptaciones:



**Figura I.2.4.** Representación del modelo corporal básico de los dos grandes subgrupos Mysticeti (representado por la ballena azul *Balaenoptera musculus*) y Odontoceti (representado por delfín mular *Tursiops truncatus*). Imagen creada por Carl Buell para [Gatesy et al., 2013](#).



### *1.2.1.3. La cetología: valor y métodos de estudio*

Las primeras observaciones con un enfoque naturalista registradas sobre los cetáceos provienen de Aristóteles (384-322 a.e.c.) en su obra *Historia Animalium*, y posteriormente de Plinio el Viejo (24-79 e.c.) en su obra *Naturalis Historia* (Libro IX). Sin embargo y a pesar de numerosos informes científicos que derivaron de diversas expediciones naturalistas realizadas a partir del S. XIII, aún en el S. XVI la imagen y el saber que se tenía de los cetáceos amalgamaba los conocimientos científicos de la época y el misticismo que rodeaba a los “monstruos marinos”, tal y como se refleja en las ilustraciones (Figura I.2.5) de las obras *Historia Animalium* (volumen 4) y *Nomenclator Aquatiliu Animantium* escritas y publicadas por Conrad Gessner en 1558 y 1560 respectivamente. En la actualidad la cetología, que es el nombre que se le da al ámbito científico que estudia los cetáceos, es una ciencia bien asentada, gracias al impulso que paradójicamente le proporcionó la decadencia las poblaciones de cetáceos y el reconocimiento de la necesidad de aplicar para su conservación que trajo consigo la caza insostenible de estas especies hasta mediados del S. XX (Boyd, 1993).



**Figura I.2.5.** Representación de una ballena en el volumen IV de la obra *Historia animalium* escrito y publicado por *Conrad von Gessner* en 1558. La imagen muestra la imagen que tenía de los cetáceos la sociedad de aquella época.

Los cetáceos representan un componente esencial de la biodiversidad marina. Sin embargo, además del valor intrínseco que tiene el avance en el conocimiento de la biología y la ecología de cualquier grupo taxonómico, su estudio también es importante desde el punto de vista sociocultural, ecológico, e incluso económico. Los cetáceos son especies emblemáticas, con una gran capacidad para despertar interés y preocupación en la sociedad. Desde hace varias décadas se ha venido creando una conciencia social creciente con respecto a estas especies que ha llevado a un especial énfasis en su conservación y bienestar por parte de la sociedad. Esto se ha plasmado en diversos esfuerzos por parte tanto de organizaciones no gubernamentales como la Comisión Ballenera Internacional (CBI), la WWF o la Unión Internacional por la Conservación de la Naturaleza (UICN), pero también de las administraciones públicas. Son agentes esenciales en el mantenimiento de la salud y la integridad de los ecosistemas marinos por su posición en la cima



de las redes tróficas como superdepredadores y grandes consumidores de biomasa, pero también por su participación en los ciclos biogeoquímicos oceánicos mediante la captura de carbono o la redistribución de nutrientes y minerales, especialmente en el caso de las grandes ballenas (Pershing *et al.*, 2010; Roman *et al.*, 2014; Springer *et al.*, 2003). Esto se traduce en un valor económico indirecto incalculable en tanto que son esenciales para el mantenimiento de la biodiversidad marina, incluyendo los recursos pesqueros, y del buen estado ambiental de los océanos. Debido a su rol ecológico y a que sus parámetros demográficos han sido identificados como buenos indicadores de las alteraciones ambientales por ser directa e indirectamente afectados por ellos, los cetáceos han sido utilizados como especies centinela o indicadoras del estado de salud general de los ecosistemas marinos y del cambio climático (Azellino *et al.*, 2014; Moore, 2008; Pace *et al.*, 2015). De manera más específica, ciertas características intrínsecas que serán explicadas más adelante los han llevado a ser considerados como especies bioindicadoras de la contaminación marina (Bossart, 2011; Durante *et al.*, 2020; Ross *et al.*, 2000; Wells *et al.*, 2004; Wise *et al.*, 2009), de manera similar al uso que se le da a las rapaces en los ecosistemas terrestres (Espín *et al.*, 2016).

No obstante, el estudio de los cetáceos es particularmente complejo por razones de conservación, técnicas y éticas. Su gran tamaño y su dependencia mixta tanto del medio marino como del oxígeno atmosférico hacen difícil y costoso su mantenimiento en cautividad para experimentación, siendo en ocasiones directamente imposible con la tecnología actual. Además, sus poblaciones frecuentemente amenazadas y poco numerosas, unido a su gran desarrollo cognitivo hacen cuestionable desde un punto de vista ético su caza, confinamiento o la aplicación de técnicas invasivas en estas especies. Debido a estas problemáticas, desde hace mucho tiempo se han venido utilizando y desarrollando numerosas técnicas y enfoques que han permitido el estudio ético de estas especies.

A la hora de estudiar individuos vivos, solo existen dos opciones, i) el seguimiento/muestreo de individuos en libertad o ii) la utilización de aquellos individuos mantenidos en cautiverio por razones científicas, ecológicas (animales en recuperación/rehabilitación), de ocio (acuarios) o incluso militares. Con respecto a los primeros, la observación, el seguimiento y la fotoidentificación de cetáceos en libertad, son actividades que permiten obtener información extremadamente útil como la distribución, la abundancia y el comportamiento con el mínimo contacto con los animales. Aprovechando los encuentros con los cetáceos en libertad, existen algunas técnicas poco invasivas que permiten obtener información de gran valor científico imposible de la otra manera, siendo la más utilizada los dardos de biopsias para obtener muestras de piel y tejido subcutáneo para estudios genéticos, histológicos o toxicológicos; y la fijación de transmisores y sondas subdérmicos que permiten recoger información sobre el desplazamiento y el comportamiento de buceo de estos individuos (Basu *et al.*, 2006; Fossi *et al.*, 1997; Fossi y



Marsili, 1997). En cuanto a los animales en cautiverio, estos han resultado esenciales para comprender ciertos aspectos de la biología, la fisiología o el comportamiento de algunas especies, que de otra manera habría sido imposibles y excesivamente costoso de conseguir. Los animales estudiados en estas condiciones no tienen necesariamente que encontrarse cautivos con fines científicos, algo que está muy limitado por diversas consideraciones legales y éticas. A pesar de que en el pasado existían menos limitaciones para el cautiverio con fines científicos, en la actualidad las limitaciones técnicas, éticas y legales hacen que en muchas ocasiones se aprovechen aquellos animales que están cautivos por otras razones como aquellos mantenidos en instalaciones para su rehabilitación y reintroducción en el medio natural, aquellos cautivos con fines de ocio en acuarios y parques zoológicos, o incluso aquellos cautivos con fines militares (Bernardeschi *et al.*, 2010; Levin *et al.*, 2004; Reddy *et al.*, 2001). No obstante, cuando se utiliza esta fuente de estudio debe tenerse en cuenta que el cautiverio y sus implicaciones da lugar a alteraciones por ejemplo en el comportamiento o la fisiología de los animales que puede hacer difícil la transferencia de este conocimiento a aquellos individuos en libertad.

Sin embargo, existen ciertos ámbitos científicos, como la anatomía, la fisiológica o la toxicología, en los que en muchos casos es indispensable disponer de cadáveres. Las necropsias y las técnicas anatómo-patológicas han sido la mayor fuente de información sobre estos animales hasta la actualidad. Durante los últimos siglos, los animales cazados eran la principal fuente de cadáveres para estudios científicos, de manera que hasta mediados del siglo pasado entre el 40-45% de los estudios en mamíferos marinos se realizaban sobre individuos cazados o sacrificados (Fossi y Marsili, 1997). En la actualidad este método solo es utilizado en casos muy concretos como en aquellos animales procedentes de la caza de subsistencia (p. ej., inuit del círculo polar ártico; Sonne *et al.*, 2005) o tradicional (p. ej., matanza de las islas Feroe; Bossi *et al.*, 2005b; Dassuncao *et al.*, 2017), o en ciertas regiones muy concretas donde la caza comercial sigue siendo permitida. En el resto de regiones del planeta, los cadáveres de cetáceos utilizados con fines científicos proceden únicamente de los varamientos y, en menor medida, de la captura accidental o *bycatch* durante las actividades pesqueras, aunque esto solo tiene un impacto significativo en regiones pesqueras con presencia de especies de cetáceo de pequeño tamaño con poblaciones abundantes, como la marsopa común *Phocoena phocoena* (Linnaeus, 1758) en el mar Báltico (Berggren *et al.*, 1999; Galatius *et al.*, 2013). El carácter arbitrario y circunstancial de estos fenómenos ha impulsado el desarrollo de métodos que intentan sustituir parcialmente alguna de la información obtenida de estas vías. Por ejemplo, algunos enfoques relativamente novedosos incluyen el desarrollo de líneas celulares (p. ej., fibroblastos) o el muestreo de los exudados de los soplos mediante drones aéreos están volviéndose más comunes cada día (Apprill *et al.*, 2011; Boroda *et al.*, 2017; Burkard *et al.*, 2015; Centelleghé *et al.*, 2020; Marsili *et al.*, 2014; Rajput *et al.*, 2018).



#### *1.2.1.4. Los varamientos como fuente de información esencial en la cetología*

Un varamiento consiste en la llegada a tierra firme de un individuo, muerto o vivo. Las causas que dan lugar a este suceso pueden ser variadas y tener un origen natural – p. ej., un animal enfermo – o antropogénica – p. ej., la desorientación causada por la contaminación acústica derivada de una exploración petrolífera –. Sin embargo, lo más habitual es que las causas de los varamientos no se esclarezcan y que los hallazgos patológicos durante las necropsias y durante la investigación del caso no sean suficientes como para determinar la causa subyacente. Generalmente los cetáceos varados suelen ser encontrados muertos. Por ejemplo, en el Mediterráneo Español se estima que solo un 5.2 % de los cetáceos varan vivos (SEC, 2000a). Además, en el caso de aquellos individuos varados vivos, las probabilidades de su reinserción con éxito en el medio marino son extremadamente bajas debido a las dificultades intrínsecas en la asistencia y rehabilitación de este tipo de especies, la ausencia en muchos casos de instalaciones adecuadas y el mal estado de salud con el que suelen llegar a la costa. La mayor parte de los varamientos implican a un único individuo; sin embargo, en ocasiones se producen varamientos de decenas e incluso centenares de individuos. Las causas de estos varamientos no han llegado a ser esclarecidas, aunque se ha hipotetizado su relación con una desorientación de todo el grupo o de los individuos dominantes a causa de estímulos sonoros intensos como los emitidos durante ciertas maniobras militares (Geraci *et al.*, 2005).

A pesar de su carácter arbitrario, los varamientos son una fuente de información extremadamente valiosa e insustituible en multitud de campos. Por ejemplo, los varamientos de cetáceos han resultado esenciales en la comprensión de su anatomía, su dieta o su fisiología reproductiva, pero también en la epidemiología y la patología de diversas enfermedades que les afectan (p. ej., epidemia de morbilivirus en el Mediterráneo entre 1997 y 1998) o de las fuentes, la exposición y los efectos de los contaminantes ambientales en estas especies. En varias ocasiones, además, los varamientos ha sido la única fuente de información que se ha tenido de ciertas especies de cetáceo, cuya existencia ha sido incluso demostrada gracias a este fenómeno. Por lo tanto, la información obtenida a partir de los varamientos resulta esencial en muchos casos para la conservación de los cetáceos. Aunque existen otras vías en la obtención de cadáveres y muestras orgánicas de cetáceos, estas están acotadas a ciertas especies y regiones concretas, mientras que los varamientos, en cambio, son un fenómeno global que afecta en mayor o menor medida a todas las especies de cetáceos en todas las regiones del mundo. Como contrapartida, cuando se utilizan muestras obtenidas de varamientos, debe tenerse en cuenta que los animales varados pueden proporcionar una información en algunos casos sesgada, ya que los animales que varan en muchas ocasiones son aquellos con algún problema de salud, de manera que no tienen por qué representar al resto de la población.



La gestión y el manejo de los cetáceos varados en los países desarrollados suele estar a cargo de una red de varamientos. Estas redes de varamiento cuentan con el triple objetivo de i) asistir y rehabilitar a los cetáceos vivos para su reintroducción en el medio marino, ii) aprovechar la información que se pueda extraer de estos sucesos, especialmente los muertos, iii) retirar de la costa los cadáveres de cetáceos, que suponen un peligro biológico para las personas y la fauna. Por su interés público, las redes de varamiento suelen estar gestionadas o coordinadas por entidades públicas. En el Mediterráneo el control de los varamientos es bastante heterogéneo, y mientras que en algunos países no existen redes de varamientos, en otros existen redes nacionales que cubren toda la costa. En España, debido a la distribución de competencias en materia de medio ambiente, cada Comunidad Autónoma es la encargada de gestionar su propia red de varamientos, aunque no están reguladas por ninguna ley de ámbito estatal y su existencia y gestión obedece a los criterios internos de cada Comunidad Autónoma. En el caso que nos ocupa, la Red de Varamientos de la Región de Murcia es coordinada por el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre “El Valle”, que es dependiente de la Dirección General de Medio Ambiente. Todas las muestras utilizadas en este trabajo proceden de dicha red de varamientos.





## I.2.2. Especies residentes del mar Mediterráneo: descripción y estado de conservación

### I.2.2.1. Generalidades

A pesar de su relativo pequeño tamaño, el mar Mediterráneo ha ofrecido históricamente unas condiciones favorables para el asentamiento de diversas especies de mamíferos marinos gracias, en parte, a sus aguas poco hostiles (p. ej. práctica ausencia de depredadores, temporales menos intensos) en comparación con las del Atlántico norte. El mar Mediterráneo alberga un total de ocho especies residentes de cetáceos en su cuenca, siete de odontocetos y una de misticeto; sin embargo, en sus aguas se han descrito hasta 24 especies diferentes de cetáceos que ocasional o puntualmente aparecen o han aparecido en tiempos modernos (Notarbartolo di Sciara, 2016a). Las especies con poblaciones consideradas residentes son las siguientes:

- Odontocetos;
  - Delfín listado,  
*Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833)
  - Delfín mular,  
*Tursiops truncatus* (Montagu, 1821)
  - Delfín común,  
*Delphinus delphis* (Linnaeus 1758)
  - Calderón común,  
*Globicephala melas* (Traill, 1809)
  - Calderón gris,  
*Grampus griseus* (G. Cuvier, 1812)
  - Zifio común o zifio de Cuvier,  
*Ziphius cavirostris* (G. Cuvier, 1812)
  - Cachalote.  
*Physeter macrocephalus* (Linnaeus, 1758)
- Misticetos;
  - Rorcual común.  
*Balaenoptera physalus* (Linnaeus, 1758)

Algunas de estas especies únicamente son avistadas en la cuenca occidental del Mediterráneo, que generalmente es donde se concentran la mayor parte de individuos. Algunas zonas de particular abundancia para varias de estas especies incluyen el mar de Alborán, el golfo de Vera o el santuario de Pelagos, en el mar de Liguria. En las costas de la Región de Murcia, por ejemplo, ha sido descrita la presencia de todas estas especies, cuyo avistamiento, aunque no siempre frecuente, se produce de manera regular todos los años ([comunicación personal](#)).

Otras especies pueden ser encontradas de manera ocasional en la cuenca del Mediterráneo cuando acceden a esta a través del estrecho de Gibraltar. Estos visitantes ocasionales incluyen la orca



*Orcinus orca* (Linnaeus, 1758), la ballena jorobada *Megaptera novaengliae* (Borowski, 1781) o la marsopa común *Phocoena phocoena* (Linnaeus, 1758). La mayoría de estas especies visitantes son observadas en la cuenca occidental del Mediterráneo, ya que acceden a este mar desde el océano Atlántico a través del estrecho de Gibraltar. Sin embargo, en los casos concretos el acceso puede darse a través del Bósforo y el estrecho de los Dardanelos, como sucede con la marsopa común del mar Negro *Phocoena phocoena relicta*, cuya presencia en las costas griegas y turcas de la cuenca norte del mar Egeo ha sido repetidamente confirmada (Fontaine, 2016).

Todas las especies con poblaciones residentes en el mar Mediterráneo están igualmente representadas en la región noreste del Atlántico norte, aunque lo más habitual es que las subpoblaciones mediterránea y atlántica estén genética y geográficamente separadas, y en muchos casos presentan diferencias morfológicas, fisiológicas o comportamentales. En algunas ocasiones, se considera que todos los individuos de la subpoblación mediterránea de una determinada especie conforman una única subpoblación Mediterránea, mientras que en otros casos se considera la existencia de diferentes poblaciones genéticamente distintas con escaso o nulo flujo genético entre ellas. Sin embargo, para la mayoría de las especies este aspecto es aún tema de debate y es necesaria una mayor investigación que aclare la estructura de sus poblaciones.

La mayoría de los estudios sobre las subpoblaciones de estas especies en el Mediterráneo procede de la cuenca occidental, mientras que existen muy pocos estudios en el Mediterráneo oriental. Más que en una cuestión de abundancia, la razón que subyace tras este hecho es la mayor riqueza e inversión en este tipo de investigaciones que existe en los países costeros del norte de la cuenca occidental del Mediterráneo, principalmente España, Francia e Italia. Sin embargo, en los últimos tiempos existe un creciente interés y esfuerzo por estos temas en diversos países del norte de la cuenca oriental por parte de varios países como Grecia o Croacia. Por el contrario, la costa africana de ambas cuencas es un territorio prácticamente inexplorado en este aspecto.

#### *1.2.2.2. Amenazas y conservación de los cetáceos del mar Mediterráneo*

La conservación de los cetáceos se ha convertido en un desafío global de creciente magnitud. Según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, 2008), el 25% de las especies de mamíferos marinos se encuentran amenazadas y actualmente son varias las especies de cetáceos que están en peligro de extinción extremo, como la ballena franca glacial *Eubalaena glacialis* (Müller, 1776), cuya población global se estima en menos de 250 individuos (Cooke y Clapham, 2018), o la vaquita marina *Phocoena sinus* (Norris y McFarland, 1958), una especie de marsopa endémica de las aguas de Baja California (México) cuya población en 2018 se estimaba en menos de diecinueve ejemplares (Jaramillo-Legorreta *et al.*, 2019).



En el pasado, la caza fue la principal amenaza de origen antropogénico para las poblaciones de cetáceos. Sin embargo, a pesar de que existe cierta controversia sobre si existió una caza organizada de ballenas en el mar Mediterráneo antes del S. X (Rodrigues *et al.*, 2016), lo cierto es que este mar se mantuvo ajeno de la caza industrial de ballenas (y otros cetáceos) que se produjo a escala global entre el S. XVII y la segunda mitad del S. XX, con la única excepción de Gibraltar, donde sí ocurrió durante la primera mitad del S. XX, fundamentalmente centrada en el rorcual común (Sanpera y Aguilar, 1992; Tønnessen y Johnsen, 1982). Por otro lado, debido a sus interacciones con la pesca y su consideración por parte del sector pesquero como alimañas, la matanza intencional de algunas especies de odontoceto, principalmente de delfín mular, sí ha tenido lugar hasta épocas más recientes en la región del Mediterráneo. Sin embargo, su impacto sobre la diversidad ha sido limitada y en la actualidad tampoco es considerada un problema real. Las amenazas actuales que afectan a los cetáceos que habitan el mar Mediterráneo son diferentes y tienen su origen, en gran medida, en el desarrollo y la expansión de las poblaciones que habitan su cuenca, especialmente el litoral. En 2007 los estados ribereños del Mediterráneo alojaban una población de 507 millones de habitantes, de los cuales el 34 % vivía en el litoral Mediterráneo. Según “Blue Plan”, una organización creada al amparo del Plan de Acción del Mediterráneo (PAM) coordinado por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), se espera que esta población alcance los 600 millones para 2050. Además, la población de su litoral experimenta un brusco aumento estacional, estimado en más de 100 millones de personas, durante la época estival. Por otro lado, la cuenca del Mediterráneo aloja extensas superficies destinadas a la agricultura y la ganadería, así como numerosos sectores industriales entre los que se encuentra el sector químico y petroquímico, la metalurgia y el tratamiento de residuos, entre muchos otros. En 1997 existían 40 refinerías de petróleo de gran tamaño en la región mediterránea, con una capacidad productiva superior a 685.000 barriles al día, a lo que se sumaban numerosas centrales eléctricas, desaladoras, *etc.*

La presión que ejercen las poblaciones humanas y sus actividades económicas y productivas tienen severas consecuencias en el medio ambiente con un impacto desigual en la biodiversidad. Tal y como observó Coll *et al.* (2012) en su metaanálisis, los cetáceos son junto a las tortugas marinas, el grupo taxonómico más afectado por las amenazas antrópicas en el Mediterráneo. Una de las consecuencias más directas de la actividad urbana y los sectores agropecuarios e industrial es la generación de residuos y la contaminación. El mar Mediterráneo es considerado como un foco de contaminación química, incluyendo metales pesados como el mercurio y contaminantes orgánicos persistentes como los bifenilos policlorados (PCBs) o varios pesticidas organoclorados (Capelli *et al.*, 2008; Marsili *et al.*, 2018; Merhaby *et al.*, 2019) lo que tiene potenciales implicaciones directas para la salud y la supervivencia de las poblaciones de cetáceos (ver apartado I.3.2). De manera similar, la contaminación física, especialmente por plásticos, es una



amenaza creciente que ya se ha cobrado la vida de varios animales en el Mediterráneo. Por ejemplo, el 27 de febrero de 2018, un cachalote apareció muerto en Cabo de Palos (Región de Murcia) tras ingerir 29 kilos de basura marina entre la que se incluían aparejos de pesca, bolsas e incluso un bidón, lo que provocó la muerte del animal por una impactación. De igual manera, las actividades pesqueras tienen consecuencias directas en las poblaciones de cetáceos. Los cetáceos pueden quedar fácilmente atrapados en los aparejos de pesca en uso (*'bycatch'*) o abandonados, una problemática que en el Mediterráneo afecta fundamentalmente a especies pelágicas, aunque ha perdido importancia desde la prohibición de las redes de deriva pelágicas en 2005 (FAO, 2020). Indirectamente, la sobrepesca y la pesca ilegal conducen a un agotamiento de los recursos pesqueros, lo que ocasiona una disminución de las presas disponibles y un aumento del esfuerzo empleado en la caza. Esto tiene especial importancia para aquellas especies cuya dieta incluye especies de interés pesquero, como ocurre con el delfín mular, aunque también puede afectar a otras especies mediante otras vías. Además, ciertos artes de pesca, como la pesca de arrastre de fondo son importantes actores de la destrucción del hábitat de los cetáceos o de sus presas, al igual que lo son los puertos y otras infraestructuras del litoral. Por otro lado, el mar Mediterráneo se encuentra entre las rutas marinas más utilizadas. A pesar de ocupar únicamente el 0,8 % de la superficie marina mundial, acumula el 15 % del tráfico comercial marítimo y un 30 % del transporte marítimo de petróleo. En verano además el tráfico se intensifica por el aumento de cruceros y barcos de pasajeros. El tráfico marítimo, ya sea de carácter comercial, turístico, pesquero o militar, tiene un impacto potencial en los cetáceos tanto por el riesgo de colisión directa, que afecta especialmente a las especies de mayor tamaño, como por la perturbación y estrés que genera su presencia y la contaminación acústica que ocasiona, la cual tiene un efecto particularmente grave en especies tan dependientes del medio sonoro para su supervivencia (Geijer y Jones, 2015; Notarbartolo di Sciara y Birkun, 2010). A la contaminación acústica producida por las embarcaciones se suma la originada en explotaciones petrolíferas, exploraciones sísmicas y maniobras militares. Estas perturbaciones causadas por el tráfico marítimo tienen una repercusión real en la distribución de las poblaciones de cetáceos, siendo capaces de desplazarlas, tal y como demostró Campana *et al.* (2015) en las aguas del mar de Liguria, el golfo de León y el norte del mar Balear. Por último, el mar Mediterráneo está considerado a escala global como una de las regiones más sensibles a los efectos del cambio climático (Lejeune *et al.*, 2010). El cambio climático tiene consecuencias, en muchos casos impredecibles, sobre innumerables aspectos que pueden afectar negativamente a las poblaciones de cetáceos. Además de afectar a características intrínsecas del comportamiento y la fisiología de estas especies, por ejemplo en los ciclos reproductivos, las migraciones o la estructura de sus poblaciones (Leaper *et al.*, 2006; van Weelden *et al.*, 2021), las variaciones en la temperatura del mar pueden tener consecuencias significativas en su oceanografía, por ejemplo, alterando las corrientes o la productividad de las aguas, lo que tiene repercusiones directas sobre el alimento y



las presas de los cetáceos. Pero también afecta a la distribución y transmisión de patógenos, siendo esta más favorable al patógeno en aguas templadas (Simmonds y Nunny, 2002). Lamentablemente, las predicciones apuntan a un aumento en la magnitud de estas amenazas en los próximos años.

Por otro lado, es común la actuación sinérgica de las amenazas antrópicas entre sí y con las amenazas naturalmente presentes en el medio como las enfermedades, los parásitos o compuestos tóxicos de origen natural, como ciertas algas tóxicas. Un caso evidente de esto es la epidemia de morbilivirus de 1990-1992 que afectó a muchas de las poblaciones de cetáceos del Mediterráneo. En aquel caso, se asoció la mortalidad de numerosos individuos causada por la infección a altas cargas de contaminantes y se hipotetizó que una parte significativa de la mortalidad observada se debió a la inmunosupresión causada por la exposición a altas concentraciones de PCBs, unos contaminantes con reconocida actividad inmunotóxica (Aguilar y Borrell, 1994b). De manera similar, en 2009 se produjo el varamiento de siete machos adultos de cachalote en las costas del sur de Italia que inicialmente se atribuyó a la falta de presas. Sin embargo, todos estos cachalotes tenían residuos plásticos en su tracto gastrointestinal y altas concentraciones de contaminantes. Esto llevó a los investigadores a asociar la inanición prolongada de estos animales a la movilización de los contaminantes almacenados en la grasa al torrente sanguíneo, hipotetizando que las alteraciones inmunes y nerviosas derivadas de este fenómeno fueron, al menos, parcialmente responsables de este varamiento en masa (Mazzariol *et al.*, 2011).

Los esfuerzos en relación con la protección de los cetáceos del mundo en general y del Mediterráneo en particular han ido incrementando conforme se ha desarrollado conciencia en torno a su conservación y conforme se han ido describiendo nuevas amenazas. Frente a la amenaza de la caza de ballenas, en 1946 se estableció la Comisión Ballenera Internacional (CBI), con la intención de regular la caza y el comercio de cetáceos. En la actualidad, sin embargo, existen numerosas organizaciones públicas y privadas que se encargan de velar por la protección de estos animales. Una de las mayores dificultades en cuanto a la conservación de los cetáceos en el Mediterráneo es la ausencia de información sobre la distribución, abundancia, tendencia y dinámica de sus poblaciones en la mayor parte de la región (Notarbartolo di Sciara y Gordon, 1997). A pesar de ello, a lo largo de las últimas décadas se han desarrollado numerosos tratados, leyes y acuerdos globales, regionales y nacionales que regulan de manera específica, al menos en alguna de sus secciones, diversos aspectos relativos a la conservación de los cetáceos del mar Mediterráneo (Tabla I.2.1).



**Tabla I.2.1.** Principales normativas y acuerdos españoles, europeos, regionales e internacionales destinados parcial o totalmente a la protección de los cetáceos del Mediterráneo. Última revisión que afecta a cetáceos.

Ámbito	Año		Acrónimo/ sobrenombre	Ley / Acuerdo / Convenio
	Creación	Última revisión*		
Internacional	1946	-	-	Convenio Internacional para la regulación de la pesca de la ballena
Internacional	1973	2021	CITES	Convenio sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre
Internacional	1979	2015	CMS / Convenio de Bonn	Convención sobre la Conservación de Especies Migratorias
Internacional	1976	1995	Convenio de Barcelona	Convenio de Barcelona para la protección del mar Mediterráneo de la contaminación
Regional	1996	-	ACCOBAMS	Acuerdo sobre la Conservación de los Cetáceos en el Mar Negro, Mar Mediterráneo y la zona Atlántica contigua
Europeo	1979	2018	Convenio de Berna	Convenio relativo a la Conservación de la Vida Silvestre y del Medio Natural en Europa
Europeo	1992	-	Directiva Hábitats	Directiva 92/43/CEE del Consejo de 21 de mayo de 1992 relativa a la conservación de los hábitats naturales y de la fauna y flora silvestre
Nacional	2007	-	RD 1727/2007	Real Decreto 1727/2007, de 21 de diciembre, por el que se establecen medidas de protección de los cetáceos
Nacional	2007	-	Ley 42/2007	Ley 42/2007, de 13 de diciembre, del Patrimonio Natural y de la Biodiversidad
Nacional	2011	2011	RD 139/2011	Real Decreto 139/2011, de 4 de febrero, para el desarrollo del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y Catálogo Español de Especies Amenazadas

### *1.2.2.3. Importancia del golfo de Vera y sus inmediaciones para la conservación de los cetáceos del mar Mediterráneo*

La distribución de los cetáceos varía en función de las características físico-químicas y biológicas de las aguas que habitan (Forcada, 2009). Los factores con influencia en ello son innumerables e incluyen, por ejemplo, la temperatura de las capas de agua, las corrientes, la topografía, la disponibilidad de presas o la actividad humana (Pace *et al.*, 2015). En la reunión de mayo de 2016 (ACCOBAMS, 2016), los países integrantes de ACCOBAMS consideraron al golfo de Vera, en conjunto con el mar de Alborán y el estrecho de Gibraltar, como un área de especial importancia para varias especies de cetáceos, incluido el delfín común *Delphinus delphis* (Linnaeus, 1758), cuya población en el Mediterráneo está en serio declive. En el mismo sentido, la Comisión Internacional de Áreas de Protección para Mamíferos Marinos (ICMMPA) incluye tanto las aguas del golfo de Vera como las de la costa este de la Región de Murcia en tres áreas de importancia para mamíferos marinos (IMMAs): el mar de Alborán, el corredor de Alborán y las profundidades de Alborán, consideradas esenciales para varias de las poblaciones de cetáceos del Mediterráneo.



La zona del golfo de Vera reúne a todas las especies de cetáceos residentes existentes en el mar Mediterráneo, produciéndose reportes anuales de la presencia de todas ellas de una manera más o menos regular. Al menos en algunos casos, esta región actúa no solo como zona de alimentación sino también como zona de cría para varias especies, como el delfín listado o el calderón común entre otros ([comunicación personal](#)). Al igual que en el resto del Mediterráneo, el delfín listado es la especie más abundante en las aguas del golfo de Vera. En esta zona se han descrito densidades de delfín listado ( $0,67$  delfines/ $\text{km}^2$ ) superiores a las del resto de la costa del levante español ( $0,49$  delfines/ $\text{km}^2$ ; [Gómez de Segura et al., 2006](#)), e incluso superiores a las del Santuario de Pelagos de mamíferos marinos ( $0,49$  delfines/ $\text{km}^2$ ; [Gannier, 1998](#)), una de las zonas de mayor abundancia de esta especie ([Forcada et al., 1995](#)). De manera similar, también se ha descrito mayores concentraciones de calderón gris y de delfín común en el norte del golfo de Vera en comparación con en el resto de la costa levantina ([Gómez de Segura et al., 2006](#); [Universidad de Barcelona, 2002](#); [Universidad de Valencia; 2002](#)), probablemente a causa de la estrecha plataforma continental y las grandes pendientes propias de sus fondos. Por otro lado, el cabo de Palos actúa como un vértice en la ruta de migración del rorcual común que ha entrado desde el océano Atlántico, siendo una zona de paso esencial en la migración de esta especie. Gracias a la plataforma continental extremadamente estrecha en esta zona, todos los años se producen cientos de avistamiento de esta especie a su paso en los meses de junio y julio en dirección al norte. En conjunto, la abundancia de cetáceos en esta zona puede deberse en parte al afloramiento primaveral de plancton que se produce en las aguas del golfo de Vera, que congrega a multitud de especies que se dirigen a la zona para alimentarse y convierte esta región en un punto clave para ciertas especies cuya dieta se componen presas meso y batipelágicas asociadas a zonas de gran productividad, lo que incluye diversas especies de cetáceos como el calderón común, calderón gris o el cachalote. Paralelamente, esta zona agrupa importantes cañones submarinos de más de  $2.000$  m de profundidad del golfo de Vera (p. ej., cañones de Tiñoso, de Espada o de Negrete) que son clave en la alimentación de algunas especies como el zifio. Sin embargo, el golfo de Vera no está exento de la problemática de conservación que se da en toda la región del Mediterráneo. Por ejemplo, la presencia del delfín común en el golfo de Vera disminuyó ostensiblemente entre 1996, pasando de una estimación de  $0,47$  delfines/ $\text{km}^2$  en el periodo 1992-1995 a una estimación de  $0,17$  delfines/ $\text{km}^2$  en el periodo 2000-2004 ([Cañadas y Hammond, 2008](#)). Se desconocen las causas de este fenómeno, aunque se atribuyen a la degradación del hábitat y se hipotetiza la posible influencia de la disminución de disponibilidad de especies como la alacha *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847), que es parte de la dieta del delfín común y que, a pesar de que antes no era una especie con valor comercial, el rápido desarrollo de la acuicultura en la región le ha otorgado valor como alimento para las especies cultivadas dando lugar a su sobrepesca.



#### *I.2.2.4. Especies de cetáceo con poblaciones residentes en el mar Mediterráneo y el golfo de Vera*

##### **I.2.2.4.a – Delfín listado *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833)**

*Infraorden Odontoceti, familia Delphinidae*

Es un delfín que habita prácticamente todos los mares templados del mundo excepto el mar Negro y el mar Rojo. Es un delfín de mediano tamaño, entre 1,8 y 2,5 m y de 75 a 135 kg. Tiene un hocico largo y bien definido, aletas pectorales largas y puntiagudas y una aleta dorsal grande y central. Tiene una coloración dorsal oscura y ventral clara, con tres líneas laterales oscuras muy características que nacen en la región ocular y atraviesan lateralmente el cuerpo del animal, llegando la más larga a la región genital.

Su alimentación es oportunista y cada población se adapta fácilmente a la zona que habita. Es una especie oceánica y en las aguas del suroeste español aparece sobre el talud continental, preferentemente en aguas con profundidades de entre 900 y 1.500 metros, donde se alimenta fundamentalmente de diversas especies epipelágicas, mesopelágicas y batipelágicas de peces (p. ej., familias Gadidae, Sparidae y Gonotomiidae), cefalópodos y crustáceos (Blanco *et al.*, 1995; Gómez de Segura *et al.*, 2008; Gómez Campos *et al.*, 2011; Meotti y Pedestá, 1997).

Es la especie más común en todo el mar Mediterráneo, donde aparece generalmente formando grupos de varias decenas de individuos, aunque en ocasiones pueden observarse agrupaciones de más de 200 ejemplares (Aguilar, 2000). En la cuenca oriental se le ha observado formando grupos mixtos con delfín común o con calderón gris. Además de estar genéticamente aislada de la del Atlántico norte, la subpoblación mediterránea parece conformar núcleos geográficos con escaso intercambio genético a lo largo de toda la cuenca (Calzada y Aguilar, 1995). Las epidemias de morbilivirus sucedidas en el Mediterráneo entre 1990-1992 y 2006-2007, junto al resto de amenazas de la especie (p. ej., depleción de recursos, la pesca accidental y la contaminación química) supusieron un brusco descenso en su abundancia, con una disminución estimada del 30% en los últimos 60 años, lo que llevó a ser considerada una especie *vulnerable* en esta región (Aguilar y Gaspari, 2012). Sin embargo los últimos estudios son más optimistas y han disminuido su categoría de riesgo. En la actualidad se estima que existen alrededor de 450.000 individuos en el Mediterráneo (ACCOBAMS, 2021b).





<b>Delfín listado <i>Stenella coeruleoalba</i> (Meyen, 1833)</b>			
Estado de conservación de la especie			
Fuente	Año	Población	Estado
ACCOBAMS (ACCOBAMS, 2021a)	2021	Mediterráneo	Preocupación menor
IUCN (Aguilar y Gaspari, 2012)	2010	Mediterráneo	Vulnerable
Libro rojo de los Vertebrados de España	2006	Mediterráneo	Insuficiente información
Marco jurídico de protección de la especie en el Mediterráneo			
Normativa	Anexo	Categoría	
Convenio de Barcelona (Enmienda de 2017)	II	En peligro o amenaza	
CITES (Revisión de 2021)	II	Control estricto de su comercio	
ACCOBAMS	I	Cetáceos a los que se aplica el acuerdo	
Convenio de Bonn / CMS (Revisión de 2015)	II	Especies migratorias que deben ser objeto de acuerdos	
Convenio de Berna (Revisión de 2018)	II	Especies estrictamente protegidas	
Directiva Hábitat (Directiva 92/43/CEE)	IV	Especies de interés comunitario que requieren protección estricta	
RD 139/2011	-	Incluido	
RD 1727/2007	-	Incluido	



#### **I.2.2.4.b – Delfín mular *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821)**

*Infraorden Odontoceti, familia Delphinidae*

Es una de las especies de delfín más extendidas por el globo. Es de mayor tamaño que el delfín listado y el delfín común. Su cuerpo es más robusto y los adultos tienen un tamaño que varía entre 2 y 4 m y un peso de 150 a 650 kg. Su coloración es gris oscuro en la región dorsal y se aclara ventralmente hasta la tonalidad gris clara en el vientre.

Generalmente forman grupos más pequeños que los delfines listado y mular, de entre 5 y 25 individuos. Aunque en otras regiones del mundo puede encontrarse junto a otras especies de cetáceos, este no parece ser el caso en las aguas de la Región de Murcia. A pesar de que en el Mediterráneo existen poblaciones más costeras y otras más oceánicas, en las costas de la Región de Murcia únicamente vive y se alimenta sobre la plataforma continental y su margen (García Moreno, 2006), principalmente en aguas con una profundidad de 50 a 200 m y no más de 400 metros (Blanco *et al.*, 2001; Wells y Scott, 1999). Tiene una dieta eminentemente demersal y oportunista que le permite alimentarse de gran variedad de presas en función de su disponibilidad, principalmente peces, pero también cefalópodos y, en menor medida, crustáceos (Wells y Scott, 1999). En las costas del Mediterráneo español la merluza *Merluccius merluccius* (Linnaeus, 1758) es su presa más importante, aunque también se alimenta en menor medida de cefalópodos, principalmente pulpos (Blanco *et al.*, 2001). Algunas poblaciones se han adaptado para aprovechar los recursos de la pesca, lo que los ha llevado a tener conflictos con los pescadores en algunas zonas (comunicación personal).

Es común observarlo en las aguas de la Región de Murcia, siendo generalmente la segunda especie más frecuentemente avistada por detrás del delfín listado. Se piensa que en el Mediterráneo existen diferentes subpoblaciones, como la del mar de Alborán, todas ellas genéticamente diferentes de la población del Atlántico (Bearzi *et al.*, 2004; Natoli *et al.*, 2004). Aunque las anteriores estimaciones de abundancia eran menos optimistas (Bearzi *et al.*, 2006, 2008), la evaluación más reciente estima una población en el Mediterráneo de más de 60.000 individuos, lo que hace que se considere en menor riesgo que antaño (ACCOBAMS, 2021b).



<b>Delfín mular <i>Tursiops truncatus</i> (Montagu, 1821)</b>			
Estado de conservación de la especie			
Fuente	Año	Población	Estado
ACCOBAMS (ACCOBAMS, 2021a)	2021	Mediterráneo	Preocupación menor
IUCN (Bearzi <i>et al.</i> , 2012)	2009	Mediterráneo	Vulnerable
Libro rojo de los Vertebrados de España	2006	Mediterráneo	Vulnerable
Marco jurídico de protección de la especie en el Mediterráneo			
Normativa	Anexo	Categoría	
Convenio de Barcelona (Enmienda de 2017)	II	Especies en peligro o amenaza	
CITES (Revisión de 2021)	II	Control estricto de su comercio	
ACCOBAMS	I	Cetáceos a los que se aplica el acuerdo	
Convenio de Bonn / CMS (Revisión de 2015)	II	Especies migratorias que deben ser objeto de acuerdos	
Convenio de Berna (Revisión de 2018)	II	Especies estrictamente protegidas	
Directiva Hábitat (Directiva 92/43/CEE)	II	Especies para cuya conservación es necesario designar zonas especiales de conservación	
	IV	Especies de interés comunitario que requieren protección estricta	
RD 139/2011	-	Incluido	
RD 1727/2007	-	Incluido	



#### **I.2.2.4.c – Delfín común *Delphinus delphis* (Linnaeus 1758)**

*Infraorden Odontoceti, familia Delphinidae*

Es un delfín de mediano tamaño y bastante similar en apariencia al delfín listado que aparece en aguas tropicales y ligeramente frías de todo el globo. Los adultos miden entre 1,7 y 2,4 m y pesan entre 70 y 135 kg. Tiene un hocico largo y afilado, aletas pectorales pequeñas y aleta dorsal relativamente alta. Tiene una coloración característica en los costados en forma “reloj de arena” donde la porción anterior es amarillenta y la posterior es gris clara. El dorso es oscuro y el vientre blanco.

Aunque en el este del Mediterráneo es una especie más costera, en la zona del golfo de Vera y, en general, en el noroeste del Mediterráneo, aparece tanto en el límite de la plataforma continental (150-200 m) como en aguas profundas de 1.000 m o más (Bearzi *et al.*, 2003; Cañadas y Hammond, 2008; Natoli, 2004), al igual que en el Atlántico norte (Cañadas *et al.*, 2009). Es una especie oportunista y su dieta en el Mediterráneo es fundamentalmente ictiófaga, depredando tanto especies epipelágicas (p. ej., sardina y anchoa) como mesopelágicas (p. ej., familia Myctophidae), pero también cefalópodos (Giannoulaki *et al.*, 2016; Giménez *et al.*, 2018; Milani *et al.*, 2019). En el mar de Alborán se le ha podido observar cazando sardina común *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792), alacha *Sardinella aurita* (Valenciennes, 1847) y aguja *Belone belone* (Linnaeus, 1761) (Cañadas y Hammond, 2008).

Es un animal gregario, y aunque en el pasado formaba grupos más grandes en el Mediterráneo, actualmente es más habitual observarlo en grupos de 10 – 20 individuos (ACCOBAMS, 2021a). Aunque existe un intercambio genético entre las poblaciones del mar de Alborán y las del Atlántico norte, las poblaciones del resto de la cuenca del Mediterráneo están aisladas genéticamente de esta (Natoli, 2004). Antaño era un habitante común en el Mediterráneo, y aunque en otras regiones del planeta sus poblaciones son numerosas, en la actualidad las poblaciones del Mediterráneo están en declive. En 2003 se estimaba que la subpoblación mediterránea había disminuido más de un 50 % en las últimas tres generaciones (~ 30-45 años) (Bearzi, 2012) y se estima que en la actualidad es inferior a 2.500 individuos maduros (ACCOBAMS, 2021b). A pesar de ello, en la Región de Murcia es relativamente frecuente observarlo entre cabo de Palos y cabo Cope, especialmente entre abril y septiembre, aunque es menos común que el listado y el mular.



*Autor: José Luis Murcia*

<b>Delfín común <i>Delphinus delphis</i> (Linnaeus 1758)</b>			
Estado de conservación de la especie			
Fuente	Año	Población	Estado
ACCOBAMS (ACCOBAMS, 2021a)	2021	Mediterráneo	Amenazado
IUCN (Bearzi, 2012)	2003	Mediterráneo	Amenazado
Libro rojo de los Vertebrados de España	2006	Mediterráneo	Vulnerable
Marco jurídico de protección de la especie en el Mediterráneo			
Normativa	Anexo	Categoría	
Convenio de Barcelona (Enmienda de 2017)	II	En peligro o amenaza	
CITES (Revisión de 2021)	II	Control estricto de su comercio	
ACCOBAMS	I	Cetáceos a los que se aplica el acuerdo	
Convenio de Bonn / CMS (Revisión de 2015)	II	Especies migratorias que deben ser objeto de acuerdos	
Convenio de Berna (Revisión de 2018)	II	Especies estrictamente protegidas	
Directiva Hábitat (Directiva 92/43/CEE)	IV	Especies de interés comunitario que requieren protección estricta	
RD 139/2011	-	Incluido	
RD 1727/2007	-	Incluido	



#### **I.2.2.4.d – Calderón común *Globicephala melas* (Traill, 1809)**

*Infraorden Odontoceti, familia Delphinidae*

Es el segundo mayor integrante de los delfínidos, solo por detrás de la orca *Orcinus orca*, con una longitud de 4 a 6,5 metros y un peso que oscila entre 1.800 y 3.500 kg. Es común en aguas frías y templadas. A diferencia de los anteriores delfines, tiene una cabeza globosa (en forma de “caldero”) y un pico muy corto. Es un animal corpulento, con un dimorfismo sexual marcado, siendo los machos de mayor tamaño, con la cabeza más globosa y con una aleta dorsal con el borde posterior muy cóncavo. La coloración de los adultos es completamente negra en los dos tercios superiores, mientras que los juveniles tienen un color grisáceo.

Suele localizarse lejos de la costa, en aguas con profundidades superiores a los 1.000 metros, donde se alimenta fundamentalmente de cefalópodos epipelágicos, aunque en algunas zonas del mar de Alborán y alrededores puede aparecer en aguas con profundidades de 500 metros (Azzellino *et al.*, 2008; Cañadas *et al.*, 2002; de Stephanis *et al.*, 2008a). Es un gran buceador, capaz de superar profundidades de 800 m a la hora de alimentarse (Baird *et al.*, 2002). Aunque en el noroeste del Mediterráneo su dieta se superpone en gran medida con la del calderón gris y el cachalote, el calderón común es más generalista y según estudios de contenido estomacal, tiene preferencia por la pota común *Todarodes sagittatus* (Lamarck, 1798) (Praca y Gannier, 2008).

Habitualmente forma grupos matrilineales estables de 8 – 15 ejemplares, aunque pueden llegar a superar los 300 individuos. En el Mediterráneo únicamente aparece en la cuenca occidental y, a diferencia de otras regiones, es bastante abundante entre el estrecho de Gibraltar y el golfo de Vera, donde aparece todo el año (Cañadas y Sagarminaga, 2000). De acuerdo con estudios genéticos, se ha hipotetizado la existencia de dos poblaciones de calderón común en el mar Mediterráneo, una exclusiva del estrecho de Gibraltar, y otra que agrupa a los individuos situados entre el mar de Alborán y el mar de Liguria (Verborgh, 2015). Sin embargo, no se descarta una estructuración mayor en esta segunda población ocasionada por el aislamiento debido a la distancia entre el mar de Liguria y el mar de Alborán. En cuanto a su conservación, se desconoce con exactitud el estado de las poblaciones en el Mediterráneo, aunque se sabe que la epizootia de morbilivirus de 2006 – 2007 afectó negativamente a sus números y se estima que actualmente existen menos de 2.500 individuos maduros (ACCOBAMS, 2021a; Verborgh, 2015).



<b>Calderón común <i>Globicephala melas</i> (Traill, 1809)</b>			
Estado de conservación de la especie			
Fuente	Año	Población	Estado
ACCOBAMS (ACCOBAMS, 2021a)	2021	Mediterráneo	Vulnerable
IUCN (Cañadas, 2012a)	2010	Mediterráneo	Insuficiente info.
Libro rojo de los Vertebrados de España	2006	Mediterráneo	Insuficiente info.
Marco jurídico de protección de la especie en el Mediterráneo			
Normativa	Anexo	Categoría	
Convenio de Barcelona (Enmienda de 2017)	II	En peligro o amenaza	
CITES (Revisión de 2021)	II	Control estricto de su comercio	
ACCOBAMS	I	Cetáceos a los que se aplica el acuerdo	
Convenio de Bonn / CMS (Revisión de 2015)	II	Especies migratorias que deben ser objeto de acuerdos	
Convenio de Berna (Revisión de 2018)	II	Especies estrictamente protegidas	
Directiva Hábitat (Directiva 92/43/CEE)	IV	Especies de interés comunitario que requieren protección estricta	
RD 139/2011	-	Incluido	
RD 1727/2007	-	Incluido	



#### **I.2.2.4.e – Calderón gris *Grampus griseus* (G. Cuvier, 1812)**

*Infraorden Odontoceti, familia Delphinidae*

Se distribuye por los mares tropicales, templados y subpolares de todo el planeta. Su silueta es relativamente parecida a la de un calderón común, con el que está estrechamente emparentado (subfamilia Globicephalinae), pero esta especie es de menor tamaño y tiene un cuerpo ligeramente más estilizado. De manera parecida, tiene una cabeza globosa, con un pico pronunciado y una aleta dorsal grande en forma de hoz. Los adultos miden entre 2,5 y 4 metros y pesan entre 300 y 600 kg. Su coloración es variable en función de la edad; al nacer tienen un color gris claro que se va ennegreciendo conforme maduran, aunque los adultos e individuos de mayor edad adquieren una coloración característica blanquecina en el dorso y en la parte anterior del cuerpo a raíz de las cicatrices que envuelven todo su cuerpo.

Es una especie pelágica que suele encontrarse en la zona superior del talud continental asociado a zonas de grandes pendientes como cañones o montes submarinos, donde se alimenta en inmersiones a más de 500 m de profundidad (Benoit-Bird *et al.*, 2019). En la zona del mar de Alborán se alimenta en aguas con profundidades similares a las del calderón común, con preferencia por aguas de más de 800 m de profundidad y con grandes pendientes (Cañadas *et al.*, 2002; Gómez de Segura *et al.*, 2008). Son exclusivamente teutófagos y su dieta es bastante parecida a la del calderón común y el cachalote, consistiendo fundamentalmente en diversas especies de calamares, como la familia Histioteuthidae. En la costa del mediterráneo español, *Argonauta argo* (Linnaeus, 1978) se considera su presa más abundante (Blanco *et al.*, 2006).

En el Mediterráneo suelen aparecer en grupos estables de entre cuatro y ocho individuos (aunque pueden formar agrupaciones que sobrepasen los 50 individuos) y en algunas zonas localizadas se les ha podido observar en grupos mixtos con delfines listados y delfines comunes. A diferencia de los calderones comunes, suelen ser bastante esquivos, y en la costa de la Región de Murcia es la especie de delfínido menos frecuentemente avistada. La información sobre la subpoblación del Mediterráneo es escasa y se tiene poca información tanto de su abundancia (Azzellino *et al.*, 2016) como de su estructura, aunque sí se sabe que es genéticamente diferente a la del Atlántico noreste y que es posible que se estructure en varias subpoblaciones dentro del Mediterráneo (Chen *et al.*, 2018; Gaspari *et al.*, 2007). Se estima que su población en el Mediterráneo puede exceder los 23.000 individuos (ACCOBAMS, 2021b).





<b>Calderón gris <i>Grampus griseus</i> (G. Cuvier, 1812)</b>			
Estado de conservación de la especie			
Fuente	Año	Población	Estado
ACCOBAMS (ACCOBAMS, 2021a)	2021	Mediterráneo	Amenazado
IUCN (Gaspari y Natoli, 2012)	2010	Mediterráneo	Insuficiente info.
Libro rojo de los Vertebrados de España	1992	Mediterráneo	No amenazada
Marco jurídico de protección de la especie en el Mediterráneo			
Normativa	Anexo	Categoría	
Convenio de Barcelona (Enmienda de 2017)	II	En peligro o amenaza	
CITES (Revisión de 2021)	II	Control estricto de su comercio	
ACCOBAMS	I	Cetáceos a los que se aplica el acuerdo	
Convenio de Bonn / CMS (Revisión de 2015)	II	Especies migratorias que deben ser objeto de acuerdos	
Convenio de Berna (Revisión de 2018)	II	Especies estrictamente protegidas	
Directiva Hábitat (Directiva 92/43/CEE)	IV	Especies de interés comunitario que requieren protección estricta	
RD 139/2011	-	Incluido	
RD 1727/2007	-	Incluido	



#### **I.2.2.4.f – Zifio común o de Cuvier *Ziphius cavirostris* (G. Cuvier, 1823)**

*Infraorden Odontoceti, familia Ziphiidae*

Está extendido por todos los océanos excepto en las latitudes polares. Es el único zifio residente en el Mediterráneo, y a pesar de ser una de las especies de zifio más conocidas, es la especie de cetáceo más enigmática de aquellas que habitan el Mediterráneo. Puede alcanzar los 7 metros de longitud y un peso de 3000 kg. Su cabeza es característica, con un pico alargado y un maxilar inferior que se extiende por delante del superior y que presenta dos dientes en el extremo apical. Tiene un cuerpo alargado con aletas pectorales pequeñas y una aleta dorsal muy retrasada. La coloración de los machos adultos es gris oscura mientras que la de las hembras es gris o marrón. Es un buceador excelente y ostenta el récord de buceo entre todos los mamíferos (2.992 m durante 137,5 minutos)

En general, se tiene muy poca información de los zífidos a escala global y la mayor parte del conocimiento sobre ellos proviene de sus varamientos. El zifio común es la especie más cosmopolita de todas. Se suele encontrar en aguas profundas (> 2.000 m) y especialmente asociados a áreas con grandes pendientes y a cañones submarinos, como los del sur de Almería (Cañadas y Vázquez., 2014; Cañadas *et al.*, 2017). En el Mediterráneo, se alimenta a unas profundidades de 600 a 1.500 metros principalmente de calamares de la familia Histiotteuthidae, aunque los peces y los crustáceos también forman parte ocasional de su dieta (Blanco y Raga, 2000; Podestà *et al.*, 2016).

Generalmente aparece en grupos de dos a tres individuos o de manera solitaria. No existe apenas información sobre la distribución o la abundancia de esta especie en el mar Mediterráneo, aunque se sabe que aparece tanto en la cuenca occidental como la oriental y que existen menos de 10.000 individuos maduros (ACCOBAMS, 2021a; Notarbartolo di Sciara, 2002). Estudios genéticos han sugerido que subpoblación del Mediterráneo está aislada y que tiene un tamaño pequeño (Dalebout *et al.*, 2005). Su avistamiento es difícil porque es una especie esquiva, oceánica y que pasa gran parte del tiempo sumergida, con intervalos muy cortos en la superficie. Sin embargo, en el mar de Alborán y sus alrededores es relativamente abundante, por lo que es posible observarlo en las costas de la Región de Murcia (Cañadas *et al.*, 2014).



<b>Zifio común <i>Ziphius cavirostris</i> (G. Cuvier, 1823)</b>			
Estado de conservación de la especie			
Fuente	Año	Población	Estado
ACCOBAMS (ACCOBAMS, 2021a)	2021	Mediterráneo	Vulnerable
IUCN (Cañadas, 2012b)	2006	Mediterráneo	Insuficiente info.
Libro rojo de los Vertebrados de España	1992	Mediterráneo	No amenazada
Marco jurídico de protección de la especie en el Mediterráneo			
Normativa	Anexo	Categoría	
Convenio de Barcelona (Enmienda de 2017)	II	En peligro o amenaza	
CITES (Revisión de 2021)	II	Control estricto de su comercio	
ACCOBAMS	I	Cetáceos a los que se aplica el acuerdo	
Convenio de Bonn / CMS (Revisión de 2015)	II	Especies migratorias que deben ser objeto de acuerdos	
Convenio de Berna (Revisión de 2018)	II	Especies estrictamente protegidas	
Directiva Hábitat (Directiva 92/43/CEE)	IV	Especies de interés comunitario que requieren protección estricta	
RD 139/2011	-	Incluido	
RD 1727/2007	-	Incluido	



#### **I.2.2.4.g – Cachalote *Physeter macrocephalus* (Linnaeus, 1758)**

*Infraorden Odontoceti, familia Physeteridae*

Es el odontoceto de mayor tamaño y el animal dentado más grande que existe en la actualidad. Además, es la tercera especie más cosmopolita del planeta, solo por detrás del ser humano y la orca *Orcinus orca*, extendiéndose por prácticamente todos los mares y océanos del planeta. Los machos miden entre 16 y 20 metros y pesan entre 25 y 50 toneladas, mientras que las hembras alcanzan los 12 metros y suelen pesar la mitad. Su cabeza es cuadrangular y muy voluminosa debido al gran espacio que ocupa el melón en esta especie, y su mandíbula es baja y estrecha, sin dientes en el maxilar inferior. Tiene un cuerpo grande y robusto comprimido lateralmente y una aleta dorsal pequeña, triangular y poco definida que se encuentra desplazada hacia el tercio trasero. Su coloración es de una tonalidad gris oscura y bastante homogénea. Son capaces de sumergirse a grandes profundidades durante grandes periodos de tiempo, situándose cerca de las marcas alcanzadas por los zifios.

Puede alimentarse en diferentes tipos de hábitats, aunque generalmente se encuentra en áreas de gran profundidad (~ 1.000 m) y con grandes pendientes. De manera parecida al calderón común y al calderón gris, se alimenta fundamentalmente de cefalópodos mesopelágicos y batipelágicos de las familias Histioteuthidae, Ommastrephidae y Octopoteuthidae (Astruc y Beaubrum, 2005; Foskolos *et al.*, 2020; Praca y Gannier, 2008). En algunas regiones también depreda a calamares gigantes *Architeuthis spp*, habiendo sido sus varamientos la mayor fuente de información sobre estos animales.

Generalmente las crías, las hembras adultas y los machos jóvenes forman grupos de aproximadamente 10 o 12 individuos, mientras que los machos adultos forman grupos más pequeños o viven aislados. En el Mediterráneo existe una única subpoblación de cachalotes que se desplazan por toda la cuenca y que está aislada de la del Atlántico norte (Rendell y Frantzis, 2016). Aunque estimaciones previas indicaban que la subpoblación Mediterránea contaba con algo menos de 2.500 individuos maduros, en la actualidad se sospecha que este valor es mucho menor, probablemente alrededor de 500 (Notarbartolo di Sciara *et al.*, 2012). La captura accidental, las colisiones con embarcaciones y el estrés causado por el intenso tráfico marino se consideran los responsables de la disminución de la subpoblación mediterránea en el último medio siglo.



<b>Cachalote <i>Physeter macrocephalus</i> (Linnaeus, 1758)</b>			
Estado de conservación de la especie			
Fuente	Año	Población	Estado
ACCOBAMS (ACCOBAMS, 2021a)	2021	Mediterráneo	Amenazado
IUCN (Pirota <i>et al.</i> , 2021)	2006	Mediterráneo	Amenazado
Libro rojo de los Vertebrados de España	1992	Mediterráneo	Vulnerable
Marco jurídico de protección de la especie en el Mediterráneo			
Normativa	Anexo	Categoría	
Convenio de Barcelona (Enmienda de 2017)	II	En peligro o amenaza	
CITES (Revisión de 2021)	I	En peligro de extinción	
ACCOBAMS	I	Cetáceos a los que se aplica el acuerdo	
Convenio de Bonn / CMS (Revisión de 2015)	I	Especies migratorias en peligro	
Convenio de Berna (Revisión de 2018)	II	Especies estrictamente protegidas	
Directiva Hábitat (Directiva 92/43/CEE)	IV	Especies de interés comunitario que requieren protección estricta	
RD 139/2011	-	Incluido	
RD 1727/2007	-	Incluido	



#### **I.2.2.4.h – Rorcual común *Balaenoptera physalus* (Linnaeus, 1758)**

*Infraorden Mysticeti, familia Balaenopteridae*

Es el único mysticeto del mar Mediterráneo y el segundo animal más grande del planeta, solo superado por la ballena azul *Balaenoptera musculus*. Los adultos miden entre 22 y 25 metros y pesan entre 50 y 75 toneladas. Está extendido por todos los océanos del mundo, distinguiéndose dos subespecies: la del Atlántico norte y la del océano Antártico. Tiene un cuerpo largo y estilizado y una cabeza que acaba en punta. Como el resto de los rorcuales, tiene una serie de pliegues gulares en la región ventral de los dos tercios anteriores del cuerpo que le permite expandir el diámetro de su garganta cuando se alimenta llenando la boca de agua para luego filtrar su contenido a través de las barbas. Sus aletas pectorales son relativamente pequeñas con respecto al resto del cuerpo y su aleta dorsal es pequeña y alta, dirigida hacia atrás. Tiene una coloración negra azulada que se aclara hacia el vientre.

Prefiere las aguas oceánicas, aunque puede acercarse hacia áreas más costeras en busca de alimento (Notarbartolo di Sciara *et al.*, 2003). Se alimenta mediante filtración fundamentalmente de crustáceos planctónicos como el krill del norte *Meganyctiphanes norvegica* (Sars, 1856), pero también de bancos de peces de escaso tamaño (Druon *et al.*, 2012). Aunque en el pasado se consideraba que únicamente existía una población en el Mediterráneo aislada de la del Atlántico norte, actualmente se considera que en el Mediterráneo coexisten dos poblaciones distintas, una residente y otra que visita esta región durante el periodo invernal accediendo desde el Atlántico norte a través del estrecho de Gibraltar (Notarbartolo di Sciara *et al.*, 2016b). Sin embargo, la relación y la interacción entre ambas subpoblaciones está aún lejos de ser comprendida.

La población residente se desplaza por todo el Mediterráneo en busca de áreas con alta densidad de alimento, que durante el invierno se reparten por toda la cuenca occidental pero que en el verano parecen concentrarse en el oeste del mar de Liguria y el golfo de León (Notarbartolo di Sciara *et al.*, 2016b). Habitualmente viven en grupos de 6 a 10 individuos. Generalmente su distribución pelágica hace difícil su avistamiento, aunque gracias a la gran profundidad que se alcanza rápidamente en algunas zonas de la costa de Murcia, es posible observar desde tierra firme estos animales a su paso por ejemplo en cabo de Palos. Su población en el Mediterráneo se estimó en 2018 en 3.280 individuos (< 2.500 individuos maduros) (ACCOBAMS, 2021b)



<b>Rorcual común <i>Balaenoptera physalus</i> (Linnaeus, 1758)</b>			
Estado de conservación de la especie			
Fuente	Año	Población	Estado
ACCOBAMS (ACCOBAMS, 2021a)	2021	Mediterráneo	Amenazado
IUCN (Panigada y Notarbartolo di Sciara, 2012)	2010	Mediterráneo	Vulnerable
Libro rojo de los Vertebrados de España	2006	Mediterráneo	Vulnerable
Marco jurídico de protección de la especie en el Mediterráneo			
Normativa	Anexo	Categoría	
Convenio de Barcelona (Enmienda de 2017)	II	En peligro o amenaza	
CITES (Revisión de 2021)	I	En peligro de extinción	
ACCOBAMS	I	Cetáceos a los que se aplica el acuerdo	
Convenio de Bonn / CMS (Revisión de 2015)	I y II	Especies migratorias en peligro	
Convenio de Berna (Revisión de 2018)	II	Especies estrictamente protegidas	
Directiva Hábitat (Directiva 92/43/CEE)	IV	Especies de interés comunitario que requieren protección estricta	
RD 139/2011	-	Incluido	
RD 1727/2007	-	Incluido	



## I.3. Compuestos de estudio

### I.3.1. Contaminantes ambientales

#### *I.3.1.1. La contaminación química en el medio ambiente y los océanos*

La contaminación química puede definirse como la introducción de sustancias indeseables al medio ambiente, como resultado de la actividad humana, que son potencialmente dañinas para la salud de los organismos y de los ecosistemas en general. Desde 1950 se han sintetizado más de 140.000 sustancias químicas y pesticidas nuevos y en la actualidad están registrados al menos 350.000 químicos y combinaciones de químicos (Wang *et al.*, 2020). Alrededor de 5.000 han sido producidos en grandes volúmenes y se han dispersado ubicuamente por el medio ambiente con la consiguiente exposición a todos los seres vivos a escala prácticamente global; sin embargo, menos de la mitad han sido evaluados por su seguridad o toxicidad (Landrigan *et al.*, 2018). Muchos de estos contaminantes no solo son habitualmente detectados sino cuantificados en altas concentraciones incluso en aquellas zonas más alejadas de su origen, como pueden ser los polos terrestres (Dietz *et al.*, 2019, Fuoco *et al.*, 1996) o las profundidades de los océanos (Stegeman *et al.*, 1986).

La contaminación química es una amenaza para la salud de los humanos, la fauna salvaje y los ecosistemas. Actualmente, la contaminación es considerada como la principal causa ambiental de enfermedad humana y muerte prematura en el mundo (Wang *et al.*, 2016). Por ejemplo, se estima que en 2015 la contaminación mató a más personas que el sida, la tuberculosis y la malaria juntas, y 15 veces más que todas las guerras y formas de violencia (Forouzanfar *et al.*, 2016). Además, la contaminación afecta especialmente a las regiones más pobres y a las poblaciones marginales y las minorías (Landrigan *et al.*, 2018). Combatir la contaminación es un objetivo intrínsecamente relacionado, en mayor o menor medida, con varios de los diecisiete objetivos de desarrollo sostenible (ODS) establecidos en 2015 por la Asamblea General de la Organización de Naciones Unidas, incluidos en la Agenda 2030 (Tabla I.3.1). Sin embargo, a pesar de que combatir la contaminación es un objetivo deseable por todos los países y habitantes del globo por sus repercusiones directas sobre la salud y la supervivencia de los seres humanos, de la biodiversidad y de los ecosistemas, este es un desafío de enorme magnitud cuya correcta ejecución en muchos casos se contrapone a dinámicas sociales, culturales y económicas que acompañan a la civilización desde hace siglos. Contrariamente al pensamiento común, desarrollar y ejecutar políticas destinadas a la mitigación de la contaminación tiene un balance económico positivo ya que disminuye los gastos en sanidad y mejora la productividad de las poblaciones (Andersen y Clubb., 2013; Preker *et al.*, 2016).





**Tabla 1.3.1.** Principales Objetivos de Desarrollo Sostenible estrechamente relacionados con la lucha contra la contaminación

ODS	Descripción
ODS 3	Garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades.
ODS 6	Garantizar la disponibilidad de agua y su gestión sostenible y el saneamiento para todos.
ODS 9	Construir infraestructuras resilientes, promover la industrialización inclusiva y sostenible y fomentar la innovación.
ODS 10	Reducir la desigualdad en y entre países.
ODS 11	Lograr que las ciudades y los asentamientos humanos sean inclusivos, seguros, resilientes y sostenibles.
ODS 13	Adoptar medidas urgentes para combatir el cambio climático y sus efectos.
ODS 14	Conservar y utilizar de forma sostenible los océanos, los mares y los recursos marinos para el desarrollo sostenible.
ODS 15	Proteger, restablecer y promover el uso sostenible de los ecosistemas terrestres, gestionar los bosques de forma sostenible, luchar contra la desertificación, detener e invertir la degradación de las tierras y poner freno a la pérdida de biodiversidad biológica.

Los efectos de la contaminación no se limitan a los desarrollados tras exposiciones agudas, generalmente más llamativos. Los efectos más comunes son aquellos que se producen más sutilmente mediante la exposición crónica que es capaz de provocar alteraciones en innumerables procesos biológicos con consecuencias sobre todos los sistemas bioquímicos, enzimáticos, orgánicos y sobre el comportamiento (Aulsebrook *et al.*, 2020; Bertram *et al.*, 2022). Estas alteraciones tienen un potencial efecto sobre la salud de la fauna salvaje y la supervivencia de sus poblaciones, lo que tiene catastróficas consecuencias en la biodiversidad global. La contaminación química es reconocida como responsable directa de la pérdida a gran escala de biodiversidad y de especies animales (Rosenberg *et al.*, 2019; Sánchez-Bayo y Wychuys, 2019). La contaminación química afecta a las especies en conjunto con otros factores desencadenantes de la pérdida de biodiversidad, entre las que destacan el cambio climático y la destrucción de los hábitats, que están íntimamente relacionados en su conjunto (Bianchi y Morri, 2000). A pesar de que los organismos tienen una cierta capacidad de adaptarse a los cambios de su entorno, existen unos límites homeostáticos a partir de los cuales las modificaciones del entorno superan la capacidad de adaptación, desencadenando procesos de enfermedad y muerte. Por otro lado, el efecto que tiene cada uno de estos factores de manera individual conlleva a una limitación de la variabilidad interindividual, orientándose hacia los fenotipos que tienen éxito frente a ese factor. Esto produce un acotamiento y una modulación del acervo genético de las poblaciones, lo que limita las herramientas para combatir al resto de amenazas y disminuye la resiliencia de las



poblaciones (Groh *et al.*, 2022). Además, existen otras innumerables maneras en que estas amenazas actúan sinérgicamente contra la biodiversidad. Por ejemplo, mientras que el cambio climático tiene su origen en la liberación a la atmósfera de ciertos contaminantes volátiles, a su vez el cambio climático tiene consecuencias significativas en el transporte y distribución de estos y otros tantos contaminantes en el medio ambiente, directamente a través del cambio de las temperaturas o indirectamente mediante cambios en el pH del medio o el aumento de fenómenos atmosféricos extremos responsables de redistribuir contaminantes (Schartup *et al.*, 2019).

Los océanos constituyen un compartimento global especialmente susceptible a la acumulación de contaminación química ya que actúan como el desagüe del planeta, de manera que la mayoría de los contaminantes liberados al medio ambiente o sus metabolitos, si tienen la persistencia necesaria, finalmente acabarán en las aguas marinas, convirtiéndose así en el reservorio de estas sustancias. Actualmente los océanos albergan un amplio abanico de contaminantes que son ubicuos en toda su extensión y en toda su profundidad, aunque solo una pequeña porción de ellos está relativamente bien caracterizada. Las fuentes terrestres son responsables de aproximadamente el 80 % de la contaminación del océano, mientras que el 20 % restante proviene de actividades llevadas a cabo en los mares (Landrigan *et al.*, 2020). Los contaminantes acceden al mar desde el medio terrestre a través de transporte atmosférico, los ríos, la escorrentía o mediante descarga directa desde tierra, por ejemplo, a través de emisarios submarinos. Debido a ello, las costas, las bahías y los estuarios son aquellas zonas que acumulan mayores cargas de contaminación en comparación con el mar abierto, especialmente en aquellas zonas donde existe un mayor desarrollo urbano e industrial. Actualmente la contaminación marina más reconocida por la sociedad es la contaminación por plásticos, que viene en aumento desde los años 70, y que debe su atención no solo a su magnitud sino al hecho de que su presencia es visible al ojo humano. Aunque es una problemática de gran magnitud, este tipo de contaminación es solo la punta del iceberg, y paralelamente y desde mucho antes, los océanos han venido acumulando un sinnúmero de compuestos imperceptibles a la vista que son potencialmente responsables de multitud de consecuencias adversas en la salud de los océanos, su biota y del resto de seres que dependen de sus recursos, incluidos los humanos. Por lo tanto, esta contaminación tiene grandes repercusiones en aspectos tan dispares como la viabilidad de los recursos marítimos, la biodiversidad marina o la seguridad alimentaria (Alava *et al.*, 2017).

A lo largo de las últimas décadas se han desarrollado numerosos esfuerzos políticos y legislativos a nivel local, nacional e internacional con el fin de combatir la creciente contaminación medioambiental. En 2001 se firmó, al amparo del Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), el Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) con el objetivo de prohibir o restringir la producción de estos compuestos. Según el Convenio de Estocolmo, los contaminantes orgánicos persistentes son un grupo de sustancias



químicas orgánicas que a pesar de ser heterogéneas en su estructura y composición comparten ciertas características que las hacen extremadamente perniciosas para el medio ambiente. Estas características son su persistencia, su capacidad de transporte y distribución a través del aire, suelo y agua, su capacidad de bioacumulación y su toxicidad para el ser humano y la fauna silvestre. Actualmente el convenio se encuentra ratificado por 184 países. Inicialmente el convenio regulaba doce COPs que se agrupaban en tres anexos (*i.e.*, A, eliminación; B, prohibición; C, producción inintencionada) en función de su riesgo, sus aplicaciones y otras variables. El convenio dispone de mecanismos para que los países participantes puedan proponer nuevas sustancias para ser incluidas en los anexos o para mover una sustancia de un anexo a otro, de manera que desde su creación la lista se ha ampliado a treinta sustancias o grupos de sustancias a fecha de junio de 2022. Poco más de una década después, en enero de 2013 se firmó un tratado similar al amparo del PNUMA con respecto al mercurio y los compuestos de mercurio, el conocido como Convenio de Minamata, que entró en vigor en agosto de 2017. Este Convenio fue firmado por 140 países y tiene la finalidad de controlar las emisiones antrópicas de mercurio al medio ambiente mediante la reducción en su uso y la promoción de medidas de control de sus emisiones durante su obtención, utilización, transporte, almacenamiento y eliminación. En 2024 se prevé que comience la ratificación de un nuevo convenio internacional auspiciado por el PNUMA sobre la contaminación por plásticos. Otros acuerdos destacables sobre contaminación a nivel internacional son el Convenio de Ginebra de 1979 sobre contaminación atmosférica transfronteriza a gran distancia o la Convención sobre la prevención de la contaminación del mar por vertimientos de desechos y otros materiales de 1972.



### 1.3.1.2. Contaminantes de estudio

La siguiente tabla (Tabla I.3.2) sintetiza algunas características de los diferentes grupos de contaminantes contemplados en este trabajo, que serán detallados a continuación en los siguientes subapartados. Estos incluyen tanto contaminantes inorgánicos como contaminantes orgánicos, algunos cuyo estudio se remonta varias décadas atrás, y otros cuya relevancia medioambiental ha sido puesta de manifiesto más recientemente. Sin embargo, todos ellos tienen en común su ubicuidad en todos los ecosistemas del planeta parcial o totalmente a causa de las actividades humanas y su capacidad de ejercer efectos tóxicos sobre los organismos vivos, incluidos los cetáceos.

**Tabla I.3.2.** Esquema general de los contaminantes y grupos de contaminantes estudiados en este trabajo. La columna 'origen' hace referencia a su creación, no a su liberación al medio.

Nombre	Fórmula general	Origen	Fuentes antropogénicas al medio ambiente
Mercurio	Hg	—	Natural - Industria minera (extracción de oro, extracción y fundición de otros minerales) - Sector energético (quema de carbón en centrales térmicas)
Policlorobifenilos	PCBs	$C_{12}H_{10-x}Cl_x$	Sintético - Industria química y manufacturera (producción, fabricación, utilización y eliminación de estos compuestos o de elementos que los contengan)
Pesticidas organoclorados	—	—	Sintético - Agricultura (utilización) - Industria agroquímica (producción de las sustancias activas o de formulaciones completas que las contengan)
Polibromodifenil éteres	PBDEs	$C_{12}H_{10-x}Br_xO$	Sintético - Industria química y manufacturera (producción, fabricación, utilización y eliminación de estos compuestos o de elementos que los contengan)
Hidrocarburos aromáticos policíclicos	HAPs	$C_xH_y$	Natural y sintético - Industria petroquímica (extracción, transformación y transporte de combustibles fósiles) - Transporte marítimo (transporte de combustibles fósiles y vertidos intencionales y accidentales) - Sector energético e industrial (utilización de combustibles fósiles) - Transporte de personas y mercancías (utilización de derivados del petróleo)
Compuestos perfluoroalquilados	PFASs	$C_nF_{2n+1}R$	Sintético - Industria química y manufacturera (producción, fabricación, utilización y eliminación de estos compuestos o de elementos que los contengan)



### I.3.1.2.a – Mercurio

El mercurio (símbolo Hg) es un elemento químico extremadamente raro en la corteza terrestre, donde aparece mayormente como cinabrio (sulfuro de hidrógeno, HgS). Comúnmente es uno de los metales más reconocidos debido a que es el único metal con un punto de fusión inferior a los 0 °C, lo que le valió en el pasado el nombre de plata líquida o hidrargirio (del griego *hydor* (agua) y *argyros* (plata)). Sin embargo, el mercurio rara vez aparece en su forma elemental en la naturaleza, sino que se encuentra asociado a otros elementos formando compuestos inorgánicos y orgánicos.

La relación del ser humano con el mercurio se remonta milenios atrás en el tiempo. Sin embargo, la producción mundial de mercurio comenzó a alcanzar valores significativos a partir de la fiebre del oro de Norteamérica, aunque en la actualidad se concentra fundamentalmente en el este y el sureste asiático (> 50 % de la producción mundial). En el pasado se utilizó extensamente en la minería, principalmente del oro, y en la medicina, aunque su utilización en este último ámbito ha ido decayendo por su toxicidad, especialmente en los países occidentales. Sus usos actuales se concentran principalmente en la minería artesanal y de pequeña escala de oro, la industria química, la fabricación de elementos eléctricos/electrónicos y en aplicaciones de laboratorio e investigación. Gracias al avance en el conocimiento de sus características ambientales y toxicológicas, desde mediados del siglo XX se ha venido desarrollando una concienciación social creciente sobre los peligros del mercurio. Paralelamente, esta situación se ha reflejado en una presión legal cada vez mayor sobre la fabricación, comercialización y utilización del mercurio a través de numerosas legislaciones nacionales e internacionales que se acabó reflejando en el Convenio de Minamata sobre el Mercurio, un tratado internacional auspiciado por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA), ratificado en 2013 y firmado por 128 países. El nombre de este tratado proviene de la ciudad de Minamata (Prefectura de Kumamoto, Japón), donde más de una década de liberación continuada de metilmercurio por una compañía química local dio lugar a un desastre medioambiental acompañado de una catástrofe humana con miles de afectados.

Desde un punto de vista toxicológico, el mercurio es el metal tóxico de mayor relevancia medioambiental en el medio marino debido a su ciclo ambiental y a la bioacumulación y la toxicidad y de la forma orgánica que se origina en este medio (Landrigan *et al.*, 2020). Dada su naturaleza elemental, el mercurio no es creado o destruido por la intervención humana, pero sí es redistribuido desde la corteza terrestre, donde permanece inerte, hacia la biosfera. La liberación de mercurio al medio ambiente y a los océanos comenzó hace varios milenios con el desarrollo de la minería y la fundición; sin embargo, no fue hasta el siglo XVIII cuando comenzó a liberarse en cantidades medioambientalmente importantes (McConell y Edwards, 2008). Se estima que en los últimos 500 años las actividades humanas han sido responsables de incrementar 4,5 veces la



carga medioambiental de fondo que existía de manera natural en la biosfera, lo que se traduce en que un 70 % del mercurio disponible en el ambiente tiene un origen antrópico (Streets *et al.*, 2019; Sunderland *et al.*, 2009). La quema de carbón y la minería de oro son las principales fuentes antropogénicas emisoras de mercurio en la actualidad (UNEP, 2019). Por un lado, el carbón suele contener entre 0,01 y 0,10 mg/kg en contenido de este metal que es liberado durante su combustión a la atmósfera, donde recorre grandes distancias (Yudovich y Ketris, 2005). Por otro lado, la minería de oro a pequeña escala o artesanal utiliza el mercurio para amalgamar el oro presente en los minerales extraídos, desde donde el mercurio es liberado al medio ambiente mediante su evaporación o su vertido. En ambos casos, la liberación de Hg se produce fundamentalmente a la atmósfera, desde donde se transfiere a las aguas mediante diferentes procesos. Por otro lado, a pesar de que suponen una fracción menor con respecto al total del Hg liberado al medio ambiente (~ 10 %), las fuentes naturales también influyen en su distribución en la biosfera, siendo la actividad volcánica y la meteorización gradual de minerales que contienen mercurio las más importantes.

Una vez que las formas inorgánicas de mercurio alcanzan el medio marino, una porción del mercurio (II) disuelto sufre un complejo proceso de metilación desarrollado (principalmente) bióticamente por bacterias anaerobias como bacterias reductoras de sulfato, bacterias reductoras de hierro y bacterias metanogénicas presentes en este medio (Gilmour *et al.*, 2013; Yu *et al.*, 2013). Como consecuencia, el mercurio inorgánico se transforma en monometilmercurio (CH<sub>3</sub>Hg), más comúnmente conocido como metilmercurio (MeHg), una forma más tóxica que las especies inorgánicas que compone algo menos del 5% del mercurio en los sedimentos marinos pero hasta el 40 % en la columna de agua (Aschner y Aschner, 1990; Baatrup, 1991; Paranjape y Hall, 2017). A diferencia de las formas orgánicas, el metilmercurio no solo se bioacumula en los seres vivos, sino que también es capaz de biomagnificar en las redes tróficas, a las que penetra desde sus estratos inferiores mediante su incorporación al plancton mediante difusión pasiva (Schartup *et al.*, 2018). A partir de este punto será secuencialmente transferido a los organismos heterótrofos de niveles tróficos crecientes hasta alcanzar concentraciones de varios órdenes de magnitud superiores en los superdepredadores marinos en comparación con sus presas > los organismos de las posiciones inferiores de la cadena trófica > el medio abiótico (Bennet *et al.*, 2001; Lavoie *et al.*, 2013; Watras y Bloom, 1992). Cuando el MeHg es absorbido, este accede al torrente sanguíneo, desde donde se distribuye rápidamente primero al hígado, riñones y bazo, y posteriormente a otros tejidos como el músculo y el cerebro (Evans *et al.*, 2016; Oliveira Ribeiro *et al.*, 1999). El principal efecto tóxico del mercurio es la neurotoxicidad, que cursa con síntomas como alteraciones del comportamiento, pérdida de visión, ataxia o convulsiones (Ackerman *et al.*, 2016; Evers, 2018; Whitney y Cirstol, 2017). Además, también desarrolla efectos tóxicos a otros niveles como en la reproducción o el sistema inmune, entre otros (Bernhoft, 2012).



### I.3.1.2.b – Policlorobifenilos (PCBs)

Los policlorobifenilos (PCBs) o bifenilos policlorados son una serie de compuestos orgánicos sintéticos cuya estructura se basa en dos anillos de benceno unidos (bifenilo) en los que algunos de los átomos libres de hidrógeno han sido sustituidos por entre uno y diez átomos de cloro (Cl) que pueden aparecer en diferentes posiciones, dando lugar a 209 compuestos posibles denominados congéneres. Su estructura está definida por la fórmula  $C_{12}H_{10-x}Cl_x$ , donde  $x = 1-10 = m+n$  (Figura I.3.1).

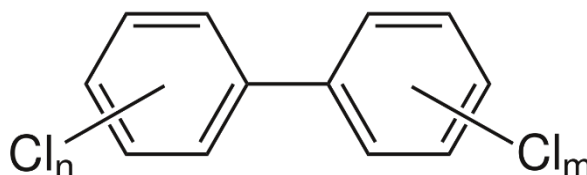


Figura I.3.1. Representación general de un policlorobifenilo.

La mayor parte de los congéneres de PCBs tienen forma de cristales y son incoloros e inodoros (Erickson, 2001). Sus características físico-químicas, su distribución y persistencia en el medio ambiente, así como sus propiedades toxicológicas, varían no solo en función del grado de cloración sino también en función de la posición de los átomos de cloro. De manera simplificada, a mayor número de átomos de cloro y menores sustituciones en las posiciones orto, mayor persistencia y capacidad de bioacumulación, menor volatilidad y solubilidad en agua, y mayor tendencia a asociarse con la materia orgánica (Henry y DeVito, 2003; Hens y Hens, 2017). Anteriormente, los PCBs eran clasificados en función de su configuración espacial, que viene determinada en gran medida por la posición de los átomos de cloro. Así, se distinguía entre PCBs coplanares o no-orto-PCBs, cuando no tienen ningún cloro en las posiciones orto (2, 2', 6, 6'), y PCBs no coplanares u orto-PCBs cuando sí lo tienen. Sin embargo, actualmente se sabe que aquellos PCBs llamados coplanares no adquieren estrictamente una configuración planar, tal y como sí hacen las dibenzodioxinas policloradas (PCDDs) y los dibenzofuranos policlorados (PCDFs), de manera que esta terminología está en desuso por considerarse técnicamente inapropiada (WHO, 2001). En la actualidad se utiliza una división en base a criterios biológicos que divide a los PCBs en aquellos que desempeñan una actividad tóxica similar a la de las PCDDs y PCDFs mediante la activación del receptor de hidrocarburos de arilo (AhR), un importante regulador de diversas funciones biológicas, y aquellos que no desempeñan tal actividad (WHO, 2001). Los PCBs similares a dioxinas son tan solo 12 de 209 congéneres posibles, sin embargo, han acaparado la atención de la mayor parte de investigación sobre estos compuestos.

Los PCBs fueron sintetizados por primera vez por Schmitt-Schulz en 1881, aunque su producción industrial no tuvo lugar hasta 1929, primero en Estados Unidos y posteriormente en el resto del mundo. Los PCBs fueron producidos en diferentes composiciones y diferentes compañías bajo



diferentes nombres comerciales, siendo Aroclor el más conocido. Sus características físico-químicas (p. ej., gran estabilidad química, bajo punto de inflamabilidad y alta constante dieléctrica) les hicieron ser útiles en multitud de aplicaciones, incluyendo en fluidos de transferencia térmica, refrigerantes y lubricantes en equipos eléctricos tales como transformadores y condensadores eléctricos, o como aditivos en la formulación de pinturas, tintes, plásticos, pesticidas, *etc.* (Hansen, 1999; Reddy *et al.*, 2019). Su utilización se extendió rápidamente por todo el planeta, alcanzó su apogeo en la década de los 70 (Breivik *et al.*, 2002). Los PCBs son compuestos excepcionalmente persistentes en el medio ambiente, donde fueron detectados por primera vez en 1966 (Jensen y Widmark, 1967), lo que los llevó a convertirse, junto al DDT, en los primeros contaminantes orgánicos en despertar preocupación a nivel social y político. Esto llevó a Europa y otros países a empezar a controlar o prohibir la producción, comercialización y utilización de estos compuestos entre 1970 y 1980 (Directive 76/769/CEE), hasta conseguir su prohibición casi total antes de 1990 en Europa y Estados Unidos. Esto llevó a los PCBs a formar parte de los 12 COPs iniciales incluidos en el Convenio de Estocolmo, donde están incluidos tanto dentro del Anexo I (eliminación) como dentro del Anexo III (producción inintencional) (UNEP, 2001). A pesar de ello existen excepciones concretas en su utilización, como ocurre para aquellos productos utilizados en ciertos equipos eléctricos (UNEP, 2005).

Los PCBs son compuestos ubicuos en el medio ambiente, siendo habitualmente detectados en todas las matrices abióticas y en todos los seres vivos del planeta, incluidos los seres humanos (Enrickson, 2001, McFarland y Clarke, 1989). Los PCBs llegan al medio ambiente tanto por su producción como la de elementos y equipos que los contienen, por la utilización de estos materiales y equipos, y por su eliminación. A pesar de que existen 209 congéneres, se estima que entre 100 y 150 de ellos están presentes en el medio ambiente (McFarland y Clarke, 1989). Las fuentes primarias de PCBs al medio ambiente incluyen tanto la liberación difusa desde todos los elementos y materiales en uso que los contienen, principalmente fugas de equipos eléctricos, como la liberación localizada desde los centros de producción, utilización o acumulación de elementos que contienen estos compuestos, incluyendo vertederos y otros lugares de acumulación de residuos o instalaciones donde se incineran residuos que contienen PCBs (ATSDR, 2000; Reddy *et al.*, 2019). Una vez en el medio natural, son excepcionalmente resistentes a la degradación física y química, al igual que al metabolismo de los seres vivos, donde se bioacumulan y biomagnifican (Enrickson, 2001). Tal y como ocurre con la mayoría de los contaminantes persistentes, los océanos actúan como el destino final de estos contaminantes (Loganathan y Kannan, 1994). La principal vía de entrada al medio marino son las lluvias y las inundaciones, que desplazan estos compuestos directamente al mar o indirectamente a los ríos que posteriormente desembocan en él (Rogowska *et al.*, 2010). En el medio marino se asocian principalmente a sedimentos, aunque una pequeña porción se mantiene en la columna de agua,





donde se reparte homogéneamente en su verticalidad (Karickhoff, 1981; Villeneuve *et al.*, 1980). Además, los PCBs son compuestos lipofílicos, con un alto índice de bioacumulación y con la capacidad de biomagnificar en las redes tróficas (Hens y Hens, 2017), donde son detectados en todos sus niveles, desde el plancton hasta los superdepredadores, pasando por las algas, los invertebrados y los peces (Geyer *et al.*, 1984).

A pesar de que todos los congéneres son tóxicos de alguna manera, los PCBs similares a las dioxinas son los considerados más tóxicos. Estos se subdividen a su vez en no-orto PCBs similares a dioxinas (*i.e.*, congéneres nº 77, 81, 126, 169), que son capaces de unirse al AhR de peces, aves y mamíferos, desarrollando una toxicidad similar a la de las dioxinas, y los mono-orto PCBs similares a dioxinas (*i.e.*, congéneres nº 105, 114, 118, 123, 156, 157, 167, 189), que son capaces de unirse al AhR de aves y mamíferos, pero generalmente no en peces. En cuanto a los PCBs no similares a dioxinas, su exposición puede tener diferentes consecuencias sobre la salud. En los mamíferos, algunos de estos congéneres han demostrado ser capaces de actuar mediante mecanismos ajenos al AhR para producir efectos neurológicos, endocrinos, inmunológicos e incluso carcinogénicos (Henry y DeVito, 2003). Sin embargo, a pesar de que los PCBs similares a dioxinas suponen un porcentaje menor del total de PCBs comprendido en las muestras ambientales, numerosos estudios de laboratorio y de campo desarrollados sobre fauna expuesta a mezclas de PCBs han demostrado que la mayor parte, sino toda la toxicidad causada por estas mezclas puede explicarse por los efectos derivados con la interacción de los PCBs similares a dioxinas y el AhR (Hens y Hens, 2017). Estos efectos incluyen alteraciones en la reproducción y el desarrollo, alteraciones en los sistemas endocrino e inmune y la producción de cáncer (ATSDR, 2000).

La siguiente tabla (Tabla I.3.3) muestra los congéneres incluidos en el presente trabajo, que incluyen todos los PCBs similares a dioxinas y otros congéneres seleccionados por su relevancia medioambiental.



**Tabla I.3.3.** Listado y principales características de los policlorobifenilos (PCBs) estudiados en este trabajo. Valores de Factores de Equivalencia Tóxica obtenidos de Van den Berg et al. (2006).

Congéneres	Átomos de cloro		CAS RN	Similar a dioxina	Tipo	WHO 2005 TEF*
	Número	Posición				
28	3Cl	2,4,4'	7012-37-5	No	—	—
52	4Cl	2,2',5,5'	35693-99-3	No	—	—
77	4Cl	3,3',4,4'	32598-13-3	Sí	no-orto	0,0001
81	4Cl	3,4,4',5	70362-50-4	Sí	no-orto	0,0003
101	5Cl	2,2',4,5,5'	37680-73-2	No	—	—
105	5Cl	2,3,3',4,4'	32598-14-4	Sí	mono-orto	0,00003
114	5Cl	2,3,4,4',5	74472-37-0	Sí	mono-orto	0,00003
118	5Cl	2,3',4,4',5	31508-00-6	Sí	mono-orto	0,00003
123	5Cl	2,3',4,4',5'	65510-44-3	Sí	mono-orto	0,00003
126	5Cl	3,3',4,4',5	57465-28-8	Sí	no-orto	0,1
138	6Cl	2,2',3,4,4',5'	35065-28-2	No	—	—
153	6Cl	2,2',4,4',5,5'	35065-27-1	No	—	—
156	6Cl	2,3,3',4,4',5	38380-08-4	Sí	mono-orto	0,00003
157	6Cl	2,3,3',4,4',5'	69782-90-7	Sí	mono-orto	0,00003
167	6Cl	2,3',4,4',5,5'	52663-72-6	Sí	mono-orto	0,00003
169	6Cl	3,3',4,4',5,5'	32774-16-6	Sí	no-orto	0,03
180	7Cl	2,2',3,4,4',5,5'	35065-29-3	No	—	—
189	7Cl	2,3,3',4,4',5,5'	39635-31-9	Sí	mono-orto	0,00003



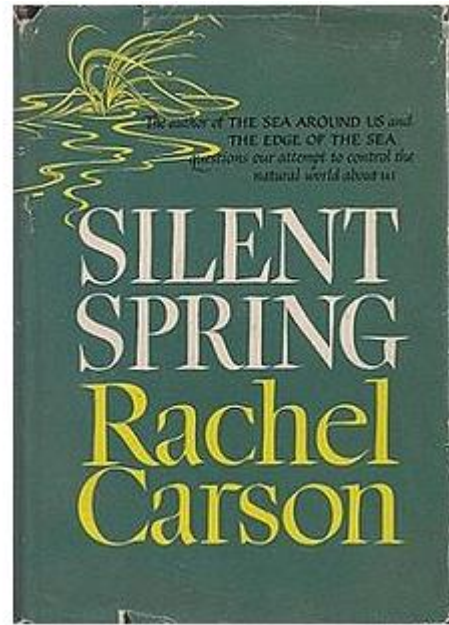
### I.3.1.2.c – Pesticidas organoclorados

Los pesticidas son cualquier sustancia o mezcla de sustancias utilizada para prevenir, controlar o destruir plagas de plantas (herbicidas), hongos (fungicidas), de insectos (insecticidas), roedores (rodenticidas), o cualquier otra especie de animal que sea perjudicial para el ser humano, sus cultivos o sus pertenencias. Los pesticidas organoclorados abarcan un grupo muy diverso de sustancias orgánicas sintéticas que tienen en común contener en su estructura cinco o más enlaces covalentes de cloro para aprovechar sus características biocidas. Se encuentran entre los primeros pesticidas artificiales sintetizados y se utilizan fundamentalmente como insecticidas cuyo mecanismo de acción se basa en la alteración de la función del sistema nervioso central (Zacharia, 2011). A pesar de ello, cada grupo de pesticidas organoclorados tiene una estructura particular y características físico-químicas propias y diferentes del resto, lo que les confiere unas características toxicológicas también distintas. Por ejemplo, mientras que el dicloro difenil tricloroetano (DDT) y sus metabolitos afectan la comunicación neuronal mediante la alteración de los canales de sodio, los pesticidas organoclorados ciclodiénicos (*i.e.*, aldrina, endrina, dieldrina, heptacloro y endosulfán) se unen a los receptores del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) (Starling, 2016).

El compuesto más relevante de este grupo es el DDT. Su utilidad como pesticida fue descubierto en 1939 por Paul Hermann Müller, lo que le valió el premio Nobel en Medicina, siendo la primera persona en recibirlo sin ser médico, por la efectividad de este compuesto en el control de plagas en la agricultura y de vectores responsables de transmisión de enfermedades de relevancia para la salud pública, como la malaria. El descubrimiento de este compuesto marcó un hito en la historia moderna de los pesticidas por la influencia que tuvo este compuesto, primero en la Segunda Guerra Mundial, donde permitió combatir las plagas y enfermedades transmitidas por vectores que afectaban a las tropas (p. ej., malaria, tifus, piojos, garrapatas, *etc.*), y posteriormente en la conocida como ‘Revolución verde’, que tuvo lugar en los años 60 y 70 motivada por la aparición de nuevos fertilizantes y pesticidas, técnicas de cultivo y variedades de alto rendimiento de cereales. Esto conllevó un incremento de la productividad agrícola que permitió luchar contra la escasez de alimentos (Abubakar *et al.*, 2020). Sin embargo, en 1962, Rachel Carson, una bióloga estadounidense, publicó su libro *Primavera silenciosa* (Figura I.3.2), siendo la primera persona con proyección social en denunciar los riesgos y las implicaciones medioambientales del DDT, lo que contribuyó al desarrollo temprano de una concienciación sobre el uso de esta sustancia. Esto desencadenó el comienzo de un movimiento social y político que convirtió al DDT en el primer contaminante orgánico en ser reconocido como una amenaza para el medio ambiente, lo que llevó a la EPA (*Environmental Protection Agency*) a prohibir esta sustancia en EEUU en



1973, ejemplo que fue seguido poco después en Europa y otros tantos países (Blus, 2003). El DDT fue el primero de muchos pesticidas organoclorados sobre los que se ha ido creando consciencia debido a los continuos hallazgos sobre su ubicuidad y persistencia en el medio ambiente y sus efectos sobre los seres vivos, de manera que, en la actualidad, casi todos los pesticidas organoclorados están prohibidos en Europa, EEUU y muchos otros países. Nueve de los doce COPs iniciales incluidos en la creación del Convenio de Estocolmo en 2001 (en vigor desde 2004) son pesticidas organoclorados: aldrina, clordano, DDT, dieldrina, endrina, heptacloro, hexaclorobenceno, mirex y toxafeno (UNEP, 2001). Todos ellos se incluyeron en el Anexo A del Convenio a excepción del DDT, que se incluyó en el Anexo B ya que, aunque se prohibió su utilización en los cultivos, se mantuvo su utilización para el control de insectos transmisores de enfermedades, principalmente la malaria. Posteriormente se han incluido numerosos pesticidas adicionales, siendo los más conocidos el dicofol, los isómeros I y II de endosulfan y los isómeros  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  del hexaclorociclohexano.



**Figura I.3.2.** Portada original del libro 'Primavera silenciosa' publicado en 1962.

Los pesticidas organoclorados son liberados al medio ambiente mediante su uso intencional en el ámbito agrícola fundamentalmente, aunque existen ciertos focos de contaminación como aquellos lugares en que se producen o se almacenan en grandes cantidades. Una vez en la naturaleza, pueden ser transportados de diferentes maneras hasta alcanzar el medio marino, donde, debido a su carácter hidrofóbico, al igual que los PCBs, se asocian principalmente al material particulado en suspensión y, principalmente, a los sedimentos, donde se acumulan principalmente (Karickhoff *et al.*, 1979). Como muchos otros contaminantes orgánicos persistentes, los pesticidas organoclorados son lipófilos, lo que les permite acumularse en los organismos y biomagnificarse en las redes tróficas. Estos contaminantes no solo afectan a las especies diana para las que fueron utilizados, sino que son capaces de desarrollar efectos tóxicos en todas las clases de vida, incluido los vertebrados, donde sus efectos son muy variados e incluyen, entre otros, la alteración de numerosos sistemas enzimáticos, bioquímicos y hormonales, alteraciones reproductivas o alteraciones genéticas que pueden conducir al desarrollo de cáncer (Starling, 2016).

La siguiente tabla (Tabla I.3.4) muestra los compuestos e isómeros estudiados en este trabajo, que se corresponden con los pesticidas organoclorados de mayor utilización y aquellos de mayor relevancia medioambiental.



**Tabla I.3.4.** Listado y principales características de los plaguicidas organoclorados estudiados en este trabajo.

Fórmula molecular	Nombre común	CAS RN	COP (Anexo)	Estructura
C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>6</sub>	α-hexaclorociclohexano (α-HCH)	319-84-6	Sí (A)	
	β-hexaclorociclohexano (β-HCH)	319-85-7	Sí (A)	
	γ-hexaclorociclohexano (γ-HCH), o lindano	55-89-9	Sí (A)	
	δ-hexaclorociclohexano (δ-HCH)	319-86-8	No	
C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub>	Aldrina	309-00-2	Sí (A)	
C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	Endrina	72-20-8	Sí (A)	
C <sub>12</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>6</sub> O	Dieldrina	60-57-1	Sí (C)	
C <sub>14</sub> H <sub>9</sub> Cl <sub>5</sub>	p,p'-dicloro difenil tricloroetano (p,p'-DDT)	50-29-3	Sí (B)	
C <sub>14</sub> H <sub>8</sub> Cl <sub>4</sub>	p,p'-dicloro difenil dicloroetileno (p,p'-DDE)	72-55-9	No	



$C_{14}H_{10}Cl_4$	p,p'-dicloro difenil dicloroetano (p,p'-DDD)	72-54-8	No	
$C_{10}H_5Cl_7$	Heptacloro	76-44-8	Sí (A)	
$C_6Cl_6$	Hexaclorobenceno (HCB)	118-74-1	Sí (A+C)	
$C_{16}H_{15}Cl_3O_2$	Metoxicloro	72-43-5	En proceso (A)	
$C_{10}Cl_{12}$	Mirex	2385-85-5	Sí (A)	
$C_9H_6Cl_6O_3S$	Endosulfán I	959-98-8	Sí (A)	
	Endosulfán II	33213-65-9	Sí (A)	



### I.3.1.2.d – Polibromodifenil éteres (PBDEs)

Los polibromodifenil éteres (PBDEs) son un grupo de compuestos orgánicos bromados formados por dos anillos bencenos unidos por un átomo de oxígeno (lo que les da el nombre de éteres) en los que los carbonos que no se encuentran enlazados al oxígeno pueden estar parcial o completamente unidos a átomos de bromo (Br). A pesar de ser estructuralmente similares a los PCBs, presentan dos diferencias clave: la unión de los anillos aromáticos mediante un átomo de oxígeno intermedio, y la utilización de átomos de bromo en vez de cloro como sustituyentes halogenados de los hidrógenos libres. Están definidos por la fórmula  $C_{12}H_{10-x}Br_xO$ ; donde  $x = 1-10 = m+n$  (Figura I.3.3), de manera que existen 209 sustancias posibles, en función del número de átomos de bromo y sus posiciones, que son llamadas congéneres.

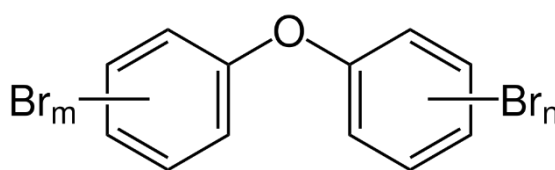


Figura I.3.3. Representación general de un polibromodifenil éter.

Los PBDEs son compuestos sintéticos introducidos en el ámbito comercial en la década de los 70 como retardantes de la llama, un grupo amplio de sustancias químicas utilizadas en numerosos productos para inhibir o retardar los procesos de combustión (EPA, 2014). A nivel comercial no se vendían los congéneres aislados, sino que se vendían mezclas denominadas en base al isómero más común en su formulación. Así, los PBDEs han sido producidos y vendidos como tres formulaciones técnicas distintas denominadas según el isómero predominante en la mezcla: penta-BDEs (50-62 % congéneres de 5 átomos de Br), octa-BDEs y deca-BDEs. Cada una de estas mezclas tiene propiedades diferentes y únicas que les confiere diferentes aplicaciones. Así, mientras que los penta-BDEs han sido fundamentalmente usados en espumas de poliuretano y en textiles, los octa- y deca-BDEs se han añadido a plásticos y aparatos electrónicos (Lorber, 2008; Vonderheide *et al.*, 2008). A pesar de que fueron descritos en el medio ambiente a finales de la década de los 70 (Alonso *et al.*, 2014), poco después de su introducción en el mercado, a diferencia de los pesticidas organoclorados y los PCBs, los PBDEs continuaron siendo producidos y utilizados en nuestro entorno hasta hace relativamente poco. En 2004 la Unión Europea prohibió la producción y comercialización de las mezclas comerciales penta- y octa-BDEs (Directive 2003/11/EC), y en 2008 los deca-BDEs (Directive 2003/11/EC; Tribunal de Justicia de la Unión Europea, 2008). Estas prohibiciones se produjeron de manera similar tanto en EEUU y otras numerosas regiones (Sharkey *et al.*, 2020). En 2009 los penta- y octa-BDEs fueron incluidos en el Anexo A del Convenio de Estocolmo y, finalmente, los deca-BDEs hicieron lo propio en 2017 (Stockholm Convention 2009a, b; 2017). No obstante, a pesar de las prohibiciones, muchos



PBDEs siguen almacenados, comercializados y utilizados en diversas regiones, lo que es un problema añadido a aquellos que aún persisten en los ambientes de aquellos lugares donde fueron usados en el pasado.

Como la mayoría de COPs, los PBDEs son compuestos liposolubles, tóxicos y capaces de recorrer grandes distancias. Debido a que los PBDEs no están unidos covalentemente a las matrices que los contienen, sino que están físicamente atrapados en su estructura, son liberados fácilmente a través de la degradación de la matriz (EPA, 2014). De esta forma, la principal vía de entrada de los PBDEs al medio ambiente es la liberación difusa de estos contaminantes en aquellas zonas (*i.e.*, ciudades y zonas industriales) que concentran elementos que los contienen en su estructura, aunque también son importantes algunos focos más localizados como pueden ser instalaciones de reciclaje electrónico, vertederos y plantas de tratamiento de residuos (Deng *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2012). Los PBDEs son compuestos relativamente poco volátiles, y tienden a asociarse a partículas, aunque son capaces de recorrer grandes distancias mediante transporte atmosférico, al igual que a través del transporte oceánico (Law *et al.*, 2014). En el medio marino se encuentran fundamentalmente asociados al material particulado y se acumulan principalmente en los sedimentos, al igual que el resto de contaminantes hidrofóbicos (de Boer *et al.*, 1998; Lee, 2015).

El número de átomos de bromo condiciona tanto su distribución en el medio natural como su interacción con los organismos vivos tanto en su acumulación, distribución, metabolismo o capacidad de producir efectos sobre la salud (De Witt *et al.*, 2002). Generalmente los seres vivos acumulan PBDEs con cuatro o cinco átomos de Br, que tienen características físico químicas similares a otros COPs como los PCBs o el DDT (Rahman *et al.*, 2001; Tittlemier *et al.*, 2002), mientras que los PBDEs de mayor bromación son menos bioacumulables, y, una vez en el organismo, fácilmente metabolizables en otros congéneres de menor bromación (He *et al.*, 2006; Kierkegaard *et al.*, 2007; Stapleton *et al.*, 2006). Algo similar ocurre en el medio natural, donde diversos factores como la luz degradan rápidamente los PBDEs de mayor bromación (De Witt *et al.*, 2002). Una vez en el organismo, los PBDEs pueden afectar a la salud mediante diferentes vías, incluyendo desequilibrios en las hormonas tiroideas, alteraciones en el desarrollo neurológico durante la gestación o el desarrollo de tumores (Hall *et al.*, 2003; McDonald, 2002; Rajput *et al.*, 2018).

La siguiente tabla (Tabla I.3.5) muestra los congéneres estudiados en el presente trabajo, seleccionados en base a su relevancia medioambiental:





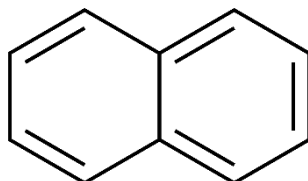
**Tabla I.3.5.** Listado y principales características de los polibromodifenil éteres (PBDEs) estudiados en este trabajo.

Congénere	Átomos de bromo		CAS RN	COP (anexo)
	Número	Posición		
28	3Br	2,4,4'	49690-94-0	No
47	4Br	2,2',4,4'	40088-47-9	Sí (A)
85	5Br	2,2',3,4,4'	32534-81-9	Sí (A)
99	5Br	2,2',4,4',5	32534-81-9	Sí (A)
100	5Br	2,2',4,4',6	32534-81-9	Sí (A)
153	6Br	2,2',4,4',5,5'	36483-60-0	Sí (A)
154	6Br	2,2',4,4',5,6'	36483-60-0	Sí (A)
183	7Br	2,2',3,4,4',5',6	68928-80-3	Sí (A)



### I.3.1.2.e – Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs)

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son un amplio grupo de compuestos orgánicos caracterizados por estar formados únicamente por átomos de carbono e hidrógeno organizados en dos o más anillos de benceno unidos (fórmula  $C_xH_y$ ; [Figura I.3.4](#)).



*Figura I.3.4. Representación de hidrocarburo aromático policíclico más básico: el naftaleno ( $C_{10}H_8$ ).*

Son unos contaminantes ambientales de origen tanto antropogénico como natural. Debido a ello, los seres vivos siempre han estado expuestos a ellos. Sin embargo, la intervención humana, que se ha convertido en la principal fuente de estos compuestos al medio ambiente ([WHO, 2003](#)), ha dado lugar a la liberación sin precedentes de estos compuestos a la naturaleza. Las principales fuentes de liberación de HAPs al medio ambiente son la quema de materia orgánica, principalmente madera y combustibles fósiles, y su liberación desde el petróleo y derivados que alcanzan el medio natural mediante filtraciones naturales y vertidos accidentales o intencionados. Al igual que ocurre con la mayoría de contaminantes, los mares y océanos actúan como los destinos finales de una gran parte de los HAPs liberados al medio ambiente ([Latimer y Zheng, 2003](#)). En función de su origen, los HAPs liberados al medio ambiente se clasifican en petrogénicos, si derivan del petróleo, o pirogénicos, si derivan de la combustión de materia orgánica ([Barakat et al., 2011](#); [Lawal, 2017](#)). Este origen condiciona la composición de los HAPs, emitidos. Así, mientras que aquellas fuentes petrogénicas liberan principalmente HAPs de bajo peso molecular ( $\leq 3$  anillos aromáticos) y a sus homólogos alquilados, las fuentes pirogénicas generalmente dan lugar a HAPs de alto peso molecular ( $\geq 4$  anillos aromáticos) sin alquilar ([Collier et al., 2013](#)). Su peso molecular, que viene dado en gran medida por el número de anillos aromáticos que contienen en su estructura, condiciona sus características físico-químicas, que a su vez tienen una intensa repercusión tanto en su distribución en el medio ambiente y los organismos vivos como en su toxicidad ([Berrojalbiz et al., 2011](#); [Lourenço et al., 2016](#)). A pesar de ello, los HAPs son compuestos con un cociente octanol/agua ( $K_{ow}$ ) alto, lo que los hace lipófilos, poco solubles y no demasiado volátiles. Estas características se intensifican conforme aumenta su peso molecular, de manera que los HAPs de bajo y alto peso molecular no se distribuyen uniformemente en el medioambiente ni interactúan de la misma manera con el organismo ([Latimer y Zheng, 2003](#)).



Las fuentes de contaminación más sonadas y estudiadas de estos compuestos son los llamativos y voluminosos vertidos de petróleo derivados de accidentes de embarcaciones petrolíferas o plataformas petrolíferas. Un caso relativamente reciente muy sonado en España fue el del petrolero Prestige (Figura I.3.5), que se hundió frente a las costas de Galicia en noviembre de 2002 y ocasionó un vertido de

77.000 toneladas de crudo. Se estima que el 53% del petróleo que alcanza los océanos es de origen antropogénico, mientras que el resto se debe a filtraciones desde sus depósitos naturales (Polinov, 2021). Sin embargo, a pesar de



su repercusión mediática y social, se estima que los

**Figura I.3.5.** Momento en que el casco del Prestige se partió en dos, el 13 de noviembre de 2002 frente a las costas de Galicia.

vertidos accidentales “solo” suponen el 8% del petróleo antropogénico liberado al medio marino, mientras que aproximadamente el 45% restante se debe a pequeñas y continuadas emisiones deliberadas, por ejemplo, mediante la limpieza de los tanques de embarcaciones petrolíferas en alta mar (GESAMP, 2007). La quema de combustibles fósiles, las erupciones de volcanes y los incendios forestales son otras grandes fuentes directas o indirectas de HAPs al ambiente y al medio marino, a los que se unen otras fuentes menores (o mayores, en zonas alejadas de la influencia humana) como la deposición atmosférica (Tsapakis y Stephanou, 2005; Tsapakis *et al.*, 2006). Una vez alcanzan las aguas marinas, los HAPs se fraccionan en dos porciones, una que se diluye en el agua y otra que se asocia a partículas orgánicas e inorgánicas que se encuentran en suspensión o sedimentadas en el fondo oceánico, el cual actúa como un reservorio para estos compuestos (Baumard *et al.*, 1998a). Como los HAPs de bajo peso molecular son más solubles en agua, están más presentes en la columna de agua que sus homólogos de mayor peso molecular, que se encuentran en mayor proporción en la fase particulada (Dachs *et al.*, 1997). A pesar de que se encuentran presentes en todos los océanos, en toda su superficie y verticalidad, existe un gradiente de concentración creciente en torno a aquellas regiones costeras localizadas donde se producen emisiones focalizadas de gran magnitud (puertos, vertidos urbanos e industriales, *etc.*) (Barakat *et al.*, 2011; Baumard *et al.*, 1998a, b; Merhaby *et al.*, 2019).

Los HAPs no son tan resistentes a la degradación como otros contaminantes ambientales; sin embargo, en ausencia de luz y en zonas de baja temperatura, y especialmente cuando están asociados a otras partículas, pueden permanecer durante largos periodos de tiempo intactos (Latimer y Zheng, 2003; Lipiatou *et al.* 1997). Esta persistencia, junto a su carácter liposoluble,



su capacidad de ser transportados grandes distancias y su toxicidad para los seres vivos hacen que estos compuestos sean frecuentemente considerados COPs. A pesar de ello, los HAPs no están incluidos en el Convenio de Estocolmo, aunque sí en otros acuerdos de carácter internacional como el Convenio de Ginebra sobre Contaminación Transfronteriza a gran distancia.

Aunque su alta liposolubilidad les facilita el paso del medio a los seres vivos (Balcioğlu, 1996), a diferencia del resto de contaminantes liposolubles considerados en este trabajo, los HAPs no biomagnifican, al menos en las posiciones más altas de la cadena trófica, donde en muchas ocasiones incluso se “biodiluyen” (Broman *et al.*, 1990; Nakata *et al.*, 2003; Takeuchi *et al.*, 2009; Wan *et al.*, 2007). Los cetáceos, al igual que el resto de vertebrados y otros animales superiores, disponen de mecanismos eficaces capaces de transformar estos compuestos en otros más hidrosolubles más fácilmente excretables (Collier and Varanasi, 1991; Varanasi *et al.*, 1989). El metabolismo de estas sustancias ocurre gracias a los sistemas enzimáticos del citocromo P450 (Kannan and Perrotta, 2008). No obstante, en ocasiones se han detectado niveles muy altos de estos compuestos que se sugiere que son capaces de superar los mecanismos de detoxificación de estas especies (Fair *et al.*, 2010). Por otro lado, a pesar de disponer de mecanismos de detoxificación que impiden la bioacumulación a largo plazo de estas sustancias, la exposición continuada a la que los cetáceos y otros muchos organismos superiores están sometidos no les exime de la toxicidad de estos compuestos.

En relación con sus efectos tóxicos, el más estudiado y, quizá el más importante para la salud humana y animal, es la carcinogenicidad. Muchos HAPs son reconocidos carcinógenos en animales y humanos (IARC, 2022; NTP, 2000). Sin embargo, la mayoría de ellos necesita una activación previa en la que son transformados en metabolitos capaces de unirse covalentemente con el ADN para formar aductos de ADN (Baird *et al.*, 2005; Miller y Miller, 1981; Varanasi *et al.*, 1989). Otros efectos derivados de la exposición aguda o crónica a estos contaminantes son la citotoxicidad, inmunotoxicidad o las alteraciones hormonales y reproductivas (Dejmek *et al.*, 2000; Perera *et al.*, 2012; Villeneuve *et al.*, 2002).

En base a su toxicidad y su prevalencia en el medio ambiente, entre otros motivos, la EPA seleccionó en 1987 (EPA, 1987) 16 HAPs de referencia, que han sido los estudiados en este trabajo (Tabla I.3.6).



**Tabla 1.3.6.** Listado y principales características de los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) estudiados en este trabajo.

Compuesto	Fórmula	Anillos	IARC	CAS RN	Estructura
Acenafteno	C <sub>12</sub> H <sub>10</sub>	3	3	83-32-9	
Acenaftileno	C <sub>12</sub> H <sub>8</sub>	3	—	209-96-8	
Antraceno	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub>	3	3	120-12-7	
Benz[a]antraceno	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	4	2B	56-55-3	
Benzo[a]pireno	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	5	1	50-32-8	
Benzo[b]fluoranteno	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	5	2B	205-99-2	
Benzo[ghi]perileno	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	6	3	191-24-2	
Benzo[k]fluoranteno	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	5	2B	207-08-9	
Criseno	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub>	4	2B	218-01-9	
Dibenz[ah]antraceno	C <sub>22</sub> H <sub>14</sub>	5	2A	53-70-3	

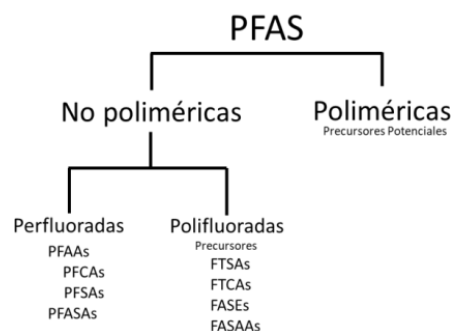


Fluoranteno	$C_{16}H_{10}$	4	3	206-44-0	
Fluoreno	$C_{13}H_{10}$	3	3	86-73-7	
Indeno[1,2,3-cd]pireno	$C_{22}H_{12}$	7	2B	193-39-5	
Naftaleno	$C_{10}H_8$	2	2B	91-20-3	
Fenantreno	$C_{14}H_{10}$	3	3	85-01-8	
Pireno	$C_{16}H_{10}$	4	3	129-00-0	



### I.3.1.2.f – Sustancias per- y polifluoroalquiladas (PFASs)

Las sustancias per- y polifluoroalquiladas (PFASs, por sus siglas en inglés ‘*per- and polyfluoroalkyl substances*’) son un conjunto de sustancias (Figura I.3.6) que pueden aparecer aisladas (no poliméricas) o como parte de polímeros (poliméricas), que tienen en común el ser moléculas alifáticas que contienen uno o más átomos de carbono en el que todos los sustituyentes de hidrógeno (H) han sido sustituidos por átomos de flúor (F). Los PFASs no poliméricos se dividen dos grandes grupos que tienen en común el estar conformados por una cadena alifática alquímica asociada a un grupo funcional variable. Aquellas que tienen todos los carbonos de la cadena alifática saturados por átomos de flúor son denominadas sustancias perfluoroalquiladas, mientras que aquellas en que los átomos de flúor han sustituido todos los átomos de hidrógeno de algunos carbonos de la cadena alifática son denominados sustancias



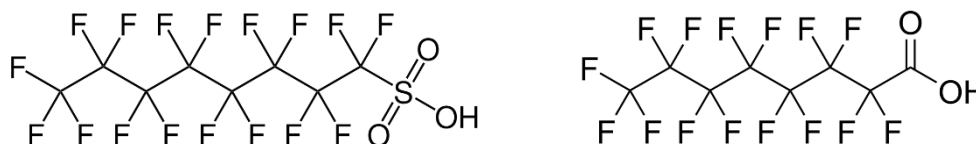
**Figura I.3.6.** Resumen de la familia PFAS. Extraída de ITRC (2017).

polifluoroalquiladas. Las sustancias perfluoroalquiladas son aquellas que han acaparado la mayor parte de la atención de los científicos por su mayor prevalencia y persistencia en el medio ambiente (Kannan *et al.*, 2005). Están definidas por la fórmula  $C_nF_{2n+1}R$ , donde  $n$  representa la longitud de la cadena de carbono y  $R$  la cabeza del grupo funcional. Aunque generalmente son representados como cadenas lineales, aparecen tanto como cadenas lineales como ramificadas, lo que puede dar información sobre sus fuentes y métodos de producción (Buck *et al.*, 2011). Dentro de las sustancias perfluoroalquiladas existen diversas familias de las cuales la más estudiada ha sido la de los ácidos perfluoroalquilados (PFAAs), los cuales se subdividen en varias subfamilias en función del grupo funcional que contengan, siendo las de mayor relevancia medioambiental los ácidos carboxílicos/carboxilatos perfluoroalquílicos (PFCAs; con un grupo carboxilo,  $R-COOH/ R-COO^-$ ), los ácidos sulfónicos/sulfonatos de perfluoroalcanos (PFSAs, con un grupo sulfonilo,  $R-SO_3H/ R-SO_3^-$ ) y en menor medida algunos precursores de los anteriores como las sulfonamidas de perfluoroalcanos (PFASAs) (estructura general en Tabla I.3.7). A pesar de que estos compuestos son habitualmente referidos en las publicaciones científicas, técnicas y legales en sus formas ácidas o protonadas, la mayoría de estos textos realmente hacen referencia a sus sales, ya que en el medio ambiente la inmensa mayoría aparece en sus formas aniónicas o desprotonadas, que tienen unas características físico-químicas significativamente diferentes (ITRC, 2017). Por comodidad y por ser las formas de mayor relevancia medioambiental, en este texto haremos referencia a ellos en sus formas de sal excepto que se indique lo contrario.

Aunque el primer PFAS (ácido trifluoroacético,  $CF_3COOH$ ) fue sintetizado en 1920, su explotación comercial no empezó hasta los años 50 a partir del descubrimiento del



politetrafluoroetileno (PFTE), más conocido como teflón (Kraft y Riess, 2015). Desde entonces se han sintetizado innumerables compuestos de esta naturaleza hasta la actualidad, habiéndose sintetizado ya más de 10.000 PFASs (EPA, 2021). La mayor parte de las características de los PFASs provienen de la naturaleza del enlace entre el carbono y el flúor, el enlace covalente más fuerte que existe en la naturaleza (Banks, 1994). Entre sus propiedades destacan una extrema hidrofobia junto a una alta lipofobia que les confieren unas características únicas como surfactantes (su principal uso), y una extrema estabilidad térmica y química que les permiten desempeñar su función en condiciones extremas (Kraft y Riess, 2015). Estas características los hacen útiles en multitud de aplicaciones. Son utilizados en numerosos productos industriales y de consumo, incluyendo en tejidos impermeables y antimanchas, elementos en contacto con alimentos (sartenes antiadherentes, envoltorios de comida), productos de limpieza, espumas contra incendios, en líquidos hidráulicos para la industria aeronáutica, *etc.* (Renner, 2001). A pesar de que ya en 1968 se detectó la presencia de PFASs en sangre humana, este hecho pasó desapercibido y desde el comienzo de su comercialización, su producción aumentó continuamente hasta el año 2001, cuando se hizo pública su ubicuidad en el medio ambiente global a través de un estudio publicado por Giesy y Kannan (2001) donde se reportaron concentraciones altas de sulfonato de perfluorooctano (PFOS; Figura I.3.7) en tejidos de multitud de especies vertebrados salvajes de todo el globo. Poco después apareció un estudio de Hansen *et al.* (2001) donde se reportaron niveles concentraciones de PFOS y de carboxilato de perfluorooctano (PFOA), su análogo carboxílico, en numerosas muestras de sangre humana.



**Figura I.3.7.** Estructura química de PFOS (izq.) y PFOA (dcha.)

En respuesta a estos hallazgos, 3M, el mayor productor mundial de PFASs, anunció que para el año 2002 cesaría su producción del PFOS, PFOA y otros compuestos relacionados (3M, 2000; EPA, 2000). A partir de entonces, la creciente evidencia de la distribución global de los PFASs promovió la regulación de estos compuestos en Europa, EE. UU., Canadá y otros países. En el año 2009 el PFOS se incluyó en el Anexo B del Convenio de Estocolmo (UNEP/POPS/POPRC, 2008), el PFOA lo hizo en el Anexo A en 2019 (PNUMA, 2020), y actualmente son candidatos para su inclusión en el Convenio los ácidos perfluorocarboxílicos (PFCAs) de cadena larga sus sales y compuestos relacionados (UNEP/POPS/POPRC, 2021) y el ácido perfluorohexanosulfónico (PFHxS), al igual que sus sales y compuestos (UNEP/POPS/COP, 2021). Paralelamente, la industria ha ido reaccionando a la creciente evidencia existente sobre la problemática de estos compuestos de manera que en occidente tuvo lugar un abandono paulatino





los PFCASs de cadena larga, considerados más bioacumulables, para pasar a producir PFASs de cadena corta y otros PFAS de diferente naturaleza, que aparentemente eran menos bioacumulables (EPA, 2006; Goeritz *et al.*, 2013; Renner, 2006). Sin embargo, el progresivo abandono en la producción de algunos de estos compuestos desplazó su producción a otros países, fundamentalmente en Asia (Wang *et al.*, 2014; Xie *et al.*, 2013).

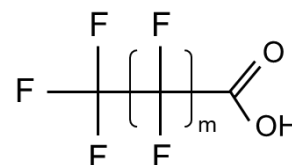
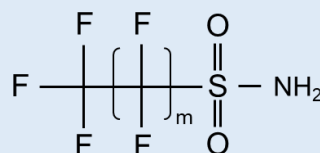
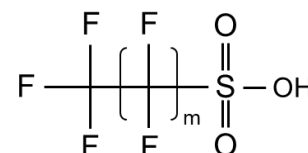
A pesar de llevar siendo comercializados alrededor de 80 años, en comparación con los contaminantes clorados o bromados, los PFASs no han recibido atención científica y social hasta hace dos décadas, lo que se ha achacado a una mayor dificultad técnica en su determinación (Giesy y Kannan, 2001). Desde ese momento se sabe que son compuestos ubicuos que son descritos a lo largo de todo el globo y en todos los niveles tróficos, especialmente en los ecosistemas marinos (AMAP, 2018; Kannan *et al.*, 2005; Tao *et al.*, 2006). Además, son unos compuestos excepcionalmente persistentes en el medio ambiente gracias a su resistencia frente a la degradación por factores mecánicos, químicos o térmicos, lo que los ha llevado a ser conocidos como los ‘químicos eternos’ (*forever chemicals*) (Banks *et al.*, 1994; Kissa, 2001). A pesar de que aquellas instalaciones donde se producen y utilizan los PFASs son fuentes localizadas de estos contaminantes al medio ambiente, al formar parte de incontables elementos de uso común en ambientes urbanos e industriales, alcanzan el medio ambiente mediante su liberación difusa de estos elementos, principalmente en ambientes antropogénicos (Ahrens *et al.*, 2010). Su entrada al medio marino se produce principalmente por los ríos, efluentes de plantas de tratamientos de aguas, emisarios submarinos o las actividades portuarias, y en menor proporción también por deposición atmosférica de precursores volátiles (Campo *et al.*, 2015; Ellis *et al.*, 2004; Yeung *et al.*, 2017). A diferencia de la mayoría de contaminantes orgánicos, no son compuestos lipófilos, sino que se unen a las proteínas del plasma sanguíneo para acumularse principalmente en el hígado, los riñones y la vesícula biliar (Jones *et al.*, 2003). Sin embargo, son altamente bioacumulables en los seres vivos y biomagnifican en las cadenas tróficas, haciéndolo con mayor eficacia conforme aumenta la longitud de la cadena de carbonos en las longitudes C<sub>6</sub>-C<sub>13</sub> (Goeritz *et al.*, 2013; Kannan *et al.*, 2005; Martin *et al.*, 2004; Tomy *et al.*, 2004a). La exposición a PFAS tiene efectos tóxicos a muchos niveles, incluyendo las funciones reproductivas, metabólicas, endocrinas, inmunológicas y neurológicas (De Witt *et al.*, 2012; Lau *et al.*, 2003, 2006; Liu *et al.*, 2010). Estos efectos aumentan conforme aumenta la longitud de la cadena de carbono y es mayor en los PFSAs que en los PFCAs (Liao *et al.*, 2009).

La siguiente tabla (Tabla I.3.7) muestra los PFASs estudiados en este trabajo, seleccionados en base a su relevancia medioambiental. Para los PFAAs la tabla muestra los compuestos en su forma desprotonada o aniónica, que, como se comentó anteriormente, es la que aparece en la naturaleza.



**Tabla 1.3.7.** Listado y principales características de los compuestos perfluoroalquilados (PFASs) estudiados en este trabajo.

Compuesto (forma aniónica)	Fórmula	C <sub>m+1</sub>	CAS RN sal (ácido)	Estructura general
<i>Sulfonatos de perfluoroalcanos (PFSA<sub>s</sub>)</i>				
PFBS	Sulfonato de perfluorobutano	C <sub>4</sub> F <sub>9</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	4	45187-15-3 (375-73-5)
PFH <sub>x</sub> S	Sulfonato de perfluorohexano	C <sub>6</sub> F <sub>13</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	6	108427-53-8 (355-46-4)
PFHpS	Sulfonato de perfluoroheptano	C <sub>7</sub> F <sub>15</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7	No disponible (375-92-8)
PFOS	Sulfonato de perfluorooctano	C <sub>8</sub> F <sub>17</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	8	45298-90-6 (1763-23-1)
PFDS	Sulfonato de perfluorodecano	C <sub>10</sub> F <sub>21</sub> SO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	10	126105-34-8 (335-77-3)
<i>Sulfonamidas de perfluoroalcanos (PFASA<sub>s</sub>)</i>				
PFOSA	Sulfonamida de perfluorooctano	C <sub>8</sub> F <sub>17</sub> SO <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>		754-91-6
<i>Carboxilatos perfluoroalquílicos (PFCA<sub>s</sub>)</i>				
PFH <sub>x</sub> A	Carboxilato de perfluorohexano	C <sub>5</sub> F <sub>11</sub> COO <sup>-</sup>	6	92612-52-7 (307-24-4)
PFHpA	Carboxilato de perfluoroheptano	C <sub>6</sub> F <sub>13</sub> COO <sup>-</sup>	7	120885-29-2 (375-85-9)
PFOA	Carboxilato de perfluorooctano	C <sub>7</sub> F <sub>15</sub> COO <sup>-</sup>	8	45285-51-6 (335-67-1)
PFNA	Carboxilato de perfluorononano	C <sub>8</sub> F <sub>17</sub> COO <sup>-</sup>	9	72007-68-2 (375-95-1)
PFDA	Carboxilato de perfluorodecano	C <sub>9</sub> F <sub>19</sub> COO <sup>-</sup>	10	73829-36-4 (335-76-2)
PFUnA	Carboxilato de perfluoroundecano	C <sub>10</sub> F <sub>21</sub> COO <sup>-</sup>	11	196859-54-8 (2058-94-8)
PFDoA	Carboxilato de perfluorododecano	C <sub>11</sub> F <sub>23</sub> COO <sup>-</sup>	12	171978-95-3 (307-55-1)
PFT <sub>r</sub> A	Carboxilato de perfluorotridecano	C <sub>12</sub> F <sub>25</sub> COO <sup>-</sup>	13	862374-87-6 (72629-94-8)
PFT <sub>e</sub> A	Carboxilato de perfluorotetradecano	C <sub>13</sub> F <sub>27</sub> COO <sup>-</sup>	14	365971-87-5 (376-06-07)





### **I.3.2. Contaminantes ambientales en cetáceos: exposición, acumulación y efectos**

#### *I.3.2.1. Exposición y bioacumulación de contaminantes ambientales en cetáceos*

La liberación al medio de un incontable y creciente número de contaminantes ambientales que lleva produciéndose desde la revolución industrial y, especialmente desde hace un siglo, ha dado lugar a la ubicuidad de un incontable número de sustancias tóxicas en todos los ecosistemas. Por ejemplo, todos los compuestos incluidos en este trabajo están repartidos por toda la superficie global, desde el Ártico a la Antártida, y son detectables tanto en la superficie como en el fondo del mar. En consecuencia, los cetáceos de todo el planeta están expuestos a diferentes concentraciones de diferentes mezclas de contaminantes, que en conjunción con otros estresores antropogénicos (p. ej., depleción de sus presas, contaminación acústica) o naturales (p. ej., epidemias, parásitos) pueden tener consecuencias fatales sobre la salud de los individuos y las poblaciones.

Tradicionalmente los estudios de contaminantes en cetáceos, al igual que en la mayoría de especies silvestres, se han centrado en un reducido grupo de compuestos seleccionado en base a razones históricas, técnicas y científicas. Los contaminantes que han recibido más atención en el pasado han sido fundamentalmente los PCBs, el DDT y sus metabolitos, y el Hg, y, más recientemente, los PBDEs, aunque en menor proporción. En los últimos años se ha ampliado el abanico de sustancias a estudiar en estas especies para incorporar algunos compuestos que han sido estudiados en este trabajo, como los PFASs o los HAPs, y otros que han quedado fuera de su alcance, como las organotinas, los microplásticos, u otros retardantes de la llama. Sin embargo, generalmente los compuestos estudiados representan tan solo una pequeña parte del grupo al que pertenecen, cuyos otros integrantes en muchos casos presentan características medioambientales y toxicológicas suficientemente diferenciadas como para no poder inferir su comportamiento aun conociendo el de aquel o aquellos compuestos estudiados de su grupo o familia. Por ejemplo, se han sintetizado más de 10.000 moléculas de PFASs, de las cuales solo un grupo de entre 20 y 30 son reportadas con cierta frecuencia en la literatura. Mas aún, de la misma manera que existen numerosos grupos de compuestos que han pasado desapercibidos hasta hace relativamente poco, tenemos la certeza de que, conforme avance la investigación sobre contaminantes ambientales, y conforme avance el desarrollo de nuevos compuestos, irán apareciendo nuevos contaminantes de interés medioambiental que irán incorporándose a los ya existentes.

A pesar de ello, los cetáceos, y en general los mamíferos marinos, son un grupo ‘afortunado’ en cuanto a la atención que reciben por parte de los estudios ecotoxicológicos en comparación con otros grupos de seres vivos. La literatura en el ámbito de la ecotoxicología de los cetáceos comenzó en la década de los 70 (Butler, 1969; Hall *et al.*, 1971; Harvey *et al.*, 1972) con el inicio del estudio del mercurio y las sustancias organocloradas y ha ido en aumento desde entonces. Con



respecto al resto de compuestos valorados en este trabajo, posteriormente surgió el primer trabajo con HAPs cuando [Martineau et al. \(1988\)](#) reportó aductos de ADN de benzo[a]pireno en cerebro de belugas *Delphinapterus leucas* (Pallas, 1776) del estuario de San Lorenzo (Canadá). Esto fue rápidamente seguido del primer reporte de PBDEs, a principios de los 90, cuando [Kuehl et al. \(1991\)](#) reportaron la presencia de estos químicos en delfines mulares de Virginia (EE. UU.). Por último, los PFASs fueron por primera vez reportados en 2001, en el mismo artículo en que [Giesy y Kannan \(2001\)](#) sacaron a la luz la omnipresencia del PFOS en todo tipo de animales repartidos por todo el globo. En la actualidad cada año se publican cientos de artículos científicos en el ámbito de la ecotoxicología sobre estas especies. Las razones que subyacen esta particular atención que reciben los cetáceos en este y otros muchos campos son varias y probablemente incluyen el interés social que estas especies despiertan, pero también las características particulares que hacen de ellas unas excelentes acumuladores de contaminantes:

- Su posición en la cima de las redes tróficas de aquellos ecosistemas que habitan, que los hacen particularmente susceptible a la acumulación de contaminantes biomagnificables.
- Acumulan una gran cantidad de grasa en un tejido especializado que recubre todo su cuerpo, lo que los lleva a acumular grandes cantidades de contaminantes liposolubles.
- La pérdida evolutiva de ciertos mecanismos de detoxificación, como algunos elementos tegumentarios como el pelo o las escamas de los que sí disponen otros animales.
- Una particular longevidad, que les permite acumular grandes cantidades de aquellos contaminantes que tienen periodos de estancia en el organismo especialmente largos.
- Su desplazamiento a lo largo de extensos territorios y las largas migraciones de algunos grupos, lo que condiciona su exposición a numerosos tipos de contaminantes.
- Una menor capacidad de metabolizar ciertos contaminantes (p. ej., PCBs, DDT) con respecto a otras especies, lo que les hace más vulnerables a su acumulación y a padecer sus efectos ([Tanabe et al., 1988](#); [Watanabe et al., 1989](#)).

Estas características le han valido para ser sugeridos junto a otros mamíferos marinos como especies bioindicadoras de la contaminación de los océanos y centinelas de la salud humana frente la exposición a ciertos contaminantes del medio marino a través de la dieta, lo que hace que la información toxicológica obtenida mediante el estudio de la interacción de los contaminantes con las diferentes especies de cetáceo no sea útil únicamente para la conservación y el bienestar de sus poblaciones, sino que pueda ser utilizada para el desarrollo de medidas y políticas públicas de mitigación de la contaminación marina y de protección de la seguridad alimentaria de las poblaciones humanas dependientes de los recursos marinos en su alimentación ([Bossart, 2011](#); [Durante et al., 2020](#); [Ross et al., 2000](#); [Wells et al., 2004](#); [Wise et al., 2009](#)).



Dado que los cetáceos son animales pulmonados carentes de branquias u otro tipo de epitelios respiratorios destinado al intercambio gaseoso desde el medio acuoso, estos no incorporan los contaminantes presentes en el medio marino a través de la respiración, como sí ocurre con los peces o los invertebrados marinos. Por el contrario, la práctica totalidad de los contaminantes que alcanzan su organismo lo hacen a través de la dieta. De esta manera, una vez que abandonan la lactancia materna, el volumen, el tipo y la localización de sus presas determina la práctica totalidad de los contaminantes que incorporan. Posteriormente existen diferencias inter- e intraespecíficas en cuanto a la capacidad de metabolización y excreción de estas sustancias. No todas las especies de cetáceo son igualmente eficaces metabolizando todos los tipos de contaminantes (Aguilar *et al.*, 1999; Boon *et al.*, 1997; Norstrom *et al.*, 1992; Tanabe *et al.*, 1994) y son comunes las diferencias entre sexos y entre grupos de edad. En función del tipo de contaminante, estas diferencias se pueden producir, entre otros motivos, por transferencia materno-filial de los contaminantes, por diferencias en la capacidad de detoxificación del contaminante o por diferencias en la dieta (Aguilar y Borrell, 1994a; Aguilar *et al.*, 1999; Borrell *et al.*, 2001).

El tejido más comúnmente estudiado es la capa de grasa hipodérmica ('blubber') ya que es el tejido que acumula las mayores concentraciones de la mayoría de los contaminantes más habitualmente estudiados (altamente liposolubles en su mayoría) pero también por su facilidad de obtención durante una necropsia y por ser el único tejido (junto a las capas superiores de la piel) que puede ser obtenido éticamente de animales en libertad sin necesidad de su captura, mediante la utilización de dardos de biopsia (Dron *et al.*, 2022; Lazar *et al.*, 2012). Los siguientes tejidos más comúnmente considerados son el hígado y el músculo, por su importancia toxicológica y su facilidad de muestreo, respectivamente.

### *1.3.2.2. Efectos tóxicos de los contaminantes en cetáceos*

A pesar de que los cetáceos son unos de los grupos taxonómicos en los que sistemáticamente se reportan concentraciones de mayor magnitud de numerosos contaminantes, el conocimiento de los efectos derivados de estas exposiciones es muy limitado. Demostrar la causalidad de la acumulación a un contaminante ambiental sobre un determinado efecto perjudicial en una especie de cetáceo es una tarea de extrema dificultad a menos que se diese la improbable situación de la observación conjunta de concentraciones extremadamente altas de un determinado contaminante y efectos particularmente fáciles de observar (p. ej., mortalidad en masa). Sin embargo, i) las dificultades para la experimentación en especies de cetáceos, ii) los escasos tamaños muestrales en estudios con fauna en libertad, iii) la exposición a numerosos tipos de xenobióticos o iv) una escasa comprensión de las propiedades y los mecanismos de acción de la mayor parte de los



tóxicos, son algunos de los obstáculos que impiden lograr tal demostración. En la mayoría de casos en que se llevan a cabo estudios en los que se intenta relacionar la exposición a un tóxico con alteraciones en la salud de los cetáceos, la aspiración más realista reside en encontrar una correlación entre las concentraciones de uno o varios contaminantes en uno o varios tejidos y una medida de un efecto concreto. Dado que aun así la información que se encuentra disponible es extremadamente escasa, a la hora de evaluar el riesgo potencial de una determinada población estudiada frente a exposición a contaminantes ambientales, es frecuente la extrapolación de la información obtenida mediante el estudio de otras especies, fundamentalmente de animales de laboratorio o, en el mejor de los casos, de otras especies de mamíferos marinos como los pinnípedos (Hall *et al.*, 2003; Reijnders, 1986). La siguiente tabla (Tabla I.3.8) muestra algunos de los casos donde se ha reportado evidencia directa, no necesariamente causal, sobre el desarrollo de efectos adversos en especies de cetáceo ante la exposición a determinadas concentraciones de contaminantes:

**Tabla I.3.8.** Selección de trabajos publicados sobre diferentes efectos de los contaminantes ambientales de estudio en especies de cetáceo.

Caso	Evidencia	Referencia
Prevalencia extremadamente alta de tumores junto a signos de inmunotoxicidad y alteraciones reproductivas y lesiones en sistema digestivo y glándulas mamarias en la población de belugas <i>Delphinapterus leucas</i> del estuario del río de San Lorenzo (Quebec, Canadá) expuesta a concentraciones muy altas de HAPs, PCBs, pesticidas organoclorados y metales tóxicos (Hg, Pb, Cd).	Estudio de campo correlativo	Béland <i>et al.</i> , 1993; De Guise <i>et al.</i> , 1994; Martineau <i>et al.</i> , 1988, 1994, 1999, 2002;
Asociación de varios efectos adversos, incluida mortalidad, asociada a enfermedades infecciosas y altas concentraciones de PCBs en marsopa común <i>Phocoena phocoena</i> en las islas británicas.	Estudio de campo correlativo	Jepson <i>et al.</i> , 2005; Hall <i>et al.</i> , 2006
Asociación entre mayor mortalidad de delfín listado <i>Stenella coeruleoalba</i> y delfín mular <i>Tursiops truncatus</i> durante la epidemia de morbilivirus del Mediterráneo en el periodo 1990-1992 y mayores concentraciones de PCBs.	Estudio de campo correlativo	Aguilar y Borrell, 1994b
Disminución de la función de linfocitos T en delfín mular <i>Tursiops truncatus</i> en libertad en el golfo de México asociado a PCBs.	Estudio de campo correlativo	Lahvis <i>et al.</i> , 1995
Niveles inferiores de testosterona asociados a mayores concentraciones de PCBs en marsopa de Dall <i>Phocoenides dalli</i> (True, 1885) capturada accidentalmente en el Pacífico Norte.	Estudio de campo correlativo	Subramanian <i>et al.</i> , 1987
Alteraciones en la respuesta inmune y en la respuesta de citoquinas en fibroblastos de delfín manchado tropical <i>Stenella attenuata</i> (Gray, 1846) a PBDEs.	Estudio <i>in vitro</i>	Rajput <i>et al.</i> , 2018
Menor peso testicular en individuos juveniles de marsopa común <i>Phocoena phocoena</i> varados en Reino Unido relacionado con mayores concentraciones de PCBs.	Estudio de campo correlativo	Williams <i>et al.</i> , 2021
Citotoxicidad detectada mediante ensayo clonogénico en fibroblastos primarios de pulmón, testículos y piel de ballena franca glacial <i>Eubalaena glacialis</i> (Müller,	Estudio <i>in vitro</i>	Godard <i>et al.</i> , 2006



1776) expuestos a concentraciones ambientales de benzo[a]pireno (PAH). Mayor respuesta citotóxica en fibroblastos testiculares.		
Signos de estrés tóxico inferidos por sobreinducción de proteínas CYP1A1 y CYP2B determinada mediante inmunofluorescencia en fibroblastos de tercera generación cultivados a partir de células de cachalote <i>Physeter macrocephalus</i> varados en la costa adriática de Italia expuestos a DDTs, PCBs y HAPs, y sobreinducción de CYP1A1 y CYP2B en piel e hígado detectada mediante Western blot correlacionada con concentraciones de DDTs, PCBs y HAPs en muestras obtenidos de tres individuos de cachalote varados en la costa adriática de Italia.	Estudio <i>in vitro</i> y estudio de campo correlativo	Marsili <i>et al.</i> , 2014
Disminución del éxito reproductivo en marsopa común <i>Phocoena phocoena</i> observado mediante hallazgos de necropsias ( <i>p. ej.</i> , fetos muertos, abortos, distocia, infecciones y tumores del aparato sexual femenino) asociado a altos niveles de PCBs en individuos varados en las costas de Reino Unido.	Estudio de campo correlativo	Murphy <i>et al.</i> , 2015
Asociación entre concentraciones superiores de DDTs y PCBs en delfín mular <i>Tursiops truncatus</i> y mayor mortalidad en crías recién nacida, utilizando delfines en cautiverio con fines militares.	Estudio de campo correlativo	Reddy <i>et al.</i> , 2001
Asociación entre presencia de quistes luteares y concentraciones de PCBs en delfines listados <i>Stenella coeruleoalba</i> muertos durante la epidemia de morbilivirus en el Mediterráneo entre 1990-1992.	Estudio de campo correlativo	Munson <i>et al.</i> , 1998
Correlación entre concentraciones de PFOS en plasma e incremento en la proliferación de linfocitos T CD4 y CD8 analizado mediante citometría de flujo en muestras de sangre extraídas en delfín mular <i>Tursiops truncatus</i> capturado y liberado en aguas de Charleston (SC, EE. UU.) y aumento de la producción de citoquinas proinflamatorias en cultivo de leucocitos sanguíneos periféricos ante exposición <i>in vitro</i> a PFOS.	Estudio <i>in vitro</i> y estudio de campo correlativo	Soloff <i>et al.</i> , 2016
Asociación entre niveles de PFASs y alteraciones de numerosos biomarcadores de la función inmunológica, hematopoyética, renal y hepática en sangre de delfín mular <i>Tursiops truncatus</i> capturado y liberado en aguas de Charleston (SC, EE. UU.)	Estudio de campo correlativo	Fair <i>et al.</i> , 2013
Disminución en la proliferación de esplenocitos y timocitos de beluga <i>Delphinapterus leucas</i> expuestos a concentraciones de formas orgánicas de mercurio y cadmio ( <i>i.e.</i> , HgCl <sub>2</sub> y CdCl <sub>2</sub> ) similares a las reportadas en animales de vida libre.	Estudio <i>in vitro</i>	Bernier <i>et al.</i> , 1996
Apoptosis, reducción en la respuesta linfoproliferativa, disminución en la fagocitosis en leucocitos aislados de delfín mular <i>Tursiops truncatus</i> frente a la exposición a Hg, Cd, Pb y Al en concentraciones similares a las reportadas en animales de vida libre.	Estudio <i>in vitro</i>	Pellisó <i>et al.</i> , 2008
Disminución de la fagocitosis de neutrófilos y monocitos en leucocitos aislados de delfín mular <i>Tursiops truncatus</i> y beluga <i>Delphinapterus leucas</i> expuestos a PCBs no similares a dioxinas.	Estudio <i>in vitro</i>	Levin <i>et al.</i> , 2004
Asociación entre mayores concentraciones de PCBs en grasa y anemia, menores niveles de hormonas tiroideas (tiroxina y T3), disminución de la proliferación de linfocitos y menor índice de inmunidad innata, detectados en muestras de sangre de delfín mular <i>Tursiops truncatus</i> capturado y liberado en una zona de alta contaminación de la costa de Georgia (EE.UU.).	Estudio de campo correlativo	Schwacke <i>et al.</i> , 2011



Como puede observarse, la mayor parte de los efectos adversos descritos en cetáceos están relacionados con los PCBs, que son unos de los compuestos más estudiados y de los que aparecen en concentraciones más altas, y en menor medida con los HAPs, los PBDEs, los metales tóxicos y más recientemente los PFASs. El efecto adverso más estudiado es la alteración de la función inmunológica, seguido de la alteración de la función reproductiva, dos elementos de vital importancia para la supervivencia de los individuos y las poblaciones. Sin embargo, la información sobre otros sistemas orgánicos esenciales como el sistema endocrino, la función hepática o el sistema nervioso y el comportamiento, son prácticamente desconocidos. Además, a pesar del avance en el descubrimiento de las posibles consecuencias de la exposición a contaminantes en los cetáceos, la información sobre los mecanismos que subyacen los efectos los efectos que producen, cuya causalidad rara vez es comprobada, es práctica o totalmente inexistente.

Por otro lado, diversos autores han aportado evidencia sobre una menor capacidad de detoxificación de los cetáceos en comparación con otras especies para varios de los compuestos estudiados debido a particularidades propias de este grupo con relación a diversos sistemas enzimáticos relacionados con el citocromo P450 (Aguilar *et al.*, 1999; Boon *et al.*, 1997; Norstrom *et al.*, 1992; Tanabe *et al.*, 1994). Por el contrario, se ha hipotetizado que pueden tener una mayor capacidad de detoxificación del mercurio adquirida a través de su historia evolutiva como respuesta a su exposición a grandes concentraciones de Hg naturalmente presente en los mares en comparación con otras especies marinas o terrestres (López-Berenguer *et al.*, 2020a). También debe tenerse en cuenta la capacidad de los contaminantes de actuar sinérgicamente no solo con otros contaminantes, sino con otros estresores ambientales o antropogénicos de distinta naturaleza. Por ejemplo, en casos de escasez de presas que conlleven periodos de inanición, la movilización de grasas hace que se liberen los contaminantes liposolubles almacenados en ellas al torrente sanguíneo, aumentando su potencial toxicidad (Lundin *et al.*, 2016). Todo esto debe considerarse a la hora de evaluar las consecuencias para la salud que pueden tener las concentraciones de contaminantes observadas en sus tejidos.

### *1.3.3.3. Contaminación química en el Mediterráneo: el caso de los cetáceos*

Varias de las características anteriormente mencionadas del mar Mediterráneo (apartado I.1.1.2.) como su escaso intercambio de agua con el océano Atlántico, la densísima urbanización e industrialización, o la ausencia práctica de mareas y las corrientes costeras débiles, le hacen excepcionalmente predisuesto a la acumulación de contaminación química. Consecuentemente, ha sido referido en numerosos trabajos como un foco de contaminación para numerosos tipos de contaminantes (Marsili *et al.*, 2018; Merhaby *et al.*, 2019), lo que se refleja tanto en los elementos





abióticos (aguas, sedimentos, atmósfera) como en la fauna que lo habita. En respuesta a esta situación se han desarrollado varias iniciativas regionales con el objetivo combatir la contaminación en el Mediterráneo, entre las que destacan el Convenio de Barcelona y el Plan de Acción del Mediterráneo (MAP), junto al componente técnico-científico derivado de este, el programa MED POL.

Los cetáceos del Mediterráneo han demostrado acumular mayores concentraciones de varios contaminantes ambientales con respecto a poblaciones de cetáceos de otras regiones, lo que se ha achacado a estas características. Así, se han encontrado concentraciones significativamente superiores para los contaminantes organoclorados (Alzieu y Duguy, 1979; Aguilar y Borrell, 2005; Jepson *et al.*, 2016), organotinas (Focardi *et al.*, 2000), HAPs (Marsili *et al.*, 2001) o mercurio (Capelli *et al.*, 2000, 2008; Martínez-López *et al.*, 2019a, b). La inmensa mayoría de la información que se tiene con respecto a los contaminantes ambientales en los cetáceos del mar Mediterráneo proviene de la cuenca occidental, en concreto de las costas mediterráneas de Italia, España y Francia. Por el contrario, estudios de este tipo en la cuenca oriental son bastante escasos y prácticamente inexistentes para toda la costa africana. Al igual que en otras regiones, la mayor parte de la investigación sobre contaminantes ambientales en cetáceos del mediterráneo se ha centrado en los compuestos organoclorados (Aguilar y Borrell, 1994a; 2005), aunque en las últimas dos décadas ha salido a la luz un modesto número de trabajos sobre otro tipo de contaminantes (Alonso *et al.*, 2014; Marsili *et al.*, 2001; López-Berenguer *et al.*, 2020b). A su vez, el tejido más estudiado es la grasa hipodérmica o *blubber*, que es el principal órgano acumulador de contaminantes liposolubles, entre los que se encuentran los principales contaminantes estudiados (*i.e.*, PCBs, pesticidas organoclorados, PBDEs). En cuanto a sus especies, el delfín listado es la especie que ocupa la atención de un mayor número de trabajos, ya que es la especie más abundante en todo el Mediterráneo y está distribuida por toda su extensión.

Los compuestos organoclorados, específicamente PCBs y el DDT con sus metabolitos, han sido los contaminantes que han acaparado la mayor atención de los investigadores, no solo en el Mediterráneo, sino en todo el globo. El mar Mediterráneo ha sido tradicionalmente considerado como un foco de particular acumulación de contaminantes organoclorados, fundamentalmente de PCBs y DDT y sus metabolitos, tal y como se ha reflejado en repetidas ocasiones en su biota y concretamente en sus poblaciones de cetáceos (Aguilar *et al.*, 2002; Espin *et al.*, 2010; Jepson *et al.*, 2016). Las concentraciones de DDT y PCBs en cetáceos del Mediterráneo comenzaron a ser reportadas a finales de los años 70. Alzieu y Duguy (1979) fue el primer trabajo en reportar niveles de organoclorados en cetáceos del Mediterráneo. Por aquel entonces, los niveles de PCBs y DDTs en el Mediterráneo eran extremadamente altos, y superiores a aquellos detectados en poblaciones de las mismas especies en el Atlántico. Sin embargo, la prohibición de los PCBs y el DDT surtieron efecto y durante los siguientes años y décadas las concentraciones de estos compuestos



en los tejidos de los cetáceos disminuyeron, aunque este efecto fue más acusado para los PCBs que para el DDT y sus metabolitos (Aguilar y Borrell, 2005; Borrell y Aguilar, 2007; Fossi *et al.*, 2013, Wafo *et al.*, 2005). En la cuenca oriental las concentraciones de PCBs parecen ser considerablemente menores, probablemente por la existencia de una menor cantidad, en número y volumen, de fuentes de contaminación industrial (Romanic *et al.*, 2014; Shoham-Frider *et al.*, 2009). Por otro lado, se detectaron diferencias en las concentraciones de PCBs y DDTs entre diferentes áreas geográficas del Mediterráneo occidental, incluso en zonas contiguas como el mar Tirreno y el mar de Liguria (Marsili, 2000). Estas diferencias probablemente debían su origen tanto en las diferencias en las fuentes de contaminación (p. ej., la influencia del río Ebro y el río Ródano) entre regiones y en las dinámicas de las aguas marinas. A pesar de ello, las concentraciones de estos compuestos parecieron alcanzar una meseta en la década de los 2000 (Castrillon *et al.*, 2010) y las diferencias geográficas fueron cada vez menores, quizá como resultado de la homogeneización en la distribución de estos contaminantes por toda la región (Marsili *et al.*, 2018). Sin embargo, las concentraciones de PCBs en cetáceos del Mediterráneo aún se sitúan en muchos casos por encima de los umbrales de toxicidad establecidos para estas especies, lo que hace que aún se sitúe a los cetáceos del Mediterráneo en riesgo frente a su exposición a estos contaminantes (Jepson y Law, 2016). En cuanto a otros pesticidas organoclorados diferentes al DDT y sus metabolitos, la información existente en cetáceos de esta región es extremadamente limitada, aunque sí se sabe que compuestos como la dieldrina, aldrina, endrina, endosulfan o el lindano son detectados en mucha menor concentración que el conjunto de los DDTs (Wafo *et al.*, 2012).

Por otro lado, el mercurio también ha sido un contaminante de gran protagonismo en el ámbito del mar Mediterráneo, así como en todo el globo. Es, con diferencia, el contaminante inorgánico más ampliamente estudiado y existen multitud de estudios que evalúan sus concentraciones en diferentes tejidos de cetáceos, esencialmente en hígado, músculo y riñón. Generalmente, los cetáceos del mar Mediterráneo tienen concentraciones de mercurio superiores a sus contrapartes en el Atlántico, así como a la mayoría de especies de cetáceos de todo el planeta (André *et al.*, 1991; Bellante *et al.*, 2017; Capelli *et al.*, 2000, 2008; Martínez-López *et al.*, 2019a, b; Kershaw y Hall, 2019). Algunos autores han achacado esto a las fuentes naturales de mercurio existentes en el mar Mediterráneo y la entrada de grandes cantidades de mercurio a través de los ríos cuyas aguas nacen total o parcialmente en el monte Amiata (Toscana., Italia), una de las mayores reservas mundiales de cinabrio (Bacci, 1989), aunque otros autores lo han achacado a la contaminación industrial de la región (Bellante *et al.*, 2012). Por otro lado, aunque no existe demasiada información sobre diferencias en las concentraciones de Hg dentro de la cuenca mediterránea, Monaci *et al.* (1998) reportó valores superiores en delfines varados en la costa



italiana en comparación con los de la costa española, y [Frodello et al. \(2000\)](#) observó concentraciones inferiores en los cetáceos de la cuenca oriental.

Aunque los PBDEs han sido contaminantes poco estudiados en el Mediterráneo, son los COPs que acumulan un mayor número de trabajos por detrás de los PCBs y el DDT. Hasta donde sabemos, únicamente se han publicado ocho trabajos previos en especies de cetáceos de esta región, todos en el siglo XXI y la mayoría de ellos centrados en la costa oeste de Italia ([Barón et al., 2015a, b](#); [Bartalini et al., 2019](#); [Cappanni et al., 2020](#); [Fossi et al., 2013](#); [Pettersson et al., 2004](#); [Pinzone et al., 2015](#); [Zaccaroni et al., 2018](#)). En comparación con los PCBs y el DDT y sus metabolitos, estos contaminantes aparecen en concentraciones considerablemente menores en el Mediterráneo ([Pettersson et al., 2004](#)). Se han atribuido menores concentraciones de estos compuestos en comparación a los cetáceos de las aguas de EE. UU., lo que se ha hipotetizado que se debe a un menor uso de los PBDEs en Europa ([Bartalini et al., 2019](#); [Law et al., 2014](#)). En cambio, las concentraciones son bastante similares a las reportadas en cetáceos del océano Atlántico y el mar del Norte.

A pesar de que en el mar Mediterráneo se produce el transporte de aproximadamente el 30% del petróleo crudo mundial ([Danovaro, 2003](#)), hasta la fecha solo existen dos reportes previos de HAPs en el Mediterráneo ([Marsili et al., 2001](#); [2014](#)), mostrando el primero de ellos unas de las mayores concentraciones de HAPs reportadas a nivel global en grasa de cetáceo. Por otro lado, al igual que con los HAPs, la información referida a las concentraciones de PFASs en cetáceos del Mediterráneo es prácticamente inexistente, y solo existe un único reporte de [Kannan et al. \(2002\)](#), quienes analizaron PFOS, PFOSA, PFOS, y PFHxS en hígado de varias especies de cetáceos varados en 1991 en las orillas de los mares Tirreno y Adriático. En este caso se reportaron concentraciones del mismo orden de magnitud que en otras regiones.



## I.4. Objetivos

Los **objetivos generales** de esta tesis doctoral son i) caracterizar la exposición a contaminantes ambientales de diferente naturaleza, origen y características en cetáceos presentes en las aguas de la Región de Murcia; ii) estudiar la relación de los resultados obtenidos con las características de las diferentes especies estudiadas, los individuos muestreados, y los contaminantes evaluados; iii) comparar nuestros resultados con respecto a las referencias dadas en estas y otras especies así como en el Mediterráneo y en otras regiones del globo; y iv) interpretar las posibles implicaciones que estas concentraciones pueden tener sobre la salud de los individuos y las poblaciones.

A partir de estos objetivos generales se desprenden varios objetivos específicos que se abordan en los diferentes capítulos en que se estructura la tesis. Cada uno de estos capítulos gira en torno a uno o varios contaminantes o familias de contaminantes agrupados en base a ciertas características compartidas. De esta manera, esta tesis se estructura en cuatro capítulos cuyos objetivos específicos se detallan a continuación:

### *Capítulo 1 – II.1. Mercurio y selenio en cetáceos varados en el sureste español entre 2009 y 2021: un enfoque neurotóxico*

**Objetivo 1:** Realizar una revisión crítica sobre el conocimiento de la exposición y los efectos potenciales del mercurio en el cerebro de los cetáceos en relación con otros mamíferos marinos y otras especies íntimamente ligadas al medio marino.

**Objetivo 2:** Estudiar las concentraciones de mercurio y selenio en muestras de cerebro e hígado de cetáceos varados en las costas de la Región de Murcia entre 2009 y 2021 y valorar la influencia de variables.

**Objetivo 3:** Valorar la utilidad del hígado para predecir la acumulación de mercurio en el cerebro de cetáceos.

**Objetivo 4:** Estudiar el posible papel del selenio en la protección frente a la neurotoxicidad inducida por mercurio en los cetáceos.

### *Capítulo 2 – Compuestos orgánicos persistentes, liposolubles y biomagnificables en cetáceos varados en el sureste español entre 2011 y 2018: pesticidas organoclorados, PCBs y PBDEs*

**Objetivo 5:** Estudiar las concentraciones de pesticidas organoclorados, policlorobifenilos (PCBs) y polibromodifenil éteres (PBDEs) en muestras de grasa hipodérmica de cetáceos varados en las costas de la Región de Murcia entre 2011 y 2018 y valorar la influencia de variables inter e intraespecíficas.



**Objetivo 6:** Valorar la eficacia de las restricciones de los compuestos estudiados en relación con su exposición en superdepredadores marinos.

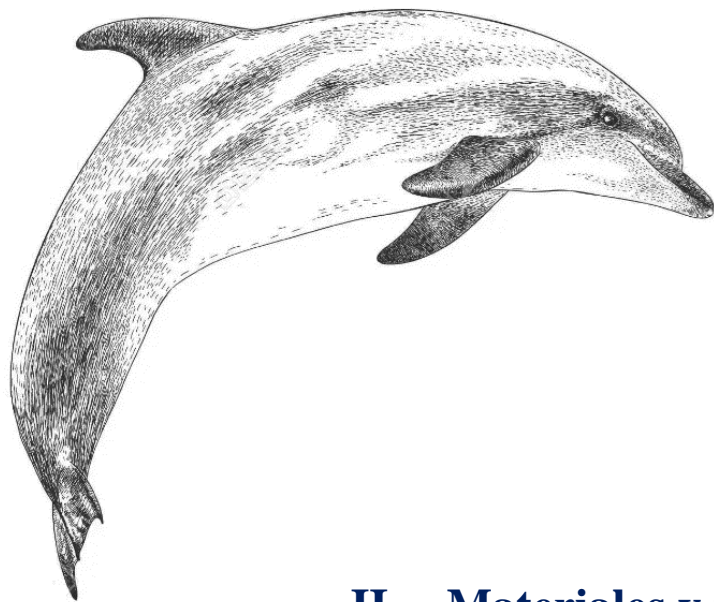
*Capítulo 3 – II.3. Compuestos orgánicos persistentes liposolubles no biomagnificables en cetáceos varados en el sureste español entre 2011 y 2018: HAPs*

**Objetivo 7:** Estudiar las concentraciones de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en muestras de grasa hipodérmica de cetáceos varados en las costas de la Región de Murcia entre 2011 y 2018 y valorar la influencia de variables inter e intraespecíficas.

*Capítulo 4 – II.4. Compuestos orgánicos persistentes, no liposolubles y biomagnificables en cetáceos varados en el sureste español entre 2009 y 2018: PFASs*

**Objetivo 8:** Estudiar las concentraciones de sustancias perfluoroalquiladas (PFASs) en muestras de hígado y músculos de cetáceos varados en las costas de la Región de Murcia entre 2009 y 2018 y valorar la influencia de variables inter e intraespecíficas.

**Objetivo 9:** Valorar la eficacia de las restricciones de los compuestos estudiados en relación con su exposición en superdepredadores marinos.



## **II. Materiales y métodos**



## II.1. Muestreo (Capítulos 1-4)

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron muestras de cetáceos varados y muertos en las costas de la Región de Murcia (España; [Figura II.1](#)) entre 2009 y 2021, obtenidas en el marco de las actividades de la Red de Varamientos de la Región de Murcia coordinada por el Centro de Recuperación de Fauna Silvestre el Valle, dependiente de la Dirección General del Medio Natural de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, y facilitadas por personal del Servicio de Pesca y Acuicultura de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia.



*Figura II.1.* Área de muestreo, costa de la Región de Murcia, España.

Se obtuvieron muestras de las siguientes especies: delfín listado (*Stenella coeruleoalba*), delfín mular (*Tursiops truncatus*), delfín común (*Delphinus delphis*), calderón común (*Globicephala melas*), calderón gris (*Grampus griseus*), zifio de Cuvier (*Ziphius cavirostris*) y cachalote (*Physeter macrocephalus*). Estas muestras incluyeron diferentes tejidos, incluyendo cerebro, hígado, grasa hipodérmica y músculo, entre otros. Dichas muestras fueron obtenidas durante el desarrollo de necropsias regladas según protocolos internacionales y nacionales ([Kuiken and Hartmann, 1991](#); [SEC, 2000b](#)) en cada animal varado. Adicionalmente, cuando fue posible, se recabó información sobre diferentes parámetros fisiológicos y sobre el varamiento, incluyendo sexo, longitud total, estado del cadáver, lugar de varamiento. Las muestras fueron envueltas individualmente en papel de aluminio y almacenadas en recipientes individuales correctamente identificados e inmediatamente congelados a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Debido a la dificultad de obtener una cantidad ideal de muestras a través de los varamientos, obviamos cualquier criterio de selección de los individuos investigados *i.e.*, su sexo, edad o estado de descomposición. Estos factores sí fueron tenidos en cuenta a la hora de interpretar la información. Se obtuvieron muestras de todas las especies de cetáceos odontocetos endémicos del Mediterráneo, aunque para la mayoría de ellas el número de muestras fue considerablemente



limitado en todo el periodo, y sólo los varamientos de delfín listado proporcionaron un número de muestras suficiente para poder realizar análisis de los resultados con mayor profundidad.

## II.2. Revisión sistemática y análisis de los datos asociados (Capítulo 1)

Realizamos esta revisión utilizando motores de búsqueda académica -Google Scholar, Pubmed, Science Direct, Scopus- y referencias de artículos relevantes para encontrar artículos revisados por pares. Utilizamos palabras clave relacionadas como: mamíferos marinos, cetáceos, pinnípedos, metales, mercurio, cerebro, neurotoxicidad, *etc.* Incluimos publicaciones científicas de todos los tiempos (1971-2019) considerando la escasa información sobre el tema y evaluamos todas las especies de mamíferos marinos, incluyendo cetáceos, pinnípedos, sirenios y osos polares. Somos conscientes de que no reunimos toda la información disponible sobre el tema, ya que los datos sobre la carga de Hg en el cerebro se exponen frecuentemente en los artículos de forma marginal y no se mencionan en el título, en las palabras clave o incluso en el resumen; pero intentamos ser lo más sistemáticos posible.

Como la mayoría de los trabajos proporcionaron las concentraciones de Hg en base al peso húmedo (ww), cuando las concentraciones se expresaron en base al peso seco (dw) utilizamos el factor de conversión de 4 propuesto para el cerebro de los mamíferos por [Scheuhammer et al. \(2015\)](#) para otras especies diferentes a los cetáceos y sirenios, y un factor de conversión de 5 para estos dos grupos basado en informes anteriores sobre su humedad en cerebro ([Capelli et al., 2000; 2008; Krey et al., 2015; Denton et al., 1980](#)). Se aplicó un factor de conversión estandarizado de 4 en el hígado para todas las especies. Muchos trabajos no proporcionaron datos individuales, pero sí medias y/o medianas de todo el conjunto de muestras o de subgrupos. Calculamos nosotros mismos la mediana y la media de cada trabajo utilizando preferentemente la información individual cuando se proporcionaba. De lo contrario, utilizamos medidas de tendencia central, ya sea la media o la mediana, con preferencia a la media sobre la mediana. Posteriormente, utilizamos estas medidas de tendencia central (proporcionadas o calculadas por nosotros) para calcular la media general (ponderada según el número de muestras,  $n$ ), la mediana general y diversos coeficientes y correlaciones que pueden verse a lo largo de este trabajo.

## II.3. Análisis de mercurio (Hg) y selenio (Se) (Capítulo 1)

Para el análisis de Hg y Se utilizamos muestras de encéfalo e hígado tal y como se muestra en la [Tabla II.1](#).

*Tabla II.1. Muestras utilizadas para el análisis de Hg y Se por especie y tejido.*

Especie	Delfín listado		Delfín mular		Delfín común	
	Cerebro	Hígado	Cerebro	Hígado	Cerebro	Hígado
Hg ( $n$ )	39	33	4	3	4	3
Se ( $n$ )	19	19	3	3	3	3





Las muestras destinadas a los análisis de Hg se diluyeron diez veces debido a las elevadas concentraciones previstas. El análisis de Hg se realizó mediante una espectrofotometría de absorción atómica utilizando un analizador de mercurio directo (AMA-254, Leco®). Para el análisis de Se, previamente se mineralizaron 0,6-0,7 g del tejido con 4,5 ml de ácido nítrico concentrado (Scharlau, para determinaciones de ditizona) y 1 ml de una solución de peróxido de hidrógeno al 30% (Merck) en un recipiente cerrado de teflón. A continuación, las muestras se digirieron mediante un sistema de digestión por microondas (MLS 1200 Mega, MPR 600/12m Milestone). Una vez enfriadas, las soluciones se transfirieron a matraces aforados de 10 mL y posteriormente se filtraron con un filtro de 0,45  $\mu\text{m}$  y se transfirieron a tubos roscados de 15 ml. El análisis de Se se realizó mediante un espectrómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (VISTA-MPX CCD Simultaneous ICP-OES® Varian; LAYMA PA/IN/0219). La curva de calibración se preparó a partir de una solución estándar multielemento (CertiPUR, Merck). En cuanto al control y garantía de calidad (QA/QC), se analizaron simultáneamente dos blancos y un material de referencia estándar (solución estándar multielemento y estándar ICP de mercurio, ambos CertiPur, Merck) en cada lote de análisis. Los límites de detección fueron de 0,02 mg/kg para el Hg y de 0,60 mg/kg para el Se. Más información sobre la preparación del muestreo y el análisis químico se puede encontrar en [Martínez-López et al. \(2019b\)](#).

#### **II.4. Análisis de contaminantes orgánicos liposolubles (Capítulos 2 y 3)**

Analizamos muestras de grasa hipodérmica ([Tabla II.2](#)) para cuantificar la concentración de diferentes contaminantes orgánicos liposolubles, en concreto:

- 16 pesticidas organoclorados diferentes incluidos algunos isómeros y metabolitos: alfa-hexaclorociclohexano ( $\alpha$ -HCH), beta-hexaclorociclohexano ( $\beta$ -HCH), gamma-hexaclorociclohexano ( $\gamma$ -HCH o lindano), delta-hexaclorociclohexano ( $\delta$ -HCH), hexaclorobenceno (HCB), heptacloro,  $\alpha$ -endosulfán,  $\beta$ -endosulfán, aldrina, dieldrina, endrina, p,p'-diclorodifeniltricloroetano (p,p'-DDT), p,p'-diclorodifenildicloroetileno (p,p'-DDE), p,p'-diclorodifenildicloroetano (p,p'-DDD), metoxicloro y mirex.
- 18 congéneres de PCBs: nº 28, 52, 77, 81, 101, 105, 114, 118, 123, 126, 138, 153, 156, 157, 167, 169, 180 y 189.
- 8 congéneres de PBDEs: nº 28, 47, 85, 99, 100, 153, 154 y 183.
- 16 HAPs declarados prioritarios por la Agencia de Protección Medioambiental de los Estados Unidos ([EPA, 1987](#)): acenafteno, acenafteno, antraceno, benzo[a]antraceno, benzo[a]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[ghi]perileno, benzo[k]fluoranteno, criseno, dibenz[ah]antraceno, fluoreno, indeno[1,2,3-cd]pireno, naftaleno, fenantreno y pireno.



**Tabla II.2.** Muestras utilizadas para el análisis de contaminantes orgánicos liposolubles en cetáceos.

Especie	Delfín listado	Delfín mular	Delfín común	Calderón común	Calderón gris	Zifio de Cuvier	Cachalote
<i>n</i>	33	8	3	3	1	1	2

Para el procedimiento de extracción, se adquirieron hexano, acetona, éter dietílico y éter de petróleo de grado analítico de J.T.Baker (Phillipsburg, NJ, EE.UU.) y se obtuvo sulfato de sodio anhidro de grado analítico de Panreac AppliChem (Ottoweg, Darmstadt, Alemania). Para el análisis instrumental, el ciclohexano (CHX) y la acetona (Ac) de grado analítico se obtuvieron de Honeywell (Morristown, NJ, EE.UU.). Todos los estándares de los compuestos seleccionados se compraron a CPA Chem (Stara Zagora, Bulgaria) en mezclas comerciales de 100 µg/mL, para cada grupo. Se preparó una solución intermedia a 20 µg/mL y una solución de trabajo a 1 µg/mL en acetona.

Las muestras se mantuvieron congeladas hasta el momento del análisis e inmediatamente antes del comienzo se descongelaron a temperatura ambiente. Los compuestos de estudio se extrajeron del tejido utilizando una mezcla de disolventes orgánicos de manera similar a [Martínez-López et al. \(2009\)](#). Brevemente, se tomó una submuestra de 0,2 g y se homogeneizó durante 5 minutos en un tubo tipo Falcon con 20 ml de acetona:hexano 5:15 (v/v). La mezcla resultante se pasó a través de un embudo de placa porosa con 5 g de sulfato de sodio anhidro a un matraz de vidrio. Se pasaron 5 ml de hexano adicional a través del embudo de placa porosa al matraz de vidrio para arrastrar el máximo de compuestos objetivo. El extracto resultante se evaporó a 35 °C en un rotavapor y se volvió a redispersar en 5 ml de hexano. Para la purificación se utilizaron cartuchos Florisil® (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA). Se utilizaron 2 ml de hexano para acondicionar los cartuchos. Inmediatamente se pasó el extracto de la muestra por el cartucho, seguido de 25 ml de éter de petróleo:éter dietílico 21:4 (v/v) como eluyente. Tanto el extracto de la muestra como el eluyente se recogieron en un matraz de vidrio y se volvieron a evaporar. Finalmente, el extracto seco se redisolvió en 1 ml de hexano y se pasó a un vial de vidrio.

La cuantificación instrumental se realizó mediante cromatografía de gases utilizando un sistema GC 7890B equipado con un automuestreador 7693 (Agilent Technologies, Palo alto, CA. USA). La separación se realizó utilizando dos columnas de 15 m (Agilent J&WHP-5MS, de 0,25 mm de diámetro interior y 0,25 µm de espesor de película cada una) unidas mediante una unión purgada (PUU, Agilent Technologies) para permitir el uso de la técnica de retrolavado. Se utilizó helio (99,999%) como gas portador y el caudal se ajustó mediante la función de bloqueo del tiempo de retención (tR). Las temperaturas del horno se programaron como sigue: Temperatura inicial de 60 °C mantenida durante 1 minuto, rampa a 40 °C/min hasta 170 °C y luego a 10 °C/min hasta 310 °C con un tiempo de mantenimiento de 3 minutos. El tiempo total de ejecución fue de 20,75 minutos. El inyector y la línea de transferencia se ajustaron a 280 °C.



El volumen de inyección fue de 1  $\mu\text{L}$ . Todas las muestras y los estándares se analizaron en el modo sin división utilizando una camisa ultrainerte de 4 mm con lana de vidrio (Agilent Technologies). El GC se interconectó con un espectrómetro de masas Triple Quad 7010 (Agilent Technologies), que se utilizó para la detección de todos los analitos en una sola pasada. Se utilizó nitrógeno (99,99%) como gas de colisión. El flujo de gas de colisión se fijó en 1,5 ml/min. El espectrómetro de masas QqQ se operó en las siguientes condiciones: ionización con impacto de electrones a 70 eV en MRM con una corriente de emisión de 100,0  $\mu\text{A}$ . La temperatura de la fuente de ionización se fijó en 230  $^{\circ}\text{C}$ . Se programó un retardo del multiplicador del filamento de 3,7 min para permitir el paso del frente del disolvente. El voltaje del multiplicador de electrones se fijó en 900 V. El tiempo de permanencia se fijó en 10 para todos los analitos. La cuantificación se basó en las áreas de los picos utilizando curvas de calibración de 10 puntos en aceite de oliva CHX 1% que oscilaban entre 0,195 y 100 ng/ml. Los límites de detección (LoD; [Tabla II.3](#)) se determinaron como el punto más bajo de la curva de calibración que tenía una relación S/N superior y precisión aceptable (80-120%). Puede encontrarse información más detallada en [Acosta-Dacal et al. \(2021\)](#).

## II.5. Análisis de PFASs (Capítulo 4)

Analizamos muestras de hígado ( $n = 38$ ) y músculo ( $n = 26$ ) de cetáceos varados en las costas de la Región de Murcia ([Tabla II.4](#)) para cuantificar las concentraciones de 15 compuestos perfluoroalquilados: sulfonatos de perfluorobutano (PFBS), perfluorohexano (PFHxS), perfluoroheptano (PFHpS), perfluorooctano (PFOS) y perfluorodecano (PFDS), sulfonamida de perfluorooctano (PFOSA) y carboxilatos de perfluorohexano (PFHxA), perfluoroheptano (PFHpA), perfluorooctano (PFOA), perfluorononano (PFNA), perfluorodecano (PFDA),

**Tabla II.3.** Lista de contaminantes orgánicos liposolubles estudiados y límite de detección (LoD, ng g<sup>-1</sup> ww).

Compuesto	LoD
aldrina	0.39
p,p'-DDE	0.024
p,p'-DDD	1.56
p,p'-DDT	1.56
dieldrina	0.39
endrina	1.56
heptacloro	1.56
hexachlorobenceno	0.024
hexaclorociclohexano-alfa	0.39
hexaclorociclohexano-beta	0.39
hexaclorociclohexano-delta	0.39
hexaclorociclohexano-gamma	0.39
methoxicloro	1.56
mirex	0.097
CB-28	0.024
CB-52	0.024
CB-77	0.39
CB-81	0.097
CB-101	0.024
CB-105	0.097
CB-114	0.097
CB-118	0.097
CB-123	0.39
CB-126	0.097
CB-138	0.024
CB-153	0.024
CB-156	0.024
CB-157	0.024
CB-167	0.097
CB-169	0.097
CB-180	0.097
CB-189	0.097
BDE-28	0.078
BDE-47	0.078
BDE-85	0.039
BDE-99	0.039
BDE-100	0.039
BDE-153	0.039
BDE-154	0.039
BDE-183	0.078
Acenaftileno	0.1
Acenafteno	0.1
Antraceno	0.1
Benzo(a)anthraceno	0.2
Benzo(a)pireno	0.4
Benzo(b)fluoranteno	0.8
Benzo(ghi)perileno	0.1
Benzo(k)fluoranteno	0.8
Criseno	0.2
Dibenzo(ah)antraceno	0.4
Fluoranteno	0.1
Fluoreno	0.1
Indeno(123,cd)pireno	1.5
Naftaleno	1.5
Fenantreno	0.1
Pireno	0.1



perfluoroundecano (PFUnA), perfluorododecano (PFDoA), perfluorotridecano (PFTrA) y perfluorotetradecano (PFTeA).

**Tabla II.4.** Muestras utilizadas para el análisis de PFASs en cetáceos.

Especie	Delfín listado	Delfín mular	Delfín común	Calderón gris	Cachalote
hígado ( <i>n</i> )	29	5	2	1	1
músculo ( <i>n</i> )	18	4	2	1	1

Antes de la extracción, todas las muestras se homogeneizaron con una batidora de acero inoxidable. La extracción del hígado se llevó a cabo según lo descrito por [Bossi et al. \(2005a\)](#) con ligeras modificaciones (en este caso se utilizaron PFAS marcados con  $^{13}\text{C}$  como estándares internos). En primer lugar, se diluyeron 5 g del hígado homogeneizado con 25 mL de agua Milli-Q 1:5 (m:v). A continuación, se añadió a 1 mL del homogeneizado 25 ng de estándar interno de  $^{13}\text{C}$ -PFAS (Wellington Laboratories, Guelph, ON, Canadá). La muestra se extrajo con 1 mL de solución TBAS (sulfato de hidrógeno de tetrabutilamonio) 0,5M (pH ajustado a 10), 2 mL de tampón carbonato de natrio:bicarbonato de natrio 0,25 M y 5 mL de MTBE (éter metil tert-butílico). La mezcla se agitó primero durante 10 minutos y luego se centrifugó a 3.000 rpm durante 25 minutos. A continuación, se recogieron 4 mL del sobrenadante de MTBE y se evaporaron hasta sequedad bajo una corriente de nitrógeno. Finalmente, el extracto resultante se reconstituyó en 0,5 mL de tampón metanol:acetato de amonio 2 mM 1:1 (v:v) y se filtró a través de un filtro de nylon de 0,2  $\mu\text{m}$ .

El tejido muscular se extrajo según lo descrito por [Ahrens et al. \(2009\)](#), también con ligeras modificaciones. Brevemente, 1 g del tejido homogeneizado se mezcló con 5 mL de acetonitrilo. Cada muestra se enriqueció con 25 ng de estándar interno  $^{13}\text{C}$ -PFAS (Wellington Laboratories, Guelph, ON, Canadá). La extracción se realizó con 5 mL de acetonitrilo dos veces durante 30 minutos en un baño de ultrasonidos a 30 °C. El proceso se repitió dos veces para asegurar la máxima recuperación. El extracto resultante se redujo a 2 mL bajo una corriente de nitrógeno y se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de ácido acético. Para la purificación se utilizaron cartuchos Supelclean ENVI-Carb® (100 mg, 1 mL, 100-400 mesh, Supelco, USA). Los cartuchos se acondicionaron con 2 mL de acetonitrilo seguido de 1 mL de ácido acético al 20% en acetonitrilo. Inmediatamente, el extracto de la muestra se hizo pasar por el cartucho, y posteriormente se eluyó tres veces con 1 mL de metanol. Los extractos se redujeron a sequedad bajo una corriente de nitrógeno y se volvieron a disolver en 1 mL de metanol:acetato de amonio 2 mM (50:50; v:v).

La cuantificación instrumental se realizó mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) con ionización por pulverización de electrones (ESI) en modo de ionización negativa. Los extractos (20  $\mu\text{L}$  de volumen de inyección) se cromatografiaron en una



columna C18 Kinetex (2,1 x 150 mm, Phenomenex, Torrance, CA, EE.UU.) y en un HPLC Agilent Serie 1200 (Agilent, Palo Alto, CA, EE.UU.). El HPLC se conectó a una QTrap 5500 de triple cuadrupolo (Sciex, Concord, Ontario, Canadá). La configuración del instrumento, la garantía y el control de calidad (QA/QC), los procedimientos de calibración, así como los estándares y reactivos utilizados se describen en detalle en [Bossi et al. \(2015\)](#). Los procedimientos de GC/CC consistieron en la extracción simultánea de blancos con cada lote, duplicados de muestras y análisis de material de referencia certificado (IRMM-427, tejido de peces, BCR, Geel, Bélgica). Las concentraciones notificadas se corrigieron mediante la adición de isótopos  $^{13}\text{C}$ . Los datos del patrón interno y los límites de detección (LoD) se resumen en la [Tabla II.5](#).

**Tabla II.5.** Abreviación, nombre completo, límite de detección (LoD, ng g<sup>-1</sup> ww) y estándares internos marcados de los PFASs analizados en hígado y músculo de cetáceos.

Abreviación	Compuesto	LoD (ng/g ww)	Compuesto marcado $^{13}\text{C}$
PFBS	Sulfonato de perfluorobutano	0.1	N/A
PFHxS	Sulfonato de perfluorohexano	0.62	Sulfonato de perfluorohexano $^{13}\text{C}$
PFHpS	Sulfonato de perfluoroheptano	0.01	Sulfonato de perfluorooctano $^{13}\text{C}$
PFOS	Sulfonato de perfluorooctano	0.19	Sulfonato de perfluorooctano $^{13}\text{C}$
PFDS	Sulfonato de perfluorodecano	0.08	Sulfonato de perfluorooctano $^{13}\text{C}$
PFOSA	Sulfonamida de perfluorooctano	0.02	Sulfonamida de perfluorooctano $^{13}\text{C}$
PFHxA	Carboxilato de perfluorohexano	0.53	Carboxilato de perfluorohexano $^{13}\text{C}$
PFHpA	Carboxilato de perfluoroheptano	0.07	Carboxilato de perfluorohexano $^{13}\text{C}$
PFOA	Carboxilato de perfluorooctano	0.03	Carboxilato de perfluorooctano $^{13}\text{C}$
PFNA	Carboxilato de perfluorononano	0.07	Carboxilato de perfluorononano $^{13}\text{C}$
PFDA	Carboxilato de perfluorodecano	0.11	Carboxilato de perfluorodecano $^{13}\text{C}$
PFUnA	Carboxilato de perfluoroundecano	0.09	Carboxilato de perfluoroundecano $^{13}\text{C}$
PFDoA	Carboxilato de perfluorododecano	0.07	Carboxilato de perfluorododecano $^{13}\text{C}$
PFTTrA	Carboxilato de perfluorotridecano	0.19	Carboxilato de perfluorododecano $^{13}\text{C}$
PFTeA	Carboxilato de perfluorotetradecano	0.08	Carboxilato de perfluorododecano $^{13}\text{C}$

## II.6. Análisis de isótopos estables (Capítulo 4)

Las muestras de músculo ( $n = 25$ ) se analizaron en busca de isótopos estables de carbono ( $^{13}\text{C}$  y  $^{12}\text{C}$ ) y nitrógeno ( $^{15}\text{N}$  y  $^{14}\text{N}$ ) en el Laboratorio de Isótopos Estables de la Universidad de Koblenz-Landau, Alemania. Las muestras se liofilizaron y posteriormente se homogeneizaron con un mortero, se engarzó una pequeña submuestra ( $1,13 \pm 0,12$  mg) en un vaso de combustión de estaño y se analizó con un analizador elemental Flash 2000 HT acoplado mediante una interfaz ConFlo IV a un espectrómetro de masas de relación isotópica Delta V Advantage (todo ello Thermo Fisher Scientific, Bremen, Alemania). El material de referencia interno (es decir, la caseína) se midió por duplicado cada diez muestras, revelando una imprecisión ( $\pm\text{SD}$ )  $\leq 0,06$  ‰ tanto para  $\delta^{13}\text{C}$  como para  $\delta^{15}\text{N}$ .

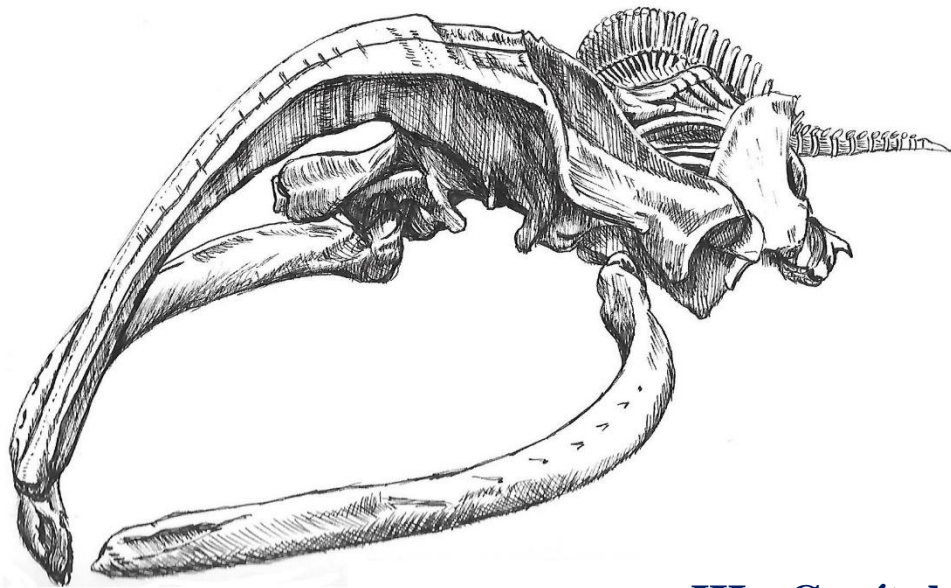


## II.7. Análisis estadístico (Capítulos 1-4)

Para el análisis estadístico de los datos se utilizaron la hoja de cálculo Microsoft Excel y el paquete estadístico SPSS v.25.0 (Chicago, IL, EEUU). Las concentraciones de mercurio y selenio se expresaron en mg/kg en base húmeda. Las concentraciones de pesticidas organoclorados, PCBs y PBDEs se expresaron en ng/g en base lipídica. Utilizamos una estimación del 70 % del contenido de lípidos en la grasa hipodérmica sugerida por [Tanabe et al. \(1994\)](#) y utilizada por [Aguilar et al. \(2002\)](#) para transformar nuestros resultados en base húmeda. Las concentraciones de HAPs se expresaron en ng/g y se mantuvieron en base húmeda. Cualquier resultado por debajo del límite de detección (LoD) se consideró como cero en todos los análisis estadísticos para evitar una sobreestimación de la carga contaminante.

Realizamos analítica descriptiva para todas las especies, tejidos y contaminantes, calculando las medidas de tendencia central (media y mediana) y de desviación, así como el rango. Los análisis de estadística inferencial solo se realizaron en delfín listado, cuya mayor frecuencia de varamientos permitió obtener un mayor tamaño de muestra. Utilizamos la prueba de Kolmogorov-Smirnov para valorar la distribución de las diferentes distribuciones. Posteriormente, se utilizaron las pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis, ANOVA y la *U* de Mann-Whitney para analizar la influencia de las variables de estudio (longitud, grupo de edad, sexo, localización, etc.). Para los análisis más detallados solo se utilizó el delfín listado, la especie que contó con un mayor número de muestras debido a la mayor frecuencia de varamientos de esta especie. Para la comparación intraespecífica se consideraron machos y hembras adultos aquellos delfines listados a partir de doce años o con una longitud superior a 187 cm ([Calzada et al., 1996](#); [Marsili et al., 2004](#) y sus referencias). Se consideraron crías no destetadas aquellas con una edad inferior a 16 semanas ([Calzada et al., 1996](#)). Estimamos la edad a partir de la longitud siguiendo un modelo proporcionado por [Marsili et al. \(2004\)](#) para la subpoblación mediterránea de delfín listado. Utilizamos el coeficiente de correlación de Pearson o de Spearman (en función del tipo de distribución) para evaluar correlaciones entre las concentraciones de contaminantes y otras variables cuantitativas continuas como la edad o las concentraciones de otros contaminantes. El nivel de significación se fijó en  $\alpha = 0,05$ .

Para el cálculo de cantidades tóxicas equivalentes (TEQ) de los dl-PCBs se utilizaron los factores de equivalencia tóxica para mamíferos proporcionados por [Van de Berg et al. \(2006\)](#).



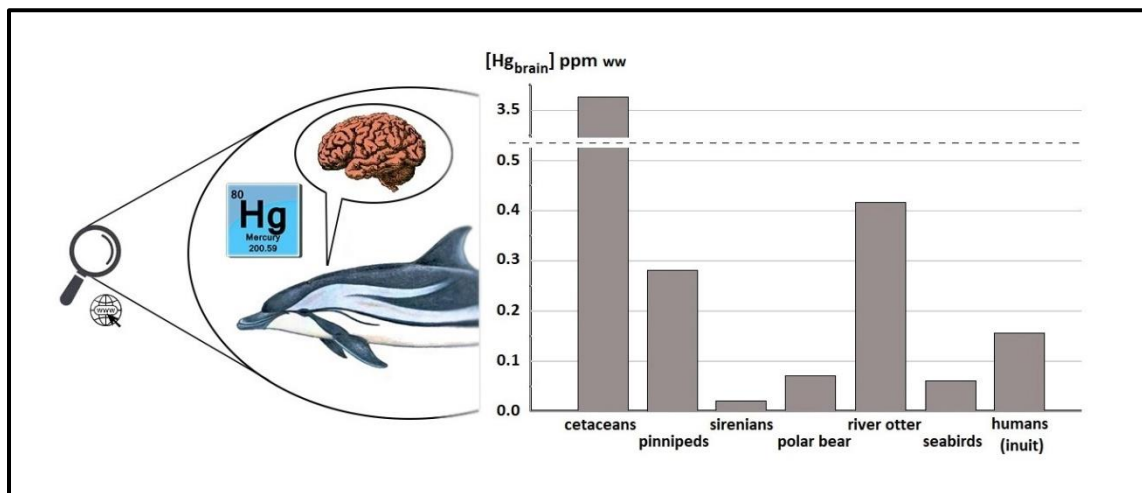
### III. Capítulos



Revisión con datos experimentales / Review with original research data

### III.1. Mercurio y selenio en cetáceos varados en el sureste español entre 2009 y 2021: un enfoque neurotóxico

### III.1. Mercury and selenium in stranded cetaceans in SE Spain between 2009 and 2021: a neurotoxic approach



Con información del trabajo de revisión publicado originalmente en ‘López-Berenguer, G., Peñalver, J., & Martínez-López, E. (2020). A critical review about neurotoxic effects in marine mammals of mercury and other trace elements. *Chemosphere*, 246, 125688. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125688>’ con la incorporación de resultados propios experimentales.

With information of the work originally published on ‘López-Berenguer, G., Peñalver, J., & Martínez-López, E. (2020). A critical review about neurotoxic effects in marine mammals of mercury and other trace elements. *Chemosphere*, 246, 125688. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125688>’ with the addition of our experimental results.





### III.1.1.a. Resumen

Los mamíferos marinos están más expuestos al mercurio (Hg) que cualquier otro animal en el mundo. Como muchos metales y metaloides, el Hg es capaz de alterar la función cerebral, lo que puede ser perjudicial para las poblaciones. Sin embargo, estos aspectos han sido poco estudiados por las dificultades técnicas y éticas. Este capítulo combina los resultados de una revisión sistemática sobre la exposición cerebral a mercurio en mamíferos marinos y sus potenciales efectos neurotóxicos con los resultados de más de una década de trabajo analizando muestras de tejidos de cetáceos varados en el sureste español entre 2009 y 2021. La información previa sobre este tema era escasa y heterogénea. Los odontocetos fueron el grupo más estudiado, así como las especies mostrando mayores concentraciones de Hg. Los valores reportados en cetáceos de todo el globo (mediana 3,00 mg/kg p.h.) superaron en uno o dos órdenes de magnitud a los pinnípedos (mediana 0,33 mg/kg p.h.) u osos polares (mediana 0,07 mg/kg p.h.). Esta información fue apoyada por los datos obtenidos en nuestras muestras en delfines varados, cuya carga media varió entre 3,29 mg/kg p.h. (delfín común) y 7,36 mg/kg p.h. (delfín listado). Hasta donde sabemos, reportamos en este trabajo la mayor concentración de Hg (86,64 mg/kg p.h.) jamás observada en el cerebro de cualquier mamífero marino, perteneciente a un macho adulto de delfín listado. Tanto la información revisada como nuestros propios resultados apoyan la consideración del mar Mediterráneo como una zona de alta contaminación por mercurio. Varias concentraciones reportadas en diferentes especies de cetáceos, incluidas las de nuestra propia investigación, se situaron por encima de diferentes umbrales de neurotoxicidad inducida por Hg en mamíferos. Discutimos varios mecanismos de detoxificación que se hipotetiza que los cetáceos y otros mamíferos marinos han desarrollado para hacer frente a estos efectos. La demetilación del Hg orgánico y el secuestro de Hg por selenio (Se) son los mecanismos cerebrales mejor comprendidos en este sentido. De acuerdo con la literatura, reportados ratios molares de Se:Hg superiores a 1 en el cerebro en las tres especies estudiadas, lo que virtualmente implica protección frente a la neurotoxicidad del Hg. Futuros trabajos deberían centrarse en este y otros mecanismos para comprender mejor la magnitud de la protección frente a los efectos neurotóxicos del Hg en los mamíferos marinos.



### III.1.1.b. Abstract

Marine mammals are more exposed to mercury (Hg) than any other animals in the world. As many metals and metalloids, Hg it is able to impair the brain function, which could be a cause of population decline. Nevertheless, these issues have been scarcely studied because of the technical and ethical difficulties. This chapter combines the results of a systematic review about marine mammal's brain exposition to Hg and its potential neurotoxic effects with the results from more than a decade of work analyzing brain and liver samples obtained from stranded cetaceans in the southeast of Spain between 2009 and 2021. Previous information on this topic was scarce and highly heterogenous. Toothed whales were the most studied group, as well as the species accounting for higher Hg brain concentrations. Worldwide reported Hg values in brain of cetaceans (median 3.00 mg/kg ww) surpassed by one or two orders of magnitude those values found in other species as pinnipeds (median 0.33 mg/kg ww) or polar bears (median 0.07 mg/kg ww). These data were supported by the results on our own samples of stranded dolphins, whose mean burden varied between 3.29 mg/kg ww (common dolphin) and 7.36 mg/kg ww (striped dolphin). To our knowledge, we report here the highest Hg concentration (86.64 mg/kg ww) reported in brain tissue of any previous marine mammals, belonging to a mature male striped dolphin. Both the reviewed information and our results support the consideration of the Mediterranean Sea as a Hg hotspot. Several values reported for cetacean species, including those of our own research, were above different thresholds established for Hg-induced neurotoxic effects in mammals. We discuss various detoxification mechanisms developed to cope with Hg neurotoxicity that cetaceans, as well as other marine mammals, are hypothesized to possess. Demethylation of organic mercury and selenium sequestration of Hg are the best understood detoxifying mechanisms in brain. In accordance with the literature, we report here Se:Hg molar ratios above 1 in the brain of three studied species, which would virtually imply protection against Hg neurotoxicity. Further studies should focus on these and other mechanisms to better understand the extent of the protection capacity of marine mammals against Hg potential neurotoxic effects.



### III.1.2. Introducción

El mercurio (Hg) es el contaminante más estudiado en mamíferos marinos debido a su intensa asociación con el medio acuático. El Hg inorgánico (Hg<sub>i</sub>) pasa por un proceso de metilación por las bacterias marinas sulfato-reductoras y se transforma en monometilmercurio (CH<sub>3</sub>Hg), más comúnmente denominado simplemente metilmercurio (MeHg), que es una especie química mucho más tóxica del metal (Aschner y Aschner, 1990; Baatrup, 1991). El MeHg es capaz de biomagnificar y penetrar en las redes tróficas acuáticas por sus niveles inferiores -desde el plancton hasta los invertebrados más grandes, como los moluscos- hasta alcanzar las posiciones más altas, que ocupan los peces y, en última instancia, los mamíferos marinos (Clarkson y Magos, 2006; George y Batzer, 2001; Lavoie *et al.*, 2013; Watras y Bloom, 1992). Por tanto, la carga de Hg en órganos de mamíferos marinos puede alcanzar concentraciones mil veces superiores a las encontradas en invertebrados marinos (Bennet *et al.*, 2001).

La mayoría de los mamíferos marinos son altamente inteligentes, con comportamientos complejos y estructuras sociales complejas (Marino *et al.*, 2007). Entre ellos, las ballenas dentadas (clado Odontoceti) han demostrado poseer un desarrollo de la corteza cerebral y un cociente de encefalización que compiten y, en algunos casos, superan a los de los homínidos no humanos y humanos (Marino, 2002; Marino, 2007; Würsic, 2008). Por lo tanto, es importante valorar su cerebro como un órgano clave -incluso más que para otras especies- para su supervivencia. El principal órgano diana de la toxicidad por MeHg es el sistema nervioso central (SNC). Este metal es capaz de alterar el funcionamiento normal del SNC incluso en concentraciones extremadamente bajas, por lo que la consecuencia de su exposición en mamíferos marinos puede ser alarmante. Sin embargo, tanto la carga de Hg en el SNC como el alcance de sus efectos neurotóxicos en los mamíferos marinos apenas se han abordado y se conocen mal.

Por lo general, los metales y metaloides son más neurotóxicos en sus formas orgánicas, ya que en esta forma son más liposolubles, lo que les confiere la capacidad de traspasar la barrera hematoencefálica (BHE) y penetrar en el organismo y el cerebro con mayor facilidad (Carpenter, 2001). Así, el MeHg se considera más neurotóxico que las especies inorgánicas (Aschner y Aschner, 1990; Baatrup, 1991). Una vez absorbido, el MeHg entra en el torrente sanguíneo y se distribuye rápidamente a diversos tejidos y órganos, primero al hígado, riñón y bazo y después al músculo y cerebro (Oliveira Ribeiro *et al.*, 1999). La toxicidad del MeHg se manifiesta principalmente como daños en el SNC, pérdida de neuronas y gliosis con alteraciones neuroquímicas en el cerebelo, déficits sensoriales y motores que provocan cambios en el comportamiento (Kershaw *et al.*, 2019). La neurotoxicidad puede evaluarse a través de sus numerosos puntos finales a diferentes niveles, por ejemplo, cambios en el comportamiento, alteraciones en la liberación o captación de neurotransmisores, cambios en la conducción nerviosa, *etc.* (EPA, 1998). El mecanismo subyacente a la mayor parte de la neurotoxicidad del



MeHg es su gran afinidad con el grupo tiol (-SH) de diferentes moléculas (Aschner y Aschner, 1990; Clarkson y Magos, 2006). El glutatión (GSH), que es el principal agente antioxidante de la célula, es uno de los principales objetivos del MeHg. La relación de esta molécula con el Hg es compleja y los mecanismos de interacción en el SNC aún no se comprenden totalmente. Sin embargo, se sabe que su interacción da lugar a especies reactivas del oxígeno (ROS) y provoca daño oxidativo en varias moléculas (Farina *et al.*, 2011). Paradójicamente, el GSH desempeña un papel neuroprotector contra la neurotoxicidad del MeHg (Kehrig *et al.*, 2016). Por otra parte, el MeHg también es capaz de dañar las vías de comunicación neuroquímicas como el sistema colinérgico por diferentes vías como la inhibición de la colina acetiltransferasa (ChAT) y la acetilcolinesterasa (AChE) o mediante el bloqueo de los sitios de unión del ligando en los receptores muscarínicos de acetilcolina (mAChRs) en el cerebro (Basu *et al.*, 2005c). Por desgracia, la mayor parte de la información relativa a los efectos neurotóxicos de los contaminantes ambientales procede de estudios realizados con animales de laboratorio o técnicas *in vitro*. El ratón y la rata son los modelos animales utilizados en un 95% de este tipo de estudios (Clancy *et al.*, 2007), pero extrapolar datos de una especie a otra es siempre arriesgado dadas las probadas diferencias existentes entre la toxicocinética y la toxicodinámica de los contaminantes entre especies (Beineke *et al.*, 2010; Betti y Nigro, 1996; Clarkson y Magos, 2006; Gajdosechova *et al.*, 2016). Sin embargo, algunos de los mecanismos mencionados han sido también demostrados por Basu *et al.* (2005a; 2005b) en especies piscívoras como el visón salvaje *Neovison vison* y la nutria de río norteamericana *Lontra canadensis* y posteriormente en la foca anillada *Pusa hispida* (Basu *et al.*, 2006). Del mismo modo, Ostertag *et al.* (2014) probaron la asociación entre la exposición al MeHg en belugas y diversas alteraciones bioquímicas en las vías de señalización GABAérgica y glutamatérgica en el cerebelo. Estos descubrimientos abrieron la posibilidad de utilizar estos receptores como bioindicadores específicos de la exposición temprana al Hg en mamíferos marinos.

El muestreo de mamíferos marinos es arduo y complejo, especialmente para aquellos que han alcanzado la independencia total del medio terrestre, es decir, los cetáceos y los sirenios. Para estos animales las únicas posibilidades de obtener muestras son las operaciones de caza; las capturas accidentales durante los procedimientos de pesca; y los varamientos, que son la fuente más común de información científica, especialmente en el caso de los cetáceos, que suelen ser animales marcadamente distantes. Sin embargo, el cerebro se descompone rápidamente y su extracción requiere una gran destreza, lo que implica un esfuerzo mayor que el de otras muestras analizadas habitualmente en los estudios toxicológicos. La mayoría de las veces los equipos de las redes de varamiento carecen de recursos humanos, herramientas y tiempo para obtener dichas muestras en buenas condiciones (Geraci *et al.*, 2005). Debido a este hecho y a la tradicional consideración de otros órganos como el hígado, los riñones o la grasa como más importantes en



los estudios toxicológicos, el cerebro de los mamíferos marinos ha sido una muestra difícil y poco atractiva de evaluar por los toxicólogos. Normalmente, el Hg se acumula en los órganos de los mamíferos marinos de mayor a menor concentración de la siguiente manera: hígado > riñón > músculo > cerebro  $\approx$  grasa (Brookens *et al.*, 2008; Eisler, 2010; Endo *et al.*, 2006; Martínez-López *et al.*, 2019b).

En este trabajo combinamos los resultados de las concentraciones cerebrales de Hg en cetáceos varados en el sureste de España con una revisión sistemática sobre las concentraciones cerebrales de Hg en mamíferos marinos de todo el mundo en las últimas décadas con el objetivo de establecer una línea base para futuros estudios sobre la exposición al Hg y sus efectos en estas especies.



### III.1.3. Resultados y discusión

#### III.1.3.1. Concentraciones actualizadas de Hg en cerebro de mamíferos marinos

En nuestra revisión sistemática encontramos 37 trabajos en los que se informaba de concentraciones de Hg en cerebro (Tabla III.1.1). Todos estos estudios, excepto uno, se realizaron en el hemisferio norte. Hubo fuertes sesgos hacia ciertas especies o grupos de especies, así como para ciertas localizaciones geográficas. Algunos taxones como los delfínidos (familia Delphinidae) y los fócidos (familia Phocidae) estaban sobrerrepresentados, mientras que otros como los mysticetos (Mysticeti) o los otáridos (familia Otariidae) estaban prácticamente ausentes en la bibliografía. Por otro lado, los estudios sobre pinnípedos se centraron en las costas de Norteamérica, mientras que los estudios sobre cetáceos predominaron en el Mar Mediterráneo (35% de los trabajos). Esto puede dar lugar a sesgos en la interpretación de los datos. Por ejemplo, en lo que respecta al mar Mediterráneo, se considera que está más contaminado por Hg que otras zonas como el océano Atlántico (Bellante *et al.*, 2012; 2017; Capelli *et al.*, 2008) debido a un legado de actividades mineras de mercurio y una alta densidad de volcanes submarinos que ha contribuido fuertemente a su alta carga de Hg (Cinnirella *et al.*, 2019). Así, se ha reportado que los cetáceos que habitan esta zona presentan concentraciones de Hg más elevadas que los cetáceos de otros lugares (Bellante *et al.*, 2017; Capelli *et al.*, 2008; Martínez-López *et al.*, 2019a, b). En concordancia con estos trabajos, el 25 % de las investigación revisados en este trabajo que reportan las mayores concentraciones cerebrales de Hg corresponden a muestras pertenecientes a la costa italiana (Mar Mediterráneo). Además, tanto el valor medio máximo (16,72 mg/kg de peso húmedo (p.h.)) como el valor individual máximo (48,60 mg/kg p.h.) proceden de cetáceos varados en la costa italiana, concretamente del calderón gris *Grampus griseus* ( $n=3$ ; Capelli *et al.*, 2008) y del delfín listado (Bellante *et al.*, 2017). Por lo tanto, la información referida en este trabajo sólo puede considerarse como una aproximación inicial a este tema, pero está lejos de representar toda la realidad para todas las regiones y todas las especies.

**Tabla III.1.1.** Resumen de la información revisada sobre Hg en cerebro de mamíferos marinos.  $N$  = número de trabajos,  $n$  = número de muestras. Las concentraciones cerebrales de Hg se expresan en mg/kg p.h. como media general (ponderada según  $n$ ; arriba) y mediana general con rango (abajo), calculadas a partir de medidas de tendencia central, no a partir de datos individuales. LoD = Límite de detección.

Marine mammals	N	n	Species	Dominant group (species)	Dominant region	Hg brain concentrations
Cetaceans	23	334	10	Delphinids ( <i>Stenella coeruleoalba</i> )	Mediterranean Sea	3.53 3.0 (<LoD-16.72)
Pinnipeds	10	151	6	Phocids ( <i>Phoca vitulina</i> )	North America	0.28 0.33 (0.15-0.52)
Polar bears <i>Ursus maritimus</i>	3	106	1	—	Arctic	0.08 0.07 (0.04-0.11)
Sirenians	1	2	1	( <i>Trichechus manatus</i> )	Florida, USA	0.07



Los cetáceos fueron el grupo más estudiado, con un total de 23 trabajos al respecto, que sumaron un total de 334 muestras de 10 especies diferentes. Dado que la inmensa mayoría de la información procede de animales varados, la selección de las especies de estudio por parte de los diferentes autores se basa probablemente en los individuos disponibles más que en las preferencias de los investigadores, por lo que aquellas especies que tienen poblaciones más numerosas, que viven más cerca de la costa y que tienen más probabilidades de varar, son las que suelen estudiarse con mayor frecuencia. En segundo lugar, encontramos 10 estudios sobre pinnípedos que utilizaban un total de 151 muestras de seis especies diferentes, en este caso combinando animales varados y cazados con fines de subsistencia. Para los osos polares *Ursus maritimus*, solo pudimos encontrar tres trabajos (Basu *et al.*, 2009; Krey *et al.*, 2012; Krey *et al.*, 2015), que sumaron un número relativamente grande de muestras ( $n=106$ ). Por último, los sirenios solo se estudian en un artículo que incluye dos muestras de cerebro del manatí del Caribe *Trichechus manatus* (O'shea *et al.*, 1991).

Los datos disponibles sugieren que los cetáceos son probablemente el grupo de mamíferos marinos que acumula las mayores cantidades de Hg en el cerebro (rango de medias/medias <LoD-16,72 mg/kg p.h.), como probablemente ocurre en el hígado y otros órganos. El valor medio general de todos los estudios revisados (3,53 mg/kg p.h.) fue muy superior a los valores comunicados por la mayoría de los autores en otras especies de mamíferos que pueden considerarse susceptibles a una exposición elevada al Hg. Este valor es consistente con las concentraciones cerebrales de Hg en nuestras muestras (Tabla III.1.2), cuyo valor medio en delfines listados, mulares y comunes fue de  $7,36 \pm 16,24$ ,  $4,05 \pm 5,87$ , y  $3,29 \pm 5,34$  mg/kg p.h. respectivamente. Sorprendentemente, detectamos la concentración cerebral de Hg más alta jamás reportada en la literatura, que corresponde a un delfín listado macho adulto encallado en el sureste de España en 2009 que portaba una concentración cerebral de Hg de 86,64 mg/kg p.h. en su cerebro. Este valor es casi el doble de la concentración máxima reportada por Bellante *et al.* (2017), también en un delfín listado del Mediterráneo.

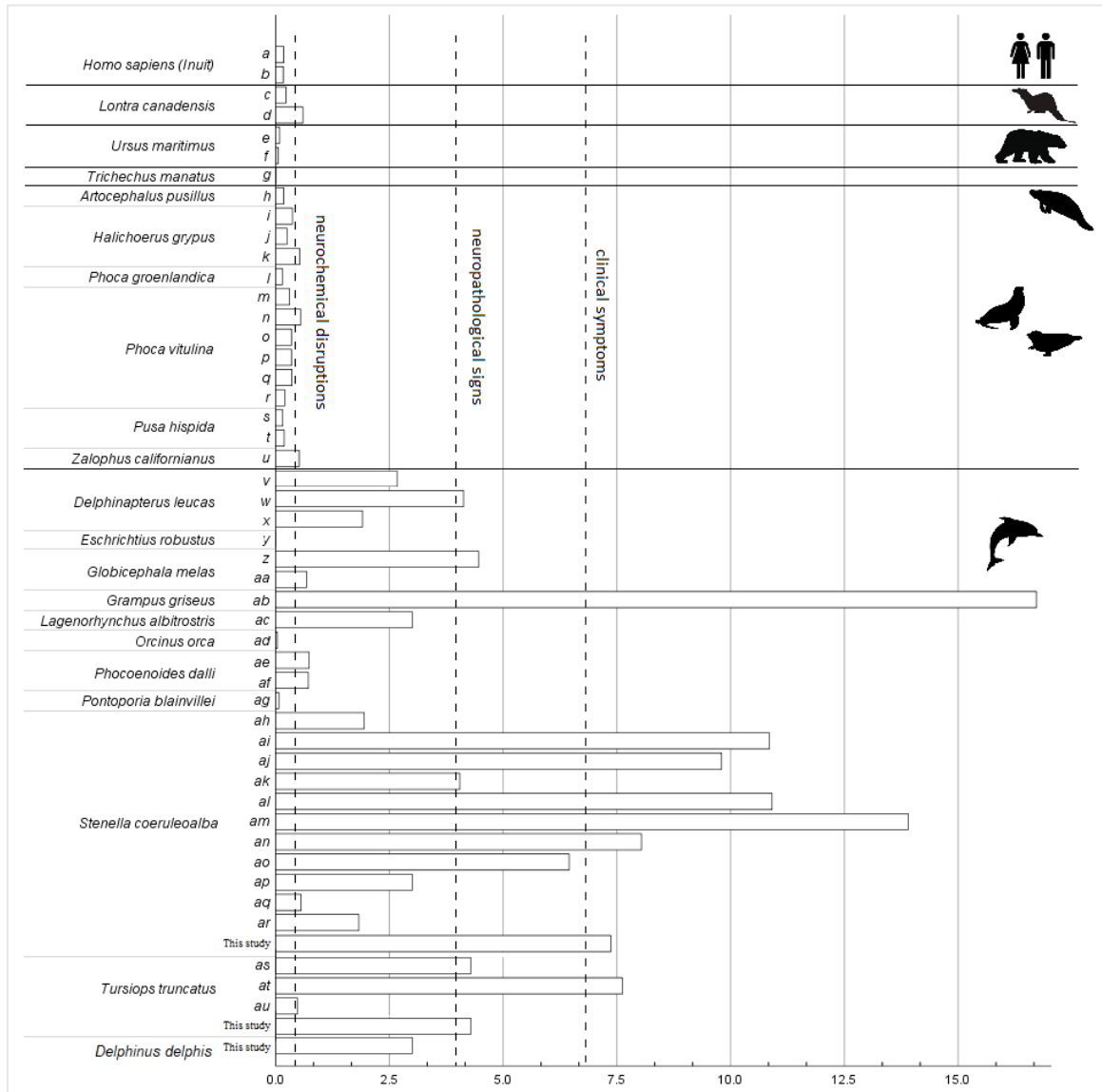
**Tabla III.1.2.** Concentraciones de Hg y Se (mg/kg p.h.) en cerebro e hígado y coeficiente [Hgliver]/[Hgbrain], en delfines varados en el SE de España entre 2009 y 2021. Las correlaciones sólo se calcularon para el delfín listado debido al escaso número de muestras para las otras especies. N/A - no aplicable.

Species	Brain Hg	Liver Hg	[Hgliver]/[Hgbrain] coefficient	Brain Se	Liver Se
Striped dolphin	$7.36 \pm 16.24$	$94.35 \pm 140.6$	$17.45 \pm 13.26$	$2.93 \pm 4.13$	$31.42 \pm 50.0$
n = 39*	1.17 (0.25-86.6)	20.0 (1.74-495)	15.98 (1.46-55.95)	1.55 (<LoD-16.6)	11.30 (1.26-205)
Bottlenose dolphin	$4.05 \pm 5.87$	$93.3 \pm 122.9$	$15.54 \pm 3.11$	$2.71 \pm 2.81$	$31.18 \pm 54.95$
n = 4*	1.55 (0.30-12.80)	29.4 (15.5-235)	16.07 (12.20-18.36)	1.13 (0.84-5.85)	10.20 (7.50-104)
Common dolphin	$3.29 \pm 5.34$	$46.18 \pm 38.89$	$32.47 \pm 30.17$	$2.70 \pm 2.87$	$18.98 \pm 19.43$
n = 4*	0.75 (0.37-11.30)	43.85 (1.60-95.4)	33.15 (4.32-59.25)	1.42 (0.69-5.98)	13.70 (2.74-40.50)

\*Número de muestras para las concentraciones de Hg en cerebro. Las muestras analizadas para Hg en hígado fueron 33, 3 y 4 respectivamente, mientras que las muestras analizadas para Se tanto en cerebro como en hígado fueron 19, 3 y 3 respectivamente. Los parámetros analizados en un menor número de muestras corresponden a una fracción de las muestras analizadas para Hg en cerebro.



En la **Figura III.1.2** representamos gráficamente las concentraciones reportadas para distintas especies de mamíferos marinos y otras especies relacionadas con el medio marino.



**Figura III.1.2.** Valores medios comunicados (eje X, mg/kg p.h.) de Hg en tejido cerebral de diferentes especies de mamíferos marinos y otras especies marinas afines. Las líneas discontinuas verticales representan diferentes umbrales de neurotoxicidad inducida por Hg. <sup>a</sup>Cappon, 1971 (n=9), Canada; <sup>b</sup>Pedersen et al., 1999 (n=17); Greenland, <sup>c</sup>Strom, 2007 (n=104), USA; <sup>d</sup>Yates et al., 2005 (n=52), USA; <sup>e</sup>Basu et al., 2009 (n=82), Greenland; <sup>f</sup>Krey et al., 2015 (n=24), Canada; <sup>g</sup>O'Shea et al., 1991 (n=2), USA; <sup>h</sup>Bacher, 1985 (n=16), Australia - Bass Strait; <sup>i</sup>Freeman & Horne, 1973 (n=4), Canada - North Atlantic; <sup>j</sup>Freeman & Horne, 1973 (n=2), Canada - North Atlantic, immature individuals; <sup>k</sup>Van de Ven et al., 1979 (n=5), Netherlands - North Sea, immature individuals; <sup>l</sup>Freeman & Horne, 1973 (n=8), Canada - North Atlantic, immature individuals; <sup>m</sup>Brookens et al., 2008 (n=26), USA - North Pacific, immature individuals; <sup>n</sup>Drescher et al., 1977 (n=17), Germany - Wadden Sea; <sup>o</sup>Gaskin et al., 1973 (n=5), Canada - North Atlantic; <sup>p</sup>Gaskin et al., 1973 (n=5), USA - North Atlantic; <sup>q</sup>Langlois et al., 1995 (n=2), Canada - Hudson Bay; <sup>r</sup>Roberts et al., 1976 (n=13), UK - North Sea & North Atlantic; <sup>s</sup>Krey et al., 2015 (n=34), Canada - Artic Ocean; <sup>t</sup>Langlois et al., 1995 (n=8), Canada - Hudson Bay; <sup>u</sup>Buhler et al., 1975 (n=6), USA - North Pacific; <sup>v</sup>Langlois et al., 1995 (n=3), Canada - Hudson Bay; <sup>w</sup>Lemes et al., 2011 (n=10), Canada - Artic Ocean; <sup>x</sup>Ostertag et al., 2013 (n=83), Canada - Artic Ocean; <sup>y</sup>Varanasi et al., 1994 (n=1), USA - North Pacific; <sup>z</sup>Gajdosechova et al., 2016 (n=12), UK - North Sea; <sup>aa</sup>Meador et al., 1993 (n=7), USA - North Atlantic; <sup>ab</sup>Capelli et al., 2008 (n=3), Italy - Mediterranean Sea; <sup>ac</sup>Andersen & Rebsdorff, 1976 (n=1), Denmark - North Sea; <sup>ad</sup>Endo et al., 2006 (n=1), Japan - Ojotsk Sea; <sup>ae</sup>Fujise et al., 1988 (n=1), North Pacific; <sup>af</sup>Yang et al., 2006 (n=1), Japan - North Pacific; <sup>ag</sup>Romero et al., 2016 (n=40), Argentina - South Atlantic; <sup>ah</sup>Andre et al., 1991 (n=44), East Tropical Pacific; <sup>ai</sup>Bellante et al., 2017 (n=15), Italy - Mediterranean Sea; <sup>aj</sup>Capelli et al., 2000 (n=11), Italy - Mediterranean Sea; <sup>ak</sup>Capelli et al., 2008 (n=2), Italy - Mediterranean Sea; <sup>al</sup>Cardellicchio, 1995 (n=16), Italy - Mediterranean Sea; <sup>am</sup>Cardellicchio et al., 2000 (n=5), Italy - Mediterranean Sea; <sup>an</sup>Cardellicchio et al., 2002 (n=10), Italy - Mediterranean Sea; <sup>ao</sup>Itano et al., 1984 (n=7), Japan - Ojotsk Sea; <sup>ap</sup>Leonzio et al., 1992 (n=13), Italy - Mediterranean Sea; <sup>aq</sup>Monaci et al., 1998 (n=24), Italy - Mediterranean Sea; <sup>ar</sup>Monaci et al., 1998 (n=8), Spain - Mediterranean Sea; <sup>as</sup>Bellante et al., 2017 (n=8), Italy - Mediterranean Sea; <sup>at</sup>Capelli et al., 2008 (n=2), Italy - Mediterranean Sea; <sup>au</sup>Leonzio et al., 1992 (n=6), Italy - Mediterranean Sea.





En comparación con los cetáceos, el resto de mamíferos marinos presentan valores de Hg en cerebro mucho más bajos. Por ejemplo, la concentración media de Hg en el cerebro de los pinnípedos osciló entre 0,15 y 0,52 mg/kg p.h. (la media general fue de 0,28 mg/kg p.h.), lo que se encuentra dentro del rango expresado tanto para otros mamíferos piscívoros como para los inuit. Por otro lado, a pesar de su posición como depredadores principales en la red trófica del Ártico, los osos polares muestran valores extremadamente bajos de Hg en el cerebro (media general de 0,08 mg/kg p.h.). Aparentemente, esto podría parecer incoherente tanto con su posición trófica como con el hecho de que los osos polares se alimentan principalmente de focas, lo que debería implicar un aumento del Hg con respecto a las focas debido a su capacidad de biomagnificación. Sin embargo, los niveles hepáticos de estos osos polares eran de la misma magnitud o superiores a los encontrados en otros cetáceos y pinnípedos del Ártico, por lo que [Krey et al. \(2012\)](#) sugirieron que esta situación podría estar causada por alguna diferencia en la estructura o composición de la barrera hematoencefálica de los osos polares, tal vez en relación con algunos transportadores específicos, lo que podría conducir a una menor entrada o un mayor eflujo de especies de Hg en el cerebro. Sin embargo, esto es sólo una hipótesis, y la falta de estudios sobre el tema hace que sea difícil aclarar las razones subyacentes a las diferencias entre los principales depredadores marinos como los pinnípedos, los cetáceos y los osos polares. No obstante, estas grandes variaciones interespecíficas entre diferentes grupos que se alimentan en posiciones similares de la red trófica indicarían que la dieta no es el único factor que explica la acumulación de Hg en el cerebro. Por el contrario, los sirenios son los únicos mamíferos marinos herbívoros. En el único trabajo sobre concentraciones de Hg disponible en este grupo ([O'Shea et al., 1991](#)), las concentraciones cerebrales de dos individuos estaban por debajo del límite de detección y eran de 0,03 mg/kg p.h. Estas concentraciones eran similares a las notificadas en hígado para los mismos individuos (<LoD y 0,13 mg/kg p.h. respectivamente). En este caso, concentraciones de tal magnitud eran de esperar teniendo en cuenta su baja posición en la red trófica. Otras especies relacionadas con el mar oscilan en torno a las mismas concentraciones que los pinnípedos o los osos polares. Por ejemplo, [Rothschild y Duffy \(2005\)](#) y [Braune \(1987\)](#) informaron de valores de aproximadamente dos órdenes de magnitud inferiores (mediana 0,03, rango <0,001-0,02 mg/kg p.h., y mediana 0,09, rango 0,04-0,36 mg/kg p.h., respectivamente) en varias especies de aves marinas de Alaska y Canadá, respectivamente. De forma similar, [Strom \(2007\)](#) y [Yates et al. \(2005\)](#) hallaron valores algo superiores pero aún muy alejados de los de los cetáceos (media 0,23, rango 0,04-1,00 mg/kg p.h., y media 0,60, rango 0,14-10,20 mg/kg p.h.) en la nutria de río norteamericana de diferentes regiones del norte de Estados Unidos. Por otro lado, los humanos, y especialmente aquellas poblaciones que se alimentan principalmente de recursos pesqueros, pueden considerarse en algunos aspectos animales similares a los cetáceos debido a su posición trófica superior y a su larga esperanza de vida. Encontramos dos artículos diferentes sobre la concentración cerebral de Hg en dos poblaciones diferentes de Inuit, que debido a su



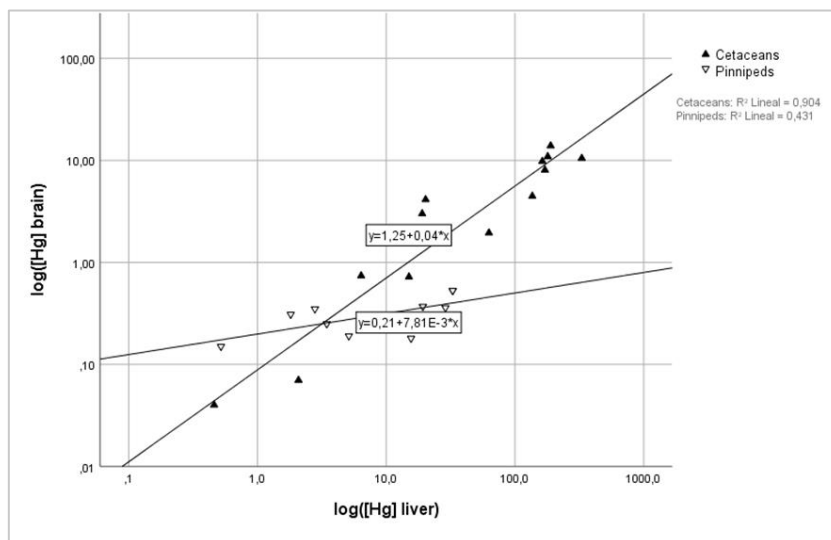
dependencia tradicional del mar y su caza de depredadores superiores como osos polares y pinnípedos les convierte en el grupo humano de mayor exposición al Hg en la dieta. [Cappon \(1981\)](#) observó un valor medio de 0,14 (0,10-0,41) mg/kg p.h., similar al de [Pedersen et al. \(1999\)](#), que obtuvieron una mediana de 0,17 (0,06-4,78) mg/kg p.h. Así pues, al igual que en los casos anteriores, su carga cerebral de Hg no es comparable a la de los cetáceos.

La acumulación de Hg en el cerebro de los mamíferos marinos varía en función de muchos factores, aunque la dieta y la edad son aparentemente los dos que más influyen. En general, las dietas ricas en pescado se han asociado con mayores niveles de Hg en los tejidos de los mamíferos marinos, ya que los peces se encuentran en posiciones más altas de las redes tróficas marinas ([Gajdosechova et al., 2016](#)). Por el contrario, las dietas compuestas por mayores cantidades de invertebrados como cefalópodos o moluscos en detrimento de los peces suelen asociarse con menores niveles de Hg y mayores niveles de Cd ([Brown et al., 2016](#); [Capelli et al., 2008](#); [Caurant y Amiard-Triquet, 1995](#)). No obstante, [Bellante et al. \(2017\)](#) propusieron la hipótesis contraria al considerar la influencia de la dieta sobre la concentración de Hg en el hígado del delfín mular y el delfín listado, por lo que se necesitan más investigaciones para arrojar luz sobre este asunto. Por otro lado, la edad está claramente correlacionada con la carga de Hg en el cerebro - y otros órganos - como se ha observado en varios estudios tanto en cetáceos como en pinnípedos ([Ann Reed et al., 2015](#); [Brown et al., 2016](#); [Gajdosechova et al., 2016](#); [García-Álvarez et al., 2014a](#)), pero también en osos polares ([Basu et al., 2009](#)). Es importante tener en cuenta la edad en la evaluación de la neurotoxicidad del Hg, ya que el SNC en desarrollo es especialmente sensible a varios contaminantes, incluido el MeHg, debido a varias razones como la formación incompleta de la barrera hematoencefálica (BHE) y una mayor sensibilidad de las estructuras en desarrollo ([Andersen et al., 2000](#)). Así, se considera que algunos oligoelementos como el Cd no pueden atravesar la BHE del cerebro adulto, pero sí pueden hacerlo durante los periodos prenatal y postnatal ([Levin y Miller, 1980](#)). Se ha hipotetizado que los mecanismos que subyacen a la especial sensibilidad del SNC inmaduro al MeHg se basan en su capacidad para destruir los microtúbulos citoplasmáticos con la consiguiente inhibición de la división y migración celular; dos procesos clave en el desarrollo cerebral ([Clarkson, 1987](#)). Sin embargo, aunque se sabe que el MeHg es capaz de atravesar la placenta en humanos y roedores ([Farina et al., 2011](#)), podría no ocurrir en cetáceos, como fue observado por [Endo et al. \(2006\)](#) en un grupo de orcas varadas en las costas de Japón. Estos autores tampoco encontraron evidencias de transferencia lactacional de Hg. En nuestro trabajo usamos el conjunto de muestras más grande para el delfín listado para evaluar la relación entre las concentraciones tisulares de Hg detectadas y la longitud, usada como indicador de la edad. De acuerdo con lo descrito en literatura, encontramos una correlación positiva y significativa entre las concentraciones de Hg en cerebro ( $\rho = 0.80$ ,  $p < 0.001$ ) e hígado



( $\rho = 0,89$ ,  $\rho < 0,001$ ). Por el contrario, el sexo no mostró ninguna influencia en la concentración de Hg en el cerebro ( $\rho = 0,90$ ) o en el hígado ( $\rho = 0,36$ ).

Teniendo en cuenta que el cerebro es una muestra difícil de obtener durante las necropsias de animales, especialmente en el trabajo de campo con animales de gran tamaño o en descomposición, se deben considerar nuevos enfoques para obtener información útil y fiable sobre la neurotoxicidad potencial inducida por Hg a través de otras vías. Cuando los trabajos proporcionaron esta información, valoramos las concentraciones de Hg en hígado junto con las de cerebro, con la finalidad de averiguar si las concentraciones de ambos tejidos estaban de alguna manera correlacionadas, tal y como se ha observado previamente en otros órganos de cetáceos (p. ej., hígado y bazo, bazo y músculo; Cáceres-Saez *et al.*, 2018). En 19 de 23 trabajos sobre cetáceos y 8 de 10 sobre pinnípedos se aportó dicha información. Tanto en nuestras muestras (Tabla III.1.2) como en informes previos, la carga de Hg en hígado fue invariablemente mayor que en cerebro, como ocurre en el resto de mamíferos (Clarkson y Magos, 2006). Descubrimos que la concentración de Hg en cerebro e hígado estaba positivamente correlacionada tanto en cetáceos ( $\rho = 0,96$ ;  $\rho < 0,001$ ) como en pinnípedos ( $\rho = 0,76$ ;  $\rho = 0,011$ ) (Figura III.1.3), lo que podría ser indicativo de similitudes en los procesos dinámicos de acumulación de Hg entre ambos órganos. Esto se confirmó posteriormente en nuestro conjunto de muestras de delfines listados ( $\rho = 0,89$ ;  $\rho < 0,001$ ), la especie que cuenta con un mayor número de muestras ( $n = 33$  para hígado y cerebro). Con el fin de evaluar la viabilidad de estimar la carga de Hg cerebral cuando sólo se dispone de tejido hepático, calculamos el coeficiente  $[Hg_{\text{hígado}}]/[Hg_{\text{cerebro}}]$  a partir de los valores medios/medianos previamente reportados, así como de cada individuo de nuestros propios conjuntos de muestras de delfines listados varados. Sin embargo, este coeficiente mostró una enorme variabilidad tanto en la literatura, oscilando entre 4,9 y 32,2 en cetáceos y entre 3,5 y 89,0 en pinnípedos, como en nuestra especie de estudio (rango de medias 15,5 - 32,5). Esta variación también se observó entre diferentes individuos de una misma especie (delfín listado, rango 3,5-54,7), mostrando aparentemente cierta correlación positiva significativa con la concentración de Hg en hígado ( $\rho = 0,54$ ,  $\rho < 0,001$ ) pero no significativa con el Hg en cerebro ( $\rho = 0,28$ ,  $\rho > 0,05$ ). Por lo tanto, consideramos que las concentraciones de Hg en hígado no son suficientes para predecir o estimar las concentraciones de Hg en cerebro en mamíferos marinos. Por otro lado, Magos y Butler (1976) informaron de un coeficiente  $[Hg_{\text{hígado}}]/[Hg_{\text{cerebro}}]$  de 3,4-4,2 en ratas expuestas oralmente a MeHg, un valor que está en el rango inferior de los mostrados en este trabajo. Coeficientes altos podrían sugerir algún tipo de mecanismo de detoxificación desarrollado por los mamíferos marinos contra la neurotoxicidad inducida por el Hg a través del secuestro de mayores cantidades de este metal por el hígado.



**Figura III.1.3.** Correlación entre la carga de Hg en hígado y cerebro a partir de datos revisados sobre varias especies de cetáceos y pinnípedos.

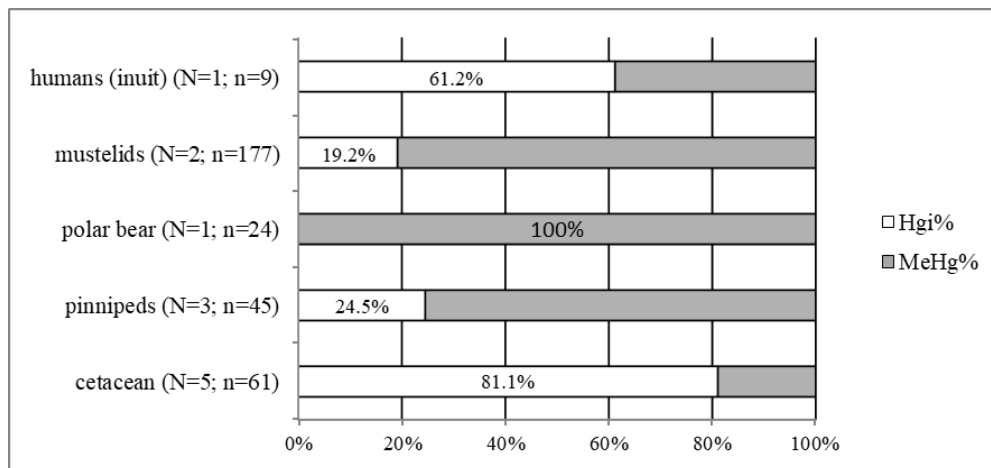
### III.1.3.2. Mecanismos de protección cerebral frente al Hg en mamíferos marinos

Es de esperar que los mamíferos marinos hayan desarrollado algunos mecanismos homeostáticos que les permitan afrontar las potenciales consecuencias de estar extremadamente expuestos al Hg (Ikemoto *et al.*, 2004; Scheuhammer *et al.*, 2008). A diferencia de los peces y los invertebrados marinos, que acumulan la mayor parte del Hg como MeHg (Bloom, 1992), los tejidos de los mamíferos marinos acumulan diferentes fracciones de MeHg en relación con el Hg total según el órgano, la especie, la edad, *etc.* A pesar de que la fracción de MeHg varía entre tejidos y especies, generalmente esta es mínima en algunos órganos como el hígado o el bazo, aunque predomina en otros como el corazón o el músculo (Capelli *et al.*, 2000; 2008; Caurant *et al.*, 1996; Endo *et al.*, 2004; 2006; George *et al.*, 2011; Mazzariol *et al.*, 2011). La información sobre esta cuestión en relación con el encéfalo es escasa; sin embargo, parece que la fracción encefálica de MeHg es muy variable entre los diferentes taxones. Esta es una cuestión de calado a la hora de evaluar el riesgo de neurotoxicidad inducida por Hg en mamíferos marinos, ya que las propiedades toxicológicas del Hg y, por tanto, sus efectos toxicológicos varían según su forma química (Aschner y Aschner, 1990; Clarkson, 1987; Desforges *et al.*, 2016). Por ejemplo, mientras que las formas inorgánicas son prácticamente incapaces de traspasar la BHE, el MeHg es capaz de hacerlo gracias a la capacidad de los complejos MeHg-cisteína de imitar a las moléculas de L-metionina (Aschner y Aschner, 1990). De esta manera, los complejos MeHg-cisteína atraviesan la BHE utilizando el transportador LAT1, que parece ser el principal pero no el único mecanismo de acceso al cerebro del MeHg (Farina *et al.*, 2011; Zimmermann *et al.*, 2013). Dado que el Hgi es incapaz de atravesar la BHE (Bellante *et al.*, 2017) y los mamíferos marinos incorporan la práctica totalidad del Hg como MeHg a través de sus presas, la presencia de Hgi en el encéfalo



sugiere la existencia de un mecanismo de detoxificación basado en la desmetilación del mercurio orgánico. Sin embargo, la capacidad de desmetilación del cerebro de los mamíferos marinos parece ser extremadamente variable entre los diferentes grupos (Figura III.1.4). En base a la información referida en la literatura, los cetáceos parecen ser el grupo más eficiente, ya que la fracción de MeHg en cerebro suele ser inferior al 20% ( $18,94\% \pm 18,55\%$ ; mediana  $\pm$  rango intercuartílico) y siempre aparece por debajo del 50% en todas las especies estudiadas (Capelli *et al.*, 2000; 2008; Gajdosechova *et al.*, 2016; Krey *et al.*, 2015; Lemes *et al.*, 2011).

Por el contrario, los carnívoros (orden Carnivora, incluyendo pinnípedos y osos polares) no parecen ser tan eficientes desmetilando el Hg. En los pinnípedos, cuya fracción de MeHg en el cerebro sólo se informó en tres trabajos, la fracción de MeHg parecía ser mucho mayor que en los cetáceos ( $75,49\% \pm 24,34\%$ ), de forma similar a lo que se ha observado en otros mamíferos no marinos pero piscívoros, como el visón y la nutria (Basu *et al.*, 2005a; 2005b). En cuanto a los osos polares, mientras que Basu *et al.* (2009) encontraron una fracción de MeHg del  $82,8\% \pm 7,8\%$  (media  $\pm$  desviación estándar;  $n=6$ ), Krey *et al.* (2012) informaron de una fracción uniforme de MeHg del 100% en todas las regiones cerebrales de todas las muestras estudiadas ( $n=24$ ). No obstante, cabe señalar que aunque los osos polares acumulan las fracciones más altas de MeHg, su carga de Hg cerebral es aproximadamente uno o dos órdenes de magnitud inferior a las presentadas por pinnípedos y cetáceos respectivamente (Krey *et al.*, 2012; 2015), lo que podría reflejar otra estrategia para hacer frente a la neurotoxicidad inducida por el Hg.



**Figura III.1.4.** Comparación entre las fracciones (%) de mercurio inorgánico (Hgi) y metilmercurio (MeHg) en cerebro de diferentes mamíferos marinos y otras especies relacionadas con el mar. N=número de estudios; n=número de individuos.

Otro mecanismo de desintoxicación comúnmente estudiado en este ámbito es el selenio (Se). El Se es un oligoelemento esencial en el organismo de los mamíferos, donde tiene una importante función antioxidante y participa en procesos tan importantes como la reproducción, el metabolismo de las hormonas tiroideas y la síntesis de ADN (Zhang *et al.*, 2014). El mecanismo



protector más conocido y probablemente el principal contra la neurotoxicidad inducida por el Hg es la interacción Se-Hg (Burger y Gochfeld, 2013), que ya se sugirió que ocurría en el hígado y el cerebro de los mamíferos marinos en 1973 (Koeman *et al.*, 1973). Desde entonces, la interacción Se-Hg ha sido un tema de relativa atención a la hora de estudiar las concentraciones de Hg en mamíferos marinos, especialmente en cetáceos. En este trabajo evaluamos las concentraciones de Se tanto en el cerebro como en el hígado de nuestras especies de estudio (Tabla III.1.2). A diferencia de las concentraciones de Hg en cerebro, cuyo valor medio osciló entre 3,29 y 7,36 mg/kg p.h. entre las distintas especies, las concentraciones de Se en cerebro fueron bastante similares (rango de medias 2,70-2,73). Sin embargo, es probable que se trate de una coincidencia causada por el escaso tamaño de la muestra de dos de las especies estudiadas, ya que las concentraciones individuales dentro de una misma especie mostraron una gran variación, p. ej., delfín listado, rango < 0,6 - 16,6 mg/kg p.h. Al igual que en el caso del Hg, las concentraciones de Se en el hígado fueron aproximadamente un orden de magnitud superiores a las del cerebro, y también hubo una correlación positiva entre las concentraciones de ambos tejidos ( $\rho = 0,85$ ,  $p < 0,001$ ). La mayoría de estudios han hallado una intensa correlación positiva entre Hg y Se - alrededor de 1 - en hígado de varias especies, sugiriendo que este órgano es el principal responsable de la detoxificación del Hg (Endo *et al.*, 2006; Hansen *et al.*, 2015), al igual que ocurre en aves marinas (Ikemoto *et al.*, 2004). Del mismo modo, esta correlación también se ha encontrado en otros órganos de cetáceos, incluido el cerebro, aunque normalmente de menor intensidad (Ancora *et al.*, 2002; Bellante *et al.*, 2017; Endo *et al.*, 2006; Martínez-López *et al.*, 2019a, b; Ostertag *et al.*, 2013). En los cerebros e hígados de los delfines listados analizados para este estudio, las correlaciones entre el Hg y el Se fueron respectivamente 0,71 ( $p < 0,001$ ) y 0,93 ( $p < 0,001$ ), lo que estaría en sintonía con estos informes previos. Los mecanismos por los que el Se desarrolla su función neuroprotectora no se conocen en profundidad, pero muchos autores afirman que, debido a su gran afinidad con el Hg - un millón de veces mayor que la existente entre el Hg y el GSH -, las moléculas de proteína que contienen Se son capaces de desmetilar en una primera etapa el MeHg para posteriormente unirse y formar complejos de Hg-Se, también conocidos como tiemannita (Khan y Wang, 2010; Syversen y Kaur, 2012). Se hipotetiza que el Hg-Se en tejidos de mamíferos marinos es el resultado de un mecanismo protector de detoxificación, pero los procesos que contribuyen a su formación son poco conocidos (Ewald *et al.*, 2019). Se han observado complejos Hg-Se en el tejido hepático de diferentes especies de mamíferos marinos como el oso marino ártico *Callorhinus ursinus* (Ikemoto *et al.*, 2004) y el delfín de Guayana *Sotalia guinaensis* (Lailson-Brito *et al.*, 2012) y en varios tejidos - incluido el cerebro - del delfín listado, (Nakazawa *et al.*, 2011), aunque el grado de protección mediante la formación de estos complejos en otros órganos diferentes del hígado parece ser relativamente pequeño (Nakazawa *et al.*, 2011). Además de la desmetilación y el secuestro, el Se también puede desarrollar otras vías de protección a través de su naturaleza antioxidante,



compitiendo por sitios de unión, promoviendo la síntesis de GSH o aumentando la actividad de la GSH peroxidasa (Cáceres-Saez *et al.*, 2018; Syversen y Kaur, 2012). Paradójicamente, el antagonismo entre Se y Hg puede ser perjudicial en los casos en los que el organismo posee niveles más altos de Hg que de Se, inhibiendo en este caso las funciones fisiológicas del Se a través de la inhibición de la actividad y síntesis de selenoproteínas y selenoenzimas (Ralston y Raymond, 2010; Ralston *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2014).

El ratio molar Se:Hg suele considerarse una herramienta útil para estimar si los niveles de Hg en tejidos de humanos u otras especies animales pueden estar desencadenando algún efecto tóxico en su organismo o pueden resultar peligrosos en su consumo (Burger y Gochfeld, 2013; García-Álvarez *et al.*, 2014a; Squadrone *et al.*, 2015a). Este ratio se calcula como  $-\frac{[Se]/78,96}{[Hg]/200,59}$  - donde 78,96 y 200,59 corresponden a los pesos atómicos de Se y Hg respectivamente. Valores superiores a 1 indicarían la disponibilidad del Se para combinarse con el Hg, sugiriendo así una protección contra su toxicidad (Frouin *et al.*, 2012). A pesar de que la carga de Se en el cerebro de los mamíferos marinos se considera en casi la mitad de los estudios que evalúan la concentración de Hg en este órgano (Becker *et al.*, 1995; Capelli *et al.*, 2000; Gajdosechova *et al.*, 2016; Leonzio *et al.*, 1992), este enfoque rara vez se ha utilizado en la literatura para considerar si las concentraciones de Hg detectadas podrían ser responsables de efectos neurotóxicos en los mamíferos marinos. Tanto en nuestros datos como los referidos en la bibliografía (Tabla III.1.3), la relación molar Se:Hg en cerebro fue superior a 1, lo que virtualmente implica que las especies estudiadas estaban protegidas por el Se frente a los efectos neurotóxicos del Hg. Además, también calculamos este ratio para el hígado, que también mostró valores superiores a 1 para todas las especies. Esta aproximación ha sido escasamente utilizada en este tipo de estudios, habiendo sido tratada, hasta donde sabemos, únicamente en tres trabajos previos (Martínez-López *et al.*, 2019b; Ostertag *et al.*, 2013; Romero *et al.*, 2016); sin embargo, en todos los casos casualmente el ratio Se:Hg en cerebro es casi el doble que en hígado, lo que podría sugerir una mayor protección en este órgano.

Otro posible mecanismo de desintoxicación son las metalotioneínas, una familia de proteínas con capacidad para unirse a varios oligoelementos, entre ellos el Hg. Hasta la fecha sólo se ha publicado un trabajo sobre las metalotioneínas en el cerebro de los mamíferos marinos (Sonne *et al.*, 2009). La información sobre estas proteínas en mamíferos marinos es extremadamente escasa y su funcionamiento está lejos de ser comprendido. Sin embargo, parece que, a diferencia de lo que ocurre en mamíferos terrestres y aves, las metalotioneínas no participan de forma activa en la detoxificación hepática del Hg, a pesar de que han mostrado gran afinidad por su forma inorgánica en hígado (Caurant *et al.*, 1996; Kehrig *et al.*, 2016; Romero *et al.*, 2016).



**Tabla III.1.3.** Ratio molar Se:Hg cerebral en diferentes especies de mamíferos marinos. Cuando están disponibles, los resultados se expresan como media  $\pm$  desviación estándar (arriba) y mediana y rango (abajo).

Species	n	Se:Hg molar ratio	Reference
<i>Stenella coeruleoalba</i>	19	3.76 $\pm$ 4.34 1.71 (0 - 14.72)	This study
<i>Stenella coeruleoalba</i>	15	1.54 $\pm$ 1.88 0.86 (0.49-7.7)	Bellante et al. (2017)
<i>Tursiops truncatus</i>	3	1.47 $\pm$ 0.27 1.57 (1.16-1.68)	This study
<i>Tursiops truncatus</i>	8	2.66 $\pm$ 2.15 2.19 (0.71-7.19)	Bellante et al. (2017)
<i>Delphinus delphis</i>	3	4.65 $\pm$ 4.48 2.87 (1.34-9.75)	This study
<i>Delphinapterus leucas</i>	83	1.79 (0.19-2.81)	Ostertag et al. (2013)
<i>Physeter macrocephalus</i>	3	1.83 $\pm$ 1.36	Squadrone et al. (2015b)
<i>Pontoporia blainvillei</i>	40	10.95 $\pm$ 4.92	Romero et al. (2016)
<i>Ursus maritimus</i>	15	5.60 $\pm$ 2.80	Basu et al. (2009)
<i>Homo sapiens</i>	9	5.55 $\pm$ 3.08	Cappon & Smith (1981)

### III.1.3.3. Interpretación de las concentraciones cerebrales

Al igual que ocurre con otros contaminantes, la sensibilidad a la neurotoxicidad inducida por el Hg varía mucho de una especie a otra (Basu *et al.*, 2005c). Resulta difícil evaluar el grado de sensibilidad de los mamíferos marinos a estos efectos debido a la falta de información; sin embargo, dado que se encuentran entre los organismos más expuestos al Hg, es probable que hayan desarrollado mecanismos homeostáticos que los hagan más resistentes frente a este metal. Por lo tanto, es arriesgado extrapolar los umbrales establecidos en otras especies de mamíferos a los mamíferos marinos o aún más utilizar los valores de exposición recomendados para humanos, ya que son extremadamente conservadores (Dietz *et al.*, 2013).

Existen algunos umbrales previos de toxicidad del Hg para mamíferos marinos en relación con efectos inmunotóxicos y hepatotóxicos (Camara Pellisó *et al.*, 2008; Desforges *et al.*, 2016; Rawson *et al.*, 1993); sin embargo, no existe tal información para los efectos neurotóxicos. Por lo tanto, a falta de más información, un uso prudente de los umbrales desarrollados para otras especies podría ayudar a juzgar si una determinada carga de Hg puede estar generando algún deterioro en las especies de mamíferos marinos. Tradicionalmente, la mayoría de los estudios centrados en el desarrollo de umbrales de toxicidad han utilizado animales típicos de laboratorio, principalmente roedores. Sin embargo, en las dos últimas décadas, los mustélidos se han utilizado cada vez más como modelos de mamíferos salvajes más adecuados para la investigación de la neurotoxicidad inducida por el Hg. Estas especies son más útiles para nuestro propósito ya que





presentan algunas similitudes con los mamíferos marinos debido a su relación con el medio acuático y su dieta basada principalmente en peces e invertebrados acuáticos. Recientemente, [Krey et al. \(2015\)](#) realizaron una revisión muy exhaustiva que integraba tanto observaciones de laboratorio como de campo sobre varias especies de mamíferos expuestos oralmente al Hg, incluyendo animales piscívoros e incluso algunos mamíferos marinos como focas y osos polares. Reuniendo toda esta información, sugirieron los siguientes umbrales de neurotoxicidad inducida por Hg en el cerebro de mamíferos: i) cambios en el comportamiento, genéticos, de respuesta inmunitaria o de potencial eléctrico ( $>0,1$  mg/kg p.h.); ii) alteraciones neuroquímicas ( $>0,4$  mg/kg p.h.); iii) signos neuropatológicos ( $>4$  mg/kg p.h.); y iv) síntomas clínicos ( $>6,75$  mg/kg p.h.). Además, [Wiener et al. \(2003\)](#) propusieron un umbral de 10 mg/kg de Hg en el cerebro como umbral de concentración para letalidad potencial en mustélidos. Basándose en estas investigaciones, las especies de cetáceos de todo el mundo estarían alarmantemente expuestas a concentraciones de Hg que podrían estar conduciendo a efectos neurotóxicos de preocupantes consecuencias ([Figura III.1.2](#)). La concentración mediana de Hg entre los diferentes estudios con cetáceos fue de 3,00 mg/kg p.h. (media general 3,53, rango de medias/medianas  $<LoD-16,72$ ), lo que implica que un gran número de individuos exceden incluso los umbrales de toxicidad más altos. Ese fue el caso del propio conjunto de muestras. Había más individuos cuyas concentraciones cerebrales de Hg superaban el umbral de toxicidad más alto ( $>10$  mg/kg p.h.,  $n=9$ ) que individuos por debajo del umbral propuesto para la alteración neuroquímica ( $<0,4$  mg/kg p.h.,  $n=8$ ). Además, hasta donde sabemos, hemos informado aquí de la mayor concentración de Hg jamás observada en el cerebro de un cetáceo, 86,64 mg/kg p.h., que es ocho veces superior al umbral de toxicidad propuesto para la letalidad en mustélidos.

Sin embargo, aparentemente la situación actual no parece tan inquietante como esta información podría sugerir. Nuestra hipótesis es que es probable que los mamíferos marinos, y especialmente los cetáceos, hayan desarrollado ciertas adaptaciones a lo largo de su historia evolutiva que les permitan manejar concentraciones cerebrales de Hg más elevadas que otras especies cuyo SNC no está tan expuesto a este metal ([Krey et al., 2015](#); [Nakazawa et al., 2011](#), [Ostertag et al., 2013](#)). Por ejemplo, [Betti y Nigro \(1996\)](#) observaron en un experimento in vitro que los linfocitos de cetáceos eran más resistentes a los efectos genotóxicos del Hg que las células humanas y de rata, capacidad que sería interesante estudiar en otros tipos celulares. En el mismo sentido, cuando [Turnbull et al. \(1988\)](#) estudiaron un grupo de delfines mulares con altos niveles de Hg en sus tejidos, no pudieron encontrar ninguna neuropatología, lo que llevó a los autores a hipotetizar una especial resistencia contra la neurotoxicidad de estos animales en comparación con otras especies. Sin embargo, estos mecanismos no serían ilimitados y no podemos rechazar la existencia de algún tipo de consecuencia para su salud.



### III.1.4. Conclusión

Hasta donde sabemos, esta es la primera revisión a escala mundial sobre las concentraciones de Hg en el cerebro de los mamíferos marinos. La información relativa a la carga cerebral de Hg es bastante limitada y se restringe a unos pocos grupos de especies y zonas del hemisferio norte. En este sentido, los odontocetos son al mismo tiempo los mamíferos marinos más estudiados y aquellos que presentan con diferencia las mayores concentraciones de Hg en el cerebro. Como existen muchas dificultades técnicas y éticas para realizar la mayoría de las pruebas de neurotoxicidad en estas especies, es esencial investigar otras estrategias para su estudio. Por ejemplo, los biomarcadores tanto en el cerebro como en los tejidos periféricos de recolección más fácil, como la unión de receptores mACh, son un enfoque cada vez más utilizado en la evaluación de la neurotoxicidad de la fauna silvestre y podría ser una herramienta de utilidad para este fin. Estas experiencias sobre el terreno y en laboratorio podrían complementar extraordinariamente los datos proporcionados por la cuantificación de la carga de oligoelementos en los tejidos cerebrales o el cálculo del ratio molar Se:Hg.

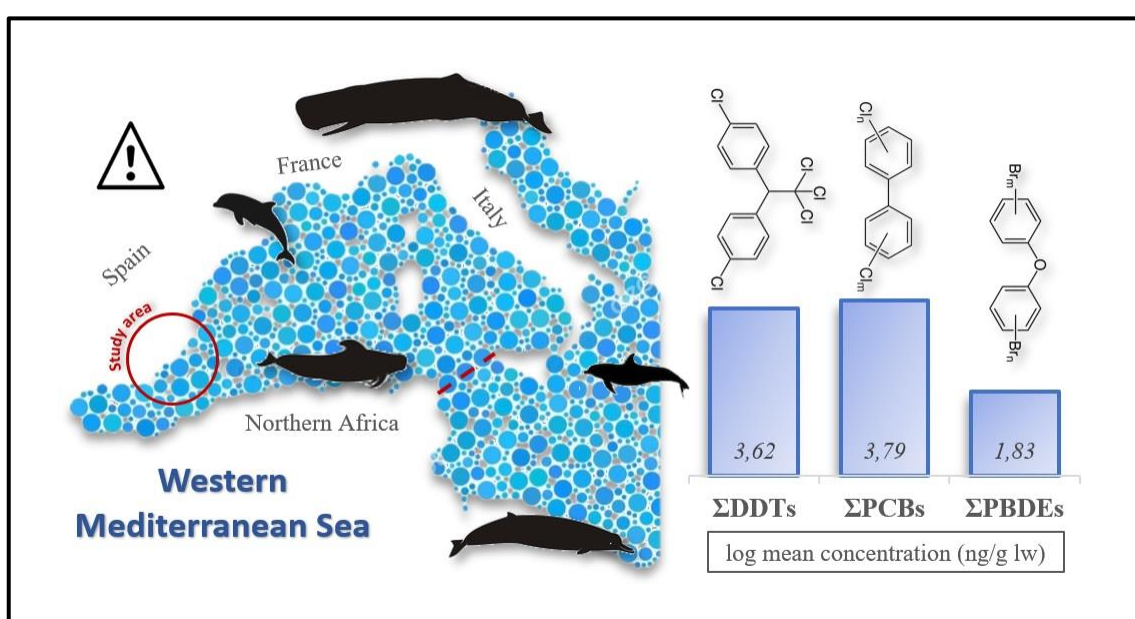
Teniendo en cuenta la información disponible sobre la neurotoxicidad inducida por el Hg, la magnitud de las concentraciones cerebrales de Hg que se reportan habitualmente en muchos mamíferos marinos podría suponer una amenaza potencial para estas especies, particularmente para los odontocetos. Esta situación parece ser especialmente grave en zonas altamente contaminadas como el Mar Mediterráneo, donde hemos cuantificado la concentración máxima de Hg en el cerebro de un mamífero marino hasta la fecha. Es arriesgado establecer cualquier conclusión sobre la potencial neurotoxicidad inducida por el Hg sobre la salud de los mamíferos marinos a nivel individual o poblacional debido al limitado conocimiento sobre la materia y a la gran variedad de especies incluidas en cada grupo. A pesar de que apenas se conocen los mecanismos de detoxificación de la neurotoxicidad inducida por el Hg en los mamíferos marinos, parece que cada grupo taxonómico ha desarrollado estrategias diferentes para hacer frente a la potencial neurotoxicidad del mercurio. Esto podría que una especie con mayor acumulación de Hg que tuviera un metabolismo de detoxificación más eficiente estuviese más protegida contra la neurotoxicidad inducida por Hg que otra especie que acumulara menos Hg pero estuviese desprovista de mecanismos tan eficientes.



Investigación original / Original research

### III.2. Compuestos orgánicos persistentes, liposolubles y biomagnificables en cetáceos varados en el sureste español entre 2011 y 2018: pesticidas organoclorados, PCBs y PBDEs

III.2. Persistent, fat-soluble and biomagnifiable organic compounds in cetaceans stranded in SE Spain between 2011 and 2018: organochlorine pesticides, PCBs, and PBDEs



Trabajo originalmente publicado en ‘López-Berenguer, G., Acosta-Dacal, A., Luzardo, O. P., Peñalver, J., & Martínez-López, E. (2022). POPs concentrations in cetaceans stranded along the agricultural coastline of SE Spain show lower burdens of industrial pollutants in comparison to other Mediterranean cetaceans. *Science of The Total Environment*, 159743’ <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159743>.

Work originally published on ‘López-Berenguer, G., Acosta-Dacal, A., Luzardo, O. P., Peñalver, J., & Martínez-López, E. (2022). POPs concentrations in cetaceans stranded along the agricultural coastline of SE Spain show lower burdens of industrial pollutants in comparison to other Mediterranean cetaceans. *Science of The Total Environment*, 159743’ <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159743>.



### III.2.1.a. Resumen

A pesar de que el mar Mediterráneo es uno de los mayores focos de biodiversidad a escala global, es a su vez un foco de contaminación ambiental. Este mar aloja ocho especies de cetáceos con poblaciones residentes en él, cuya abundancia se considera que está disminuyendo y que son especialmente susceptibles a la bioacumulación de COPs debido a sus características particulares. En este capítulo estudiamos las concentraciones en grasa hipodérmica de varios pesticidas organoclorados y varios congéneres PCBs y PBDEs en cetáceos varados en la costa norte del golfo de Vera (Región de Murcia, sureste de España) entre 2011 y 2018. Las concentraciones de la mayoría de los compuestos y los congéneres estuvieron por encima del límite de detección en la mayoría de las muestras, aunque algunos pesticidas como los estereoisómeros de endosulfán o la endrina no fueron detectados en ninguna muestra. El DDT y sus metabolitos, los PCBs y el metoxicloro fueron los compuestos dominantes, mientras que los PBDEs mostraron concentraciones de magnitud inferior. El delfín listado fue la especie que acumuló mayores concentraciones de la mayoría de contaminantes. Existieron diferencias en las concentraciones y los patrones de distribución de los contaminantes entre las diferentes especies que pudieron ser parcialmente explicadas por las diferencias en su alimentación. También observamos diferencias basadas en el sexo y la edad, sugiriendo transferencia material de la mayor parte de los COPs, tal y como se ha descrito en la literatura. El ratio DDE/  $\Sigma$ DDT sugiere que no se ha producido exposición reciente a los pesticidas. A pesar de mostrar concentraciones inferiores a las de otros trabajos previos, las concentraciones de PCBs dieron lugar a un mayor TEQ que la mayoría de los estudios. En base a los umbrales de toxicidad referidos en otros trabajos, no podemos garantizar la ausencia de alteraciones en la salud en las poblaciones estudiadas, especialmente en cuanto a aquellas causadas por los PCBs. Estos hallazgos son de gran importancia debido a la importancia del área de estudio para la conservación de los cetáceos del Mediterráneo.



### III.2.1.b. Abstract

Despite the Mediterranean Sea is one of the world's marine biodiversity hotspots, it is a hotspot of various environmental pollutants. This sea holds eight endemic cetacean species whose populations are considered to be declining and which are particularly susceptible to POPs bioaccumulation due to their peculiar traits. In this chapter, we studied blubber concentration of various OCPs and several PCBs and PBDEs congeners in cetaceans stranded in the northern coast of the gulf of Vera (Region of Murcia, SE Spain) between 2011 and 2018. Most compounds and congeners were above the limit of detection in most samples, although some pesticides like endosulfan stereoisomers or endrin were never detected. DDT and its metabolites, PCBs and metoxychlor appear as the dominant compounds while PBDEs shows concentrations of lower magnitude. Striped dolphin was the species accounting for higher concentrations of most pollutants. There were differences in concentrations and profiles between species which could be partially explained by differences on diet and feeding behavior. We also observed differences based on life history parameters suggesting maternal transfer for most POPs, in accordance with other works. DDE/  $\Sigma$ DDT ratio suggest no recent exposure to these pesticides. Despite showing lower concentrations than some previous works, PCB concentrations accounted for higher total TEQ than many studies. According to toxicity thresholds in the literature, we cannot guarantee the absence of health consequences on populations studied, especially for those caused by PCBs. These findings are of major importance considering the relevance of the study area in the conservation of Mediterranean cetaceans.



### III.2.2. Introducción

Tanto la agricultura como la industria son responsables de la liberación de innumerables clases de sustancias químicas al medio marino, entre las que los contaminantes orgánicos persistentes (COP) tienen un papel destacado. En todo el mundo se han realizado innumerables esfuerzos para controlar la producción, comercialización y uso de aquellas sustancias químicas que se ha comprobado que poseen un mayor riesgo para el medio ambiente, la fauna y la salud humana. Por ejemplo, varios compuestos que en su día se utilizaron ampliamente, como innumerables organoclorados (OC) como los pesticidas organoclorados (POCs) y los policlorobifenilos (PCBs), o los polibromodifenil éteres (PBDEs), se han incluido en la lista del Convenio de Estocolmo y actualmente están prohibidos en la mayoría de los países del mundo. Sin embargo, su gran resistencia a la degradación hace que muchos aún persistan de forma ubicua en todos los ecosistemas. Además, una parte importante de estos compuestos se han seguido almacenando, comercializando y utilizando en algunas regiones, y muchos de ellos aún persisten en innumerables productos de hogares, industrias, *etc.* Debido a su persistencia, su capacidad de biomagnificación y sus propiedades tóxicas, esto supone un peligro potencial para la fauna marina, incluidos los cetáceos.

Desde que se informó por primera vez de la presencia de PCBs y POCs en cetáceos del Mar Mediterráneo (Alzieu y Duguy, 1979), esta región ha sido considerada repetidamente como un punto caliente global para estos compuestos (Aguilar *et al.*, 2002; Jepson *et al.*, 2016; Stuart-Smith y Jepson, 2017). Tras la prohibición, las concentraciones de DDT disminuyeron durante varios años (Aguilar y Borrell, 2005). Las concentraciones de PCB también disminuyeron, aunque lo hicieron en menor medida. A diferencia de los DDT, que fueron fácilmente sustituidos por plaguicidas más nuevos, a la industria le resultó difícil encontrar sustitutos adecuados para los PCB, por lo que su uso se mantuvo en muchas aplicaciones (Safe *et al.*, 1987), lo que provocó que la concentración de PCB en la biota disminuyera en menor medida en comparación con el DDT (Borrell *et al.*, 2001). Sin embargo, desde algún momento entre 2000 y 2010 las concentraciones de estos OCs se han mantenido estables en los tejidos de los cetáceos mediterráneos (Dron *et al.*, 2022; Jepson *et al.*, 2016), así como en otra biota marina mediterránea, incluyendo peces y moluscos (Cresson *et al.*, 2015; Dron *et al.*, 2019; Bouchoucha *et al.*, 2021). La distribución ambiental desde las fuentes de contaminación, así como la removilización de estos contaminantes desde suelos contaminados, sedimentos y zonas de acumulación de residuos, dando lugar a la entrada de COPs principalmente a través de los ríos, ha sido señalada como una de las posibles causas de esta meseta (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2006; Liber *et al.*, 2019). La información sobre concentraciones de PCBs y POCs en cetáceos del Mar Mediterráneo a partir de 2010 aún es escasa, y es ahora cuando está comenzando a publicarse información referida a la década pasada. En cuanto a los PBDEs, hay mucha menos información en cetáceos del



Mediterráneo en comparación con los OCs, aunque se ha sugerido que sus concentraciones en esta región son más bajas en comparación con otras áreas (p. ej., América del Norte) debido a un menor uso de estos productos químicos (Law *et al.*, 2014; Bartalini *et al.*, 2019). La mayoría de los COP, incluidos los OCs y los PBDEs, son lipofílicos y, por lo tanto, se acumulan preferentemente en tejidos grasos como la grasa de los cetáceos y otros mamíferos marinos (Dron *et al.*, 2022; Lazar *et al.*, 2012; Yordy *et al.*, 2010a). Los efectos adversos más conocidos de los OCs en mamíferos marinos incluyen la inmunosupresión (Aguilar y Borrell, 1994a; De Swart *et al.*, 1994, 1995, 1996; Simmonds y Mayer, 1997) y las alteraciones reproductivas (Béland *et al.*, 1993; Helle *et al.*, 1990; Reijnders y Brasseur, 1992) aunque también son responsables de numerosos efectos adversos a otros niveles. En comparación, los efectos adversos de los PBDE en mamíferos marinos han sido mucho menos estudiados, aunque algunos estudios han mostrado alteraciones en la hormona tiroidea y el sistema inmunitario (Hall *et al.*, 2003; Rajput *et al.*, 2018).

En este capítulo evaluamos la exposición de siete especies de cetáceos con poblaciones residentes del Mediterráneo a tres grupos principales de contaminantes orgánicos POCs, PCBs y PBDEs a través del análisis del tejido graso subcutáneo de cetáceos varados en el Golfo de Vera, una zona de baja presión industrial y urbana, entre 2011 y 2018. Nuestra hipótesis es que, a pesar de la aparente estabilización previa en la concentración de ciertos contaminantes heredados y el aparente éxito limitado de las acciones legales previas, las concentraciones de COPs eventualmente continuarán disminuyendo, y esto será especialmente notable en aquellas áreas alejadas de la alta presión antropogénica. Además, evaluamos las concentraciones notificadas en relación con la especie y los informes anteriores en la bibliografía, y utilizamos el delfín listado como especie modelo para evaluar su carga de contaminantes en relación con ciertos parámetros biológicos.



### III.2.3. Resultados y discusión

#### III.2.3.1. Concentraciones de COPs en cetáceos varados en la Región de Murcia

Los valores en grasa de diferentes especies para pesticidas organoclorados (POCs), bifenilos policlorados (PCBs) y polibromodifenil éteres (PBDEs) se resumen en la [Tabla III.2.1](#) (información detallada para cada compuesto individual y congénere se muestran en la [Tabla III.2.2](#) (POCs), [Tabla III.2.3](#) (PCBs), y [Tabla III.2.4](#) (PBDEs), todas colocadas al final de esta subsección). Los datos del delfín listado se subdividen según los grupos vitales (crías y juveniles, hembras adultas y machos adultos). El resto de los resultados se agrupan simplemente por especies, ya que el limitado conjunto de muestras no permitía otras divisiones. Por este mismo motivo no se realizaron análisis estadísticos de las tendencias temporales.

**Tabla III.2.1.** Concentración de varios POCs, ΣPCBs y ΣPBDEs en la grasa de diferentes especies de cetáceos endémicos del Mediterráneo occidental. Los resultados se expresan como media ± desviación estándar; ng/g p.l.

Species	metoxychlor	Mirex	HCB	heptachlor	ΣHCH	ΣDriis	ΣDDTs	ΣOCPs	ΣPCBs	ΣPBDEs
<i>S. coeruleoalba</i> n= 33	2263 ± 2920	12.8 ± 15.2	32.9 ± 58.1	9.8 ± 13.0	133 ± 271	36.4 ± 78.7	4752 ± 7415	5973 ± 8253	6490 ± 9549	73.0 ± 103
calves & subadult n=10; 2	2314 ± 2729	6.4 ± 7.2	25.9 ± 28.1	9.1 ± 11.5	131 ± 237	24.8 ± 28.6	3865 ± 4628	5886 ± 6004	4340 ± 7090	57.2 ± 55.4
adult females n= 6	1823 ± 2011	10.9 ± 8.6	15.9 ± 21.1	10.5 ± 10.9	75.4 ± 93.5	23.6 ± 36.4	2120 ± 1593	4079 ± 2732	2206 ± 1535	29.8 ± 17.2
adult males n= 6	1160 ± 2003	21.4 ± 27.6	41.5 ± 67.1	6.7 ± 16.4	242 ± 533	28.0 ± 68.5	9788 ± 15030	11287 ± 15477	13361 ± 18208	70.2 ± 95.0
<i>T. truncatus</i> n= 8	1308 ± 1633	10.1 ± 3.88	18.6 ± 12.3	5.2 ± 7.8	73.4 ± 58.8	10.4 ± 15.9	2266 ± 1739	3691 ± 2786	6106 ± 5610	53.3 ± 42.0
<i>D. delphis</i> n= 3	2191 ± 3423	4.65 ± 4.45	5.2 ± 5.2	9.3 ± 16.1	104 ± 138	50.0 ± 71.0	2161 ± 694	4520 ± 3955	3860 ± 3536	24.8 ± 25.3
<i>G. melas</i> n= 3	1970 ± 1706	1.92 ± 3.32	24.6 ± 23.7	14.9 ± 3.8	46.7 ± 42.2	18.0 ± 23.6	841 ± 871	2917 ± 2428	1059 ± 1023	48.5 ± 56.4
<i>G. griseus</i> n= 1	376	5.76	2.68	<LoD	<LoD	<LoD	729	1114	1017	11.83
<i>Z. cavirostris</i> n= 1	2463	2.45	6.57	11.4	46	6.87	956	3493	956	15.3
<i>P. macrocephalus</i> n= 2	2666 ± 2108	2.33 ± 1.61	18.3 ± 13.6	15.6 ± 13.9	71.6 ± 22.7	24.7 ± 7.03	1715 ± 157	4514 ± 1968	1401 ± 78.4	25.6 ± 11.7

A pesar de la reducción o prohibición mundial en la fabricación y uso de la mayoría de los productos químicos considerados en este trabajo, sus concentraciones en los tejidos de los cetáceos todavía alcanzan el nivel de mg/kg en muchos casos. Cuantitativamente, las sustancias químicas que alcanzaron los niveles más altos en la grasa fueron los DDTs, los PCBs y el metoxicloro, clasificándose en diferentes posiciones según la especie. Los DDTs y los PCBs han demostrado ser los organoclorados más extendidos y, en general, los que alcanzan mayores concentraciones en los tejidos animales ([Aguilar y Borrell, 2005](#)). Estos compuestos han recibido tradicionalmente la mayor parte de la atención en los estudios toxicológicos sobre mamíferos marinos y son, por tanto, aquellos sobre los que existe una bibliografía más extensa, también en la cuenca mediterránea. La media de ΣPCBs en las especies de nuestro estudio osciló entre 6.490 ± 9.549 ng/g en peso lipídico (p.l.; delfín listado) y 956 ng/g p.l. (zifio de Cuvier), mientras que la media de ΣDDT osciló entre 4.752 ± 7.415 ng/g p.l. (delfín listado) y 729 ng/g p.l. (calderón gris).





**Tabla III.2.3.** Concentración de varios pesticidas organoclorados en grasa de diferentes especies endémicas de cetáceos del Mediterráneo occidental. Los resultados se expresan como media  $\pm$  desviación estándar; ng/g p.l.

Species	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	$\Sigma$ HCH	HCB	heptachlor	aldrin	dieldrin
<i>S. coeruleoalba</i> n= 33	0.81 $\pm$ 1.65	7.1 $\pm$ 21.1	125 $\pm$ 272	133 $\pm$ 271	32.9 $\pm$ 58.1	9.8 $\pm$ 13.0	0.52 $\pm$ 1.53	35.9 $\pm$ 78.7
caves & subadult n=10; 2	0.69 $\pm$ 1.35	4.34 $\pm$ 8.1	126 $\pm$ 239	131 $\pm$ 237	26.0 $\pm$ 28.1	9.0 $\pm$ 11.5	0.97 $\pm$ 2.12	13.8 $\pm$ 27.6
adult females n= 6	0.76 $\pm$ 1.4	<LoD	74.6 $\pm$ 93.9	75.4 $\pm$ 93.5	15.9 $\pm$ 21.1	10.5 $\pm$ 10.9	0.72 $\pm$ 1.76	22.8 $\pm$ 36.4
adult males n= 6	1.01 $\pm$ 2.48	7.2 $\pm$ 17.7	233 $\pm$ 536	241 $\pm$ 533	41.5 $\pm$ 67.1	6.7 $\pm$ 16.4	<LoD	28.0 $\pm$ 68.5
<i>T. truncatus</i> n= 8	0.80 $\pm$ 1.24	2.48 $\pm$ 5.56	70.1 $\pm$ 60.5	73.4 $\pm$ 58.8	18.6 $\pm$ 12.3	5.2 $\pm$ 7.8	0.23 $\pm$ 0.66	10.2 $\pm$ 15.5
<i>D. delphis</i> n= 3	<LoD	<LoD	104 $\pm$ 138	104 $\pm$ 138	5.2 $\pm$ 5.2	9.3 $\pm$ 16.1	32.4 $\pm$ 56.1	8.6 $\pm$ 14.9
<i>G. melas</i> n= 3	2.07 $\pm$ 1.85	3.34 $\pm$ 3.14	41.3 $\pm$ 38.0	46.7 $\pm$ 42.2	24.6 $\pm$ 23.7	14.9 $\pm$ 3.8	<LoD	18.0 $\pm$ 23.6
<i>G. griseus</i> n= 1	<LoD	<LoD	<LoD	<LoD	2.68	<LoD	<LoD	<LoD
<i>Z. cavirostris</i> n= 1	2.49	<LoD	43.6	46.04	6.6	11.4	<LoD	6.9
<i>P. macrocephalus</i> n= 2	3.41 $\pm$ 2.13	3.49 $\pm$ 4.93	64.7 $\pm$ 25.5	71.6 $\pm$ 22.7	18.3 $\pm$ 13.6	15.6 $\pm$ 13.9	0.63 $\pm$ 0.89	24.0 $\pm$ 7.9

**Tabla III.2.3.** (continuación)

Species	$\Sigma$ drins	p,p'-DDT	p,p'-DDE	p,p'-DDD	$\Sigma$ DDTs	metoxychlor	Mirex	$\Sigma$ OCPs
<i>S. coeruleoalba</i> n= 33	36.4 $\pm$ 78.7	20.7 $\pm$ 25.4	4537 $\pm$ 7196	195 $\pm$ 236	4752 $\pm$ 7415	2263 $\pm$ 2920	12.8 $\pm$ 15.2	5973 $\pm$ 8253
caves & subadult n=10; 2	24.8 $\pm$ 28.6	16.1 $\pm$ 14.8	3697 $\pm$ 4489	152 $\pm$ 144	3865 $\pm$ 4628	2314 $\pm$ 2728	6.4 $\pm$ 7.2	5886 $\pm$ 6004
adult females n= 6	23.6 $\pm$ 36.35	11.4 $\pm$ 10.8	2011 $\pm$ 1496	98.0 $\pm$ 93.9	2120 $\pm$ 1593	1823 $\pm$ 2011	10.9 $\pm$ 8.6	4079 $\pm$ 2732
adult males n= 6	28.0 $\pm$ 68.5	31.0 $\pm$ 39.1	9472 $\pm$ 14656	285 $\pm$ 359	9788 $\pm$ 15030	1160 $\pm$ 2003	21.4 $\pm$ 27.6	11287 $\pm$ 15477
<i>T. truncatus</i> n= 8	10.4 $\pm$ 15.9	15.9 $\pm$ 5.5	2098 $\pm$ 1727	152 $\pm$ 60.1	2265 $\pm$ 1739	1308 $\pm$ 1633	10.1 $\pm$ 3.88	3691 $\pm$ 2786
<i>D. delphis</i> n= 3	41.0 $\pm$ 71.0	9.3 $\pm$ 5.3	2063 $\pm$ 658	89.2 $\pm$ 34.4	2161 $\pm$ 694	2192 $\pm$ 3423	7.7 $\pm$ 4.5	4520 $\pm$ 3955
<i>G. melas</i> n= 3	18.0 $\pm$ 23.6	6.2 $\pm$ 5.2	783 $\pm$ 828	51.2 $\pm$ 38.8	841 $\pm$ 871	1970 $\pm$ 1706	1.92 $\pm$ 3.32	2917 $\pm$ 2428
<i>G. griseus</i> n= 1	<LoD	2.14	706	21.1	729	376	5.8	1114
<i>Z. cavirostris</i> n= 1	6.9	9.0	889	58.0	956	2463	2.45	3493
<i>P. macrocephalus</i> n= 2	24.7 $\pm$ 7.0	8.4 $\pm$ 0.51	1647 $\pm$ 153	59.7 $\pm$ 5.1	1715 $\pm$ 157	2667 $\pm$ 2108	2.33 $\pm$ 1.61	4514 $\pm$ 1968



**Tabla III.2.4.** Concentración de varios congéneres de PCBs en grasa de diferentes especies endémicas de cetáceos del Mediterráneo occidental. Los resultados se expresan como media  $\pm$  desviación estándar; ng/g p.l.

Species	PCB 28	PCB 52	PCB 101	PCB 118	PCB 126	PCB 138	PCB 153
<i>S. coeruleoalba</i> n= 33	6.8 $\pm$ 9.1	35.5 $\pm$ 48.9	162 $\pm$ 205	126 $\pm$ 203	9.7 $\pm$ 18.3	1846 $\pm$ 2646	1653 $\pm$ 3902
calves & subadult n=10; 2	6.4 $\pm$ 6.4	27.5 $\pm$ 32.9	181 $\pm$ 241	84.9 $\pm$ 80.4	6.2 $\pm$ 9.1	1352 $\pm$ 1775	1066 $\pm$ 2448
adult females n= 6	4.34 $\pm$ 3.76	18.1 $\pm$ 17.4	121 $\pm$ 115	76.4 $\pm$ 87.1	5.8 $\pm$ 7.1	682 $\pm$ 520	501 $\pm$ 606
adult males n= 6	5.5 $\pm$ 6.5	53.8 $\pm$ 66.3	101 $\pm$ 156	126 $\pm$ 209	7.8 $\pm$ 19.1	3589 $\pm$ 5045	4649 $\pm$ 8116
<i>T. truncatus</i> n= 8	3.25 $\pm$ 2.38	19.1 $\pm$ 15.8	164 $\pm$ 77.1	87 $\pm$ 9 $\pm$ 55.2	6.87 $\pm$ 10.5	1380 $\pm$ 547	1290 $\pm$ 1341
<i>D. delphis</i> n= 3	1.56 $\pm$ 0.48	14.7 $\pm$ 6.7	13.8 $\pm$ 23.8	19.5 $\pm$ 15.2	3.62 $\pm$ 6.3	1016 $\pm$ 730	1243 $\pm$ 1510
<i>G. melas</i> n= 3	5.0 $\pm$ 3.27	10.3 $\pm$ 6.2	38.6 $\pm$ 52.6	36.0 $\pm$ 47.2	2.90 $\pm$ 3.30	216 $\pm$ 258	408 $\pm$ 514
<i>G. griseus</i> n= 1	3.56	5.6	59.9	8.8	<LoD	199	343
<i>Z. cavirostris</i> n= 1	1.33	4.28	19.4	39.5	3.5	281	317
<i>P. macrocephalus</i> n= 2	2.58 $\pm$ 0.13	7.9 $\pm$ 2.24	74.4 $\pm$ 1.88	67.8 $\pm$ 5.9	3.99 $\pm$ 0.31	391 $\pm$ 30.5	527 $\pm$ 44.5

**Tabla III.2.4.** (continuación)

Species	PCB 156	PCB 157	PCB 167	PCB 180	PCB 189	$\Sigma$ PCBs
<i>S. coeruleoalba</i> n= 33	42.2 $\pm$ 64.8	10.5 $\pm$ 21.2	186 $\pm$ 249	2400 $\pm$ 3137	12.3 $\pm$ 16.1	6490 $\pm$ 9550
calves & subadult n=10; 2	40.4 $\pm$ 52.3	6.6 $\pm$ 8.3	142 $\pm$ 170	1411 $\pm$ 2437	7.2 $\pm$ 8.6	4341 $\pm$ 7090
adult females n= 6	28.6 $\pm$ 25.9	7.0 $\pm$ 9.7	76.1 $\pm$ 66.7	680 $\pm$ 477	6.7 $\pm$ 5.1	2206 $\pm$ 1535
adult males n= 6	23.1 $\pm$ 48.2	6.9 $\pm$ 17.0	273 $\pm$ 347	4503 $\pm$ 4954	19.1 $\pm$ 18.4	13361 $\pm$ 18208
<i>T. truncatus</i> n= 8	62.9 $\pm$ 24.6	7.8 $\pm$ 11.0	136 $\pm$ 63.1	2933 $\pm$ 4372	15.0 $\pm$ 6.4	5106 $\pm$ 5610
<i>D. delphis</i> n= 3	15.1 $\pm$ 5.5	2.87 $\pm$ 4.96	66.7 $\pm$ 34.3	1453 $\pm$ 1331	9.9 $\pm$ 6.6	3860 $\pm$ 3536
<i>G. melas</i> n= 3	12.5 $\pm$ 17.0	3.30 $\pm$ 4.41	28.5 $\pm$ 34.9	297 $\pm$ 156	1.63 $\pm$ 2.1	1059 $\pm$ 1023
<i>G. griseus</i> n= 1	12.7	<LoD	16.2	366	2.83	1017
<i>Z. cavirostris</i> n= 1	17.2	6.5	21.6	242	2.99	956
<i>P. macrocephalus</i> n= 2	25.3 $\pm$ 0.2	6.9 $\pm$ 1.68	35.8 $\pm$ 4.19	256 $\pm$ 12.0	2.42 $\pm$ 0.19	1401 $\pm$ 78

**Tabla III.2.5.** Concentración de varios congéneres de PBDEs en grasa de diferentes especies endémicas de cetáceos del Mediterráneo occidental. Los resultados se expresan como media  $\pm$  desviación estándar; ng/g p.l.

Species	BDE 28	BDE 47	BDE 85	BDE 99	BDE 100	BDE 153	BDE 154	$\Sigma$ PBDEs
<i>S. coeruleoalba</i> n= 33	0.44 $\pm$ 1.56	38.6 $\pm$ 53.8	0.17 $\pm$ 0.81	6.6 $\pm$ 10.9	14.1 $\pm$ 19.6	1.72 $\pm$ 3.23	11.4 $\pm$ 20.1	73.0 $\pm$ 103
calves & subadult n=10; 2	0.26 $\pm$ 0.53	32.7 $\pm$ 33.9	0.48 $\pm$ 1.32	4.74 $\pm$ 4.55	10.9 $\pm$ 10.8	0.81 $\pm$ 1.05	7.4 $\pm$ 11.9	57.2 $\pm$ 55.4
adult females n= 6	<LoD	11.1 $\pm$ 7.9	<LoD	2.95 $\pm$ 3.01	5.6 $\pm$ 3.42	0.95 $\pm$ 1.07	9.2 $\pm$ 10.8	29.8 $\pm$ 17.2
adult males n= 6	0.48 $\pm$ 1.18	43.2 $\pm$ 56.9	<LoD	5.0 $\pm$ 8.4	13.4 $\pm$ 16.5	2.16 $\pm$ 2.52	6.0 $\pm$ 14.6	70.2 $\pm$ 95.4
<i>T. truncatus</i> n= 8	<LoD	29.0 $\pm$ 16.9	0.34 $\pm$ 0.96	2.38 $\pm$ 1.76	12.5 $\pm$ 10.0	0.75 $\pm$ 1.49	8.4 $\pm$ 13.1	53.3 $\pm$ 42.0
<i>D. delphis</i> n= 3	<LoD	6.1 $\pm$ 1.04	1.12 $\pm$ 1.94	0.85 $\pm$ 1.46	5.1 $\pm$ 4.79	1.31 $\pm$ 1.16	10.3 $\pm$ 17.8	24.8 $\pm$ 25.3
<i>G. melas</i> n= 3	<LoD	3.72 $\pm$ 3.95	12.4 $\pm$ 21.5	7.8 $\pm$ 10.3	10.2 $\pm$ 11.3	1.53 $\pm$ 2.65	12.8 $\pm$ 14.1	48.5 $\pm$ 56.5
<i>G. griseus</i> n= 1	<LoD	7.7	<LoD	1.77	2.42	<LoD	<LoD	11.8
<i>Z. cavirostris</i> n= 1	<LoD	10	<LoD	2.02	1.36	<LoD	1.95	15.3
<i>P. macrocephalus</i> n= 2	<LoD	8.3 $\pm$ 8.8	6.1 $\pm$ 0.57	3.47 $\pm$ 0.89	3.84 $\pm$ 0.12	<LoD	3.91 $\pm$ 1.31	25.6 $\pm$ 11.7



En la [Tabla III.2.5](#) hemos reunido la información disponible sobre COP en muestras de grasa hipodérmica de cetáceos del Mediterráneo recogidas entre 2000 y 2020. Hasta donde sabemos, [Dron \*et al.\* \(2022\)](#) llevaron a cabo el trabajo más reciente considerando PCBs y varios POCs en grasa y otros tejidos de delfines listados varados en la costa mediterránea francesa entre 2010 y 2016. A pesar de que informaron niveles comparables de  $\Sigma$ DDT (media de 10.777 ng/g p.l.), encontraron concentraciones cuatro veces más altas de  $\Sigma$ PCB ( $\Sigma$ 31PCB, media de 21.058 ng/g p.l.) en comparación con nuestros datos. Sin embargo, hay que señalar que estos autores analizaron un conjunto más amplio de congéneres de PCB, lo que dificulta las comparaciones posteriores (18 frente a 31 congéneres).

Muy por debajo de los compuestos mencionados, la media de  $\Sigma$ PBDEs osciló entre 73,0 ng/g p.l. (delfín listado) y 11,8 ng/g p.l. (calderón gris). En contraste con los DDTs y los PCBs, los PBDEs se convirtieron en motivo de preocupación más recientemente y han sido escasamente estudiados en odontocetos mediterráneos. Hasta donde sabemos, se han publicado previamente ocho trabajos sobre este tema ([Barón \*et al.\*, 2015a, b](#); [Bartalini \*et al.\*, 2019](#); [Cappanni \*et al.\*, 2020](#); [Fossi \*et al.\*, 2013](#); [Pettersson \*et al.\*, 2004](#); [Pinzone \*et al.\*, 2015](#); [Zaccaroni \*et al.\*, 2018](#)), la mayoría de ellos basados en la costa occidental de Italia. A pesar de que el transporte atmosférico y oceánico de largo alcance son las principales vías de entrada de PBDE a zonas remotas ([Law \*et al.\*, 2014](#)), su naturaleza hidrofóbica y relativamente poco volátil probablemente hace que los suelos y sedimentos sean las principales vías de entrada al mar Mediterráneo. Esta entrada proviene principalmente de fuentes difusas a través de la degradación de las matrices en las que están contenidos los PBDEs ([EPA, 2014](#)) aunque ciertos puntos calientes incluyendo instalaciones de reciclaje electrónico, vertederos y plantas de tratamiento de aguas residuales podrían desempeñar también un papel importante ([Deng \*et al.\*, 2015](#); [Li \*et al.\*, 2012](#)). Se considera que los cetáceos del Mediterráneo portan una menor carga de PBDEs en comparación con los de aguas de Norteamérica, lo que se sugiere que está relacionado con un menor uso de estos productos químicos en Europa ([Law \*et al.\*, 2014](#); [Bartalini \*et al.\*, 2019](#)). Sin embargo, las concentraciones reportadas en nuestro estudio están por debajo del rango inferior de la mayoría de las concentraciones reportadas en las últimas dos décadas en el Mediterráneo ([Tabla III.2.6](#)). La costa norte del Golfo de Vera (sureste de España) está escasamente urbanizada y es esencialmente agrícola, en contraste con otras zonas costeras como la costa ibérica del Mar Balear. Dado que los PBDEs tienden a aparecer en mayores concentraciones cerca de zonas altamente industrializadas y urbanizadas ([Fair \*et al.\*, 2010](#); [Krahn \*et al.\*, 2007](#); [Lebeuf \*et al.\*, 2004](#)), este hecho podría explicar parcialmente los resultados mencionados. Sin embargo, hay que tener en cuenta que las diferencias en el conjunto de congéneres analizados en los distintos trabajos también podrían influir en sus resultados.



**Tabla III.2.5.**  $\Sigma$ DDTs,  $\Sigma$ PcBs y  $\Sigma$ PBDEs (ng/g p.l.) en muestras de grasa de especies endémicas mediterráneas entre 2000-2020. Los datos se expresan como media  $\pm$  desviación estándar (cuando es posible). Abreviaturas; M: machos; F: hembras; C: crías; I: inmaduros; A: adultos; U: indeterminado.

Species	n (mM:nF)	Age	Period	Region	$\Sigma$ DDTs	$\Sigma$ PcBs	$\Sigma$ PBDEs	Reference
<i>S. coeruleoalba</i>	33 (12M; 13F; 8U)	all	2011-2018	Spanish Mediterranean coast	4,752 $\pm$ 7,415	6,490 $\pm$ 9,549	73.0 $\pm$ 103	This study
<i>S. coeruleoalba</i>	12 (4M; 5F; 3U)	C & I	2011-2018	Spanish Mediterranean coast	3,865 $\pm$ 4,628	4,340 $\pm$ 7,090	57.2 $\pm$ 55.4	This study
<i>S. coeruleoalba</i>	6 (F)	A	2011-2018	Spanish Mediterranean coast	2,120 $\pm$ 1,593	2,206 $\pm$ 1,535	29.8 $\pm$ 17.2	This study
<i>S. coeruleoalba</i>	6 (M)	A	2011-2018	Spanish Mediterranean coast	9,788 $\pm$ 15,030	4,341 $\pm$ 7,090	70.2 $\pm$ 95.0	This study
<i>S. coeruleoalba</i>	11 (8M; 3F)	All	2004-2011	Spanish coast, Alborán Sea			940 (100-2,250)	Barón et al., 2015b
<i>S. coeruleoalba</i>	5 (M)	All	2015-2016	Thyrenian and Ligurian Seas		2,590 (1,700-3,840)	846 (406-1,660)	Cappanniet al., 2020
<i>S. coeruleoalba</i>	5 (F)	All	2015-2016	Thyrenian and Ligurian Seas		1,360 (474-1,880)	371 (219-469)	Cappanniet al., 2020
<i>S. coeruleoalba</i>	10 (5M; 5F)	All	2015-2016	Thyrenian and Ligurian Seas		1,980 (474-3,840)	608 (219-1,660)	Cappanniet al., 2020
<i>S. coeruleoalba</i>	47 (26M; 21F)	U	2007	Italian coast & Strait of Gibraltar	28,814	39,489	130	Fossiet et al., 2013
<i>S. coeruleoalba</i>	45	I & A	2010-2016	French Mediterranean coast	10,777 (1,240-38,723)	21,058 (5,240-71,906)		Dron et al., 2022
<i>S. coeruleoalba</i>	33	All	2000-2003	French Mediterranean coast	17,036	37,460		Wafu et al., 2012
<i>S. coeruleoalba</i>	3	All	2000-2003	French Mediterranean coast	3,108	69,978		Wafu et al., 2005
<i>T. truncatus</i>	8 (3M; 3F; 2U)	all	2012-2018	Spanish Mediterranean coast	2,266 $\pm$ 1,739	6,106 $\pm$ 5,610	53.3 $\pm$ 42.0	This study
<i>T. truncatus</i>	1 (M)	I	2004-2011	Spanish coast, Alborán Sea			850	Barón et al., 2015b
<i>T. truncatus</i>	20	U	2012	Gulf of Cádiz, Atlantic Ocean			813 (17.3-1,947)	Barón et al., 2015a
<i>T. truncatus</i>	20	U	2012	Strait of Gibraltar			1,184 (<LoD-2,328)	Barón et al., 2015a
<i>T. truncatus</i>	14 (9M; 5F)	A	2013	Gulf of Ambracia; Ionian Sea	62,850 $\pm$ 99,920	26,770 $\pm$ 28,270		Gonzalvo et al., 2016
<i>T. truncatus</i>	12 (4M; 6F; 2U)	all	2000-2005	Croatian coast, Adriatic Sea	34,272 $\pm$ 48,351	66,812 $\pm$ 73,754		Romanic et al., 2014
<i>T. truncatus</i>	5 (2M 3F)	I & A	2004-2006	Israel coast	49,851 $\pm$ 85,303			Shoham-Frider et al. 2009
<i>T. truncatus</i>	2 (M)	I & A	2004-2006	Israel coast		9,000 $\pm$ 3,233		Shoham-Frider et al. 2009



**Tabla III.2.6.** (continuación)

<i>D. delphis</i>	3 (2M;1F)	A	2011-2015	Spanish Mediterranean coast	2,161 ± 694	3,860 ± 3,536	24,8 ± 25,3	This study
<i>D. delphis</i>	10 (7M;3F)	All	2004-2011	Spanish coast, Alborán Sea			1,000 (93-2,040)	Barón et al., 2015b
<i>D. delphis</i>	15	U	2012	Gulf of Cádiz, Atlantic Ocean			203 (<LoD-422)	Barón et al., 2015a
<i>D. delphis</i>	2	U	2012	Strait of Gibraltar			199 (74,3-323)	Barón et al., 2015a
<i>D. delphis</i>	1 (M)	A	2004	Croatian coast, Adriatic Sea	9,500	13,8100		Lazar et al., 2012
<i>G. melas</i>	3 (1M;2U)	I & A	2011-2018	Spanish Mediterranean coast	841 ± 871	1,059 ± 1,023	48,5 ± 56,4	This study
<i>G. melas</i>	49 (26M;23F)	U	2006-2013	NW Mediterranean Sea	46,081 ± 37,506	38,666 ± 25,731	712 ± 412	Pinzone et al., 2015
<i>G. melas</i>	3 (1M;2F)	I & A	2004-2011	Spanish coast, Alborán Sea			390 (190-490)	Barón et al., 2015b
<i>G. melas</i>	10	U	2012	Strait of Gibraltar			240 (<LoD-423)	Barón et al., 2015a
<i>G. melas</i>	4 (2F;2U)	A	2003-2009	French Mediterranean coast	35,380 ± 33,630	66,020 ± 57,910		Praca et al., 2011
<i>G. griseus</i>	1 (F)	A	2015	Spanish Mediterranean coast	729	1,017	11,83	This study
<i>G. griseus</i>	1 (M)	I	2004-2011	Spanish coast, Alborán Sea			370	Barón et al., 2015b
<i>G. griseus</i>	4 (M)	A	2003-2009	French Mediterranean coast	47,200 ± 25,210	114,240 ± 68,620		Praca et al., 2011
<i>Z. cavirostris</i>	1 (U)	U	2018	Spanish Mediterranean coast	956	956	15,3	This study
<i>P. macrocephalus</i>	2 (M)	C & I	2011-2018	Spanish Mediterranean coast	1,715 ± 157	1,401 ± 78,4	25,6 ± 11,7	This study
<i>P. macrocephalus</i>	43 (32M;11F)	U	2006-2013	NW Mediterranean Sea	37,647 ± 38,518	22,849 ± 15,566	347 ± 173	Pinzone et al., 2015
<i>P. macrocephalus</i>	9 (M)	A	2009	Thyrrhenian and Adriatic Seas		6,420 ± 6,150	612 ± 401	Bartalini et al., 2019
<i>P. macrocephalus</i>	3 (F)	A	2014	Italian coast, Adriatic Sea			167 ± 13,9	Zaccaroni et al., 2018
<i>P. macrocephalus</i>	12 (U)	All	2003-2009	French Mediterranean coast	115,980 ± 112,350	107,810 ± 108,720		Praca et al., 2011
<i>B. physalus</i>	70 (35M;35F)	U	2006-2013	NW Mediterranean Sea	6,643 ± 5,549	5,721 ± 5,180	177 ± 208	Pinzone et al., 2015



En este trabajo hemos encontrado concentraciones de metoxicloro en la grasa de cetáceos comparables a las de DDTs o PCBs. Sin embargo, en comparación con estos organoclorados, el metoxicloro rara vez se cita en estudios toxicológicos en mamíferos marinos. Este compuesto se utilizó en el pasado como plaguicida contra una amplia gama de plagas y está prohibido en la UE y EE.UU. desde principios de la década de 2000. A diferencia de este trabajo, [Hansen et al. \(2004\)](#), rara vez detectaron metoxicloro en muestras de grasa de delfines mulares de la costa atlántica de EE.UU. Los otros POCs se detectaron en concentraciones más bajas, aunque cuatro de ellos no se detectaron en ninguna muestra ( $\delta$ -hexaclorociclohexano, los dos estereoisómeros de endosulfán y endrina). El endosulfán es un plaguicida que se fabricó como mezcla de dos estereoisómeros ( $\alpha$  y  $\beta$ ). A pesar de que el  $\beta$ -endosulfán tiene una semivida más larga que el  $\alpha$ -endosulfán, ninguno de ellos se considera persistente en los tejidos de animales de sangre caliente, donde se metabolizan y excretan rápidamente ([Dorough et al., 1978](#)). Sin embargo, otros trabajos recientes han reportado su presencia en cetáceos de diversas localizaciones, también en el Mar Mediterráneo ([Hansen et al., 2004](#); [Dron et al., 2022](#)). El hecho de que no se detectaran ambos estereoisómeros indicaría la ausencia de exposiciones recientes en nuestra área de estudio. Del mismo modo,  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - y  $\delta$ -HCH son un grupo de estereoisómeros del hexaclorociclohexano (HCH) con diferentes tasas de metabolización y afinidad y persistencia en los tejidos. Por ejemplo, el  $\beta$ -HCH se acumula más en la grasa pero menos en el cerebro que el  $\alpha$ -HCH ([Kawai y otros, 1988](#)). A pesar de que se suele decir que el  $\beta$ -HCH es más persistente que los otros isómeros, observamos el siguiente patrón  $\gamma$ -HCH (lindano)  $\gg$   $\beta$ -HCH  $>$   $\alpha$ -HCH en todas las especies. Esto no concuerda con otros trabajos ([Alberto Durante et al., 2016](#)), en los que el estereoisómero  $\beta$  prevaleció sobre el resto. Sin embargo, en España la producción y el uso de  $\gamma$ -HCH fueron cuantitativamente más importantes que el producto técnico, que contenía mayores proporciones del estereoisómero  $\beta$  ([Fernández et al., 2013](#)). Este hecho podría explicar nuestros resultados.

En cuanto a la aldrina, la dieldrina y la endrina, son compuestos estructuralmente similares utilizados en el pasado como plaguicidas contra diversas plagas. En todas las especies de nuestro estudio, la dieldrina se detectó en uno o dos órdenes de magnitud superior a la aldrina, que sólo se detectó en el 15 % de nuestras muestras. La dieldrina puede bioacumularse por exposición directa o por formación a partir de su compuesto de origen, la aldrina, tanto abiótica como bióticamente a través de su epoxidación en el hígado ([revisado por Zitko, 2003](#)). Por otro lado, la endrina es un estereoisómero de la dieldrina; sin embargo, a diferencia de la dieldrina, no está claro si la endrina también puede aparecer como metabolito de la aldrina ([Purnomo, 2017](#); [Zitko et al., 2003](#)). Además, a pesar de su persistencia en matrices abióticas, la endrina se metaboliza rápidamente en el organismo ([revisado por Zitko et al., 2003](#)), por lo que normalmente no se detecta en concentraciones elevadas salvo en exposiciones recientes ([Smith et al., 1991](#)). Estas



son probablemente las razones de la no detección de la endrina y de la detección de proporciones más elevadas de dieldrina que de aldrina. Por último, las concentraciones medias de HCB y Mirex en este estudio oscilaron entre 2,68 y 32,9 y entre 2,45 y 12,4 ng/g p.l., respectivamente, inferiores a las reportadas en otros trabajos (Alberto Durante *et al.*, 2016; Alonso *et al.*, 2010).

### III.2.3.2. Perfiles químicos de COPs en cetáceos varados en la Región de Murcia

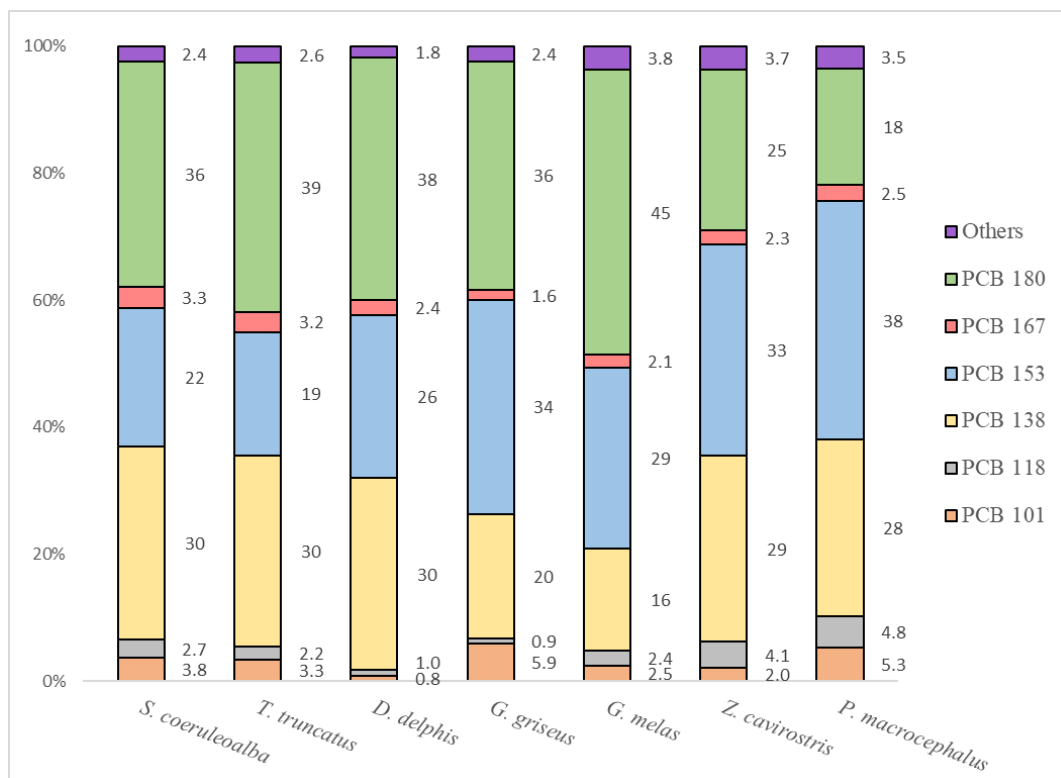
Con frecuencia, no sólo la concentración de una sustancia química, sino también su significado con respecto a la concentración de otras sustancias químicas puede ofrecer información útil. Por ejemplo, las concentraciones elevadas de compuestos parentales como el DDT o la aldrina con respecto a sus metabolitos (es decir, DDE y dieldrina) sugerirían exposiciones recientes a formas no degradadas de estos compuestos. En este sentido, el DDE y el DDD son metabolitos del DDT comúnmente agrupados como  $\Sigma$ DDTs. El DDE y el DDD pueden formarse abióticamente o bióticamente a partir del DDT (Gold y Brunk, 1982), aunque ambos aparecen comúnmente como impurezas en las mezclas comerciales de DDT (OMS, 1979). El DDE es el metabolito más persistente que se forma naturalmente en el medio ambiente a partir del DDT y suele ser el compuesto más detectado de los  $\Sigma$ DDT en mamíferos marinos (revisado por Zitko *et al.*, 2003). La proporción DDE/ $\Sigma$ DDTs en tejidos de cetáceos es un indicador comúnmente utilizado de exposiciones recientes y, por lo tanto, de liberaciones recientes de DDT (Bachman *et al.*, 2014; Borrell *et al.*, 2001). Los valores altos indicarían una alta abundancia de la forma metabolizada DDE y ningún uso o liberación reciente de DDT al medio ambiente. Tras la prohibición del DDT en la UE, Borrell *et al.* (2001) observaron que la proporción DDE/ $\Sigma$ DDTs en los delfines comunes del Mediterráneo noroccidental aumentó entre 1984 y 1996. En nuestro estudio, encontramos un patrón consistente en todas las especies DDE  $\gg$  DDD  $>$  DDT. A pesar de que todas las especies mostraron concentraciones detectables de DDT parental, éste representaba menos del 1 % de los  $\Sigma$ DDTs en todos los casos. La relación media DDE/ $\Sigma$ DDTs fue de  $0,90 \pm 0,15$ , lo que sugiere que las poblaciones estudiadas no han estado expuestas recientemente al DDT durante mucho tiempo. La proporción DDE/ $\Sigma$ DDTs en la grasa de diferentes especies de cetáceos del Mediterráneo ha ido aumentando con el tiempo desde la década de 1980 como consecuencia de la prohibición del DDT en la UE. Por ejemplo, Aguilar y Borrell (2005) informaron que el porcentaje de DDE en la grasa de los delfines listados del Mediterráneo aumentó de aproximadamente 56% en 1987 a 82% en 2002. Dado que el nuestro es el primer estudio de estas características en nuestro área de estudio, no podemos saber si las proporciones anteriores de DDE/ $\Sigma$ DDTs eran mayores o menores. Sin embargo, nuestros valores están en consonancia con la bibliografía relativa a la región del Mediterráneo.

Por otro lado, calculamos los patrones de PCBs y PBDEs para cada especie (representados en la Figura III.2.1 y Figura III.2.2 respectivamente) como el porcentaje que cada congénere de PCB o



PBDE representa de la carga total de PCBs ( $\Sigma$ PCBs) o PBDEs ( $\Sigma$ PBDEs) respectivamente. Del conjunto de 18 congéneres de PCB estudiados en este trabajo, CB-180 (rango 77,0 - 14.129 ng/g p.l.), CB-138 (rango <LoD - 13.117 ng/g p.l.) y CB-153 (rango <LoD - 20.930 ng/g p.l.) fueron los que se detectaron en concentraciones más elevadas, mientras que los congéneres de PCBs n° 77, 81, 105, 114, 123 y 169 estuvieron por debajo del límite de detección para todos los individuos estudiados. CB-180, CB-138 y CB-153 dominaron invariablemente el patrón de PCBs en todas las especies estudiadas, representando en todos los casos más del 80 % del total. De media, el CB-180 representó el 33,9 % de los  $\Sigma$ PCB, mientras que el CB-153 y el CB-138 representaron el 28,6 % y el 26,2 % respectivamente. Estos tres congéneres se han referido como particularmente resistentes a la metabolización por mamíferos marinos (Bonn *et al.*, 1997; 2000; 2001), y se informa constantemente de que dominan los patrones de PCB de mamíferos marinos y otras especies marinas como la tortuga boba *Caretta caretta* (Marsili y Focardi, 1997; Lazar *et al.*, 2011; Storelli y Marcotrigiano, 2000). En todos los casos, los homólogos más clorados prevalecían sobre los menos clorados. Hubo una relación directa entre el número de átomos de cloro del PCB y su acumulación dentro de la grasa, siguiendo este esquema: PCB-7Cl  $\geq$  PCB-6Cl  $\gg$  PCB-5Cl > PCB-4Cl > PCB-3Cl, de acuerdo con otros informes en delfines del Mediterráneo (Romanic *et al.*, 2014; Storelli *et al.*, 2007, 2012; Wafo *et al.*, 2005). La mayor persistencia de los PCB con mayor cloración es una posible explicación de este patrón. Según algunos autores, en el momento en que la producción de PCB alcanzó su punto álgido, los patrones de PCB en los tejidos de cetáceos reflejaban proporciones similares de aquellos productos comerciales que contenían PCB (Brown *et al.*, 2015; Wafo *et al.*, 2005). Por ejemplo, el Aroclor 1260 era el producto técnico más utilizado en Francia y otras partes de Europa, y estaba compuesto por un 38,5 % de PCB-7Cl, un 43,4 % de PCB-6Cl y un 0,4 % de PCB-4Cl. El patrón de PCBs se ha sugerido como una herramienta útil para evaluar si la fuente de contaminación tiene un origen local o lejano. Dado que los PCB fuertemente clorados son menos volátiles que los congéneres poco clorados, aparecen en concentraciones relativamente altas en zonas con fuentes locales de contaminación por PCB (Brown *et al.*, 2015). Sin embargo, según esta hipótesis, nuestros resultados no se ajustan a lo esperado. Así, aunque nuestra zona de estudio es eminentemente agrícola y escasamente urbanizada, el perfil de PCB de todas las especies estaba dominado por PCB altamente clorados, lo que según esta hipótesis indicaría una fuente local de PCB. No obstante, puede que habiendo pasado ya un tiempo lejano desde que estos contaminantes comenzaron a ser liberados al medio ambiente, todos los congéneres liberados y suficientemente persistentes, independientemente de su cloración, se hayan homogeneizado en el medio ambiente.





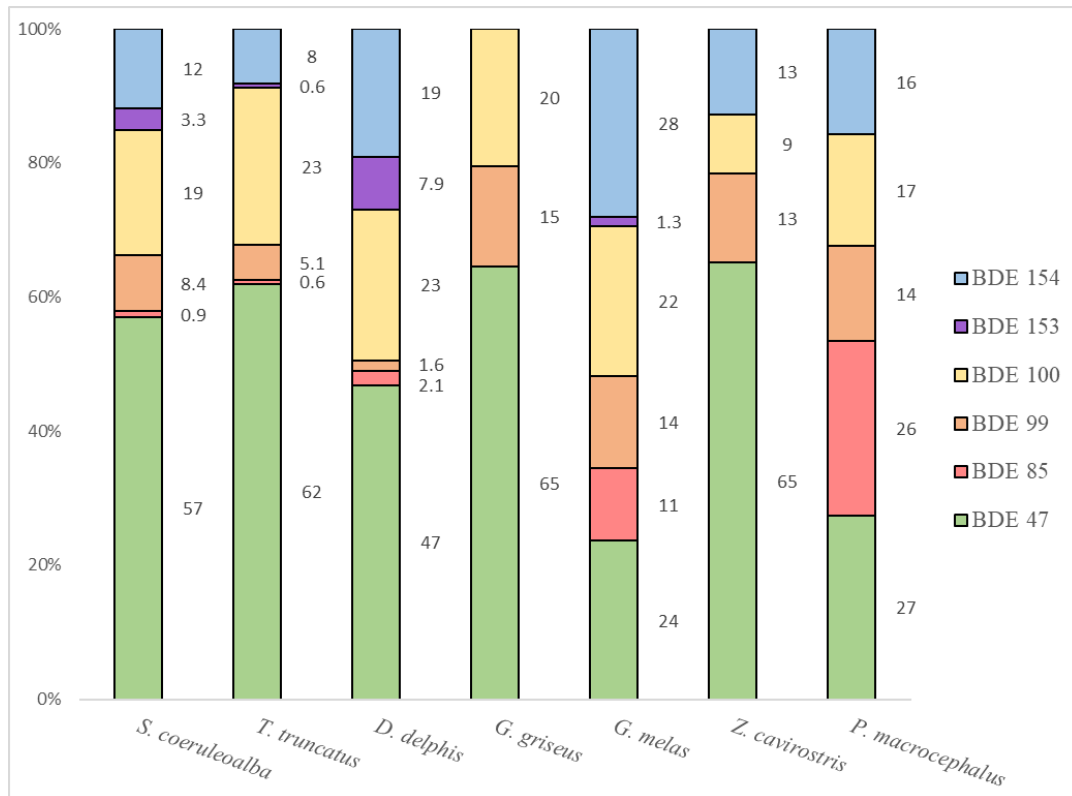
**Figura III.2.1.** Perfiles de PCB en grasa de diferentes especies endémicas de cetáceos del Mediterráneo occidental. Los resultados se expresan como porcentaje de cada congénere con respecto a la suma total de congéneres.

De los ocho congéneres de PBDEs considerados en este trabajo, sólo el BDE-183 estuvo por debajo del límite de detección en todas las muestras. Por el contrario, el BDE-47 (contribución media del 49,5%), el BDE-100 (contribución media del 19,0%), el BDE-154 (contribución media del 13,7%) y el BDE 99 (contribución media del 10,1%) fueron los congéneres dominantes. Este patrón se mantuvo constante entre la mayoría de las especies de nuestro estudio, lo que indicaría una exposición a fuentes similares de PBDEs y/o una distribución y metabolización similares entre estas especies. Sin embargo, la carga y el perfil de PBDEs no reflejan necesariamente ni los PBDEs originales liberados al medio ambiente ni los PBDEs a los que las especies estudiadas estuvieron expuestas originalmente, sino que también pueden reflejar la desbromación de congéneres altamente bromados en otros menos bromados. Así pues, comprender la dinámica de los PBDE en el medio ambiente y la biota resulta esencial para evaluar su perfil en los tejidos. Por ejemplo, mientras que las mezclas de decaBDEs fueron las mezclas comerciales más demandadas y se eliminaron progresivamente varios años después que los penta- y octaBDEs, generalmente los congéneres que las componían no se detectan en cetáceos, con pocas excepciones (Aznar.Alemany *et al.*, 2019). Los PBDEs altamente bromados incluidos en las mezclas comerciales de decaBDEs - principalmente BDE-209 y varios nonaBDEs - se desbroman abióticamente muy rápido debido a la luz solar (revisado por de Witt *et al.*, 2002), además de ser



poco bioacumulativos y desbromarse también fácilmente en la biota para formar PBDEs de menor bromación (He *et al.*, 2006; Kierkegaard *et al.*, 2007; Stapleton *et al.*, 2006). Por ejemplo, Stapleton *et al.* (2004b) comprobaron en carpas juveniles *Cyprinus carpio* la desbromación del BDE-209 (el principal constituyente de las mezclas comerciales de decaBDEs) principalmente en penta- a octa-BDEs, causando el agotamiento del BDE-209 en los tejidos. Varios autores han encontrado que los tejidos animales suelen acumular mayores concentraciones de aquellos PBDEs que contienen cuatro (BDE-4Br) y cinco (BDE-5Br) átomos de bromo y poseen propiedades fisicoquímicas similares a otros COPs como los PCBs o el DDT (Rahman *et al.*, 2001; Tittlemier *et al.*, 2002). Nuestros resultados coinciden parcialmente con estas observaciones previas, ya que el BDE-183 (BDE-7Br) y el BDE-28 (BDE-3Br) no se detectaron nunca o rara vez, respectivamente. Sin embargo, el BDE-154 (BDE-6Br) fue cuantitativamente el segundo congénere que contribuyó al perfil de PBDE, lo que estaría en desacuerdo con la afirmación anterior.

El BDE-153 y el BDE-154 eran componentes intermedios ( $\approx 1 - 10 \%$ ) de varias mezclas comerciales de penta- y octaBDEs (La Guardia *et al.*, 2006). Aunque el BDE-153 representaba porcentajes más elevados en las mezclas técnicas que el BDE-154, este último puede ser formado bióticamente a partir de varios BDEs bromados superiores en microsomas hepáticos, incluidos el BDE-183 y el BDE-209 (Stapleton *et al.*, 2004a, b; 2006). Además, el BDE-154 tiene una semivida mucho más larga ( $35 \pm 18$  días en el hígado de la carpa) que el BDE-153 ( $13,6 \pm 9$  días) (Stapleton *et al.*, 2004b). Estos factores podrían explicar que el BDE-154 fuera, de media, un constituyente diez veces más importante cuantitativamente que el BDE-153 en la grasa de los cetáceos. De forma similar, el BDE-47 y el BDE-99 fueron los componentes principales (35 - 45 %) de las mezclas comerciales de pentaBDE más comunes producidas en EE.UU. y la UE, mientras que el BDE-100 fue un componente intermedio (7 - 15 %) de dichas mezclas (La Guardia *et al.*, 2006). La mayor contribución del BDE-47 al perfil podría explicarse también por su formación a través de la desbromación de varios PBDEs de mayor bromación, incluido el BDE-99 (Stapleton *et al.*, 2004a). A su vez, el BDE-47 puede debromarse para formar BDE-28 (Bhavsar *et al.*, 2008); sin embargo, este BDE no se detectó en la mayoría de las muestras, quizás debido a su rápida metabolización o excreción. Los patrones de PBDEs descritos en este trabajo concuerdan con la mayoría de trabajos, no sólo en especies de cetáceos del Mediterráneo (Pettersson *et al.* 2004), sino también en otras especies de cetáceos de todo el mundo como las belugas *Delphinapterus leucas* de Canadá (Lebeuf *et al.*, 2004) o diferentes odontocetos del Océano Índico (Aznar-Alemanly *et al.*, 2019) o del Océano Atlántico (Dorneles *et al.*, 2010).



**Figura III.2.2.** Perfiles de PBDE en grasa de diferentes especies endémicas de cetáceos del Mediterráneo occidental. Los resultados se expresan como porcentaje de cada congénere con respecto a la suma total de congéneres.

### III.2.3.3. Fuentes de variación: variación interespecífica

En aquellas especies que coexisten en la misma zona, gran parte de las diferencias interespecíficas en las concentraciones de COPs pueden explicarse por la dieta y la posición trófica, ya que los contaminantes llegan al organismo principalmente a través del sistema digestivo (Aguilar *et al.*, 1999; Bachman *et al.*, 2014). Por ejemplo, Aguilar y Borrell (2005) encontraron que los niveles de DDT y PCBs en delfines listados de su estudio eran más altos que los encontrados en otros cetáceos de la misma región, lo que atribuyeron a diferencias en la dieta. De manera similar, en su trabajo con 16 especies de cetáceos del Océano Pacífico, Bachman *et al.* (2014) sugirieron que aquellas especies que se alimentan en posiciones tróficas más altas representaban una mayor acumulación de contaminantes. Por otro lado, dado que las principales fuentes de COPs provienen de tierra firme, se espera que los cetáceos que habitan en aguas costeras y poco profundas estén expuestos a mayores cargas de contaminantes en comparación con aquellas especies que se reproducen y alimentan lejos de la plataforma continental y en aguas más profundas (Fair *et al.*, 2007; López-Berenguer *et al.*, 2020b). Por ejemplo, Litz *et al.* (2007) reportaron niveles más altos de PCBs, DDTs y PBDEs, en aquellas poblaciones de delfines mulares que vivían más cerca de áreas con mayor urbanización e industrialización a lo largo de la costa sureste de EE.UU.



Dado que las especies consideradas en este trabajo tienen dietas, comportamientos alimentarios y hábitats fuertemente diferenciados (Astruc y Beaubrun, 2005; Cañadas y Hammond, 2008; Natoli, 2004), es de esperar un reflejo de estas diferencias en su carga de contaminantes. De acuerdo con sus diferencias en la dieta y el hábitat en el Golfo de Vera, podríamos separar nuestras especies de estudio en dos grupos: un primer grupo de alimentadores oportunistas epipelágicos/mesopelágicos poco profundos y un segundo grupo de alimentadores teutófagos mesopelágicos/batipelágicos. El primer grupo incluye al delfín listado, el delfín mular y el delfín común, que son depredadores oportunistas cuyas presas incluyen principalmente peces y cefalópodos, aunque también crustáceos en el caso del delfín mular. Las poblaciones de delfín mular de nuestra zona de estudio son las más costeras de todas las especies. Se alimentan de presas demersales a lo largo y en el borde de la plataforma continental, en aguas de 200-400 m de profundidad, principalmente de merluza *Merluccius merluccius* y otros peces, pero también de otras especies como pulpos (Blanco *et al.*, 2001; Canales *et al.*, 2008; Wells y Scott, 1999). Los delfines comunes y los delfines listados, por el contrario, se alimentan en la columna de agua, en aguas más profundas fuera de la plataforma continental. Mientras que el delfín listado se alimenta de una variedad de especies de peces (p. ej., familias Gadidae, Sparidae y Gonostomiidae) y varios cefalópodos en aguas de entre 900 y 1.500 m de profundidad (Blanco *et al.*, 1995; Gómez de Segura *et al.*, 2008; Gómez-Campos *et al.*, 2011; Meotti y Pedestá, 1997), los delfines comunes se alimentan en aguas ligeramente menos profundas, entre el talud continental y de menos de 1.000 m de profundidad, también de peces (p. ej., familias Cupeidae y Gadidae) y cefalópodos (Bearzi *et al.*, 2003; Cañadas y Hammond, 2008; Natoli, 2004). Estas tres especies acumularon en general concentraciones de COPs más elevadas (Tabla II.2.1.) que las demás según el siguiente patrón general: delfín listado > delfín mular > delfín común. Por el contrario, el segundo grupo incluye al calderón común, el calderón gris, el cachalote y el zifio de Cuvier, cuyas poblaciones del Mediterráneo noroccidental se alimentan principalmente de cefalópodos batipelágicos de las familias Histioteuthidae y Ommastrephidae (Astruc y Beaubrun, 2005; Praca y Gannier, 2008; West *et al.*, 2017). El calderón gris, el calderón común y el cachalote suelen preferir aguas con más de 1.000 m y con una pendiente pronunciada, aunque algunos de ellos también pueden encontrarse esporádicamente en aguas menos profundas de 500 m de profundidad (Azzellino *et al.*, 2008; Cañadas *et al.*, 2002; Gómez de Segura *et al.*, 2008; Praca y Gannier, 2008). Entre ellos, el cachalote es capaz de alimentarse de presas más grandes y profundas debido a su superior capacidad de buceo y a su mayor longitud (Drouot *et al.*, 2004; Praca y Gannier, 2008). Por último, el zifio de Cuvier también suele encontrarse en pendientes pronunciadas y en aguas más profundas (>2.000 m), particularmente asociado a cañones submarinos, donde se alimentan de diversos cefalópodos a profundidades de entre 600 y 1500 m (Podestà *et al.*, 2016; Schorr *et al.*, 2014). Para este segundo grupo de depredadores teutófagos mesopelágicos/batipelágicos, el patrón de acumulación fue más variable en función de cada compuesto. Aunque estas especies



acumularon en general concentraciones más bajas de la mayoría de las sustancias químicas, excepcionalmente el cachalote fue la especie que acumuló las cantidades más altas de metoxicloro y heptacloro, con concentraciones notables también de DDT. Este hecho podría explicarse por su particular idiosincrasia entre las especies estudiadas, siendo con diferencia la especie de mayor tamaño, lo que probablemente le permite cazar presas más grandes y potencialmente más contaminadas en comparación con sus homólogos. Esta hipótesis podría ser apoyada por el hecho de que, por el contrario, el calderón gris, que es la más pequeña de las cuatro especies buceadoras, mostró generalmente concentraciones más bajas para la mayoría de los COPs. Cabe señalar que otras diferencias fisiológicas interespecíficas también podrían influir en la absorción y acumulación de contaminantes, incluida su capacidad de desintoxicación.

No sólo las concentraciones absolutas variaron entre especies, sino también los patrones de contaminación. Por ejemplo, mientras que en aquellas especies que se alimentan más cerca de la costa y/o en aguas menos profundas los PCBs fueron los productos químicos detectados en concentraciones más elevadas, en las especies que se alimentan a mayor profundidad y más lejos de la plataforma continental el metoxicloro se encontró en concentraciones más elevadas. El patrón de PCBs ([Figura II.2.1](#)) fue relativamente similar entre especies. En todos los casos los CB-180, CB-153 y CB-138 fueron los congéneres principales; sin embargo, mientras que en la mayoría de las especies CB-180 fue el congénere dominante, en el zifio de Cuvier y el cachalote CB-153 y CB-138 contribuyeron, por orden decreciente, con proporciones más elevadas. En cuanto al patrón de PBDEs ([Figura II.2.2](#)), este permaneció constante entre el grupo de los delfines (BDE-47 > BDE-100 > BDE-154) pero los depredadores teutófagos del segundo grupo mostraron ligeras variaciones. Por ejemplo, todas estas especies presentaron concentraciones notables y más elevadas de BDE-99. En particular, el cachalote incluyó el BDE-85 (además del BDE-47) como compuesto dominante sobre el BDE-100, el BDE-154 y el BDE-99. Los cachalotes del Mediterráneo occidental considerados en otros trabajos, sin embargo, han informado de un patrón similar al de las otras especies incluidas en estos estudios, dominado por BDE-47 > BDE-99  $\approx$  BDE-100 y con concentraciones insignificantes de BDE-85 ([Bartalini et al., 2019](#); [Pinzone et al., 2015](#); [Zaccaroni et al., 2018](#)).

Como muchos otros autores, nuestra hipótesis es que la mayoría de las diferencias interespecíficas señaladas se basan en la dieta y las preferencias de hábitat. Esto se evidencia, por ejemplo, a través de la existencia de patrones de contaminación comunes entre aquellas especies que comparten dieta y hábitos alimenticios. Debido a la escasa bibliografía existente sobre las poblaciones del Mediterráneo de todas las especies mencionadas, consideramos importante incluir cualquier información en este trabajo, incluso cuando sólo se dispusiera de una o dos muestras. Sin embargo, somos conscientes de las dificultades de la interpretación y generalización de estos datos, en la medida en que el número excesivamente limitado de muestras probablemente tenga



un efecto significativo en los resultados. Este hecho no sólo conduce a una potencial infrarrepresentación de la realidad, sino que también magnifica la influencias de otras variables como el sexo o la edad de los individuos en los resultados. Lo ideal sería utilizar únicamente individuos de la misma condición (sexo y grupo de edad) para las comparaciones interespecíficas. Desgraciadamente, los pequeños conjuntos de muestras disponibles para la mayoría de las especies no permitieron otras divisiones de los resultados distintas de la especie.

#### *III.2.3.4. Fuentes de variación: variación intraespecífica*

Dado que el delfín listado es el cetáceo más común en el Mar Mediterráneo (Aguilar, 2000), esta especie protagonizó más varamientos que las demás. El mayor conjunto de muestras para esta especie en nuestro estudio ( $n=33$ ) permitió un análisis más detallado basado en la división de los resultados por sexo y grupo de edad, que son las variables con mayor influencia dentro de una misma población sobre la acumulación de COPs en los tejidos de los cetáceos. Ambas variables afectan a la captación, bioacumulación, metabolización y excreción de contaminantes, no sólo en base a diferencias fisiológicas internas sino también debido a diferencias indirectas, por ejemplo, dieta, grosor de la grasa, etc. (Aguilar *et al.*, 1999). Por ejemplo, los machos suelen ser capaces de alimentarse de presas más grandes, más profundas o más mar adentro en comparación con las hembras o los juveniles. Innumerables trabajos han descrito diferencias basadas en el sexo o la edad en la carga de COPs en varias especies de cetáceos tanto para OCs (Aguilar *et al.*, 1999; Borrell *et al.*, 2001; Hansen *et al.*, 2004; Yordy *et al.*, 2010b) como para PBDEs (Dorneles *et al.*, 2010; Petterson *et al.*, 2014; Litz *et al.*, 2007). En general, la edad se correlaciona positivamente con la acumulación de COPs (Aguilar *et al.*, 1999). Los COPs son bioacumulables y lipofílicos, por lo que la grasa es el tejido en el que estos compuestos se acumulan durante periodos más largos, a menudo a un ritmo mayor del que se eliminan. Además, los COPs son biomagnificables, por lo que los cetáceos adultos, que se alimentan en posiciones tróficas más altas en la red trófica marina que las crías y los juveniles, tienden a una mayor incorporación de contaminantes (Aguilar y Borrell, 1994a; Borrell *et al.*, 2001). Sin embargo, en las hembras esto queda frecuentemente enmascarado por la influencia de los procesos biológicos relacionados con la reproducción. Los OCs y los PBDE son transferidos desde las hembras adultas a su descendencia a través de la placenta y la lactancia (Borrell *et al.*, 2001; Dorneles *et al.*, 2010). Se trata de un proceso tan eficaz que puede hacer que las hembras pierdan hasta el 90% de su carga corporal total de organoclorados (Borrell y Aguilar, 2005; Tanabe *et al.*, 1982). Esta interacción entre los factores de influencia relacionados con la edad y el sexo suele conducir al siguiente patrón de acumulación de COPs en las poblaciones de mamíferos marinos: machos adultos  $\geq$  hembras nulíparas  $>$  crías  $\geq$  juveniles  $>$  hembras primíparas y múltiparas. Este es, aproximadamente, el patrón observado en nuestro trabajo y en muchos otros (Aguilar y Borrell, 1994a; Bachman *et al.*, 2014; Dron *et al.*, 2022; Hansen *et al.*, 2004; Krahn *et al.*, 2009; Petterson *et al.*, 2004; Zaccaroni *et al.*, 2018).

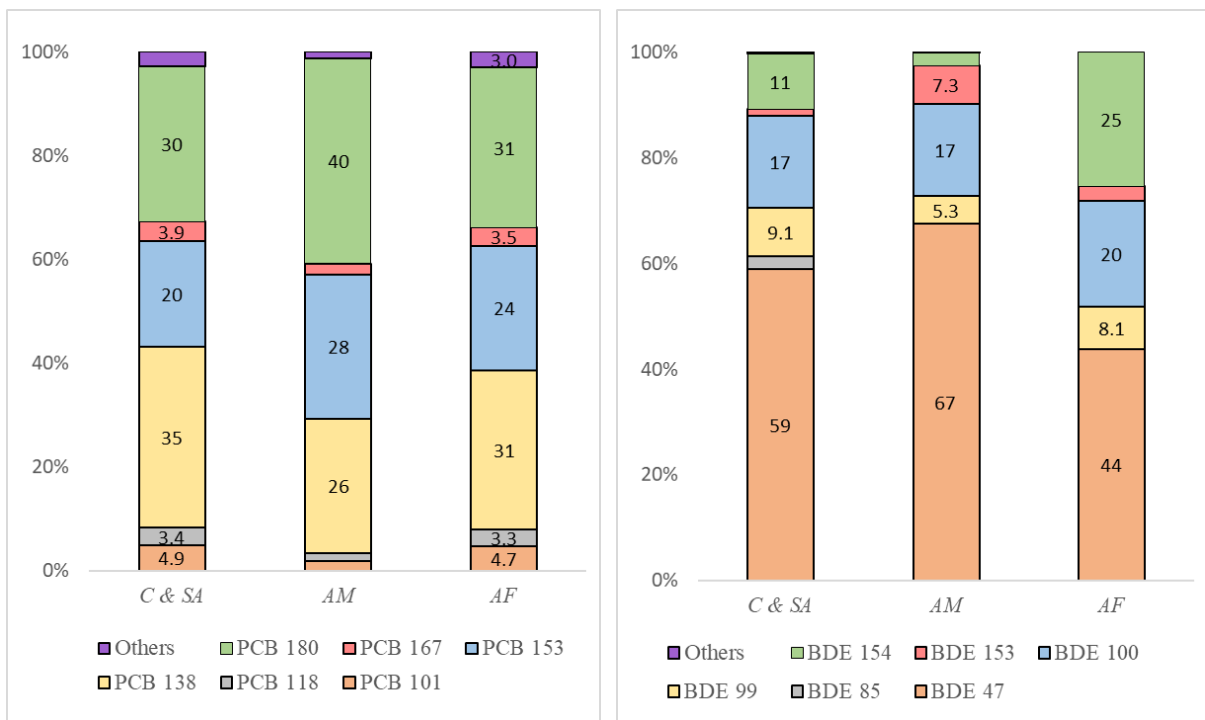


Los machos adultos del delfín listado acumularon más  $\Sigma$ DDT (media 9.788 ng/g p.l.),  $\Sigma$ PCB (media 13.361 ng/g p.l.) y  $\Sigma$ PBDE (media 70,2 ng/g p.l.) que las crías y los juveniles (media  $\Sigma$ DDT, 3.865 ng/g p.l.;  $\Sigma$ PCB 4.340 ng/g p.l.;  $\Sigma$ PBDE 57,2 ng/g p.l.), que a su vez mostraron concentraciones más elevadas que las hembras adultas (media  $\Sigma$ DDTs, 2.120 ng/g p.l.;  $\Sigma$ PCBs, 2.206 ng/g p.l.;  $\Sigma$ PBDEs, 29,8 ng/g p.l.). Este patrón suele ser constante entre los distintos estudios aunque consideren especies diferentes o regiones distintas; sin embargo, ocasionalmente estas tendencias no se observan en algunas poblaciones de estudio. Por ejemplo, [Dron et al. \(2022\)](#) reportaron mayores concentraciones de DDT en machos y crías de delfines listados del Mediterráneo noroccidental en comparación con las hembras adultas, pero no encontraron diferencias significativas para PCBs y otros POCs como aldrina o heptacloro. Asimismo, [Lebeuf et al. \(2004\)](#) no encontraron diferencias significativas en los niveles de PBDE entre machos y hembras de belugas del estuario del San Lorenzo (Canadá). No hay explicaciones sencillas para estas observaciones; por ejemplo, el trabajo anteriormente mencionado sugirió como una posible que las exposiciones extremadamente altas podían haber dado lugar a tasas de acumulación que hubiesen enmascarado los procesos de eliminación. Otras causas podrían ser distorsiones ocasionadas por conjuntos de muestras pequeños, conjuntos de muestras de periodos largos o diferentes, o la inclusión de animales enfermos o demacrados, *etc.* Según los análisis estadísticos, ninguna de nuestras variables (es decir, sexo y longitud/edad) tuvo un efecto significativo en la concentración de grasa de POCs, PCB o PBDE; sin embargo, atribuimos esta situación a la escasa cantidad de muestras incluidas en nuestro conjunto de muestras, ya que, tal y como hemos descrito anteriormente encontramos diferencias fácilmente observables entre los grupos.

Por otro lado, la transferencia materna no es igual de eficaz para todos los contaminantes; por ejemplo, [Borrell et al. \(2001\)](#) sugirieron una mayor transferencia para los DDTs en comparación con los PCB. En el mismo sentido, se ha sugerido que el proceso es más eficaz para el DDT que para el DDE ([Borrell et al., 2001](#); [Tanabe et al., 1982](#); [Borrell et al., 1995](#); [McKenzie et al., 1997](#)), así como para aquellos congéneres de PCBs y PBDEs menos halogenados ([Cardieux et al., 2015](#); [Dorneles et al., 2010](#)), probablemente debido a su menor hidrofobicidad y tamaño molecular en comparación con los congéneres altamente halogenados. Este hecho se traduciría en mayores concentraciones de DDT y PCBs o PBDEs altamente clorados/bromados en las hembras adultas respecto a los machos adultos y las crías, así como en mayores concentraciones de DDE y congéneres menos halogenados en las crías con respecto a sus madres. Sin embargo, algunos autores no han reportado tales diferencias entre machos y hembras adultos ([Borrell et al., 2001](#); [Salata et al., 1995](#)) o han reportado patrones similares entre madres y crías ([Zaccaroni et al., 2018](#)). En nuestro estudio, el patrón de PCB fue similar entre los tres grupos de sexo/edad ([Figura III.2.3](#)), mientras que se pudo observar una mayor variabilidad en el patrón de PBDEs ([Figura III.2.4](#)). En este caso, los machos adultos presentaban mayores proporciones de BDE-47 (BDE-



4Br) y proporciones mucho menores -10 veces menos- de BDE-154 (BDE-6Br) en comparación con las hembras adultas, mientras que las crías y los juveniles se situaban entre ambos. Esto podría sugerir que, como ya se ha mencionado, los PBDEs menos bromados se transfieren más fácilmente a la descendencia los PBDEs altamente bromados, provocando una acumulación progresiva de estos formadores en las hembras adultas a lo largo de su vida reproductiva. Según [Lebeuf et al. \(2004\)](#), algunos COPs, como el mirex y el  $\gamma$ -HCH no parecen verse afectados significativamente por la transferencia materna; sin embargo, en nuestro estudio estos dos compuestos químicos siguieron el esquema general, apareciendo en menores concentraciones en hembras adultas que en crías, juveniles y machos adultos. Por el contrario, los compuestos que se desviaron de la norma fueron el metoxicloro y el heptacloro, que fueron mayores en las hembras adultas que en los otros grupos, y la aldrina, que fue mayor en crías y juveniles, seguido de las hembras adultas. Por otro lado, CB-28, CB-101, CB-156 y BDE-74 fueron más elevados en crías y juveniles y, salvo CB-28, aparecían en concentraciones más elevadas en hembras adultas que en machos.



**Figuras III.2.3. (izq.) y III.2.4. (dcha.).** Perfiles de PCBs (izquierda) y PBDEs (derecha) en la grasa de diferentes grupos biológicos de delfines listados del Mediterráneo occidental. Los resultados se expresan como porcentaje de cada congénere con respecto a la suma total de congéneres. C & SA - crías y subadultos; AM - machos adultos; AF - hembras adultas.





### II.2.3.5. Evaluación del riesgo

Todas las especies de cetáceos del Mediterráneo cuyas poblaciones han sido evaluadas en este trabajo se consideran en declive (UICN, 2022). Los cetáceos que habitan en el Mar Mediterráneo están expuestos a una serie de factores de estrés que incluyen la degradación del hábitat, las interacciones con la pesca (agotamiento de presas y capturas accidentales), enfermedades infecciosas y contaminación química y acústica (Costello *et al.*, 2010; Halpern *et al.*, 2008). Aunque las concentraciones de COPs reportadas en los tejidos de los cetáceos no suelen considerarse directamente responsables de su muerte, sus efectos tóxicos sobre el sistema endocrino, inmunológico, reproductivo o nervioso tienen consecuencias ciertamente dañinas sobre la supervivencia del organismo. Los científicos han estado informando sobre altos niveles de contaminantes en cetáceos de todo el mundo desde hace muchas décadas; sin embargo, raramente se han demostrado vínculos causales directos de alteraciones de la salud. Martineau *et al.* (1994, 1999) observaron una aparente relación entre una alta prevalencia de tumores en una población de belugas en un área altamente contaminada y una alta presencia de hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHs) y PCBs. Del mismo modo, se estableció una asociación entre los PCBs y la mortalidad causada por enfermedades infecciosas en marsopas comunes *Phocoena phocoena* de las islas británicas (Jepson *et al.*, 2005) así como en delfines listados y mulares del Mar Mediterráneo durante la epidemia de morbilivirus de 1990-1992 (Aguilar y Borrell, 1994b; Evans *et al.*, 2008). En estos casos, se observó un aumento de la tasa de mortalidad en aquellos individuos que mostraban altos niveles de PCB, lo que se atribuyó a la capacidad de estos compuestos para la inmunosupresión. Sin embargo, a pesar de ejemplos como estos, el significado biológico y la naturaleza de los efectos causados por la exposición a la contaminación química en cetáceos permanece generalmente incierto.

La falta de conocimientos sobre el tema, la dificultad de realizar estudios sobre estas especies y la variabilidad interespecífica en la respuesta a los contaminantes (Boon *et al.*, 1997; Kannan *et al.*, 2000) dificultan enormemente la realización de evaluaciones exhaustivas y precisas sobre el riesgo al que están expuestos los cetáceos de vida libre por su exposición a contaminantes ambientales. Sin embargo, diversos trabajos han adoptado diferentes estrategias para tratar de establecer umbrales de toxicidad útiles que permitan realizar evaluaciones rigurosas de dicho riesgo. En general, los PCBs se consideran el mayor peligro para los cetáceos del Mediterráneo (revisado por Jepson y Law, 2016), así como para la mayoría de las especies de cetáceos de todo el mundo, lo que ha dado lugar a un mayor número de estudios centrados en esta clase de contaminantes. Esta atención particular ha resultado en un rango de umbrales de toxicidad de PCB dependiendo de la metodología utilizada y del efecto tóxico a evaluar. Estos umbrales van desde un LOAEL de 17 mg/kg p.l. establecido por Kannan *et al.* (2000) a partir de datos primarios sobre visones *Mustela vison*, hasta 41 mg/kg p.l. derivados por Helle *et al.* (1976) y ajustados por



Jepson *et al.*, 2016) a partir de importantes alteraciones reproductivas en focas anilladas *Phoca hispida*. Hay que tener en cuenta que ninguno de ellos proviene de datos obtenidos en cetáceos. En cuanto a nuestros resultados, las concentraciones de PCB de tres delfines listados (dos machos adultos y una cría), un delfín mular y dos delfines sin identificación específica superaron el umbral más bajo, y uno de los delfines listados también superó el más alto.

Por otra parte, los PCBs similares a las dioxinas se consideran más tóxicos para la biota en comparación con otros congéneres. Su toxicidad también se evalúa habitualmente mediante el enfoque de la cantidad equivalente tóxica (EQT), que considera la toxicidad global de una mezcla de PCB similares a las dioxinas basándose en su toxicidad potencial en relación con la de la sustancia química de referencia, la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD; FET=1). Se analizaron todos los PCB similares a las dioxinas (dl-PCB), incluidos los PCB no-orto y mono-orto; sin embargo, algunos de ellos (congéneres n° 77, 81, 105, 114 y 123) no se detectaron en ninguna muestra. Dependiendo de la especie, el % de dl-PCBs osciló entre el 4,0 y el 10,1 % con respecto al total de PCBs ( $\Sigma$ PCBs). La mediana de EQT totales (Tabla III.2.6) fue de 365 pg EQT/g p.l., aunque todas las especies, excepto el calderón gris, representaron más de 290 pg EQT/g p.l., con un máximo de 976 pg EQT/g p.l. para el delfín listado. A pesar de que nuestras concentraciones de dl-PCBs están por debajo de las de otros trabajos (por ejemplo, Bartalini *et al.*, 2019), nuestros valores de EQT son tan altos o más que los reportados por estos trabajos. Estos resultados están fuertemente influenciados por algunos especímenes que muestran concentraciones detectables de CB-126 ( $n=27$ ; rango 2,21 - 157 ng/g p.l.), que tiene asignado un valor de EQT de 0,1 en contraste con los valores de EQT de 0,00003 para los otros congéneres detectables en nuestro estudio. Así, nuestros resultados de EQT destacan una diferencia de tres o cuatro órdenes de magnitud entre los individuos con concentraciones detectables de CB-126 y los individuos sin concentraciones detectables de este congéneres. Ross *et al.* (1995) propusieron un umbral de toxicidad de 210 pg de EQT/g p.l. en grasa basado en la aparición de efectos inmunotóxicos en focas comunes. En consecuencia, aproximadamente la mitad de los individuos considerados en este estudio ( $n=26$ ) estarían en riesgo de alteraciones inmunotóxicas.

Hasta donde sabemos, no se han establecido umbrales similares en especies de mamíferos marinos para los DDT u otros plaguicidas organoclorados, y sólo se ha sugerido previamente un umbral de toxicidad para los PBDEs en estas especies, basado en otra clase de mamíferos marinos. En este caso, Hall *et al.* (2003) informaron de alteraciones de las hormonas tiroideas cuando los  $\Sigma$ PBDEs en la grasa de focas grises *Halichoerus grypus* oscilaban entre 61 y 1.500 ng/g p.l. A pesar de que nuestra concentración más alta de  $\Sigma$ PBDEs es de 480 ng/g p.l. (delfín listado) y la mediana de concentración de  $\Sigma$ PBDEs es de 27,8 ng/g p.l., hay 17 individuos cuyas concentraciones superan el límite inferior.



**Tabla III.2.6.** EQT total de  $\Sigma$ dl-PCBs, %dl-PCBs y dl-PCBs similares a las dioxinas en la grasa (ng EQT-OMS /g p.l.) calculado a partir de los valores de FET proporcionados por Van den Berg et al. (2006).

Species	$\Sigma$ dl-PCBs	%dl-PCBs	TEQ
<i>S. coeruleoalba</i>	359 ± 536	7.6 ± 5.7	0.97 ± 1.84
n= 33			
calves & subadult	297 ± 299	9.0 ± 5.6	0.63 ± 0.91
n=10; 2			
adult females	201 ± 199	8.9 ± 5.2	0.59 ± 0.71
n= 6			
adult males	459 ± 571	4.3 ± 5.6	0.79 ± 1.92
n= 6			
<i>T. truncatus</i>	317 ± 152	7.5 ± 5.1	0.70 ± 1.06
n= 8			
<i>D. delphis</i>	118 ± 55.1	4.6 ± 4.1	0.37 ± 0.63
n= 3			
<i>G. melas</i>	84.8 ± 109	5.8 ± 5.1	0.29 ± 0.33
n= 3			
<i>G. griseus</i>	40.6	4.0	0.001
n= 1			
<i>Z. cavirostris</i>	91.3	9.5	0.35
n= 1			
<i>P. macrocephalus</i>	142 ± 11.4	10.1 ± 0.3	0.40 ± 0.03
n= 2			

El uso de umbrales tóxicos derivados de datos de animales de laboratorio o de otras especies para evaluar el riesgo al que están sometidas las especies de cetáceos frente a la acumulación de COPs en sus tejidos es un método arriesgado e inexacto. Sin embargo, a pesar de las limitaciones de este enfoque, dadas las dificultades que entraña la gestión y el estudio de estas especies, el uso de estos umbrales de toxicidad puede ser una herramienta práctica y útil. Se cree que los cetáceos no detoxifican eficientemente algunas clases de contaminantes, incluyendo organoclorados y PBDEs, en comparación con otras especies (Boon et al. 2000, 2001; Letcher et al., 2009; Tanabe, 2002). Por lo tanto, algunos de estos límites establecidos para la aparición de diferentes efectos tóxicos podrían estar subestimando las consecuencias de las concentraciones notificadas sobre la salud de las poblaciones estudiadas. Por otra parte, aunque se sabe que los POCs, los PCBs y los PBDEs afectan a innumerables tejidos y sistemas orgánicos de los mamíferos marinos, los umbrales de toxicidad existentes sólo contemplan un número muy limitado de estos efectos. Además, continuamente se informa en la literatura de nuevos efectos de los contaminantes sobre la salud de los cetáceos. Por ejemplo, hace pocos años se probó que los PBDEs perjudican la respuesta inmune y alteran la respuesta de citoquinas en las células del delfín manchado *Stenella attenuate* (Rajput et al., 2018), y recientemente se ha descubierto que los PCBs están correlacionados con un menor peso de los testículos en las marsopas de puerto *Phocoena phocoena* (Williams et al., 2021).



### III.2.4. Conclusión

La vigilancia a largo plazo de los contaminantes persistentes es útil para comprender la dinámica, el destino y los impactos de estas sustancias químicas en la biota y su riesgo potencial para el medio ambiente, la fauna y la salud humana. Además, la generación de datos espaciales y temporales de alta calidad resulta esencial para evaluar si las acciones humanas (p. ej., prohibiciones, cambios en la producción, uso o almacenamiento) o el destino medioambiental (*i.e.*, transporte, deposición, degradación, *etc.*) de estas sustancias químicas tienen impacto sobre su acumulación en los tejidos de los mamíferos marinos en zonas relativamente cerradas. Esta información puede ser utilizada por las agencias, organizaciones y organismos reguladores nacionales e internacionales para evaluar el impacto de sus recomendaciones y legislación y abordar correctamente sus esfuerzos futuros.

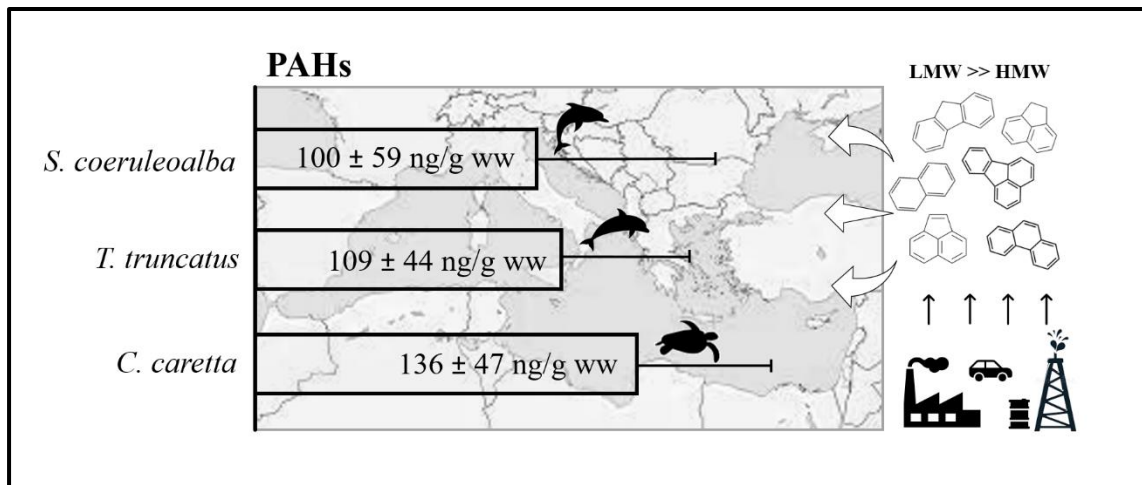
Los riesgos potenciales para la salud de los cetáceos expuestos crónicamente a los COPs incluyen una larga serie de efectos tóxicos potenciales. A pesar de que han pasado más de cincuenta años desde que se informó de la presencia de los primeros productos químicos organoclorados en los tejidos de los cetáceos, la información sobre sus efectos en la salud de los mamíferos marinos, tanto en individuos como en poblaciones, sigue siendo extremadamente escasa. Este hecho es mucho más preocupante cuando se consideran sustancias químicas de preocupación más reciente, como los PBDEs. Aunque hemos reportado concentraciones más bajas de PBDEs en comparación con otros informes en otras áreas relativamente cercanas, y las concentraciones de PCBs y DDT están muy por debajo de las reportadas hace dos o tres décadas, nuestros resultados sugieren que varias poblaciones de cetáceos residentes que habitan nuestro área de estudio podrían estar sufriendo consecuencias para la salud por su exposición a estos contaminantes. Además, se sabe poco sobre el efecto combinado de estos y otros contaminantes que podrían estar afectando negativamente a estas especies. A pesar de la prohibición casi global de los compuestos considerados en nuestro estudio, su persistencia en los tejidos de los cetáceos, su coexistencia con otros peligros significativos, y el alarmante estado de varias de las poblaciones de cetáceos en el Mediterráneo, hacen difícil prever un futuro prometedor para su conservación en esta zona. Además, el continuo desarrollo de nuevos productos químicos para sustituir a los que pasan a estar regulados deja pocas esperanzas para la eliminación de la contaminación química como riesgo para la fauna oceánica a corto y medio plazo.



Investigación original / Original research

### III.3. Compuestos orgánicos persistentes liposolubles no biomagnificables en cetáceos varados en el sureste español entre 2011 y 2018: HAPs

### III.3. Persistent, fat-soluble and non-biomagnifiable pollutants in stranded cetaceans in SE Spain between 2011 and 2019: PAHs



Con información de un trabajo en vías de publicación como ‘López-Berenguer, G., Acosta-Dacal, A., Luzardo, O. P., Peñalver, J., & Martínez-López, E. (2023) Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Mediterranean top marine predators stranded in SE Spain.’ con la incorporación de datos experimentales originales.

With information of the work on current publication as: ‘López-Berenguer, G., Acosta-Dacal, A., Luzardo, O. P., Peñalver, J., & Martínez-López, E. (2023) Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Mediterranean top marine predators stranded in SE Spain.’ with the addition of original research information.



### III.3.1.a. Resumen

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son contaminantes ambientales ubicuos derivados del petróleo y sus productos derivados y de la combustión de materia orgánica. A diferencia de otros COPs, no se bioacumula en las posiciones superiores de las redes tróficas; sin embargo, las exposiciones crónicas pueden desembocar en efectos tóxicos graves tanto en humanos como en animales. En este trabajo estudiamos la concentración de 16 HAPs de referencia en la grasa hipodérmica de varias especies de odontoceto: delfín listado ( $n=34$ ), delfín mular ( $n=8$ ), delfín común ( $n=3$ ), calderón común ( $n=3$ ), calderón gris ( $n=1$ ), zifio de Cuvier ( $n=1$ ) y cachalote ( $n=2$ ). Las muestras fueron tomadas en animales varados de las aguas de la costa mediterránea del sureste de España, una zona de especial importancia para la conservación de estas especies. Las concentraciones de HAPs fueron considerablemente similares entre las especies de estudio. Sin embargo, las concentraciones en aquellas especies que se alimentan en aguas más superficiales de manera oportunista fueron superiores a las de aquellas especies que se alimentan exclusivamente de cefalópodos en aguas en más profundas. Estos hallazgos fueron inesperados teniendo en cuenta la distribución habitual de los HAPs en el medio y la fauna marina. Las concentraciones de HAPs observadas en este capítulo estuvieron en el rango inferior en comparación con reportes previos de todo el globo. De los seis HAPs detectados, el fluoranteno fue el único HAP de alto peso molecular ( $\geq 4$  anillos aromáticos), de manera que predominaron los HAPs de bajo peso molecular. El naftaleno y el fenantreno fueron generalmente aquellos HAPs con mayores índices de detección a la vez que aquellos con las mayores concentraciones. De acuerdo con la literatura previa, y de manera contraria a otros contaminantes ambientales, el sexo y la longitud no tuvieron una influencia significativa en las concentraciones de HAPs, probablemente debido a que altos índices de metabolización impiden observar estas tendencias que de otra manera sí se observarían. A pesar de que los HAPs de bajo peso molecular son considerados menos tóxicos que los de alto peso molecular, no podemos descartar efectos tóxicos en las especies estudiadas. Este es el primer trabajo en evaluar las concentraciones de HAPs en cetáceos del sureste de España, por lo que puede servir para sentar las bases de futuras investigaciones.



### III.3.1.b. Abstract

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are ubiquitous environmental pollutants derived from petroleum products and combustion of organic matter. Unlike other POPs, they are not bioaccumulated in the upper trophic of the food web; however, chronic exposures might still derive on serious toxic effects on both human and wildlife. In this work we study concentrations of 16 reference PAHs on blubber of various odontocete species, including striped dolphin ( $n=34$ ), bottlenose dolphin ( $n=8$ ), common dolphin ( $n=3$ ), long-finned pilot whale ( $n=3$ ), Risso's dolphin ( $n=1$ ), Cuvier's beaked whale ( $n=1$ ), and sperm whale ( $n=2$ ). Samples were taken on stranded animals from the Mediterranean waters of SE Spain, an important area for the conservation of these species.  $\Sigma$ PAHs concentrations were relatively similar between the study species. However, we found with higher concentrations in those species feeding opportunistically on more surface waters, in contrast to those feeding deeper exclusively on cephalopods. These were unexpected findings considering the usual distribution of PAHs in the marine environment and fauna. PAHs concentrations observed in this chapter were in the lower range in comparison to worldwide previous data. Of the six PAHs detected, fluoranthene was the only high molecular weight (HMW) PAH ( $\geq 4$  aromatic rings), so low molecular weight (LMW) PAHs predominated. Naphthalene and phenanthrene were generally those PAHs with higher detection rate as well as higher concentration in all species. In accordance with the literature and unlike other lipophilic compounds, sex and length did not have significant influence on PAHs concentrations, probably due to high metabolism rates which prevent for observation of such patterns. Despite LMW PAHs are considered less toxic than HMW PAHs, we cannot dismiss toxic effects in the studied species. This is the first work assessing PAHs concentrations in cetaceans from SE Spain, which could serve as the baseline for future research.



### III.3.2. Introducción

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) son contaminantes ubicuos en el medio marino. Generalmente aparecen en concentraciones más elevadas en aguas poco profundas y costeras, especialmente en aquellas zonas muy sometidas a aportes antropogénicos, *i.e.*, desembocaduras de ríos, puertos, conducciones de aguas residuales, escorrentías urbanas/industriales, *etc.* Debido a su alta solubilidad en grasa, se transfieren fácilmente a la red trófica marina desde el compartimento abiótico (Balcioglu, 2016). Sin embargo, mientras que los invertebrados tienen menor capacidad para metabolizarlos, los vertebrados son considerados metabolizadores eficientes de estos compuestos (Jonsson *et al.*, 2004; Meador *et al.*, 1995). En general, las especies de este grupo se consideran capaces de degradar rápidamente los HAPs en moléculas más hidrosolubles que pueden ser excretadas fácilmente. Por lo tanto, a diferencia de los compuestos organoclorados y otros COPs, no se considera que los HAPs se biomagnifiquen en los principales depredadores marinos (Broman *et al.*, 1990; Takeuchi *et al.*, 2009; Wan *et al.*, 2007). No obstante, debido a su liberación constante al medio ambiente, los HAPs pueden seguir causando una amplia gama de efectos tóxicos en los mamíferos marinos y otros vertebrados, incluidos efectos citotóxicos, inmunotóxicos, reproductivos y carcinogénicos (Dejmek *et al.*, 2000; NTP, 2000; Perera *et al.*, 2012; Villeneuve *et al.*, 2002).

El mar Mediterráneo alberga poblaciones endémicas de varias especies de cetáceos que desempeñan un papel ecológico clave en el mantenimiento de la biodiversidad y el buen estado medioambiental de los océanos (Azzellino *et al.*, 2014; Coll *et al.*, 2010; Moore *et al.*, 2008). Sin embargo, sus poblaciones se encuentran entre las más afectadas por las amenazas humanas (Coll *et al.*, 2012). La cuenca occidental del Mediterráneo tiene áreas costeras localizadas de alta contaminación por HAPs intercaladas con áreas de baja a moderada contaminación por estos compuestos, tal y como se ha informado en varios estudios que han considerado las concentraciones de estos contaminantes en sedimentos, agua de mar o mejillones, por ejemplo (Barakat *et al.*, 2011; Baumard *et al.*, 1998a, b; Benlahcen *et al.*, 1997). Estas áreas costeras localizadas están inexorablemente vinculadas a puertos y zonas industriales (Merhaby *et al.*, 2019). Por el contrario, las aguas -mediterráneas alejadas de la costa no parecen estar tan afectadas por fuentes costeras y localizadas de HAPs, sino por la deposición atmosférica y los ciclos biogeoquímicos (Berrojalbiz *et al.*, 2011). Aunque muchos trabajos en el mar Mediterráneo han estudiado los HAPs en moluscos, crustáceos y peces (Baumard *et al.*, 1998a; Costa *et al.*, 2016; Frapiccini *et al.*, 2018, 2020), la información relativa al estado de los depredadores superiores marinos es escasa. Hasta donde sabemos, solo se han realizado dos trabajos relacionados con esta cuestión en cetáceos mediterráneos, ambos a lo largo de la costa italiana (Marsili *et al.*, 2001, 2014). Teniendo en cuenta las características socio-geográficas del Mediterráneo que hacen de este mar una zona de potencial contaminación por HAPs, consideramos particularmente





importante evaluar cómo esta situación puede afectar a algunas de las especies más amenazadas de esta región.

Para este trabajo se utilizaron muestras de grasa de diferentes especies de cetáceos varados ( $n=55$ ) entre 2011 y 2018 para determinar las concentraciones de los 16 PAHs prioritarios definidos por la Agencia de Protección Ambiental ('EPA') de los EE.UU. con el fin de caracterizar la exposición a la contaminación de estas especies en la zona de estudio.



### III.3.3. Resultados y discusión

#### III.3.3.1. Concentraciones de PAHs en cetáceos varados en la Región de Murcia

La concentración de cada PAH individual, así como la suma de todo el conjunto para cada especie se puede encontrar en la [Tabla III.3.1](#). Las medias de  $\Sigma$ PAHs en las especies estudiadas mostraron valores de la misma magnitud (mínimo, calderón común:  $63,6 \pm 49,3$  ng/g p.h.; máximo, delfín mular:  $109 \pm 4,1$  ng/g p.h.).

**Tabla III.3.1.** Concentración media de grasa (ng/g p.h.; arriba) y tasa de detección (%; abajo) de cada HAP individual y su suma total ( $\Sigma$ PAHs) en cetáceos varados en las costas de la Región de Murcia. Las concentraciones se expresan como media  $\pm$  desviación estándar. En esta tabla sólo se muestran los compuestos detectados.

Species	ACE	ANTH	FLTH	FLU	NAP	PHEN	$\Sigma$ PAHs
Striped dolphin n = 34	17.0 $\pm$ 20.3 82.4	0.63 $\pm$ 1.60 14.7	5.13 $\pm$ 6.41 73.5	2.27 $\pm$ 3.22 44.1	37.3 $\pm$ 25.8 94.1	37.5 $\pm$ 37.1 97.1	99.8 $\pm$ 58.9
Bottlenose dolphin n = 8	17.0 $\pm$ 19.2 75.0	0.08 $\pm$ 0.23 12.5	5.42 $\pm$ 4.70 75.0	2.57 $\pm$ 3.68 37.5	44.5 $\pm$ 24.3 100	39.3 $\pm$ 20.4 100	109 $\pm$ 44.1
Common dolphin n = 3	27.3 $\pm$ 25.9 23.4	<LoD 0	5.42 $\pm$ 5.91 4.8	2.74 $\pm$ 4.66 3.7	30.0 $\pm$ 6.78 28.7	41.1 $\pm$ 21.1 39.3	106 $\pm$ 32.1
Long-finned pilot whale n = 3	0.66 $\pm$ 0.60 1.0	0.88 $\pm$ 1.44 2.5	2.99 $\pm$ 2.67 5.0	6.42 $\pm$ 5.02 10.2	21.3 $\pm$ 19.7 33.6	31.4 $\pm$ 28.2 47.7	63.6 $\pm$ 49.3
Risso's dolphin n = 1	52.4 36.9	<LoD 0	10.9 7.7	<LoD 0	37.9 26.7	40.8 28.7	142
Cuvier's beaked whale n = 1	0.59 0.7	<LoD 0	3.57 4.4	5.31 6.5	34.8 42.8	37 45.5	81.3
Sperm whale n = 2	0.91 $\pm$ 0.35 1.0	<LoD 0	5.07 $\pm$ 2.92 5.6	6.45 $\pm$ 3.84 8.3	26.7 $\pm$ 18.2 28.9	47.9 $\pm$ 6.8 56.1	87.2 $\pm$ 24.4

Abreviaturas: ACE=acenapteno; ANTH=antraceno; FLTH=fluoranteno; FLU=fluoreno; NAP=naftaleno; PHE=fenantreno

El primer informe de HAPs en tejidos de cetáceos se remonta a 1988, cuando [Martineau et al. \(1988\)](#) analizaron aductos de ADN de benzo[a]pireno en tejido cerebral de tres belugas *Delphinapterus leucas* varadas en el estuario de San Lorenzo, Canadá. Desde entonces, se han publicado pocos trabajos que informen sobre concentraciones de HAPs en tejidos de cetáceos en comparación con otros contaminantes. Una de las razones que contribuyen a esto es probablemente la menor acumulación de HAPs en los tejidos de cetáceos en comparación con otros contaminantes (p. ej., PCBs). Las concentraciones globales de HAPs reportadas en este trabajo son de hecho de entre dos y tres órdenes de magnitud inferiores a las reportadas en el mismo conjunto de muestras para PCBs y DDTs, pero son incluso ligeramente superiores a las reportadas para PBDEs (ver [Sección III.2.3.1](#)). Generalmente, los vertebrados y otros organismos de la red trófica superior han demostrado poseer mecanismos de metabolismo eficientes que permiten transformar los HAPs en especies más solubles en agua y por tanto fácilmente excretables ([Collier y Varanasi, 1991](#); [Varanasi et al., 1989](#)). En cetáceos, así como en otros vertebrados, este proceso ocurre en sus sistemas enzimáticos del citocromo P450 ([Kannan y Perrotta, 2008](#)). Así, varios trabajos han demostrado que los HAPs en los ecosistemas marinos sufren una ‘dilución trófica’ en los estratos superiores de las redes tróficas ([Nakata et al., 2003](#); [Takeuchi et al., 2009](#); [Wan et al., 2007](#)). Por ejemplo, [Takeuchi et al. \(2009\)](#) informaron de que



los HAPs en una red trófica marina disminuían a medida que aumentaba  $\delta^{15}\text{N}$ , observando así menores concentraciones de HAPs en consumidores secundarios como peces o decápodos que en consumidores primarios como moluscos. Sin embargo, es destacable que este y otros estudios similares generalmente no han considerado a depredadores marinos superiores como los cetáceos. En cetáceos, los HAPs son comúnmente reportados en poblaciones de todo el mundo en concentraciones detectables, por lo general de la misma magnitud o incluso superiores a las observadas en organismos de nivel trófico inferior (p. ej., moluscos, [Baumard \*et al.\*, 1998a](#); [León \*et al.\*, 2013](#)). Esto podría ser un reflejo de la exposición continuada a cargas ambientales de HAPs superiores a las que pueden lidiar sus sistemas de detoxificación, bien por una mayor incorporación de HAPs a través de la dieta en comparación con otros vertebrados o bien por una menor eficacia de estos sistemas de detoxificación.

La mayoría de las especies marinas pueden incorporar HAPs del medio marino a través de la respiración o de la alimentación, aunque esta última es principal vía de captación de HAPs. Sin embargo, los cetáceos son animales pulmonados, lo que les obliga a respirar oxígeno atmosférico en lugar del disuelto en el agua de mar. En consecuencia, la dieta no sólo es la principal vía de entrada de HAPs en su organismo sino prácticamente la única posible ([Formigaro \*et al.\*, 2014](#)) de manera que esta se encuentra entre los factores más importantes que explican la concentración de contaminación en estas especies ([Aguilar y Borrell, 2005](#); [Bachman \*et al.\*, 2014](#)). Las siete especies de odontocetos mediterráneos que se incluyen en este capítulo tienen dietas y comportamientos alimentarios diferentes, por lo que utilizan zonas de alimentación distintas ([Astruc y Beaubrun, 2005](#); [Cañadas y Hammond, 2008](#); [Natoli, 2004](#)). Sin embargo, según la composición de su dieta y la profundidad a la que se alimentan, pueden clasificarse en dos grupos. El primer grupo está formado por especies oportunistas cuya dieta está compuesta principalmente por diferentes proporciones de peces epipelágicos o mesopelágicos y cefalópodos. Este grupo incluye a los delfines listados, mulares y comunes. El otro grupo está compuesto por especies teutófagas y buceadoras que se alimentan de presas mesopelágicas y batipelágicas, e incluye al resto de especies estudiadas, es decir, calderón común, calderón gris, zifio de Cuvier y cachalote. En el agua de mar suele haber un gradiente de concentración de HAPs que aumenta desde las aguas oceánicas hasta las aguas costeras ([Latimer y Zheng, 2003](#)). De hecho, se estima que el 50% de los HAPs del Mediterráneo se acumulan en la zona de 0 a 200 m de profundidad del agua, *i.e.*, sobre la plataforma continental ([Lipiatou \*et al.\*, 1997](#)). Además, los sedimentos marinos que yacen en el fondo actúan como un reservorio de HAPs altamente protegido frente a la degradación y disponible para los organismos bentónicos, por lo que las concentraciones de HAPs en los sedimentos del fondo son de mayor magnitud que las de la columna de agua ([Baumard \*et al.\*, 1998a](#)). Por otro lado, los peces son eficientes metabolizando los HAPs por lo que sus concentraciones tisulares suelen ser bajas en comparación con las de organismos de bajo nivel



tráfico como los moluscos, incluidos los cefalópodos (Baumard *et al.*, 1998a; Lawrence y Weber, 1984; León *et al.*, 2013; Perugini *et al.*, 2007; Takeuchi *et al.* 2009). Por lo tanto, alimentarse de organismos demersales o bentónicos situados en niveles inferiores de la cadena trófica y alimentarse en ambientes costeros son variables teóricamente predisponentes para una mayor acumulación de HAPs.

En este estudio, el calderón gris mostró la concentración media más alta ( $n=1$ ;  $\Sigma\text{HAPs}=142$  ng/g p.h.) con respecto a los valores promedio de las otras especies, aunque esta especie representó sólo una muestra y hubo valores individuales de delfines listado y mulares que excedieron esa concentración. De hecho, la concentración más alta provino de una hembra juvenil de delfín listado, con una concentración de  $\Sigma\text{HAPs}$  de 279 ng/g p.h. Dejando aparte el calderón gris, las otras especies teutófagas de inmersiones profundas mostraron concentraciones de HAPs más bajas en comparación con el grupo de delfines oportunistas. A pesar de que este grupo con las concentraciones más altas también se alimenta de cefalópodos, innumerables trabajos han demostrado que los peces componen una proporción importante o incluso la mayor parte de su dieta en el Mediterráneo occidental (Blanco *et al.*, 2001; Canales *et al.*, 2008; Cañadas y Hammond *et al.*, 2008; Gómez Campos *et al.*, 2011; Gómez de Segura *et al.*, 2008). En consecuencia, según su dieta estos resultados no concordarían con la hipotética menor captación de HAPs para estas especies que resultaría de la menor contaminación en una fracción importante de sus presas. Por otro lado, los delfines listado, mular y común mostraron concentraciones medias muy similares entre ellos, a pesar de que el primero se alimenta a una distancia distinta de la costa (el delfín listado en aguas oceánicas y el mular en la plataforma continental). Por lo tanto, no encontramos ninguna relación entre las concentraciones de HAPs y la lejanía de la costa. A pesar de que la dieta suele provocar diferencias en la concentración de contaminación, este factor podría afectar en menor medida a los HAPs, ya que estos compuestos no se bioacumulan durante largos periodos. Su rápido metabolismo y excreción en los vertebrados podría dar lugar a una rápida renovación de sus tejidos, lo que disociaría parcialmente los HAPs adquiridos durante la búsqueda de alimento de las concentraciones de HAPs en sus tejidos. Esta podría ser también la razón subyacente a la ausencia de diferencias relacionadas con el sexo o la edad de estos compuestos en los tejidos de los mamíferos marinos (Gui *et al.*, 2018; Laurencó *et al.*, 2021; Marsili *et al.*, 2001; Moon *et al.*, 2011). Nuestros resultados concuerdan mayoritariamente con este hecho, ya que no encontramos correlación significativa para la talla (test de correlación de Spearman,  $p > 0,05$ ) y solo detectamos diferencias significativas entre sexos para el fenantreno (Kruskal-Wallis  $H = 0,240$ ,  $p < 0,05$ ), lo también podría ser atribuible a un escaso tamaño muestral (solo doce muestras incluidas para este análisis). Por el contrario, aunque Gui *et al.* (2018) no encontraron una correlación significativa entre la longitud y las concentraciones de HAPs en la grasa hipodérmica, estos autores hallaron concentraciones



significativamente diferentes de HAPs entre diferentes grupos de edad (crías y juveniles/adultos) de delfines jorobados del Indo-Pacífico *Sousa chinensis*, que atribuyeron a un desarrollo incompleto de los mecanismos de desintoxicación en las crías.

Por otro lado, [Gui et al. \(2018\)](#) demostraron que, incluso a lo largo de una costa de menos de 150 km de longitud, el lugar de varamiento de delfines jorobados del Indopacífico tenía una fuerte influencia en la concentración de HAPs en la grasa, con un gradiente creciente hacia las áreas más afectadas por la contaminación antropogénica. Estos autores plantearon la hipótesis de que las concentraciones de HAPs en delfines varados podrían reflejar el estado de contaminación en los alrededores del sitio de varamiento. Hasta donde sabemos, no hay información sobre la vida media de los HAPs en mamíferos marinos. Sin embargo, la vida media de la mayoría de los HAPs en peces después de la administración oral es inferior a 10 días ([Meador et al., 1995](#); [Niimi y Palazzo, 1986](#)) y de pocas horas para los seres humanos ([Motorykin et al., 2015](#)). Por lo tanto, es posible que las concentraciones de HAPs detectadas en los tejidos de cetáceos solo reflejen los HAPs ingeridos durante las actividades de búsqueda de alimento ocurridas en un pasado muy cercano antes de la muerte del animal, por lo que las concentraciones detectadas podrían ser representativas de la contaminación existente en los alrededores de la zona de muestreo. Sin embargo, varios factores, como la inanición, la distancia entre la muerte y el lugar de varamiento o largos desplazamientos previos a la muerte, podrían influir también en las concentraciones de HAPs. No obstante, en nuestro caso no pudimos detectar diferencias en ninguna especie entre los diferentes sitios de varamiento dentro de nuestra área de muestreo, que era de aproximadamente el mismo tamaño que el considerado en [Gui et al. \(2018\)](#), a pesar de que existen diferencias obvias sobre las fuentes de contaminantes entre los diferentes sitios de varamiento.

En la [Tabla III.3.2](#) hemos recopilado parte de la información mundial disponible sobre HAPs en grasa de cetáceos. Hasta donde sabemos, sólo se han publicado dos trabajos previos que informan sobre HAPs en tejidos de cetáceos del Mediterráneo ([Marsili et al., 2001; 2014](#)). Mientras que las concentraciones de HAPs en la grasa del delfín listado reportadas en nuestro estudio ( $99,8 \pm 58,9$  ng/g p.h.) podrían considerarse en el rango inferior de las concentraciones mundiales, paradójicamente, el único informe previo para esta especie en el Mediterráneo ( $36.205 \pm 41.107$  ng/g p.h.; [Marsili et al., 2001](#)) se encuentra entre las concentraciones más altas reportadas para cualquier especie de cetáceo. En ese estudio, los autores utilizaron muestras de biopsia recogidas entre 1993 y 1996 en los mares de Liguria y Jónico (costa italiana). En ese momento, informaron de concentraciones muy altas tanto en delfines listados como en rorcuales comunes *Balaenoptera physalus* ( $9.053 \pm 21.304$  ng/g p.h.); sin embargo, en un segundo con un conjunto de muestras de un grupo de cachalotes varados en la costa adriática en 2009, detectaron concentraciones ( $329 \pm 136$  ng/g p.h.) dentro del rango informado en nuestro estudio. Según los autores, las



concentraciones observadas en la década de 1990 podrían estar influidas por el incidente del petrolero *Haven*, que derramó unas 144.000 toneladas de crudo en el mar de Liguria en 1991. Dado que los HAPs no son supuestamente bioacumulados por los cetáceos y que la contaminación por HAPs está fuertemente influenciada por fuentes locales, es difícil comparar nuestros resultados con los de la costa italiana, aunque ambas áreas de muestreo caen dentro de la costa norte de la cuenca occidental del Mediterráneo. Sin embargo, los resultados más recientes pueden mostrar un descenso temporal de la contaminación por HAPs en esta región. A escala global, las concentraciones de HAPs en la grasa de los cetáceos oscilan entre los cientos de nanogramos por gramo y las decenas de microgramos por gramo, con un rango de concentraciones de tres órdenes de magnitud. Las diferencias entre regiones y años dificultan la profundización en las variaciones regionales y temporales de estos contaminantes en los tejidos de cetáceos.

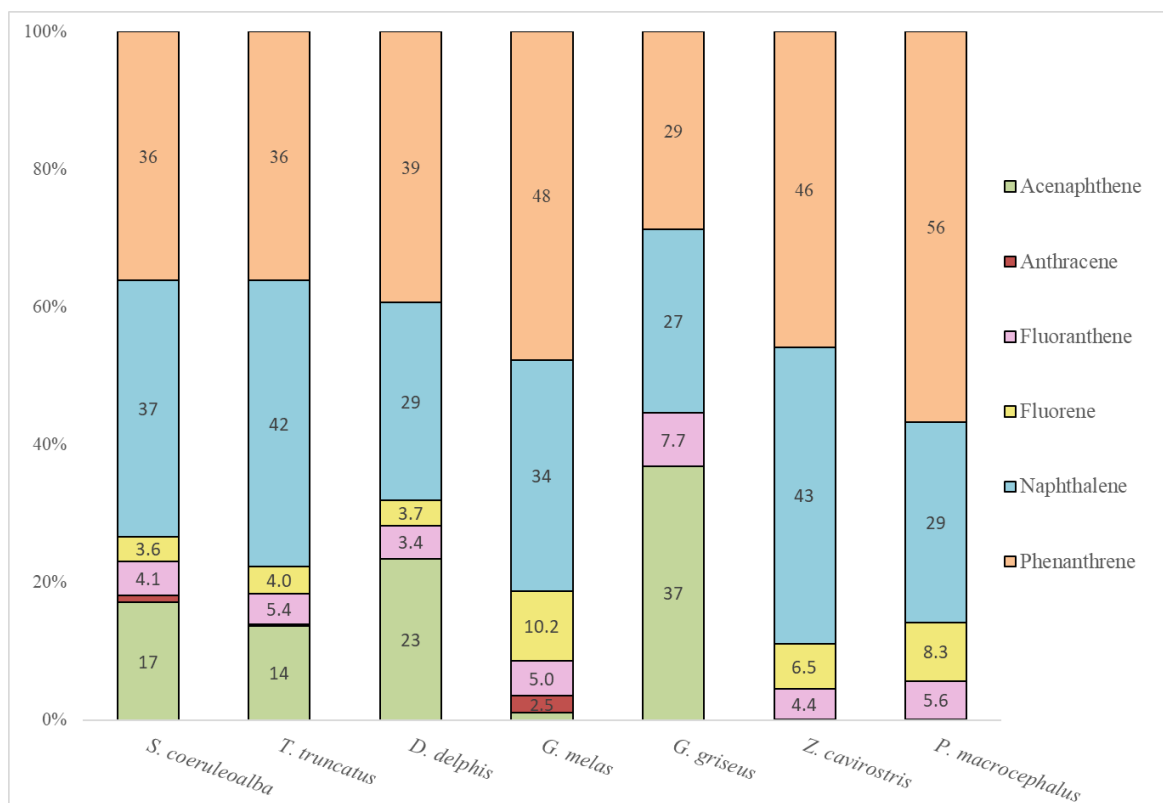
**Tabla III.3.2.** ΣPAHs en muestras de grasa de especies de cetáceos de todo el mundo. Cuando se dispone de toda la información, los datos se expresan como media ± desviación estándar (arriba) y mediana (rango) (abajo).

Species	N	Period	Sampling area	Concentration (ng/g)	Basis	n PAHs	Reference
Striped dolphin <i>Stenella coeruleoalba</i>	25	1993	Ligurian & Ionian Seas (NW Mediterranean Sea)	36,205 ± 41,107 29,455 (199 - 198,368)	w.w.	14	Marsili et al., 2001
Fin whale <i>Balaenoptera physalus</i>	23	1993-1996	Ligurian Sea (NW Mediterranean Sea)	9,053 ± 21,304 1,974 (229 - 83,662)	w.w.	14	Marsili et al., 2001
Sperm whale <i>Physeter macrocephalus</i>	7	2009	Adriatic Sea (NW Mediterranean Sea)	329 ± 136 310 (136 - 551)	l.w.	14	Marsili et al., 2014
Indo-Pacific humpback dolphin <i>Sousa chinensis</i>	18	2009-2010	Great Barrier Reef, Australia (Coral Sea)	51,035 ± 5,227	l.w.	14	Cagnazzi et al., 2013
Australian snubfin dolphin <i>Orcaella heinsohni</i>	17	2009-2010	Great Barrier Reef, Australia (Coral Sea)	32,296 ± 3,152	l.w.	14	Cagnazzi et al., 2013
Bottlenose dolphin <i>Tursiops truncatus</i>	64	2003-2011	Canary islands (NE Atlantic Ocean)	15,932 ± 10,233 13,598 (1,394 - 42,577)	l.w.	16	García-Álvarez et al., 2014a
Bottlenose dolphin <i>Tursiops truncatus</i>	25	1997-2011	Canary islands (NE Atlantic Ocean)	1,168 ± 1,409 789 (75.3 - 5,761)	l.w.	16	García-Álvarez et al., 2014b
Indo-Pacific humpback dolphin <i>Sousa chinensis</i>	37	2012-2017	Pearl River Estuary, China, (S China Sea)	2,400 (17,6 - 6,080)	w.w.	16	Gui et al., 2018
Indo-Pacific finless porpoise <i>Neophocaena phocaenoides</i>	52	2003	Korean coast (South Sea & Yellow Sea)	160 (4,8 - 432)	l.w.	16	Moon et al., 2011
Common minke whale <i>Balaenoptera acutorostrata</i>	27	2006	Korean coast (South Sea & Yellow Sea)	220 (66 - 555)	l.w.	16	Moon et al., 2012
Short-beaked common dolphin <i>Delphinus capensis</i>	22	2006	Korean coast (South Sea & Yellow Sea)	164 (63 - 269)	l.w.	16	Moon et al., 2012
Indo-Pacific humpback dolphin <i>Sousa chinensis</i>	8	2016-2017	Pearl River Estuary, China (S China Sea)	3,541 (2,181 - 10,343)	w.w.	16	Sun et al., 2020
Bottlenose dolphin <i>Tursiops truncatus</i>	28	2003-2005	FL & SC coasts, USA (SE Atlantic Coast)	2,345 (<10 - 9,140)	l.w.	57	Fair et al., 2010
Bryde's whale <i>Balaenoptera edeni</i>	6	2008-2009	Gulf of California (NE Pacific Ocean)	4,773 ± 5,071	l.w.	16	Fossi et al., 2014
Blue whale <i>Balaenoptera musculus</i>	6	2010	Gulf of California (NE Pacific Ocean)	17,662 ± 7,096	l.w.	16	Fossi et al., 2014
Fin whale <i>Balaenoptera physalus</i>	8	2008-2009	Gulf of California (NE Pacific Ocean)	12,741 ± 13,704	l.w.	16	Fossi et al., 2014
Short-beaked common dolphin <i>Delphinus capensis</i>	12	2008-2009	Gulf of California (NE Pacific Ocean)	10,762 ± 6,493	l.w.	16	Fossi et al., 2014
Killer whale <i>Orcinus orca</i>	5	2008-2009	Gulf of California (NE Pacific Ocean)	25,742 ± 32,912	l.w.	16	Fossi et al., 2014
Bottlenose dolphin <i>Tursiops truncatus</i>	13	2008-2009	Gulf of California (NE Pacific Ocean)	23,485 ± 12,040	l.w.	16	Fossi et al., 2014
Sperm whale <i>Physeter macrocephalus</i>	14	2008-2009	Gulf of California (NE Pacific Ocean)	30,114 ± 29,282	l.w.	16	Fossi et al., 2014



### II.3.3.2. Perfiles de PAHs en cetáceos varados en las costas de la Región de Murcia

Calculamos el perfil de HAPs como el porcentaje que representaba cada HAP individual en relación con el total de HAPs ( $\Sigma$ HAPs) (Figura III.3.1). De los 16 HAPs analizados solo se detectaron seis: acenafteno, antraceno, fluoranteno, fluoreno, naftaleno y fenantreno. Las frecuencias de detección para cada uno de estos compuestos en cada especie pueden observarse en la Tabla III.3.1. El naftaleno (94,1-100%) y el fenantreno (91,3-100%) fueron los compuestos con mayores tasas de detección en todas las especies. Por el contrario, el fluoreno (0-44,1%) y el antraceno (8,7-14,7%) fueron los compuestos con frecuencias de detección más bajas. Mientras que el fluoranteno fue el único HAP de 4 anillos detectado en cualquier especie, el acenaftileno fue el único de 3 anillos que no se detectó en ninguna. En consecuencia, el perfil de HAPs estuvo compuesto esencialmente por HAPs de bajo peso molecular (BPM;  $\leq 3$  anillos aromáticos), mientras que los HAPs de alto peso molecular (APM;  $\geq 4$  anillos aromáticos) -representados únicamente por el fluoranteno- sólo supusieron el 2-5% de los  $\Sigma$ HAP. El predominio de BPM-HAPs en los tejidos de mamíferos marinos también se ha descrito en otros trabajos (García-Álvarez *et al.* 2014a; Marsili *et al.*, 2001; Moon *et al.*, 2011). Los HAPs se distribuyen de forma diferente en el medio marino en función de su peso molecular, lo que condiciona su distribución vertical en los mares. En el agua del Mediterráneo predominan los BPM-HAPs, que son más solubles en agua. Así, aparecen en mayores concentraciones que los APM-HAPs en la columna de agua, tanto en la fase disuelta como en la particulada, lo que los hace más biodisponibles (León *et al.*, 2013). Por el contrario, los APM-HAPs aparecen esencialmente ligados a partículas orgánicas e inorgánicas que se acumulan principalmente en el fondo marino y en menor medida suspendidos en la columna de agua (Berrojalbiz *et al.*, 2011; Lourenço *et al.*, 2016). Sin embargo, las concentraciones de BPM-HAPs en la columna de agua del Mediterráneo disminuyen con la profundidad a tasas más altas que los APM-HAPs, por lo que la proporción de los últimos con respecto al total de HAPs aumenta con la profundidad (Dachs *et al.*, 1997). En consecuencia, los cetáceos de inmersión profunda y los que se alimentan en el fondo oceánico deberían estar expuestos a mezclas de HAPs con una fracción superior de APM-HAPs en comparación con los que se alimentan en aguas superficiales. Sin embargo, como se mencionó anteriormente, el único APM-HAPs detectado fue el fluoranteno, y su fracción apenas varió entre especies (rango de medias 3,4-7,7 %) y no mostró ninguna asociación particular con las especies de hábitos más profundos. En este sentido, Marsili *et al.* (2014) tampoco encontraron dicha relación en otros cachalotes del Mediterráneo, que suelen considerarse un modelo de buceo entre los mamíferos marinos. Por otro lado, estudios de laboratorio y de campo en peces y aves han demostrado que los BPM-HAPs se metabolizan de forma menos eficiente que los APM-HAPs, lo que también podría explicar su mayor contribución en nuestra especie de estudio (Jonsson *et al.* 2004, Troisi *et al.* 2006).



**Figura III.3.1.** Patrón de HAPs en grasa de cetáceos varados en la Región de Murcia. Los resultados se expresan como porcentaje de cada HAP individual con respecto a la suma total de HAPs.

La composición de las mezclas de HAPs liberadas al medio ambiente varía en función de su origen (Barakat *et al.*, 2011). Los orígenes petrogénicos (a partir de fuentes del petróleo) suelen ser fuente de BPM-HAPs y sus homólogos alquilados, mientras que los orígenes pirogénicos (a partir de combustión de materia orgánica) tienden a liberar APM-HAPs no alquilados (Collier *et al.*, 2014). Esta diferenciación ha llevado al uso de varios ratios para evaluar el origen (pirogénico o petrogénico) de las entradas de contaminantes, incluidos BPM/APM ( $>1$  petrogénico;  $<1$  pirogénico), fenantreno/antraceno ( $<10$  pirogénico;  $>10$  petrogénico) y fluoranteno/pireno ( $<1$  petrogénico;  $>1$  pirogénico) (Baumard *et al.*, 1998a, b). Aunque estas proporciones se han utilizado ampliamente en muestras abióticas, es decir, sedimentos, material particulado en suspensión o agua de mar; su utilización en mamíferos marinos es incipiente (revisado por Lourenco *et al.*, 2021). Las fuentes de HAPs y los aportes al medio marino pueden variar enormemente dentro de una misma área (Baumard *et al.*, 1998b) por lo que especies de gran movilidad como los cetáceos están probablemente expuestas a mezclas complejas de innumerables fuentes. Una vez en el medio ambiente, las características fisicoquímicas de los HAPs determinan su distribución, su persistencia y su disponibilidad para los seres vivos (Latimer y Zheng, 2003). El metabolismo biótico también se verá afectado por el número de anillos aromáticos y el peso molecular de cada HAP individual (Neff, 2002). Cuando se detecta una





mezcla de HAPs en el tejido de un depredador marino, cada compuesto individual ha atravesado un largo recorrido desde su fuente original pasando por el compartimento ambiental abiótico y la red trófica marina. En consecuencia, una serie de factores desconocidos pueden haber afectado de innumerables maneras a los HAPs primarios liberados al medio ambiente desde su liberación hasta su acumulación en los tejidos. Así pues, estas proporciones en sus tejidos no indican necesariamente qué tipo de fuentes predominan en el medio ambiente global sino cuáles tienen una mayor influencia de las especies estudiadas. Además, como se supone que los HAPs se metabolizan y excretan tan rápidamente como otros vertebrados (Collier y Varanasi, 1991; Varanasi *et al.*, 1989) en estas especies, sólo podemos inferir esta información en el momento del muestreo. Nuestros datos mostraron tasas de detección muy bajas para el antraceno (0-14,7 %, según la especie) y valores no detectables de pireno. La relación BPM/APM proporcionó un resultado superior a 1 en todos los individuos de todas las especies. A pesar de que normalmente se utiliza un mínimo de dos ratios para realizar tales estimaciones (Baumard *et al.*, 1998b), la práctica ausencia de APM-HAPs en las muestras de grasa de nuestro trabajo apuntaría a un origen petrogénico casi exclusivo para las concentraciones notificadas. Según Polinov *et al.* (2021), se estima que el 53 % de todo el petróleo que llega al medio marino es de origen antropogénico. A pesar de que los vertidos accidentales de petroleros centran la atención pública, sólo representan el 8% del petróleo que entra en los océanos, por lo que la mayor fracción procede de vertidos deliberados y pequeños pero continuos y de filtraciones naturales (GESAMP, 2007), que podrían ser prácticamente responsables de los resultados.

En la mayoría de las especies, el patrón de HAPs estaba invariablemente dominado por el naftaleno y el fenantreno. Excepcionalmente, el individuo de calderón gris mostró una fracción más alta de acenafteno (37%) que de fenantreno (29%) y naftaleno (27%). Sin embargo, patrones anormales similares fueron observados esporádicamente en algunos individuos de las otras especies, por lo que no podemos saber si esta especie realmente acumula un patrón diferente de HAPs o si los resultados observados son atribuibles a la cuasi nula representatividad de la única muestra disponible para esta especie. Independientemente del estudio, tanto el naftaleno como el fenantreno son casi invariablemente los HAPs detectados en concentraciones más altas en mamíferos marinos (Gracia-Álvarez *et al.*, 2014a, b; Gui *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2020). Berrojalbiz *et al.* (2011) y Dachs *et al.* (1997) informaron de que el fenantreno era el HAPs más abundante en la columna de agua del mar Mediterráneo, incluyendo el agua de mar, las partículas en suspensión o incluso el plancton. De manera similar, León *et al.* (2013) reportaron también el fenantreno como el compuesto prevalente en muestras de mejillón de la costa mediterránea española, incluyendo en varios sitios de muestreo coincidentes con nuestra área de muestreo y áreas adyacentes. Sin embargo, ninguno de estos trabajos consideró el naftaleno en su conjunto de estudios. Este último trabajo atribuyó la prevalencia del fenantreno sobre otros HAPs a su



relativa hidrosolubilidad y volatilidad, que le permite ser transportado por vía atmosférica u oceánica a mayores distancias que otros HAPs de mayor peso molecular. Dado que el naftaleno es el más simple y ligero de todos los HAPs, es también el más soluble en agua y volátil (Latimer y Zheng, 2003), por lo que las afirmaciones anteriores son igualmente válidas para este compuesto. Esto explicaría su prevalencia en cetáceos, que son animales extremadamente móviles que se desplazan por vastas áreas, generalmente lejos de las fuentes locales costeras de contaminación, donde podrían predominar otros HAPs relacionados con la fuente (León *et al.*, 2013). Los estudios sobre la contaminación por HAPs en sedimentos, incluyendo naftaleno, también informan de concentraciones más altas de este compuesto seguido de fenantreno (Berto *et al.*, 2009). Por otro lado, los informes de otros HAPs distintos a estos dos en cetáceos parecen ser más variables. Acenafteno, fluoranteno, fluoreno y pireno son otros HAPs comúnmente reportados en trabajos con cetáceos cuyas concentraciones tienden a ser más bajas que las de antraceno y fenantreno (Cagnazzi *et al.*, 2013; Gui *et al.*, 2018; Moon *et al.*, 2012). Sin embargo, ocasionalmente se notifican proporciones anormalmente más altas de algunos de estos compuestos, p. ej., acenafteno en cachalotes italianos (Marsili *et al.*, 2014); o pireno en delfines del Pacífico o del Atlántico NE (García-Álvarez *et al.*, 2014a). Estas variaciones podrían ser atribuidas a las fuentes específicas de contaminación por PAHs a las que está sometida cada localización. Otros HAPs de pesos moleculares más elevados - la mayoría de ellos con propiedades cancerígenas - son por el contrario más raramente detectados que los otros, y cuando se detectan, tienden a aparecer en concentraciones considerablemente inferiores en comparación con los anteriormente mencionados (Lourenco *et al.*, 2021; Moon *et al.*, 2012).

### III.3.3.3. Implicaciones toxicológicas

A pesar de que la preocupación medioambiental por los HAPs surgió hace varias décadas, estos contaminantes han sido menos estudiados en depredadores marinos que otros contaminantes tradicionales. Además, los estudios sobre sus efectos en estas especies se han centrado más en las consecuencias físicas de los animales contaminados durante grandes vertidos de petróleo excepcionales pero dignos de mención (p. ej., el vertido del *Prestige* en el Atlántico noreste) (revisado por Albers y Loughlin, 2003).

Se sabe que muchos HAPs son cancerígenos para humanos y animales (IARC, 2022). Sin embargo, la mayoría de ellos necesitan una metabolización previa por parte de las enzimas de la familia CYP1, que transforman los HAPs parentales en metabolitos activos que desarrollan su actividad carcinogénica una vez que se unen covalentemente al ADN formando aductos de ADN (Baird *et al.*, 2005; Miller y Miller, 1981; Varanasi *et al.*, 1989). Basándose en experimentos *in vitro* con varias líneas celulares de cachalote, también se ha sugerido esta vía metabólica para los cetáceos (Godard *et al.*, 2004). A medida que aumenta el peso molecular de los HAPs también



aumenta su carcinogenicidad, reduciéndose paradójicamente su toxicidad aguda. Así, los HAPs de cuatro a seis anillos son más cancerígenos que los de dos y tres anillos, aunque también que los de siete (Eisler, 2000). Entre ellos, el benzo[a]antraceno, el benzo[a]pireno y el dibenz[ah]antraceno han sido identificados como los carcinógenos más potentes (Armstrong *et al.*, 2004; Bach *et al.*, 2003). A pesar de que la literatura sobre los efectos tóxicos de los HAPs en cetáceos y otros depredadores marinos superiores es escasa, varios trabajos han encontrado vínculos entre la exposición a los HAPs y el cáncer en estas especies. Martineau *et al.* (1994; 2002) encontraron indicios de una posible relación entre las altas concentraciones de benzo[a]pireno en la grasa de las belugas del estuario del San Lorenzo (Canadá), la sobreexpresión de los citocromos P450 1A1 (CYP1A) y 2N (CYP2B) en el epitelio del intestino delgado y la alta prevalencia de cáncer. La inducción de CYP1A1 por dioxinas y sustancias similares se ha correlacionado con varios efectos tóxicos en roedores, incluida la pérdida de peso y la toxicidad letal (Safe, 1987). A pesar de que este es campo de investigación incipiente en los cetáceos, se dispone de alguna información (Godard *et al.*, 2004; Wilson *et al.*, 2005). Por ejemplo, Marsili *et al.* (2014) encontraron cierta relación entre los altos niveles de HAPs en la grasa y el hígado de un grupo de cachalotes varados y la sobreexpresión de *CYP1A1* hepático, que atribuyeron a la removilización de HAPs en individuos con una pobre condición corporal. Del mismo modo, se ha informado de la regulación al alza de *CYP1A5* tras la exposición a benzo[a]pireno en fibroblastos de piel de tortuga boba (Webb *et al.*, 2014). En nuestro trabajo no detectamos benzo[a]pireno ni otros HAPs APM carcinogénicos, lo que sugeriría un menor riesgo de estos efectos en nuestras especies de estudio. Sin embargo, a pesar de que su potencial carcinogénico se considera menor en comparación con los anteriores (Nisbet y LaGoy 1992), el naftaleno, que compone la fracción mayoritaria de los  $\Sigma$ HAPs, está clasificado como "posible carcinogénico para los animales" (grupo 2B) por la IARC (IARC, 2022) y se ha comprobado que induce cáncer en el tracto respiratorio superior e inferior de roedores en estudios de laboratorio (NTP, 1992; 2000). Además, aunque el fenantreno no está considerado cancerígeno por la IARC, Vilca *et al.* (2018) describieron que la presencia de fenantreno aumentaba las probabilidades de que las tortugas verdes *Chelonia mydas* presentaran tumores de fibropapilomatosis.

Por otro lado, a pesar de que la carcinogenicidad es el efecto adverso más conocido causado por los HAPs, se han descrito otros efectos derivados de la exposición a HAPs, incluyendo inmunotoxicidad, respuestas estrogénicas similares a las dioxinas o alteraciones en el desarrollo fetal y postnatal tras exposiciones prenatales (Dejmek *et al.*, 2000; Perera *et al.*, 2012; Villeneuve *et al.*, 2002). Aunque este es un tema escasamente estudiado en cetáceos, se han logrado algunos avances. En cetáceos, Godard *et al.*, 2006 observaron citotoxicidad clonogénica *in vitro* en líneas celulares primarias de fibroblastos de testículo, piel y pulmón de ballena franca glacial (*Eubalaena glacialis*) expuestas a benzo[a]pireno. En las tortugas bobas, otro vertebrado marino



pulmonado, se han descrito correlaciones significativas entre las concentraciones de HAPs en plasma y diversos biomarcadores, incluyendo el estrés oxidativo (HSP60), la actividad estrogénica (ER $\alpha$ ) y la fragmentación y metilación del ADN (Casini *et al.*, 2018; Cocci *et al.*, 2018). Aunque las concentraciones de HAPs encontradas en las muestras de grasa en este estudio son relativamente bajas en comparación con las de trabajos anteriores, el impacto potencial de los HAPs en estas especies aún requiere precaución.



### III.3.4. Conclusión

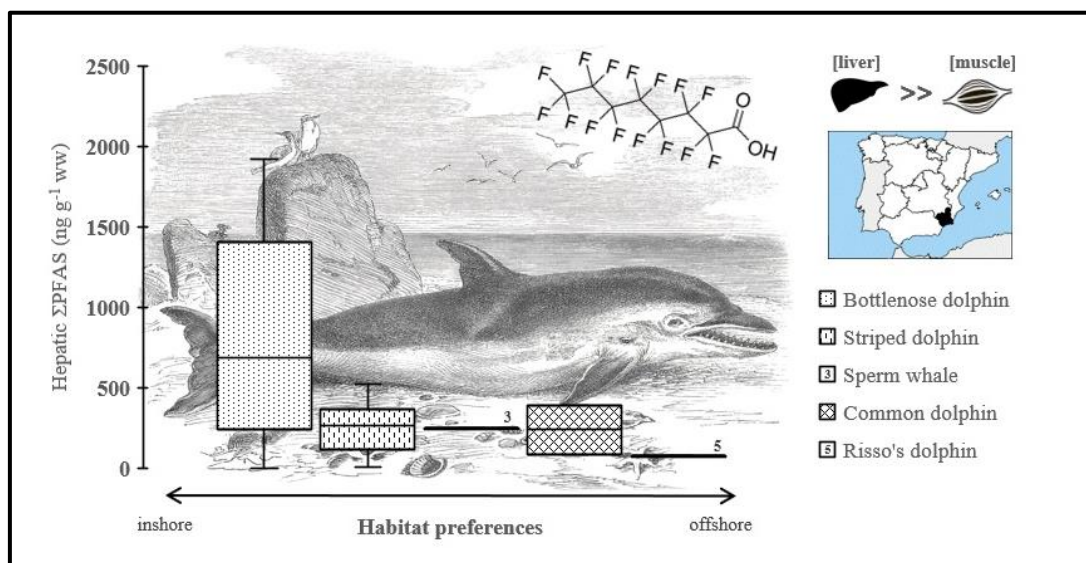
A diferencia de otras clases de contaminantes (p. ej., PCB, DDT y PBDE), se han tomado pocas medidas contra la contaminación por HAPs, probablemente debido a la dificultad de enfrentar sus fuentes. Aunque los HAPs suelen aparecer en concentraciones más bajas que algunos de los otros contaminantes lipofílicos, siguen teniendo efectos negativos potenciales en la biota. Las concentraciones totales de HAPs en la grasa de los cetáceos estaban a un nivel relativamente bajo en comparación con otros trabajos y los BPM-HAPs predominaban sobre los APM-HAPs, que son más cancerígenos pero que no se detectaron en ninguna muestra con la excepción del fluoranteno, sin actividad carcinogénica reconocida. La información sobre los efectos tóxicos ejercidos por los BPM-HAPs es escasa por lo que no debemos descartar otros efectos derivados de exposiciones crónicas al conjunto de HAPs detectados. Además, considerando las cortas vidas medias de los HAPs dentro del organismo, no podemos asegurar que nuestras especies de estudio no hayan estado expuestas a APM-HAPs cancerígenos. Las aguas que rodean nuestra área de estudio se consideran una importante zona de cría para varias especies de cetáceos, incluyendo delfines listados y calderones comunes. Preservar la biodiversidad mediterránea no sólo conlleva un valor ecológico, sino que es esencial para garantizar el bienestar y la supervivencia de las poblaciones humanas que habitan esta región, especialmente de aquellos segmentos de la sociedad que dependen directamente de los recursos marinos.



Investigación original / Original research

### III.4. Compuestos orgánicos persistentes, no liposolubles y biomagnificables en cetáceos varados en el sureste español entre 2009 y 2018: PFASs

#### III.4. Persistent, non-fat-soluble and biomagnifiable organic compounds in stranded cetaceans in SE Spain between 2009 and 2018: PFASs



Trabajo originalmente publicado en ‘López-Berenguer, G., Bossi, R., Eulaers, I., Dietz, R., Peñalver, J., Schulz, R. Sonne, E., & Martínez-López, E. (2020). Stranded cetaceans warn of high perfluoroalkyl substance pollution in the western Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, 267, 115367. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115367>.’

Work originally published on ‘López-Berenguer, G., Bossi, R., Eulaers, I., Dietz, R., Peñalver, J., Schulz, R. Sonne, E., & Martínez-López, E. (2020). Stranded cetaceans warn of high perfluoroalkyl substance pollution in the western Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, 267, 115367. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115367>.’

Trabajo realizado durante estancia internacional en las instalaciones del campus de Risø del Departamento de Ciencias Medioambientales de la Universidad de Aarhus bajo la dirección del Dr. Christian Sonne.



### III.4.1.a. Resumen

Los compuestos perfluoroalquilados (PFASs) son una familia de compuestos organohalogenados de relevancia medioambiental debido a sus características similares con otros contaminantes orgánicos persistentes (COPs) lipófilos más estudiados que típicamente muestran persistencia medioambiental, biomagnificación y toxicidad. Sin embargo, los PFASs están aun escasamente regulados a escala internacional y muchos de sus aspectos son aún incomprendidos. En este trabajo estudiamos las concentraciones hepáticas y musculares de PFASs en cinco especies de cetáceos varados a lo largo de la costa sureste de España entre 2009 y 2018. Doce de los quince compuestos de estudio fueron detectados en > 50 % de las muestras de hígado. Las concentraciones hepáticas fueron significativamente superiores a las de músculo, reflejando la toxicocinética particular de estos compuestos. El delfín mular *Tursiops truncatus* mostró las mayores concentraciones hepáticas de  $\Sigma$ PFAS ( $n=5$ ;  $796.8 \pm 709.0 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ), seguido del delfín listado *Stenella coeruleoalba* ( $n=29$ ;  $259.5 \pm 136.2 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ), cachalote *Physeter macrocephalus* ( $n=1$ ;  $252.8 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ), delfín común *Delphinus delphis* ( $n=2$ ;  $240.3 \pm 218.6 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ) y calderón gris *Grampus griseus* ( $n=1$ ;  $78.7 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ). Estas diferencias interespecíficas pudieron ser parcialmente explicadas por el hábitat que ocupan, aunque generalmente no pudieron ser relacionadas con la posición trófica o la alimentación valoradas a través de los valores en los isótopos estables de N ( $\delta^{15}\text{N}$ ) y C ( $\delta^{13}\text{C}$ ) respectivamente. Los perfiles de PFASs mostraron un patrón similar en todas las especies según el orden PFOS>PFOSA>PFNA $\approx$ PFFUnA>PFDA. El mayor número de muestras de delfín listado permitió evaluar las concentraciones y el perfil de PFASs en relación con el año de varamiento, los valores de isótopos estables y a variables biológicas como el sexo y la longitud. Sin embargo, solo se observó una relación entre el  $\delta^{15}\text{N}$  y la concentración muscular de PFAS y entre el año de varamiento y la composición del perfil de PFASs. A pesar de la reducción en su producción, en el Mediterráneo estos compuestos aún aparecen en altas concentraciones en comparación a hace más de dos décadas, y el PFOS se mantiene como el compuesto dominante.



### III.4.1.a. Abstract

Perfluoroalkyl substances (PFASs) are a class of organohalogenated compounds of environmental concern due to similar characteristics as other well-studied legacy and lipophilic persistent organic pollutants (POPs) that typically show environmental persistence, biomagnification, and toxicity. Nevertheless, PFAS are still poorly regulated internationally and in many aspects poorly understood. Here, we studied liver and muscle PFASs concentrations in five cetacean species stranded at the southeastern coast of Spain during 2009-2018. Twelve of the fifteen targeted compounds were detected in >50 % of the liver samples. Hepatic concentrations were significantly higher than those in muscle reflecting the particular toxicokinetics of these compounds. Bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* showed the highest hepatic  $\Sigma$ PFAS (n=5;  $796.8 \pm 709.0 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ) concentrations, followed by striped dolphin *Stenella coeruleoalba* (n=29;  $259.5 \pm 136.2 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ), sperm whale *Physeter macrocephalus* (n=1;  $252.8 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ), short-beaked common dolphin *Delphinus delphis* (n=2;  $240.3 \pm 218.6 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ) and Risso's dolphin *Grampus griseus* (n=1;  $78.7 \text{ ng g}^{-1} \text{ ww}$ ). These interspecies differences could be partially explained by habitat preferences, although they could generally not be related to trophic position or food chain proxied by stable N ( $\delta^{15}\text{N}$ ) and C ( $\delta^{13}\text{C}$ ) isotope values, respectively. PFAS profiles in all species showed a similar pattern of concentration prevalence in the order PFOS>PFOSA>PFNA $\approx$ PFFUnA>PFDA. The higher number of samples available for striped dolphin allowed for evaluating their PFAS burden and profile in relation to the stranding year, stable isotope values, and biological variables including sex and length. However, we could only find links between  $\delta^{15}\text{N}$  and PFAS burdens in muscle tissue, and between stranding year and PFAS profile composition. Despite reductions in the manufacturing industry, these compounds still appear in high concentrations compared to more than two decades ago in the Mediterranean Sea and PFOS remains the dominating compound.





### III.4.2. Introducción

El Convenio de Estocolmo sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP) incluye un número cada vez mayor de sustancias perfluoroalquiladas (PFASs). Estos compuestos son excepcionalmente persistentes en el medio ambiente y se bioacumulan y biomagnifican (Bossi *et al.*, 2005b; Kannan *et al.*, 2005, Martin *et al.*, 2004), y estas características generalmente incrementan conforme aumenta la longitud de la cadena de carbono en el intervalo de C<sub>6</sub>-C<sub>13</sub> (Kannan *et al.*, 2005; Tomy *et al.*, 2004a). Debido a estas características, la industria desplazó la producción de PFASs hacia compuestos de cadena más corta, que teóricamente se bioacumulan y biomagnifican en menor medida (Goeritz *et al.*, 2013; Renner, 2006). Los PFASs muestran una toxicidad aguda moderada (EFSA, 2008) y su principal órgano diana parece ser el hígado, causando alteraciones tales como hepatomegalia y proliferación de peroxisomas hepáticos (Kudo *et al.*, 2006; Yang *et al.*, 2000, 2001). Cada vez más evidencia sugiere también efectos a nivel reproductivo (Lau *et al.*, 2003; Luebker *et al.*, 2005), metabólico (Berthiaume y Wallace, 2002), endocrino (Lau *et al.*, 2006), neurológico (Johansson *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2010) e inmune (De Witt *et al.*, 2009, 2012). Las cadenas de mayor longitud y la presencia del grupo sulfonato (-SO<sub>3</sub>) parecen causar efectos biológicos más fuertes (Goecke-Flora y Reo, 1996; Liao *et al.*, 2009). A escala mundial, los PFASs han llegado incluso a los lugares más remotos como el Ártico (AMAP, 2018; Bossi *et al.*, 2005a, 2005b; Butt *et al.*, 2010) o el Antártico (Tao *et al.*, 2006). Sin embargo, se suelen encontrar concentraciones más elevadas cerca de zonas urbanizadas e industrializadas como las regiones del Báltico y del Mediterráneo en Europa o determinadas zonas de los Grandes Lagos en Norteamérica (Giesy y Kannan, 2001; Kannan *et al.*, 2001). Se ha informado de la presencia de PFASs en todos los niveles tróficos de la cadena alimentaria acuática, incluidos moluscos (Gómez *et al.*, 2011), crustáceos y peces (Haug *et al.*, 2010), aves marinas (Escoruela *et al.*, 2018) y mamíferos marinos (Gebbinck *et al.*, 2018; Gui *et al.*, 2019). Sorprendentemente, a pesar de la creciente alarma ambiental en torno a estos compuestos, hasta la fecha los PFASs solo se han investigado una vez en especies de cetáceos del Mediterráneo (Kannan *et al.*, 2002).

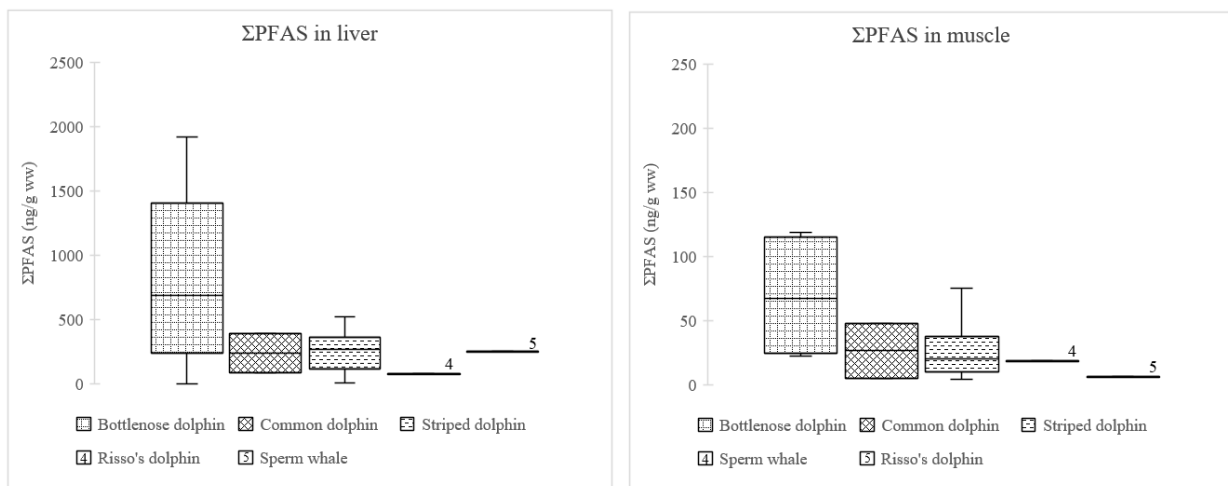
En este capítulo realizamos la primera investigación de PFASs en cetáceos del Mediterráneo occidental en los últimos veinte años. Estudiamos las cargas de contaminación y los perfiles de PFASs en relación con diversos parámetros biológicos de los cetáceos, incluidos su nivel trófico y los parámetros de su historia vital. Nuestro objetivo fue investigar el estado de contaminación por PFAS en estas especies y, de manera indirecta, los niveles de contaminación en el mar Mediterráneo occidental, lo cual supone una laguna de conocimiento en los estudios geográficos de estos contaminantes. Nuestra hipótesis es que las características socio-geográficas particulares del mar Mediterráneo se reflejarán en altas cargas de PFASs en estos individuos varados, y que la ecología de las diferentes especies revelará un gradiente de intensidad con concentraciones crecientes en las especies que se alimentan en regiones costeras.



### III.4.3. Resultados y discusión

#### III.4.3.1. Concentraciones de PFASs en cetáceos varados en la Región de Murcia

Los resultados de las concentraciones de PFASs en hígado y músculo se resumen en la [Tabla III.4.1](#) y la [Tabla III.4.2](#) respectivamente, mientras que  $\Sigma$ PFASs en ambos tejidos se representa gráficamente en las [Figuras III.4.1](#) y [Figura III.4.2](#). El tejido hepático ha sido tradicionalmente el órgano de elección cuando se trata de estudiar los PFASs en cetáceos ([Galatius et al., 2011, 2013](#); [Gui et al., 2019](#); [Hart et al., 2008](#)), mientras que muy pocos estudios han considerado el tejido muscular ([Dassuncao et al., 2017](#)). A diferencia de la mayoría de los COPs tradicionales, los PFASs no son lipofílicos y por tanto no están estrechamente asociados al tejido graso como los contaminantes organoclorados, los PBDEs o los HAPs. En cambio, se unen a las proteínas de la sangre ([Jones et al., 2003](#)) y, por lo tanto, se acumulan preferentemente en la sangre y el hígado ([Austin et al., 2003](#); [Luebker et al. 2002](#)). Esto ocurre de la misma manera en el caso de los mamíferos marinos ([Ahrens et al., 2009](#); [Boisvert et al., 2019](#); [Gui et al., 2019](#); [Houde et al., 2006b](#)). Nuestras observaciones confirman de hecho que las concentraciones de PFASs en el hígado fueron consistentemente más altas que las del músculo. El delfín mular *Tursiops truncatus* mostró las concentraciones hepáticas más altas de  $\Sigma$ PFAS, seguidos por el delfín listado *Stenella coeruleoalba*, el cachalote *Physeter macrocephalus*, el delfín común *Delphinus delphis* y el calderón gris *Grampus griseus*. Las concentraciones musculares fueron unas 15-20 veces más bajas y siguieron un patrón similar al del hígado entre las especies, exceptuando el hecho de que el delfín común mostró las segundas concentraciones más altas, por delante del delfín listado y el cachalote. Aquellas especies de las que se disponía de más de una muestra mostraron una gran variación en las concentraciones en ambos tejidos.



**Figuras III.4.1 (izqda.) & III.4.2. (dcha.).** Diagrama de caja para la concentración de  $\Sigma$ PFAS (ng/g l p.h.) en hígado (izquierda) y músculo (derecha) para especies de cetáceos varadas en el Mediterráneo occidental durante 2008-2019.



**Tablas III.4.1. (arriba) & III.4.2. (debajo) Concentraciones hepáticas (arriba) y musculares (abajo) de PFASs (mediana y rango; ng/g p.h.) en cetáceos varados en el Mediterráneo occidental entre 2009 y 2018. LoD: límite de detección. PFBS, PFHxA y PFHpA no están representados porque no fueron detectados en ninguna muestra.**

Hepatic PFAS	Striped dolphin (n = 29)	Bottlenose dolphin (n = 5)	Common dolphin (n = 2)	Risso's dolphin (n = 1)	Sperm whale (n = 1)
PFHxS	0.91 (<LoD-6.4)	2.81 (<LoD-7.3)	0.32 (<LoD-0.64)	<LoD	<LoD
PFHpS	1.06 (<LoD-3.1)	1.56 (<LoD-4.5)	0.76 (0.62-0.90)	0.81	<LoD
PFOS	118.0 (1.2-246)	211.0 (1.3-515)	90.1 (39.2-141)	33.3	98.2
PFDS	<LoD (<LoD-0.40)	1.10 (<LoD-2.2)	0.23 (<LoD-0.47)	<LoD	0.14
FOSA	21.0 (3.1-121)	97.3 (2.9-311)	59.5 (25.7-91.5)	12.1	1.52
PFOA	0.90 (<LoD-9,1)	4.09 (<LoD-10,0)	0.49 (0.29-0.69)	0.81	1.95
PFNA	22.1 (0.24-64.6)	52.3 (0.25-165)	13.3 (4.0-22.5)	10.4	63.5
PFDA	15.9 (0.20-31.7)	60.1 (<LoD-173)	13.4 (2.7-24.1)	4.49	36.2
PFUnA	31.9 (0.97-114)	147.0 (0.47-274)	38.1 (8.2-68.1)	7.9	33.1
PFDoA	4.89 (0.46-23.8)	48.6 (0.20-183)	7.41 (1.0-13.8)	1.58	6.22
PFTTrA	10.8 (0.94-53.6)	80.8 (0.42-245)	15.2 (1.8-28.6)	6.50	10.7
PFTeA	1.17 (0.06-4.7)	10.6 (0.14-31.7)	1.55 (0.19-2.9)	0.79	1.27
ΣPFAS	270.0 (8.58-523)	690.1 (5.7-1922)	240.3 (85.7-395)	78.7	252.8

Muscle PFAS	Striped dolphin (n = 18)	Bottlenose dolphin (n = 4)	Common dolphin (n = 2)	Risso's dolphin (n = 1)	Sperm whale (n = 1)
PFHxS	0.00 (<LoD-1.1)	0.71 (<LoD-1.9)	<LoD	<LoD	<LoD
PFHpS	0.10 (<LoD-0.57)	0.21	0.07 (0.02-0.12)	0.02	0.07
PFOS	13.1 (3.8-38.5)	26.5 (10.6-44.8)	11.4 (2.7-20.2)	2.7	8.5
PFDS	0.13 (<LoD-0.22)	0.23 (0.13-1.10)	0.18 (0.16-0.19)	0.12	0.11
FOSA	1.9 (<LoD-15.2)	14.6 (6.4-25.8)	9.9 (2.3-17.6)	2.1	<LoD
PFOA	0.27 (0.04-1.5)	0.66 (0.10-1.1)	0.19 (0.09-0.29)	0.17	0.28
PFNA	1.8 (0.34-14.6)	5.6 (1.3-10.8)	1.4 (0.21-2.7)	0.8	6.3
PFDA	0.8 (0.16-5.6)	3.4 (0.65-6.8)	0.7 (<LoD-1.3)	0.2	1.8
PFUnA	1.9 (0.1-10.6)	9.6 (1.9-22.3)	2.2 (0.2-4.2)	0.4	1.6
PFDoA	0.2 (<LoD-1.41)	2.3 (0.15-7.9)	0.3 (<LoD-0.65)	<LoD	0.1
PFTTrA	0.2 (<LoD-1.2)	1.2 (0.20-2.5)	0.3 (<LoD-0.5)	<LoD	<LoD
PFTeA	<LoD (<LoD-0.18)	0.2 (<LoD-0.53)	0.1 (<LoD-0.12)	<LoD	<LoD
ΣPFAS	20.7 (4.8-75.3)	67.8 (22.9-119)	26.8 (5.7-47.8)	6.7	18.9



Aunque nuestra zona de estudio -el litoral de Murcia, en el sureste de España- incluye varios focos industriales, bien en la costa o en la zona más interior, no tenemos pruebas de fabricación directa de PFASs en los alrededores. Por lo tanto, es de esperar que en esta zona predomine la influencia de fuentes indirectas de PFASs, incluidos los vertidos sin tratar de las plantas depuradoras o los vertidos directos de las actividades domésticas e industriales. Muchos PFASs tienen un origen común y pueden aparecer a partir de precursores comunes. Por ejemplo, el fluoruro de perfluorooctano sulfonilo (PFOSF) es el componente básico de varios compuestos, incluidos los etanoles de perfluorooctano sulfonamida (FOSE) y PFOSA, que a su vez pueden degradarse abiótica o bióticamente a PFOS, y abióticamente a PFOA (D'eon *et al.*, 2006; Martin *et al.*, 2006; Tomy *et al.*, 2004b; Xu *et al.*, 2004, 2006). Las correlaciones positivas y significativas entre los PFASs podrían sugerir fuentes compartidas y/o vías metabólicas comunes en el organismo (Smithwick *et al.*, 2005). Aprovechamos el mayor número de muestras disponibles de delfín listado para estudiar estas correlaciones (Tabla III.4.3). De los PFAS analizados, PFOS ( $r = 0,55$ ;  $p = 0,018$ ), PFDS ( $r = 0,48$ ;  $p = 0,046$ ), PFOSA ( $r = 0,90$ ;  $p < 0,001$ ), PFOA ( $r = 0,68$ ;  $p = 0,002$ ), PFNA ( $r = 0,63$ ;  $p = 0,005$ ), PFUnA ( $r = 0,50$ ;  $p = 0,036$ ) y PFDoA ( $r = 0,49$ ;  $p = 0,038$ ) sí estaban correlacionados positivamente entre el hígado y el músculo. La relación [concentración hepática]:[concentración muscular] fue extremadamente variable según el compuesto específico (en el delfín listado, 0,73 para PFDS y 61,7 para PFTrA).

**Tabla III.4.3.** Coeficiente de correlación de Spearman ( $r$ ; arriba) y significancias ( $p$ ; abajo) entre los PFAS individuales de todos los compuestos en hígado, todos los compuestos en músculo, y cada compuesto entre hígado y músculo de delfines listados varados en el Mar Mediterráneo occidental. Las correlaciones significativas se muestran en gris.

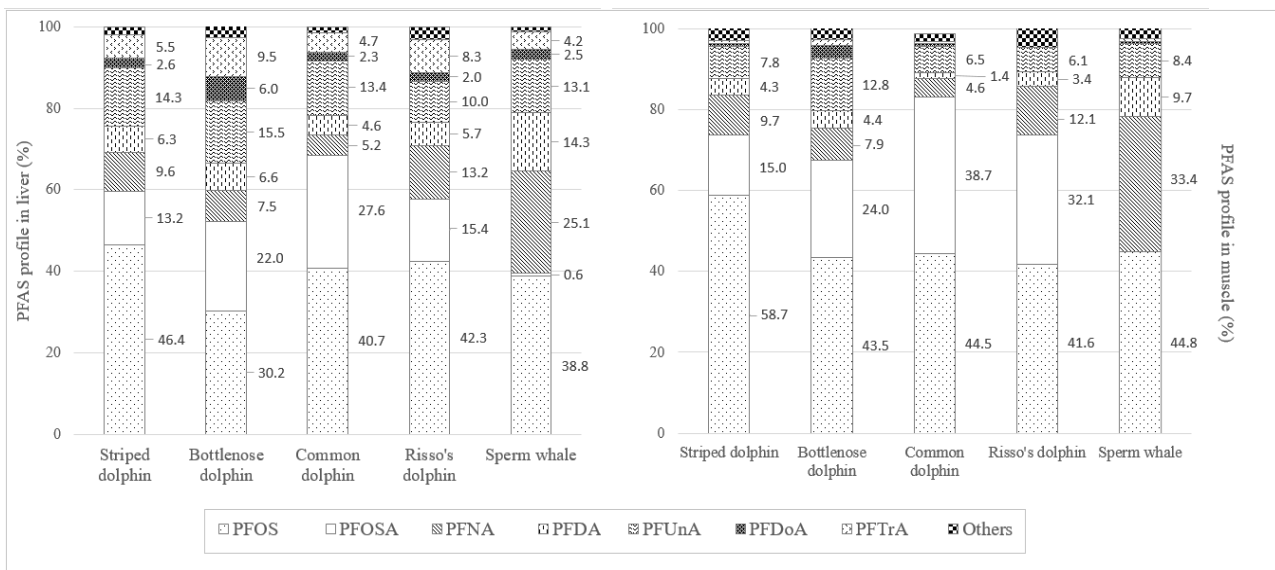
		Liver												
		PFHxS	PFHpS	PFOS	PFDS	PFOSA	PFOA	PFNA	PFDA	PFUnA	PFDoA	PFTrA	PFTeA	ΣPFAS
Muscle	PFHxS	<b>0.396</b> 0.103	0.563** 0.001	0.697** 0.000	0.014 0.942	-0.148 0.442	0.699** 0.000	0.648** 0.000	0.444* 0.016	0.110 0.569	0.182 0.346	0.004 0.982	-0.142 0.462	0.405* 0.029
	PFHpS	0.598** 0.009	<b>0.435</b> <b>0.071</b>	0.601** 0.001	-0.130 0.500	0.337 0.073	0.587** 0.001	0.418* 0.024	0.398* 0.032	0.385* 0.039	0.339 0.072	0.330 0.080	0.265 0.164	0.583** 0.001
	PFOS	0.561* 0.015	0.947** 0.000	<b>0.482*</b> <b>0.043</b>	0.216 0.259	0.394* 0.035	0.774** 0.000	0.817** 0.000	0.857** 0.000	0.550** 0.002	0.680** 0.000	0.527** 0.003	0.384* 0.040	0.873** 0.000
	PFDS	-0.324 0.190	-0.019 0.941	0.032 0.898	<b>0.477*</b> <b>0.046</b>	0.260 0.173	0.144 0.455	0.385* 0.039	0.442* 0.016	0.434* 0.019	0.363 0.053	0.351 0.062	0.313 0.099	0.320 0.090
	PFOSA	-0.068 0.788	0.092 0.716	0.162 0.521	0.391 0.108	<b>0.899**</b> <b>0.000</b>	0.211 0.271	0.332 0.079	0.510** 0.005	0.763** 0.000	0.730** 0.000	0.790** 0.000	0.769** 0.000	0.701** 0.000
	PFOA	0.564* 0.015	0.950** 0.000	0.929** 0.000	0.075 0.768	0.068 0.788	<b>0.678**</b> <b>0.002</b>	0.764** 0.000	0.568** 0.001	0.346 0.066	0.389* 0.037	0.224 0.243	0.029 0.882	0.582** 0.001
	PFNA	0.564* 0.015	0.954** 0.000	0.959** 0.000	0.062 0.808	0.094 0.711	0.978** 0.000	<b>0.628**</b> <b>0.005</b>	0.788** 0.000	0.390* 0.037	0.696** 0.000	0.514** 0.004	0.329 0.081	0.696** 0.000
	PFDA	0.563* 0.015	0.895** 0.000	0.960** 0.000	0.090 0.722	0.130 0.607	0.921** 0.000	0.948** 0.000	<b>0.360</b> <b>0.142</b>	0.763** 0.000	0.857** 0.000	0.734** 0.000	0.574** 0.001	0.895** 0.000
	PFUnA	0.380 0.120	0.730** 0.001	0.856** 0.000	0.410 0.091	0.341 0.166	0.810** 0.000	0.819** 0.000	0.871** 0.000	<b>0.496*</b> <b>0.036</b>	0.957** 0.000	0.963** 0.000	0.856** 0.000	0.861** 0.000
	PFDoA	0.196 0.436	0.664** 0.003	0.736** 0.001	0.465 0.052	0.541* 0.020	0.696** 0.001	0.705** 0.001	0.759** 0.000	0.866** 0.000	<b>0.493*</b> <b>0.038</b>	0.947** 0.000	0.821** 0.000	0.900** 0.000
	PFTrA	0.045 0.859	0.466 0.051	0.628** 0.005	0.626** 0.005	0.505* 0.033	0.554* 0.017	0.575* 0.013	0.669** 0.002	0.854** 0.000	0.886** 0.000	<b>0.430</b> <b>0.075</b>	0.934** 0.000	0.815** 0.000
	PFTeA	-0.307 0.216	0.226 0.368	0.221 0.377	0.726** 0.001	0.508* 0.031	0.318 0.198	0.264 0.289	0.234 0.350	0.471* 0.048	0.645** 0.004	0.672** 0.002	<b>0.330</b> <b>0.182</b>	0.672** 0.000
	ΣPFAS	0.535* 0.022	0.917** 0.000	0.950** 0.000	0.161 0.523	0.261 0.295	0.921** 0.000	0.942** 0.000	0.960** 0.000	0.915** 0.000	0.800** 0.000	0.707** 0.001	0.330 0.182	<b>0.544*</b> <b>0.020</b>



Sin embargo, cuando consideramos globalmente la relación ΣPFASs en hígado y músculo, este valor fue relativamente similar entre especies (rango 16-21), lo que sugiere que es posible estimar la carga general de PFASs en unas y otras. En el caso del hígado, la mayoría de los PFAS mostraron varias correlaciones significativas entre sí. El músculo mostró un patrón similar, aunque pudieron observarse menos correlaciones significativas, posiblemente debido al mayor número de no detecciones. El PFOSA es el único compuesto neutro considerado en el presente capítulo y se sabe que se distribuye parcialmente distinto de otros PFAS en el organismo (Martin *et al.*, 2010). En general, el PFOSA se correlacionó con menos compuestos que el PFOS o los PFCAs de cadena larga en ambos tejidos. Mientras que las escasas correlaciones significativas con otros PFASs halladas para otros compuestos podrían atribuirse al bajo tamaño muestral sumado a un número significativo de no detecciones (p. ej., para PFHxS, PFHpS, PFDS), este no es el caso del PFOSA. Por otra parte, el PFOSA es el compuesto que mostró la mayor correlación significativa entre las concentraciones hepáticas y musculares ( $r = 0,90$ ).

#### III.4.3.2. Perfiles de PFASs en cetáceos varados en la Región de Murcia

Aunque varios factores influyen en el perfil de PFASs en un tejido, este parámetro puede aportar información adicional sobre las fuentes de contaminación y el metabolismo de estos compuestos (Houde *et al.*, 2006b). Así, este perfil puede diferir en la misma especie que habita en distintas zonas con diferentes fuentes de PFASs (Hart *et al.*, 2008). El perfil de PFASs tanto en hígado como en músculo de las cinco especies de cetáceos estudiadas estaba generalmente compuesto por los mismos cinco PFASs dominantes: PFOS>PFOSA>PFNA≈PFFUnA>PFDA (Figuras III.4.3 y III.4.4).



Figuras III.4.3 (izqd.) & III.4.4. (dcha.). Perfiles de PFASs en hígado (izquierda) y músculo (derecha) de cinco especies de cetáceos varados en el Mediterráneo occidental durante 2009-2018.



*Galatius et al.* (2013) informaron de perfiles de PFASs dominados por estos mismos cinco compuestos en la beluga *Balaenoptera leucas*, el delfín de hocico blanco *Lagenorhynchus albirostris* y la marsopa común *Phocoena phocoena*, lo que corrobora nuestras observaciones. En nuestro estudio, sin embargo, el cachalote se desvió debido a las concentraciones extremadamente bajas de PFOSA en comparación con el resto. Por lo que sabemos, ningún otro trabajo ha informado previamente de PFOSA en cachalote, por lo que no tenemos ninguna referencia para discernir si las concentraciones más bajas de PFOSA observadas son una excepción o características de la población o de la especie. PFBS, PFPEA, PFHxA y PFHpA no se detectaron en ninguna muestra de ninguno de los dos tejidos. Tanto el PFDS en hígado, como el PFHxS y PFTeA en músculo, también se detectaron en menos del 50% de las muestras. El resto de PFSAs de cadena corta (PFHxS y PFHpS; C<sub>6-7</sub>) y PFOA (C<sub>8</sub>), así como el PFCA de cadena larga PFTeA (C<sub>14</sub>), se detectaron todos al menos en un orden de magnitud inferior a los PFCA de C<sub>9</sub>-C<sub>13</sub> y PFOS (C<sub>8</sub>). Tras la eliminación progresiva del PFOS, la industria manufacturera utilizó PFASs de cadena más corta como PFBS (C<sub>4</sub>) o PFHxA (C<sub>6</sub>) como sustituto (*Krafft Y Riess, 2015*). Sin embargo, estos compuestos, así como el PFHpA (C<sub>7</sub>), podrían no ser detectados debido a su menor capacidad de bioacumulación (*Ahrens et al., 2009; Renner, 2006*). Nuestras observaciones apoyan una mayor bioacumulación de los PFSAs en comparación con los PFCAs para una cadena de carbono de igual longitud que los PFCAs (*Ahrens et al., 2009; Martin et al., 2003*), ya que los PFSAs ya se detectaron a una longitud de cadena de C<sub>6</sub>, mientras que los PFCAs solo se detectaron a partir de una longitud de cadena de C<sub>8</sub> (*Tablas III.4.1. y III.4.2*). Por otra parte, todas las especies mostraron un patrón claro con mayores concentraciones de los PFCAs de cadena impar con respecto a los de cadena par. Otros trabajos han informado de un patrón similar en varias especies de cetáceos y otros mamíferos, aves rapaces y peces (*Bossi et al., 2015; Dassuncao et al., 2017; Galatius et al., 2011; Sun et al., 2019*). Tales patrones apoyan la hipótesis de *Ellis et al. (2004)* acerca de que la degradación atmosférica del alcohol fluorotelómero (FTOH) es una fuente relevante de PFCAs en el medio ambiente, cuya degradación daría lugar a los PFCAs de cadena impar. Por otro lado, los PFCAs de cadena larga ( $\geq C_{10}$ ) también aparecen como impurezas en la fabricación industrial de PFOA y PFNA, que componían el 95% de las emisiones estimadas de PFCAs en 2000 (*Prevedouros et al., 2006*), aunque esta fuente no explica el patrón observado.

Aunque la producción de PFOS se eliminó súbitamente hace casi dos décadas, este compuesto sigue representando la fracción principal del perfil de PFASs en nuestras especies estudiadas (*Figura III.4.3*). Esta respuesta lenta y a veces poco apreciable ha sido señalada por varios autores (*Dassuncao et al., 2017; Hart et al., 2008; Huber et al., 2012; Sun et al., 2019*). En concordancia con estos resultados, las concentraciones de PFOS han demostrado ser, por lo general, casi invariablemente superiores a las de cualquier otro PFASs en cualquier medio biótico o abiótico, mientras que otros PFASs, cuando se detectan, solían reportarse en concentraciones de uno o dos



órdenes de magnitud por debajo de las del PFOS (Ahrens *et al.*, 2009; Bossi *et al.*, 2005a, 2005b; Escoruela *et al.*, 2018; Gómez *et al.*, 2011; Schultz *et al.*, 2004). Las razones que subyacen a esta prevalencia pueden incluir la extensa producción de PFOS durante un período superior a 30 años (Armitage *et al.*, 2009; Paul *et al.*, 2009), el desfase temporal desde la emisión en la fuente hasta su aparición en el océano debido a su lento transporte en el medio acuático (Zhang *et al.*, 2017), su gran capacidad e bioacumulación (Tomy *et al.*, 2004a) y el hecho de que el PFOS también puede aparecer por degradación abiótica o biótica a partir de diversos precursores (Wang *et al.*, 2017). El PFOSA es el precursor de PFOS más típicamente detectado (Martin *et al.*, 2010). Este es un precursor neutro de varios PFASs y se degrada en el medio ambiente abióticamente a PFOS y PFOA (D'eon *et al.*, 2006; Martin *et al.*, 2006), así como bióticamente a PFOS en microsomas hepáticos de vertebrados (Tomy *et al.*, 2004b; Xu *et al.*, 2004, 2006). No obstante, los cetáceos constituyen una excepción en el patrón de predominio de PFOS y, aunque la mayoría de la fauna silvestre acumula niveles de PFOSA decenas de cientos de veces inferiores a los de PFOS (Ahrens *et al.*, 2009; Boisvert *et al.*, 2019; Kannan *et al.*, 2002), varios estudios sobre diferentes especies de cetáceos han encontrado niveles de PFOSA del mismo orden o incluso superiores a los de PFOS (Bossi *et al.*, 2005b, Dassuncao *et al.*, 2017; Galatius *et al.*, 2013; Gebbink *et al.*, 2016; Hart *et al.*, 2008; Kallenborn *et al.*, 2004; Kannan *et al.*, 2002; Tomy *et al.*, 2004a). Se ha planteado la hipótesis de que los cetáceos pueden carecer total o parcialmente de la capacidad de transformar PFOSA en PFOS dentro de sus tejidos (Butt *et al.*, 2010; Galatius *et al.*, 2013; Gebbink *et al.*, 2016). Letcher *et al.* (2014) demostraron la incapacidad de los microsomas hepáticos de beluga para transformar un precursor de PFOSA (N-EtFOSA) en PFOSA, en contraste con los osos polares *Ursus maritimus* y las focas anilladas *Pusa hispida*, ambos del orden Carnivora. Sin embargo, no encontraron pruebas de transformación *in vitro* de PFOSA en PFOS en ninguna especie, lo que atribuyeron a una tasa de transformación lenta. En nuestro trabajo observamos en general niveles de PFOSA del mismo nivel o no más de cuatro veces inferiores a los de PFOS. Excepcionalmente, de nuevo el cachalote mostró una desviación con una concentración de PFOSA prácticamente casi cien veces inferior en hígado, y no detectada en músculo. Este hecho rechazaría, o sería una excepción, a la hipótesis formulada por Galatius *et al.* (2013) de que los cetáceos más pequeños poseen las proporciones PFOS/PFOSA más altas entre los cetáceos, lo que atribuyeron a una mayor capacidad de transformación o a un metabolismo más elevado.



### III.4.3.3. Fuentes de variación interespecificas

El análisis de isótopos estables ha demostrado ser prometedor para explorar la ecología alimentaria de los cetáceos (Capelli *et al.*, 2008; Praca *et al.*, 2011; Pinzone *et al.*, 2015). Estos trazadores biogeoquímicos proporcionan variables continuas que reflejan la posición trófica y la posición en la cadena alimentaria de una determinada especie. Mientras que  $\delta^{15}\text{N}$  informa sobre la posición trófica,  $\delta^{13}\text{C}$  proporciona información sobre el comportamiento de alimentación costero/marítimo y bentónico/pelágico (Newsome *et al.*, 2010; Torniainen *et al.*, 2017). Este tipo de análisis puede aplicarse en estudios toxicológicos de mamíferos marinos para comprender las fuentes espaciales y la biomagnificación de varios contaminantes (Das *et al.*, 2004; Pinzone *et al.*, 2015, 2019; Van de Vijver *et al.*, 2003, 2004). Los datos isotópicos resumidos se presentan en la Tabla III.4.4. Basándonos en los comportamientos alimentarios y preferencias de hábitat fuertemente diferenciados de nuestras especies estudiadas (Astruc Y Beaubrun, 2005; Cañadas y Hammond, 2008; Natoli, 2004), esperábamos que estos se reflejaran en los valores de isótopos estables de N y C. Sin embargo, no encontramos diferencias significativas entre especies (prueba de Kruskal-Wallis;  $\delta^{15}\text{N}$ , rho = 0,80;  $\delta^{13}\text{C}$ , rho = 0,13).

**Tabla III.4.4.** Valores estables de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ) (mediana y rango) en el músculo de los individuos varados estudiados.

Species	n	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$
Striped dolphin	18	-17.7 (-20.7- -16.9)	10.3 (9.2-14.0)
Bottlenose dolphin	4	-17.2 (-17.4- -16.7)	13.2 (12.2-13.8)
Common dolphin	2	-17.4 (-17.7- -17.2)	10.5 (9.9-11.1)
Risso's dolphin	1	-16.7	11.6
Sperm whale	1	-17.5	11.6

El transporte oceánico de PFASs a través de las corrientes marinas y el transporte atmosférico de precursores volátiles son la vía principal de PFASs en regiones aisladas como el Ártico (Butt *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2015; Yeung *et al.*, 2017). Sin embargo, este no parece ser el caso de aquellas zonas cercanas a los vertidos fluviales (Zhang *et al.*, 2017) o aquellas fuertemente influenciadas por las actividades humanas, incluido el mar Mediterráneo, donde la deposición atmosférica tiene muy poca influencia en comparación con las fuentes locales derivadas de las actividades antropogénicas (Ahrens *et al.*, 2010). Se ha reportado de que el río Llobregat (Cataluña, España), que desemboca en el mar Mediterráneo, posee altos niveles de PFOS (Campo *et al.*, 2015). En el mismo sentido, los efluentes de las plantas de tratamiento de aguas residuales, los emisarios submarinos y la actividad portuaria también han sido identificados como fuente de PFASs a las aguas costeras de la costa atlántica española, entre otras zonas (Bossi *et al.*, 2008; Gómez *et al.*, 2011; Schulz *et al.*, 2006). Dado que las principales fuentes de contaminación por PFASs proceden del interior, la costa de España en el mar Mediterráneo ha demostrado estar más contaminada que las aguas del océano abierto, así como las aguas superficiales en comparación con las aguas profundas (Brumovský *et al.*, 2016). Así pues, cabría esperar que las especies que se reproducen y alimentan más cerca de la costa y de la superficie tuvieran mayores cargas de





PFASs que las que se alimentan mar adentro y en aguas más profundas (Galatius *et al.*, 2013; Leonel *et al.*, 2008).

De las ocho especies de cetáceos con poblaciones endémicas en las aguas de la Región de Murcia, el delfín mular se considera la única eminentemente costera (Aguilar *et al.*, 1994; Canales *et al.*, 2008), alimentándose frecuentemente sobre la plataforma continental, entre 50-200 m de profundidad (Blanco *et al.*, 2001; Wells Y Scott, 1999). Aunque se considera que esta especie cosmopolita se organiza en dos poblaciones diferentes a lo largo de la costa mediterránea española -una costera y otra oceánica-, en la Región de Murcia sólo existe la población costera (Aguilar *et al.*, 1994). Su dieta es oportunista y por tanto bastante variable dependiendo de la disponibilidad local de presas (Wells y Scott, 1999) y algunas poblaciones, incluida la aquí estudiada, se han adaptado para aprovechar los recursos pesqueros, llegando a provocar conflictos con los pescadores (comunicación personal). La merluza *Merluccius merluccius* parece ser la presa más frecuente y numéricamente importante en el Mediterráneo español, seguida en menor medida por los cefalópodos, principalmente los octópodos (Blanco *et al.*, 2001). Por otro lado, el delfín listado del Mediterráneo es una especie oceánica (Cañadas *et al.*, 2002) con preferencia en nuestra zona de estudio por aguas entre 900-1500 m de profundidad (Gómez de Segura *et al.*, 2008). Su hábitat alimentación es oportunista (Blanco *et al.*, 1995; Würtz y Marrale 1993) y existen inconsistencias en la literatura sobre sus preferencias de presas en el Mediterráneo occidental. Los análisis de contenido estomacal han sugerido que los cefalópodos son el componente más importante de su dieta (Blanco *et al.*, 1995; Meotti y Pedestá, 1997) mientras que los análisis de isótopos estables indicaron lo contrario (Gómez-Campos *et al.*, 2011). En algún punto intermedio entre las dos especies anteriores se encontraría el delfín común, cuyas poblaciones en el Mediterráneo occidental son más costeras que las del delfín listado pero menos que las del delfín mular (Bearzi *et al.*, 2003, Natoli, 2004). Aunque no hay información publicada sobre su dieta en el Mar Mediterráneo, se sabe que son oportunistas (Gannier, 1995) y que las poblaciones mundiales se alimentan principalmente de peces epipelágicos (sobre todo de la familia Cupeidae y Gadidae) así como de un pequeño número de cefalópodos (Cañadas y Hammond, 2008). Atribuimos el bajo número de muestras para el delfín mular ( $n=4$ ) y el delfín común ( $n=2$ ) al hecho de que tales diferencias no se reflejan en el análisis de isótopos estables. Aunque los delfines mulares mostraron el rango más amplio de cargas de PFASs (rango  $\Sigma$ PFAS = 5.7-1922 ng/g p.h.) su concentración hepática mediana de  $\Sigma$ PFASs fue la más alta entre nuestras especies estudiadas y triplicó las de los delfines listado y común (Tabla III.4.1). Por lo tanto, nuestros hallazgos proporcionan evidencia de la importancia de la proximidad a la costa en la exposición de los cetáceos a los PFAS, como ya se había hipotetizado en el pasado para los PFAS (Das *et al.*, 2004; Van de Vijver *et al.*, 2004) y otros contaminantes, p. ej., los OCs (Borrell *et al.*, 2006).



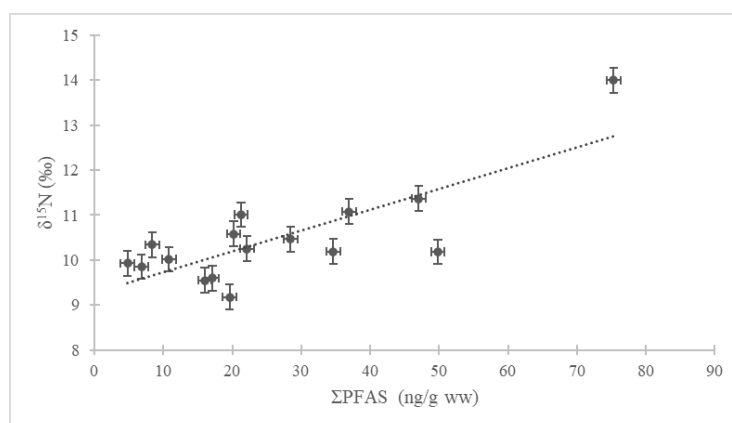
Por otro lado, el cachalote y el calderón común se alimentan exclusiva o preferentemente de cefalópodos batipelágicos y sus dietas en el mar Mediterráneo muestran un solapamiento (Astruc y Beaubrun, 2005). Este hecho excluiría la dieta como explicación de la práctica ausencia de PFOSA en los tejidos del cachalote. En el Mediterráneo occidental, el calderón gris prefiere aguas con pendientes pronunciadas entre 500-2000 m de profundidad (Bompar, 1997; Gannier, 1998) mientras que el cachalote aparece en toda la plataforma continental y en aguas más oceánicas (Drouot *et al.*, 2007; Gannier y Praca, 2007). Los valores  $\delta^{15}\text{N}$  aumentan con la profundidad debido a varios cambios fisicoquímicos (McMahon *et al.*, 2013) y, por lo tanto, las redes tróficas batipelágicas mediterráneas (1400-1800 m de profundidad), que son utilizadas por estas especies, presentan valores  $\delta^{15}\text{N}$  más altos en comparación con aquellas redes tróficas de aguas menos profundas (mesopelágicas, 200-1000 m de profundidad) (Polunin *et al.*, 2001). Sin embargo, no pudimos encontrar diferencias estadísticas para las relaciones isotópicas entre estas dos especies y las demás. El cachalote mostró niveles de PFASs similares a los de los delfines comunes y listados, que fueron tres veces superiores a los del calderón gris. Somos conscientes de que las especies mencionadas están poco representadas por un número reducido de muestras y, por tanto, un rango limitado de edades, por lo que hacer generalizaciones sería imprudente. Sin embargo, considerando la ausencia general de información para todas las especies en el mar Mediterráneo, consideramos importante incluir todos los datos disponibles. Si estos resultados se mantuvieran para un mayor número de muestras, nuestros resultados apoyarían parcialmente la hipótesis antes mencionada de que la alimentación costera/oceánica influye en la carga de PFASs, ya que, mientras que el delfín mular es la especie más contaminada a la vez que la más costera, el calderón gris es simultáneamente la especie menos contaminada y la que utiliza las aguas más profundas.

#### III.4.3.4. Fuentes de variación intraespecíficas

El delfín listado es la especie de cetáceo más común en el Mediterráneo occidental (Aguilar Y Raga, 1993; Forcada Y Hammond, 1998) y nuestra área de estudio tiene una de las densidades más altas ( $D = 0,67$  delfines/km<sup>2</sup>; Gómez de Segura *et al.*, 2006), siendo considerada como una importante zona de cría para la especie (comunicación personal). En comparación con las otras especies, el delfín listado presenta un mayor número de varamientos en la región y por lo tanto permitió una investigación más detallada. Los valores  $\delta^{13}\text{C}$  para el músculo promediaron  $-18,05 \pm 1,00$  ‰ mientras que los valores  $\delta^{15}\text{N}$  promediaron  $+10,48 \pm 1,10$  ‰. La pequeña variación dentro de cada parámetro sugeriría que existen diferencias menores en cuanto a dieta y comportamiento de alimentación entre los individuos analizados. El  $\delta^{13}\text{C}$  se correlacionó significativa y positivamente con la longitud ( $r=0,53$ ), pero el  $\delta^{15}\text{N}$  no ( $r=0,11$ ,  $\rho=0,68$ ). El sexo no tuvo un efecto significativo sobre los valores de isótopos estables. Considerando sus valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (Gómez-Campos *et al.*, 2011) y la falta de dimorfismo sexual en el tamaño (Di Meglio *et al.*, 1996), se cree que los delfines listados del Mediterráneo de ambos sexos se



alimentan en las mismas áreas, lo que concuerda con nuestros hallazgos. Por otra parte, la falta de correlación entre  $\delta^{15}\text{N}$  y el sexo sugeriría que ambos sexos también se alimentan en la misma posición trófica. Como también se observó en el presente estudio, [Gómez-Campos \*et al.\* \(2011\)](#) encontraron un aumento relacionado con la edad en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y plantearon la hipótesis de que esto refleja un nicho trófico más amplio en delfines inmaduros que resulta en su inexperiencia y menor capacidad de buceo, más que diferencias con respecto a dónde se alimentan (más cercano a la costa o más en mar abierto). Cuando correlacionamos los valores de isótopos estables y las concentraciones hepáticas de PFASs sólo observamos una relación significativa entre  $\delta^{13}\text{C}$  con PFHxS ( $r=0,53$ ) y  $\delta^{15}\text{N}$  con PFNA ( $r=0,52$ ). En el tejido muscular no observamos ninguna relación significativa entre  $\delta^{13}\text{C}$  y los PFASs, aunque el reducido tamaño de la muestra también podría influir en este aspecto. En cambio, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  se correlacionaron significativamente con los siguientes compuestos en músculo: PFOS ( $r=0,69$ ), PFOA ( $r=0,52$ ), PFNA ( $r=0,52$ ) y PFDA ( $r=0,56$ ). En el hígado, las únicas correlaciones significativas fueron entre  $\delta^{13}\text{C}$  y PFHxS ( $r=-0,53$ ) y entre  $\delta^{15}\text{N}$  y PFNA ( $r=0,52$ ). En general,  $\Sigma\text{PFAS}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  también se correlacionaron significativamente en el músculo ( $r=0,76$ ; [Figura III.4.5](#)), pero no en el hígado ( $r=0,14$ ,  $\rho=0,61$ ).



**Figura III.4.5.** Relación entre las concentraciones de  $\Sigma\text{PFAS}$  (ng/g p.h.) y los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (‰) en músculo de delfines listados varados en el Mediterráneo occidental entre 2009 y 2018.

La falta de correlaciones significativas entre las concentraciones hepáticas y los valores de isótopos estables del músculo se debe probablemente a los diferentes tiempos de reemplazo de los PFASs de ambos tejidos, siendo más cortos en el hígado, y por lo tanto resultando en un desajuste en la integración temporal de la exposición y la dieta. Estos resultados implicarían que la posición trófica, pero no el comportamiento alimentario costero/marino o bentónico/pelágico, influyen en la carga de PFASs en los delfines listados estudiados. Sin embargo, como el mar Mediterráneo occidental tiene un gradiente creciente de contaminación por PFASs hacia las aguas costeras y superficiales ([Brumovský \*et al.\*, 2016](#)), la falta de relación entre el comportamiento de



alimentación del delfín listado costero/marino o bentónico/pelágico y la carga de PFASs podría ser el resultado del acotado rango de valores para  $\delta^{13}\text{C}$ .

No se pudo establecer una relación clara entre la longitud/edad o el sexo y las concentraciones de PFASs en el hígado o el músculo del delfín listado. Sin embargo, la inclusión de un desproporcionado número de adultos en nuestro conjunto de muestras, que implicó una relativamente escasa variación de la longitud (media  $175 \pm 36$  cm), podría haber tenido alguna influencia en la ausencia de relación entre este parámetro y las concentraciones de PFASs. La evidencia previa sobre la influencia de ambas variables en las concentraciones de PFAS en los tejidos es contradictoria. Varios estudios sobre mamíferos marinos no han observado diferencias en las concentraciones de PFASs causadas por el sexo (Boisvert *et al.*, 2019; Dorneless *et al.*, 2008; Greaves *et al.*, 2013; Houde *et al.*, 2005) o la edad (Hart *et al.*, 2008; Houde *et al.*, 2005, 2006c; Van de Vijver *et al.*, 2007). De hecho, aunque algunos estudios han encontrado esas diferencias (Dorneles *et al.*, 2008; Gui *et al.*, 2019; Houde *et al.*, 2005, 2006c), podrían deberse, al menos en parte, a la interferencia de los procesos de gestación y lactancia cuando se produce la transferencia materna al feto o la lactancia (Loccisano *et al.*, 2012; Grønnestad *et al.*, 2017). Se ha reportado la detección de PFOS en leche de delfines mulares (Houde *et al.*, 2006c), así como la transferencia placentaria de este compuesto en marsopas comunes, orcas o delfín de cabeza de melón *Peponocephala electra* (Galatius *et al.*, 2011; Gebbink *et al.*, 2016; Hart *et al.*, 2008, respectivamente). Debido a estos mecanismos de desintoxicación, las hembras de cetáceo en estado de gestación y en estado de lactancia descargan su carga de PFASs a sus crías, que resultan tener concentraciones más altas que sus madres; superando también en muchos casos a las de otros individuos adultos (Dorneles *et al.*, 2008; Galatius *et al.*, 2011; Van de Vijver *et al.*, 2004, 2007). Así, Dassuncao *et al.* (2017) observaron que las hembras juveniles de calderón común *Globicephala melas* tenían mayores cargas de PFASs en comparación con las hembras adultas. Sin embargo, esta cuestión aún no se comprende bien, y también se ha planteado la hipótesis de que estas diferencias basadas en parámetros reproductivos también podrían estar influidas por diferencias en el comportamiento alimentario (p. ej., hembras preñadas que se alimentan más cerca de la costa; Das *et al.*, 2004), o el metabolismo (p. ej., metabolismo proteico alterado en hembras lactantes; Galatius *et al.*, 2011). Hart *et al.* (2008) también sugirieron que la ausencia de diferencias en las cargas de PFASs relacionadas con el sexo o la edad podría indicar un rápido reemplazo de estos compuestos en los cetáceos. Nuestro conjunto de muestras de delfines listados fue relativamente homogéneo y sólo incluyó dos individuos lactantes y cuatro hembras sexualmente maduras entre un total 29 individuos. Esta selección inintencionalmente homogénea podría ser la explicación de la ausencia de correlaciones significativas de edad y sexo en nuestras concentraciones detectadas.



El año de varamiento no se asoció con las concentraciones de PFASs ni en hígado ni en músculo. Otros estudios informaron de que las concentraciones de PFOS en las dos últimas décadas normalmente se mantuvieron constantes o cambiaron ligeramente, mientras que los PFCAs de cadena larga normalmente aumentaron considerablemente (AMAP, 2018, Falk *et al.*, 2019; Dassuncao *et al.*, 2017; Galatius *et al.*, 2011; Hart *et al.*, 2008; Huber *et al.*, 2012). Esto podría parecer contradictorio con respecto al desarrollo histórico de las normativas y los cambios de la industria, ya que los PFOS se abandonaron en Europa y Norteamérica hace más de una década (3M, 2000; EPA, 2006). Sin embargo, un estudio reciente realizado en la costa occidental del Atlántico Norte informó de un vertido continuo de los PFAS tradicionales, como el PFOS, al océano a través de los ríos (Zhang *et al.*, 2019), lo que podría ser también el caso en Europa. En nuestro estudio, el bajo número de individuos varados en la mayoría de los años y la inclusión de individuos de cualquier edad y sexo podrían haber interferido en los resultados.

#### *III.4.3.5. Comparación global y análisis de riesgo preliminar*

Hasta la fecha el estudio de Kannan *et al.* (2002) es el único en haber investigado las concentraciones de PFAS en cetáceos del mar Mediterráneo. Estos autores estudiaron el PFOS y algunos otros PFASs en hígado de delfín listado ( $n=4$ ) y delfín mular ( $n=6$ ) varados a lo largo de la costa italiana durante 1991-1992. Como en nuestro trabajo, encontraron concentraciones más bajas en el delfín listado que en el delfín mular. Sin embargo, las concentraciones de PFOS en nuestro trabajo fueron unas 4-5 veces superiores a las referidas por ellos, lo que demuestra la lenta respuesta de la concentración ambiental de PFOS a su prohibición. Una región marina con ciertas similitudes con el mar Mediterráneo es el mar Báltico, otro mar semicerrado de Europa rodeado de varios países industrializados, aunque con una extensión y un volumen de agua mucho menor al Mediterráneo. Las comparaciones geográficas son difíciles ya que actualmente no hay ninguna especie de cetáceo que habite en ambos mares. Sin embargo, las marsopas comunes del mar Báltico en el periodo 2010-2018 mostraron concentraciones de PFASs similares ( $\Sigma$ PFAS,  $284,5 \pm 181,9 \text{ ng g}^{-1} \text{ p.h.}$ ; datos no publicados) a las reportadas en varias de las especies de este trabajo. No obstante, cualquiera de estos valores sigue estando lejos de los notificados por Gui *et al.* (2019), que estudiaron entre 2004 y 2006 las concentraciones de PFASs en una población de delfín rosado de Hong Kong *Sousa chinensis* que habitaba unas de las aguas más contaminadas por estos compuestos en China (p. ej., PFOS, 36,3-6690 ng/g p.h.).

Los PFASs han mostrado tasas de transferencia transplacentaria hasta dos veces superiores a las de contaminantes lipofílicos como los policlorobifenilos (PCBs) y los polibromodifenil éteres (PBDEs) en ballenas cabeza de melón (Hart *et al.*, 2008; Miyazaki *et al.*, 1998), lo cual es particularmente relevante teniendo en cuenta sus potenciales efectos tóxicos en individuos en desarrollo (Johansson *et al.*, 2008; Lau *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2010). Se han encontrado

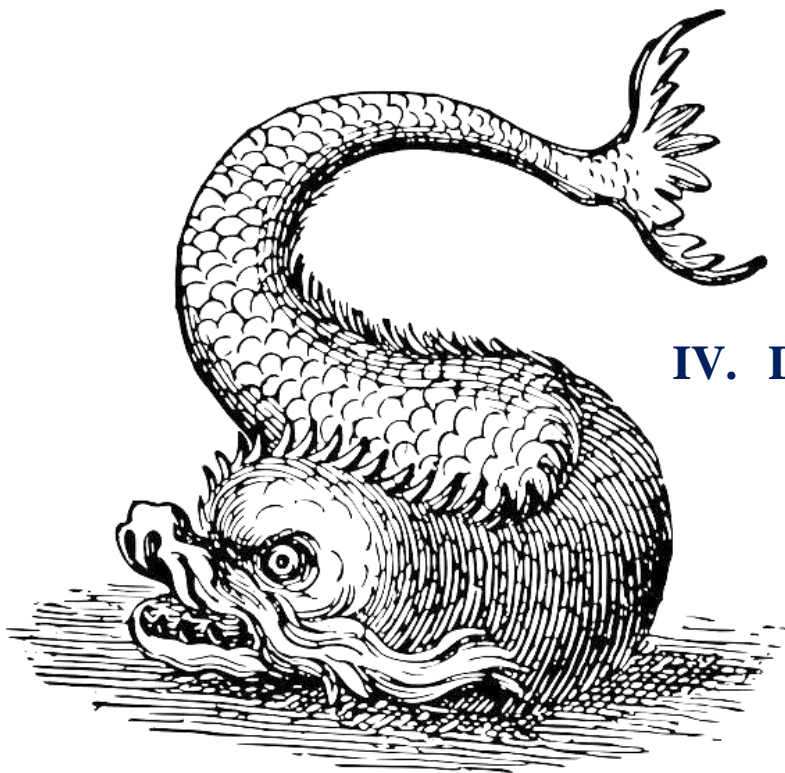


correlaciones positivas entre las concentraciones de PFASs en hígado y la aparición de enfermedades infecciosas en nutrias de río *Lontra canadensis* (Kannan *et al.*, 2006), así como entre las concentraciones séricas de PFAS y la alteración de parámetros inmunológicos, hematológicos, renales y hepáticos en sangre de delfines mulares (Fair *et al.*, 2013; Peden-Adams *et al.*, 2009; Soloff *et al.*, 2017). Lam *et al.* (2016) calcularon una concentración crítica tentativa (TCC) de PFOS relacionada con la hepatotoxicidad para pequeños cetáceos basándose en datos de laboratorio con ratas *Rattus norvegicus* y macaco cangrejero *Macaca fascicularis* (Sample *et al.*, 1996). De esta forma, estimaron un TCC en hígado de 677-775 ng/g p.h. para PFOS. Ninguno de nuestros resultados superó este valor, aunque nuestro valor máximo de PFOS observado en el delfín mular (515 ng/g p.h.) no estaba demasiado lejos. Sin embargo, no estamos considerando el posible efecto biológico de aquellos PFASs que también constituían una parte significativa de la carga total de PFASs, ni el efecto combinado de estos entre sí, con otros contaminantes y con otros agentes estresores. En este sentido, es importante destacar el PFOSA, cuya mayor hidrofobicidad provoca una mayor alteración en el sistema nervioso central en desarrollo en comparación con los PFOS y PFOA (Slotkin *et al.*, 2008; Starkov y Wallace, 2002). Futuros trabajos deberían abordar esta cuestión tratando de evaluar este y otros puntos finales relevantes para la salud, por ejemplo, la toxicidad reproductiva para la salud de la población de cetáceos. Con este fin, varios autores (Dietz *et al.*, 2019) han estado aplicando recientemente cada vez más un enfoque de cociente de riesgo (RQ) basado en residuos corporales críticos (CBR) utilizando modelos farmacocinéticos basados en la fisiología (PBPK). En consecuencia, no podemos descartar los efectos tóxicos en el hígado de nuestra especie, así como en otros sistemas orgánicos, causados por los PFAS en sí mismos o por su interacción con otros contaminantes o factores de estrés ambiental.



#### III.4.4. Conclusión

Este trabajo es el primero realizado en más de dos décadas sobre la presencia y los perfiles de PFAS en cetáceos varados en el Mediterráneo occidental. En comparación, nosotros reportamos valores de PFOS de 3 a 5 veces más altos, aunque dentro del rango reportado para otras especies de cetáceos en todo el mundo. A pesar de su eliminación progresiva en la Unión Europea hace quince años, el PFOS siguen siendo, junto con el PFOSA, los compuestos dominantes en el perfil de PFAS, aunque también están presentes proporciones significativas de PFNA, PFDA y PFUnA. Estos hallazgos parecen ser un reflejo de la lenta renovación del PFOS y otros PFASs en el mar Mediterráneo, lo que hace que los tejidos de los cetáceos muestren la exposición a concentraciones históricas. La lenta respuesta de las concentraciones ambientales de PFOS a su eliminación progresiva permite albergar pocas esperanzas de que se produzca una situación diferente en relación con los PFAS altamente bioacumulativos (p. ej.,  $\geq 8$  PFCAs) que han sido regulados más recientemente, cuya desaparición del medio ambiente puede demorarse décadas. A pesar de que nuestros resultados están por debajo de las estimaciones provisionales de toxicidad en cetáceos, algunas de las concentraciones pueden considerarse elevadas. Los efectos biológicos de los PFASs en el organismo y los mecanismos por los que se producen aún son escasamente comprendidos, incluso en el caso de los PFAS más comunes. Además, considerando sus efectos, aparentemente más fuertes sobre el sistema nervioso central en desarrollo, las altas concentraciones de PFOSA reportadas en el presente y muchos otros trabajos en diferentes especies de cetáceos hacen de esta característica distintiva en cetáceos un asunto de preocupación. Evaluar este y otros puntos finales de salud relevantes para la supervivencia de las poblaciones de cetáceos debería ser considerado como una prioridad en futuras investigaciones.



#### **IV. Discusión general**





#### IV.1. Concentraciones de contaminantes

En la actualidad se tiene información robusta sobre el comportamiento medioambiental de una porción ínfima de los compuestos regularmente utilizados y producidos por el ser humano. Continuamente se sintetizan y se comercializan nuevos compuestos cuyas características medioambientales y toxicológicas son completamente desconocidas. Probablemente aspirar a conocer las implicaciones medioambientales y las consecuencias para la salud humana y animal que tienen todos los químicos que son continuamente liberados a la naturaleza sea un objetivo inalcanzable. A pesar de ello, perseguir el máximo conocimiento técnico-científico sobre la naturaleza y los peligros de especialmente aquellas sustancias con un uso más extendido, y por consiguiente susceptibles de ser liberadas en cantidades significativas al medio ambiente, debe ser un objetivo ineludible si pretendemos mantener o, en muchos casos reconquistar, un entorno medioambiental seguro para los humanos, los animales y los ecosistemas. Frecuentemente los contaminantes que se prueban perjudiciales para la salud de los humanos y los ecosistemas son o han sido importantes o incluso esenciales para el desarrollo tecnológico y para las mejoras de las condiciones de vida. Por lo tanto, el mero hecho de que una sustancia sea potencialmente peligrosa puede no ser motivo suficiente para su prohibición y eliminación del mercado. No es tarea de los científicos, sino de las administraciones tomar las medidas que sean necesarias para combatir los peligros crecientes en un mundo cada vez más alterado por la intervención humana. Sin embargo, la ciencia es la responsable de incrementar y comunicar adecuadamente el conocimiento sobre los contaminantes para que los legisladores hagan una valoración del balance de riesgos y beneficios que la producción, comercialización y utilización de determinadas sustancias puede conllevar. Idealmente esta valoración debería realizarse con un enfoque ‘*One Health*’ cada vez más necesario, y estaría libre de influencias e intereses ajenos al bien común y la protección del medio ambiente. Además, debe ser lo más específica para cada contaminante o grupo de contaminantes, y puede ser diferente en función de la época y el lugar. Por ejemplo, tal y como reconoce el Convenio de Estocolmo, los beneficios para la salud humana derivados del uso del DDT para combatir la malaria en ciertas zonas de África y Asia aún superan a los riesgos que dicho uso entraña, mientras que ni esta ni otras de sus aplicaciones tiene sentido en la actualidad en otras regiones como Europa.

En este trabajo se han estudiado numerosos compuestos prohibidos o estrictamente regulados en los últimos años y décadas. De hecho, la mayoría de las sustancias químicas incluidas en los capítulos previos están en esta situación, incluyendo el mercurio, los plaguicidas organoclorados (POCs) estudiados, los policlorobifenilos (PCBs), los polibromodifenil éteres (PBDEs), y numerosos compuestos perfluoroalquilados (PFASs), como el ácido perfluorooctanosulfónico (PFOS), el ácido perfluorooctanoico (PFOA), el ácido perfluorohexanosulfónico (PFHxS) y los ácidos perfluorocarboxílicos (PFCAs) de cadena larga. Entre los compuestos de origen



exclusivamente sintéticos estudiados, únicamente los PFCAs de cadena corta y algunos ácidos perfluorosulfónicos (PFSAs) están libres de restricciones. El mercurio, aun siendo un elemento naturalmente presente en el medio, también está sometido a numerosas regulaciones (p. ej., Reglamento (UE) 2017/852) que limitan en gran medida su uso para evitar la liberación antropogénica de este elemento a la biosfera. Únicamente los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) escapan a esta situación ya que no son producto de una producción intencional, sino que son liberados al medio ambiente como subproducto durante la utilización de ciertas fuentes de energía a día de hoy aún imprescindibles. Sin embargo, existe una tendencia global hacia la disminución o eliminación de las actividades antrópicas que utilizan estas fuentes. En la línea de muchos estudios previos y contemporáneos, este trabajo proporciona evidencias de la relativa ineficiencia de las medidas tomadas con el objetivo de hacer desaparecer del medio ambiente la mayor parte de los químicos estudiados, cuya peligrosidad está ampliamente reconocida. El caso más extremo es que, a pesar de que el DDT o los PCBs comenzaron a ser restringidos y prohibidos en Europa en las décadas de 1970 y 1980, estas sustancias todavía aparecen en los tejidos de los cetáceos estudiados en concentraciones superiores al miligramo por kilogramo. Una situación similar, aunque de menor magnitud, ocurre para otros compuestos de más reciente preocupación y regulación, los PBDEs y los PFASs, que aparecen en menores concentraciones con respecto a los anteriores debido principalmente a un uso de menor magnitud o más acotado en el tiempo.

En este trabajo se presenta información de las siete especies de cetáceos odontocetos con poblaciones residentes en el Mediterráneo y en las aguas de la Región de Murcia. Lamentablemente, la cantidad de muestras disponible ha estado extremadamente limitada por el factor arbitrario de los varamientos y la relativamente pequeña extensión de la costa del litoral murciano, así como a la complejidad técnica del manejo de los varamientos y la falta de recursos para desarrollar este trabajo. El tamaño muestral, en consecuencia, condicionó una gran incertidumbre sobre la representatividad de las concentraciones observadas en varias de las especies estudiadas y limitó la contextualización y extrapolación de los datos con respecto a las poblaciones estudiadas. El delfín listado fue la especie con un mayor número de muestras en todos los trabajos, lo que permitió realizar análisis en mayor profundidad a partir de los resultados obtenidos en esta especie. Por detrás de este, el delfín mular generalmente estuvo representado por un número de muestras oscilante entre cuatro y ocho, en función del tejido. El resto de especies osciló entre una y tres muestras para cada uno. Un número tal de muestras impide generalizar sobre el estado de contaminación de la especie, ya que incontables factores intrínsecos y extrínsecos al individuo pueden hacer variar ampliamente las concentraciones de todos los contaminantes. Sin embargo, considerando la dificultad de obtener tales muestras, y la escasa información existente en la actualidad sobre los perfiles toxicológicos de estas especies,



consideramos valioso incluir toda la información disponible. A pesar de ello, el sesgo derivado de lo anteriormente mencionado debe ser tenido en cuenta a la hora de considerar todos los resultados discutidos en este trabajo y las conclusiones extraídas de ellos.

Dado que ninguna de especies tiene exactamente el mismo comportamiento, fisiología, dieta o área vital, estas variables tienen influencia directa en la exposición, distribución y eliminación de los contaminantes, lo que condiciona diferencias seguras en la acumulación de los contaminantes en sus tejidos. En este trabajo hemos observado en muchos casos diferencias entre las distintas especies para distintos tipos de contaminantes. Sin embargo, la información sobre estas especies, y en concreto sobre sus poblaciones de la zona de estudio, es extremadamente escasa, lo que limita en gran parte la interpretación de los resultados. Generalmente los ambientes costeros se consideran más contaminados que aquellas zonas en alta mar más alejadas de la influencia humana. Por lo tanto, cabría esperar que las especies de cetáceos que vivan y se alimenten más cerca de la costa acumulasen mayores cargas de contaminantes en sus tejidos. La [Tabla IV.1](#) muestra las concentraciones de cada una de las familias de contaminantes estudiadas en las especies de estudio. Nuestros resultados generalmente confirmaron este patrón, ya que el delfín mular y el delfín común, las especies más costeras (especialmente la primera) generalmente mostraron concentraciones más altas de la mayoría de contaminantes que otras especies que se alimentan en aguas más profundas. Esto se hizo especialmente notable en el caso de los PFASs, donde el delfín mular acumuló concentraciones al menos tres veces superiores al resto de especies que utilizan aguas menos costeras. Sin embargo, generalmente fue el delfín listado la especie que acumuló las mayores concentraciones de la mayor parte de contaminantes estudiados (Hg, POCs, PBDEs y PCBs). Estos tres delfines tienen en común su alimentación oportunista principalmente basada en diferentes especies de peces y cefalópodos que cazan a no demasiada profundidad. En contraste con estos, el resto de especies estudiadas tiene una dieta eminentemente teutófaga y se alimenta a mayores profundidades. Por lo tanto, cabe pensar que las diferencias en la composición de la dieta han tenido una mayor influencia en los resultados obtenidos que la cercanía a la costa.

Por otro lado, aprovechamos aquellos individuos para los que se realizaron análisis de más de un tipo o familia de contaminantes sobre el conjunto de sus muestras disponibles para investigar las posibles correlaciones en sus concentraciones. Encontramos correlaciones entre pesticidas organoclorados y PCBs ( $\rho = 0,457, p < 0,001$ ), pesticidas organoclorados y PBDEs ( $\rho = 0,776, p < 0,001$ ), PCBs y PAHs ( $\rho = 0,285, p < 0,05$ ), PCBs y PFASs ( $\rho = 0,492, p < 0,005$ ) y PCBs y PBDEs ( $\rho = 0,500, p < 0,001$ ). Las concentraciones de Hg no correlacionaron significativamente con ningún otro compuesto mientras que tanto los PFASs como los PAHs únicamente lo hicieron con los PCBs. Los PBDEs, los pesticidas organoclorados y los PCBs correlacionaron significativamente todos entre sí, siendo los tres contaminantes orgánicos liposolubles, persistentes y biomagnificables. Todas las correlaciones significativas encontradas fueron



positivas, lo que sugiere la exposición simultánea a estos contaminantes a través de la dieta y en última instancia la existencia de zonas o focos donde aquellas familias de contaminantes que han mostrado correlación positiva aparecen conjuntamente. Por otro lado, el número limitado de muestras y su heterogeneidad hacen probable que una parte de las correlaciones detectadas se deban a otros factores como la especie, el sexo o la edad más que a características compartidas en la liberación, distribución, exposición y acumulación de los contaminantes.

**Tabla IV.1.** Concentraciones de las familias de contaminantes estudiadas en los diferentes tejidos de las especies de estudio. Las concentraciones están expresadas en peso húmedo, en mg/kg para el mercurio y en ng/g para el resto de contaminantes. Los resultados se muestran como: media  $\pm$  desviación típica (arriba), mediana (rango) (medio) y número de muestras (n) (abajo).

Contaminante (tejido)	Delfín listado	Delfín mular	Delfín común	Calderón común	Calderón gris	Zifio de Cuvier	Cachalote
Mercurio (cerebro)	7,36 $\pm$ 16,2 1,17 (0,25-86,6) (n = 39)	4,05 $\pm$ 2,61 1,55 (0,30-12,8) (n = 4)	3,29 $\pm$ 5,34 0,75 (0,37-11,3) (n = 4)	–	17,9 $\pm$ 24,4 (0,62-35,1) (n = 2)	2,47 (n = 1)	–
Mercurio (hígado)	94,4 $\pm$ 141 20,0 (1,74-495) (n = 33)	93,3 $\pm$ 123 29,4 (15,5-235) (n = 3)	46,2 $\pm$ 38,9 43,9 (1,60-95,4) (n = 4)	–	7,42 $\pm$ 7,14 (2,37-12,47) (n = 2)	24,6 (n = 1)	–
$\Sigma$ Pesticidas organoclorados (grasa)	4181 $\pm$ 5777 3084 (237-31997) (n = 34)	2584 $\pm$ 1950 1700 (759-5959) (n = 8)	3164 $\pm$ 2769 2095 (1090-6308) (n = 3)	2042 $\pm$ 1700 2500 (160-347) (n = 3)	510 (n = 1)	669 (n = 1)	1201 $\pm$ 110 (2185-4134) (n = 2)
$\Sigma$ DDTs (grasa)	3326 $\pm$ 5191 1761 (179-27563) (n = 34)	1586 $\pm$ 1217 1363 (232-4011) (n = 8)	1513 $\pm$ 486 1704 (960-1875) (n = 3)	589 $\pm$ 610 353 (132-1281) (n = 3)	780 (n = 1)	2445 (n = 1)	3160 $\pm$ 1378 (1123-1278) (n = 2)
Metoxicloro (grasa)	1584 $\pm$ 2044 464 (14,5-7003) (n = 34)	946 $\pm$ 1143 386 (153-3381) (n = 8)	1534 $\pm$ 2396 178 (123-4301) (n = 3)	1379 $\pm$ 1194 2046 (0,0-2091) (n = 3)	263 (n = 1)	1724 (n = 1)	1866 $\pm$ 1476 (823-2910) (n = 2)
$\Sigma$ PCBs (grasa)	4543 $\pm$ 6684 2512 (191-34867) (n = 34)	4274 $\pm$ 393 2665 (1462-13376) (n = 8)	2702 $\pm$ 2475 14105 (1139-5560) (n = 3)	741 $\pm$ 716 403 (257-1565) (n = 3)	712 (n = 1)	669 (n = 1)	981 $\pm$ 54,9 (942-1020) (n = 2)
$\Sigma$ PBDEs (grasa)	51,1 $\pm$ 72,1 19,3 (0,94-336) (n = 34)	37,3 $\pm$ 29,4 25,3 (13,0-88,9) (n = 8)	17,4 $\pm$ 17,7 7,56 (6,66-44,8) (n = 3)	34,0 $\pm$ 39,5 11,4 (10,9-79,8) (n = 3)	8,26 (n = 1)	10,7 (n = 1)	25,6 $\pm$ 8,19 (12,1-23,7) (n = 2)
$\Sigma$ HAPs (grasa)	100 $\pm$ 59,0 78,9 (39,1-231) (n = 34)	109 $\pm$ 44,1 113 (56,7-183) (n = 8)	106 $\pm$ 32,1 106 (74,6-139) (n = 3)	63,6 $\pm$ 49,3 35,4 (34,9-121) (n = 3)	142 (n = 1)	81,3 (n = 1)	87,2 $\pm$ 24,4 (69,9-104) (n = 2)
$\Sigma$ PFASs (hígado)	259 $\pm$ 136 270 (8,58-523) (n = 29)	797 $\pm$ 709 690 (5,7-1922) (n = 5)	240 $\pm$ 249 (85,7-395) (n = 2)	–	78,7 (n = 1)	–	253 (n = 1)
$\Sigma$ PFASs (músculo)	26,0 $\pm$ 18,5 20,7 (4,80-75,3) (n = 18)	68,4 $\pm$ 50,0 67,8 (22,9-119) (n = 4)	26,8 $\pm$ 29,5 (5,7-47,8) (n = 2)	–	6,7 (n = 1)	–	18,9 (n = 1)



## IV.2. Variables intraespecíficas influyentes en la concentración de contaminantes

La capacidad de bioacumulación y biomagnificación de la gran mayoría de los contaminantes estudiados, así como de muchos otros que han quedado fuera del enfoque de este trabajo, hace que los individuos generalmente incrementen su carga de contaminación desde su nacimiento hasta la etapa adulta. La creciente capacidad de los individuos jóvenes no solo para ingerir mayores volúmenes de alimento, sino para alimentarse y capturar presas de mayor tamaño, hacen que la cantidad de contaminantes incorporada a sus tejidos sea cada vez de mayor magnitud. Además, estos contaminantes son absorbidos de manera prácticamente inmediata, mientras que su eliminación puede llevar días, meses o incluso años, en función del tipo. Sin embargo, para ciertas clases de contaminantes, esta relación se ve enmascarada por la transferencia maternal de los contaminantes hacia las crías mediante la circulación placentaria o la lactancia. Generalmente esta dinámica se atribuye a los contaminantes lipófilos, aunque también puede ocurrir en otros contaminantes no lipófilos, como los PFASs (Hart *et al.*, 2008; Houde *et al.*, 2006c). De acuerdo con la bibliografía existente (Hansen *et al.*, 2004; Petterson *et al.*, 2014), encontramos diferencias observables en la concentración de contaminantes liposolubles y bioacumulables estudiados (*i.e.*, POCs, PCBs, PBDEs) en base al sexo y la edad. Aunque este patrón no fue siempre constante, generalmente se detectaron concentraciones superiores en los machos adultos, seguidos de los individuos juveniles y las crías, que a su vez mostraron concentraciones mayores que las hembras adultas. Sin embargo, no encontramos una relación estadística significativa entre estos parámetros y las concentraciones de contaminantes, lo que atribuimos al escaso número de muestras valoradas. En cuanto a los PFASs, no encontramos una influencia estadísticamente significativa de las variables longitud y sexo, aunque en este caso tampoco fuimos capaces de observar un patrón claro en ninguno de los dos tejidos. En este caso no solo lo achacamos al escaso tamaño del set de muestras utilizado para el análisis, sino también a sus características, esencialmente a la homogeneidad en el tamaño de los individuos (longitud media  $175 \pm 36$  cm) y al escaso número de hembras maduras ( $n = 4$ ). En cualquiera de los casos anteriores, existen otros factores que pueden haber enmascarado estos procesos, como la inclusión de animales de diferentes épocas en las que haya existido una variación significativa en las concentraciones de contaminantes. Por otro lado, ni en el Hg ni en los PAHs encontramos relación entre sexo/longitud y concentraciones. Aunque en los PAHs los procesos de transferencia maternal también ocurren, su rápida metabolización y eliminación hace que el proceso no pueda ser percibido tan fácilmente.

Debido a las características del set de muestras utilizado en nuestro estudio (heterogeneidad escaso número de muestras de cada especie por año), no hemos sido capaces de valorar las variaciones temporales en las concentraciones de los compuestos evaluados. Además, las comparaciones con otros trabajos coetáneos o pretéritos deben ser tomadas con cautela por las razones anteriormente mencionadas.



### IV.3. Cetáceos como bioindicadores de la contaminación marina y contextualización de los datos

La utilidad de los cetáceos como bioindicadores de la contaminación marina ha sido probada en numerosas ocasiones (Bossart, 2011; Durante *et al.*, 2020; Wells *et al.*, 2004). Sin embargo, a diferencia de otras especies utilizadas con estos fines que se desplazan en áreas relativamente localizadas (p. ej., aves de presa) u otras que incluso son inmóviles (p. ej., mejillones), los cetáceos se desplazan por grandes extensiones de territorio de límites geográficos pocos definidos más allá de la línea de costa. Esto hace que sea complejo traducir la contaminación observada en sus tejidos al grado de contaminación de una zona acotada. Así mismo, los contaminantes en el medio marino, especialmente aquellos disueltos o en suspensión, son movilizados en mucha mayor medida que aquellos presentes en el medio terrestre, donde es más fácil delimitar y clasificar un área en base a su contaminación. Sin embargo, de la misma manera que las corrientes marinas y otros fenómenos oceanográficos distribuyen de maneras concretas y observables los nutrientes y los organismos planctónicos, estos fenómenos, junto con la localización, magnitud y naturaleza de las fuentes emisoras de contaminantes, la entrada de contaminantes por los ríos, y otros mecanismos más complejos como las dinámicas atmosféricas, determinan la existencia de gradientes de contaminación en el medio marino. El presente trabajo incluye siete especies diferentes de cetáceos odontocetos, cada una con un área vital o *home range* determinada y unos patrones de desplazamientos distintos. En base a esto, y teniendo en cuenta la gran persistencia en los tejidos de la mayor parte de los contaminantes valorados en este trabajo, los resultados observados en las diferentes especies no reflejan necesariamente el estado de contaminación del mismo área. Además, este área puede no corresponderse únicamente con una parte o la totalidad de las aguas adyacentes a la zona de estudio (la Región de Murcia), sino que puede abarcar mayores extensiones de terreno. La distribución y los movimientos de los cetáceos en el Mediterráneo, y en concreto en la costa mediterránea española, son en gran medida incomprendidos. Algunos, como el cachalote, se estima que tienen grandes áreas vitales (~ 1000 km<sup>2</sup>, Rendell *et al.*, 2014) de manera similar a las poblaciones del Pacífico (Whitehead, 2001), mientras que a otras especies como el delfín listado parece que se mueve en zonas más localizadas, aunque según la región que habite puede realizar desplazamientos estacionales de cientos de kilómetros (Constantino *et al.*, 2019; Laran y Drouot-Dulau, 2007).

La falta de información concreta sobre los movimientos de las especies estudiadas en nuestra zona de estudio impide establecer una relación estricta entre las concentraciones de contaminantes observados en los tejidos de estas especies y la contaminación de las aguas de la Región de Murcia. En cualquier caso, los resultados obtenidos muestran un nivel de contaminación elevado y, en función del contaminante, de un grado variable en relación con otros trabajos. En algunos casos hemos detectado concentraciones de contaminantes superiores a aquellos generalmente



reportados en otros trabajos previos tanto en el Mediterráneo como en otras regiones. Este ha sido el caso tanto para los PFASs como para el mercurio, habiéndose detectado en una de las muestras analizadas de cerebro la concentración de mercurio total más alta jamás publicada para este tejido en cetáceos (86,6 mg/kg en peso húmedo). Por el contrario, los contaminantes orgánicos persistentes (POCs, PCBs y PBDEs) y los HAPs, se situaron en niveles de concentración generalmente inferiores a los referidos en otros trabajos, tanto en el Mediterráneo como en otras localizaciones. Es difícil establecer las causas de estos resultados, aunque es probable que la utilización humana del territorio costero y ribereno de las aguas de la Región de Murcia y zonas adyacentes haya tenido influencia. La baja industrialización y urbanización de la mayor parte de esta zona, unido a una paulatina desaparición de los plaguicidas organoclorados otrora ampliamente utilizados en la agricultura, podrían explicar las concentraciones comparativamente bajas de los COPs y los HAPs. Por otro lado, con respecto a los niveles de PFASs, la única referencia previa en el Mediterráneo proviene de un número limitado de muestras recogidas en su mayor parte de varamientos ocurridos en 1991. Teniendo en cuenta que la producción de estos contaminantes alcanzó su máximo (4650 t/año) entre 2000 y 2002, es probable que aquellos animales varados hubiesen estado expuestos a concentraciones inferiores a las que estuvieron los animales incluidos en este trabajo.

En cualquier caso, contextualizar los resultados obtenidos no siempre es sencillo, ya que las inevitables diferencias metodológicas entre nuestro trabajo y los demás pueden dar lugar a sesgos en uno y otro sentido. Estas diferencias pueden proceder de la obtención, conservación, preparación y análisis de las muestras, así como en el tratamiento y la presentación de los datos. En la actualidad existen multitud de equipos y configuraciones, de reactivos y de protocolos para la extracción, la detección y la cuantificación de contaminantes ambientales. Variaciones en estos aspectos pueden dar lugar a variaciones significativas en los resultados incluso aunque los procesos se realicen correctamente y con las mayores garantías posibles. Por último, los resultados no siempre se expresan de la misma manera, lo que dificulta su comparación. En muchos casos no se proporcionan los resultados de cada una de las muestras del estudio, sino que se proporcionan unos resultados agrupados obtenidos a través del análisis estadístico de los resultados iniciales, en muchos casos sin proporcionar información relevante sobre la composición de la población (edad, sexo, estado fisiológico, *etc.*). Además, los estudios no siempre muestran sus resultados detallando la concentración para cada uno de los contaminantes considerados, sino que en muchas ocasiones los resultados expresan la suma de un grupo de contaminantes; por ejemplo, la suma de un determinado número de congéneres de PCBs. Sin embargo, los criterios de agrupación raramente están estandarizados y dos trabajos diferentes pueden aportar un resultado bajo el mismo nombre (p. ej.,  $\Sigma$ PCBs) que no se corresponde con los mismos compuestos. Para mayor complejidad, los resultados pueden expresarse en diferente base,



de manera que, mientras que algunos trabajos proveen sus resultados en base húmeda, otros trabajos lo hacen en peso seco o en peso lipídico.

#### ***IV.4. Interpretación toxicológica***

Cuantificar las concentraciones de contaminantes en los diferentes tejidos de los cetáceos es solo el primer paso para conseguir el conocimiento necesario que permita comprender las consecuencias que tiene la contaminación química sobre su bienestar y supervivencia. Avanzar en el conocimiento de los efectos que los contaminantes ambientales tienen en la salud de estas especies resulta imprescindible para entender el impacto que la exposición a los contaminantes que detectamos en sus tejidos puede tener en ellos. En la actualidad existe un creciente número de trabajos que intentan abordar este objetivo desde diferentes enfoques, incluyendo la utilización de biomarcadores enzimáticos, biomarcadores genéticos o mediante técnicas *in vitro*. Sin embargo, la mayor parte de información sobre efectos adversos de los contaminantes en su estudio proviene de otras especies de animales, principalmente de animales de laboratorio. Estos datos deben ser tratados con gran cautela ya que su extrapolación a otras especies tiene implícito un sesgo de magnitud incierta que resulta de las potenciales diferencias interespecíficas que pueden existir a todos los niveles en las interacciones de los contaminantes estudiados con el organismo, especialmente en casos donde el organismo del que provienen los datos y el organismo en el que se utilizan son tan fisiológica, ecológica y filogenéticamente distantes como un roedor y un cetáceo. Por ello, cuando se disponen, es preferible utilizar datos de animales salvajes relacionados con el medio marino. Es por tanto importante considerar que este trabajo ha utilizado frecuentemente información de esta naturaleza en su modesto intento por interpretar las potenciales implicaciones toxicológicas de las concentraciones detectadas sobre la salud de las poblaciones estudiadas. A pesar de la cautela que este tipo de aproximación requiere, en base a la información disponible sospechamos que las concentraciones de contaminantes reportadas en este estudio tienen consecuencias sobre la salud de las especies estudiadas; sin embargo, somos incapaces de valorar la magnitud de estas consecuencias. Las concentraciones encontradas para todos los contaminantes excepto los HAPs son generalmente superiores a las encontradas en la mayoría de organismos estudiados, lo que hace a estos cetáceos, en la misma línea que sus homólogos en otra partes del Mediterráneo y el planeta, estar particularmente expuestos a estas sustancias y a sus efectos tóxicos. En un número considerable de casos, las concentraciones observadas de ciertos contaminantes (p. ej., Hg, PCBs) han superado los umbrales de toxicidad descritos para estas especies, a pesar de que estos umbrales provienen de extrapolaciones a partir de información en otras especies. Mas aún, la concurrencia de numerosos contaminantes en el organismo puede dar lugar a efectos sinérgicos o paralelos que desencadenen de maneras difícilmente predecibles efectos tóxicos más perjudiciales que los que generarían de manera aislada. La falta de información hace imposible conocer el peligro real al que las poblaciones





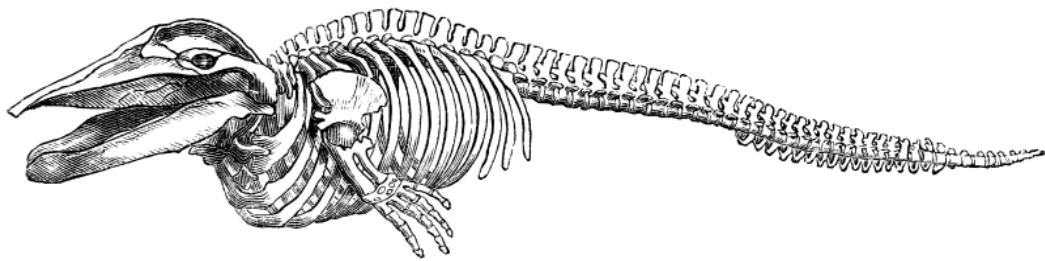
estudiadas están expuestas. Sin embargo, consideramos altamente probable que el grado de estrés químico asociado a las concentraciones reportadas en este trabajo sea suficiente para dificultar en algún grado la supervivencia de las poblaciones estudiadas, especialmente si consideramos holísticamente la contaminación química como uno de los muchos estresores (p. ej., sobrepesca, *by-catch*, contaminación acústica) a los que están sometidos estas especies.

#### **IV.5. Utilidad de los varamientos y necesidad de las redes de varamientos**

Ciertos trabajos han mostrado la necesidad de ser cautelosos a la hora de valorar el estado de contaminación de una población de mamíferos marinos cuando las muestras analizadas provienen de varamientos. Los individuos varados no tienen por qué reflejar necesariamente la carga de contaminación de la población al completo, sino que puede existir un sesgo de variada índole. Por ejemplo, niveles altos de contaminantes en el organismo pueden dar lugar a consecuencias en la salud de los individuos que los haga más susceptibles a enfermar y morir, lo que favorecería la llegada de animales con concentraciones de contaminantes superiores a los de la población general. Además, los animales varados en muchos casos llegan a las costas por algún tipo de alteración previa en su salud (p. ej., infecciones, heridas, *etc.*) que puede haber dado lugar o sido consecuencia de un estado de desnutrición y caquexia (Bennet *et al.*, 2001; Geraci *et al.*, 2005). Esta situación puede tener implicaciones en la concentración y distribución de la carga de contaminantes presentes en sus tejidos. Por ejemplo, en caso de falta de alimento, el organismo extrae energía de sus reservas grasas, produciendo una movilización de los contaminantes liposolubles hacia la sangre y los órganos (Ferreira *et al.*, 2016). Sin embargo, aun con sus limitaciones los varamientos son indiscutiblemente una herramienta indispensable para el estudio de los cetáceos en el ámbito de la toxicología. A pesar de que la tendencia creciente a muestrear a los animales mediante dardos de biopsia podría ser una opción realista para el estudio de ciertos contaminantes en la grasa de estas especies, una parte de los resultados derivados de este trabajo no hubiese sido posible sin la utilización de estas muestras, aun con el sesgo de interpretación al que estas pudiesen llevar. Esta es, entre muchas otras, una razón de peso para redoblar esfuerzos en el mantenimiento y la mejora de la Red de Varamientos de la Región de Murcia. Las redes de varamientos son herramientas esenciales para la obtención de información sobre los cetáceos, unos animales emblemáticos, de gran valor simbólico para la mayor parte de la sociedad y con un rol esencial en el mantenimiento de la salud de los ecosistemas marinos. Como demuestra este trabajo, a su vez precedido por tantos otros, la información toxicológica obtenida a partir del estudio de los varamientos no solo es importante para entender y conservar estas especies, sino que también nos proporciona información incalculable sobre el medio marino. Esta información puede ser usada por instituciones científicas y conservacionistas, pero también por las administraciones para la toma de decisiones. Una red de varamientos bien establecida, dotada de recursos personales y económicos suficientes, y coordinada con otras redes de varamientos



nacionales e internacionales permitiría recabar no solo un mayor volumen de información sino una información de mayor calidad. Es importante concienciar a las administraciones públicas a invertir y potenciar estos proyectos. Mientras tanto, es vital seguir investigando y divulgando sobre la necesidad y los beneficios de la existencia de estas fuentes de información tan valiosas.



## **V. Conclusiones**

*Conclusions*



La supervivencia de las poblaciones de cetáceos trasciende el – necesario – interés conservacionista aplicable a cualquier especie o grupo taxonómico. Los cetáceos tienen un rol ecológico fundamental, de manera que la salud de sus poblaciones está estrechamente ligada con la salud de los ecosistemas marinos, de los que dependen en gran medida las poblaciones humanas, especialmente aquellas asentadas en ambientes costeros. A pesar de sus limitaciones, el trabajo realizado en esta tesis ofrece información valiosa sobre la contaminación a la que los cetáceos que habitan o transitan por las aguas de la Región de Murcia han estado expuestos a lo largo de la última década. Esta información permite parcialmente rellenar el vacío existente en torno a esta región de la costa mediterránea española, que en muchos casos ha pasado injustamente desapercibida en favor de otras regiones adyacentes. La riqueza en abundancia y diversidad de la fauna cetácea de las aguas del sureste español y de la Región de Murcia en particular, unido a la importancia de esta zona para la conservación y la reproducción de varias especies de cetáceos, hacen necesario el desarrollo de mayor investigación en torno a estas especies.

La información obtenida en este trabajo debe idealmente estar enfocada a sentar las bases para un estudio en mayor profundidad del estado de contaminación y los efectos de los cetáceos del sureste español. Sin embargo y a pesar de sus limitaciones, los resultados que proporcionamos tienen un valor intrínseco más allá de suponer un punto de partida de cara al futuro. Cada capítulo incluye las conclusiones específicas derivadas de los resultados derivados del mismo. A continuación, se detallan una serie de conclusiones extraídas del conjunto de toda la información obtenida en este trabajo:

- A pesar de la dificultad de su estudio, los cetáceos son buenos indicadores del estado de la contaminación de los mares ya que sus características diferenciales permiten obtener una información valiosa sobre la contaminación del medio marino que habitan.
- Una parte significativa de los contaminantes estudiados y detectados en este trabajo han sido parcial o completamente prohibidos a escala regional e internacional, algunos desde hace ya varias décadas; sin embargo, los niveles de concentración detectados hacen prever una lejana desaparición de muchos de ellos del medio marino, desde donde son incorporados no solo a los cetáceos y el resto de fauna marina, sino a las personas, a través de los recursos alimentarios extraídos del mar.
- Los cetáceos que viven en o utilizan las aguas de la costa mediterránea del sureste español muestran concentraciones excesivamente altas de mercurio y PFASs en comparación con sus homólogos de otras regiones del planeta, aunque las concentraciones de compuestos



orgánicos liposolubles parecen ser inferiores a las descritas en otras localizaciones del Mediterráneo y otros mares.

- Aquellos cetáceos de dieta oportunista compuesta por distintas proporciones de peces y cefalópodos de aguas superficiales (- 200 m) generalmente acumulan mayores niveles de contaminantes que las especies exclusivamente teutófagas que cazan a mayores profundidades, aunque desconocemos con exactitud cuál de estas variables tiene mayor influencia y mediante qué mecanismos. En cambio, y a pesar de lo esperado, la utilización de aguas costeras por parte de algunas especies no mostró una influencia clara en las concentraciones de contaminantes, excepto en el caso de los PFASs.
- Una mayor inversión en las redes de varamiento y una mejora en la coordinación y cooperación de las redes existentes en la costa española permitiría mejorar la cantidad y la calidad de la información obtenida a partir de estos fenómenos, así como su aprovechamiento a nivel científico. De esta manera se podría profundizar más en algunas de las dinámicas que no han podido ser esclarecidas en este trabajo por el pequeño tamaño muestral disponible o la falta de información.
- A pesar de que sigue siendo necesaria mayor investigación sobre la exposición a contaminantes ambientales en cetáceos para comprender sus dinámicas regionales y temporales, la investigación sobre los potenciales efectos de los contaminantes en estas especies es de especial urgencia para poder interpretar con mayor rigor los resultados obtenidos en los trabajos de monitorización, lo que sería beneficioso en la conservación de estas especies.
- El casi absoluto desconocimiento con respecto a las consecuencias sobre la salud derivadas de la exposición a los contaminantes de interés en las especies de estudio hace extremadamente compleja la interpretación toxicológica de las concentraciones observadas. No obstante, en base a la limitada evidencia disponible no es aventurado sospechar que al menos una parte de la carga de contaminación observada esté ocasionando mediante diferentes mecanismos un perjuicio de incierta magnitud para la salud de poblaciones, tanto por su influencia aislada como por su interacción con otros contaminantes y con el resto de estresores al que se enfrentan rutinariamente estas especies.
- La información obtenida a este respecto es una aportación pequeña pero significativa a la hora de proveer de evidencia técnica y científica tanto a las agencias, organizaciones y organismos públicos y privados encargados del control de la contaminación, como para aquellos encargados de la protección y gestión de la biodiversidad marina. El banco de evidencias a la que se añade este estudio puede ser útil a dichas entidades para evaluar el impacto de las medidas llevadas a cabo, así como abordar rigurosamente sus acciones futuras.



The survival of cetacean populations transcends the - necessary - conservationist interest applicable to any species or taxonomic group. Cetaceans have a fundamental ecological role. Therefore, the status of their populations is closely linked to the health of marine ecosystems, on which human populations, especially those settled in coastal environments, depend to a great extent. Despite its limitations, the work carried out in this thesis offers valuable information on the pollution to which cetaceans inhabiting or passing through the waters of the Region of Murcia have been exposed over the last decade. This information allows us to partially fill in the existing gap around this region of the Spanish Mediterranean coast, which in many cases has been unfairly overlooked in favor of other adjacent regions. The richness in abundance and diversity of the cetacean fauna of the waters of southeastern Spain and of the Region of Murcia in particular, together with the importance of this area for the conservation and reproduction of several species of cetaceans, make it necessary to develop further research on these species.

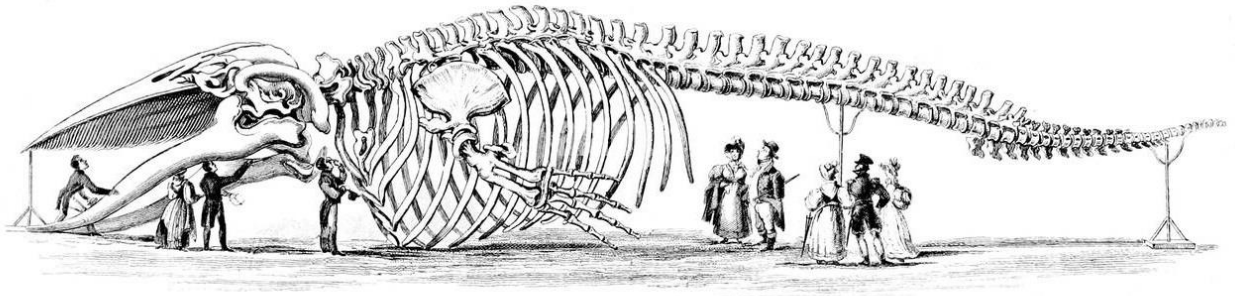
The information obtained in this work should ideally be considered as the groundwork for a more in-depth study of the pollution status and effects of cetaceans in southeastern Spain. However, despite its limitations, the results we provide have an intrinsic value beyond being a starting point for the future. Each chapter includes specific conclusions derived from the results. The following are a series of conclusions drawn from the collective assessment of all the information obtained in this work:

- Despite the complexity of their study, cetaceans are valuable indicators of the ocean pollution status, since their unique characteristics allow us to obtain valuable information on the pollution of the marine environment they inhabit.
- A significant fraction of the pollutants studied and detected in this work have been partially or completely banned at regional and international level, some of them for several decades. However, our results suggest that many of them will still take time to disappear from the marine environment, from where they are incorporated not only to cetaceans and other marine fauna, but also to humans, through food resources extracted from the sea.
- Cetaceans living in or using the waters off the Mediterranean coast of southeastern Spain currently have excessively high concentrations of mercury and PFASs compared to other cetaceans in other worldwide regions, although concentrations of fat-soluble organic compounds appear to be lower than those described in other Mediterranean locations.
- Those cetaceans with an opportunistic and varied diet composed of different proportions of fish and cephalopods from shallow waters (- 200 m) generally accumulate higher levels of pollutants than those exclusively teuthophagous species that hunt at greater depths.



However, we do not know exactly which of these variables has a greater influence and by what mechanisms. In contrast, and despite expectations, the use of coastal waters by some species did not show a clear influence on contaminant concentrations, except in the case of PFASs.

- A greater investment in stranding networks and an improvement in the coordination and cooperation of the existing networks on the Spanish coast would improve the quantity and quality of the information obtained from these phenomena, as well as their scientific use. In this way, it would be possible to go deeper into some of the dynamics that could not be clarified in this work due to the small sample size available and the lack of information.
- Although further research on exposure to environmental pollutants in cetaceans is still needed to understand their regional and temporal dynamics, research on the potential effects of pollutants on these species is of particular urgency to be able to assess with higher accuracy the results obtained in the monitoring work, which would be beneficial for the conservation of these species.
- The almost complete lack of knowledge regarding the health consequences derived from exposure to the pollutants of interest in the study species makes the toxicological interpretation of the observed concentrations extremely complex. However, based on the limited evidence available, it is not unreasonable to suspect that at least part of the observed pollution load is causing, through different mechanisms, an uncertain magnitude of damage to the health of populations, both due to its isolated influence and its interaction with other pollutants and with the rest of the stressors that these species routinely face.
- The information obtained in this work is a small but significant contribution to the pool of technical and scientific background available to public and private agencies and organizations responsible for the protection of the environment and biodiversity. The evidence body to which this study is added may be useful to these entities to assess the impact of the measures carried out, as well as to rigorously address their future actions.



## VI. Listado de referencias





3M, 2000. Phase-out Plan for POSF-Based Products. US Environmental Protection Agency Docket AR226-0588; USEPA, St. Paul, MN.

## A

Abubakar, Y., Tijjani, H., Egbuna, C., Adetunji, C. O., Kala, S., Kryeziu, T. L., ... & Patrick-Iwuanyanwu, K. C. (2020). Pesticides, history, and classification. In *Natural remedies for pest, disease and weed control* (pp. 29-42). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819304-4.00003-8>.

ACCOBAMS (2016). Cetaceans critical Habitats in ACCOBAMS [https://www.accobams.org/wp-content/uploads/2018/09/ACCOBAMS\\_CCH.pdf](https://www.accobams.org/wp-content/uploads/2018/09/ACCOBAMS_CCH.pdf). Consultado el 13 de junio de 2022.

ACCOBAMS (2021a). Conserving whales, dolphins & Porpoises in the Mediterranean Sea, Black Sea and adjacent areas.: an ACCOBAMS status report 2021. 160 p. Obtenido en [https://accobams.org/wp-content/uploads/2022/03/ACCOBAMS\\_ConservingWDP\\_web\\_2022.pdf](https://accobams.org/wp-content/uploads/2022/03/ACCOBAMS_ConservingWDP_web_2022.pdf).

ACCOBAMS, 2021b. Estimates of abundance and distribution of cetaceans, marine mega-fauna and marine litter in the Mediterranean Sea from 2018-2019 surveys. By Panigada S., Boisseau O., Cañadas A., Lambert C., Laran S., McLanaghan R., Moscrop A. - Ed. ACCOBAMS - ACCOBAMS Survey Initiative Project, Monaco, 177 p.

Ackerman, J. T., Eagles-Smith, C. A., Herzog, M. P., Hartman, C. A., Peterson, S. H., Evers, D. C., ... & Bryan, C. E. (2016). Avian mercury exposure and toxicological risk across western North America: a synthesis. *Science of the Total Environment*, 568, 749-769. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.071>.

Acosta-Dacal, A., Rial-Berriel, C., Díaz-Díaz, R., del Mar Bernal-Suárez, M., & Luzardo, O. P. (2021). Optimization and validation of a QuEChERS-based method for the simultaneous environmental monitoring of 218 pesticide residues in clay loam soil. *Science of the Total Environment*, 753, 142015. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142015>.

Aguilar, A., Raga, J.A., 1993. The striped dolphin epizootic in the Mediterranean Sea. *Ambio* 524e528

Aguilar, A., & Borrell, A. (1994a). Reproductive transfer and variation of body load of organochlorine pollutants with age in fin whales (*Balaenoptera physalus*). *Archives of environmental contamination and toxicology*, 27(4), 546-554. <https://doi.org/10.1007/BF00214848>.

Aguilar, A., Borrell, A. (1994b). Abnormally high polychlorinated biphenyl levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) affected by the 1990e1992 Mediterranean epizootic. *Sci. Total Environ.* 154 (2e3), 237e247. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90091-4](https://doi.org/10.1016/0048-9697(94)90091-4).

Aguilar, A., Forcada, J., Borrell, A., Silvani, L., Grau, E., Gazo, J.M., Calzada, N., Pastor, T., Badosa, E., Arderiu, A., Samaranch, M., 1994. Inventario de cetáceos mediterráneos ibéricos: status y problemas de conservación. [https://www.miteco.gob.es/es/costas/publicaciones/bm\\_bbdd\\_inventario\\_mediterraneas\\_tcm30-161264.pdf](https://www.miteco.gob.es/es/costas/publicaciones/bm_bbdd_inventario_mediterraneas_tcm30-161264.pdf).

Aguilar, A., Borrell, A., & Pastor, T. (1999). Biological factors affecting variability of persistent pollutant levels in cetaceans. *J. Cetacean Res. Manage.*, 83-116. <https://doi.org/10.47536/jcrm.v1i1.264>.

Aguilar, A. (2000). Population biology, conservation threats and status of Mediterranean striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *J. Cetacean Res. Manag.*, 2(1), 17-26.

Aguilar, A., Borrell, A., & Reijnders, P. J. H. (2002). Geographical and temporal variation in levels of organochlorine contaminants in marine mammals. *Marine environmental research*, 53(5), 425-452. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(01\)00128-3](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(01)00128-3).

Aguilar, A., & Borrell, A. (2005). DDT and PCB reduction in the western Mediterranean from 1987 to 2002, as shown by levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Marine environmental research*, 59(4), 391-404. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.06.004>.



Aguilar, A. & Gaspari, S. 2012. *Stenella coeruleoalba*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T20731A2773889.

Ahrens, L., Siebert, U., Ebinghaus, R., 2009. Total body burden and tissue distribution of polyfluorinated compounds in harbor seals (*Phoca vitulina*) from the German Bight. *Mar. Pollut. Bull.* 58 (4), 520e525. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.11.030>.

Ahrens, L., Gerwinski, W., Theobald, N., & Ebinghaus, R. (2010). Sources of polyfluoroalkyl compounds in the North Sea, Baltic Sea and Norwegian Sea: evidence from their spatial distribution in surface water. *Marine Pollution Bulletin*, 60(2), 255-260. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.09.013>.

Alava, J. J., Cheung, W. W., Ross, P. S., & Sumaila, U. R. (2017). Climate change–contaminant interactions in marine food webs: Toward a conceptual framework. *Global change biology*, 23(10), 3984-4001. <https://doi.org/10.1111/gcb.13667>.

Albers, P. H., & Loughlin, T. R. (2003). Birds, Mammals and Reptiles. PAHs: an ecotoxicological perspective, 243. <https://doi.org/10.1002/0470867132>.

Alonso, M. B., Azevedo, A., Torres, J. P. M., Dorneles, P. R., Eljarrat, E., Barceló, D., ... & Malm, O. (2014). Anthropogenic (PBDE) and naturally-produced (MeO-PBDE) brominated compounds in cetaceans—a review. *Science of the Total Environment*, 481, 619-634. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.022>.

Alzieu, C., & Duguy, R. (1979). Teneurs en composés organochlores chez les cétacés et pinnipèdes fréquentant les côtes françaises. *Oceanologica Acta*, 2(1), 107-120.

AMAP, 2018. Biological Effects of Contaminants on Arctic Wildlife and Fish. Arctic Monitoring and Assessment Programme (AMAP), Oslo, Norway.

Ancora, S., Rossi, R., Di Simplicio, P., Lusini, L., & Leonzio, C. (2002). In vitro study of methylmercury in blood of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 42(3), 348-353. <https://doi.org/10.1007/s00244-001-0005-6>.

Andersen, S. H., & Rebsdorff, A. (1976). Polychlorinated hydrocarbons and heavy metals in harbour porpoise (*Phocoena phocoena*) and white beaked dolphin (*Lagenorhynchus albirostris*) from Danish waters. *Aquatic mammals*, 4(1), 14-20.

Andersen, H. R., Nielsen, J. B., & Grandjean, P. (2000). Toxicologic evidence of developmental neurotoxicity of environmental chemicals. *Toxicology*, 144(1-3), 121-127. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(99\)00198-5](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(99)00198-5).

Andersen, M. S., & Clubb, D. O. (2013). 23 Understanding and accounting for the costs of inaction. Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation, 33.

Andre, J. M., Boudou, A., & Ribeyre, F. (1991). Mercury accumulation in Delphinidae. *Water Air & Soil Pollution*, 56(1), 187-201. <https://doi.org/10.1007/BF00342271>.

Ann Reed, L., McFee, W. E., Pennington, P. L., Wirth, E. F., & Fulton, M. H. (2015). A survey of trace element distribution in tissues of the dwarf sperm whale (*Kogia sima*) stranded along the South Carolina coast from 1990–2011. *Marine pollution bulletin*, 100(1), 501-506. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.09.005>.

Apprill, A., Miller, C. A., Moore, M. J., Durban, J. W., Fearnbach, H., & Barrett-Lennard, L. G. (2017). Extensive core microbiome in drone-captured whale blow supports a framework for health monitoring. *MSystems*, 2(5), e00119-17. <https://doi.org/10.1128/mSystems.00119-17>.

Armitage, J.M., Schenker, U., Scheringer, M., Martin, J.W., MacLeod, M., Cousins, I.T., 2009. Modeling the global fate and transport of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and precursor compounds in relation to temporal trends in wildlife exposure. *Environ. Sci. Technol.* 43 (24), 9274e9280. <https://doi.org/10.1021/es901448p>.

Armstrong, B., Hutchinson, E., Unwin, J., & Fletcher, T. (2004). Lung cancer risk after exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review and meta-analysis. *Environmental health perspectives*, 112(9), 970-978. <https://doi.org/10.1289/ehp.6895>.



- Arnason, U., Gullberg, A., & Janke, A. (2004). Mitogenomic analyses provide new insights into cetacean origin and evolution. *Gene*, 333, 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.02.010>.
- Aschner, M., & Aschner, J. L. (1990). Mercury neurotoxicity: mechanisms of blood-brain barrier transport. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 14(2), 169-176. [https://doi.org/10.1016/S0149-7634\(05\)80217-9](https://doi.org/10.1016/S0149-7634(05)80217-9).
- Astruc, G., & Beaubrun, P. (2005). Do Mediterranean cetaceans diets overlap for the same resources. *Eur. Res. Cet*, 19, 81.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2000. Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (update). U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA.
- Aulsebrook, L. C., Bertram, M. G., Martin, J. M., Aulsebrook, A. E., Brodin, T., Evans, J. P., ... & Wong, B. B. (2020). Reproduction in a polluted world: implications for wildlife. *Reproduction*, 160(2), R13-R23. <https://doi.org/10.1530/REP-20-0154>.
- Austin, M.E., Kasturi, B.S., Barber, M., Kannan, K., MohanKumar, P.S., MohanKumar, S.M., 2003. Neuroendocrine effects of perfluorooctane sulfonate in rats. *Environ. Health Perspect.* 111 (12), 1485e1489. <https://doi.org/10.1289/ehp.6128>.
- Aznar-Alemany, O., Sala, B., Plön, S., Bouwman, H., Barceló, D., & Eljarrat, E. (2019). Halogenated and organophosphorus flame retardants in cetaceans from the southwestern Indian Ocean. *Chemosphere*, 226, 791-799. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.165>.
- Azzellino, A., Gaspari, S., Airoidi, S., & Nani, B. (2008). Habitat use and preferences of cetaceans along the continental slope and the adjacent pelagic waters in the western Ligurian Sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 55(3), 296-323. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsr.2007.11.006>.
- Azzellino, A., Fossi, M. C., Gaspari, S., Lanfredi, C., Lauriano, G., Marsili, L., ... & Podesta, M. (2014). An index based on the biodiversity of cetacean species to assess the environmental status of marine ecosystems. *Marine environmental research*, 100, 94-111. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.06.003>.
- Azzellino, A., Airoidi, S., Gaspari, S., Lanfredi, C., Moulins, A., Podestà, M., ... & Tepsich, P. (2016). Risso's dolphin, *Grampus griseus*, in the Western Ligurian Sea: trends in population size and habitat use. *Advances in Marine Biology*, 75, 205-232. <https://doi.org/10.1016/bs.amb.2016.08.003>.

---

**B**

- Baatrup, E. (1991). Structural and functional effects of heavy metals on the nervous system, including sense organs, of fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 100(1-2), 253-257. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(91\)90163-N](https://doi.org/10.1016/0742-8413(91)90163-N).
- Bacci, E. (1989). Mercury in the Mediterranean. *Marine Pollution Bulletin*, 20(2), 59-63. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(89\)90227-0](https://doi.org/10.1016/0025-326X(89)90227-0).
- Bach, P. B., Kelley, M. J., Tate, R. C., & McCrory, D. C. (2003). Screening for lung cancer: a review of the current literature. *Chest*, 123(1), 72S-82S. [https://doi.org/10.1378/chest.123.1\\_suppl.72S](https://doi.org/10.1378/chest.123.1_suppl.72S).
- Bacher, G. J. (1985). Mercury concentrations in the Australian fur seal *Arctocephalus pusillus* from SE Australian Waters. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 35(1), 490-495. <https://doi.org/10.1007/BF01636543>.
- Bachman, M. J., Keller, J. M., West, K. L., & Jensen, B. A. (2014). Persistent organic pollutant concentrations in blubber of 16 species of cetaceans stranded in the Pacific Islands from 1997 through 2011. *Science of the total environment*, 488, 115-123. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.04.073>.
- Banks, R. E., Smart, B. E., Tatlow, J. C., 1994. Eds. *Organofluorine Chemistry Principles and Commercial Applications*; Plenum Press: New York, 1994.
- Bagge, L. E., Koopman, H. N., Rommel, S. A., McLellan, W. A., & Pabst, D. A. (2012). Lipid class and depth-specific thermal properties in the blubber of two species of odontocete cetaceans, the short-finned pilot whale (*Globicephala macrorhynchus*) and the pygmy sperm whale (*Kogia breviceps*). *Journal of Experimental Biology*. <https://doi.org/10.1242/jeb.071530>.



- Baird, R. W., Borsani, J. F., Hanson, M. B., & Tyack, P. L. (2002). Diving and night-time behavior of long-finned pilot whales in the Ligurian Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 237, 301-305. <https://doi.org/10.3354/meps237301>.
- Baird, W. M., Hooven, L. A., & Mahadevan, B. (2005). Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and mechanism of action. *Environmental and molecular mutagenesis*, 45(2-3), 106-114. <https://doi.org/10.1002/em.20095>.
- Balcioğlu, E. B. (2016). Potential effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in marine foods on human health: a critical review. *Toxin Reviews*, 35(3-4), 98-105. <https://doi.org/10.1080/15569543.2016.1201513>.
- Barakat, A. O., Mostafa, A., Wade, T. L., Sweet, S. T., & El Sayed, N. B. (2011). Distribution and characteristics of PAHs in sediments from the Mediterranean coastal environment of Egypt. *Marine Pollution Bulletin*, 62(9), 1969-1978. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.024>.
- Barnes, L. G., Domning, D. P., & Ray, C. E. (1985). Status of studies on fossil marine mammals. *Marine Mammal Science*, 1(1), 15-53. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1985.tb00530.x>.
- Barón, E., Giménez, J., Verborgh, P., Gauffier, P., De Stephanis, R., Eljarrat, E., & Barceló, D. (2015a). Bioaccumulation and biomagnification of classical flame retardants, related halogenated natural compounds and alternative flame retardants in three delphinids from Southern European waters. *Environmental Pollution*, 203, 107-115. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.03.041>.
- Barón, E., Hauler, C., Gallistl, C., Giménez, J., Gauffier, P., Castillo, J. J., ... & Barceló, D. (2015b). Halogenated natural products in dolphins: brain-blubber distribution and comparison with halogenated flame retardants. *Environmental science & technology*, 49(15), 9073-9083. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02736>.
- Bartalini, A., Muñoz-Arnanz, J., Marsili, L., Mazzariol, S., Fossi, M. C., & Jiménez, B. (2019). Evaluation of PCDD/Fs, dioxin-like PCBs and PBDEs in sperm whales from the Mediterranean Sea. *Science of the Total Environment*, 653, 1417-1425. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.10.436>.
- Basu, N., Klenavic, K., Gamberg, M., O'Brien, M., Evans, D., Scheuhammer, A. M., & Chan, H. M. (2005a). Effects of mercury on neurochemical receptor-binding characteristics in wild mink. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 24(6), 1444-1450. <https://doi.org/10.1897/04-048R.1>.
- Basu, N., Scheuhammer, A., Grochowina, N., Klenavic, K., Evans, D., O'Brien, M., & Chan, H. M. (2005b). Effects of mercury on neurochemical receptors in wild river otters (*Lontra canadensis*). *Environmental science & technology*, 39(10), 3585-3591. <https://doi.org/10.1021/es0483746>.
- Basu, N., Stamler, C. J., Loua, K. M., & Chan, H. M. (2005c). An interspecies comparison of mercury inhibition on muscarinic acetylcholine receptor binding in the cerebral cortex and cerebellum. *Toxicology and applied pharmacology*, 205(1), 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2004.09.009>.
- Basu, N., Kwan, M., & Man Chan, H. (2006). Mercury but not organochlorines inhibits muscarinic cholinergic receptor binding in the cerebrum of ringed seals (*Phoca hispida*). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 69(12), 1133-1143. <https://doi.org/10.1080/15287390500362394>.
- Basu, N., Scheuhammer, A. M., Sonne, C., Letcher, R. J., Born, E. W., & Dietz, R. (2009). Is dietary mercury of neurotoxicological concern to wild polar bears (*Ursus maritimus*). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 28(1), 133-140. <https://doi.org/10.1897/08-251.1>.
- Basu, N., & Head, J. (2010). Mammalian wildlife as complementary models in environmental neurotoxicology. *Neurotoxicology and Teratology*, 32(1), 114-119. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2008.12.005>.
- Baumard, P., Budzinski, H., Michon, Q., Garrigues, P., Burgeot, T., & Bellocq, J. (1998a). Origin and bioavailability of PAHs in the Mediterranean Sea from mussel and sediment records. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 47(1), 77-90. <https://doi.org/10.1006/ecss.1998.0337>.
- Baumard, P., Budzinski, H., & Garrigues, P. (1998b). Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and mussels of the western Mediterranean Sea. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 17(5), 765-776. <https://doi.org/10.1002/etc5620170501>.



- Bearzi, G., Reeves, R.R., Norbartolo-di-sciara, Giuseppe, Politi, E., Canadas, A.N.A., Frantzis, A., Mussi, B., 2003. Ecology, status and conservation of short-beaked common dolphins *Delphinus delphis* in the Mediterranean Sea. *Mamm Rev.* 33 (3-4), 224e252. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2907.2003.00032.x>.
- Bearzi, G. 2012. *Delphinus delphis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T134817215A195829089. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012-1.RLTS.T134817215A195829089.en>.
- Bearzi, G., Fortuna, C. & Reeves, R. 2012. *Tursiops truncatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T22563A2782611.
- Becker, P. R., Mackey, E. A., Demiralp, R., Suydam, R., Early, G., Koster, B. J., & Wise, S. A. (1995). Relationship of silver with selenium and mercury in the liver of two species of toothed whales (Odontocetes). *Marine Pollution Bulletin*, 30(4), 262-271. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(94\)00176-A](https://doi.org/10.1016/0025-326X(94)00176-A).
- Beineke, A., Siebert, U., Wohlsein, P., & Baumgärtner, W. (2010). Immunology of whales and dolphins. *Veterinary immunology and immunopathology*, 133(2-4), 81-94. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.06.019>.
- Bellante, A., Sprovieri, M., Buscaino, G., Buffa, G., Di Stefano, V., Salvagio Manta, D., ...& Mazzola, S. (2012). Stranded cetaceans as indicators of mercury pollution in the Mediterranean Sea. *Italian journal of zoology*, 79(1), 151-160. <https://doi.org/10.1080/11250003.2011.621072>.
- Bellante, A., D'Agostino, F., Traina, A., Piazzese, D., Milazzo, M. F., & Sprovieri, M. (2017). Hg and Se exposure in brain tissues of striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) and bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) from the Tyrrhenian and Adriatic Seas. *Ecotoxicology*, 26(2), 250-260. <https://doi.org/10.1007/s10646-017-1759-6>.
- Bennett, P. M., Jepson, P. D., Law, R. J., Jones, B. R., Kuiken, T., Baker, J. R., ... & Kirkwood, J. K. (2001). Exposure to heavy metals and infectious disease mortality in harbour porpoises from England and Wales. *Environmental Pollution*, 112(1), 33-40. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00105-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00105-6).
- Benoit, G. and Comeau, A. (2005) A Sustainable Future for the Mediterranean: the Blue Plan's Environment and Development Outlook, Earthscan. <https://doi.org/10.4324/9781849770323>.
- Benoit-Bird, Kelly J., Brandon L. Southall, and Mark A. Moline, 2019. "Dynamic foraging by Risso's dolphins revealed in four dimensions." *Marine Ecology Progress Series* 632: 221-234. <https://doi.org/10.3354/meps13157>.
- Bernier, J., Fournier, M., De Guise, S., Martineau, D., & Beland, P. (1996). Effects of in vitro exposure of beluga whale splenocytes and thymocytes to heavy metals. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 15(8), 1357-1364. <https://doi.org/10.1002/etc5620150815>.
- Bertram, M. G., Martin, J. M., McCallum, E. S., Alton, L. A., Brand, J. A., Brooks, B. W., ... & Brodin, T. (2022). Frontiers in quantifying wildlife behavioural responses to chemical pollution. *Biological Reviews*. <https://doi.org/10.1111/brv.12844>.
- Bethoux, J. P., Gentili, B., Raunet, J., & Tailliez, D. (1990). Warming trend in the western Mediterranean deep water. *Nature*, 347(6294), 660-662. <https://doi.org/10.1038/347660a0>.
- Betti, C., & Nigro, M. (1996). The Comet assay for the evaluation of the genetic hazard of pollutants in cetaceans: Preliminary results on the genotoxic effects of methyl-mercury on the bottle-nosed dolphin (*Tursiops truncatus*) lymphocytes in vitro. *Marine Pollution Bulletin*, 32(7), 545-548. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(96\)84573-5](https://doi.org/10.1016/0025-326X(96)84573-5).
- Blanco, C., Aznar, J., Raga, J.A. (1995). Cephalopods in the diet of the striped dolphin *Stenella coeruleoalba* from the western Mediterranean during an epizootic in 1990. *J. Zool.* 237 (1), 151e158. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1995.tb02753.x>.
- Blanco, C., Salomón, O., Raga, J.A., 2001. Diet of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in the western Mediterranean Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 81 (6), 1053e1058. <https://doi.org/10.1017/S0025315401005057>.



- Blanco, C., Raduán, M. Á., & Raga, J. A. (2006). Diet of Risso's dolphin (*Grampus griseus*) in the western Mediterranean Sea. *Scientia Marina*, 70(3), 407-411.
- Bloom, N. S. (1992). On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 49(5), 1010-1017. <https://doi.org/10.1139/f92-113>.
- Bearzi, G., Reeves, R.R., Norbartolo-di-sciara, Giuseppe, Politi, E., Canadas, A.N.A., Frantzis, A., Mussi, B., 2003. Ecology, status and conservation of short-beaked common dolphins *Delphinus delphis* in the Mediterranean Sea. *Mamm Rev.* 33 (3-4), 224e252. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2907.2003.00032.x>.
- Bearzi, G., Holcer, D., & Notarbartolo di Sciara, G. (2004). The role of historical dolphin takes and habitat degradation in shaping the present status of northern Adriatic cetaceans. *Aquatic Conservation: Marine and freshwater ecosystems*, 14(4), 363-379.
- Bearzi, G., Fortuna, C. M., Reeves, R. R., & Notarbartolo di Sciara, G. (2006). Common bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (Mediterranean subpopulation). The status and distribution of cetaceans in the Black Sea and Mediterranean Sea, 64-73.
- Bearzi, G., Agazzi, S., Bonizzoni, S., Costa, M., & Azzellino, A. (2008). Dolphins in a bottle: abundance, residency patterns and conservation of bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* in the semi-closed eutrophic Amvrakikos Gulf, Greece. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 18(2), 130-146. <https://doi.org/10.1002/aqc.843>.
- Bearzi, G. 2012. *Delphinus delphis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T134817215A195829089. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2012-1.RLTS.T134817215A195829089>.
- Béland, P., DeGuise, S., Girard, C., Lagace, A., Martineau, D., Michaud, R., ... & Shugart, L. R. (1993). Toxic compounds and health and reproductive effects in St. Lawrence beluga whales. *Journal of Great Lakes Research*, 19(4), 766-775. [https://doi.org/10.1016/S0380-1330\(93\)71264-2](https://doi.org/10.1016/S0380-1330(93)71264-2).
- Benlahcen, K. T., Chaoui, A., Budzinski, H., Bellocq, J., & Garrigues, P. H. (1997). Distribution and sources of polycyclic aromatic hydrocarbons in some Mediterranean coastal sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 34(5), 298-305. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(96\)00098-7](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(96)00098-7).
- Bernardeschi, M., Guidi, P., Scarcelli, V., Frenzilli, G., & Nigro, M. (2010). Genotoxic potential of TiO<sub>2</sub> on bottlenose dolphin leukocytes. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 396(2), 619-623. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3261-3>.
- Bernhoft, R. A. (2012). Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *Journal of environmental and public health*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/460508>.
- Berggren, P., Ishaq, R., ZebÜhr, Y., NÄf, C., Bandh, C., & Broman, D. (1999). Patterns and levels of organochlorines (DDTs, PCBs, non-ortho PCBs and PCDD/Fs) in male harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from the Baltic Sea, the Kattegat-Skagerrak Seas and the west coast of Norway. *Marine Pollution Bulletin*, 38(12), 1070-1084. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(99\)00098-3](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(99)00098-3).
- Berrojalbiz, N., Dachs, J., Ojeda, M. J., Valle, M. C., Castro-Jiménez, J., Wollgast, J., ... & Zaldivar, J. M. (2011). Biogeochemical and physical controls on concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in water and plankton of the Mediterranean and Black Seas. *Global Biogeochemical Cycles*, 25(4). <https://doi.org/10.1029/2010GB003775>.
- Berto, D., Cacciatore, F., Ausili, A., Sunseri, G., Bellucci, L. G., Frignani, M., ... & Giani, M. (2009). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) from diffuse sources in coastal sediments of a not industrialised Mediterranean Island. *Water, air, and soil pollution*, 200(1), 199-209. <https://doi.org/10.1007/s11270-008-9904-8>.
- Bhavsar, S. P., Gandhi, N., Gewurtz, S. B., & Tomy, G. T. (2008). Fate of PBDEs in juvenile lake trout estimated using a dynamic multichemical fish model. *Environmental science & technology*, 42(10), 3724-3731. <https://doi.org/10.1021/es0717010>.
- Bianchi C.N., Morri, C. 2000. Marine Biodiversity of the Mediterranean Sea: Situation, Problems and Prospects for Future Research. *Marine Pollution Bulletin* 40(5):367-376. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(00\)00027-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00027-8).



- Blanco, C., Aznar, J., Raga, J.A., 1995. Cephalopods in the diet of the striped dolphin *Stenella coeruleoalba* from the western Mediterranean during an epizootic in 1990. *J. Zool.* 237 (1), 151e158. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1995.tb02753.x>.
- Blanco, C., & Raga, J. A. (2000). Cephalopod prey of two *Ziphius cavirostris* (Cetacea) stranded on the western Mediterranean coast. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 80(2), 381-382. <https://doi.org/10.1017/S0025315499002064>.
- Blanco, C., Salomón, O., Raga, J.A., 2001. Diet of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in the western Mediterranean Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 81 (6), 1053e1058. <https://doi.org/10.1017/S0025315401005057>.
- Blus, L.J., 2003. Organochlorine pesticides. In: Hoffman, D.J., Rattner, B.A., Burton Jr, G.A., Cairns Jr, J. (Eds.), *Handbook of Ecotoxicology*, seconded. Lewis Publishers, Boca Raton, pp. 313–340.
- Boisvert, G., Sonne, C., Rigét, F.F., Dietz, R., Letcher, R.J., 2019. Bioaccumulation and biomagnification of perfluoroalkyl acids and precursors in East Greenland polar bears and their ringed seal prey. *Environ. Pollut.* 252, 1335e1343. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.035>.
- Bompar, J.M., 1997. Etude de la population de dauphins de Risso (*Grampus griseus*) fréquentant la corne nord ouest du futur sanctuaire de Mer Ligure. Rapport GECM/Parc National de Port-Cros, p. 32.
- Bonn, J. P., van Arnhem, E., Jansen, S., Kannan, N., Petrick, G., Schulz, D., Duinker, J. C., Reijnders, P. J. H. and Goksøyr, A.: 1992, 'The Toxicokinetics of PCBs in Marine Mammals with Special Reference to Possible Interactions of Individual Congeners with the Cytochrome P450-Dependent Monooxygenase System: An Overview', in Walker, C. H. and Livingstone, D. R. (eds.), *Persistent Pollutants in Marine Ecosystems*, Pergamon Press, Oxford.
- Bonner, W.N. (1990). *The Natural History of Seals*. Christopher Helm, London. Boyd, I. L. (1993). "Introduction: Trends in Marine Mammal Science." *Symp. Zool. Soc. London* 66: 1–12.
- Boon, J. P., Van der Meer, J., Allchin, C. R., Law, R. J., Klungsoyr, J., Leonards, P. E. G., ... & Wells, D. E. (1997). Concentration-dependent changes of PCB patterns in fish-eating mammals: structural evidence for induction of cytochrome P450. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 33(3), 298-311. <https://doi.org/10.1007/s002449900257>.
- Boon, J. P., Lewis, W. E., & Goksøyr, A. (2000). In vitro biotransformation of organohalogenes by sperm whale microsomes in relation to the CYP-isozymes present. *Marine Environmental Research*, 50(1-5), 64. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(00\)00140-9](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(00)00140-9).
- Boon, J. P., Lewis, W. E., & Goksøyr, A. (2001). Immunochemical and catalytic characterization of hepatic microsomal cytochrome P450 in the sperm whale (*Physeter macrocephalus*). *Aquatic toxicology*, 52(3-4), 297-309. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(00\)00165-X](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(00)00165-X).
- Boroda, A. V. (2017). Marine mammal cell cultures: To obtain, to apply, and to preserve. *Marine environmental research*, 129, 316-328. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2017.06.018>.
- Borrell, A., Bloch, D., & Desportes, G. (1995). Age trends and reproductive transfer of organochlorine compounds in long-finned pilot whales from the Faroe Islands. *Environmental Pollution*, 88(3), 283-292. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(95\)93441-2](https://doi.org/10.1016/0269-7491(95)93441-2).
- Borrell, A., Cantos, G., Pastor, T., & Aguilar, A. (2001). Organochlorine compounds in common dolphins (*Delphinus delphis*) from the Atlantic and Mediterranean waters of Spain. *Environmental Pollution*, 114(2), 265-274. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(00\)00213-X](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(00)00213-X).
- Borrell, A., Aguilar, A., Tornero, V., Sequeira, M., Fernandez, G., Alis, S., 2006. Organochlorine compounds and stable isotopes indicate bottlenose dolphin subpopulation structure around the Iberian Peninsula. *Environ. Int.* 32 (4), 516e523. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2005.12.001>.
- Borrell, A., & Aguilar, A. (2007). Organochlorine concentrations declined during 1987–2002 in western Mediterranean bottlenose dolphins, a coastal top predator. *Chemosphere*, 66(2), 347-352. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.04.074>.
- Bossart, G. D. (2011). Marine mammals as sentinel species for oceans and human health. *Veterinary pathology*, 48(3), 676-690. <https://doi.org/10.1177%2F0300985810388525>.



- Bossi, R., Riget, F.F., Dietz, R., 2005a. Temporal and spatial trends of perfluorinated compounds in ringed seal (*Phoca hispida*) from Greenland. *Environ. Sci. Technol.* 39 (19), 7416-7422. <https://doi.org/10.1021/es0508469>.
- Bossi, R., Riget, F. F., Dietz, R., Sonne, C., Fauser, P., Dam, M., & Vorkamp, K. (2005b). Preliminary screening of perfluorooctane sulfonate (PFOS) and other fluorochemicals in fish, birds and marine mammals from Greenland and the Faroe Islands. *Environmental Pollution*, 136(2), 323-329. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.12.020>.
- Bossi, R., Strand, J., Sortkjær, O., Larsen, M.M., 2008. Perfluoroalkyl compounds in Danish wastewater treatment plants and aquatic environments. *Environ. Int.* 34 (4), 443-450. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.10.002>.
- Bossi, R., Dam, M., Rigét, F.F., 2015. Perfluorinated alkyl substances (PFAS) in terrestrial environments in Greenland and Faroe Islands. *Chemosphere* 129, 164-169. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.044>.
- Bouchoucha, M., Tomasino, C., Amouroux, I., Andral, B., Brach-Papa, C., Briand, M., Boissery, P., 2021. 20 ans de suivi de la contamination chimique des eaux côtières méditerranéennes. Résultats & perspectives. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00673/78554/80744.pdf>.
- Braune, B. M. (1987). Comparison of total mercury levels in relation to diet and molt for nine species of marine birds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 16(2), 217-224. <https://doi.org/10.1007/BF01055802>.
- Brevik, K., Sweetman, A., Pacyna, J. M., & Jones, K. C. (2002). Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners—a mass balance approach: 2. Emissions. *Science of the Total Environment*, 290(1-3), 199-224. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)01076-2](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)01076-2).
- Broman, D., Nauf, C., Lundbergh, I., Zebuhr, Y., 1990. An in situ study of the distribution, biotransformation and flux of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in an aquatic food chain (seston-*Mytilus Edulis* L.-*Somateria Mollissima* L.) from the Baltic: an ecotoxicological perspective. *Environ. Toxicol. Chem.* 9, 429-442. <https://doi.org/10.1002/etc5620090404>.
- Brookens, T. J., O'Hara, T. M., Taylor, R. J., Bratton, G. R., & Harvey, J. T. (2008). Total mercury body burden in Pacific harbor seal, *Phoca vitulina richardii*, pups from central California. *Marine Pollution Bulletin*, 56(1), 27-41. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.08.010>.
- Brown, T. M., Iverson, S. J., Fisk, A. T., Macdonald, R. W., Helbing, C. C., & Reimer, K. J. (2015). Local contamination, and not feeding preferences, explains elevated PCB concentrations in Labrador ringed seals (*Pusa hispida*). *Science of the Total Environment*, 515, 188-197. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.02.019>.
- Brown, T. M., Fisk, A. T., Wang, X., Ferguson, S. H., Young, B. G., Reimer, K. J., & Muir, D. C. (2016). Mercury and cadmium in ringed seals in the Canadian Arctic: Influence of location and diet. *Science of the Total Environment*, 545, 503-511. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.030>.
- Brumovský, M., Karásková, P., Borghini, M., Nizzetto, L., 2016. Per- and polyfluoroalkyl substances in the western Mediterranean Sea waters. *Chemosphere* 159, 308-316. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.015>.
- Buck, R. C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J. M., Cousins, I. T., De Voogt, P., ... & van Leeuwen, S. P. (2011). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: terminology, classification, and origins. *Integrated environmental assessment and management*, 7(4), 513-541. <https://doi.org/10.1002/ieam.258>.
- Buhler, D. R., Claeys, R. R., & Mate, B. R. (1975). Heavy metal and chlorinated hydrocarbon residues in California sea lions (*Zalophus californianus californianus*). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 32(12), 2391-2397. <https://doi.org/10.1139/f75-276>.
- Burger, J., & Gochfeld, M. (2013). Selenium and mercury molar ratios in commercial fish from New Jersey and Illinois: variation within species and relevance to risk communication. *Food and chemical toxicology*, 57, 235-245. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.03.021>.





Burse, V. W., Moseman, R. F., Sovocool, G. W., & Villanueva, E. C. (1976). PCB metabolism in rats following prolonged exposure to Aroclor 1242 and Aroclor 1016. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 15(1), 122-128. <https://doi.org/10.1007/BF01686204>.

Butler, P. A. (1969). Monitoring pesticide pollution. *Bioscience*, 19(10), 889-891. <https://doi.org/10.2307/1294712>.

Butt, C.M., Berger, U., Bossi, R., Tomy, G.T., 2010. Levels and trends of poly- and perfluorinated compounds in the arctic environment. *Sci. Total Environ.* 408 (15), 2936-2965. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.015>.

---

## C

Cáceres-Saez, I., Haro, D., Blank, O., Lobo, A. A., Dougnac, C., Arredondo, C., ... & Guevara, S. R. (2018). High status of mercury and selenium in false killer whales (*Pseudorca crassidens*, Owen 1846) stranded on Southern South America: A possible toxicological concern?. *Chemosphere*, 199, 637-646. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.046>.

Cagnazzi, D., Fossi, M.C., Parra, G.J., Harrison, P.L., Maltese, S., Coppola, D., Soccodato, A., Bent, M., Marsili, L., 2013. Anthropogenic contaminants in Indo-Pacific humpback and Australian snubfin dolphins from the central and southern Great Barrier Reef. *Environ. Pollut.* 182, 490-494. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.08.008>.

Calzada, N., & Aguilar, A. (1995). Geographical variation of body size in Western Mediterranean striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Zeitschrift für Säugetierkunde*, 60(5), 257-264.

Calzada, N., Aguilar, A., Sørensen, T.B., Lockyer, C., 1996. Reproductive biology of female striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean. *J. Zool.* 240 (3), 581-591. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1996.tb05308.x>.

Camacho M, Boada LD, Oros J, López P, Zumbado M., Almeida-González M., Luzardo OP (2014). Monitoring organic and inorganic pollutants in juvenile live sea turtles: results from a study of *Chelonia mydas* and *Eretmochelys imbricata* in Cape Verde. *Sci Total Environ*, 481C, pp. 303-310. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.02.051>.

Cámara Pellissó, S., Muñoz, M. J., Carballo, M., & Sanchez-Vizcaino, J. M. (2008). Determination of the immunotoxic potential of heavy metals on the functional activity of bottlenose dolphin leukocytes in vitro. *Veterinary immunology and immunopathology*, 121(3-4), 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.09.009>.

Campana, I., Crosti, R., Angeletti, D., Carosso, L., David, L., Di-Méglio, N., ... & Arcangeli, A. (2015). Cetacean response to summer maritime traffic in the Western Mediterranean Sea. *Marine Environmental Research*, 109, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.05.009>.

Campo, J., Pérez, F., Masiá, A., Picó, Y., la Farré, M., & Barceló, D. (2015). Perfluoroalkyl substance contamination of the Llobregat River ecosystem (Mediterranean area, NE Spain). *Science of the total environment*, 503, 48-57. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.094>.

Canales, R.M., Méndez, A., Giménez, F., Mengual, R.M., Fernández, E., 2008. Avistamiento de cetáceos en la Región de Murcia. *Actas del cuarto congreso de la naturaleza de la Región de Murcia* 89-90. [https://rua.es/bitstream/10045/28635/1/avistamiento\\_cetaceos\\_RM\\_2008.pdf](https://rua.es/bitstream/10045/28635/1/avistamiento_cetaceos_RM_2008.pdf).

Cañadas, A., & Sagarminaga, R. (2000). The northeastern Alboran Sea, an important breeding and feeding ground for the long-finned pilot whale (*Globicephala melas*) in the Mediterranean Sea. *Marine mammal science*, 16(3), 513-529. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2000.tb00948.x>.

Cañadas, A., Sagarminaga, R., Garcia-Tiscar, S., 2002. Cetacean distribution related with depth and slope in the Mediterranean waters off southern Spain. *Deep Sea Res. Oceanogr. Res. Pap.* 49 (11), 2053-2073. [https://doi.org/10.1016/S0967-0637\(02\)00123-1](https://doi.org/10.1016/S0967-0637(02)00123-1).

Cañadas, A., & Hammond, P. S. (2008). Abundance and habitat preferences of the short-beaked common dolphin *Delphinus delphis* in the southwestern Mediterranean: implications for conservation. *Endangered species research*, 4(3), 309-331. <https://doi.org/10.3354/esr00073>.



- Cañadas, A., Donovan, G. P., Desportes, G., & Borchers, D. L. (2009). A short review of the distribution of short-beaked common dolphins (*Delphinus delphis*) in the central and eastern North Atlantic with an abundance estimate for part of this area. *NAMMCO Scientific Publications*, 7, 201-220. <https://doi.org/10.7557/3.2714>.
- Cañadas, A. 2012a. *Globicephala melas*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T9250A3150309.
- Cañadas, A. 2012b. *Ziphius cavirostris*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T23211A2785108.
- Cañadas, A., & Vázquez, J. A. (2014). Conserving Cuvier's beaked whales in the Alboran Sea (SW Mediterranean): Identification of high density areas to be avoided by intense man-made sound. *Biological conservation*, 178, 155-162. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.07.018>.
- Cañadas, A., De Soto, N. A., Aissi, M., Arcangeli, A., Azzolin, M., B-Nagy, A., ... & Roger, T. (2018). The challenge of habitat modelling for threatened low density species using heterogeneous data: the case of Cuvier's beaked whales in the Mediterranean. *Ecological Indicators*, 85, 128-136. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.10.021>.
- Capanni, F., Muñoz-Arnanz, J., Marsili, L., Fossi, M. C., & Jiménez, B. (2020). Assessment of PCDD/Fs, dioxin-like PCBs and PBDEs in Mediterranean striped dolphins. *Marine Pollution Bulletin*, 156, 111207. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111207>.
- Capelli, R., Drava, G., De Pellegrini, R., Minganti, V., & Poggi, R. (2000). Study of trace elements in organs and tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) found dead along the Ligurian coasts (Italy). *Advances in Environmental Research*, 4(1), 31-42. [https://doi.org/10.1016/S1093-0191\(00\)00005-8](https://doi.org/10.1016/S1093-0191(00)00005-8).
- Capelli, R., Das, K., De Pellegrini, R., Drava, G., Lepoint, G., Miglio, C., ... & Poggi, R. (2008). Distribution of trace elements in organs of six species of cetaceans from the Ligurian Sea (Mediterranean), and the relationship with stable carbon and nitrogen ratios. *Science of the Total Environment*, 390(2-3), 569-578. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.10.036>.
- Cappon, C. J., & Smith, J. C. (1981). Mercury and selenium content and chemical form in human and animal tissue. *Journal of analytical toxicology*, 5(2), 90-98. <https://doi.org/10.1093/jat/5.2.90>.
- Cardellicchio, N. (1995). Persistent contaminants in dolphins: an indication of chemical pollution in the Mediterranean Sea. *Water Science and Technology*, 32(9-10), 331-340.
- Cardellicchio, N., Giandomenico, S., Ragone, P., & Di Leo, A. (2000). Tissue distribution of metals in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Apulian coasts, Southern Italy. *Marine Environmental Research*, 49(1), 55-66. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(99\)00048-3](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(99)00048-3).
- Cardellicchio, N., Decataldo, A., Di Leo, A., & Misino, A. (2002). Accumulation and tissue distribution of mercury and selenium in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Mediterranean Sea (southern Italy). *Environmental Pollution*, 116(2), 265-271. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00127-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00127-0).
- Carpenter, D. O. (2001). Effects of metals on the nervous system of humans and animals. *International journal of occupational medicine and environmental health*, 14(3), 209-218.
- Casini, S., Caliani, I., Giannetti, M., Marsili, L., Maltese, S., Coppola, D., ... & Fossi, M. C. (2018). First ecotoxicological assessment of *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) in the Mediterranean Sea using an integrated nondestructive protocol. *Science of the Total Environment*, 631, 1221-1233. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.111>.
- Castrillon, J., Gomez-Campos, E., Aguilar, A., Berdié, L., & Borrell, A. (2010). PCB and DDT levels do not appear to have enhanced the mortality of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) in the 2007 Mediterranean epizootic. *Chemosphere*, 81(4), 459-463. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.08.008>.
- Castro, P. Huber, M. 2007. *Biología Marina*, sexta edición. McGraw-Hill, Interamericana. Madrid, España.
- Caurant, F., & Amiard-Triquet, C. (1995). Cadmium contamination in pilot whales *Globicephala melas*: source and potential hazard to the species. *Marine Pollution Bulletin*, 30(3), 207-210. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(94\)00126-T](https://doi.org/10.1016/0025-326X(94)00126-T).



- Caurant, F., Navarro, M., & Amiard, J. C. (1996). Mercury in pilot whales: possible limits to the detoxification process. *Science of the Total Environment*, 186(1-2), 95-104. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(96\)05087-5](https://doi.org/10.1016/0048-9697(96)05087-5).
- Centelleghé, C., Carraro, L., Gonzalvo, J., Rosso, M., Esposti, E., Gili, C., ... & Mazzariol, S. (2020). The use of Unmanned Aerial Vehicles (UAVs) to sample the blow microbiome of small cetaceans. *PLoS One*, 15(7), e0235537. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235537>.
- Chen, I., Nishida, S., Chou, L. S., Tajima, Y., Yang, W. C., Isobe, T., ... & Hoelzel, A. R. (2018). Concordance between genetic diversity and marine biogeography in a highly mobile marine mammal, the Risso's dolphin. *Journal of Biogeography*, 45(9), 2092-2103. <https://doi.org/10.1111/jbi.13360>.
- Clarkson, T. W. (1987). Metal toxicity in the central nervous system. *Environmental Health Perspectives*, 75, 59-64. <https://doi.org/10.1289/ehp.877559>.
- Clarkson, T. W., & Magos, L. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical reviews in toxicology*, 36(8), 609-662. <https://doi.org/10.1080/10408440600845619>.
- Cocci, P., Mosconi, G., Bracchetti, L., Nalocca, J. M., Frapiccini, E., Marini, M., ... & Palermo, F. A. (2018). Investigating the potential impact of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) on gene biomarker expression and global DNA methylation in loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) from the Adriatic Sea. *Science of the Total Environment*, 619, 49-57. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.118>.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F., Aguzzi, J., ... & Voultsiadou, E. (2010). The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PloS one*, 5(8), e11842. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011842>.
- Coll, M., Piroddi, C., Albouy, C., Ben Rais Lasram, F., Cheung, W.W., Christensen, V., *et al.*, 2012. The Mediterranean Sea under siege: spatial overlap between marine biodiversity, cumulative threats and marine reserves. *Global Ecol. Biogeogr.* 21 (4), 465e480. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00697.x>.
- Collier, T.K., Varanasi, U., 1991. Hepatic activities of xenobiotic metabolizing enzymes and biliary levels of xenobiotics in English sole (*Parophrys vetulus*) exposed to environmental contaminants. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 20, 462-473. <https://doi.org/10.1007/BF01065834>.
- Collier, T. K., Anulacion, B. F., Arkoosh, M. R., Dietrich, J. P., Incardona, J. P., Johnson, L. L., ... & Myers, M. S. (2013). Effects on fish of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and naphthenic acid exposures. In *Fish physiology* (Vol. 33, pp. 195-255). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398254-4.00004-2>.
- Costantino, M., Giovannini, A., Pietroluongo, G., Saintignan, S., Zampollo, A., Giacoma, C., & Azzolin, M. Striped dolphin Home Ranges within the IMMA and Natura 2000 Area "Gulf of Corinth"(Greece).
- Cooke, J.G. & Clapham, P.J. 2018. *Eubalaena japonica*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T41711A50380694. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T41711A50380694>. Accessed on 10 June 2022.
- Costello, M. J., Coll, M., Danovaro, R., Halpin, P., Ojaveer, H., & Miloslavich, P. (2010). A census of marine biodiversity knowledge, resources, and future challenges. *PloS one*, 5(8), e12110. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012110>.
- Cresson, P., Bouchoucha, M., Morat, F., Miralles, F., Chavanon, F., Loizeau, V., & Cossa, D. (2015). A multitracer approach to assess the spatial contamination pattern of hake (*Merluccius merluccius*) in the French Mediterranean. *Science of the Total Environment*, 532, 184-194. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.020>.

---

**D**

D'eon, J.C., Hurley, M.D., Wallington, T.J., Mabury, S.A., 2006. Atmospheric chemistry of N-methyl perfluorobutane sulfonamidoethanol, C<sub>4</sub>F<sub>9</sub>SO<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH: kinetics and mechanism of reaction with OH. *Environ. Sci. Technol.* 40 (6), 1862e1868. <https://doi.org/10.1021/es0520767>.



- d'Ortenzio, F., & d'Alcalà, M. (2009). On the trophic regimes of the Mediterranean Sea: a satellite analysis. *Biogeosciences*, 6(2), 139-148. <https://doi.org/10.5194/bg-6-139-2009>.
- Dachs, J., Bayona, J. M., Raoux, C., & Albaigés, J. (1997). Spatial, vertical distribution and budget of polycyclic aromatic hydrocarbons in the western Mediterranean seawater. *Environmental science & technology*, 31(3), 682-688. <https://doi.org/10.1021/es960233j>.
- Dalebout, M. L., Robertson, K. M., Frantzis, A., Engelhaupt, D. A. N., Mignucci-Giannoni, A. A., Rosario-Delestre, R. J., & Baker, C. S. (2005). Worldwide structure of mtDNA diversity among Cuvier's beaked whales (*Ziphius cavirostris*): implications for threatened populations. *Molecular Ecology*, 14(11), 3353-3371. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02676.x>.
- Danovaro, R. (2003). Pollution threats in the Mediterranean Sea: an overview. *Chemistry and Ecology*, 19(1), 15-32. <https://doi.org/10.1080/0275754031000081467>.
- Das, K., Siebert, U., Fontaine, M., Jauniaux, T., Holsbeek, L., & Bouquegneau, J. M. (2004). Ecological and pathological factors related to trace metal concentrations in harbour porpoises *Phocoena phocoena* from the North Sea and adjacent areas. *Marine Ecology Progress Series*, 281, 283-295. <https://doi.org/10.3354/meps281283>.
- Dassuncao, C., Hu, X. C., Zhang, X., Bossi, R., Dam, M., Mikkelsen, B., & Sunderland, E. M. (2017). Temporal shifts in poly-and perfluoroalkyl substances (PFASs) in North Atlantic pilot whales indicate large contribution of atmospheric precursors. *Environmental science & technology*, 51(8), 4512-4521. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00293>.
- de Boer, J., Wester, P. G., Klamer, H. J., Lewis, W. E., & Boon, J. P. (1998). Do flame retardants threaten ocean life?. *Nature*, 394(6688), 28-29. <https://doi.org/10.1038/27798>.
- De Guise, S., Lagacé, A., & Béland, P. (1994). True hermaphroditism in a St. Lawrence beluga whale (*Delphinapterus leucas*). *Journal of Wildlife Diseases*, 30(2), 287-290. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-30.2.287>.
- De Guise, S., Bernier, J., Fournier, M., Martineau, D., & Beland, P. (1996). Effects of in vitro exposure of beluga whale splenocytes and thymocytes to heavy metals. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 15(8), 1357-1364. <https://doi.org/10.1002/etc5620150815>.
- De Stephanis, R., Cornulier, T., Verborgh, P., Sierra, J. S., Gimeno, N. P., & Guinet, C. (2008). Summer spatial distribution of cetaceans in the Strait of Gibraltar in relation to the oceanographic context. *Marine Ecology Progress Series*, 353, 275-288. <http://dx.doi.org/10.3354/meps07164>.
- De Swart, R. L., Ross, P. S., Vedder, L. J., Timmerman, H. H., Heisterkamp, S., Van Loveren, H., Vos, J. G., Reijnders, P. J. H., & Osterhaus, A. D. M. E. (1994). Impairment of immune function in harbour seals (*Phoca vitulina*) feeding on fish from polluted waters. *Ambio*, 23, 155-159. <https://doi.org/10.1579/0044-7447-31.1.1>.
- De Swart, R. L., Ross, P. S., Timmerman, H. H., Vos, H. W., Reijnders, P. J. H., Vos, J. G., & Osterhaus, A. D. M. E. (1995). Impaired cellular immune response in harbour seals (*Phoca vitulina*) feeding on environmentally contaminated herring. *Clinical and Experimental Immunology*, 101, 480-486. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1995.tb03138.x>.
- De Swart, R. L., Ross, P. S., Vos, J. G., & Osterhaus, A. D. M. E. (1996). Impaired immunity in harbour seals (*Phoca vitulina*) exposed to bioaccumulated environmental contaminants: review of a long-term feeding study. *Environmental Health Perspectives*, 104, 823-828. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.1995.tb03138.x>.
- De Wit, C. A. (2002). An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere*, 46(5), 583-624. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00225-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00225-9).
- De Witt, J. C., Peden-Adams, M. M., Keller, J. M., & Germolec, D. R. (2012). Immunotoxicity of perfluorinated compounds: recent developments. *Toxicologic pathology*, 40(2), 300-311. <https://doi.org/10.1177%2F0192623311428473>.
- Dejmek, J., Solanský, I., Benes, I., Leníček, J., & Srám, R. J. (2000). The impact of polycyclic aromatic hydrocarbons and fine particles on pregnancy outcome. *Environmental health perspectives*, 108(12), 1159-1164. <https://doi.org/10.1289/ehp.001081159>.



- Deng, D., Chen, H., & Tam, N. F. (2015). Temporal and spatial contamination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in wastewater treatment plants in Hong Kong. *Science of the total environment*, 502, 133-142. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.090>.
- Denton, G. R. W., Marsh, H., Heinsohn, G. E., & Burdon-Jones, C. (1980). The unusual metal status of the dugong *Dugong dugon*. *Marine Biology*, 57(3), 201-219. <https://doi.org/10.1007/BF00390738>.
- Desforges, J. P. W., Sonne, C., Levin, M., Siebert, U., De Guise, S., & Dietz, R. (2016). Immunotoxic effects of environmental pollutants in marine mammals. *Environment International*, 86, 126-139. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.10.007>.
- Desforges, J. P., Hall, A., McConnell, B., Rosing-Asvid, A., Barber, J. L., Brownlow, A., ... & Dietz, R. (2018). Predicting global killer whale population collapse from PCB pollution. *Science*, 361(6409), 1373-1376. <https://doi.org/10.1126/science.aat1953>.
- Di-Méglio, N., Romero-Alvarez, R., & Collet, A. (1996). Growth comparison in striped dolphins, *Stenella coeruleoalba*, from the Atlantic and Mediterranean coasts of France. *Aquatic Mammals*, 22(1), 11-21.
- Dietz, R., Riget, F., Born, E. W., Sonne, C., Grandjean, P., Kirkegaard, M., ... & Andreassen, C. (2006). Trends in mercury in hair of greenlandic polar bears (*Ursus maritimus*) during 1892– 2001. *Environmental science & technology*, 40(4), 1120-1125. <https://doi.org/10.1021/es051636z>.
- Dietz, R., Sonne, C., Basu, N., Braune, B., O'Hara, T., Letcher, R. J., ... & Asmund, G. (2013). What are the toxicological effects of mercury in Arctic biota? *Science of the Total Environment*, 443, 775-790. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.046>.
- Dietz, R., Letcher, R. J., Desforges, J. P., Eulaers, I., Sonne, C., Wilson, S., ... & Vikingsson, G. (2019). Current state of knowledge on biological effects from contaminants on arctic wildlife and fish. *Science of the Total Environment*, 696, 133792. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133792>.
- Directive 76/769/CEE of 27 July 1976 on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to restrictions on the marketing and use of certain dangerous substances and preparations.
- Directive 2003/11/EC of the European Parliament and of the Council amending for the 24th time Council Directive 76/769/EEC relating to restrictions on the marketing and use of certain dangerous substances and preparations (pentabromodiphenyl ether, octabromodiphenyl ether).
- Dorneles, P. R., Lailson-Brito, J., Azevedo, A. F., Meyer, J., Vidal, L. G., Fragoso, A. B., ... & Das, K. (2008). High accumulation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in marine tucuxi dolphins (*Sotalia guianensis*) from the Brazilian coast. *Environmental science & technology*, 42(14), 5368-5373. <https://doi.org/10.1021/es800702k>.
- Dorneles, P. R., Lailson-Brito, J., Dirtu, A. C., Weijs, L., Azevedo, A. F., Torres, J. P., ... & Covaci, A. (2010). Anthropogenic and naturally-produced organobrominated compounds in marine mammals from Brazil. *Environment International*, 36(1), 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.10.001>.
- Dorough, H. W., Huhtanen, K., Marshall, T. C., & Bryant, H. E. (1978). Fate of endosulfan in rats and toxicological considerations of apolar metabolites. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 8(3), 241-252. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(78\)90022-6](https://doi.org/10.1016/0048-3575(78)90022-6).
- Drescher, H. E., Harms, U., & Huschenbeth, E. (1977). Organochlorines and heavy metals in the harbour seal *Phoca vitulina* from the German North Sea coast. *Marine Biology*, 41(1), 99-106. <https://doi.org/10.1007/BF00390586>.
- Dron, J., Revenko, G., Chamaret, P., Chaspoul, F., Wafo, E., & Harmelin-Vivien, M. (2019). Contaminant signatures and stable isotope values qualify European conger (*Conger conger*) as a pertinent bioindicator to identify marine contaminant sources and pathways. *Ecological Indicators*, 107, 105562. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105562>.
- Dron, J., Wafo, E., Boissery, P., Dhermain, F., Bouchoucha, M., Chamaret, P., & Lafitte, D. (2022). Trends of banned pesticides and PCBs in different tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded in the Northwestern Mediterranean reflect changing contamination patterns. *Marine pollution bulletin*, 174, 113198. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113198>.



Drouot, V., Gannier, A., & Goold, J. C. (2004). Diving and feeding behaviour of sperm whales (*Physeter macrocephalus*) in the northwestern Mediterranean Sea. *Aquatic mammals*, 30(3), 419-426.

Drouot-Dulau, V., & Gannier, A. (2007). Movements of sperm whale in the western Mediterranean Sea: preliminary photo-identification results. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87(1), 195-200. <https://doi.org/10.1017/S0025315407054860>.

Dron, J., Wafo, E., Boissery, P., Dhermain, F., Bouchoucha, M., Chamaret, P., & Lafitte, D. (2022). Trends of banned pesticides and PCBs in different tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded in the Northwestern Mediterranean reflect changing contamination patterns. *Marine Pollution Bulletin*, 174, 113198. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113198>.

Druon, J. N., Panigada, S., David, L., Gannier, A., Mayol, P., Arcangeli, A., ... & Gauffier, P. (2012). Potential feeding habitat of fin whales in the western Mediterranean Sea: an environmental niche model. *Marine Ecology Progress Series*, 464, 289-306. <https://doi.org/10.3354/meps09810>.

Durante, C. A., Reis, B. M. M., Azevedo, A., Crespo, E. A., & Lailson-Brito, J. (2020). Trace elements in trophic webs from South Atlantic: the use of cetaceans as sentinels. *Marine Pollution Bulletin*, 150, 110674. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110674>.

---

## E

Eisler R (2000) *Handbook of Chemical Risk Assessment*, vol. 2. Lewis, Boca Raton, FL, pp. 1343–1411.

Eisler, R. (2010). *Compendium of Trace Metals and Marine Biota* (Vol. 2). Elsevier.

Ellis, D. A., Martin, J. W., De Silva, A. O., Mabury, S. A., Hurley, M. D., Sulbaek Andersen, M. P., & Wallington, T. J. (2004). Degradation of fluorotelomer alcohols: a likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids. *Environmental science & technology*, 38(12), 3316-3321. <https://doi.org/10.1021/es049860w>.

Endo, T., Haraguchi, K., Cipriano, F., Simmonds, M. P., Hotta, Y., & Sakata, M. (2004). Contamination by mercury and cadmium in the cetacean products from Japanese market. *Chemosphere*, 54(11), 1653-1662. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2003.09.029>.

Endo, T., Kimura, O., Hisamichi, Y., Minoshima, Y., Haraguchi, K., Kakumoto, C., & Kobayashi, M. (2006). Distribution of total mercury, methyl mercury and selenium in pod of killer whales (*Orcinus Orca*) stranded in the northern area of Japan: comparison of mature females with calves. *Environmental Pollution*, 144(1), 145-150. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2005.12.035>.

Endo, T., Kimura, O., Hisamichi, Y., Minoshima, Y., & Haraguchi, K. (2007). Age-dependent accumulation of heavy metals in a pod of killer whales (*Orcinus orca*) stranded in the northern area of Japan. *Chemosphere*, 67(1), 51-59. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.09.086>.

EPA (1987). United States Environmental Protection Agency. *Quality Criteria for Water 1986*. EPA 440/5-86-001. US Environmental Protection Agency, Washington, DC.

EPA, 1998. United States Environmental Protection Agency. *Guidelines for neurotoxic risk assessment*.

EPA, 2000. United States Environmental Protection Agency. EPA and 3M announce phaseout of PFOS. [cited 2011 January 9]. Available from: <http://yosemite.epa.gov/opa/admpress.nsf/0/33aa946e6cb11f35852568e1005246b4>.

EPA, 2006. United States Environmental Protection Agency. 2010/15 PFOA Stewardship Program e Guidance on Reporting Emissions and Product Content. Office of Pollution Prevention and Toxics. Retrieved from: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/pfoaguidance.pdf>.

EPA, 2014. United States Environmental Protection Agency. *An Alternative Assessment for the Flame Retardant Decabromodiphenyl Ether (DecaBDE)*. Checked on: April 2022. [https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-05/documents/decabde\\_final.pdf](https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-05/documents/decabde_final.pdf).



EPA, 2021. "PFAS structures in DSSTox (update August 2021)". CompTox Chemicals Dashboard. Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency (EPA). <https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical-lists/PFASSTRUCT>. Consultado el 27 de julio de 2022.

European Court of Justice (2008). European Court of Justice. Judgment of the Court (Grand Chamber) of 1 April 2008 — European Parliament (C-14/06), Kingdom of Denmark (C-295/06) v Commission of the European Communities. 2008. Checked on 13/04/2022. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=OJ:C:2008:116:FULL&from=PL>.

Erickson, M. D. (2001). Introduction: PCB properties, uses, occurrence, and regulatory history. PCBs: recent advances in environmental toxicology and health effects, xi-xxx.

Espín, S., Martínez-López, E., Gómez-Ramírez, P., María-Mojica, P., & García-Fernández, A. J. (2010). Assessment of organochlorine pesticide exposure in a wintering population of razorbills (*Alca torda*) from the southwestern Mediterranean. *Chemosphere*, 80(10), 1190-1198. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.015>.

Escoruela, J., Garreta, E., Ramos, R., González-Solís, J., & Lacorte, S. (2018). Occurrence of Per- and Polyfluoroalkyl substances in *Calonectris* shearwaters breeding along the Mediterranean and Atlantic colonies. *Marine pollution bulletin*, 131, 335-340. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.032>.

Espín, S., Martínez-López, E., Gómez-Ramírez, P., María-Mojica, P., & García-Fernández, A. J. (2010). Assessment of organochlorine pesticide exposure in a wintering population of razorbills (*Alca torda*) from the southwestern Mediterranean. *Chemosphere*, 80(10), 1190-1198. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.015>.

Espín, S., García-Fernández, A. J., Herzke, D., Shore, R. F., van Hattum, B., Martínez-López, E., ... & van den Brink, N. W. (2016). Tracking pan-continental trends in environmental contamination using sentinel raptors—what types of samples should we use?. *Ecotoxicology*, 25(4), 777-801. <https://doi.org/10.1007/s10646-016-1636-8>.

Evans, P. G., Panigada, S., & Pierce, G. J. (2008). Integrating science and management for marine mammal conservation. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88(6), 1081-1083. <https://doi.org/10.1017/S0025315408002348>.

Evans, D., Hickie, B., Rouvinen-Watt, K., Wang, W., 2016. Partitioning and kinetics of methylmercury among organs in captive mink (*Neovison vison*): a stable isotope tracer study. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 42, 163e169. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.01.007>.

Evers, D.C., 2018. The Effects of Methylmercury on Wildlife: A Comprehensive Review and Approach for Interpretation. *Encyclopedia of the Anthropocene*. Elsevier.

Ewald, J. D., Kirk, J. L., Li, M., & Sunderland, E. M. (2019). Organ-specific differences in mercury speciation and accumulation across ringed seal (*Phoca hispida*) life stages. *Science of the Total Environment*, 650, 2013-2020. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.299>.

---

## F

FAO (2020). The state of Mediterranean and Black Sea fisheries 2020. Rome: FAO.

Fair, P. A., Mitchum, G., Hulsey, T. C., Adams, J., Zolman, E., McFee, W., ... & Bossart, G. D. (2007). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in blubber of free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from two southeast Atlantic estuarine areas. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 53(3), 483-494. <https://doi.org/10.1007/s00244-006-0244-7>.

Fair, P.A., Adams, J., Mitchum, G., Hulsey, T.C., Reif, J.S., Houde, M., Muir, D., Wirth, E., Wetzel, D., Zolman, E., Mcfee, W., Bossart, G.D., 2010. Contaminant blubber burdens in Atlantic bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from two southeastern US estuarine areas: concentrations and patterns of PCBs, pesticides, PBDEs, PFCs, and PAHs. *Sci. Total Environ.* 408, 1577–1597. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.12.021>.

Fair, P. A., Romano, T., Schaefer, A. M., Reif, J. S., Bossart, G. D., Houde, M., ... & Peden-Adams, M. (2013). Associations between perfluoroalkyl compounds and immune and clinical chemistry parameters in



highly exposed bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(4), 736-746. <https://doi.org/10.1002/etc2122>.

Falk, S., Stahl, T., Fliedner, A., Rüdell, H., Tarricone, K., Brunn, H., & Koschorreck, J. (2019). Levels, accumulation patterns and retrospective trends of perfluoroalkyl acids (PFAAs) in terrestrial ecosystems over the last three decades. *Environmental pollution*, 246, 921-931. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.12.095>.

Farina, M., Rocha, J. B., & Aschner, M. (2011). Mechanisms of methylmercury-induced neurotoxicity: evidence from experimental studies. *Life sciences*, 89(15-16), 555-563. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2011.05.019>.

Fernández, J., Arjol, M. A., & Cacho, C. (2013). POP-contaminated sites from HCH production in Sabiñánigo, Spain. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(4), 1937-1950. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1433-8>.

Focardi, S., Corsolini, S., Aurigi, S., Pecetti, G., & Sanchez-Hernandez, J. C. (2000). Accumulation of butyltin compounds in dolphins stranded along the Mediterranean coasts. *Applied organometallic chemistry*, 14(1), 48-56. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0739\(200001\)14:1%3C48::AID-AOC958%3E3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0739(200001)14:1%3C48::AID-AOC958%3E3.0.CO;2-X).

Fontaine, M. C. (2016). Harbour porpoises, *Phocoena phocoena*, in the Mediterranean Sea and adjacent regions: Biogeographic relicts of the last glacial period. *Advances in marine biology*, 75, 333-358. <https://doi.org/10.1016/bs.amb.2016.08.006>.

Forcada, J., & Hammond, P. (1998). Geographical variation in abundance of striped and common dolphins of the western Mediterranean. *Journal of sea research*, 39(3-4), 313-325. [https://doi.org/10.1016/S1385-1101\(97\)00063-4](https://doi.org/10.1016/S1385-1101(97)00063-4).

Forcada, J., Notarbartolo di Sciara, G., & Fabbri, F. (1995). Abundance of fin whales and striped dolphins summering in the Corso-Ligurian Basin. <https://doi.org/10.1515/mamm.1995.59.1.127>.

Forcada J (2009) Distribution In: (2<sup>nd</sup> ed.) Perrin WF, Wursig B and Thewissen JGM (Eds), *Encyclopedia of marine mammals*, Elsevier, Inc., San Diego, California, 602-608.

Formigaro, C., Henríquez-Hernandez, L. A., Zaccaroni, A., Garcia-Hartmann, M., Camacho, M., Boada, L. D., ... & Luzardo, O. P. (2014). Assessment of current dietary intake of organochlorine contaminants and polycyclic aromatic hydrocarbons in killer whales (*Orcinus orca*) through direct determination in a group of whales in captivity. *Science of the total environment*, 472, 1044-1051. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.11.127>.

Forouzanfar, M. H., Afshin, A., Alexander, L. T., Anderson, H. R., Bhutta, Z. A., Biryukov, S., ... & Carrero, J. J. (2016). Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The lancet*, 388(10053), 1659-1724. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31679-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31679-8).

Fossi, M.C., Marsili, L., 1997. The use of non destructive biomarkers in the study of marine mammals. *Biomarkers* 2 (4), 205e216. <https://doi.org/10.1080/135475097231571>.

Fossi, M. C., Urban, J., Casini, S., Maltese, S., Spinsanti, G., Panti, C., ... & Marsili, L. (2010). A multi-trial diagnostic tool in fin whale (*Balaenoptera physalus*) skin biopsies of the Pelagos Sanctuary (Mediterranean Sea) and the Gulf of California (Mexico). *Marine environmental research*, 69, S17-S20. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2009.10.006>.

Fossi, M. C., Panti, C., Marsili, L., Maltese, S., Spinsanti, G., Casini, S., ... & Finoia, M. G. (2013). The Pelagos Sanctuary for Mediterranean marine mammals: Marine Protected Area (MPA) or marine polluted area? The case study of the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*). *Marine pollution bulletin*, 70(1-2), 64-72. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.02.013>.

Fossi, M.C., Panti, C., Marsili, L., Maltese, S., Coppola, D., Jiminez, B., Muñoz-Arnanz, Finoia, M.G., Rojas-Bracho, L., Urban, R.J., 2014. Could feeding habit and migratory behavior be the causes of different toxicological hazard to cetaceans of Gulf of California (Mexico). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 13353–13366. <https://doi.org/10.1007/s11356-14-2574-8>.





Freeman, H. C., & Horne, D. A. (1973). Mercury in Canadian seals. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 10(3), 172-180. <https://doi.org/10.1007/BF01720700>.

Frodello, J. P., Roméo, M., & Viale, D. (2000). Distribution of mercury in the organs and tissues of five toothed-whale species of the Mediterranean. *Environmental Pollution*, 108(3), 447-452. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00221-3](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00221-3).

Frouin, H., Loseto, L. L., Stern, G. A., Haulena, M., & Ross, P. S. (2012). Mercury toxicity in beluga whale lymphocytes: limited effects of selenium protection. *Aquatic toxicology*, 109, 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.09.021>.

Fujise, Y., Honda, K., Tatsukawa, R., & Mishima, S. (1988). Tissue distribution of heavy metals in Dall's porpoise in the northwestern Pacific. *Marine Pollution Bulletin*, 19(5), 226-230. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(88\)90236-6](https://doi.org/10.1016/0025-326X(88)90236-6).

Fuoco, R., Colombini, M. P., Ceccarini, A., & Abete, C. (1996). Polychlorobiphenyls in Antarctica. *Microchemical journal*, 54(4), 384-390. <https://doi.org/10.1006/mchj.1996.0115>.

---

## G

Gajdosechova, Z., Brownlow, A., Cottin, N. T., Fernandes, M., Read, F. L., Urgast, D. S., ... & Krupp, E. M. (2016). Possible link between Hg and Cd accumulation in the brain of long-finned pilot whales (*Globicephala melas*). *Science of The Total Environment*, 545, 407-413. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.082>.

Galatius, A., Dietz, R., Rigét, F. F., Sonne, C., Kinze, C. C., Lockyer, C., & Bossi, R. (2011). Temporal and life history related trends of perfluorochemicals in harbor porpoises from the Danish North Sea. *Marine pollution bulletin*, 62(7), 1476-1483. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.04.011>.

Galatius, A., Bossi, R., Sonne, C., Rigét, F. F., Kinze, C. C., Lockyer, C., ... & Dietz, R. (2013). PFAS profiles in three North Sea top predators: metabolic differences among species?. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(11), 8013-8020. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1633-x>.

Gannier, A. (1995). *Les Cétacés de Méditerranée nord-occidentale: estimation de leur abondance et mise en relation de la variation saisonnière de leur distribution avec l'écologie du milieu* (Doctoral dissertation, Paris, EPHE).

Gannier, A. (1998). Une estimation de l'abondance estivale du Dauphin bleu et blanc *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833) dans le futur Sanctuaire Marin International de Méditerranée nord-occidentale. *Revue d'Ecologie, Terre et Vie*, 53(3), 255-272.

Gannier, A., & Praca, E. (2007). SST fronts and the summer sperm whale distribution in the north-west Mediterranean Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87(1), 187-193. <https://doi.org/10.1017/S0025315407054689>.

García-Alvarez, N., Martín, V., Fernández, A., Almunia, J., Xuriach, A., Arbelo, M., ... & Luzardo, O. P. (2014a). Levels and profiles of POPs (organochlorine pesticides, PCBs, and PAHs) in free-ranging common bottlenose dolphins of the Canary Islands, Spain. *Science of the total environment*, 493, 22-31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.125>.

García-Alvarez, N., Boada, L.D., Fernandez, A., Zumbado, M., Arbelo, M., Sierra, E., Xuriach, A., Almunia, J., Camacho, M., Luzardo, O.P., 2014b. Assessment of the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine contaminants in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Eastern Atlantic Ocean. *Mar. Environ. Res.* 100, 48–56. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2014.03.010>.

García-Alvarez, N., Martín, V., Fernández, A., Almunia, J., Xuriach, A., Arbelo, M., ... & Luzardo, O. P. (2015). Levels and profiles of POPs (organochlorine pesticides, PCBs, and PAHs) in free-ranging common bottlenose dolphins of the Canary Islands, Spain. *Science of the Total Environment*, 493, 22-31. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.125>.

García Moreno, P., (2006). Delfín mular. *Libro Rojo de los Vertebrados de la Región de Murcia*. pp. 260-261. Dirección General del Medio Natural.



- Gaskin, D. E., Frank, R., Holdrinet, M., Ishida, K., Walton, C. J., & Smith, M. (1973). Mercury, DDT, and PCB in harbour seals (*Phoca vitulina*) from the Bay of Fundy and Gulf of Maine. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 30(3), 471-475. <https://doi.org/10.1139/f73-083>.
- Gaspari, S., Airoidi, S., & Hoelzel, A. R. (2007). Risso's dolphins (*Grampus griseus*) in UK waters are differentiated from a population in the Mediterranean Sea and genetically less diverse. *Conservation Genetics*, 8(3), 727-732. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9205-y>.
- Gaspari, S. & Natoli, A. 2012. *Grampus griseus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T9461A3151471.
- Gatesy, J., Hayashi, C., Cronin, M. A., & Arctander, P. (1996). Evidence from milk casein genes that cetaceans are close relatives of hippopotamid artiodactyls. *Molecular biology and evolution*, 13(7), 954-963. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025663>.
- Gatesy, J. (1997). More DNA support for a Cetacea/Hippopotamidae clade: the blood-clotting protein gene gamma-fibrinogen. *Molecular Biology and Evolution*, 14(5), 537-543. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025790>.
- Gatesy, J., Geisler, J. H., Chang, J., Buell, C., Berta, A., Meredith, R. W., ... & McGowen, M. R. (2013). A phylogenetic blueprint for a modern whale. *Molecular phylogenetics and evolution*, 66(2), 479-506. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.10.012>.
- Gebbink, W. A., Bossi, R., Rigét, F. F., Rosing-Asvid, A., Sonne, C., & Dietz, R. (2016). Observation of emerging per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in Greenland marine mammals. *Chemosphere*, 144, 2384-2391. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.10.116>.
- Geijer, C. K., & Jones, P. J. (2015). A network approach to migratory whale conservation: Are MPAs the way forward or do all roads lead to the IMO?. *Marine Policy*, 51, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2014.06.002>.
- Geisler, J. H., & Uhen, M. D. (2003). Morphological support for a close relationship between hippos and whales. *Journal of Vertebrate Paleontology*, 23(4), 991-996. <https://doi.org/10.1671/32>.
- Geisler, J. H., Theodor, J. M., Uhen, M. D., & Foss, S. E. (2007). Phylogenetic relationships of cetaceans to terrestrial artiodactyls. *The evolution of artiodactyls*, 19-31.
- George, B. M., & Batzer, D. P. (2001). Invertebrates as Bioindicators of Mercury in the Okefenokee Swamp of Southeast Georgia. Georgia Institute of Technology.
- George, G. N., MacDonald, T. C., Korbas, M., Singh, S. P., Myers, G. J., Watson, G. E., ... & Pickering, I. J. (2011). The chemical forms of mercury and selenium in whale skeletal muscle. *Metallomics*, 3(11), 1232-1237. <https://doi.org/10.1039/c1mt00077b>.
- Geraci, J. R., St Aubin, D. J., & Hicks, B. D. (1986). The epidermis of odontocetes: a view from within. *Research on dolphins* (M. M. Bryden y R. Harrison, eds). 1, pp. 3-21. Oxford Science Publ., Oxford
- Geraci, J. R., Lounsbury, V. J., & Yates, N. (2005). *Marine mammals ashore: a field guide for strandings*. 2<sup>nd</sup> Edition. National Aquarium in Baltimore.
- GESAMP (2007). Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. Estimates of Oil Entering the Marine Environment From Sea-Based Activities. Rep. Stud. GESAMP.
- Gessner C. 1558. — *Historia animalium IV*. Christoph Froschauer, Zurich.
- Geyer, H., Freitag, D., & Korte, F. (1984). Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the marine environment, particularly in the Mediterranean. *Ecotoxicology and environmental safety*, 8(2), 129-151. [https://doi.org/10.1016/0147-6513\(84\)90056-3](https://doi.org/10.1016/0147-6513(84)90056-3).
- Giannoulaki, M., Markoglou, E., Valavanis, V. D., Alexiadou, P., Cucknell, A., & Frantzis, A. (2017). Linking small pelagic fish and cetacean distribution to model suitable habitat for coastal dolphin species, *Delphinus delphis* and *Tursiops truncatus*, in the Greek Seas (Eastern Mediterranean). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 27(2), 436-451. <https://doi.org/10.1002/aqc.2669>.
- Giesy, J. P., & Kannan, K. (2001). Global distribution of perfluorooctane sulfonate in wildlife. *Environmental science & technology*, 35(7), 1339-1342. <https://doi.org/10.1021/es001834k>.



- Gilmour, C. C., Podar, M., Bullock, A. L., Graham, A. M., Brown, S. D., Somenahally, A. C., ... & Elias, D. A. (2013). Mercury methylation by novel microorganisms from new environments. *Environmental science & technology*, 47(20), 11810-11820. <https://doi.org/10.1021/es403075t>.
- Giménez, J., Marçalo, A., García-Polo, M., García-Barón, I., Castillo, J. J., Fernández-Maldonado, C., ... & de Stephanis, R. (2018). Feeding ecology of Mediterranean common dolphins: The importance of mesopelagic fish in the diet of an endangered subpopulation. *Marine Mammal Science*, 34(1), 136-154. <https://doi.org/10.1111/mms.12442>.
- Giorgi, F. (2006). Climate change hot-spots, *Geophys. Res. Lett.*, 33, L08707. <https://doi.org/10.1029/2006GL025734>.
- Godard, C. A., Smolowitz, R. M., Wilson, J. Y., Payne, R. S., & Stegeman, J. J. (2004). Induction of cetacean cytochrome P4501A1 by  $\beta$ -naphthoflavone exposure of skin biopsy slices. *Toxicological Sciences*, 80(2), 268-275. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfh124>.
- Godard, C. A. J., Wise, S. S., Kelly, R. S., Goodale, B., Kraus, S., Romano, T., ... & Wise Sr, J. P. (2006). Benzo [a] pyrene cytotoxicity in right whale (*Eubalaena glacialis*) skin, testis and lung cell lines. *Marine environmental research*, 62, S20-S24. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2006.04.016>.
- Goeritz, I., Falk, S., Stahl, T., Schäfers, C., & Schlechtriem, C. (2013). Biomagnification and tissue distribution of perfluoroalkyl substances (PFASs) in market-size rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental toxicology and chemistry*, 32(9), 2078-2088. <https://doi.org/10.1002/etc2279>.
- Gold, B., & Brunk, G. (1982). Metabolism of 1, 1, 1-trichloro-2, 2-bis (p-chlorophenyl) ethane and 1, 1-dichloro-2, 2-bis (p-chlorophenyl) ethane in the mouse. *Chemico-biological interactions*, 41(3), 327-339. [https://doi.org/10.1016/0009-2797\(82\)90109-0](https://doi.org/10.1016/0009-2797(82)90109-0).
- Gómez, C., Vicente, J., Echavarri-Erasun, B., Porte, C., & Lacorte, S. (2011). Occurrence of perfluorinated compounds in water, sediment and mussels from the Cantabrian Sea (North Spain). *Marine pollution bulletin*, 62(5), 948-955. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.02.049>.
- Gómez de Segura, A., Crespo, E. A., Pedraza, S. N., Hammond, P. S., & Raga, J. A. (2006). Abundance of small cetaceans in waters of the central Spanish Mediterranean. *Marine Biology*, 150(1), 149-160. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0334-0>.
- Gómez de Segura, A.G., Hammond, P.S., Raga, J.A., 2008. Influence of environmental factors on small cetacean distribution in the Spanish Mediterranean. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 88 (6), 1185e1192. <https://doi.org/10.1017/S0025315408000386>.
- Gómez-Campos, E., Borrell, A., Cardona, L., Forcada, J., Aguilar, A., 2011. Overfishing of small pelagic fishes increases trophic overlap between immature and mature striped dolphins in the Mediterranean Sea. *PloS One* 6 (9). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024554>.
- Gómez-Gutiérrez, A. I., Jover, E., Bodineau, L., Albaigés, J., & Bayona, J. M. (2006). Organic contaminant loads into the Western Mediterranean Sea: estimate of Ebro River inputs. *Chemosphere*, 65(2), 224-236. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.02.058>.
- Gonzalvo, J., Lauriano, G., Hammond, P. S., Viaud-Martinez, K. A., Fossi, M. C., Natoli, A., & Marsili, L. (2016). The Gulf of Ambracia's common bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*: A highly dense and yet threatened population. *Advances in marine biology*, 75, 259-296. <https://doi.org/10.1016/bs.amb.2016.07.002>.
- Greaves, A. K., Letcher, R. J., Sonne, C., & Dietz, R. (2013). Brain region distribution and patterns of bioaccumulative perfluoroalkyl carboxylates and sulfonates in East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*). *Environmental toxicology and chemistry*, 32(3), 713-722. <https://doi.org/10.1002/etc2107>.
- Groh, K., Vom Berg, C., Schirmer, K., & Tlili, A. (2022). Anthropogenic chemicals as underestimated drivers of biodiversity loss: scientific and societal implications. *Environmental Science & Technology*, 56(2), 707-710. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c08399>.
- Grønnestad, R., Villanger, G. D., Polder, A., Kovacs, K. M., Lydersen, C., Jenssen, B. M., & Borgå, K. (2017). Maternal transfer of perfluoroalkyl substances in hooded seals. *Environmental toxicology and chemistry*, 36(3), 763-770. <https://doi.org/10.1002/etc3623>.



Gui, D., Zhang, L., Zhan, F., Liu, W., Yu, X., Chen, L., Wu, Y., 2018. Levels and trends of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Indo-Pacific humpback dolphins from the Pearl River Estuary (2012–2017). *Mar. Pollut. Bull.* 131, 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.058>.

Gui, D., Zhang, M., Zhang, T., Zhang, B., Lin, W., Sun, X., ... & Wu, Y. (2019). Bioaccumulation behavior and spatiotemporal trends of per-and polyfluoroalkyl substances in Indo-Pacific humpback dolphins from the Pearl River Estuary, China. *Science of The Total Environment*, 658, 1029-1038. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.278>.

---

## H

Hall, J. D., Gilmartin, W. G., & Mattsson, J. L. (1971). Investigation of a Pacific pilot whale stranding on San Clemente Island. *Journal of Wildlife Diseases*, 7(4), 324-327. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-7.4.324>.

Hall, A. J., Kalantzi, O. I., & Thomas, G. O. (2003). Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in grey seals during their first year of life—are they thyroid hormone endocrine disrupters?. *Environmental Pollution*, 126(1), 29-37. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(03\)00149-0](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(03)00149-0).

Hall, A. J., Hugunin, K., Deaville, R., Law, R. J., Allchin, C. R., & Jepson, P. D. (2006). The risk of infection from polychlorinated biphenyl exposure in the harbor porpoise (*Phocoena phocoena*): a case-control approach. *Environmental Health Perspectives*, 114(5), 704-711. <https://doi.org/10.1289/ehp.8222>.

Halpern, B. S., Walbridge, S., Selkoe, K. A., Kappel, C. V., Micheli, F., d'Agrosa, C., ... & Watson, R. (2008). A global map of human impact on marine ecosystems. *science*, 319(5865), 948-952. <https://doi.org/10.1126/science.1149345>.

Hansen, L.G. (1999). Disposition and Toxicokinetics. In: *The ortho Side of PCBs*. Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5057-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5057-0_7).

Hansen, K. J., Clemen, L. A., Ellefson, M. E., & Johnson, H. O. (2001). Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices. *Environmental science & technology*, 35(4), 766-770. <https://doi.org/10.1021/es001489z>.

Hansen, L. J., Schwacke, L. H., Mitchum, G. B., Hohn, A. A., Wells, R. S., Zolman, E. S., & Fair, P. A. (2004). Geographic variation in polychlorinated biphenyl and organochlorine pesticide concentrations in the blubber of bottlenose dolphins from the US Atlantic coast. *Science of the Total Environment*, 319(1-3), 147-172. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(03\)00371-1](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(03)00371-1).

Hansen, A. M., Bryan, C. E., West, K., & Jensen, B. A. (2016). Trace element concentrations in liver of 16 species of cetaceans stranded on Pacific Islands from 1997 through 2013. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 70(1), 75-95. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0204-1>.

Hart, K., Kannan, K., Isobe, T., Takahashi, S., Yamada, T. K., Miyazaki, N., & Tanabe, S. (2008). Time trends and transplacental transfer of perfluorinated compounds in melon-headed whales stranded along the Japanese coast in 1982, 2001/2002, and 2006. *Environmental science & technology*, 42(19), 7132-7137. <https://doi.org/10.1021/es801224v>.

Harvey, G. R., Bowen, V. T., Backus, R. H., & Grice, G. D. (1972). Chlorinated hydrocarbons in open-ocean Atlantic organisms. *The changing chemistry of the Oceans*, 177.

He, J., Robrock, K. R., & Alvarez-Cohen, L. (2006). Microbial reductive debromination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). *Environmental science & technology*, 40(14), 4429-4434. <https://doi.org/10.1021/es052508d>.

Helle, E., Olsson, M., & Jensen, S. (1976). PCB levels correlated with pathological changes in seal uteri. *Ambio*, 261-262. <https://www.jstor.org/stable/4312230>.

Helle, E., Stenman, O., Olsson, M., Helander, B., & Harkonen, T. (1990). Baltic seals, population size, reproduction and organochlorines. *Ambio*, 7, 16.

Hendriks, I. E., Olsen, Y. S., Ramajo, L., Basso, L., Steckbauer, A., Moore, T. S., ... & Duarte, C. M. (2014). Photosynthetic activity buffers ocean acidification in seagrass meadows. *Biogeosciences*, 11(2), 333-346. <https://doi.org/10.5194/bg-11-333-2014>.



Henry, T. R., & DeVito, M. J. (2003). Non-dioxin-like PCBs: effects and consideration in ecological risk assessment. Washington, DC: Ecological Risk Assessment Support Center, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency.

Hens, B., & Hens, L. (2017). Persistent threats by persistent pollutants: chemical nature, concerns and future policy regarding PCBs—what are we heading for?. *Toxics*, 6(1), 1. <https://doi.org/10.3390/toxics6010001>.

Hohn, A. A., Scott, M. D., Wells, R. S., Sweeney, J. C., & Irvine, A. B. (1989). Growth layers in teeth from known-age, free-ranging bottlenose dolphins. *Marine Mammal Science*, 5(4), 315-342. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1989.tb00346.x>.

Houde, M., Wells, R. S., Fair, P. A., Bossart, G. D., Hohn, A. A., Rowles, T. K., ... & Muir, D. C. (2005). Polyfluoroalkyl compounds in free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from the Gulf of Mexico and the Atlantic Ocean. *Environmental science & technology*, 39(17), 6591-6598. <https://doi.org/10.1021/es0506556>.

Houde, M., Martin, J. W., Letcher, R. J., Solomon, K. R., & Muir, D. C. (2006a). Biological monitoring of polyfluoroalkyl substances: a review. *Environmental science & technology*, 40(11), 3463-3473. <https://doi.org/10.1021/es052580b>.

Houde, M., Bujas, T. A., Small, J., Wells, R. S., Fair, P. A., Bossart, G. D., ... & Muir, D. C. (2006b). Biomagnification of perfluoroalkyl compounds in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) food web. *Environmental science & technology*, 40(13), 4138-4144. <https://doi.org/10.1021/es060233b>.

Houde, M., Balmer, B. C., Brandsma, S., Wells, R. S., Rowles, T. K., Solomon, K. R., & Muir, D. C. (2006c). Perfluoroalkyl compounds in relation to life-history and reproductive parameters in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from Sarasota Bay, Florida, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 25(9), 2405-2412. <https://doi.org/10.1897/05-499R.1>.

Huber, S., Ahrens, L., Bårdsen, B. J., Siebert, U., Bustnes, J. O., Víkingsson, G. A., ... & Herzke, D. (2012). Temporal trends and spatial differences of perfluoroalkylated substances in livers of harbor porpoise (*Phocoena phocoena*) populations from Northern Europe, 1991–2008. *Science of the total environment*, 419, 216-224. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.12.050>.

---

## I

IARC, 2022. International Agency for Research on Cancer, 2022. List of Classifications, Agents classified by the IARC Monographs, Columes 1-131. Last updated: 2022-04-08 [Accessed on Jun 26, 2022]. <https://monographs.iarc.who.int/list-of-classifications/>

Ikemoto, T., Kunito, T., Tanaka, H., Baba, N., Miyazaki, N., & Tanabe, S. (2004). Detoxification mechanism of heavy metals in marine mammals and seabirds: interaction of selenium with mercury, silver, copper, zinc, and cadmium in liver. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(3), 402-413. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-3188-9>.

Itano, K., Miyazaki, N., Tatsukawa, R., & Fujiyama, T. (1984). Mercury and selenium levels in striped dolphins caught off the Pacific coast of Japan. *Agricultural and Biological Chemistry*, 48(5), 1109-1116. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.48.1109>.

ITRC, 2017. Interstate Technology and Regulatory Council. Nomenclatura y propiedades químicas y físicas de las Sustancias Per-y Polifluoroalquiladas (PFAS).

---

## J

Jaramillo-Legorreta, A. M., Cardenas-Hinojosa, G., Nieto-García, E., Rojas-Bracho, L., Thomas, L., Ver Hoef, J. M., ... & Tregenza, N. (2019). Decline towards extinction of Mexico's vaquita porpoise (*Phocoena sinus*). *Royal Society open science*, 6(7), 190598. <https://doi.org/10.1098/rsos.190598>.

Jensen, S. and G. Widmark, 1967. "Pesticide Analysis? Presence of Polychlorinated Biphenyls at Residue Analysis of Biological Samples," University of Stockholm, Sweden, unpublished report (1967).

Jepson, P. D., Bennett, P. M., Deaville, R., Allchin, C. R., Baker, J. R., & Law, R. J. (2005). Relationships between polychlorinated biphenyls and health status in harbor porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded in



the United Kingdom. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 24(1), 238-248. <https://doi.org/10.1897/03-663.1>.

Jepson, P. D., & Law, R. J. (2016). Persistent pollutants, persistent threats. *Science*, 352(6292), 1388-1389. <https://doi.org/10.1126/science.aaf9075>.

Jepson, P. D., Deaville, R., Barber, J. L., Aguilar, À., Borrell, A., Murphy, S., ... & Law, R. J. (2016). PCB pollution continues to impact populations of orcas and other dolphins in European waters. *Scientific reports*, 6(1), 1-17. <https://doi.org/10.1038/srep18573>.

Johansson, N., Fredriksson, A., & Eriksson, P. (2008). Neonatal exposure to perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) causes neurobehavioural defects in adult mice. *Neurotoxicology*, 29(1), 160-169. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2007.10.008>.

Jones, P. D., Hu, W., De Coen, W., Newsted, J. L., & Giesy, J. P. (2003). Binding of perfluorinated fatty acids to serum proteins. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 22(11), 2639-2649. <https://doi.org/10.1897/02-553>.

Jonsson, G., Bechmann, R.K., Bamber, S.D., Baussant, T., 2004. Bioconcentration, biotransformation and elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sheepshead minnows (*Cyprinodon variegatus*) exposed to contaminated seawater. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 1538–1548. <https://doi.org/10.1897/03-173>.

---

## K

Kallenborn, R. (2004). Perfluorinated alkylated substances (PFAS) in the Nordic environment. Nordic Council of Ministers.

Kannan, K., Blankenship, A. L., Jones, P. D., & Giesy, J. P. (2000). Toxicity reference values for the toxic effects of polychlorinated biphenyls to aquatic mammals. *Human and Ecological Risk Assessment*, 6(1), 181-201. <https://doi.org/10.1080/10807030091124491>.

Kannan, K., Koistinen, J., Beckmen, K., Evans, T., Gorzelany, J.F., Hansen, K.J., *et al.*, 2001. Accumulation of perfluorooctane sulfonate in marine mammals. *Environ. Sci. Technol.* 35 (8), 1593e1598. <https://doi.org/10.1021/es001873w>.

Kannan, K., Corsolini, S., Falandysz, J., Oehme, G., Focardi, S., & Giesy, J. P. (2002). Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes, and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean Seas. *Environmental science & technology*, 36(15), 3210-3216. <https://doi.org/10.1021/es020519q>.

Kannan, K., Tao, L., Sinclair, E., Pastva, S.D., Jude, D.J., Giesy, J.P., 2005. Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lakes food chain. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 48 (4), 559e566. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-0133-x>.

Kannan, K., Perrotta, E., & Thomas, N. J. (2006). Association between perfluorinated compounds and pathological conditions in southern sea otters. *Environmental science & technology*, 40(16), 4943-4948. <https://doi.org/10.1021/es060932o>.

Kannan K, Perrotta E (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in livers of California sea otters. *Chemosphere*, volumen 71, pp 649-655. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.11.043>.

Karickhoff, S. W., Brown, D. S., & Scott, T. A. (1979). Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments. *Water research*, 13(3), 241-248. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(79\)90201-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(79)90201-X).

Karickhoff, S. W. (1981). Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. *Chemosphere*, 10(8), 833-846. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(81\)90083-7](https://doi.org/10.1016/0045-6535(81)90083-7).

Katsanevakis, S., Zenetos, A., Belchior, C., & Cardoso, A. C. (2013). Invading European Seas: assessing pathways of introduction of marine aliens. *Ocean & Coastal Management*, 76, 64-74. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2013.02.024>.

Kawai, S., Fukushima, M., Miyazaki, N., & Tatsukawa, R. (1988). Relationship between lipid composition and organochlorine levels in the tissues of striped dolphin. *Marine Pollution Bulletin*, 19(3), 129-133. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(88\)90709-6](https://doi.org/10.1016/0025-326X(88)90709-6).



- Kehrig, H. A., Hauser-Davis, R. A., Seixas, T. G., Pinheiro, A. B., & Di Benedetto, A. P. M. (2016). Mercury species, selenium, metallothioneins and glutathione in two dolphins from the southeastern Brazilian coast: mercury detoxification and physiological differences in diving capacity. *Environmental pollution*, 213, 785-792. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.041>.
- Kierkegaard, A., Asplund, L., de Wit, C. A., McLachlan, M. S., Thomas, G. O., Sweetman, A. J., & Jones, K. C. (2007). Fate of higher brominated PBDEs in lactating cows. *Environmental science & technology*, 41(2), 417-423. <https://doi.org/10.1021/es0619197>.
- Kershaw, J., & Hall, A. (2019). Mercury in cetaceans: Exposure, bioaccumulation and toxicity. *Science of The Total Environment*, 133683. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133683>.
- Khan, M. A., & Wang, F. (2010). Chemical demethylation of methylmercury by selenoamino acids. *Chemical research in toxicology*, 23(7), 1202-1206. <https://doi.org/10.1021/tx100080s>.
- Kissa, E. (Ed.), 2001. *Fluorinated Surfactants and Repellents*, vol. 97. CRC Press.
- Koeman, J. H., & van Genderen, H. (1966). Some preliminary note on residues of chlorinated hydrocarbon insecticides in birds and mammals in the Netherlands. *Journal of Applied Ecology*, 3, 99-106.
- Koeman, J. H., Peeters, W. H. M., Koudstaal-Hol, C. H. M., Tjioe, P. S., & De Goeij, J. J. M. (1973). Mercury-selenium correlations in marine mammals. *Nature*, 245(5425), 385. <https://doi.org/10.1038/245385a0>.
- Krafft, M.P., Riess, J.G., 2015. Selected physicochemical aspects of poly-and perfluoroalkylated substances relevant to performance, environment and sustainability part one. *Chemosphere* 129, 4e19. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.08.039>.
- Krahn, M. M., Hanson, M. B., Baird, R. W., Boyer, R. H., Burrows, D. G., Emmons, C. K., ... & Collier, T. K. (2007). Persistent organic pollutants and stable isotopes in biopsy samples (2004/2006) from Southern Resident killer whales. *Marine pollution bulletin*, 54(12), 1903-1911. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.08.015>.
- Krahn, M. M., Hanson, M. B., Schorr, G. S., Emmons, C. K., Burrows, D. G., Bolton, J. L., ... & Ylitalo, G. M. (2009). Effects of age, sex and reproductive status on persistent organic pollutant concentrations in "Southern Resident" killer whales. *Marine Pollution Bulletin*, 58(10), 1522-1529. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.05.014>.
- Krey, A., Kwan, M., & Chan, H. M. (2012). Mercury speciation in brain tissue of polar bears (*Ursus maritimus*) from the Canadian Arctic. *Environmental research*, 114, 24-30. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.01.006>.
- Krey, A., Ostertag, S. K., & Chan, H. M. (2015). Assessment of neurotoxic effects of mercury in beluga whales (*Delphinapterus leucas*), ringed seals (*Pusa hispida*), and polar bears (*Ursus maritimus*) from the Canadian Arctic. *Science of the Total Environment*, 509, 237-247. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.134>.
- Kuehl, D. W., Haebler, R., & Potter, C. (1991). Chemical residues in dolphins from the US Atlantic coast including Atlantic bottlenose obtained during the 1987/88 mass mortality. *Chemosphere*, 22(11), 1071-1084. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(91\)90308-Z](https://doi.org/10.1016/0045-6535(91)90308-Z).
- Kuiken, T., & Hartmann, M. G. (1991, September). Draft standard protocol for the basic postmortem examination and tissue sampling of small cetaceans. In *Guidelines and rec. form. resulting from the 1st ECS workshop on cetacean pathology: dissection techniques and tissue sampling*, Leiden (Vol. 13, p. 14).

---

## L

- La Guardia, M. J., Hale, R. C., & Harvey, E. (2006). Detailed polybrominated diphenyl ether (PBDE) congener composition of the widely used penta-, octa-, and deca-PBDE technical flame-retardant mixtures. *Environmental science & technology*, 40(20), 6247-6254. <https://doi.org/10.1021/es060630m>.
- Lahvis, G. P., Wells, R. S., Kuehl, D. W., Stewart, J. L., Rhinehart, H. L., & Via, C. S. (1995). Decreased lymphocyte responses in free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) are associated with



- increased concentrations of PCBs and DDT in peripheral blood. *Environmental Health Perspectives*, 103(suppl 4), 67-72. <https://doi.org/10.1289/ehp.95103s467>.
- Lailson-Brito, J., Cruz, R., Dorneles, P. R., Andrade, L., de Freitas Azevedo, A., Fragoso, A. B., ... & Carvalho, D. P. (2012). Mercury-selenium relationships in liver of Guiana dolphin: the possible role of Kupffer cells in the detoxification process by tiemannite formation. *PLoS One*, 7(7), e42162. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042162>.
- Lam, J. C., Lyu, J., Kwok, K. Y., & Lam, P. K. (2016). Perfluoroalkyl substances (PFASs) in marine mammals from the South China Sea and their temporal changes 2002–2014: Concern for alternatives of PFOS?. *Environmental science & technology*, 50(13), 6728-6736. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b06076>.
- Lamborg, C. H., Hammerschmidt, C. R., Bowman, K. L., Swarr, G. J., Munson, K. M., Ohnemus, D. C., ... & Saito, M. A. (2014). A global ocean inventory of anthropogenic mercury based on water column measurements. *Nature*, 512(7512), 65. <https://doi.org/10.1038/nature13563>.
- Landrigan, P. J., Fuller, R., Acosta, N. J., Adeyi, O., Arnold, R., Baldé, A. B., ... & Zhong, M. (2018). The Lancet Commission on pollution and health. *The lancet*, 391(10119), 462-512. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)32345-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)32345-0).
- Landrigan, P. J., Stegeman, J. J., Fleming, L. E., Allemand, D., Anderson, D. M., Backer, L. C., ... & Rampal, P. (2020). Human health and ocean pollution. *Annals of global health*, 86(1). <https://doi.org/https://doi.org/10.5334%2Fagoh.2831>.
- Langlois, C., Langis, R., & Pérusse M. (1995). Mercury contamination in northern Québec environment and wildlife. Mercury as a global pollutant , pp. 1021-1024. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-0153-0\\_112](https://doi.org/10.1007/978-94-011-0153-0_112).
- Laran, S., & Drouot-Dulau, V. (2007). Seasonal variation of striped dolphins, fin-and sperm whales' abundance in the Ligurian Sea (Mediterranean Sea). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87(1), 345-352. <https://doi.org/10.1017/S0025315407054719>.
- Latimer, J. S., & Zheng, J. (2003). and Fate of PAHs in the Marine Environment. PAHs: an ecotoxicological perspective, 9. <https://doi/10.1002/0470867132>.
- Lau, C., Thibodeaux, J. R., Hanson, R. G., Rogers, J. M., Grey, B. E., Stanton, M. E., ... & Stevenson, L. A. (2003). Exposure to perfluorooctane sulfonate during pregnancy in rat and mouse. II: postnatal evaluation. *Toxicological Sciences*, 74(2), 382-392. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfg122>.
- Lau, C., Thibodeaux, J. R., Hanson, R. G., Narotsky, M. G., Rogers, J. M., Lindstrom, A. B., & Strynar, M. J. (2006). Effects of perfluorooctanoic acid exposure during pregnancy in the mouse. *Toxicological Sciences*, 90(2), 510-518. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfj105>.
- Lavoie, R. A., Jardine, T. D., Chumchal, M. M., Kidd, K. A., & Campbell, L. M. (2013). Biomagnification of mercury in aquatic food webs: a worldwide meta-analysis. *Environmental science & technology*, 47(23), 13385-13394. <https://doi.org/10.1021/es403103t>.
- Law, R. J., Covaci, A., Harrad, S., Herzke, D., Abdallah, M. A. E., Fernie, K., ... & Takigami, H. (2014). Levels and trends of PBDEs and HBCDs in the global environment: status at the end of 2012. *Environment international*, 65, 147-158. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.01.006>.
- Lawal, A.T., 2017. Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. *Cogent Environ Sci* 71, 1–89. <https://doi.org/10.1080/23311843.2017.1339841>.
- Lawrence, J. F., & Weber, D. F. (1984). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in some Canadian commercial fish, shellfish, and meat products by liquid chromatography with confirmation by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 32(4), 789-794. <https://doi.org/10.1021/jf00124a022>.
- Lazar, B., Maslov, L., Romanić, S. H., Gračan, R., Krauthacker, B., Holcer, D., & Tvrtković, N. (2011). Accumulation of organochlorine contaminants in loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, from the eastern Adriatic Sea. *Chemosphere*, 82(1), 121-129. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.015>.





- Lazar, B., Holcer, D., Mackelworth, P., Klincic, D., & Romanic, S. H. (2012). Organochlorine contaminant levels in tissues of a short-beaked common dolphin, *Delphinus delphis*, from northern Adriatic Sea. *Natura Croatica*, 21(2), 391.
- Leaper, R., Cooke, J., Trathan, P., Reid, K., Rowntree, V., & Payne, R. (2006). Global climate drives southern right whale (*Eubalaena australis*) population dynamics. *Biology Letters*, 2(2), 289-292. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2005.0431>.
- Lee, H. J., & Kim, G. B. (2015). An overview of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the marine environment. *Ocean Science Journal*, 50(2), 119-142. <https://doi.org/10.1007/s12601-015-0010-8>.
- Lejeusne, C., Chevaldonné, P., Pergent-Martini, C., Boudouresque, C. F., & Pérez, T. (2010). Climate change effects on a miniature ocean: the highly diverse, highly impacted Mediterranean Sea. *Trends in ecology & evolution*, 25(4), 250-260. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.10.009>.
- Lemes, M., Wang, F., Stern, G. A., Ostertag, S. K., & Chan, H. M. (2011). Methylmercury and selenium speciation in different tissues of beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the western Canadian Arctic. *Environmental toxicology and chemistry*, 30(12), 2732-2738. <https://doi.org/10.1002/etc684>.
- León, V. M., Martínez-Gómez, C., García, I., Campillo, J. A., & Benedicto, J. (2013). Spatial distribution and temporal trends of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Mytilus galloprovincialis* from the Iberian Mediterranean coast. *Environmental monitoring and assessment*, 185(2), 1055-1070. <https://doi.org/10.1007/s10661-012-2614-0>.
- Leonel, J., Kannan, K., Tao, L., Fillmann, G., & Montone, R. C. (2008). A baseline study of perfluorochemicals in Franciscana dolphin and Subantarctic fur seal from coastal waters of Southern Brazil. *Marine pollution bulletin*, 56(4), 778-781. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.01.012>.
- Leonzio, C., Focardi, S., & Fossi, C. (1992). Heavy metals and selenium in stranded dolphins of the Northern Tyrrhenian (NW Mediterranean). *Science of the Total Environment*, 119, 77-84. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(92\)90257-S](https://doi.org/10.1016/0048-9697(92)90257-S).
- Letcher, R. J., Gebbink, W. A., Sonne, C., Born, E. W., McKinney, M. A., & Dietz, R. (2009). Bioaccumulation and biotransformation of brominated and chlorinated contaminants and their metabolites in ringed seals (*Pusa hispida*) and polar bears (*Ursus maritimus*) from East Greenland. *Environment international*, 35(8), 1118-1124. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.07.006>.
- Letcher, R. J., Chu, S., McKinney, M. A., Tomy, G. T., Sonne, C., & Dietz, R. (2014). Comparative hepatic in vitro depletion and metabolite formation of major perfluorooctane sulfonate precursors in arctic polar bear, beluga whale, and ringed seal. *Chemosphere*, 112, 225-231. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.022>.
- Levin, A. A., & Miller, R. K. (1980). Fetal toxicity of cadmium in the rat: maternal vs fetal injections. *Teratology*, 22(1), 1-5. <https://doi.org/10.1002/tera.1420220102>.
- Levin, M., Morsey, B., Mori, C., & Guise, S. D. (2004). Specific non-coplanar PCB-mediated modulation of bottlenose dolphin and beluga whale phagocytosis upon in vitro exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67(19), 1517-1535. <https://doi.org/10.1080/15287390490486761>.
- Li, B., Danon-Schaffer, M. N., Li, L. Y., Ikonou, M. G., & Grace, J. R. (2012). Occurrence of PFCs and PBDEs in landfill leachates from across Canada. *Water, Air, & Soil Pollution*, 223(6), 3365-3372. <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1115-7>.
- Li, L., Zhai, Z., Liu, J., Hu, J., 2015. Estimating industrial and domestic environmental releases of perfluorooctanoic acid and its salts in China from 2004 to 2012. *Chemosphere* 129, 100-109. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.049>.
- Liao, C., Wang, T., Cui, L., Zhou, Q., Duan, S., & Jiang, G. (2009). Changes in synaptic transmission, calcium current, and neurite growth by perfluorinated compounds are dependent on the chain length and functional group. *Environmental science & technology*, 43(6), 2099-2104. <https://doi.org/10.1021/es802985e>.
- Liber, Y., Mourier, B., Marchand, P., Bichon, E., Perrodin, Y., & Bedell, J. P. (2019). Past and recent state of sediment contamination by persistent organic pollutants (POPs) in the Rhône River: Overview of



ecotoxicological implications. *Science of the Total Environment*, 646, 1037-1046. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.07.340>.

Lipiatou E, Tolosa I, Simó R, Bouloubassi I, Dachs J, Marti S, Sicre MA, Bayona JM, Grimalt JO, Salot A, Albaigés J (1997). Mass budget and dynamics of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Mediterranean Sea, *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 44:881-905. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(96\)00093-8](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(96)00093-8).

Litz, J. A., Garrison, L. P., Fieber, L. A., Martinez, A., Contillo, J. P., & Kucklick, J. R. (2007). Fine-scale spatial variation of persistent organic pollutants in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Biscayne Bay, Florida. *Environmental science & technology*, 41(21), 7222-7228. <https://doi.org/10.1021/es070440r>.

Liu, X., Liu, W., Jin, Y., Yu, W., Wang, F., & Liu, L. (2010). Effect of gestational and lactational exposure to perfluorooctanesulfonate on calcium-dependent signaling molecules gene expression in rats' hippocampus. *Archives of toxicology*, 84(1), 71-79. <https://doi.org/10.1007/s00204-009-0467-2>.

Loccisano, A. E., Longnecker, M. P., Campbell Jr, J. L., Andersen, M. E., & Clewell III, H. J. (2013). Development of PBPK models for PFOA and PFOS for human pregnancy and lactation life stages. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 76(1), 25-57. <https://doi.org/10.1080/15287394.2012.722523>.

Loganathan, B. G., & Kannan, K. (1994). Global organochlorine contamination trends: an overview. *Ambio*, 187-191. <https://www.jstor.org/stable/4314197>.

Lorber, M. (2008). Exposure of Americans to polybrominated diphenyl ethers. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, 18(1), 2-19. <https://doi.org/10.1038/sj.jes.7500572>.

López-Berenguer, G., Peñalver, J., & Martínez-López, E. (2020a). A critical review about neurotoxic effects in marine mammals of mercury and other trace elements. *Chemosphere*, 246, 125688. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125688>.

López-Berenguer, G., Bossi, R., Eulaers, I., Dietz, R., Peñalver, J., Schulz, R., ... & Martínez-López, E. (2020b). Stranded cetaceans warn of high perfluoroalkyl substance pollution in the western Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, 267, 115367. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115367>.

Lourenço, R.A., Oliveira, F.F., Souza, J.M., Nudi, A.H., Wagener, A.L.R., Meniconi, M.F.G., Francioni, E., 2016. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in a produced water disposal area in the Potiguar Basin, Brazilian Equatorial Margin. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2016, 17113–17122. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6903-y>.

Lourenço, R. A., Taniguchi, S., da Silva, J., Gallotta, F. D. C., & Bicego, M. C. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine mammals: A review and synthesis. *Marine pollution bulletin*, 171, 112699. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112699>.

Lubis, M. Z. (2016). Behaviour and echolocation of male indo-pacific bottlenose dolphins. <https://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.4603.7520>.

Luebker, D. J., Hansen, K. J., Bass, N. M., Butenhoff, J. L., & Seacat, A. M. (2002). Interactions of fluorochemicals with rat liver fatty acid-binding protein. *Toxicology*, 176(3), 175-185. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(02\)00081-1](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(02)00081-1).

Lundin, J. I., Ylitalo, G. M., Booth, R. K., Anulacion, B., Hempelmann, J. A., Parsons, K. M., ... & Wasser, S. K. (2016). Modulation in persistent organic pollutant concentration and profile by prey availability and reproductive status in Southern Resident killer whale scat samples. *Environmental Science & Technology*, 50(12), 6506-6516. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00825>.

---

**M**

Magos, L., & Butler, W. H. (1976). The kinetics of methylmercury administered repeatedly to rats. *Archives of toxicology*, 35(1), 25-39. <https://doi.org/10.1007/BF00333983>.

Marino, L., 2002. Convergence of complex cognitive abilities in cetaceans and primates. *Brain Behav. Evol.* 59 (1e2), 21e32. <https://doi.org/10.1159/000063731>.



- Marino, L. (2007). Cetacean brains: how aquatic are they?. *The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, 290(6), 694-700. <https://doi.org/10.1002/ar.20530>.
- Marino, L., Connor, R. C., Fordyce, R. E., Herman, L. M., Hof, P. R., Lefebvre, L., ... & Rendell, L. (2007). Cetaceans have complex brains for complex cognition. *PLoS biology*, 5(5), e139. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050139>.
- Marsili, L., & Focardi, S. (1997). Chlorinated hydrocarbon (HCB, DDTs and PCBs) levels in cetaceans stranded along the Italian coasts: an overview. *Environmental Monitoring and Assessment*, 45(2), 129-180. <https://doi.org/10.1023/A:1005786627533>.
- Marsili, L. (2000). Lipophilic contaminants in marine mammals: review of the results of ten years' work at the Department of Environmental Biology, Siena University (Italy). *International Journal of Environment and Pollution*, 13(1-6), 416-452. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1504/IJEP.2000.002329>.
- Marsili L, Caruso A, Fossi MC, Zanardelli M, Politi E, 2001. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in subcutaneous biopsies of Mediterranean cetaceans. *Chemosphere*. 44(2):147-54. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(00\)00206-x](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(00)00206-x).
- Marsili, L., D'Agostino, A., Bucalossi, D., Malatesta, T., & Fossi, M. C. (2004). Theoretical models to evaluate hazard due to organochlorine compounds (OCs) in Mediterranean striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*). *Chemosphere*, 56(8), 791-801. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.03.014>.
- Marsili, L., Maltesi, S., Coppola, D., Carletti, L., Mazzariol, S., Fossi, M., 2014. Ecotoxicological status of seven sperm whales (*Physeter macrocephalus*) stranded along the Adriatic coast of southern Italy. *Aquat. Conserv.* 24, 103–118. <https://doi.org/10.1002/aqc.2447>.
- Marsili, L., Jiménez, B., & Borrell, A. (2018). Persistent organic pollutants in cetaceans living in a hotspot area: the Mediterranean Sea. In *Marine Mammal Ecotoxicology* (pp. 185-212). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812144-3.00007-3>.
- Martin, J. W., Mabury, S. A., Solomon, K. R., & Muir, D. C. (2003). Dietary accumulation of perfluorinated acids in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 22(1), 189-195. <https://doi.org/10.1002/etc5620220125>.
- Martin, J.W., Whittle, D.M., Muir, D.C., Mabury, S.A., 2004. Perfluoroalkyl contaminants in a food web from Lake Ontario. *Environ. Sci. Technol.* 38 (20), 5379e5385. <https://doi.org/10.1021/es049331s>.
- Martin, J. W., Asher, B. J., Beesoon, S., Benskin, J. P., & Ross, M. S. (2010). PFOS or PreFOS? Are perfluorooctane sulfonate precursors (PreFOS) important determinants of human and environmental perfluorooctane sulfonate (PFOS) exposure?. *Journal of Environmental Monitoring*, 12(11), 1979-2004. <https://doi.org/10.1039/C0EM00295J>.
- Martineau, D., Lagace, A., Beland, P., Higgins, R., Armstrong, D., & Shugart, L. R. (1988). Pathology of stranded beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from the St. Lawrence Estuary, Quebec, Canada. *Journal of comparative pathology*, 98(3), 287-310. [https://doi.org/10.1016/0021-9975\(88\)90038-2](https://doi.org/10.1016/0021-9975(88)90038-2).
- Martineau, D., De Guise, S., Fournier, M., Shugart, L., Girard, C., Lagace, A., & Beland, P. (1994). Pathology and toxicology of beluga whales from the St. Lawrence Estuary, Quebec, Canada. Past, present and future. *Science of the Total Environment*, 154(2-3), 201-215. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90088-4](https://doi.org/10.1016/0048-9697(94)90088-4).
- Martineau, D., Lair, S., De Guise, S., Liscomb, T. P., & Beland, P. (1999). Cancer in beluga whales from the St Lawrence Estuary, Quebec, Canada: A potential biomarker of environmental contamination. *J. Cetacean Res. Manage.*, 249-265. <https://doi.org/10.47536/jcrm.v1i1.252>.
- Martineau, D., Lemberger, K., Dallaire, A., Labelle, P., Lipscomb, T. P., Michel, P., & Mikaelian, I. (2002). Cancer in wildlife, a case study: beluga from the St. Lawrence estuary, Québec, Canada. *Environmental health perspectives*, 110(3), 285-292. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110285>.
- Martínez-López, E., Romero, D., María-Mojica, P., Martínez, J. E., Calvo, J. F., & García-Fernández, A. J. (2009). Changes in blood pesticide levels in booted eagle (*Hieraaetus pennatus*) associated with agricultural land practices. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(1), 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.012>.



- Martínez-López, E., Peñalver, J., Escriña, A., Lara, L., Gens, M. J., Dolores, E. M., ... & García-Fernández, A. J. (2019a). Trace metals in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded along the Murcia coastline, Mediterranean Sea, during the period 2009–2015. *Chemosphere*, 229, 580-588. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.214>.
- Martínez-López, E., Peñalver, J., Lara, L., & García-Fernández, A. J. (2019b). Hg and Se in organs of three cetacean species from the Murcia Coastline (Mediterranean Sea). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 103(4), 521-527. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02697-9>.
- Matthews, H. B., & Tuey, D. B. (1980). The effect of chlorine position on the distribution and excretion of four hexachlorobiphenyl isomers. *Toxicology and applied pharmacology*, 53(3), 377-388. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(80\)90351-8](https://doi.org/10.1016/0041-008X(80)90351-8).
- Mazzariol, S., Di Guardo, G., Petrella, A., Marsili, L., Fossi, C. M., Leonzio, C., ... & Fernández, A. (2011). Sometimes sperm whales (*Physeter macrocephalus*) cannot find their way back to the high seas: a multidisciplinary study on a mass stranding. *PLoS One*, 6(5), e19417. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019417>.
- McConnell, J. R., & Edwards, R. (2008). Coal burning leaves toxic heavy metal legacy in the Arctic. *Proceedings of the national academy of sciences*, 105(34), 12140-12144. <https://doi.org/10.1073/pnas.0803564105>.
- McDonald, T. A. (2002). A perspective on the potential health risks of PBDEs. *Chemosphere*, 46(5), 745-755. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(01\)00239-9](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(01)00239-9).
- McFarland, V. A., & Clarke, J. U. (1989). Environmental occurrence, abundance, and potential toxicity of polychlorinated biphenyl congeners: considerations for a congener-specific analysis. *Environmental Health Perspectives*, 81, 225-239. <https://doi.org/10.1289/ehp.8981225>.
- McKenzie, C., Rogan, E., Reid, R. J., & Wells, D. E. (1997). Concentrations and patterns of organic contaminants in Atlantic white-sided dolphins (*Lagenorhynchus acutus*) from Irish and Scottish coastal waters. *Environmental Pollution*, 98(1), 15-27. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(97\)00109-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00109-7).
- Meador, J. P., Varanasi, U., Robisch, P. A., & Chan, S. L. (1993). Toxic Metals in Pilot Whales (*Globicephala melaena*) from Standings in 1986 and 1990 on Cape Cod, Massachusetts. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50(12), 2698-2706. <https://doi.org/10.1139/f93-294>.
- Meador, J. P., Stein, J. E., Reichert, W. L., & Varanasi, U. (1995). Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 79-165. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2542-3\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2542-3_4).
- Meotti, C., Podestà, M., 1997. Stomach contents of striped dolphins, *Stenella coeruleoalba* (Meyen, 1833) from the western Ligurian Sea (Cetacea, delphinidae). *Atti della Soc Ital di Sci Nat e del Mus Civ di Stor Nat di Milano* 137, 5e15.
- Merhaby, D., Rabodonirina, S., Net, S., Ouddane, B., & Halwani, J. (2019). Overview of sediments pollution by PAHs and PCBs in mediterranean basin: Transport, fate, occurrence, and distribution. *Marine Pollution Bulletin*, 149, 110646. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110646>.
- Milani, C., Vella, A., Vidoris, P., Christidis, A., & Koutrakis, E. (2021). Abundance, distribution and diet of the common dolphin, *Delphinus delphis*, in the northern Aegean Sea (Greece). *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 31, 76-86. <https://doi.org/10.1002/aqc.3081>.
- Miller, E. C., & Miller, J. A. (1981). Searches for ultimate chemical carcinogens and their reactions with cellular macromolecules. *Cancer*, 47(10), 2327-2345. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19810515\)47:10%3C2327::AID-CNCR2820471003%3E3.0.CO;2-Z](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19810515)47:10%3C2327::AID-CNCR2820471003%3E3.0.CO;2-Z).
- Millot, C. (1985). Some features of the Algerian Current. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 90(C4), 7169-7176. <https://doi.org/10.1029/JC090iC04p07169>.
- Millot, C. (1989). La circulation générale en Méditerranée occidentale: Aperçu de nos connaissances et projets d'études. In *Annales de géographie* (pp. 497-515). Armand Colin. <https://www.jstor.org/stable/23452851>.



- Millot, C. (1999). Circulation in the western Mediterranean Sea. *Journal of Marine Systems*, 20(1-4), 423-442. [https://doi.org/10.1016/S0924-7963\(98\)00078-5](https://doi.org/10.1016/S0924-7963(98)00078-5).
- Millot, C., Taupier-Letage, I., 2005. Circulation in the Mediterranean Sea. En: *The Handbook of Environmental Chemistry. The Natural Environment and the Biological Cycles*, vol. 5. Part K, Springer-Verlag, Berlin, pp. 29–66. <http://dx.doi.org/10.1007/b107143>.
- Miyazaki, N.; Fujise, Y.; Iwata, K. Biological analysis of a mass stranding of melon-headed whales (*Peponocephala electra*) at Aoshima, Japan. *Bull. Natl. Sci. Mus., Ser A (Tokyo)* 1998, 24, 31–60.
- Monaci, F., Borrel, A., Leonzio, C., Marsili, L., & Calzada, N. (1998). Trace elements in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean. *Environmental Pollution*, 99(1), 61-68. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(97\)00174-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(97)00174-7).
- Moon, H.B., An, Y.R., Park, K.J., Choi, S.G., Moon, D.Y., Choi, M., Choi, H.G., 2011. Occurrence and accumulation features of polycyclic aromatic hydrocarbons and synthetic musk compounds in finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) from Korean coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1963–1968. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.031>.
- Moon HB, An YR, Choi SG, Choi M, Choi HG. 2012. Accumulation of PAHs and synthetic musk compound in minke whales (*Balaenoptera acutorostrata*) and long-beaked common dolphins (*Delphinus capensis*) from Korean coastal waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31 (3):477–485. <https://doi.org/10.1002/etc1710>.
- Moore, S. E. (2008). Marine mammals as ecosystem sentinels. *Journal of Mammalogy*, 89(3), 534-540. <https://doi.org/10.1644/07-MAMM-S-312R1.1>.
- Motorykin, O., Santiago-Delgado, L., Rohlman, D., Schrlau, J. E., Harper, B., Harris, S., ... & Simonich, S. L. M. (2015). Metabolism and excretion rates of parent and hydroxy-PAHs in urine collected after consumption of traditionally smoked salmon for Native American volunteers. *Science of The Total Environment*, 514, 170-177. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.01.083>.
- Murphy, S., Barber, J. L., Learmonth, J. A., Read, F. L., Deaville, R., Perkins, M. W., ... & Jepson, P. D. (2015). Reproductive failure in UK harbour porpoises *Phocoena phocoena*: legacy of pollutant exposure?. *PLoS One*, 10(7), e0131085. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131085>.
- Munson, L., Calzada, N., Kennedy, S., & Sorensen, T. B. (1998). Luteinized ovarian cysts in Mediterranean striped dolphins. *Journal of Wildlife Diseases*, 34(3), 656-660. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-34.3.656>.

---

## N

- Nakata, H., Sakai, Y., Miyawaki, T., Takemura, A., 2003. Bioaccumulation and toxic potencies of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in tidal flat and coastal ecosystems of the Ariake Sea, Japan. *Environ. Sci. Technol.* 37, 3513–3521. <https://doi.org/10.1021/es021083h>.
- Nakazawa, E., Ikemoto, T., Hokura, A., Terada, Y., Kunito, T., Tanabe, S., & Nakai, I. (2011). The presence of mercury selenide in various tissues of the striped dolphin: evidence from  $\mu$ -XRF-XRD and XAFS analyses. *Metallomics*, 3(7), 719-725. <https://doi.org/10.1039/C0MT00106F>.
- Natoli, A., 2004. *Molecular Ecology of Bottlenose (Tursiops sp.) and Common (Delphinus sp.) Dolphins* (Tesis doctoral). Durham University.
- Natoli, A., Peddemors, V. M., & Rus Hoelzel, A. (2004). Population structure and speciation in the genus *Tursiops* based on microsatellite and mitochondrial DNA analyses. *Journal of evolutionary biology*, 17(2), 363-375. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2003.00672.x>.
- Neff, J.M., 2002. *Bioaccumulation in Marine Organisms. Effect of Contaminants from Oil Well Produced Water*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, p. 452.
- Newsome, S. D., Clementz, M. T., & Koch, P. L. (2010). Using stable isotope biogeochemistry to study marine mammal ecology. *Marine Mammal Science*, 26(3), 509-572. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2009.00354.x>.



- Niimi, A. J., & Palazzo, V. (1986). Biological half-lives of eight polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Water Research*, 20(4), 503-507. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(86\)90200-9](https://doi.org/10.1016/0043-1354(86)90200-9).
- Nisbet, I. C., & Lagoy, P. K. (1992). Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regulatory toxicology and pharmacology*, 16(3), 290-300. [https://doi.org/10.1016/0273-2300\(92\)90009-X](https://doi.org/10.1016/0273-2300(92)90009-X).
- Norstrom, R. J., Muir, D. C. G., Ford, C. A., Simon, M., Macdonald, C. R., & Béland, P. (1992). Indications of P450 monooxygenase activities in beluga (*Delphinapterus leucas*) and narwhal (*Monodon monoceros*) from patterns of PCB, PCDD and PCDF accumulation. *Marine Environmental Research*, 34(1-4), 267-272. [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(92\)90119-7](https://doi.org/10.1016/0141-1136(92)90119-7).
- Notarbartolo di Sciara, G., & Gordon, J. (1997). Bioacoustics: a tool for the conservation of cetaceans in the Mediterranean Sea. *Marine & Freshwater Behaviour & Phy*, 30(2), 125-146. <https://doi.org/10.1080/10236249709379020>.
- Notarbartolo di Sciara, G. (2002). Cetacean species occurring in the Mediterranean and Black Seas. n: G. Notarbartolo di Sciara (ed.), *Cetaceans of the Mediterranean and Black Seas: state of knowledge and conservation strategies*. Section 3. A report to the ACCOBAMS Interim Secretariat, ACCOBAMS Interim Secretariat, Monaco.
- Notarbartolo di Sciara G., Zanardelli M., Jahoda M., Panigada S., Airoidi S. 2003. The fin whale, *Balaenoptera physalus* (L. 1758), in the Mediterranean Sea. *Mammal Review* 33(2):105-150. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2907.2003.00005.x>.
- Notarbartolo di Sciara, G., Birkun Jr., A., 2010. *Conserving Whales, Dolphins and Porpoises in the Mediterranean and Black Sea: an ACCOBAMS Status Report*. ACCOBAMS, Monaco.
- Notarbartolo di Sciara, G., Frantzis, A., Bearzi, G. & Reeves, R. 2012. *Physeter macrocephalus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T41755A2955634. Accessed on 07 June 2022.
- Notarbartolo di Sciara, G. (2016a). *Marine Mammals in the Mediterranean Sea: An Overview*. *Advances in marine biology*, 75, 1-36. <https://doi.org/10.1016/bs.amb.2016.08.005>.
- Notarbartolo di Sciara, G., Castellote, M., Druon, J. N., & Panigada, S. (2016b). *Fin whales, Balaenoptera physalus: at home in a changing Mediterranean Sea?*. *Advances in marine biology*, 75, 75-101. <https://doi.org/10.1016/bs.amb.2016.08.002>.
- NTP, 1992. National Toxicology Program (NTP), 1992 Toxicology and carcinogenesis studies of naphthalene (CAS No. 91-20-3) in B6C3F1 mice (inhalation studies). Technical report series, 410.
- NTP, 2000. National Toxicology Program (NTP), 2000. Toxicology and Carcinogenesis Study of Naphthalene in F344/N Rats (Inhalation Studies). Technical Report Series No. 500.

---

**O**

- O'Leary, M. A., Allard, M., Novacek, M. J., Meng, J., & Gatesy, J. (2004). Building the mammalian sector of the tree of life. *Assembling the tree of life*, 490-516.
- O'Shea, T. J., Rathbun, G. B., Bonde, R. K., Buegelt, C. D., & Odell, D. K. (1991). An epizootic of Florida manatees associated with a dinoflagellate bloom. *Marine Mammal Science*, 7(2), 165-179. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1991.tb00563.x>.
- Oliveira Ribeiro, C. A., Rouleau, C., Pelletier, E., Audet, C., & Tjälve, H. (1999). Distribution kinetics of dietary methylmercury in the arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Environmental science & technology*, 33(6), 902-907. <https://doi.org/10.1021/es980242n>.
- Ostertag, S. K., Stern, G. A., Wang, F., Lemes, M., & Chan, H. M. (2013). Mercury distribution and speciation in different brain regions of beluga whales (*Delphinapterus leucas*). *Science of the total environment*, 456, 278-286. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.106>.

---

**P**



- Pace, D. S., Tizzi, R., & Mussi, B. (2015). Cetaceans value and conservation in the Mediterranean Sea. *Journal of Biodiversity & Endangered Species*, 2015. <http://dx.doi.org/10.4172/2332-2543.S1.004>.
- Panigada, S. & Notarbartolo di Sciara, G. 2012. *Balaenoptera physalus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2012: e.T2478A2787161. Accessed on 09 August 2022.
- Paranjape, A. R., & Hall, B. D. (2017). Recent advances in the study of mercury methylation in aquatic systems. *Facets*, 2(1), 85-119. <https://doi.org/10.1139/facets-2016-0027>.
- Paul, A. G., Jones, K. C., & Sweetman, A. J. (2009). A first global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate. *Environmental science & technology*, 43(2), 386-392. <https://doi.org/10.1021/es802216n>.
- Peden-Adams, M. M., Keil, D. E., Romano, T., Mollenhauer, M. A. M., Fort, D. J., Guiney, P. D., ... & Stuckey, J. (2009). Health effects of perfluorinated compounds—what are the wildlife telling us?. *Reproductive toxicology*, 3(27), 414-415.
- Pedersen, M. B., Hansen, J. C., Mulvad, G., Pedersen, H. S., Gregersen, M., & Danscher, G. (1999). Mercury accumulations in brains from populations exposed to high and low dietary levels of methyl mercury. Concentration, chemical form and distribution of mercury in brain samples from autopsies. *International journal of circumpolar health*, 58(2), 96-107.
- Pellissó, S. C., Munoz, M. J., Carballo, M., & Sanchez-Vizcaino, J. M. (2008). Determination of the immunotoxic potential of heavy metals on the functional activity of bottlenose dolphin leukocytes in vitro. *Veterinary immunology and immunopathology*, 121(3-4), 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2007.09.009>.
- Perera, F. P., Tang, D., Wang, S., Vishnevetsky, J., Zhang, B., Diaz, D., ... & Rauh, V. (2012). Prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) exposure and child behavior at age 6–7 years. *Environmental health perspectives*, 120(6), 921-926. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104315>.
- Pershing, A. J., Christensen, L. B., Record, N. R., Sherwood, G. D., & Stetson, P. B. (2010). The impact of whaling on the ocean carbon cycle: why bigger was better. *PloS one*, 5(8), e12444. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012444>.
- Perugini, M., Visciano, P., Giammarino, A., Manera, M., Di Nardo, W., & Amorena, M. (2007). Polycyclic aromatic hydrocarbons in marine organisms from the Adriatic Sea, Italy. *Chemosphere*, 66(10), 1904-1910. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.07.079>.
- Pettersson, A., van Bavel, B., Engwall, M., & Jimenez, B. (2004). Polybrominated diphenylethers and methoxylated tetrabromodiphenylethers in cetaceans from the Mediterranean Sea. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 47(4), 542-550. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-3200-4>.
- Pidgeaud, Romain. (2017). Representation of whales in the Paleolithic Art. En Lee, S. (Ed.), *Whale on the Rock*, pp. 45-56.
- Pinet, P. R. (2019). *Invitation to oceanography*. 6<sup>th</sup> Edition. Jones & Bartlett Learning.
- Pinzone, M., Budzinski, H., Tasciotti, A., Ody, D., Lepoint, G., Schnitzler, J., ... & Das, K. (2015). POPs in free-ranging pilot whales, sperm whales and fin whales from the Mediterranean Sea: influence of biological and ecological factors. *Environmental research*, 142, 185-196. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.06.021>.
- Pinzone, M., Damseaux, F., Michel, L. N., & Das, K. (2019). Stable isotope ratios of carbon, nitrogen and sulphur and mercury concentrations as descriptors of trophic ecology and contamination sources of Mediterranean whales. *Chemosphere*, 237, 124448. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124448>.
- Pirotta, E., Carpinelli, E., Frantzis, A., Gauffier, P., Lanfredi, C., Pace, D.S. & Rendell, L.E. 2021. *Physeter macrocephalus* (Mediterranean subpopulation). The IUCN Red List of Threatened Species 2021: e.T16370739A50285671. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-3.RLTS.T16370739A50285671>.
- PNUMA, 2020. Programa para el medio ambiente de la Organización de Naciones Unidas. Convenio de Estocolmo sobre contaminantes orgánicos persistentes (COP). Revisado en 2019.
- Podestà, M., Azzellino, A., Cañadas, A., Frantzis, A., Moulins, A., Rosso, M., ... & Lanfredi, C. (2016). Cuvier's beaked whale, *Ziphius cavirostris*, distribution and occurrence in the Mediterranean Sea: high-use



- areas and conservation threats. In *Advances in Marine Biology* (Vol. 75, pp. 103-140). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.amb.2016.07.007>.
- Polinov, S., Bookman, R., & Levin, N. (2021). Spatial and temporal assessment of oil spills in the Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 167, 112338. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112338>.
- Polunin, N. V. C., Morales-Nin, B., Pawsey, W. E., Cartes, J. E., Pinnegar, J. K., & Moranta, J. (2001). Feeding relationships in Mediterranean bathyal assemblages elucidated by stable nitrogen and carbon isotope data. *Marine Ecology Progress Series*, 220, 13-23. <https://doi.org/10.3354/meps220013>.
- Praca, E., & Gannier, A. (2008). Ecological niches of three teuthophageous odontocetes in the northwestern Mediterranean Sea. *Ocean Science*, 4(1), 49-59. <https://doi.org/10.5194/os-4-49-2008>.
- Praca, E., Laran, S., Lepoint, G., Thomé, J. P., Quetglas, A., Belcari, P., ... & Budzinski, H. (2011). Toothed whales in the northwestern Mediterranean: Insight into their feeding ecology using chemical tracers. *Marine pollution bulletin*, 62(5), 1058-1065. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.02.024>.
- Preker, A. S., Adeyi, O. O., Lapetra, M. G., Simon, D. C., & Keuffel, E. (2016). Health care expenditures associated with pollution: exploratory methods and findings. *Annals of Global Health*, 82(5), 711-721. <https://doi.org/10.1016/j.aogh.2016.12.003>.
- Prevedouros, K., Cousins, I. T., Buck, R. C., & Korzeniowski, S. H. (2006). Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environmental science & technology*, 40(1), 32-44. <https://doi.org/10.1021/es0512475>.
- Praca, E., & Gannier, A. (2008). Ecological niches of three teuthophageous odontocetes in the northwestern Mediterranean Sea. *Ocean Science*, 4(1), 49-59. <https://doi.org/10.5194/os-4-49-2008>.
- Purnomo, A. S. (2017). Microbe-assisted degradation of aldrin and dieldrin. In *Microbe-induced degradation of pesticides* (pp. 1-22). Springer, Cham. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-45156-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-45156-5_1).

---

**R**

- Rahman, F., Langford, K. H., Scrimshaw, M. D., & Lester, J. N. (2001). Polybrominated diphenyl ether (PBDE) flame retardants. *Science of the Total Environment*, 275(1-3), 1-17. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00852-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00852-X).
- Rajput, I. R., Xiao, Z., Yajing, S., Yaqoob, S., Sanganyado, E., Ying, H., ... & Liu, W. (2018). Establishment of pantropic spotted dolphin (*Stenella attenuata*) fibroblast cell line and potential influence of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) on cytokines response. *Aquatic Toxicology*, 203, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.07.017>.
- Ralston, N. V., & Raymond, L. J. (2010). Dietary selenium's protective effects against methylmercury toxicity. *Toxicology*, 278(1), 112-123. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2010.06.004>.
- Ralston, N. V., Azenkeng, A., & Raymond, L. J. (2012). Mercury-dependent inhibition of selenoenzymes and mercury toxicity. In *Methylmercury and Neurotoxicity* (pp. 91-99). Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-2383-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-2383-6_5).
- Randone, M., Di Carlo, G., Costantini, M., Tzanetti, T., Haferkamp, D., Portafaix, A., ... & Astier, C. (2017). Reviving the economy of the Mediterranean Sea: actions for a sustainable future. WWF Mediterranean Marine Initiative, Rome, Italy.
- Rawson, A. J., Patton, G. W., Hofmann, S., Pietra, G. G., & Johns, L. (1993). Liver abnormalities associated with chronic mercury accumulation in stranded atlantic bottlenosed dolphins. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 25(1), 41-47. <https://doi.org/10.1006/eesa.1993.1005>.
- Reddy, M. L., Reif, J. S., Bachand, A., & Ridgway, S. H. (2001). Opportunities for using Navy marine mammals to explore associations between organochlorine contaminants and unfavorable effects on reproduction. *Science of the Total Environment*, 274(1-3), 171-182. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00741-0](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00741-0).





- Reddy, A. V. B., Moniruzzaman, M., & Aminabhavi, T. M. (2019). Polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment: Recent updates on sampling, pretreatment, cleanup technologies and their analysis. *Chemical Engineering Journal*, 358, 1186-1207. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.205>.
- Reijnders, P. J. (1986). Reproductive failure in common seals feeding on fish from polluted coastal waters. *Nature*, 324(6096), 456-457. <https://doi.org/10.1038/324456a0>.
- Reijnders, P. J. H., & Brasseur, S. M. J. M. (1992). Xenobiotic induced hormonal and associated developmental disorders in marine organisms and related effects in humans, an overview. In T. Colborn, & C. Clement (Eds.), *Advances in modern environmental toxicology* (Vol. 21; pp. 131–146).
- Reiner, J. L., O'Connell, S. G., Moors, A. J., Kucklick, J. R., Becker, P. R., & Keller, J. M. (2011). Spatial and temporal trends of perfluorinated compounds in beluga whales (*Delphinapterus leucas*) from Alaska. *Environmental science & technology*, 45(19), 8129-8136. <https://doi.org/10.1021/es103560q>.
- Rendell, L., Simião, S., Brotons, J. M., Airoidi, S., Fasano, D., & Gannier, A. (2014). Abundance and movements of sperm whales in the western Mediterranean basin. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 24(S1), 31-40. <https://doi.org/10.1002/aqc.2426>.
- Renner, R., 2006. The long and the short of perfluorinated replacements. *Environ. Sci. Technol.* 40 (1), 12e13. <https://doi.org/10.1021/es062612a.2006>.
- Rixen, M., Beckers, J. M., Levitus, S., Antonov, J., Boyer, T., Maillard, C., ... & Zavatarelli, M. (2005). The Western Mediterranean Deep Water: a proxy for climate change. *Geophysical Research Letters*, 32(12). <https://doi.org/10.1029/2005GL022702>.
- Rodrigues, A. S., Horwitz, L. K., Monsarrat, S., & Charpentier, A. (2016). Ancient whale exploitation in the Mediterranean: species matters. *Antiquity*, 90(352), 928-938. <https://doi.org/10.15184/aqy.2016.109>.
- Rogowska, J., Wolska, L., & Namieśnik, J. (2010). Impacts of pollution derived from ship wrecks on the marine environment on the basis of s/s "Stuttgart"(Polish coast, Europe). *Science of the total environment*, 408(23), 5775-5783. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.07.031>.
- Roman, J., Estes, J. A., Morissette, L., Smith, C., Costa, D., McCarthy, J., ... & Smetacek, V. (2014). Whales as marine ecosystem engineers. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 12(7), 377-385. <https://doi.org/10.1890/130220>.
- Romanić, S. H., Holcer, D., Lazar, B., Klinčić, D., Mackelworth, P., & Fortuna, C. M. (2014). Organochlorine contaminants in tissues of common bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* from the northeastern part of the Adriatic Sea. *Environmental toxicology and pharmacology*, 38(2), 469-479. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.07.017>.
- Romero, M. B., Polizzi, P., Chiodi, L., Das, K., & Gerpe, M. (2016). The role of metallothioneins, selenium and transfer to offspring in mercury detoxification in Franciscana dolphins (*Pontoporia blainvillei*). *Marine pollution bulletin*, 109(1), 650-654. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.05.012>.
- Rosenberg, K. V., Dokter, A. M., Blancher, P. J., Sauer, J. R., Smith, A. C., Smith, P. A., ... & Marra, P. P. (2019). Decline of the North American avifauna. *Science*, 366(6461), 120-124. <https://doi.org/10.1126/science.aaw1313>.
- Ross, P. S., De Swart, R. L., Reijnders, P. J., Van Loveren, H., Vos, J. G., & Osterhaus, A. D. (1995). Contaminant-related suppression of delayed-type hypersensitivity and antibody responses in harbor seals fed herring from the Baltic Sea. *Environmental Health Perspectives*, 103(2), 162-167. <https://doi.org/10.1289/ehp.95103162>.
- Ross, P. S. (2000). Marine mammals as sentinels in ecological risk assessment. *Human and Ecological Risk Assessment*, 6(1), 29-46. <https://doi.org/10.1080/10807030091124437>.
- Rothschild, R. F., & Duffy, L. K. (2005). Mercury concentrations in muscle, brain and bone of Western Alaskan waterfowl. *Science of the total environment*, 349(1-3), 277-283. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.05.021>.



- Safe, S., Safe, L., & Mullin, M. (1987). Polychlorinated biphenyls: environmental occurrence and analysis. In S. Safe (Ed.), *Polychlorinated biphenyls (PCBs): mammalian and environmental toxicology* (pp. 1–13). Berlin: Springer-Verlag. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-70550-2\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-70550-2_1).
- Salata, G. G., Wade, T. L., Sericano, J. L., Davis, J. W., & Brooks, J. M. (1995). Analysis of Gulf of Mexico bottlenose dolphins for organochlorine pesticides and PCBs. *Environmental Pollution*, 88(2), 167-175. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(95\)91441-M](https://doi.org/10.1016/0269-7491(95)91441-M).
- Sample, B. E., Opresko, D. M., & Suter, G. W. (1996). Toxicological benchmarks for wildlife: 1996 revision (No. ES/ER/TM--86/R3). Lockheed Martin Energy Systems. <https://doi.org/10.2172/258027>.
- Sánchez-Bayo, F., & Wyckhuys, K. A. (2019). Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biological conservation*, 232, 8-27. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2019.01.020>.
- Sanpera, C., & Aguilar, A. (1992). Modern whaling off the Iberian Peninsula during the 20th century. Report of the International Whaling Commission, 42, 723-730.
- Schartup, A. T., Thackray, C. P., Qureshi, A., Dassuncao, C., Gillespie, K., Hanke, A., & Sunderland, E. M. (2019). Climate change and overfishing increase neurotoxicant in marine predators. *Nature*, 572(7771), 648-650. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1468-9>.
- Scheuhammer, A. M., Basu, N., Burgess, N. M., Elliott, J. E., Campbell, G. D., Wayland, M., ...& Rodrigue, J. (2008). Relationships among mercury, selenium, and neurochemical parameters in common loons (*Gavi immer*) and bald eagles (*Haliaeetus leucocephalus*). *Ecotoxicology*, 17(2), 93-101. <https://doi.org/10.1007/s10646-007-0170-0>.
- Scheuhammer, A., Braune, B., Chan, H. M., Frouin, H., Krey, A., Letcher, R., ...& Wayland, M. (2015). Recent progress on our understanding of the biological effects of mercury in fish and wildlife in the Canadian Arctic. *Science of the Total Environment*, 509, 91-103. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.142>.
- Schorr, G. S., Falcone, E. A., Moretti, D. J., & Andrews, R. D. (2014). First long-term behavioral records from Cuvier's beaked whales (*Ziphius cavirostris*) reveal record-breaking dives. *PloS one*, 9(3), e92633. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092633>.
- Schultz, M. M., Barofsky, D. F., & Field, J. A. (2004). Quantitative determination of fluorotelomer sulfonates in groundwater by LC MS/MS. *Environmental science & technology*, 38(6), 1828-1835. <https://doi.org/10.1021/es035031j>.
- Schultz, M. M., Higgins, C. P., Huset, C. A., Luthy, R. G., Barofsky, D. F., & Field, J. A. (2006). Fluorochemical mass flows in a municipal wastewater treatment facility. *Environmental science & technology*, 40(23), 7350-7357. <https://doi.org/10.1021/es061025m>.
- Schwacke, L. H., Zolman, E. S., Balmer, B. C., De Guise, S., George, R. C., Hoguet, J., ... & Rowles, T. K. (2012). Anaemia, hypothyroidism and immune suppression associated with polychlorinated biphenyl exposure in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1726), 48-57. <https://doi.org/10.1098/rspb.2011.0665>.
- SEC, 2000a. Sociedad Española de Cetáceos. Recopilación, Análisis, Valoración y Elaboración de Protocolos sobre las Labores de Observación, Asistencia a Varamientos y Recuperación de Mamíferos y Tortugas Marinas de las Aguas Españolas. Sección III. Redes de asistencia a varamientos y Centros de Recuperación en las costas españolas. Dirección General de Conservación de la Naturaleza.
- SEC, 2000b. Sociedad Española de Cetáceos. Protocolos de actuación para varamientos de animales marinos. Sección IV. Redes de asistencia a varamientos y Centros de Recuperación en las costas españolas. Dirección General de Conservación de la Naturaleza.
- Seim, I., Ma, S., Zhou, X., Gerashchenko, M. V., Lee, S. G., Suydam, R., ... & Gladyshev, V. N. (2014). The transcriptome of the bowhead whale *Balaena mysticetus* reveals adaptations of the longest-lived mammal. *Aging (Albany NY)*, 6(10), 879. <https://doi.org/10.18632/aging.100699>.



- Sharkey, M., Harrad, S., Abdallah, M. A. E., Drage, D. S., & Berresheim, H. (2020). Phasing-out of legacy brominated flame retardants: The UNEP Stockholm Convention and other legislative action worldwide. *Environment International*, 144, 106041. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106041>.
- Shoham-Frider, E., Kress, N., Wynne, D., Scheinin, A., Roditi-Elsar, M., & Kerem, D. (2009). Persistent organochlorine pollutants and heavy metals in tissues of common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) from the Levantine Basin of the Eastern Mediterranean. *Chemosphere*, 77(5), 621-627. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.08.048>.
- Simmonds, M. P., & Mayer, S. J. (1997). An evaluation of environmental and other factors in some recent marine mammal mortalities in Europe: implications for conservation and management. *Environmental Review*, 5, 89-98. <https://doi.org/10.1139/a97-004>.
- Simmonds M., Nunny L. 2002. Cetacean habitat loss and degradation in the Mediterranean Sea. In: G. Notarbartolo di Sciara (Ed.), *Cetaceans of the Mediterranean and Black Seas: state of knowledge and conservation strategies*. A report to the ACCOBAMS Secretariat, Monaco, February 2002. Section 7, 23 p.
- Slotkin, T. A., MacKillop, E. A., Melnick, R. L., Thayer, K. A., & Seidler, F. J. (2008). Developmental neurotoxicity of perfluorinated chemicals modeled in vitro. *Environmental health perspectives*, 116(6), 716-722. <https://doi.org/10.1289/ehp.11253>.
- Smith AG. Chlorinated Hydrocarbon Insecticides. In Hayes WJ, Jr and Laws ER, Jr, Eds. *Handbook of Pesticide Toxicology*, Vol. 2 Classes of Pesticides. New York, Academic Press, Inc. 1991, pp. 731-915.
- Smithwick, M., Muir, D. C., Mabury, S. A., Solomon, K. R., Martin, J. W., Sonne, C., ... & Dietz, R. (2005). Perfluoroalkyl contaminants in liver tissue from East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 24(4), 981-986. <https://doi.org/10.1897/04-258R.1>.
- Soloff, A. C., Wolf, B. J., White, N. D., Muir, D., Courtney, S., Hardiman, G., ... & Fair, P. A. (2017). Environmental perfluorooctane sulfonate exposure drives T cell activation in bottlenose dolphins. *Journal of Applied Toxicology*, 37(9), 1108-1116. <https://doi.org/10.1002/jat.3465>.
- Sonne, C., Riget, F. F., Dietz, R., Kirkegaard, M., Born, E. W., Letcher, R., & Muir, D. C. G. (2005). Trends in fluctuating asymmetry in East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*) from 1892 to 2002 in relation to organohalogen pollution. *Science of the Total Environment*, 341(1-3), 81-96. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.09.027>.
- Sonne, C., Aspholm, O., Dietz, R., Andersen, S., Berntssen, M. H., & Hylland, K. (2009). A study of metal concentrations and metallothionein binding capacity in liver, kidney and brain tissues of three Arctic seal species. *Science of the total environment*, 407(24), 6166-6172. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.08.029>.
- Sournia, A. (1973), *La Production Primaire Planctonique en Méditerranée; Essai de Mise à Jour*, Cybium, Nouv. Ser., vol. 81, 128 pp., Coop. Invest. in the Mediter., Monte Carlo, Monaco.
- Sparling, D. W. (2016). *Ecotoxicology essentials: environmental contaminants and their biological effects on animals and plants*. Academic Press. Chapter 4: Organochlorine pesticides. pp. 69-107. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801947-4.00004-4>.
- Springer, A. M., Estes, J. A., Van Vliet, G. B., Williams, T. M., Doak, D. F., Danner, E. M., ... & Pfister, B. (2003). Sequential megafaunal collapse in the North Pacific Ocean: An ongoing legacy of industrial whaling?. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(21), 12223-12228. <https://doi.org/10.1073/pnas.1635156100>.
- Squadrone, S., Benedetto, A., Brizio, P., Prearo, M., & Abete, M. C. (2015a). Mercury and selenium in European catfish (*Silurus glanis*) from Northern Italian Rivers: Can molar ratio be a predictive factor for mercury toxicity in a top predator?. *Chemosphere*, 119, 24-30. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.052>.
- Squadrone, S., Chiaravalle, E., Gavinelli, S., Monaco, G., Rizzi, M., & Abete, M. C. (2015b). Analysis of mercury and methylmercury concentrations, and selenium: mercury molar ratios for a toxicological assessment of sperm whales (*Physeter macrocephalus*) in the most recent stranding event along the Adriatic coast (Southern Italy, Mediterranean Sea). *Chemosphere*, 138, 633-641. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.07.047>.



- Squadrone, S., Brizio, P., Chiaravalle, E., & Abete, M. C. (2015c). Sperm whales (*Physeter macrocephalus*), found stranded along the Adriatic coast (Southern Italy, Mediterranean Sea), as bioindicators of essential and non-essential trace elements in the environment. *Ecological Indicators*, 58, 418-425. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2015.06.016>.
- Stanley D.J. 1997. Mediterranean deltas: subsidence as a major control of relative sea-level rise. *Bulletin de l'Institut océanographique Monaco*, no spécial 18, CIESM Science Series no 3 :35-62.
- Starkov, A. A., & Wallace, K. B. (2002). Structural determinants of fluorochemical-induced mitochondrial dysfunction. *Toxicological Sciences*, 66(2), 244-252. <https://doi.org/10.1093/toxsci/66.2.244>.
- Stapleton, H. M., Letcher, R. J., & Baker, J. E. (2004a). Debromination of polybrominated diphenyl ether congeners BDE 99 and BDE 183 in the intestinal tract of the common carp (*Cyprinus carpio*). *Environmental science & technology*, 38(4), 1054-1061. <https://doi.org/10.1021/es0348804>.
- Stapleton, H. M., Alae, M., Letcher, R. J., & Baker, J. E. (2004b). Debromination of the flame retardant decabromodiphenyl ether by juvenile carp (*Cyprinus carpio*) following dietary exposure. *Environmental Science & Technology*, 38(1), 112-119. <https://doi.org/10.1021/es034746j>.
- Stapleton, H. M., Brazil, B., Holbrook, R. D., Mitchelmore, C. L., Benedict, R., Konstantinov, A., & Potter, D. (2006). In vivo and in vitro debromination of decabromodiphenyl ether (BDE 209) by juvenile rainbow trout and common carp. *Environmental science & technology*, 40(15), 4653-4658. <https://doi.org/10.1021/es060573x>.
- Schartup, A. T., Qureshi, A., Dassuncao, C., Thackray, C. P., Harding, G., & Sunderland, E. M. (2018). A model for methylmercury uptake and trophic transfer by marine plankton. *Environmental science & technology*, 52(2), 654-662. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03821>.
- Stegeman, J. J., Kloepper-Sams, P. J., & Farrington, J. W. (1986). Monooxygenase induction and chlorobiphenyls in the deep-sea fish *Coryphaenoides armatus*. *Science*, 231(4743), 1287-1289. <https://doi.org/10.1126/science.231.4743.1287>.
- Stockholm Convention, 2009a. Listing of Hexabromodiphenyl Ether and Heptabromodiphenyl Ether UNEP/POPS/COP.4/SC-4/14. <http://chm.pops.int/Portals/0/download.aspx?d=UNEP-POPS-COP.4-SC-4-14.Spanish.pdf>. Downloaded on 16 of June of 2022.
- Stockholm Convention, 2009b. Listing of Tetrabromodiphenyl Ether and Pentabromodiphenyl Ether UNEP/POPS/COP.4/SC-4/18. <http://chm.pops.int/Portals/0/download.aspx?d=UNEP-POPS-COP.4-SC-4-18.English.pdf>. Downloaded on 16 of June of 2022.
- Stockholm Convention, 2017. Listing of Decabromodiphenyl Ether (Commercial Mixture, c-decaBDE) UNEP/POPS/COP.8/SC-8/10. <http://chm.pops.int/Portals/0/download.aspx?d=UNEP-POPS-COP.8-SC-8-10.English.pdf>. Descargado el 16 de junio de 2022.
- Storelli, M. M., & Marcotrigiano, G. O. (2000). Chlorobiphenyls, HCB, and organochlorine pesticides in some tissues of *Caretta caretta* (Linnaeus) specimens beached along the adriatic sea, italy. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 64(4), 481-488. <https://doi.org/10.1007/s001280000029>.
- Storelli, M. M., Barone, G., Piscitelli, G., Storelli, A., & Marcotrigiano, G. O. (2007). Tissue-related polychlorinated biphenyls accumulation in Mediterranean cetaceans: assessment of toxicological status. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 78(3), 206-210. <https://doi.org/10.1007/s00128-007-9126-6>.
- Storelli, M. M., Barone, G., Giacomini-Stuffler, R., & Marcotrigiano, G. O. (2012). Contamination by polychlorinated biphenyls (PCBs) in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Southeastern Mediterranean Sea. *Environmental monitoring and assessment*, 184(9), 5797-5805. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2382-2>.
- Streets, D. G., Horowitz, H. M., Lu, Z., Levin, L., Thackray, C. P., & Sunderland, E. M. (2019). Five hundred years of anthropogenic mercury: Spatial and temporal release profiles. *Environmental Research Letters*, 14(8), 084004. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/ab281f>.
- Strom, S. M. (2008). Total mercury and methylmercury residues in river otters (*Lutra canadensis*) from Wisconsin. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54(3), 546-554. <https://doi.org/10.1007/s00244-007-9053-x>.



- Stuart-Smith, S. J., & Jepson, P. D. (2017). Persistent threats need persistent counteraction: Responding to PCB pollution in marine mammals. *Marine Policy*, 84, 69-75. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.06.033>.
- Subramanian, A. N., Tanabe, S., Tatsukawa, R., Saito, S., & Miyazaki, N. (1987). Reduction in the testosterone levels by PCBs and DDE in Dall's porpoises of northwestern North Pacific. *Marine Pollution Bulletin*, 18(12), 643-646. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(87\)90397-3](https://doi.org/10.1016/0025-326X(87)90397-3).
- Sun, J., Bossi, R., Bustnes, J. O., Helander, B., Boertmann, D., Dietz, R., ... & Schulz, R. (2019). White-Tailed Eagle (*Haliaeetus albicilla*) Body Feathers Document Spatiotemporal Trends of Perfluoroalkyl Substances in the Northern Environment. *Environmental science & technology*, 53(21), 12744-12753. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03514>.
- Sun, X., Zhan, F., Yu, R.-Q., Chen, L., Wu, Y., 2020. Bioaccumulation of organic contaminants in Indo-Pacific humpback dolphins: preliminary unique features of the brain and testes. *Environ. Pollut.* 267, 115511 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115511>.
- Sunderland, E. M., Krabbenhoft, D. P., Moreau, J. W., Strode, S. A., & Landing, W. M. (2009). Mercury sources, distribution, and bioavailability in the North Pacific Ocean: Insights from data and models. *Global Biogeochemical Cycles*, 23(2). <https://doi.org/10.1029/2008GB003425>.
- Syversen, T., & Kaur, P. (2012). The toxicology of mercury and its compounds. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26(4), 215-226. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2012.02.004>.

---

## T

- Takeuchi, I., Miyoshi, N., Mizukawa, K., Takada, H., Ikemoto, T., Omori, K., Tsuchiya, K., 2009. Biomagnification profiles of polycyclic aromatic hydrocarbons, alkylphenols and polychlorinated biphenyls in Tokyo Bay elucidated by  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  isotope ratios as guides to trophic web structure. *Mar. Pollut. Bull.* 58, 663–671. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.12.022>.
- Tanabe, S., Tatsukawa, R., Maruyama, K., & Miyazaki, N. (1982). Transplacental transfer of PCBs and chlorinated hydrocarbon pesticides from the pregnant striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) to her fetus. *Agricultural and Biological Chemistry*, 46(5), 1249-1254. <https://doi.org/10.1080/00021369.1982.10865248>.
- Tanabe, S., Watanabe, S., Kan, H., & Tatsukawa, R. (1988). Capacity and mode of pcb metabolism in small cetaceans. *Marine Mammal Science*, 4(2), 103-124. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1988.tb00191.x>.
- Tanabe, S., Iwata, H., & Tatsukawa, R. (1994). Global contamination by persistent organochlorines and their ecotoxicological impact on marine mammals. *Science of the total environment*, 154(2-3), 163-177. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90086-8](https://doi.org/10.1016/0048-9697(94)90086-8).
- Tao, L., Kannan, K., Kajiwara, N., Costa, M. M., Fillmann, G., Takahashi, S., & Tanabe, S. (2006). Perfluorooctanesulfonate and related fluorochemicals in albatrosses, elephant seals, penguins, and polar skuas from the Southern Ocean. *Environmental science & technology*, 40(24), 7642-7648. <https://doi.org/10.1021/es061513u>.
- Telesca, L., Belluscio, A., Criscoli, A., Ardizzone, G., Apostolaki, E. T., Frascetti, S., ... & Salomidi, M. (2015). Seagrass meadows (*Posidonia oceanica*) distribution and trajectories of change. *Scientific reports*, 5(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/srep12505>.
- Tilson, H. A. (1990). Neurotoxicology in the 1990s. *Neurotoxicology and teratology*, 12(4), 293-300. [https://doi.org/10.1016/0892-0362\(90\)90046-F](https://doi.org/10.1016/0892-0362(90)90046-F).
- Tintore, J., La Violette, P. E., Blade, I., & Cruzado, A. (1988). A study of an intense density front in the eastern Alboran Sea: the Almeria–Oran front. *Journal of Physical Oceanography*, 18(10), 1384-1397. [https://doi.org/10.1175/1520-0485\(1988\)018%3C1384:ASOAIID%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0485(1988)018%3C1384:ASOAIID%3E2.0.CO;2).
- Tittlemier, S. A., Halldorson, T., Stern, G. A., & Tomy, G. T. (2002). Vapor pressures, aqueous solubilities, and Henry's law constants of some brominated flame retardants. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 21(9), 1804-1810. <https://doi.org/10.1002/etc5620210907>.



- Tomy, G.T., Budakowski, W., Halldorson, T., Helm, P.A., Stern, G.A., Friesen, K., *et al.*, 2004a. Fluorinated organic compounds in an eastern Arctic marine food web. *Environ. Sci. Technol.* 38 (24), 6475e6481. <https://doi.org/10.1021/es049620g>.
- Tomy, G. T., Tittlemier, S. A., Palace, V. P., Budakowski, W. R., Braekevelt, E., Brinkworth, L., & Friesen, K. (2004b). Biotransformation of N-ethyl perfluorooctanesulfonamide by rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) liver microsomes. *Environmental science & technology*, 38(3), 758-762. <https://doi.org/10.1021/es034550j>.
- Tønnessen, J. N., & Johnsen, A. O. (1982). *The history of modern whaling*. Univ of California Press. Berkley and Los Angeles, 798 pp.
- Torniainen, J., Lensu, A., Vuorinen, P. J., Sonninen, E., Keinänen, M., Jones, R. I., ... & Kiljunen, M. (2017). Oxygen and carbon isoscapes for the Baltic Sea: Testing their applicability in fish migration studies. *Ecology and evolution*, 7(7), 2255-2267. <https://doi.org/10.1002/ece3.2841>.
- Troisi, G. M., Bexton, S., & Robinson, I. (2006). Polyaromatic hydrocarbon and PAH metabolite burdens in oiled common guillemots (*Uria aalge*) stranded on the east coast of England (2001– 2002). *Environmental science & technology*, 40(24), 7938-7943. <https://doi.org/10.1021/es0601787>.
- Tsapakis, M., & Stephanou, E. G. (2005). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the atmosphere of the Eastern Mediterranean. *Environmental science & technology*, 39(17), 6584-6590. <https://doi.org/10.1021/es050532l>.
- Tsapakis, M., Apostolaki, M., Eisenreich, S., & Stephanou, E. G. (2006). Atmospheric deposition and marine sedimentation fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons in the eastern Mediterranean basin. *Environmental science & technology*, 40(16), 4922-4927. <https://doi.org/10.1021/es060487x>.
- Turnbull, B. S. Do Dolphins Have Protective Mechanisms Against Mercury Toxicity? IAAAM Archive.

---

## U

- IUCN, 2008. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. Estado actual de las especies marinas del mundo. [https://www.iucn.org/sites/dev/files/import/downloads/status\\_of\\_the\\_world\\_s\\_marine\\_species\\_factsheet\\_sp.pdf](https://www.iucn.org/sites/dev/files/import/downloads/status_of_the_world_s_marine_species_factsheet_sp.pdf)
- Uitz, J., Stramski, D., Gentili, B., d'Ortenzio, F., & Claustre, H. (2012). Estimates of phytoplankton class-specific and total primary production in the Mediterranean Sea from satellite ocean color observations. *Global Biogeochemical Cycles*, 26(2). <https://doi.org/10.1029/2011GB004055>.
- UNEP, 2001. United Nations Environment Programme, The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (UNEP, Nairobi, 2001); <http://chm.pops.int/default.aspx>.
- UNEP, 2005. *Ridding the World of POP's: a Guide to the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants*. United Nations Environment Programme Chemicals, Geneva, Switzerland.
- UNEP, 2019. *Global Mercury Assessment 2018*. UN Environment Programme, Chemicals and Health Branch Geneva Switzerland.
- AMAP/UNEP, 2019. *Technical Background Report for the Global Mercury Assessment 2018*. Arctic Monitoring and Assessment Programme, Oslo, Norway/UN Environment Programme, Chemicals and Health Branch, Geneva, Switzerland. viii + 426 pp including E-Annexes.
- UNEP/POPS/COP, 2021. Recommendation by the Persistent Organic Pollutants Review Committee to list perfluorohexane sulfonic acid (PFHxS), its salts and PFHxS-related compounds in Annex A to the Convention and draft text of the proposed amendment.
- UNEP/POPS/POPRC, 2008. Addendum to the risk management evaluation for perfluorooctane sulfonate.
- UNEP/POPS/POPRC, 2021. Proposal to list long-chain perfluorocarboxylic acids, their salts and related compounds in Annexes A, B and/or C to the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants



Universidad de Barcelona (2002) Programa para la identificación de las áreas de especial interés para la conservación de cetáceos en el Mediterráneo español. Vol II. Sector Norte. Dirección General de Conservación de la Naturaleza, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

Universidad de Valencia (2002) Programa para la identificación de las áreas de especial interés para la conservación de cetáceos en el Mediterráneo español. Vol I. Sector Centro. Dirección General de Conservación de la Naturaleza, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

---

## V

Van den Berg, M., Birnbaum, L. S., Denison, M., De Vito, M., Farland, W., Feeley, M., ... & Peterson, R. E. (2006). The 2005 World Health Organization reevaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicological sciences*, 93(2), 223-241. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfl055>.

Van de Ven, W. S. M., Koeman, J. H., & Svenson, A. (1979). Mercury and selenium in wild and experimental seals. *Chemosphere*, 8(8), 539-555. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(79\)90101-2](https://doi.org/10.1016/0045-6535(79)90101-2).

Van de Vijver, K. I., Hoff, P. T., Van Dongen, W., Esmans, E. L., Blust, R., & De Coen, W. M. (2003). Exposure patterns of perfluorooctane sulfonate in aquatic invertebrates from the Western Scheldt estuary and the southern North Sea. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 22(9), 2037-2041. <https://doi.org/10.1897/02-385>.

Van de Vijver, K.I.; Hoff, P.T.; Das, K.; Van Dongen, W.; Esmans, E.L.; Siebert, U.; Bouquegneau, J.-M.; Blust, R.; De Coen, W.M. (2004). Baseline study of perfluorochemicals in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) from Northern Europe. *Mar. Pollut. Bull.* 48(9-10): 992-997. <https://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.02.021>.

Van de Vijver, K. I., Holsbeek, L., Das, K., Blust, R., Joiris, C., & De Coen, W. (2007). Occurrence of perfluorooctane sulfonate and other perfluorinated alkylated substances in harbor porpoises from the Black Sea. *Environmental science & technology*, 41(1), 315-320. <https://doi.org/10.1021/es060827e>.

van Weelden, C., Towers, J. R., & Bosker, T. (2021). Impacts of climate change on cetacean distribution, habitat and migration. *Climate Change Ecology*, 1, 100009. <https://doi.org/10.1016/j.ecochg.2021.100009>.

Varanasi, U., Stein, J.E., Nishimoto, M. 1989. Biotransformation and disposition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in fish. In: Varanasi, U. (Ed.), *Metabolism of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment*. CRC Press, Boca Raton, 93-149.

Varanasi, U., Stein, J. E., Tilbury, K. L., Meador, J. P., Sloan, C. A., Clark, R. C., & Chan, S. L. (1994). Chemical contaminants in gray whales (*Eschrichtius robustus*) stranded along the west coast of North America. *Science of the Total Environment*, 145(1-2), 29-53. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90296-8](https://doi.org/10.1016/0048-9697(94)90296-8).

Vargas-Yáñez, M., García, M. J., Salat, J., García-Martínez, M. C., Pascual, J., & Moya, F. (2008). Warming trends and decadal variability in the Western Mediterranean shelf. *Global and Planetary Change*, 63(2-3), 177-184. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2007.09.001>.

Verborgh, P., 2015. Demografía y estructura de las poblaciones de calderones comunes (*Globicephala melas*) en el Mediterráneo español. Tesis doctoral. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, Spain.

Vilca, F. Z., Rossi, S., de Olinda, R. A., Sánchez-Sarmiento, A. M., Prioste, F. E. S., Matushima, E. R., & Tornisielo, V. L. (2018). Concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons in liver samples of juvenile green sea turtles from Brazil: Can these compounds play a role in the development of fibropapillomatosis?. *Marine pollution bulletin*, 130, 215-222. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.03.021>.

Villeneuve, J. P., Elder, D. L., & Fukai, R. (1981). Distribution of polychlorinated biphenyls in seawater and sediments from the open Mediterranean Sea. In *Workshop on Pollution of the Mediterranean*. 5., Cagliari (Italy), 9 Oct 1980. Commission Internationale pour l'Exploration Scientifique de la Mer Mediterranee.



Villeneuve, D. L., Khim, J. S., Kannan, K., & Giesy, J. P. (2002). Relative potencies of individual polycyclic aromatic hydrocarbons to induce dioxinlike and estrogenic responses in three cell lines. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 17(2), 128-137. <https://doi.org/10.1002/tox.10041>.

Vonderheide, A. P., Mueller, K. E., Meija, J., & Welsh, G. L. (2008). Polybrominated diphenyl ethers: causes for concern and knowledge gaps regarding environmental distribution, fate and toxicity. *Science of the Total Environment*, 400(1-3), 425-436. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.05.003>.

---

## W

Wafo, E., Sarrazin, L., Diana, C., Dhermain, F., Schembri, T., Lagadec, V., ... & Rebouillon, P. (2005). Accumulation and distribution of organochlorines (PCBs and DDTs) in various organs of *Stenella coeruleoalba* and a *Tursiops truncatus* from Mediterranean littoral environment (France). *Science of the Total Environment*, 348(1-3), 115-127. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.12.078>.

Wafo, E., Mama, C., Risoul, V., Schembri, T., Dhermain, F., & Portugal, H. (2012). Chlorinated pesticides in the bodies of dolphins of the French Mediterranean coastal environment. *Advances in Environmental Sciences*, 4(1), 29-35.

Wan, Y., Jin, X., Hu, J., Jin, F., 2007. Trophic dilution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a marine food web from Bohai Bay, North China. *Environ. Sci. Technol.* 41, 3109–3114. <https://doi.org/10.1021/es062594x>.

Wang, F., Liu, W., Jin, Y., Dai, J., Yu, W., Liu, X., & Liu, L. (2010). Transcriptional effects of prenatal and neonatal exposure to PFOS in developing rat brain. *Environmental science & technology*, 44(5), 1847-1853. <https://doi.org/10.1021/es902799f>.

Wang, Z., Cousins, I.T., Scheringer, M., Buck, R.C., Hungerbühler, K., 2014. Global emission inventories for C4eC14 perfluoroalkyl carboxylic acid (PFCA) homologues from 1951 to 2030, Part I: production and emissions from quantifiable sources. *Environ. Int.* 70, 62e75. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.04.013>.

Wang, H., Naghavi, M., Allen, C., Barber, R. M., Bhutta, Z. A., Carter, A., ... & Bell, M. L. (2016). Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The lancet*, 388(10053), 1459-1544. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31012-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31012-1).

Wang, Z., Boucher, J. M., Scheringer, M., Cousins, I. T., & Hungerbühler, K. (2017). Toward a comprehensive global emission inventory of C4–C10 perfluoroalkanesulfonic acids (PFASs) and related precursors: focus on the life cycle of C8-based products and ongoing industrial transition. *Environmental science & technology*, 51(8), 4482-4493. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b06191>.

Wang, Z., Walker, G. W., Muir, D. C., & Nagatani-Yoshida, K. (2020). Toward a global understanding of chemical pollution: a first comprehensive analysis of national and regional chemical inventories. *Environmental science & technology*, 54(5), 2575-2584. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06379>.

Watanabe, S., Shimada, T., Nakamura, S., Nishiyama, N., Yamashita, N., Tanabe, S., & Tatsukawa, R. (1989). Specific profile of liver microsomal cytochrome P-450 in dolphin and whales. *Marine environmental research*, 27(1), 51-65. [https://doi.org/10.1016/0141-1136\(89\)90018-4](https://doi.org/10.1016/0141-1136(89)90018-4).

Watras, C. J., & Bloom, N. S. (1992). Mercury and methylmercury, in individual zooplankton: Implications for bioaccumulation. *Limnology and Oceanography*, 37(6), 1313-1318. <https://doi.org/10.4319/lo.1992.37.6.1313>.

Webb, S. J., Zychowski, G. V., Bauman, S. W., Higgins, B. M., Raudsepp, T., Gollahon, L. S., ... & Godard-Codding, C. (2014). Establishment, characterization, and toxicological application of loggerhead sea turtle (*Caretta caretta*) primary skin fibroblast cell cultures. *Environmental science & technology*, 48(24), 14728-14737. <https://doi.org/10.1021/es504182e>.

Weiss, B., Clarkson, T. W., & Simon, W. (2002). Silent latency periods in methylmercury poisoning and in neurodegenerative disease. *Environmental health perspectives*, 110 (suppl 5), 851-854. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110s5851>.

Wells, R.S., Scott, M.D., 1999. Bottlenose dolphin *Tursiops truncatus* (montagu, 1821). *Handbook of marine mammals: the second book of dolphins and porpoises* 6, 137e182.





- Wells, R. S., Rhinehart, H. L., Hansen, L. J., Sweeney, J. C., Townsend, F. I., Stone, R., ... & Rowles, T. K. (2004). Bottlenose dolphins as marine ecosystem sentinels: developing a health monitoring system. *EcoHealth*, 1(3), 246-254. <https://doi.org/10.1007/s10393-004-0094-6>.
- West, K. L., Walker, W. A., Baird, R. W., Mead, J. G., & Collins, P. W. (2017). Diet of Cuvier's beaked whales *Ziphius cavirostris* from the North Pacific and a comparison with their diet world-wide. *Marine Ecology Progress Series*, 574, 227-242. <https://doi.org/10.3354/meps12214>.
- Whitehead, H. (2001). Analysis of animal movement using opportunistic individual identifications: application to sperm whales. *Ecology*, 82(5), 1417-1432. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2001\)082\[1417:AOAMUO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2001)082[1417:AOAMUO]2.0.CO;2).
- Whitlock JP Jr. 1999. Induction of cytochrome P4501A1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 39:103–125.
- Whitney, M. C., & Cristol, D. A. (2017). Impacts of sublethal mercury exposure on birds: a detailed review. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 244*, 113-163. [https://doi.org/10.1007/398\\_2017\\_4](https://doi.org/10.1007/398_2017_4).
- WHO, 1979. World Health Organization. DDT and Its Derivatives, Environmental Health Criteria 9. WHO, Geneva. Available online at <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc009.htm>.
- WHO, 2001. World Health Organization. WHO Consultation on Risk Assessment of Non-dioxin-like PCBs. Geneva, Switzerland.
- WHO, 2003. World Health Organization. Polynuclear aromatic hydrocarbons in drinking water. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality [WHO/SDE/WSH/03.04/59].
- Wiener, J. G., Krabbenhoft, D. P., Heinz, G. H., & Scheuhammer, A. M. (2003). Chapter 16: Ecotoxicology of mercury. *Handbook of ecotoxicology*, 2, 409-463.
- Williams, R. S., Curnick, D. J., Brownlow, A., Barber, J. L., Barnett, J., Davison, N. J., ... & Jobling, S. (2021). Polychlorinated biphenyls are associated with reduced testes weights in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*). *Environment international*, 150, 106303. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106303>.
- Wilson, J. Y., Cooke, S. R., Moore, M. J., Martineau, D., Mikaelian, I., Metner, D. A., ... & Stegeman, J. J. (2005). Systemic effects of arctic pollutants in beluga whales indicated by CYP1A1 expression. *Environmental health perspectives*, 113(11), 1594-1599. <https://doi.org/10.1289/ehp.7664>.
- Wise Sr, J. P., Payne, R., Wise, S. S., LaCerte, C., Wise, J., Gianios Jr, C., ... & Kerr, I. (2009). A global assessment of chromium pollution using sperm whales (*Physeter macrocephalus*) as an indicator species. *Chemosphere*, 75(11), 1461-1467. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.044>.
- Würtz, M., & Marrale, D. (1993). Food of striped dolphin, *Stenella coeruleoalba*, in the Ligurian Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 73(3), 571-578. <https://doi.org/10.1017/S0025315400033117>.
- Würsic, B., 2008. Intelligence and cognition. In: *Encyclopedia of Marine Mammals*, second ed. Academic press, pp. 616-623.

---

## X

- Xie, S., Wang, T., Liu, S., Jones, K.C., Sweetman, A.J., Lu, Y., 2013. Industrial source identification and emission estimation of perfluorooctane sulfonate in China. *Environ. Int.* 52, 1e8. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.11.004>.
- Xu, L., Krenitsky, D. M., Seacat, A. M., Butenhoff, J. L., & Anders, M. W. (2004). Biotransformation of N-ethyl-N-(2-hydroxyethyl) perfluorooctanesulfonamide by rat liver microsomes, cytosol, and slices and by expressed rat and human cytochromes P450. *Chemical research in toxicology*, 17(6), 767-775. <https://doi.org/10.1021/tx034222x>.
- Xu, L., Krenitsky, D. M., Seacat, A. M., Butenhoff, J. L., Tephly, T. R., & Anders, M. W. (2006). N-glucuronidation of perfluorooctanesulfonamide by human, rat, dog, and monkey liver microsomes and by



expressed rat and human UDP-glucuronosyltransferases. *Drug metabolism and disposition*, 34(8), 1406-1410. <https://doi.org/10.1124/dmd.106.009399>.

---

## Y

Yang, J., Miyazaki, N., Kunito, T., & Tanabe, S. (2006). Trace elements and butyltins in a Dall's porpoise (*Phocoenoides dalli*) from the Sanriku coast of Japan. *Chemosphere*, 63(3), 449-457. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.08.050>.

Yates, D. E., Mayack, D. T., Munney, K., Evers, D. C., Major, A., Kaur, T., & Taylor, R. J. (2005). Mercury levels in mink (*Mustela vison*) and river otter (*Lontra canadensis*) from northeastern North America. *Ecotoxicology*, 14(1-2), 263-274. <https://doi.org/10.1007/s10646-004-6273-y>.

Yeung, L. W., Dassuncao, C., Mabury, S., Sunderland, E. M., Zhang, X., & Lohmann, R. (2017). Vertical profiles, sources, and transport of PFASs in the Arctic Ocean. *Environmental science & technology*, 51(12), 6735-6744. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00788>.

Yordy, J. E., Pabst, D. A., McLellan, W. A., Wells, R. S., Rowles, T. K., & Kucklick, J. R. (2010a). Tissue-specific distribution and whole-body burden estimates of persistent organic pollutants in the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(6), 1263-1273. <https://doi.org/10.1002/etc152>.

Yordy, J. E., Wells, R. S., Balmer, B. C., Schwacke, L. H., Rowles, T. K., & Kucklick, J. R. (2010b). Life history as a source of variation for persistent organic pollutant (POP) patterns in a community of common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) resident to Sarasota Bay, FL. *Science of the Total Environment*, 408(9), 2163-2172. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.01.032>.

Yu, R. Q., Reinfelder, J. R., Hines, M. E., & Barkay, T. (2013). Mercury methylation by the methanogen *Methanospirillum hungatei*. *Applied and environmental microbiology*, 79(20), 6325-6330. <https://doi.org/10.1128/AEM.01556-13>.

Yudovich, Y. E., & Ketris, M. P. (2005). Mercury in coal: A review: Part 1. *Geochemistry. International Journal of Coal Geology*, 62(3), 107-134. <https://doi.org/10.1016/j.coal.2004.11.002>.

---

## Z

Zaccaroni, A., Andreini, R., Franzellitti, S., Barceló, D., & Eljarrat, E. (2018). Halogenated flame retardants in stranded sperm whales (*Physeter macrocephalus*) from the Mediterranean Sea. *Science of the Total Environment*, 635, 892-900. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.147>.

Zacharia, J.T., (2011). Identity physical and chemical properties of pesticides, in: *Pesticides in the Modern World: Trends in Pesticides Analysis*, InTechopen, UK, 2011, pp. 1e18. Available: ISBN: 978-953-307-437-5, <http://www.intechopen.com/books/show/title/pesticides-in-the-modern-world-trends-in-pesticidesanalysis>.

Zhang, H., Feng, X., Chan, H. M., & Larssen, T. (2014). New insights into traditional health risk assessments of mercury exposure: implications of selenium. *Environmental science & technology*, 48(2), 1206-1212. <https://doi.org/10.1021/es4051082>.

Zhang, X., Zhang, Y., Dassuncao, C., Lohmann, R., & Sunderland, E. M. (2017). North Atlantic Deep Water formation inhibits high Arctic contamination by continental perfluorooctane sulfonate discharges. *Global Biogeochemical Cycles*, 31(8), 1332-1343. <https://doi.org/10.1002/2017GB005624>.

Zhang, X., Lohmann, R., & Sunderland, E. M. (2019). Poly- and perfluoroalkyl substances in seawater and plankton from the Northwestern Atlantic Margin. *Environmental science & technology*, 53(21), 12348-12356. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03230>.

Zimmermann, L. T., Santos, D. B., Naime, A. A., Leal, R. B., Dórea, J. G., Barbosa Jr, F., ... & Farina, M. (2013). Comparative study on methyl- and ethylmercury-induced toxicity in C6 glioma cells and the potential role of LAT-1 in mediating mercurial-thiol complexes uptake. *Neurotoxicology*, 38, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2013.05.015>.



Zitko, V. (2003). Chlorinated Pesticides: Aldrin, DDT, Endrin, Dieldrin, Mirex. In: Fiedler, H. (eds) Persistent Organic Pollutants. The Handbook of Environmental Chemistry, vol 3O. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/10751132\\_4](https://doi.org/10.1007/10751132_4).



## ***VII. Extended abstract***



## Extended abstract for international doctor expert evaluation

**Title:** Characterization and evaluation of exposure to environmental pollutants in cetaceans from SE Spain

**Author:** Gabriel López Berenguer / **Director:** Emma Martínez López

### Introduction

The Mediterranean Sea is the second world largest semi-enclosed sea. Despite its relatively small surface in comparison to the open oceans and its oligotrophic condition, the Mediterranean Sea has a wide biodiversity (~ 7 % of global biodiversity) characterized by a high endemism (Coll *et al.*, 2012; Lejeusne *et al.*, 2010). Due to the scarcity of nutrients, there are certain localized biodiversity hotspots associated to areas of permanent or seasonal high productivity (d'Ortenzio & d'Alcalà, 2009; Uitz *et al.*, 2012). However, the Mediterranean Sea is surrounded by some of the most industrialized countries in the world and its basin holds a highly dense population (~ 300-400 million people, depending on the season). The constant and increasing anthropogenic pressure to which this region has been subjected since various centuries ago have resulted in a severe conservation crisis which is causing a significant loss of biodiversity, which is essential for the welfare and subsistence of the human populations which inhabit its basin. (Benoit & Corneau, 2005). Some of the most severe threatens which are faced by this region include the climate change, the pollution of its coasts and waters or the depletion of the fishery resources (Coll *et al.*, 2010; Katsanevakis *et al.*, 2013; Pace *et al.*, 2015). All these threats affect as well to the coastline of the Region of Murcia (SE Spain), which geographically corresponds to part of the Gulf of Vera, an important area for the conservation of several Mediterranean cetacean species.

Due to their ecological role and other specific characteristics cetaceans have been suggested as bioindicators of the marine environmental health, as well as sentinels of the marine pollution (Durante *et al.*, 2020; Pace *et al.*, 2015; Wise *et al.*, 2009). However, their study is particularly complex due to conservational, technical and ethical reasons. Thus, strandings possess a huge and irreplaceable value for their study, as many of the existing obstacles fade when using death and beached animals. 25 % of worldwide marine mammal species are currently at risk (IUCN, 2008). Mediterranean cetaceans are considered to be the marine taxonomic group most threatened by anthropogenic threats (Coll *et al.*, 2012). The Mediterranean Sea has 8 species of cetaceans with endemic populations, seven odontocetes and one mysticete. Despite they are protected by several regional and international conservational treaties and laws, including the Agreement on the Conservation of Cetaceans of the Black Sea, Mediterranean Sea and contiguous Atlantic Area (ACCOBAMS), cetaceans' abundance for the majority of the Mediterranean endemic populations are considered to be declining in the last decades (ACCOBAMS, 2021a, b).



Chemical pollution is ubiquitous in our planet, reaching even those regions further located from the human influence, like the earth poles or the deep ocean (Dietz *et al.*, 2019, Fuoco *et al.*, 1996; Stegeman *et al.*, 1986). During the last centuries, huge loads of countless pollutants have been released to the environment, with the subsequent exposition of all the living beings, including wildlife and humans. Currently, pollution is the main environmental cause of human disease and premature death in the world (Wang *et al.*, 2016). For instance, in 2015 pollution was estimated to kill more people than AIDs, tuberculosis and malaria together, as well as fifteen times more than war and all forms of violence together (Forouzanfar *et al.*, 2016). Similar consequences are expected to affect wildlife, potentially resulting in a decrease of the welfare of the individuals and in severe conservational issues. Since various decades ago, countless legal and non-legal initiatives have arisen to try to mitigate the extent of the chemical pollution; however, they have had a limited success and chemical pollution is generally an increasing problem.

The oceans are particularly susceptible to the accumulation of chemicals pollution as they act as the ending sink of many of the circulating pollutants, which finally end in the water through the atmosphere (*e.g.*, rain, deposition), rivers, run-off waters, or intended spills from urban, industrial or agricultural areas (Loganathan & Kannan, 1994). Mercury, organochlorine pesticides (OCPs), polychlorinated biphenyls (PCBs), polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and perfluoroalkyl substances (PFASs) are different substances of different nature and characteristics with the ability of impairing the health of the living beings through a number of different and poorly understood mechanisms. These substances are ubiquitous in the seas, where their presence and distribution are partially or totally influenced by human activities, including agriculture, manufacturing industry, energy production, mining, *etc*. As they bioaccumulate, they can be regularly found in cetaceans as well as in the rest of the marine trophic webs that these species dominate. Moreover, some of these chemicals are able to biomagnify, so their concentrations in marine top predators like cetaceans reach much higher values than lower trophic organisms (Dron *et al.*, 2022). Chemical pollution is thought to have a strong influence on population health, so it is suggested as one of the main causes leading to the worrying trend of most Mediterranean cetacean populations. Despite it is rarely considered as a direct cause of death, chemical pollution acts synergically with other anthropogenic and natural threats, limiting the ability of the organism to face them properly. For example, during the Mediterranean morbillivirus epizootic of 1990-1992 which affected many cetacean populations, mortality was associated to high levels of PCBs. It was hypothesized that the high PCB burden led to an immunosuppressive condition which limited the ability of the infected cetaceans to face the infection consequently resulting in the death of the individuals (Aguilar & Borrell, 1994). Thus, assessing accumulation of pollutant in cetacean tissues might indicate the chemical stress to which these species are subjected, which could have direct influence on the survival of their populations.



## Objectives

The general objectives of this doctoral thesis were i) to characterize the exposure to environmental pollutants of different nature, origin and characteristics in cetaceans inhabiting the waters of the Region of Murcia; ii) to study the relationship of our results with the distinct characteristics of the study species, the sampled individuals and the assessed pollutants; iii) to compare our results with previous references in ours or other species as well as in the Mediterranean Sea and in other regions of the globe; and iv) to understand the potential consequences of our results over the health of the individuals and the populations.

From these general objectives, several specific objectives arise, which are addressed in the different chapters of the thesis. Each of these chapters address on or several pollutants or families of pollutants grouped on the basis of certain common characteristics. Thus, this thesis is structured in four chapters whose specific objectives are described below. At this moment, most of the information from these chapters has been already published (López-Berenguer *et al.*, 2020a, b), accepted for publication (López-Berenguer *et al.*, 2022a) or is under revision for publication (López-Berenguer *et al.*, 2022b).

### *Chapter 1 – Mercury and selenium in stranded cetaceans in SE Spain between 2009 and 2021: a neurotoxic approach*

**Objective 1:** To conduct a critical review about the current knowledge on the exposure and the potential effects of mercury in the brain of cetaceans in relation to other marine mammals and other sea-related species.

**Objective 2:** To study the mercury and selenium concentrations in brain and liver samples of cetaceans stranded in the coast of the Region of Murcia between 2009 and 2021, assessing the influence of different life variables on them.

**Objective 3:** To assess the usefulness of liver to predict mercury accumulation in brain of cetaceans.

**Objective 4:** To study the potential role of selenium in the protection of mercury-induced neurotoxicity in cetaceans.

### *Chapter 2 – Persistent, fat-soluble and biomagnifiable organic compounds in cetaceans stranded in SE Spain between 2011 and 2018: organochlorine pesticides, PCBs, and PBDEs*

**Objective 5:** To study the concentrations of organochlorine pesticides (OCPs), polychlorinated biphenyls (PCBs), and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in blubber sampled of cetaceans stranded in the coast of the Region of Murcia



between 2011 and 2018, assessing the influence of different inter- and intraspecific variables.

**Objective 6:** To assess the efficacy of the ban of the studied compounds in relation to their accumulation in cetacean marine top predators.

*Chapter 3 – Persistent, fat-soluble and non-biomagnifiable pollutants in stranded cetaceans in SE Spain between 2011 and 2019: PAHs*

**Objective 7:** To study the concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in blubber sampled of cetaceans stranded in the coast of the Region of Murcia between 2011 and 2018, assessing the influence of different inter- and intraspecific variables.

*Chapter 4 – Persistent, non-fat-soluble and biomagnifiable organic compounds in stranded cetaceans in SE Spain between 2009 and 2018: PFASs*

**Objective 8:** To study the concentrations of perfluoroalkyl substances (PFASs) in blubber sampled of cetaceans stranded in the coast of the Region of Murcia between 2009 and 2018, assessing the influence of different inter- and intraspecific variables.

**Objective 9:** To assess the efficacy of the ban of the studied compounds in relation to their accumulation in cetaceans as marine top predators.





## Material & Methods

### *Study area*

All samples used for this thesis were obtained along the coastline of the Region of Murcia (SE Spain; [Figure 1](#)). Geographically, this area mostly corresponds to the northern half of the Gulf of Vera, whose coastline is characterized by a low urbanization and the predominance of the primary sector and especially of agricultural activities. Due to its relative proximity to the Strait of Gibraltar, a certain Atlantic influence can be still noted on its water, acting as the last frontier before the pure Mediterranean waters ([Millot, 1985](#); [Tintoré et al., 1988](#)). In this region the continental shelf is considerably narrow, and the continental slope is very steep, and there are bathymetrical features of importance, including deep submarine canyons. This area consists of one of the few localized areas in the Mediterranean Sea with a higher concentration of nutrients and chlorophyll, in this case with a seasonal variation associated to the *spring bloom* ([d'Ortenzio y d'Alcalà, 2009](#); [Uitz et al., 2012](#)).



**Figure 1.** Sampling area, coastline of Region of Murcia (north of Gulf of Vera), Spain.

The favorable oceanographic characteristics of Gulf of Vera allow the occurrence of the eight species of cetacean endemic to the Mediterranean. However, its limited geographic identity and its proximity to the Alborán Sea have traditionally made this area relatively unnoticed by scientists and conservationists. Fortunately, a growing number of works point to its importance for the conservation of Mediterranean cetaceans, as it has been recognized by the ACCOBAMS or the International Committee on Marine Mammal Protected Areas (ICMMPA) ([ACCOBAMS, 2016](#)). For example, it has higher densities of striped dolphins *Stenella coeruleoalba*, bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* or Risso's dolphins *Grampus griseus* than other important areas of the Mediterranean Sea ([Gómez de Segura et al., 2006](#)). Besides, it has been suggested as a nursery area for striped dolphin *Stenella coeruleoalba* or long-finned pilot whale *Globicephala melas*,



and it is an area of obligatory passage for migrating fin-whale populations entering from the Atlantic Ocean.

#### *Species of study (Chapters 1-4)*

For this work we used samples from the seven odontocete species regularly inhabiting the Mediterranean Sea and, specifically, the Gulf of Vera: striped dolphin *Stenella coeruleoalba*, bottlenose dolphin *Tursiops truncatus*, common dolphin *Delphinus delphis*, long-finned pilot whale *Globicephala melas*, Risso's dolphin *Grampus griseus*, Cuvier's beaked whale *Ziphius cavirostris*, sperm whale *Physeter macrocephalus*. None of these species is exclusive of the Mediterranean Sea; however, their Mediterranean populations are thought to be completely or almost completely genetically separated from their Atlantic counterparts. For some species their Mediterranean population is further divided into different subpopulations with scarce genetic transference (*e.g.*, striped dolphin) while in other cases it is considered to exist an only population in the Mediterranean (*e.g.*, sperm whale). According to their diet and feeding behavior, these species can be classified into two main groups. Those opportunistic species feeding at relatively low depths mainly on combinations of fish/cephalopods (*i.e.*, striped dolphin, bottlenose dolphin and common dolphin) and those deep-diving teuthophagous species which feeds at higher depths mainly on squids and octopuses (*i.e.*, long-finned pilot whale, Risso's dolphin, Cuvier's beaked whale and sperm whale). These differences have a potential influence on the uptake on pollutants.

#### *Sampling (Chapters 1-4)*

Tissue samples from cetaceans stranded in the coastline of Region of Murcia between 2009 and 2021 were used in this work. Blubber tissue was used for the analysis lipophilic compounds (*i.e.*, organochlorine pesticides, PCBs, PBDEs, PAHs), muscle and liver tissues were used for analysis PFASs, and brain and liver samples were used for the analysis of mercury (Hg) and selenium (Se). All these samples were obtained during detailed and standardized necropsies conducted according to national (SEC, 2000) and international protocols (Kuiken & Hartmann, 1991) by the personnel of the wildlife recovery center "El Valle" (Dirección General de Medio Ambiente, CARM). Additional information was recorded during the necropsies, including sex, length, decomposition status or stranding area. Due to the opportunist sampling, the maximum number of individuals was included independently of its life-history or its decomposition status, which were later considered on the discussion of our results. Samples were immediately frozen on individual plastic bottles to -20 °C until the analysis.

- A total of 47 brain samples and 41 liver samples from three different species were analyzed for Hg. A subset of 19 brain samples and 19 liver samples was also analyzed for Se (*Chapter 1*).



- A total of 52 blubber samples from seven different species were analyzed for organochlorine pesticides, PCBs, PBDEs and PAHs (*Chapters 2 & 3*).
- A total of 38 liver samples and 26 muscle samples from five different species were analyzed for PFASs (*Chapter 4*).

*Analytes of interests (Chapters 1-4)*

A set of different chemicals and families of chemicals were chosen for their study in the different chapters of these thesis. Each chapter includes one of various of these chemicals grouped according to certain similarities among them. The selection criteria was based on the environmental relevance of these chemicals and their interest for cetacean conservation, as well as our technical capacity to analyze these compounds. The following table ([Table 1](#)) shows the whole list of the analytes studied on each chapter.

**Table 1.** Analytes of interest studied on each chapter grouped according to their chemical family.

<i>Chapter 1</i>	<i>Chapter 2</i>			<i>Chapter 3</i>	<i>Chapter 4</i>
Trace elements	Organochlorine pesticides	PCBs	PBDEs	PAHs	PFASs
Mercury	aldrin	CB-28	BDE-28	Acenaphthylene	Perfluorobutane sulfonate
Selenium	p,p'-DDE	CB-52	BDE-47	Acenaphthene	Perfluorohexane sulfonate
	p,p'-DDD	CB-77	BDE-85	Anthracene	Perfluoroheptane sulfonate
	p,p'-DDT	CB-81	BDE-99	Benzo(a)anthracene	Perfluorooctane sulfonate
	dieldrin	CB-101	BDE-100	Benzo(a)pyrene	Perfluorodecane sulfonate
	endrin	CB-105	BDE-153	Benzo(b)fluoranthene	Perfluorooctane sulfonamide
	heptachlor	CB-114	BDE-154	Benzo(ghi)perylene	Perfluorohexanoic acid
	hexachlorobenzene	CB-118	BDE-183	Benzo(k)fluoranthene	Perfluoroheptanoic acid
	hexachlorocyclohexane- $\alpha$	CB-123		Chrysene	Perfluorooctanoic acid
	hexachlorocyclohexane- $\beta$	CB-126		Dibenzo(ah)anthracene	Perfluorononanoic acid
	hexachlorocyclohexane- $\gamma$	CB-138		Fluoranthene	Perfluorodecanoic acid
	hexachlorocyclohexane- $\delta$	CB-153		Fluorene	Perfluoroundecanoic acid
	methoxychlor	CB-156		Indene(123,cd)pyrene	Perfluorododecanoic acid
	mirex	CB-157		Naphthalene	Perfluorotridecanoic acid
		CB-167		Phenanthrene	Perfluorotetradecanoic acid
		CB-169		Pyrene	
		CB-180			
		CB-189			

#### *Analysis of mercury and selenium (Chapter 1)*

Prior to the Se analysis, 0.6-0.7 g of the tissue was mineralized with 4.5 ml of concentrate nitric acid (Scharlau, for dithizone determinations) and 1 ml of a 30% hydrogen peroxide solution (Merck) in a closed Teflon PFA vessel according to [Martínez-López et al \(2019a, b\)](#). Afterwards, samples were digested through a microwave digestion system (MLS 1200 Mega, MPR 600/12m Milestone). After cooling, the solutions were transferred to 10 mL volumetric flasks and later filtered with a 0.45  $\mu$ m filter and transferred into 15 ml threaded tubes. Samples intended for Hg



analyses were diluted ten times due to the high Hg concentrations expected. Hg analysis was performed by an atomic absorption spectrophotometry using a direct mercury analyzer (AMA-254, Leco®). Se analysis was conducted by means of an inductively coupled plasma optical emission spectrometer (VISTA-MPX CCD Simultaneous ICP-OES® Varian; LAYMA PA/IN/0219). The calibration curve was prepared from a multi-element standard solution (CentiPUR, Merck). Regarding QA/QC, two blanks were simultaneously analyzed and a Standard reference Material (Multi-element standard solution and Mercury ICP standard, both CertiPUR, Merck) in each run. The detection limits were 0.02 mg/kg for Hg and 0.60 mg/kg for Se.

#### *Analysis of lipophilic compounds (Chapters 2 & 3)*

POPs were extracted from the tissue by using a mixture of organic solvents following the protocol described by [Martínez-López et al. \(2009\)](#) with some adaptations. Briefly, a subsample of 0.2 g was taken and homogenized for 5 minutes in a plastic tube with 20 ml of acetone:hexane 5:15 (v/v). The resultant mixture was passed through a porous plate funnel with 5 g of anhydrous sodium sulfate to a glass flask. 5 ml of extra hexane were passed through the porous plate funnel to the glass flask to drag the maximum target compounds. The resulting extract was evaporated at 35 °C in a rotatory evaporator and redissolved in 5 ml of hexane. For clean-up Florisil® cartridges (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) were used. 2 ml of hexane were used for conditioning the cartridges. Immediately, the sample extract was passed through the cartridge, followed by 25 ml of petroleum ether:diethyl ether 21:4 (v/v). Both the sample extract and the eluent were collected in a glass flask and again evaporated. Finally, the dry extract was redissolved in 1 ml of hexane and passed to a glass vial.

Instrumental quantification was conducted by gas chromatography by using a GC System 7890B equipped with a 7693 Autosampler (Agilent Technologies, Palo alto, CA. USA). The GC was interfaced with a Triple Quad 7010 mass spectrometer (Agilent Technologies), which was used for the detection of all the analytes in a single run. Additional information can be found at [Acosta-Dacal et al. \(2021\)](#).

#### *Analysis of PFASs (Chapter 4)*

Prior to extraction all samples were homogenized using a stainless-steel blender

Liver PFASs extraction was conducted as described by [Bossi et al. \(2005\)](#) with slight modifications. 5 g of the homogenized liver was diluted with 25 mL of Milli-Q water 1:5 (m;v). The sample was extracted with 1 mL of 0.5M TBAS solution (pH adjusted to 10), 2 mL of 0.25 M sodium carbonate:sodium bicarbonate buffer, and 5 mL of MTBE. The mixture was first shaken for 10 minutes and then centrifuged at 3,000 rpm for 25 minutes. Thereafter 4 mL of the MTBE supernatant was collected and evaporated to dryness. Finally, the resulting extract was



reconstituted in 0.5 mL of methanol:2 mM ammonium acetate buffer 1:1 (v:v) and filtered through a 0.2  $\mu\text{m}$  nylon filter.

Muscle tissue was extracted as described by Ahrens et al. (2009), with the same small modification. Briefly, 1 g of the homogenized tissue was mixed with 5 mL of acetonitrile. The extraction was carried out with 5 mL of acetonitrile twice for 30 min in an ultrasonic bath at 30 °C. The process was repeated twice to ensure maximum recovery. The resulting extract was reduced to 2 mL under a stream of nitrogen and 50  $\mu\text{L}$  of acetic acid was added. For clean-up Supelclean ENVI-Carb® cartridges (100 mg, 1 mL, 100-400 mesh, Supelco, USA) were used. The sample extract was passed through the cartridge, and subsequently eluted three times with 1 mL of methanol. The extracts were reduced to dryness under a nitrogen stream and re-dissolved in 1 mL of methanol:2 mM ammonium acetate (50:50; v:v).

Instrumental quantification was performed by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) with electron spray ionization (ESI) in negative ionization mode.

#### *Stable isotopes (Chapter 4)*

Muscle samples (n=25) were analyzed for stable carbon ( $^{13}\text{C}$  and  $^{12}\text{C}$ ) and nitrogen isotopes ( $^{15}\text{N}$  and  $^{14}\text{N}$ ) at the Stable Isotope Lab of the University of Koblenz-Landau, Germany. Samples were freeze-dried and subsequently homogenised using pestle and mortar, a small subsample (1.13 $\pm$ 0.12 mg) was crimped into a tin combustion cup and analyzed using a Flash 2000 HT elemental analyzer coupled via a ConFlo IV interface to a Delta V Advantage isotope ratio mass spectrometer (all Thermo Fisher Scientific, Bremen, Germany). Internal reference material (*i.e.*, casein) was measured in duplicate every ten samples, revealing an imprecision ( $\pm\text{SD}$ )  $\leq 0.06\%$  for both  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ .

#### *Critical review (Chapter 1)*

For the critical review conducted in *Chapter 1* we used academic search engines - Google Scholar, Pubmed, Science Direct, Scopus- and references from relevant articles to find peer-reviewed papers. We used related key words such as: marine mammals, cetaceans, pinnipeds, metals, mercury, brain, neurotoxicity, *etc* We included scientific publications from all times (1971–2019) considering the scarce information about the topic and we evaluated all species of marine mammals, including cetaceans, pinnipeds, sirenians and polar bears. We are conscious that we did not gather all the available information about the topic as data about trace elements burden in brain is frequently exposed in papers in a marginal way and not mentioned in the title, in the key-words or even in the abstract; but we attempted to be as systematic as possible.

#### *Statistical analysis and data handling (Chapters 1-4)*



We used SPSS v.25.0 statistical package and Microsoft Excel 2019. Descriptive statistics were conducted for all species considered on each chapter, while detailed analyses were only applied to striped dolphin, whose higher stranding frequency in the study area allowed for a higher sample size. We considered adult males and females those striped dolphins aged twelve or longer than 187 cm, and unweaned calves were considered those below 16 weeks ([Calzada \*et al.\*, 1996](#); [Marsili \*et al.\*, 2004](#) and [references therein](#)). We estimated age from length following a model provided by [Marsili \*et al.\* \(2004\)](#) for the Mediterranean subpopulation. Kolmogorov-Smirnov test was used to study normality of the samples. We used Kruskal-Wallis test to assess the influence of different non normally distributed variables *e.g.*, length, stranding year – and used ANOVA to study normally distributed variables *e.g.*,  $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ . Mann-Whitney U test was used to study the influence of sex or stranding site on pollutant concentrations while spearman correlation coefficient was used to study influence of length as well as other quantitative continuous variables. The significance level was set to  $\alpha = 0.05$ .



## Results & Discussion

### Chapter 1 – Mercury and selenium in stranded cetaceans in SE Spain between 2009 and 2021: a neurotoxic approach

Mercury (Hg) is the most toxicologically relevant element in the marine environment due to the particularities of its environmental cycle, its ability to biomagnify and its potential toxicity, especially on the nervous system. As cetaceans and other marine mammals accumulate extremely high concentrations of this pollutant, they are especially susceptible to this threat.

For this chapter, we conducted an extensive critical review about marine mammal's brain exposition to Hg and its potential neurotoxic effects which we complemented with the Hg and Se results from more than a decade of work analyzing brain and liver samples obtained from stranded cetaceans in the southeast of Spain between 2009 and 2021. Brain is decomposed quickly and its extraction requires a great skill, which implies a higher effort than the other samples usually analyzed in toxicology studies. Due to this fact and the traditional consideration of other organs such as liver, kidneys or blubber as more important in toxicological studies, marine mammals brain has been a hard and little attractive sample to evaluate by toxicologist. We found 37 works in which Hg concentrations were reported in brain of marine mammals with a marked geographical and taxonomic bias. 36 of these works were conducted in the north hemisphere, with most cetaceans works occurring in the Mediterranean Sea and most pinniped works occurring in the North American coasts. The observed results supported the consideration of the Mediterranean Sea as a Hg hotspot for marine mammals. By decreasing order, the most studied groups were odontocetes > phocids > otariids  $\approx$  polar bears  $\geq$  mysticetes  $\approx$  sirenians.

As Hg biomagnifies, it was expected that those species feeding at higher trophic levels would accumulate higher Hg concentrations in brain. However, the results were not completely aligned with this hypothesis. [Figure 2](#) summarizes all the results reported in the studies reviewed for this work. Cetaceans generally accumulated higher Hg brain concentrations than any other group (grand mean 3.53 mg/kg ww, range of means/medians <LoD-16.72 mg/kg ww). For our study samples ([Table 2](#)) we observed Hg brain concentrations in striped ( $7.36 \pm 16.24$  mg/kg ww), bottlenose ( $4.05 \pm 5.87$  mg/kg ww), and common dolphins ( $3.29 \pm 5.34$  mg/kg ww), in the same range reported for cetaceans elsewhere (grand mean 3.53 mg/kg ww, range of means/medians <LoD – 16.72 mg/kg ww). To our knowledge we reported the highest Hg brain concentration ever reported in wildlife, which corresponded to a male striped dolphin stranded in SE Spain in 2009 carrying a Hg brain concentration of 86.64 mg/kg ww. In comparison to cetaceans, the rest of marine mammals present much lower Hg brain values. For example, mean Hg concentration in brain of pinnipeds ranged between 0.15 and 0.52 mg/kg ww (grand mean 0.28 mg/kg ww, range of means/medians 0.15-0.52 mg/kg ww), which is among the range expressed for other



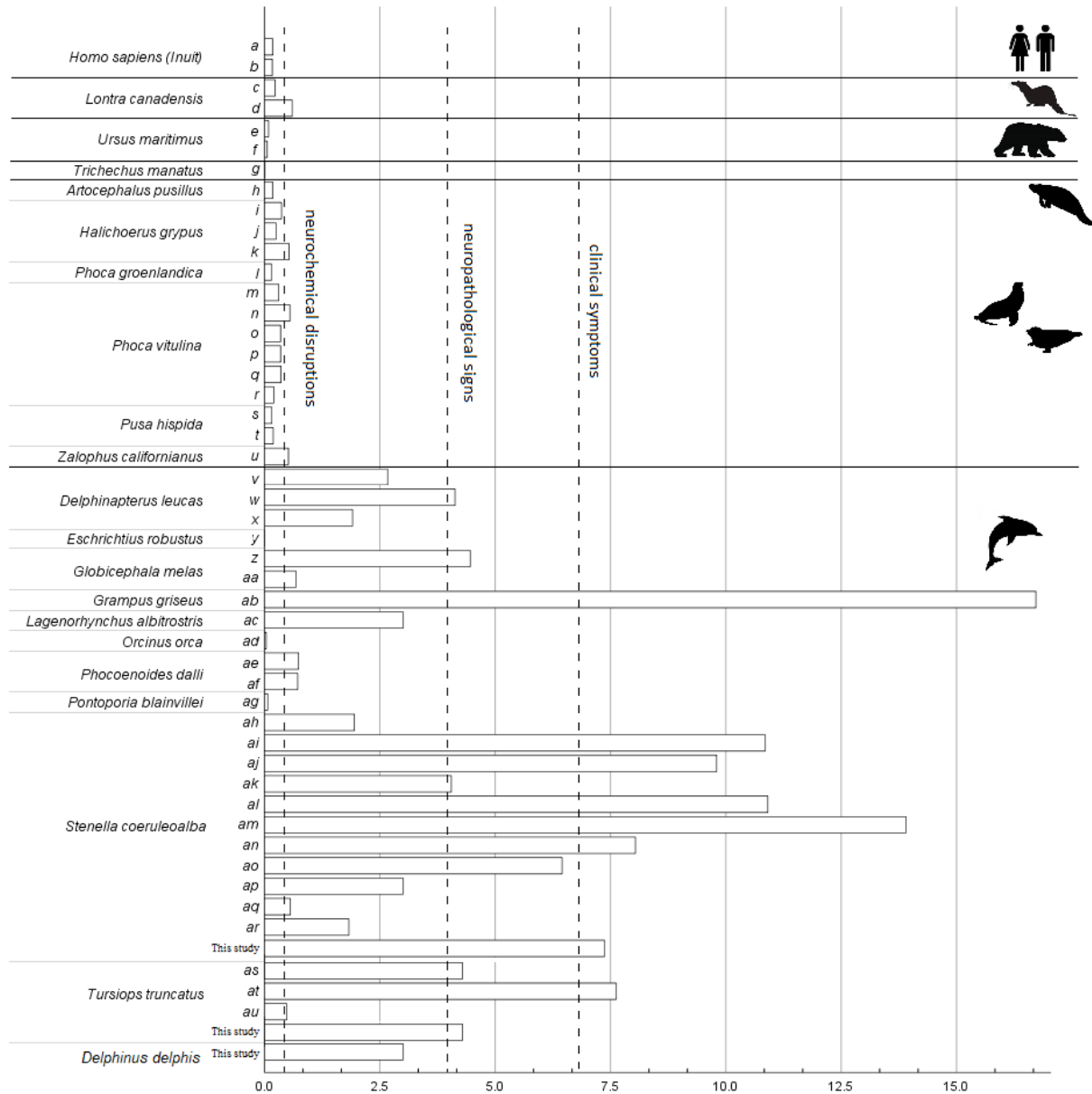
piscivorous mammals and for human populations which rely almost exclusively on sea products (*i.e.*, Inuit). On the contrary, polar bears showed extremely low values of Hg in brain (grand mean 0.08 mg/kg ww, range of means 0.06-0.09 mg/kg ww). These levels were apparently inconsistent with their trophic position; however, hepatic Hg concentrations for this polar bears were of the same magnitude or higher than those found in other Arctic cetaceans and pinnipeds, so [Krey et al. \(2012\)](#) suggested that this situation could be caused by some difference in polar bears' blood-brain-barrier structure or composition.

**Table 2.** Mercury and selenium concentrations in brain and liver of cetaceans stranded in the Mediterranean coast of SE Spain between 2009 and 2021. Results are expressed as mg/kg wet weight (ww).

	Striped dolphin		Bottlenose dolphin		Common dolphin	
	Brain	Liver	Brain	Liver	Brain	Liver
<i>n</i>	39	33	4	3	4	4
Hg	7.36 ± 16.2	94.34 ± 140.6	4.05 ± 5.87	93.3 ± 123	3.29 ± 5.34	46.2 ± 38.9
	1.17 (0.25-86.6)	20.0 (1.74-495)	1.55 (0.30-12.8)	29.4 (15.5-235)	0.75 (0.37-11.3)	43.9 (1.60-95.4)
<i>n</i>	19	19	3	3	3	3
Se	2.93 ± 4.13	31.4 ± 50.0	2.71 ± 2.81	31.2 ± 55.0	2.70 ± 2.87	19.0 ± 19.4
	1.55 (<LoD-16.6)	11.3 (1.26-205)	1.13 (0.84-5.85)	10.2 (7.50-104)	1.42 (0.69-5.98)	13.7 (2.74-40.5)

Mercury (Hg) is the most studied trace element in marine mammals; however, very little is known about its potential toxic effects on the central nervous system – its main target organ – on these species. Most of the information concerning Hg-induced neurotoxicity comes from studies carried on laboratory animals or in vitro techniques. Mouse and rats are the animal models used in a 95% of this kind of studies ([Clancy et al., 2007](#)), but extrapolating data from one species to another is always risky given the probed differences existing between toxicokinetics and toxicodynamics of pollutants among species ([Clarkson and Magos, 2006](#), [Gajdosechova et al., 2016](#)). Based on different mammalian thresholds for Hg-induced neurotoxicity, worldwide cetacean species would be alarmingly exposed to Hg concentrations that could be leading to serious and deleterious neurotoxic effects. The grand mean from all the studies considered in our review exceeds the thresholds for neurochemical disruptions (< 0.4 mg/kg ww) and is slightly under the threshold for neuropathological signs (> 4 mg/kg ww). Something similar occurred in our samples, where we observed more individuals whose Hg brain concentrations exceeded the highest toxicity threshold (> 10 mg/kg ww, *n* = 9) than individuals under the proposed threshold for neurochemical disruption (*n* = 8). On the other hand, although pinnipeds do not reach Hg brain concentrations of the same magnitude (range of means/medians 0.15-0.52), they still would be virtually exposed to Hg concentrations in brain which would still cause some alterations at lower levels.





**Figure 2.** Reported mean values (X axis; Hg, mg/kg ww) of Hg in brain tissue from different marine mammals' species and other sea related species. Vertical discontinuous lines represent different Hg-induced neurotoxicity thresholds. References can be found at López-Berenguer et al. (2020a).

Several works have found a positive correlation between Hg brain concentrations and age in marine mammals. We used the larger sample set for striped dolphin to evaluate the relationship between the detected Hg tissue concentrations length, used as a proxy for age. In agreement with the literature, we found a positive and significant correlation between Hg concentrations in both, brain ( $\rho = 0.80$ ,  $p < 0.001$ ) and liver ( $\rho = 0.89$ ,  $p < 0.001$ ). Contrarily, sex did not show any influence on Hg concentration in brain ( $U = 0.35$ ;  $p = 0.90$ ) or in liver ( $U = 0.27$ ;  $p = 0.36$ ).

Marine mammals are expected to have developed some homeostatic mechanisms that permit them to face the consequences of being extremely exposed to Hg (Ikemoto et al., 2004; Scheuhammer et al., 2008). Unlike fishes and marine invertebrates, which accumulate most Hg as MeHg



(Bloom, 1992), marine mammals' tissues accumulate different fractions of MeHg in relation to total Hg according to the organ, the species, the age, *etc*. As inorganic Hg is unable to cross the BBB (Bellante *et al.*, 2017), its presence in brain of marine mammals, which also ingest Hg mainly as MeHg, suggests the existence of a detoxification mechanism based on the demethylation of organic mercury. Cetaceans (median MeHg brain fraction 18.9 %) seem to be more efficient than carnivores, including pinnipeds and polar bears (median 75.5 % and 82.8 % respectively). Nevertheless, it should be noted that although polar bears accumulate the highest fractions of MeHg, their brain Hg burden is about one of two orders of magnitude lower than those presented by pinnipeds and cetaceans respectively (Krey *et al.*, 2012; 2015), which might reflect another strategy to cope with Hg induced neurotoxicity. On the other hand, Se sequestration of Hg is another known protective mechanism. Despite such mechanisms is thought to occur mainly in liver, some authors have reported Se and Hg correlations in brain of marine mammals (Bellante *et al.*, 2017; Martínez-López *et al.*, 2019a, b; Ostertag *et al.*, 2013). On striped dolphins' brains and livers analyzed for this study, the correlations between Hg and Se were respectively  $\rho = 0.71$  ( $p < 0.001$ ) and  $\rho = 0.93$  ( $p < 0.001$ ), which would be in agreement with these previous reports. Se:Hg molar ratio is usually considered as a useful tool in order to assess whether Hg tissue levels from humans or other animal species can be triggering some toxic effect in their organism or can result dangerous in their consumption. Both in our data and in the literature, Se:Hg molar ratio in brain was greater than 1, which virtually implies that these species are protected in some manner against neurotoxic effects. We also calculated this molar ratio for liver, which also showed values higher than 1 for all species.

To our knowledge, this is the first review at global scale on brain Hg concentrations and Hg-induced neurotoxic effects in marine mammals. Considering Hg high concentrations in brain, it is a potential threaten, especially for cetacean species. This situation seems to be particularly serious in highly polluted area like the Mediterranean Sea, where we have reported the maximum brain Hg concentration to date. It is risky to set any conclusion about whether Hg-induced neurotoxicity is really affecting marine mammals' health at individual or population level due to the limited knowledge about the topic and the vast variety of species included in each marine mammals' group. Apparently, each taxonomic group has developed different strategies to deal with mercury toxicity, which could have led to those species accumulating higher Hg concentrations to develop more efficient protective measures against Hg-induced neurotoxicity.



Chapter 2 – Persistent, fat-soluble and biomagnifiable organic compounds in cetaceans stranded in SE Spain between 2011 and 2018: organochlorine pesticides, PCBs, PBDEs

Persistent organic pollutants (POPs) include a number of different chemicals which have in common their ubiquity and persistence in the environment and their ability to threaten the health of the living beings. In this chapter, we studied blubber concentration of various lipophilic POPs, including various organochlorine pesticides (OCPs), and several congeners of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in cetaceans stranded in the northern coast of the gulf of Vera (Region of Murcia, SE Spain) between 2011 and 2018.

Table 3 summarizes concentrations of major groups of pollutants considered in this chapter. Despite the worldwide reduction or prohibition on manufacture and usage of most chemicals considered in this work, their concentrations in cetacean tissues still reach the mg/kg level in many cases. Only some pesticides like endosulfan stereoisomers or endrin were never detected. Quantitatively, those chemicals reaching the highest levels in blubber were DDTs, PCBs and methoxychlor, ranking in different positions according to the species. Mean  $\Sigma$ PCBs in our study species ranged between  $6,490 \pm 9,549$  ng/g l.w. (striped dolphin) and  $956$  ng/g l.w. (Cuvier's beaked whale), while mean  $\Sigma$ DDTs ranged between  $4,752 \pm 7,415$  ng/g l.w. (striped dolphin) and  $729$  ng/g l.w. (Risso's dolphin). Although DDT concentrations from striped dolphins stranded in the French coast during the same period were of the same magnitude to ours, PCB concentrations were 4-fold higher in the other work (Dron *et al.*, 2022). On the other hand, despite agriculture is the main economic activity in the coastline of the study area, according to the  $\Sigma$ DDTs/ $\Sigma$ PCBs ratio (striped dolphin mean  $0.88 \pm 0.51$ ) industry would have a slightly higher influence in the pollution burden of our study species than agriculture, although much less quantitatively important in comparison to those striped dolphin populations considered by Dron *et al.* (2022).

**Table 3.** Organochlorine pesticides (OCPs), *p,p'*-dichlorodiphenyltrichloroethane and its metabolites (DDTs), polychlorinated biphenyl ethers (PCBs), and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) concentrations in blubber of cetaceans stranded in the Mediterranean coast of SE Spain between 2011 and 2018. Results are expressed in ng/g lipid weight (lw).

Species	Striped dolphin	Bottlenose dolphin	Common dolphin	Long-fined pilot whale	Risso's dolphin	Cuvier's beaked whale	Sperm whale
<i>n</i>	34	8	3	3	1	1	2
$\Sigma$ OCPs	$5973 \pm 8253$ 4405 (338-40571)	$3691 \pm 2786$ 2428 (1084-8513)	$4520 \pm 3955$ 2993 (1557-9012)	$2917 \pm 2428$ 3572 (229-4950)	1114	3493	$4514 \pm 1968$ 4514 (3122-5906)
$\Sigma$ DDTs	$4752 \pm 7415$ 2516 (256-39375)	$2266 \pm 1739$ 1947 (332-5730)	$2161 \pm 694$ 2434 (1372-2678)	$841 \pm 871$ 504 (189-1830)	729	956	$1715 \pm 157$ 1715 (1604-1826)
$\Sigma$ PCBs	$6490 \pm 9549$ 3589 (273-49810)	$6106 \pm 5610$ 3807 (2089-19109)	$3860 \pm 3536$ 2015 (1627-7937)	$1059 \pm 1023$ 576 (367-2235)	1017	956	$1401 \pm 78.4$ 1401 (1346-1457)
$\Sigma$ PBDEs	$73.0 \pm 103$ 27.6 (1.34-480)	$53.3 \pm 42.0$ 36.2 (18.6-127)	$24.8 \pm 25.3$ 10.8 (9.52-53-95)	$48.5 \pm 56.4$ 16.3 (15.5-114)	11.8	15.3	$25.6 \pm 11.7$ 25.6 (17.3-33.9)



On the contrary, PBDEs showed concentrations of lower magnitude than DDTs and PCBs. mean  $\Sigma$ PBDEs ranged between 73.0 ng/g l.w. (striped dolphin) and 11.8 ng/g l.w. (Risso's dolphin). In contrast to DDTs and PCBs, PBDEs became a matter of concern more recently and they have been scarcely studied in Mediterranean odontocetes. The concentrations reported in our study are below the lower range of most of the concentrations reported in the last two decades in NW Mediterranean (Fossi *et al.*, 2013; Petterson *et al.*, 2004; Zaccaroni *et al.*, 2018), which could be partially explained by the scarce urbanization and industrialization of our study area.

The DDE/  $\Sigma$ DDTs ratio in blubber from different Mediterranean cetacean species had been decreasing in time since the 1980s as a consequence of DDT prohibition in the EU (Aguilar & Borrell, 2005). We found a consistent pattern in all species DDE >> DDD > DDT. Despite all species showed detectable concentrations of parent DDT, its composed less than 1 % of the  $\Sigma$ DDTs in all cases. DDE/  $\Sigma$ DDTs mean ratio was  $0.90 \pm 0.15$ , which would suggest that the studied populations have not been recently exposed to DDT for a long time. PCB and PBDE patterns for each species are graphically represented in Figures 3 & 4. Of the set of 18 PCB congeners studied on this work, CB-180 (range 77.0 – 14,129 ng/g l.w.), CB-138 (range <LoD – 13,117 ng/g l.w.) and CB-153 (range <LoD – 20,930 ng/g l.w.) were those detected at higher concentrations, whereas PCBs congeners n° 77, 81, 105, 114, 123 and 169 were below the detection limit for all the individuals studied. There were few variations among species. We found a direct relationship between the number of chlorine atoms within the PCB structure and its accumulation within blubber, following this scheme: PCB-7Cl >= PCB-6Cl >> PCB-5Cl > PCB-4Cl > PCB-3Cl, in accordance with other reports in Mediterranean dolphins elsewhere (Romanic *et al.*, 2014; Storelli *et al.*, 2012). Higher persistence of those PCBs with more chlorine atoms is likely a possible explanation for this pattern. On the other hand, of the eight PBDE congeners considered in this work, only PBDE-183 was below the detection limit in all samples. Meanwhile, BDE-47 (mean contribution 49.5 %), BDE-100 (mean contribution 19.0 %), BDE-154 (mean contribution 13.7 %) and BDE 99 (mean contribution 10.1 %) were the dominant congeners. Despite this pattern remained constant among most of our study species, in this case some species (e.g., sperm whale, Cuvier's beaked whale) showed slight variations. Similar patterns among species would indicate either exposure to similar PBDEs sources and/or similar distribution and metabolization pathways among these species. Generally, wildlife accumulates higher concentrations of those PBDEs containing four (BDE-4Br) and five (BDE-5Br) bromine atoms and possessing physicochemical properties similar to other POPs. Our findings are partially in agreement with these previous observations as BDE-183 (BDE-7Br) and BDE-28 (BDE-3Br) were either never or rarely detected respectively. However, BDE-154 (BDE-6Br) was quantitatively the second congener contributing to the PBDE profile. Unlike PCBs, PBDEs



degrade to form lower halogenated congeners. Some of these metabolization pathways could also partially explain our results.

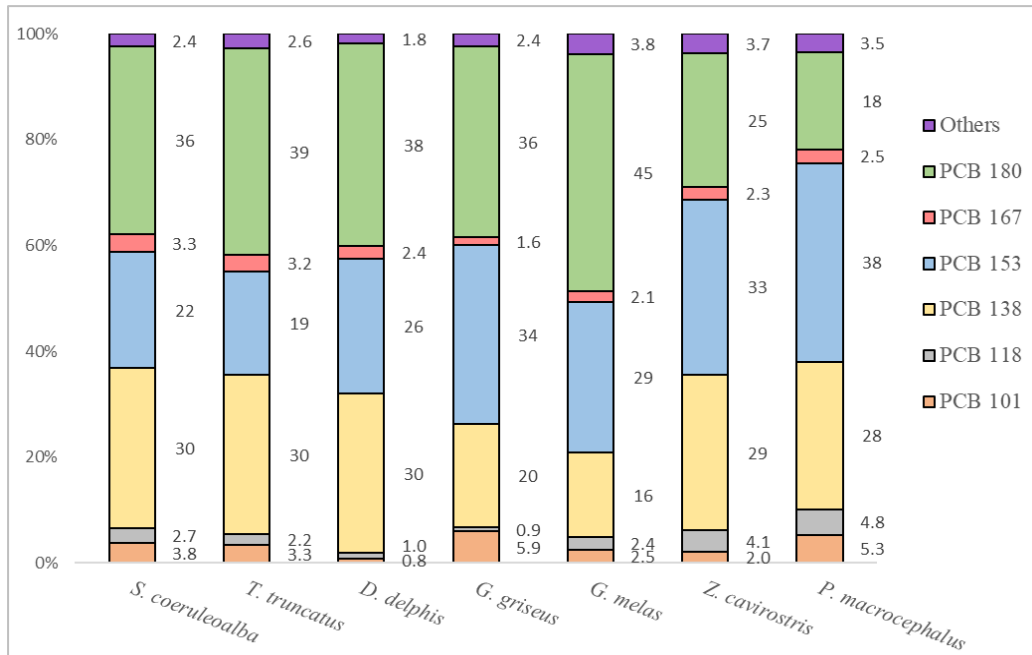


Figure 3. PCB pattern in cetacean species from the Mediterranean Sea.

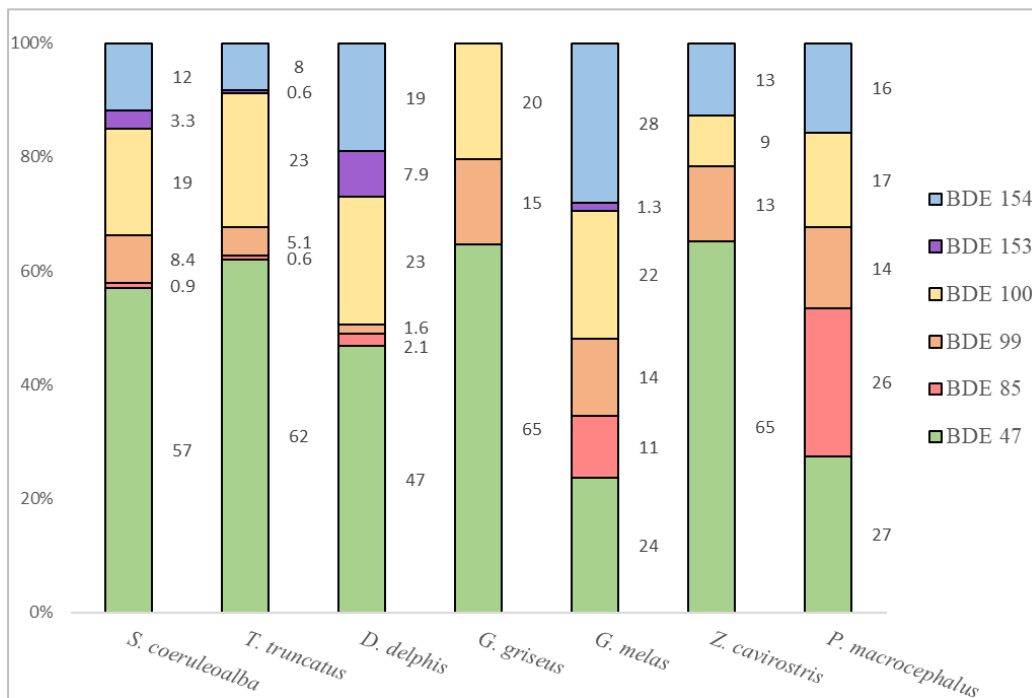


Figure 4. PBDE pattern in cetacean species from the Mediterranean Sea.

There were differences in concentrations and profiles between species which could be partially explained by differences on diet and feeding behavior. Striped dolphin was the species accounting for higher concentrations of most pollutants. Those species feeding opportunistically on epipelagic or shallow mesopelagic prey (*i.e.*, striped, bottlenose and common dolphin) generally



accumulated higher POPs concentrations than those species feeding on mesopelagic or bathypelagic cephalopods (*i.e.*, Risso's dolphin, long-finned pilot whale, sperm whale, Cuvier's beaked whale). Exceptionally, sperm whale was the species accumulating the highest amounts of methoxychlor and heptachlor, with remarkable concentrations of DDTs as well. This could be linked to the allowance that its huge size for hunting larger and more contaminated prey in comparison with their counterparts. In accordance, Risso's dolphin, which is the smallest of the four diving species, showed the lowest concentrations for most POPs. On the other hand, while in those species feeding closer to the coast and/or in shallower waters PCBs were those chemicals detected at highest concentrations, in those species feeding deeper and further from the continental shelf methoxychlor was found at higher concentrations. PCBs pattern. We hypothesize that most of the reported interspecific differences are based on diet and habitat preferences. We also observed differences based on life history parameters suggesting maternal transfer for most POPs, in accordance with other works. Adult males of striped dolphin accumulated more  $\Sigma$ DDTs (mean 9,788 ng/g l.w.),  $\Sigma$ PCBs (mean 13,361 ng/g l.w.), and  $\Sigma$ PBDEs (mean 70.2 ng/g l.w.), than calves and subadults (mean  $\Sigma$ DDTs, 3,865 ng/g l.w.; mean  $\Sigma$ PCBs 4,340 ng/g l.w.; mean  $\Sigma$ PBDEs 57.2 ng/g l.w.), which on turn showed higher concentrations than adult females (mean  $\Sigma$ DDTs, 2,120 ng/g l.w.; mean  $\Sigma$ PCBs 2,206 ng/g l.w.; mean  $\Sigma$ PBDEs 29.8 ng/g l.w.). Whilst PCB pattern was similar among the three sex/age groups and especially between calves and subadults, it was possible to observe higher variability in PBDEs pattern. Adult males had higher proportions of BDE-47 (BDE-4Br) and much lower proportions – 10 times less – of BDE-154 (BDE-6Br) in comparison with adult females, while calves and subadults were in between these two. This could suggest that lower brominated PBDEs are more easily transferred to the offspring highly brominated PBDEs, causing a progressive accumulation of these formers in adult females along their reproductive life.

Despite showing lower concentrations than some previous works, PCB concentrations accounted for higher total TEQ than many studies. According to toxicity thresholds in the literature, we cannot guarantee the absence of health consequences on populations studied, especially for those caused by PCBs. Potential health risks for cetaceans chronically exposed to POPs include a number of toxic effects. Despite the fact that more than fifty years have passed since first organochlorine chemicals were reported in cetacean tissues, information on their effects on marine mammals' health, either on individuals or populations, remain extremely scarce. This fact is far more worrying when chemicals of more recent concern, like PBDEs, are considered. Although we have reported lower concentrations of PBDEs in comparison with other reports in others relatively close areas, and PCB and DDT concentrations are far below from those reported two or three decades ago, our results suggest that various endemic cetacean species inhabiting the NW Mediterranean might be undergoing health consequences from their exposure to



environmental pollutants. Despite the almost global ban on those compounds considered in our study, their persistence in cetacean tissues, their coexistence with other significant hazards, and the alarming status of several of the cetacean populations in the NW Mediterranean Sea, make it difficult to foresee a promising future for its conservation in this area. Moreover, the continuous development of new chemicals (*e.g.*, brominated flame retardants, halogenated norbornenes) in order to substitute those which become regulated leaves little hope for the elimination of chemical pollution as a risk for oceanic wildlife in the near and medium term.

*Chapter 3 – Persistent, fat-soluble and non-biomagnifiable pollutants in stranded cetaceans in SE Spain between 2011 and 2019: PAHs*

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are ubiquitous environmental pollutants derived from petroleum products and combustion of organic matter. Unlike other POPs, they are not bioaccumulated in the upper trophic of the food web; however, chronic exposures might still derive on serious toxic effects on both human and wildlife. In this work we study concentrations of 16 reference PAHs on blubber of various odontocete species through samples obtained from regular strandings in the Mediterranean waters of SE Spain.

**Table 4** summarizes concentrations of ΣPAHs in blubber reported in this chapter. Mean ΣPAHs in the study species showed values of the same magnitude (minimum, long finned pilot whale,  $63.6 \pm 49.3$ ; maximum, bottlenose dolphin,  $109 \pm 4.1$ ). To our knowledge, only two previous papers reporting PAHs in Mediterranean cetacean tissues have been previously published (Marsili *et al.*, 2001; 2014). While striped dolphin PAHs blubber concentrations reported in our study ( $100 \pm 59.0$  ng/g ww) could be considered in the lower range of worldwide concentrations, paradoxically, the only previous report for this species in the Mediterranean ( $36,205 \pm 41,107$  ng/g ww; Marsili *et al.*, 2001) is among the highest concentrations reported for any cetacean species on history. According to the authors, those concentrations observed in the 1990s could be influenced by the incident of the tanker *Have*, which spilled about 144,000 tons of crude oil in the Ligurian Sea in 1991. However, as PAHs are not bioaccumulated by cetaceans and PAHs pollution is strongly influenced by local sources, it is difficult to compare our results with those from other areas, even if they are relatively close.

**Table 4.** Polyaromatic aromatic hydrocarbons (PAHs) concentrations in blubber of cetaceans stranded in the Mediterranean coast of SE Spain between 2011 and 2018. Results are expressed in ng/g wet weight (ww).

Species	Striped dolphin	Bottlenose dolphin	Common dolphin	Long-finned pilot whale	Risso's dolphin	Cuvier's beaked whale	Sperm whale
<i>n</i>	34	8	3	3	1	1	2
ΣPAHs	$100 \pm 59.0$ 78.9 (39.1-231)	$109 \pm 44.1$ 113 (56.7-183)	$106 \pm 32.1$ 106 (74.6-139)	$63.6 \pm 49.3$ 35.4 (34.9-121)	142	81.3	69.9-104



Following PAHs distribution in the marine environment and ecosystem, species feeding closer to the coast and/or on low-trophic benthic/demersal organisms are expected to accumulate higher PAHs concentrations than more oceanic species feeding on higher trophic prey. In this study, Risso's dolphin accounted for the highest mean concentration ( $n = 1$ ;  $\Sigma$ PAHs = 142 ng/g ww), although this species accounted only for one sample and there were individual values from both striped and bottlenose dolphins which exceeded this value. In fact, the highest concentration came from a juvenile female striped dolphin, with a  $\Sigma$ PAHs concentration of 279 ng/g ww. Apart from Risso's dolphin, the other deep-diving teuthophagous species showed lower concentrations in comparison with the other group which feed on variable quantities of fish. Despite this group with the higher concentrations also feed on cephalopods, countless works have demonstrated that fish compose an important or even the major proportion of their diets in the western Mediterranean Sea (Blanco *et al.*, 2001; Cañadas & Hammond *et al.*, 2008; Gómez de Segura *et al.*, 2008). In consequence, according to their diet these results would not agree with the hypothesized lower PAHs uptake for these species which would result from the lower pollution in an important fraction of their prey. On the other hand, striped, bottlenose and common dolphin showed very similar mean concentrations despite the former feeds much further from the coast than the other two species, especially bottlenose dolphin, which is the most coastal species in our study area. Therefore, we did not find any relationship among PAHs concentrations and feeding ground. Despite diet usually lead to differences in pollution concentration, this factor might affect to a lesser extent to PAHs, as these compounds are not bioaccumulated for long periods. Their rapid metabolism and excretion in vertebrates might lead to a rapid turnover in their tissues which partially dissociate PAHs acquired while foraging from PAHs concentrations in their tissues. This might be also the reason underlying the absence of sex- or age-related differences of these compounds in marine mammals' tissues. (Gui *et al.*, 2018; Moon *et al.*, 2011). Our results are mostly in accordance with this fact, as we did not find significant correlation for length (Spearman correlation test,  $p > 0.05$ ) and we only detected significant differences between sexes for phenanthrene (Kruskal-Wallis  $H = 0.240$ ,  $p < 0.05$ ), which we likely attribute to a low sample size. We were also unable to find significant differences different stranding locations despite the existence notorious differences on pollutant sources along the coastline of the Region of Murcia.

We calculated PAHs profile as the percentage each individual PAH accounted in relation to  $\Sigma$ PAHs (Figure 5). Of the 16 PAHs analyzed, only six were detected: acenaphthene, anthracene, fluoranthene, fluorene, naphthalene, and phenanthrene. Naphthalene (94.1 - 100%) and phenanthrene (91.3 - 100%) were those compounds with higher detection rates in all species. On the contrary, fluorene (0 - 44.1%) and anthracene (8.7 - 14.7%) were those compounds with lower detection frequencies. In all species, while fluoranthene was the only 4-ring PAH detected, acenaphthylene was the only 3-ring that was not detected. Thus, the profile was essentially





composed by low molecular weight (LMW;  $\leq 3$  aromatic rings) PAHs, while high molecular weight (HMW;  $\geq 4$  aromatic rings) PAHs – uniquely represented by fluoranthene – only accounted for 2 - 5% of  $\Sigma$ PAHs.

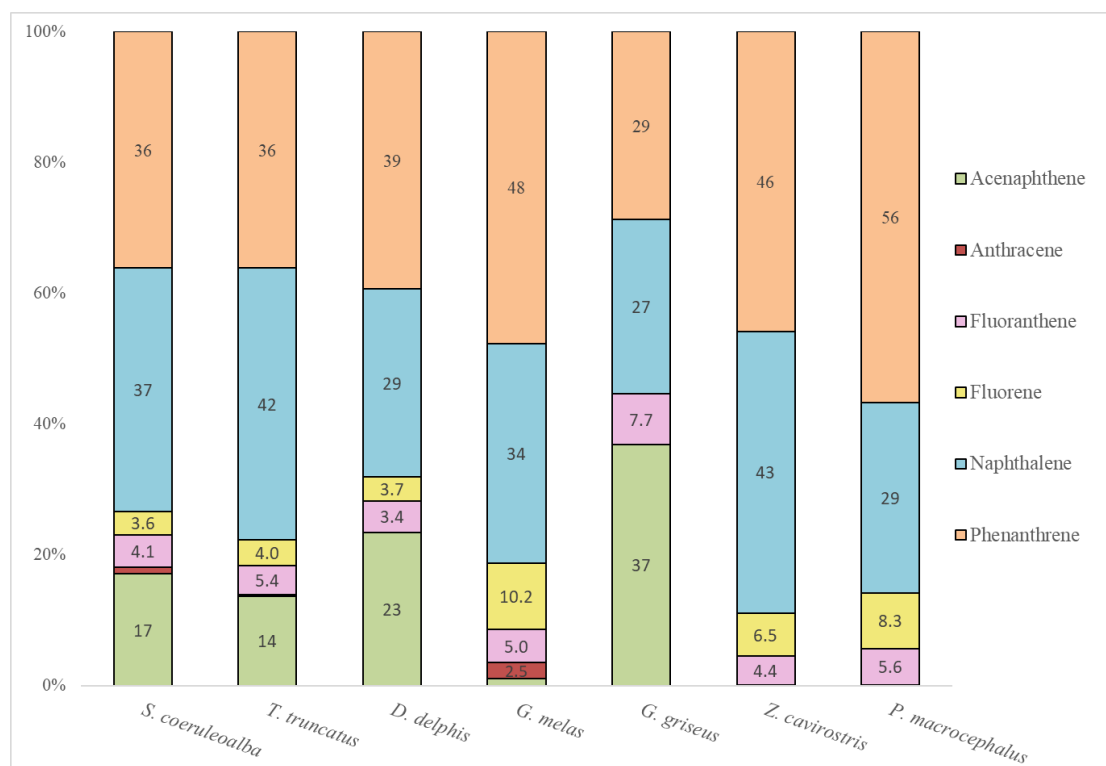


Figure 5. PAHs pattern in cetacean species from the Mediterranean Sea.

Predominance of LMW in tissues of marine mammals has been as well reported in other works (Marsili *et al.*, 2001; Moon *et al.*, 2011). In most species the pattern was invariably dominated by naphthalene and phenanthrene. Exceptionally, the Risso's dolphin individual showed higher fraction of acenaphthene (37%) than for phenanthrene (29%) and naphthalene (27%). However, similar abnormal patterns were sporadically observed in some individuals of the other species, so we cannot know if Risso's dolphin actually accumulate a different pattern of PAHs of it the observed results is attributable to the only sample available for this species. In contrast to LMW PAHs, HMW PAHs are poorly water-soluble and thus they compound a minor fraction of the total PAHs in the water column, where they appear essentially linked to the particulate phase. However, the proportion of HMW in the water column increased with depth and the sediments of the ocean floor constitute a major reservoir of HMW in the marine environment. In consequence, deep-diving cetaceans and cetaceans feeding on the ocean floor should be exposed to PAHs mixtures with major fraction HMW compounds in comparison to those that feed on surface waters. However, any HMW PAHs apart from fluoranthene was ever detected in any species, and the fluoranthene fraction (the only HMW PAHs detected in this work) scarcely varied among species (range of means 3.4-7.7 %) and did not show any positive correlation with the diving



behavior of our study species. According to the observed PAHs patterns in this work, the PAHs pollution affecting our study species have eminently a petrogenic origin.

In our work we did not detect benzo[a]pyrene nor other carcinogenic HMW PAHs, which would suggest a lower risk of these effects in our study species. However, despite its carcinogenic potential is considered to be lower in comparison to the aforementioned, naphthalene, which composed the major fraction of the  $\Sigma$ PAHs, is classified as ‘possible carcinogenic for animals’ (group 2B) by the IARC and it has proved to induce cancer in the upper and lower respiratory tracts of rodents in laboratory studies (NTP, 1992; 2000). Moreover, we have no information whether other non-carcinogenic toxicological effects could be occurring in our study population as a consequence of the observed PAHs concentrations. Although the concentrations of PAHs found in the blubber samples in this study are relatively low compared to those of previous works, the potential impact of PAHs on these species still needs caution.

Unlike other pollutant classes (*i.e.*, PCBs, DDTs, PBDEs), few measures have been taken against PAHs pollution, probably due to the difficulty to face their sources. Although PAHs generally appear at lower concentrations than many other lipophilic pollutants, they still have potential negative effects in the biota. Total PAHs concentrations in blubber of cetaceans were at a relative low level in comparison to other works and LMW PAHs predominated over more carcinogenic HMW PAHs, which were not detected in any sample with the exception of fluoranthene. However, information about the toxic effects exerted by the detected LMW PAHs is scarce so we might not dismiss other effects derived from chronic exposures to this set of PAHs. Moreover, considering the short half-lives of PAHs within the organism, we cannot ensure that our study species have not been exposed to carcinogenic HMW PAHs.

#### Chapter 4 – Persistent, non-fat-soluble and biomagnifiable organic compounds in stranded cetaceans in SE Spain between 2009 and 2018: PFASs

Perfluoroalkyl substances (PFASs) are a class of organohalogenated compounds of environmental concern due to similar characteristics as other well-studied legacy and lipophilic persistent organic pollutants (POPs) that typically show environmental persistence, biomagnification, and toxicity. Nevertheless, PFAS are still poorly regulated internationally and, in many aspects, poorly understood as well. In this chapter we study muscle and liver PFASs concentrations in five cetacean species stranded at the southeastern coast of Spain during 2009-2018.

Table 5 summarizes concentrations of most relevant PFASs and  $\Sigma$ PFASs in our study species. Hepatic concentrations were significantly higher than those in muscle reflecting the particular toxicokinetics of these compounds (Boisvert *et al.*, 2019; Gui *et al.*, 2019). Bottlenose dolphins



showed the highest hepatic  $\Sigma$ PFAS ( $n = 5$ ;  $796.8 \pm 709.0$  ng/g ww) concentrations, followed by striped dolphin ( $n = 29$ ;  $260 \pm 136$  ng/g ww), sperm whale ( $n = 1$ ;  $253$  ng/g ww), common dolphin ( $n = 2$ ;  $240 \pm 219$  ng/g ww) and Risso's dolphin ( $n = 1$ ;  $78.7$  ng g<sup>-1</sup> ww). Muscle concentrations were about 15-20 times lower and followed a similar pattern than liver among species except that short-beaked common dolphin showed the second highest concentrations. Those species from which more than one sample was available showed a great variation in concentrations within each tissue.

We studied correlations between different PFASs in striped dolphins because of the higher number of available samples. Of the PFAS analyzed, PFOS ( $r = 0.55$ ;  $p = 0.018$ ), PFDS ( $r = 0.48$ ;  $p = 0.046$ ), PFOSA ( $r = 0.90$ ;  $p < 0.001$ ), PFOA ( $r = 0.68$ ;  $p = 0.002$ ), PFNA ( $r = 0.63$ ;  $p = 0.005$ ), PFUnA ( $r = 0.50$ ;  $p = 0.036$ ), and PFDoA ( $r = 0.49$ ;  $p = 0.038$ ) were positively correlated between liver and muscle. The ratio [liver concentration]:[muscle concentration] was extremely variable depending on the specific compound (in striped dolphin, 0.73 for PFDS and 61.7 for PFTrA). However, when we globally considered  $\Sigma$ PFAS ratio in liver and muscle, this value was relatively similar among species (range 16-21), suggesting that estimation of the general PFAS burden in one another is possible. For liver, most PFASs showed several significant correlations among each other. PFOSA, the only neutral compound considered in this chapter, generally correlated with fewer compounds than either PFOS or long-chained PFCAs in both tissues. Muscle showed a similar pattern, though fewer significant correlations could be observed, possibly due to the higher number of non-detects.

**Table 5.** Sum of perfluoroalkyl substances ( $\Sigma$ PFAS) and more relevant PFASs concentrations in liver and muscle of cetaceans stranded in the Mediterranean coast of SE Spain between 2009 and 2018. Results are expressed in ng/g wet weight (ww) as mean  $\pm$  standard deviation (up) and median and range (down).

	Striped dolphin	Bottlenose dolphin	Common dolphin	Risso's dolphin	Sperm whale
<i>Liver; n</i>	29	5	2	1	1
PFOS	118 $\pm$ 59.4 118 (1.2-246)	237 $\pm$ 185 211 (1.3-515)	90.1 $\pm$ 72.0 90.1 (39.2-141)	33.3	98.2
PFOA	1.54 $\pm$ 1.85 0.90 (<LoD-9.1)	3.87 $\pm$ 4.14 4.09 (<LoD-10.0)	0.49 $\pm$ 0.28 0.49 (0.29-0.69)	0.81	1.95
PFOSA	34.0 $\pm$ 34.8 21.0 (3.1-121)	119 $\pm$ 115 97.3 (2.9-311)	59.5 $\pm$ 45.3 59.5 (25.7-91.5)	12.1	1.52
$\Sigma$ PFAS	259 $\pm$ 136 270 (8.6-523)	797 $\pm$ 709 690 (5.7-1922)	240 $\pm$ 219 240 (85.7-395)	78.7	252.8
<i>Muscle; n</i>	18	4	2	1	1
PFOS	14.9 $\pm$ 10.7 13.1 (3.8-38.5)	27.1 $\pm$ 11.4 26.5 (10.6-44.8)	11.4 $\pm$ 12.4 11.4 (2.7-20.2)	2.7	8.5
PFOA	0.35 $\pm$ 0.37 0.27 (0.04-1.5)	0.63 $\pm$ 0.54 0.66 (0.10-1.1)	0.19 $\pm$ 0.14 0.19 (0.09-0.29)	0.17	0.28
PFOSA	3.40 $\pm$ 4.08 1.9 (<LoD-15.2)	15.4 $\pm$ 9.71 14.6 (6.4-25.8)	9.93 $\pm$ 10.8 9.9 (2.3-17.6)	2.1	<LoD
$\Sigma$ PFAS	26.0 $\pm$ 18.5 20.7 (4.8-75.3)	68.4 $\pm$ 50.0 67.8 (22.9-119)	26.8 $\pm$ 29.8 26.8 (5.7-47.8)	6.7	18.9



Although PFOS production was phased out almost two decades ago, it still represents the major fraction of the PFAS profile in our studied species. The PFASs profile in both liver and muscle of the five studied cetacean species was generally composed of the same five dominant PFASs: PFOS>PFOSA>PFNA≈PFFUnA>PFDA (Figure 6). A similar pattern has been previously described in the literature for other cetacean species (Galatius *et al.*, 2013). Twelve of the fifteen targeted compounds were detected in >50 % of the liver samples. PFBS, PFHxA and PFHpA were not detected in any sample of any of both tissues. PFDS in liver, and PFHxS and PFTeA in muscle, were also detected in less than 50% of the samples. The rest of short-chained PFASs (PFHxS and PFHpS; C<sub>6-7</sub>) and PFOA (C<sub>8</sub>), as well as the long-chained PFCA PFTeA (C<sub>14</sub>), were all detected at least one order of magnitude lower than C<sub>9</sub>-C<sub>13</sub> PFCAs and PFOS (C<sub>8</sub>). Our observations support higher bioaccumulation of PFSAs compared to PFCAs for an equal carbon chain length PFCAs (Ahrens *et al.*, 2009; Martin *et al.*, 2003), as PFSAs were already detected at a chain length of C<sub>6</sub>, while PFCAs were only detected from a chain length of C<sub>8</sub>. As other works (Bossi *et al.*, 2015; Dassuncao *et al.*, 2017), all species showed a clear pattern with higher concentrations of the odd-chained PFCAs than both the next and the previous even-chained PFCA, which would support the hypothesis of the atmospheric fluorotelomer alcohol (FTOH) degradation as a relevant source for PFCAs in the environment (Ellis *et al.*, 2004).

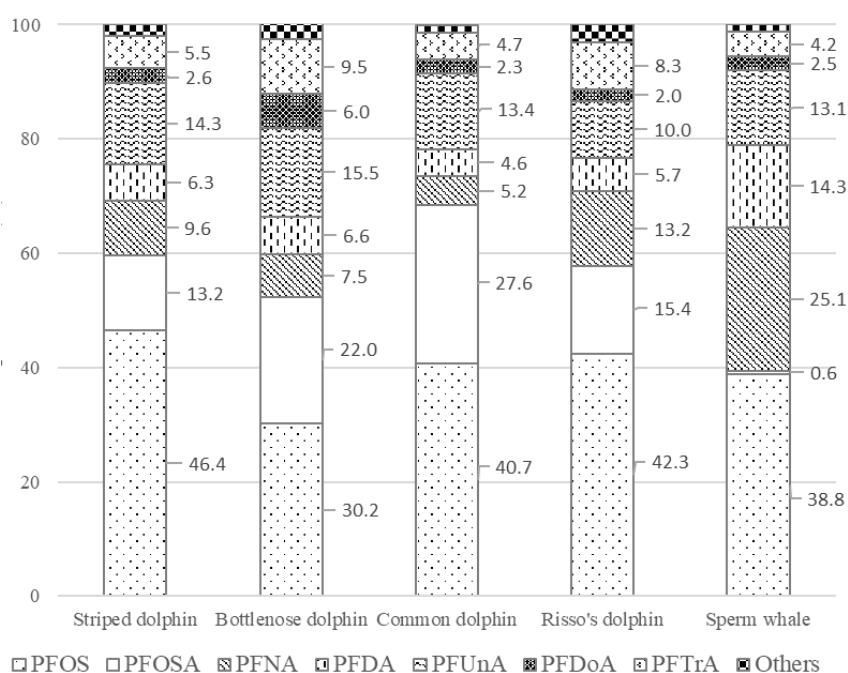


Figure 6. PFASs pattern in liver in cetacean species from the Mediterranean Sea.

Based on the strongly differentiated feeding behaviors and habitat preferences of our studied species we expected these to be reflected by stable N and C isotope values, as well as in the PFAS concentrations. However, we did not find significant differences among species (Kruskal-Wallis test;  $\delta^{15}\text{N}$ , rho = 0.80;  $\delta^{13}\text{C}$ , rho = 0.13). We attribute the extremely low number of samples for



most species to the fact that we did not find differences between them and striped dolphins in the stable isotope analysis. As major PFASs pollution sources come from the inland, the coast of Spain in the Mediterranean Sea has shown to be more polluted than the open ocean waters, as well as the surface waters compared to the deep waters (Brumovský *et al.*, 2016). Thus, it would be expected species breeding and feeding closer to the shore and the surface to have higher PFAS burdens than those feeding offshore and in deeper waters. Our results would partially support this hypothesis, as bottlenose dolphins, the most coastal species, was the one showing the highest PFASs concentrations, while Risso's dolphin, a deep-diving oceanic species, accounted for the lowest concentrations. However, the pattern was not completely in accordance with the hypothesis as sperm whale showed PFASs levels similar to common and striped dolphins, which were three times higher than those of Risso's dolphin. Nevertheless, the significantly bigger size of this species and its allowance for catching bigger prey could mask the pollution increasing gradient towards the coast.

The higher number of samples available for striped dolphin allowed for evaluating their PFAS burden and profile in relation to the stable isotope values and biological variables including sex and length. However, we could only find links between  $\delta^{13}\text{C}$  with hepatic PFHxS,  $\delta^{15}\text{N}$  and hepatic PFNA, and between  $\delta^{15}\text{N}$  and muscle PFOS, PFOA, PFNA, PFDA and  $\Sigma\text{PFAS}$ . No clear link could be established between length/age or sex and PFASs concentrations in either liver or muscle of striped dolphin. We attribute the lack of correlation between PFASs and length to relative low variation in striped dolphin lengths (mean  $175 \pm 36$  cm), and the lack of correlation with sex to the scarce number of mature females ( $n = 4$ ).

To date, this is the second study of PFAS in cetaceans from the Mediterranean sea. We reported PFOS values 3- to 5-fold higher compared to the last report for this area three decades ago (Kannan *et al.*, 2002), although still within the range reported for other cetacean species worldwide. Despite its phase-out in the European Union fifteen years ago, PFOS is still, together with PFOSA, the dominant compounds in the PFAS profile, although significant proportions of PFNA, PFDA and PFUnA are present as well. These findings seem to be a reflection of a slow turnover of PFOS and other PFASs in the semi-enclosed Mediterranean Sea leading cetacean tissues to reveal historical releases. The slow response of environmental PFOS concentrations to its phase-out allow little hope for a different situation regarding other highly bioaccumulative PFASs (e.g.,  $\geq 8$  PFCAs) of later regulation, whose decrease may lag decades. Despite our results are below tentative estimations for toxicity in cetaceans, some of the PFAS burdens found in the present study can be considered high. We cannot dismiss hepatic toxic effects in our study species, as well as other organic systems, caused by PFASs themselves or by their potential synergies with other pollutants or environmental stressors.



## General discussion and conclusions

The survival of the cetacean populations transcends the – necessary – conservationist interest associated with any species or taxonomic groups. Cetaceans have a key ecological role in ecosystems, so the health of their populations is closely linked to the health of marine ecosystems on which human populations, especially those settled in coastal environments, rely. Despite its limitations, the work carried out in this thesis offers valuable information on the pollution to which cetaceans inhabiting or using the waters of the Region of Murcia have been exposed over the last decade. This information allows to fill in the existing gap around this region of the Spanish Mediterranean coast, which in many cases has been unfairly overlooked in favor of other adjacent regions. The high abundance and diversity of cetacean fauna in the waters of southeastern Spain and the Region of Murcia in particular, together with the importance of this area for the conservation and reproduction of several species of cetaceans, make it necessary to carry out further research on these species.

The information obtained in this work should ideally be focused on laying the basis for a more in-depth study of the pollution exposure and effects of the cetaceans from the SE Spain. However, despite its limitations, the results we provide have an intrinsic value beyond being a starting point for the future. Each chapter includes specific conclusions derived from the results. The following are a series of conclusions drawn from the combined handling of all the information obtained in this work:

- Despite the difficulty of their study, cetaceans are good indicators of the state of pollution in the seas, since their differential characteristics provide valuable information on the pollution of the marine environment they inhabit.
- A significant part of the pollutants studied and detected in this work have been partially or completely banned at regional and international level, some of them for several decades. However, the reported concentrations suggest that many of them are far from disappearing from the marine environment, from where they are incorporated not only to cetaceans and other marine fauna, but also to people, through the food resources extracted from the sea.
- Cetaceans living in or using the waters of the Mediterranean coast of southeastern Spain currently have excessively high concentrations of mercury and PFASs compared to other cetaceans in other regions, although the concentrations of fat-soluble organic compounds appear to be lower than those described in other Mediterranean locations.
- Those cetaceans with an opportunistic diet composed of different proportions of fish and cephalopods from shallow waters (- 200 m) accumulate higher levels of contaminants than exclusively teuthophagous species that hunt at greater depths, although we do not



know exactly which of these variables has the greatest influence and by what mechanisms.

- An improvement in the quantity and quality of the samples obtained by the stranding networks derived from a greater public investment would allow for a more in-depth study of the dynamics that could not be elucidated in this work due to the small sample size available.
- Although further research on exposure to environmental contaminants in cetaceans is still needed to understand their regional and temporal dynamics, research on the potential effects of contaminants on these species (*e.g.*, biomarkers, *in vitro* and *ex vivo* studies, *etc*) is of particular urgency to be able to interpret more rigorously the results obtained in the monitoring work, which would be beneficial for the conservation of these species.



## Reference list

- ACCOBAMS (2016). Cetaceans critical Habitats in ACCOBAMS [https://www.accobams.org/wp-content/uploads/2018/09/ACCOBAMS\\_CCH.pdf](https://www.accobams.org/wp-content/uploads/2018/09/ACCOBAMS_CCH.pdf). Consultado el 13 de junio de 2022.
- ACCOBAMS (2021a). Conserving whales, dolphins & Porpoises in the Mediterranean Sea, Black Sea and adjacent areas.: an ACCOBAMS status report 2021. 160 p. Obtenido en [https://accobams.org/wp-content/uploads/2022/03/ACCOBAMS\\_ConservingWDP\\_web\\_2022.pdf](https://accobams.org/wp-content/uploads/2022/03/ACCOBAMS_ConservingWDP_web_2022.pdf).
- ACCOBAMS, 2021b. Estimates of abundance and distribution of cetaceans, marine mega-fauna and marine litter in the Mediterranean Sea from 2018-2019 surveys. By Panigada S., Boisseau O., Cañadas A., Lambert C., Laran S., McLanaghan R., Moscrop A. - Ed. ACCOBAMS - ACCOBAMS Survey Initiative Project, Monaco, 177 p.
- Acosta-Dacal, A., Rial-Berriel, C., Díaz-Díaz, R., del Mar Bernal-Suárez, M., & Luzardo, O. P. (2021). Optimization and validation of a QuEChERS-based method for the simultaneous environmental monitoring of 218 pesticide residues in clay loam soil. *Science of the Total Environment*, 753, 142015. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142015>.
- Aguilar, A., Borrell, A. (1994). Abnormally high polychlorinated biphenyl levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) affected by the 1990e1992 Mediterranean epizootic. *Sci. Total Environ.* 154 (2e3), 237e247. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90091-4](https://doi.org/10.1016/0048-9697(94)90091-4).
- Aguilar, A., & Borrell, A. (2005). DDT and PCB reduction in the western Mediterranean from 1987 to 2002, as shown by levels in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*). *Marine environmental research*, 59(4), 391-404. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2004.06.004>.
- Ahrens, L., Siebert, U., Ebinghaus, R., 2009. Total body burden and tissue distribution of polyfluorinated compounds in harbor seals (*Phoca vitulina*) from the German Bight. *Mar. Pollut. Bull.* 58 (4), 520e525. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.11.030>.
- Bellante, A., D'Agostino, F., Traina, A., Piazzese, D., Milazzo, M. F., & Sprovieri, M. (2017). Hg and Se exposure in brain tissues of striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) and bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) from the Tyrrhenian and Adriatic Seas. *Ecotoxicology*, 26(2), 250-260. <https://doi.org/10.1007/s10646-017-1759-6>.
- Benoit, G. and Comeau, A. (2005) A Sustainable Future for the Mediterranean: the Blue Plan's Environment and Development Outlook, Earthscan. <https://doi.org/10.4324/9781849770323>.
- Blanco, C., Salomón, O., Raga, J.A., 2001. Diet of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in the western Mediterranean Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 81 (6), 1053e1058. <https://doi.org/10.1017/S0025315401005057>.
- Bloom, N. S. (1992). On the chemical form of mercury in edible fish and marine invertebrate tissue. *Canadian journal of fisheries and aquatic sciences*, 49(5), 1010-1017. <https://doi.org/10.1139/f92-113>.
- Boisvert, G., Sonne, C., Rigét, F.F., Dietz, R., Letcher, R.J., 2019. Bioaccumulation and biomagnification of perfluoroalkyl acids and precursors in East Greenland polar bears and their ringed seal prey. *Environ. Pollut.* 252, 1335e1343. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.035>.
- Bossi, R., Riget, F.F., Dietz, R., 2005a. Temporal and spatial trends of perfluorinated compounds in ringed seal (*Phoca hispida*) from Greenland. *Environ. Sci. Technol.* 39 (19), 7416e7422. <https://doi.org/10.1021/es0508469>.





- Bossi, R., Dam, M., Rigét, F.F., 2015. Perfluorinated alkyl substances (PFAS) in terrestrial environments in Greenland and Faroe Islands. *Chemosphere* 129, 164e169. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.11.044>.
- Brumovský, M., Karásková, P., Borghini, M., Nizzetto, L., 2016. Per-and polyfluoroalkyl substances in the western Mediterranean Sea waters. *Chemosphere* 159, 308e316. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.06.015>.
- Calzada, N., Aguilar, A., Sørensen, T.B., Lockyer, C., 1996. Reproductive biology of female striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean. *J. Zool.* 240 (3), 581e591. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1996.tb05308.x>.
- Cañadas, A., & Hammond, P. S. (2008). Abundance and habitat preferences of the short-beaked common dolphin *Delphinus delphis* in the southwestern Mediterranean: implications for conservation. *Endangered species research*, 4(3), 309-331. <https://doi.org/10.3354/esr00073>.
- Clancy, B., Finlay, B. L., Darlington, R. B., & Anand, K. J. S. (2007). Extrapolating brain development from experimental species to humans. *Neurotoxicology*, 28(5), 931-937. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2007.01.014>.
- Clarkson, T. W., & Magos, L. (2006). The toxicology of mercury and its chemical compounds. *Critical reviews in toxicology*, 36(8), 609-662. <https://doi.org/10.1080/10408440600845619>.
- Coll, M., Piroddi, C., Steenbeek, J., Kaschner, K., Ben Rais Lasram, F., Aguzzi, J., ... & Voultsiadou, E. (2010). The biodiversity of the Mediterranean Sea: estimates, patterns, and threats. *PloS one*, 5(8), e11842. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011842>.
- Coll, M., Piroddi, C., Albouy, C., Ben Rais Lasram, F., Cheung, W.W., Christensen, V., *et al.*, 2012. The Mediterranean Sea under siege: spatial overlap between marine biodiversity, cumulative threats and marine reserves. *Global Ecol. Biogeogr.* 21 (4), 465e480. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00697.x>.
- d'Ortenzio, F., & d'Alcalà, M. (2009). On the trophic regimes of the Mediterranean Sea: a satellite analysis. *Biogeosciences*, 6(2), 139-148. <https://doi.org/10.5194/bg-6-139-2009>.
- Dassuncao, C., Hu, X. C., Zhang, X., Bossi, R., Dam, M., Mikkelsen, B., & Sunderland, E. M. (2017). Temporal shifts in poly-and perfluoroalkyl substances (PFASs) in North Atlantic pilot whales indicate large contribution of atmospheric precursors. *Environmental science & technology*, 51(8), 4512-4521. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00293>.
- Dietz, R., Letcher, R. J., Desforges, J. P., Eulaers, I., Sonne, C., Wilson, S., ... & Vikingsson, G. (2019). Current state of knowledge on biological effects from contaminants on arctic wildlife and fish. *Science of the Total Environment*, 696, 133792. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133792>.
- Dron, J., Wafo, E., Boissery, P., Dhermain, F., Bouchoucha, M., Chamaret, P., & Lafitte, D. (2022). Trends of banned pesticides and PCBs in different tissues of striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded in the Northwestern Mediterranean reflect changing contamination patterns. *Marine Pollution Bulletin*, 174, 113198. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113198>.
- Durante, C. A., Reis, B. M. M., Azevedo, A., Crespo, E. A., & Lailson-Brito, J. (2020). Trace elements in trophic webs from South Atlantic: the use of cetaceans as sentinels. *Marine Pollution Bulletin*, 150, 110674. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110674>.
- Ellis, D. A., Martin, J. W., De Silva, A. O., Mabury, S. A., Hurley, M. D., Sulbaek Andersen, M. P., & Wallington, T. J. (2004). Degradation of fluorotelomer alcohols: a likely atmospheric source of perfluorinated carboxylic acids. *Environmental science & technology*, 38(12), 3316-3321. <https://doi.org/10.1021/es049860w>.



- Forouzanfar, M. H., Afshin, A., Alexander, L. T., Anderson, H. R., Bhutta, Z. A., Biryukov, S., ... & Carrero, J. J. (2016). Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The Lancet*, 388(10053), 1659–1724. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31679-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31679-8).
- Fossi, M. C., Panti, C., Marsili, L., Maltese, S., Spinsanti, G., Casini, S., ... & Finoia, M. G. (2013). The Pelagos Sanctuary for Mediterranean marine mammals: Marine Protected Area (MPA) or marine polluted area? The case study of the striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*). *Marine pollution bulletin*, 70(1-2), 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.02.013>.
- Fuoco, R., Colombini, M. P., Ceccarini, A., & Abete, C. (1996). Polychlorobiphenyls in Antarctica. *Microchemical journal*, 54(4), 384–390. <https://doi.org/10.1006/mchj.1996.0115>.
- Gajdosechova, Z., Brownlow, A., Cottin, N. T., Fernandes, M., Read, F. L., Urgast, D. S., ... & Krupp, E. M. (2016). Possible link between Hg and Cd accumulation in the brain of long-finned pilot whales (*Globicephala melas*). *Science of The Total Environment*, 545, 407–413. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.12.082>.
- Galatius, A., Bossi, R., Sonne, C., Rigét, F. F., Kinze, C. C., Lockyer, C., ... & Dietz, R. (2013). PFAS profiles in three North Sea top predators: metabolic differences among species?. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(11), 8013–8020. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1633-x>.
- Gómez de Segura, A., Crespo, E. A., Pedraza, S. N., Hammond, P. S., & Raga, J. A. (2006). Abundance of small cetaceans in waters of the central Spanish Mediterranean. *Marine Biology*, 150(1), 149–160. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0334-0>.
- Gómez de Segura, A.G., Hammond, P.S., Raga, J.A., 2008. Influence of environmental factors on small cetacean distribution in the Spanish Mediterranean. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 88 (6), 1185e1192. <https://doi.org/10.1017/S0025315408000386>.
- Gui, D., Zhang, L., Zhan, F., Liu, W., Yu, X., Chen, L., Wu, Y., 2018. Levels and trends of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Indo-Pacific humpback dolphins from the Pearl River Estuary (2012–2017). *Mar. Pollut. Bull.* 131, 693–700. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.04.058>.
- Gui, D., Zhang, M., Zhang, T., Zhang, B., Lin, W., Sun, X., ... & Wu, Y. (2019). Bioaccumulation behavior and spatiotemporal trends of per-and polyfluoroalkyl substances in Indo-Pacific humpback dolphins from the Pearl River Estuary, China. *Science of The Total Environment*, 658, 1029–1038. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.278>.
- Ikemoto, T., Kunito, T., Tanaka, H., Baba, N., Miyazaki, N., & Tanabe, S. (2004). Detoxification mechanism of heavy metals in marine mammals and seabirds: interaction of selenium with mercury, silver, copper, zinc, and cadmium in liver. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(3), 402–413. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-3188-9>.
- Kannan, K., Corsolini, S., Falandysz, J., Oehme, G., Focardi, S., & Giesy, J. P. (2002). Perfluorooctanesulfonate and related fluorinated hydrocarbons in marine mammals, fishes, and birds from coasts of the Baltic and the Mediterranean Seas. *Environmental science & technology*, 36(15), 3210–3216. <https://doi.org/10.1021/es020519q>.
- Katsanevakis, S., Zenetos, A., Belchior, C., & Cardoso, A. C. (2013). Invading European Seas: assessing pathways of introduction of marine aliens. *Ocean & Coastal Management*, 76, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2013.02.024>.
- Krey, A., Kwan, M., & Chan, H. M. (2012). Mercury speciation in brain tissue of polar bears (*Ursus maritimus*) from the Canadian Arctic. *Environmental research*, 114, 24–30. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.01.006>.



- Krey, A., Ostertag, S. K., & Chan, H. M. (2015). Assessment of neurotoxic effects of mercury in beluga whales (*Delphinapterus leucas*), ringed seals (*Pusa hispida*), and polar bears (*Ursus maritimus*) from the Canadian Arctic. *Science of the Total Environment*, 509, 237-247. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.134>.
- Kuiken, T., & Hartmann, M. G. (1991, September). Draft standard protocol for the basic postmortem examination and tissue sampling of small cetaceans. In *Guidelines and rec. form. resulting from the 1st ECS workshop on cetacean pathology: dissection techniques and tissue sampling*, Leiden (Vol. 13, p. 14).
- Lejeusne, C., Chevaldonné, P., Pergent-Martini, C., Boudouresque, C. F., & Pérez, T. (2010). Climate change effects on a miniature ocean: the highly diverse, highly impacted Mediterranean Sea. *Trends in ecology & evolution*, 25(4), 250-260. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.10.009>.
- Loganathan, B. G., & Kannan, K. (1994). Global organochlorine contamination trends: an overview. *Ambio*, 187-191. <https://www.jstor.org/stable/4314197>.
- López-Berenguer, G., Peñalver, J., & Martínez-López, E. (2020a). A critical review about neurotoxic effects in marine mammals of mercury and other trace elements. *Chemosphere*, 246, 125688. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125688>.
- López-Berenguer, G., Bossi, R., Eulaers, I., Dietz, R., Peñalver, J., Schulz, R., ... & Martínez-López, E. (2020b). Stranded cetaceans warn of high perfluoroalkyl substance pollution in the western Mediterranean Sea. *Environmental Pollution*, 267, 115367. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115367>.
- López-Berenguer, G., Acosta-Dacal, A., Luzardo O.P., Peñalver, J., Martínez-López, E. (2022a). POPs concentrations in cetaceans stranded along the agricultural coastline of SE Spain show lower burdens of industrial pollutants in comparison to other Mediterranean cetaceans. Accepted, under publication process.
- López-Berenguer, G., Acosta-Dacal, A., Luzardo O.P., Peñalver, J., Martínez-López, E. (2022b). Assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Mediterranean top marine predators stranded in SE Spain. Under review in *Toxics after major revisions*. Marsili L, Caruso A, Fossi MC, Zanardelli M, Politi E, 2001. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in subcutaneous biopsies of Mediterranean cetaceans. *Chemosphere*. 44(2):147-54. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(00\)00206-x](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(00)00206-x).
- Marsili, L., D'Agostino, A., Bucalossi, D., Malatesta, T., & Fossi, M. C. (2004). Theoretical models to evaluate hazard due to organochlorine compounds (OCs) in Mediterranean striped dolphin (*Stenella coeruleoalba*). *Chemosphere*, 56(8), 791-801. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2004.03.014>.
- Martin, J. W., Mabury, S. A., Solomon, K. R., & Muir, D. C. (2003). Dietary accumulation of perfluorinated acids in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 22(1), 189-195. <https://doi.org/10.1002/etc5620220125>.
- Martínez-López, E., Romero, D., María-Mojica, P., Martínez, J. E., Calvo, J. F., & García-Fernández, A. J. (2009). Changes in blood pesticide levels in booted eagle (*Hieraaetus pennatus*) associated with agricultural land practices. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(1), 45-50. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.012>.
- Martínez-López, E., Peñalver, J., Escriña, A., Lara, L., Gens, M. J., Dolores, E. M., ... & García-Fernández, A. J. (2019a). Trace metals in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) stranded along the Murcia coastline, Mediterranean Sea, during the period 2009–2015. *Chemosphere*, 229, 580-588. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.214>.



- Martínez-López, E., Peñalver, J., Lara, L., & García-Fernández, A. J. (2019b). Hg and Se in organs of three cetacean species from the Murcia Coastline (Mediterranean Sea). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 103(4), 521-527. <https://doi.org/10.1007/s00128-019-02697-9>.
- Millot, C. (1985). Some features of the Algerian Current. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 90(C4), 7169-7176. <https://doi.org/10.1029/JC090iC04p07169>.
- Moon, H.B., An, Y.R., Park, K.J., Choi, S.G., Moon, D.Y., Choi, M., Choi, H.G., 2011. Occurrence and accumulation features of polycyclic aromatic hydrocarbons and synthetic musk compounds in finless porpoises (*Neophocaena phocaenoides*) from Korean coastal waters. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1963–1968. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.031>.
- NTP, 1992. National Toxicology Program (NTP), 1992 Toxicology and carcinogenesis studies of naphthalene (CAS No. 91-20-3) in B6C3F1 mice (inhalation studies). Technical report series, 410.
- NTP, 2000. National Toxicology Program (NTP), 2000. Toxicology and Carcinogenesis Study of Naphthalene in F344/N Rats (Inhalation Studies). Technical Report Series No. 500.
- Ostertag, S. K., Stern, G. A., Wang, F., Lemes, M., & Chan, H. M. (2013). Mercury distribution and speciation in different brain regions of beluga whales (*Delphinapterus leucas*). *Science of the total environment*, 456, 278-286. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.03.106>.
- Pace, D. S., Tizzi, R., & Mussi, B. (2015). Cetaceans value and conservation in the Mediterranean Sea. *Journal of Biodiversity & Endangered Species*, 2015. <http://dx.doi.org/10.4172/2332-2543.S1.004>.
- Pettersson, A., van Bavel, B., Engwall, M., & Jimenez, B. (2004). Polybrominated diphenylethers and methoxylated tetrabromodiphenylethers in cetaceans from the Mediterranean Sea. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 47(4), 542-550. <https://doi.org/10.1007/s00244-004-3200-4>.
- Romanić, S. H., Holcer, D., Lazar, B., Klinčić, D., Mackelworth, P., & Fortuna, C. M. (2014). Organochlorine contaminants in tissues of common bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* from the northeastern part of the Adriatic Sea. *Environmental toxicology and pharmacology*, 38(2), 469-479. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.07.017>.
- Scheuhammer, A. M., Basu, N., Burgess, N. M., Elliott, J. E., Campbell, G. D., Wayland, M., ...& Rodrigue, J. (2008). Relationships among mercury, selenium, and neurochemical parameters in common loons (*Gavi immer*) and bald eagles (*Haliaeetus leucocephalus*). *Ecotoxicology*, 17(2), 93-101. <https://doi.org/10.1007/s10646-007-0170-0>.
- SEC, 2000. Sociedad Española de Cetáceos. Protocolos de actuación para varamientos de animales marinos. Sección IV. Redes de asistencia a varamientos y Centros de Recuperación en las costas españolas. Dirección General de Conservación de la Naturaleza.
- Stegeman, J. J., Kloepper-Sams, P. J., & Farrington, J. W. (1986). Monooxygenase induction and chlorobiphenyls in the deep-sea fish *Coryphaenoides armatus*. *Science*, 231(4743), 1287-1289. <https://doi.org/10.1126/science.231.4743.1287>.
- Storelli, M. M., Barone, G., Giacomini-Stuffler, R., & Marcotrigiano, G. O. (2012). Contamination by polychlorinated biphenyls (PCBs) in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the Southeastern Mediterranean Sea. *Environmental monitoring and assessment*, 184(9), 5797-5805. <https://doi.org/10.1007/s10661-011-2382-2>.
- Tintore, J., La Violette, P. E., Blade, I., & Cruzado, A. (1988). A study of an intense density front in the eastern Alboran Sea: the Almería–Oran front. *Journal of Physical Oceanography*, 18(10), 1384-1397. [https://doi.org/10.1175/1520-0485\(1988\)018%3C1384:ASOAIID%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0485(1988)018%3C1384:ASOAIID%3E2.0.CO;2).



UICN, 2008. Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza. Estado actual de las especies marinas del mundo. [https://www.iucn.org/sites/dev/files/import/downloads/status\\_of\\_the\\_world\\_s\\_marine\\_species\\_factsheet\\_sp.pdf](https://www.iucn.org/sites/dev/files/import/downloads/status_of_the_world_s_marine_species_factsheet_sp.pdf)

Uitz, J., Stramski, D., Gentili, B., d'Ortenzio, F., & Claustre, H. (2012). Estimates of phytoplankton class-specific and total primary production in the Mediterranean Sea from satellite ocean color observations. *Global Biogeochemical Cycles*, 26(2). <https://doi.org/10.1029/2011GB004055>.

University of Barcelona (2002) Programa para la identificación de las áreas de especial interés para la conservación de cetáceos en el Mediterráneo español. Vol II. Sector Norte. Dirección General de Conservación de la Naturaleza, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.

Wang, H., Naghavi, M., Allen, C., Barber, R. M., Bhutta, Z. A., Carter, A., ... & Bell, M. L. (2016). Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *The lancet*, 388(10053), 1459-1544. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)31012-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)31012-1).

Wise Sr, J. P., Payne, R., Wise, S. S., LaCerte, C., Wise, J., Gianios Jr, C., ... & Kerr, I. (2009). A global assessment of chromium pollution using sperm whales (*Physeter macrocephalus*) as an indicator species. *Chemosphere*, 75(11), 1461-1467. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.044>.

Zaccaroni, A., Andreini, R., Franzellitti, S., Barceló, D., & Eljarrat, E. (2018). Halogenated flame retardants in stranded sperm whales (*Physeter macrocephalus*) from the Mediterranean Sea. *Science of the Total Environment*, 635, 892-900. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.147>.