



Estudio comparativo de metales pesados en  
*Squatina squatina*: influencia del tejido y la  
distribución geográfica

Geographical distribution influences the  
accumulation of metals in the liver and  
muscle of *Squatina squatina*

Tomàs Bañeras Bosch  
Máster en Biología Marina: Diversidad y  
Conservación  
Julio 2023

El **Dr. ANGEL JOSÉ GUTIÉRREZ FERNANDEZ**, Profesor Titular de la Universidad de La Laguna y **D. MICHAEL JAMES SEALEY**, Oficial Senior del Angel Shark Project, como Tutor Académico y Tutor Externo, respectivamente,

DECLARAN:

Que la memoria presentada por **D. TOMÀS BAÑERAS BOSCH** titulada “Estudio comparativo de metales pesados en *Squatina squatina*: influencia del tejido y la distribución geográfica”, ha sido realizada bajo su dirección y consideran que reúne todas las condiciones de calidad y rigor científico requeridas para optar a su presentación como Trabajo de Fin de Máster, en el Máster Oficial de Postgrado de Biología Marina: Biodiversidad y Conservación de la Universidad de La Laguna, curso académico 2022-2023.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firman el presente informe favorable en San Cristóbal de La Laguna a 06 de julio de 2023.

Firmado por GUTIERREZ FERNANDEZ  
ANGEL JOSE - \*\*\*1593\*\* el día  
07/07/2023 con un certificado  
emitido por AC FNMT Usuarios

Fdo. Dr. ANGEL JOSÉ GUTIÉRREZ FERNANDEZ

Fdo. D. MICHAEL JAMES SEALEY



## INDICE

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
1.1 <i>Squatina squatina</i>	1
1.2 Un nuevo horizonte para su conservación	3
1.3 Metales pesados y sus efectos	3
1.4 Objetivos del estudio	6
2. MATERIAL Y MÉTODOS	6
2.1 Área de estudio	7
2.2 Procedimiento analítico	8
2.3 Análisis estadístico	10
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	12
3.1 La presencia de metales pesados en los ejemplares de <i>S. squatina</i> procedentes de las Islas Canarias	12
3.2 La acumulación de algunos metales es diferencial en los tejidos estudiados	13
3.3 Efecto de la talla y el peso en la acumulación de metales en <i>S. squatina</i>	17
3.4 Acumulación de mercurio en <i>S. squatina</i>	21
3.5 <i>S. squatina</i> presenta diferencias geográficas en relación a la concentración de metales	22
3.6 Análisis multivariante de la presencia de metales en los tejidos de <i>S. squatina</i>	26
4. CONCLUSIONES	28
5. AGRADECIMIENTOS	29
6. BIBLIOGRAFIA	31

## RESUMEN

Las Islas Canarias son el mayor refugio conocido para el Angelote (*Squatina squatina*), especie considerada en Peligro Crítico de extinción por la UICN. Los angelotes habitan cerca de la costa y se aproximan a áreas someras en ciertas épocas, quedando expuestos a los efectos de la contaminación antrópica, como la acumulación de metales pesados. En este trabajo hemos analizado la concentración de veintiún metales y elementos traza en muestras de hígado y músculo de ejemplares muertos, 9 de las Islas Canarias y 5 del mar de Irlanda, por espectrometría de emisión óptica (ICP-OES), de absorción atómica de vapor frío (CV-AAS) y de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS). Los resultados obtenidos indican que el sexo no parece ser un factor influyente en la concentración de metales pesados en la población canaria. En cambio, la talla y el peso de los individuos se correlacionó negativamente con Hg, Mo, B y Cr en músculo, y positivamente con Co, Fe, V, Mn y Cr en hígado. Estas diferencias se han acentuado en un individuo prenatal. Los resultados nos indican que el desarrollo podría desempeñar un papel crucial en la bioacumulación y biomagnificación de metales en los órganos. En relación a la distribución geográfica, hemos podido constatar diferencias significativas entre las muestras de Canarias y de Irlanda en lo que se refiere a la concentración de Hg, Cd y Cr, siendo esta más alta en Canarias, y Zn y Mn más alta en el Mar de Irlanda, probablemente debidas a las diferencias de contaminación existente en las dos zonas.

Palabras clave: *Squatina squatina*, metales pesados, bioacumulación, músculo, hígado

## ABSTRACT

The Canary Islands have a stable population of Angel sharks (*Squatina squatina*), a species considered as critically endangered according to the IUCN. Angel sharks inhabit coastal and shallow areas, being exposed to the effects of anthropogenic pollution, such as the accumulation of heavy metals. In this study, we analysed the concentration of twenty-one metals and trace elements in liver and muscle samples from dead specimens, nine from the Canary Islands and five from the Irish Sea, using optical emission spectroscopy (ICP-OES), cold vapor atomic absorption spectroscopy (CV-AAS), and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The results did not show sex as an influential factor in the concentration of heavy metals in the Canarian population. However, the size and weight of individuals were negatively correlated with Hg, Mo, B, and Cr in muscle, and positively correlated with Co, Fe, V, Mn, and Cr in the liver. These differences were more pronounced in a prenatal individual. The results indicate that development may play a crucial role in the bioaccumulation and biomagnification of metals in organs. In terms of geographical distribution, we observed significant differences between the individuals from the Canary Islands and Ireland regarding the concentration of Hg, Cd, and Cr, which were higher in the Canary Islands, and Zn and Mn, which were higher in the Irish Sea, likely due to differences in pollution levels or sources between the two areas.

Key words: *Squatina squatina*, heavy metals, bioaccumulation, muscle, liver

## 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La palabra tiburón, o tiburones, suscita en la mayoría de la población sentimientos encontrados. Por una parte, muchos asociamos la presencia de estos animales en nuestras costas a un “peligro inminente” y a salir del agua rápidamente. Seguramente, este sentimiento se ha creado por influencia del elevado número de películas que han tratado a estos animales y por un enfoque generalmente alarmista por parte de los medios de comunicación. Para buena parte de la población, en cambio, los tiburones gozan de una prensa mucho más favorable, como animales que, de estar presentes en el ecosistema, son indicadores de buena salud ambiental y de cadenas tróficas complejas. Esta segunda apreciación se debe sin duda al trabajo constante de asociaciones conservacionistas y las contribuciones científicas en múltiples ámbitos. Las medidas de gestión para proteger los tiburones de una pesca incontrolada se han ido mejorando y adaptando a lo largo de los años (Fischer et al., 2012). En concreto, se ha conseguido que *Squatina squatina* (Linnaeus, 1758), la especie considerada en este trabajo de final de máster sea catalogada como especie en Peligro Crítico de Extinción por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) ([www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)). Y se protejan sus poblaciones a través de una serie de leyes tanto europeas, como nacionales y regionales. A pesar de las medidas de protección y conservación, estas especies no son ajenas a los efectos de la actividad antropogénica, como por ejemplo la acumulación de metales.

### 1.1 *Squatina squatina*

El angelote, *S. squatina*, es un elasmobranquio del grupo de los tiburones (Squatiniformes Squatinidae) con un total de 23 especies en su familia (Gordon, 2022), característico por su cuerpo aplanado dorsiventralmente y unas aletas pectorales anchas no fusionadas con la cabeza, mientras que las hendiduras branquiales están en la zona lateral, la boca en posición terminal con hileras de 18-24 dientes, una ausencia de aleta anal, dos aletas dorsales y una aleta caudal con el lóbulo ventral más largo que el lóbulo superior (Eschmeyer et al., 2017). Se caracteriza por ser un tiburón demersal en fondos blandos pudiendo habitar en toda la plataforma continental, desde los puntos más someros hasta los 200 m de profundidad. Aun así, suelen frecuentar los 10 y 15 m de profundidad en determinados momentos (Barker et al., 2016). *S. squatina* es un tiburón de tamaño moderado con una longitud media de 150-200cm, llegando a un máximo de 250 cm y un peso de 80 kg (Kühlmann, 1986; Barker et al., 2016). Posee una gran habilidad mimética

gracias a su coloración variada, desde colores griseos, rojizos, pardo verdoso a un color marrón-grisáceo en el dorso con pequeñas manchas de color negro (Kühlmann 1986; Wheeler et al., 1986; White et al., 2005). Aumentan su camuflaje a través de su capacidad para enterrarse en el sedimento gracias a sus aletas pectorales. Usa una estrategia de emboscada para poder alimentarse de manera oportunista de diferentes peces, cefalópodos o crustáceos que pasen por su alrededor y sorprenderlos (Fouts and Nelson, 1999; Narvaez, 2012) Esta técnica hace que apenas necesite mover su cuerpo para cazar, ya que es capaz de proyectar su cabeza a medio metro sobre el sustrato en menos de un segundo.

Squatinae, se ha identificado como la segunda familia de elasmobranchios más amenazada del mundo (Dulvy et al., 2014). *S. squatina* está catalogado como en Peligro Crítico según La Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN ([www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)), e incluida como en Peligro de Extinción en el catálogo nacional de especies amenazadas (BOE-A-2019-8317 del 5 de junio de 2019). Convirtiéndola así en una especie altamente susceptible a los impactos antropogénicos y a la degradación de su hábitat (Barker et al., 2016; Meyers et al., 2017; Jiménez-Alvarado et al., 2020; Ellis et al., 2021)

En el pasado la especie *S. squatina* se encontraba ampliamente extendida por todo el litoral y la plataforma continental exterior del Océano Atlántico Noroeste (desde Noruega hasta el Sahara Occidental), Canarias, Mar Mediterráneo y Mar Negro. Pero en la actualidad, se puede constatar que sus poblaciones han disminuido al menos en un 80%, probablemente debido a efectos antropogénicos (Lawson et al., 2020). Aun así su presencia es esporádica en la mayoría de su área de distribución con poblaciones reducidas y geográficamente limitadas (White et al., 2005; Last and White 2008; Stelbrink et al., 2010), siendo el Archipiélago Canario el único lugar de su distribución original en el que se observa esta especie de manera regular.

Se caracteriza por ser una especie de hábito nocturno, siendo en este momento cuando presenta una mayor actividad, en fondos blandos o sebadales (Meyers et al., 2017). Parece ser que la distribución de los ejemplares es mucho mayor en las islas orientales del archipiélago (Lanzarote, Fuerteventura y Gran Canaria) (Meyers et al., 2017). Por otra parte, Tenerife es la isla con mayor número de recién nacidos registrados y en la cual se ha confirmado un área de cría, la playa de las Teresitas, además de 13 áreas de cría

potenciales y 21 playas con presencia de juveniles anualmente (Jiménez-Alvarado et al., 2020).

## 1.2 Un nuevo horizonte para su conservación

El Angelote es una de las especies de elasmobranquios más observadas por los buceadores recreativos en Canarias, siendo además de una especie en peligro de extinción, un reclamo para el turismo de buceo y una insignia de la fauna de las islas (Meyers et al., 2017). La monitorización y estudio de esta especie es esencial para preservar sus poblaciones. Los metales están presentes en el ecosistema de forma natural, los efectos antropogénicos cómo las descargas de aguas residuales o de residuos industriales aumentan las concentraciones de éstos en los ecosistemas marinos, causando serios problemas de contaminación en las zonas costeras (Mendil et al., 2010; Lozano-Bilbao et al., 2018). Los tiburones acumulan una gran cantidad de metales pesados debido a que forman parte de los eslabones más elevados de la cadena trófica como depredadores, o bien por su respiración (Lopez et al., 2013). Debido a su genética y posición en la cadena trófica los tiburones son altamente susceptibles a la absorción y biomagnificación de metales. La ingesta de presas y su lenta eliminación de los tejidos, contribuyen a su acumulación (Pethybridge et al., 2010; Lopez et al., 2013). No hay registros anteriores de estudios de la concentración de metales en los órganos de *S. squatina* pudiendo ser un factor clave para entender su conservación.

## 1.3 Metales pesados y sus efectos

La mayoría de metales, incluyendo aquellos conocidos como metales pesados (con pesos específicos por encima de  $4,5 \text{ g/cm}^3$  o con un número atómico por encima de 20 (Ali and Khan, 2018)) se encuentran como parte estructural de los componentes biológicos, generalmente asociados a componentes proteicos y actuando como cofactores. Por ejemplo, el cobre, el zinc, el hierro, el manganeso y el níquel son esenciales para los peces aunque a elevadas concentraciones pueden resultar tóxicos (Solgi and Mirmohammadvali, 2021). Los metales participan además en múltiples funciones orgánicas esenciales para los organismos, algunas de ellas se destacan a continuación.

El calcio (Ca) tiene una gran importancia para ayudar a reforzar sus esqueletos cartilaginosos. Los elasmobranquios tienen depósitos de Ca en sus cráneos, mandíbulas y vertebras, siendo característico de cada especie los patronos de calcificación (Urist, 1961). El magnesio (Mg) tiene un importante rol en el transporte branquial, intestinal y

renal de los teleósteos de agua dulce (Bijvelds et al., 1998). En organismos de agua dulce cómo la trucha arcoíris o la tilapia, se ha observado una relación inversa entre la cantidad de Ca y la de Mg (Cowey et al., 1977; Reigh et al., 1991; Bijvelds et al., 1998). Además, las concentraciones de magnesio pueden afectar la permeabilidad de iones en los intestinos (Tidball, 1964; Fordtran et al., 1985). Las bajas concentraciones de K (hipopotasemia) están estrechamente relacionadas con el estrés en los elasmobranquios, siendo este uno de los indicadores (Brooks et al., 2012; Dapp et al., 2016; Schwieterman et al., 2021). Biológicamente el potasio es un nutriente esencial que interviene en el equilibrio osmótico, electrolítico y ácido base necesario para el funcionamiento celular óptimo. Gran parte de su reserva se encuentra en los músculos y el esqueleto, aunque también en la sangre (Varol and Sünbül, 2020). El sodio (Na) es importante en el mantenimiento del metabolismo y osmosis de los tiburones y un indicador del estrés (Bricker et al., 1968; Manire et al., 2001). Tiene una elevada importancia en el mecanismo activo de secreción de cloruro por la glándula rectal, debido al rol de Na-K-ATPasa en el transporte de cloruro (Silva et al., 1977).

Dentro de los micronutrientes y los elementos traza, el bario (Ba) es un elemento de acumulación variable según el ambiente y la temperatura, y es importante en las vértebras de los condriictios (Smith et al., 2013; Mohan et al., 2018). El boro (B) es importante en la ovogénesis y la espermatogénesis, y en aspectos celulares, aunque una baja ingesta puede perjudicar la estructura de los huesos, la función cerebral y la respuesta inmunitaria (Nielsen, 2008). El cobalto (Co) es importante para la vitamina B12, esencial para los organismos. El cobre (Cu) es importante para el funcionamiento y energía celular, el metabolismo del hierro, protección de las células contra los radicales libres, síntesis de colágeno, neurotransmisores cerebrales, producción de melanina y necesario para la síntesis de enzimas (Trulls and Ortiz, 2022). La concentración de cobre (Cu) en el músculo y el hígado tiende a disminuir con el crecimiento (Endo et al., 2008). El cromo (Cr) en su forma soluble es presente en los sistemas acuáticos con efectos subletales a los organismos, llegando a causar daños en órganos, a enzimas y a las moléculas de DNA (Van Der Putte and Pärt, 1982; Pancaldi et al., 2021) El estroncio (Sr), considerado peligroso para los organismos, se acumula en las partes duras cómo el esqueleto, las escamas o los otolitos, dependiendo estrictamente de los factores medioambientales (Pasqualetti et al., 2013). El hierro (Fe) es un componente integral de las proteínas, necesario para la respiración celular y la transferencia de oxígeno y necesario en los

procesos de oxidación y reducción (Bury and Grosell, 2003; Webster, 2020). La mayoría de la concentración de hierro viene dada debido a la dieta, una deficiencia en la cantidad la concentración de Fe puede causar anemia aunque un exceso del Fe puede llegar a ser tóxico en los organismos acuáticos, causando un menor crecimiento, poca eficiencia al alimentarse, elevada mortalidad, diarrea y daño en las células del hígado (Webster, 2020). El litio (Li) tiene una gran variedad de funciones bioquímicas como por ejemplo es parte de la estructura de muchas enzimas, hormonas, vitaminas y factores de crecimiento (Burrows, 1986; Daraei et al., 2021). El manganeso (Mn) es un cofactor en una gran variedad de enzimas y complejos metal-enzimas como cinasas, hidrolasas, su deficiencia da como resultado retraso en el crecimiento, malformaciones congénitas en la descendencia y función anormal de los huesos y cartílagos (Watanabe et al., 1997; Olmedo et al., 2013). El molibdeno (Mo) esencial para enzimas (Eisler, 1989; Reid, 2011), aunque su concentración en el músculo de los peces se mantiene independiente a la concentración del medio, se cree que no se biomagnifica a través de la cadena trófica marina (Regoli et al., 2012). El níquel (Ni) es un componente importante en numerosas enzimas con roles en el ciclo del carbono, nitrógeno y oxígeno (Ragsdale, 1998). La toxicidad del níquel se asocia a lesiones branquiales y lesiones en los túbulos renales (Pyle and Couture., 2011). El vanadio (V) puede causar vasoconstricciones pulmonares y fosforilaciones de las cinasas, teniendo efectos cardiovasculares (Perez-Benito, 2006). Estudios anteriores constatan que los moluscos tienden a bioacumular este metal (Edel and Sabbioni, 1993). El zinc (Zn) es un constituyente de enzimas metálicas, componentes metabólicos, las moléculas de DNA y estructuras de la membrana de los ribosomas (Groves, 1984; Eisler, 1993; Vallee and Falchuk, 1993). Estudios en peces de agua dulce (*Channa punctatus*) determinan que el hígado y los riñones son los sitios donde se bioacumula el Zn, en cambio la acumulación en los músculos es mucho menor comparada con los otros órganos (Senthil Murugan et al., 2008).

En los metales pesados tóxicos, el aluminio (Al) no tiene una función biológica del todo clara, aun así, la acumulación en los órganos internos es extremadamente lenta y la biomagnificación a través de la cadena alimentaria no ocurre (Wilson, 2011). El cadmio (Cd) se biomagnifica a lo largo de la cadena trófica (Kumar and Singh, 2010). Teniendo efectos nocivos en términos nefrotóxicos, citotóxicos, genotóxicos, inmunotóxicos y cancerígenos (Lippmann and Leikauf, 2020). En tiburones el Cd se suele acumular en el hígado y su concentración depende de su tamaño y edad (Endo et al., 2015). La exposición

al plomo (Pb) causa un gran número de efectos fisiológicos, de comportamiento y bioquímicos, causando daños en el sistema nervioso central, el sistema hematopoiético, el cardiovascular y órganos como el hígado o el riñón (Lee et al., 2019). El mercurio (Hg) se acumula fácilmente en el agua o en el sedimento, inhibiendo la síntesis de proteínas, de microtúbulos, el incremento de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular con un error en el neurotransmisor (Castro-González and Méndez-Armenta, 2008). El Hg se biomagnifica a través de la cadena alimenticia (Endo et al., 2016).

#### 1.4 Objetivos del estudio

Hay muy poco estudio sobre la concentración de metales traza y su bioacumulación en *Squatina sp.* Sólo se ha estudiado la concentración de mercurio en las poblaciones de *S. squatina* en un solo ejemplar capturado en el Reino Unido (Morris et al., 1998). Estudios parecidos se han realizado con otras especies de la misma familia, *Squatina aculeata*, estudiando la bioacumulación de ciertos metales (As, Hg, Cu, Fe, Zn y Mn) en el tejido muscular (Turan et al., 2021). Aun así, no hay estudios de la concentración de metales pesados en *Squatina squatina* en el Archipiélago Canario. Este estudio tiene por tanto como objetivos: (1) determinar las concentraciones de metales pesados en el músculo y hígado de *S. squatina* y estudiar la correlación con las medidas biométricas (sexo, longitud y peso) (2) comparar las concentraciones de metales pesados entre dos poblaciones de *S. squatina* geográficamente aisladas (Canarias y Gales).

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron un total de 18 muestras biológicas, 9 de hígado y 9 de músculo blanco, procedentes de nueve angelotes varados en las Islas Canarias. Los análisis se realizaron en los laboratorios del Área de Toxicología de la Universidad de La Laguna (ULL). En todos los casos los ejemplares fueron encontrados muertos en las costas del archipiélago, donde posteriormente se llevaron a las instalaciones del Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA) de la Universidad de las Palmas de Gran Canaria (ULPGC) para realizar las necropsias.

Las muestras fueron recogidas por las autoridades competentes, Guardia civil o Agentes Medioambientales, gestionadas por el equipo de Angel Shark Project (ASP <https://angelsharkproject.com/>), y necropsiadas por los investigadores de la ULPGC en el IUSA. Una vez realizadas las necropsias, se preservó la cantidad deseada de tejido en

botes estériles y se mantuvieron a -20°C para que no sufrieran ninguna alteración química. A parte, se tomaron medias biométricas de los individuos, peso y talla, y se sexaron. Se tomaron medidas de aquellos individuos que estaban lo suficientemente preservados para hacerlo y se clasificaron cómo machos, hembras o indeterminados, siendo indeterminados aquellos que no fue posible asignar un sexo debido a su estado de degradación.

A parte, se utilizaron los resultados de 6 tiburones muestreados en el mar de Irlanda, cuatro de ellos fueron encontrados varados en las playas del oeste de Gales, los otros dos fueron capturados accidentalmente por pescadores. Ambos grupos de ejemplares fueron pescados muertos, aun así, se contactó con el Irish Elasmobranch Group (IEG) y el Inland Fisheries Ireland (IFI) para consensuar el procedimiento. Los grupos contactaron con Sea Fisheries Protection Authority (SFPA), para poder utilizar los ejemplares con fines científicos. Se tomaron muestras de hígado y músculo, y se congelaron para poder mantenerlas.

La metodología usada está basada y supervisada por el ASP, la asociación cuenta con un protocolo de prácticas desarrollado y refinado durante los últimos ocho años, a partir de un Taller de Marcaje de Angelotes organizado en el año 2015. El protocolo ha pasado las revisiones éticas para el trabajo con animales de la Sociedad Zoológica de Londres (ZSL) y del Ministerio para la Transición Ecológica y el Reto Demográfico (MITERD). El ASP cuenta con todos los permisos requeridos por MITERD para poder realizar procedimientos de marcaje-recaptura y obtener muestras genéticas de angelote.

## 2.1 Área de estudio

Se obtuvieron muestras de la población de tiburones ángel en el Archipiélago Canario, concretamente en las islas de la Graciosa, Lanzarote y Tenerife (Figura 1). Aunque han sido capturados en diferentes áreas, se han considerado estos individuos como ejemplares de la misma población, Canarias. Por otra parte, se pudo contar con muestras de la población de *S. squatina* encontrados en playas de Gales (Soundersfoot beach, Herlech beach, Shell Island y Dysynni Beach), y dos ejemplares encontrados en el mar de Irlanda (figura 1).

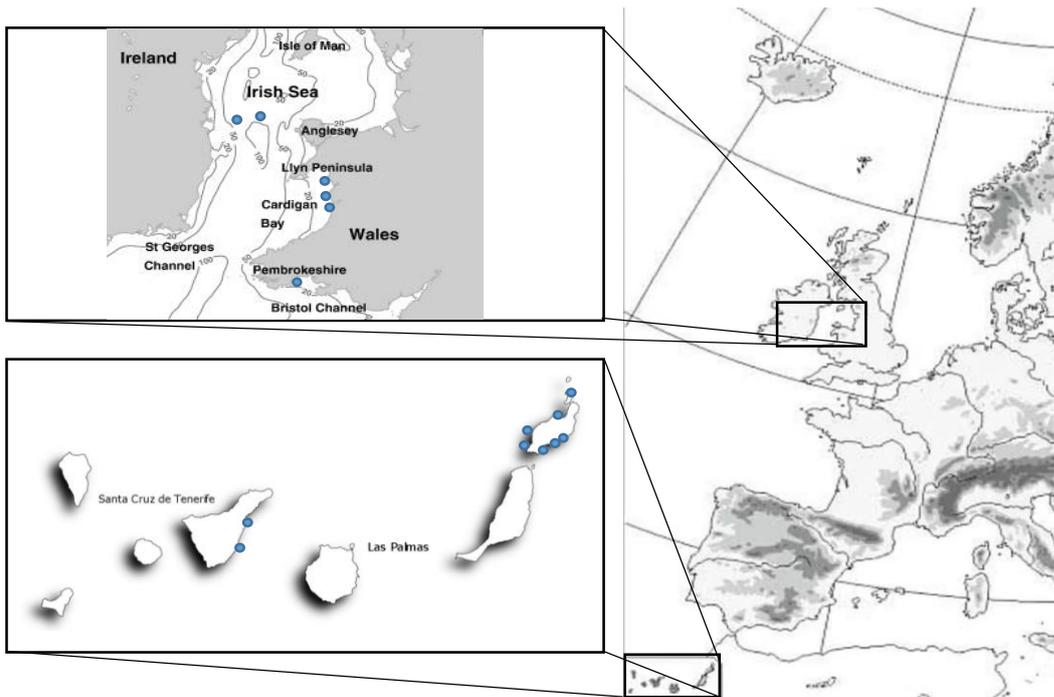


Figura 1: zonas donde se han encontrado los ejemplares de *S. squatina* (puntos azules en el mapa), mapa superior ampliado del mar de Irlanda (canal entre Irlanda y Gales) y mapa inferior ampliado referente a archipiélago de las Islas Canarias.

## 2.2 Procedimiento analítico

Para el estudio de las muestras de las islas Canarias se determinó en primer lugar el peso húmedo y el peso seco de las muestras. Para esto se utilizaron crisoles de porcelana, previamente lavados y esterilizados que se pesaron por separado y con la muestra (peso húmedo). Estos se introdujeron en una estufa a 70°C durante 24 horas para obtener el peso seco por diferencia. Una vez pasado este tiempo se introdujeron las muestras con los crisoles en el horno-mufla, elevando la temperatura gradualmente hasta alcanzar los 450°C ± 25°C, esta rampa de aumento de temperatura será durante 24 horas. Dicha temperatura se mantuvo durante un período de 24 horas. En total se sometieron las muestras a un proceso de 48 horas desde el inicio de la incineración hasta la obtención de cenizas blancas.

Si con la primera incineración no se lograban cenizas blancas (se observan cenizas negras o grisáceas) se realizó una disolución de estas en HNO<sub>3</sub> al 65% (1-2 mL). Con la ayuda de una placa calefactora se evaporó el disolvente y se volvieron a introducir las muestras en el horno-mufla y se incineraron durante 48h, haciendo una rampa de temperatura hasta los 450°C ± 25°C. En caso necesario, se repetía el proceso una tercera vez. Una vez obtenidas las cenizas blancas, se dejaron enfriar y se pesaron.

Una vez obtenida la total mineralización de las muestras (cenizas blancas), se disolvieron en  $\text{HNO}_3$  al 1,5% y se filtraron en un matraz aforado. Una vez filtrado el contenido se enrasa el matraz a 25 mL con  $\text{HNO}_3$  al 1,5%. Las muestras se trasvasaron a frascos de polietileno, numerados y etiquetados, para la posterior determinación de los metales mediante Espectrometría de Emisión Óptica con Plasma Acoplado Inductivamente (ICP-OES).

Para el análisis de la concentración de mercurio, se utilizó un gramo de la muestra (peso fresco) y se analizó a través de la digestión con microondas. Para la digestión, la muestra se preparó con 4 mL de ácido nítrico al 65% ( $\text{HNO}_3$ ) y 2mL de peróxido de hidrógeno al 30% ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). En el microdigestor se realizó una serie de rampas de temperatura para tratar la muestra. Una rampa de ascenso de 10 minutos hasta  $70^\circ\text{C}$ , se mantuvo esta temperatura durante 5 minutos, y seguidamente otra rampa de ascenso de 20 minutos hasta los  $180^\circ\text{C}$ , manteniéndose a esta temperatura durante 10 minutos. Después se dejó enfriar gradualmente el contenido de los reactores. Una vez alcanzó la temperatura ambiente se vació el contenido de los reactores en matraces distintos y se enrasó con agua mili-Q a 10mL. Por último, el contenido de los matraces se pasó a un reactor de teflón, etiquetado y numerado y se llevaron a analizar. La determinación del contenido de mercurio se hizo mediante espectrofotometría de absorción atómica de vapor frío (CV-AAS) con sistema de inyección de flujo (FIAS).

En las muestras de Gales e Irlanda, los análisis fueron realizados por el Centre of Environment Fisheries and Aquaculture Science Laboratory (CEFAS), y sus resultados facilitados por el ASP, se determinó la concentración de metales del músculo y hígado a través de una digestión ácida por microondas, utilizando aproximadamente un gramo de muestra. Anteriormente la muestra se había predigerido un período de 12 horas en 6mL de ácido nítrico. La digestión por microondas se realizó con un programa y temperatura específico para la muestra. La muestra posteriormente se diluyó y analizó con espectrometría de masas con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS).

### 2.3 Análisis estadístico

Para el procesamiento de datos y su análisis estadístico se utilizó el software R versión 4.1.0. Primeramente, se comprobó que las variables cumplieren los requisitos de normalidad (Shapiro-Wilk test) y homocedasticidad (Levene test). En el caso de cumplirse estos requisitos, se evaluó si sexo y tejidos tenían algún efecto sobre la concentración de metales mediante un test paramétrico de análisis de la varianza (ANOVA), en este punto se utilizaron los resultados de nueve ejemplares (n=9). En caso de no cumplirse los requisitos, se aplicó un análisis de la varianza no paramétrico (Kruskal-Wallis o Test de Welch). Para estudiar el efecto de los dos factores juntos (tejido y sexo) y su posible interacción, se aplicó un análisis de la varianza anidado (nested ANOVA), al anidar los dos factores, se trataron 3 hembras (n=3), 4 machos (n=4) y 2 ejemplares indeterminados (n=2). En los casos en que se encontraban diferencias significativas en las ANOVA, se detectaron las medias significativamente diferentes entre sí mediante un test PostHoc (Test HSD de Tukey).

Por otra parte, se estudió la relación de las medidas biométricas (peso y talla) con las distintas concentraciones de metales en cada uno de los tejidos. Se utilizó una correlación de Spearman, debido a la unidad muestral y no normalidad de los datos. Debido a que había algunos individuos que dado su estado de conservación no pudieron ser medidos los parámetros biométricos, el número de muestras bajó a 5 ejemplares. Se mostraron los resultados con un gráfico con la interacción una a una de las distintas variables. Una vez obtenidas las variables más correlacionadas, se comprobó su regresión lineal y su ajuste con la talla o el peso. Para presentar los resultados se utilizó la función `ggcorr`, con el paquete `ggplot2` y la extensión `GGally`.

Se testeó la diferencia entre los resultados de la concentración de mercurio de los individuos muestreados en este estudio con valores bibliográficos obtenidos por otros trabajos publicados anteriormente. Para eso, se utilizó un test T-student con la media obtenida bibliográficamente y una randomización de la variable con una unidad muestral de 10 de cada especie de *Squatínida*. Se escogió dicho estadístico ya que en los trabajos consultados solo se disponía del valor promedio y, en algunos casos, de la desviación estándar.

Por último, se comparó la concentración de metales (Zn, Cd, Pb, Ni, Fe, Mn, Cr, Cu) en muestras de hígado y músculo blanco de los individuos, adultos y subadultos, del

Archipiélago Canario (n=9) y los del mar de Irlanda (n=5) (Gales e Irlanda). En ellos se ha estudiado si la procedencia y el tipo de tejido tenían efecto sobre la concentración de metales pesados. Los resultados se graficaron como las concentraciones de metales utilizando gráficos de radar. Dichos gráficos se realizaron con la función `radarchart` del paquete `fmsb`.

En primer lugar, se ha comprobado los requisitos de normalidad (Shapiro-Wilk test) y de homoscedasticidad (Levene test). En caso de no cumplirse alguno de los requisitos (p-valor <0,05) se ha aplicado una transformación Box-Cox para corregir la no linealidad de la relación (Kim et al., 2019). La transformación potencial está definida como una función continua que varía en función de una potencia lambda ( $\lambda$ ):

$$y(\lambda) = \begin{cases} \frac{y^\lambda - 1}{\lambda} & \text{si } \lambda \neq 0 \\ \log(y) & \text{si } \lambda = 0 \end{cases}$$

Una vez aplicada la transformación, siempre que fuese necesario, se ha estudiado estadísticamente a través de una ANOVA anidada (nested ANOVA). En caso de obtener diferencias significativas (p-valor<0,05) en la interacción de los factores con las variables, se realiza una prueba post-hoc (TukeyHSD test), para poder comprobar las relaciones dos a dos.

Las variaciones en la composición de metales en individuos de Gales y Canarias se analizaron con un método multiparamétrico (PCA, *principal component analysis*), para observar si hay diferencias entre los ejemplares de una zona y de la otra. Los gráficos se realizaron con la función `fviz_pca_biplot` del paquete `factoextra` y `dplyr`.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 La presencia de metales pesados en los ejemplares de *S. squatina* procedentes de las Islas Canarias

Los nueve ejemplares estudiados (9 muestras de hígado y 9 de músculo), eran ejemplares adultos o sub-adultos ( $107,98 \pm 3,99$  cm y  $10,83 \pm 2,3$  Kg). La concentración de metales en los dos tejidos estudiados era muy variable (Tabla 1). Para el Ni, B, Cr, Ca, Ba, Li y K se ha observado que la concentración en músculo era mayor que en hígado. En cambio, la concentración de Hg, Al, Mo, Zn, Cd, Pb, Co, Fe, Mn, V, Cu, Mg, Sr y Na es mayor en hígado que en músculo. El sodio y el potasio eran los metales más abundantes en el hígado ( $1392,98 \pm 626,44$  mg/Kg y  $718,12 \pm 116,96$  mg/Kg, respectivamente), y en el músculo ( $1161,92 \pm 331,65$  mg/Kg y  $875,25 \pm 217,12$  mg/Kg).

La concentración de mercurio en músculo ( $0,57 \pm 0,21$  mg·kg<sup>-1</sup> en las Islas Canarias y  $0,24 \pm 0,16$  mg·kg<sup>-1</sup> en Gales y el mar de Irlanda), es parecida a la de otros tiburones de gran tamaño cómo el tiburón tigre (*Galeocerdo cuvier*,  $0,37 \pm 0,3$  mg·kg<sup>-1</sup>), el tiburón azul (*Prionace glauca*,  $0,9 \pm 0,59$  mg·kg<sup>-1</sup> en áreas FAO y  $0,39 \pm 0,29$  mg·kg<sup>-1</sup> en la costa de Brasil) o el tiburón martillo (*Sphyrna zygaena*  $0,44 \pm 0,29$  mg·kg<sup>-1</sup>) (Mársico et al., 2007; Amezcua et al., 2022). Por el contrario, en comparación con otro tipo de tiburones cómo podría ser el tiburón de morro negro (*Carcharhinus acronotus*,  $1,76 \pm 0,8$  mg·kg<sup>-1</sup>), el tiburón de puntas negras (*Carcharhinus limbatus*,  $2,65 \pm 0,9$  mg·kg<sup>-1</sup>), el tiburón toro (*Carcharhinus leucas*,  $1,48 \pm 1,2$  mg·kg<sup>-1</sup>), el tiburón martillo gigante (*Sphyrna mokarran*,  $1,65 \pm 0,4$  mg·kg<sup>-1</sup>) y el cazón de playa (*Rhizoprionodon terraenovae*,  $1,99 \pm 0,6$  mg·kg<sup>-1</sup>) (Rumbold et al., 2014), la concentración de mercurio muscular en angelote es mucho menor. Por el contrario, la concentración de mercurio en hígado de los angelotes ( $0,44 \pm 0,38$  mg·kg<sup>-1</sup>) es sensiblemente mayor que en la mayoría de especies de tiburones (Hurtado-Banda et al., 2012; Bergés-Tiznado et al., 2015; Endo et al., 2015)

Por otra parte, si comparamos la concentración de mercurio en el músculo se *S. squatina* con la de distintas especies de rayas, vemos que esta se asemeja más a la de este tipo de elasmobranquios. La especie *Hypanus sabinus*, en la zona de Florida, presenta una concentración de mercurio en músculo muy parecida a la de los angelotes en Canarias ( $0,56 \pm 0,3$  mg·kg<sup>-1</sup>). Aun así, la concentración de Hg en el hígado de *H. sabinus* ( $0,23 \pm 0,19$  mg·kg<sup>-1</sup>) (Soulen et al., 2019), o la concentración de mercurio en *Rhinoptera steindachneri* ( $0,37 \pm 0,25$  mg·kg<sup>-1</sup>) (Escobar-Sánchez et al., 2014) es menor a la

observada en los angelotes. Por lo contrario, hay otros autores que observan en especies de raya concentraciones de mercurio mucho más elevadas (Ruelas-Inzunza et al., 2013; Escobar-Sánchez et al., 2014).

### 3.2 La acumulación de algunos metales es diferencial en los tejidos estudiados

Algunos autores han observado que el sexo y la talla son factores influyentes en la bioacumulación de metales pesados en tiburones (Glover 1979; Van Der Putte and Pärt 1982; Adel et al., 2016). Aunque los números de machos y hembras obtenidos en este estudio no son muy elevados, no se observaron diferencias significativas ( $p$ -valor  $>0,05$ ) con la interacción de ambos factores, sexo (Macho, Hembra o Indeterminado) y tejido (Músculo o Hígado) para la concentración de ninguno de los metales. En tiburones pelágicos también se ha observado que el sexo del ejemplar no afecta directamente a la concentración de metales en los tejidos (Delshad et al., 2012; Adel et al., 2017; Merly et al., 2019). En nuestros resultados vemos que no hay diferencias fisiológicas en la acumulación de metales pesados y elementos traza debido al sexo. Debido a la ausencia de diferencias en las ANOVA anidadas, se comprobaron los factores por separado. En ninguno de los casos se observó que el sexo fuese significativamente influyente en la concentración de los metales y, por consiguiente, esta variable no se ha tenido en cuenta en análisis posteriores.

Por otra parte, sí que se observó que el tipo de tejido (hígado o músculo) puede tener un efecto notable en la concentración de metales pesados (Figura 2). Por ejemplo, para el Mo, Zn, Cd, Ni, Co, Fe, B, V, Cu y el Sr se han obtenido concentraciones significativamente distintas en el músculo y en el hígado ( $p$ -valor  $<0,05$ ). En el caso del mercurio la concentración no era significativamente diferente entre tejidos, sexos, ni en la interacción entre ambos factores ( $p$ -valor  $>0,05$ ). La concentración de metales pesados y elementos traza en músculo e hígado de *S. squatina*, tal y cómo se esperaba, es mayor en hígado. Estas observaciones nos confirman los mismos resultados que se obtuvieron en artículos anteriores, dónde el Cd se acumulaba en el hígado de los tiburones (Marcovecchio et al., 1991). La concentración de Cd observada en el hígado es menor a la de otros tiburones (*Mustelus schmitti*,  $5,623 \pm 1,65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , *Halaeulurus bivius*  $7,95 \pm 1,78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , *Somniosus pacificus*;  $2,64 \pm 0,35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , *Somniosus microcephalus*;  $3,91 \pm 0,44 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) (Marcovecchio et al., 1991; McMeans et al., 2007). Una alta concentración de Cd en los depredadores normalmente se asocia a una dieta a

base de cefalópodos (Bustamante et al., 1998). Como expuso Narvaez, la dieta del angelote es principalmente ictiófaga y solo ocasionalmente consume cefalópodos (Narvaez, 2012), por lo que la concentración de cadmio podría ser menor a la de otros tiburones debido a sus hábitos alimentarios. La concentración de los cationes mayoritarios en el agua de mar, Na, Mg, Ca y K, hace que la concentración de estos sea mayor en los órganos de los tiburones, aunque el potasio se puede encontrar acumular en mayores concentraciones sin saber aún el motivo (Turoczy et al., 2000). La concentración de Fe en el hígado y músculo era muy elevada. Otros autores, en estudios con tiburones y rayas, han observado también concentraciones muy elevadas de este metal (Hornung et al., 1993; Barrera-García et al., 2013; Türkmen et al., 2013; Martínez-Ayala et al., 2022), aunque no se sabe exactamente el porqué de su acumulación, especialmente en el hígado, podría ser debido a la alta irrigación aumentando la concentración de hemoglobina. Para el Ni y del Cu, se ha descrito que el primero es más presente en tiburones pelágicos en comparación con el segundo, que se encuentra más concentrado en tiburones demersales (Vas, 1991). Lo mismo se observa en el caso del angelote, donde la concentración de cobre es diez veces mayor a la de níquel. La mayoría de metales estudiados se acumulan más en el hígado, posiblemente por ser un órgano de filtraje propenso a la bioacumulación (Sures et al., 2003; Lee et al., 2019). Sólo en el caso del Ni y el B, la concentración encontrada ha sido mayor en, y algunos otros no han presentado diferencias entre ambos tejidos.

Tabla 1: Concentración de los metales (mg/Kg), promedio ( $\bar{X}$ )  $\pm$  desviación estándar (SD), en el músculo y en el hígado de *Squatina squatina*, en el total de individuos, en los machos, en las hembras y los indeterminados.

Metal	Concentración (mg·Kg <sup>-1</sup> )															
	Total individuos (n=9)				Machos (n=4)				Hembras (n=3)				Indeterminado (n=2)			
	Músculo		Hígado		Músculo		Hígado		Músculo		Hígado		Músculo		Hígado	
	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD	$\bar{X}$	SD
Hg	0,57	0,21	0,44	0,38	0,614	0,109	0,702	0,431	0,633	0,343	0,324	0,135	0,385	0,059	0,089	0,119
Al	3,45	4,15	4,49	2,84	1,518	1,075	4,208	1,138	3,911	3,569	3,701	3,019	6,619	8,543	6,239	5,833
Mo	0,002	0,001	0,028	0,006	0,003	0,001	0,028	0,007	0,002	0,001	0,031	0,005	0,002	0,000	0,024	0,004
Zn	2,28	0,53	9,96	3,19	2,033	0,392	8,695	2,297	2,315	0,742	11,934	4,236	2,731	0,014	9,538	3,370
Cd	0,02	0,04	0,87	0,44	0,011	0,008	0,921	0,497	0,004	0,003	0,854	0,520	0,064	0,080	0,782	0,462
Pb	0,004	0,004	0,008	0,003	0,003	0,002	0,009	0,004	0,005	0,005	0,005	0,003	0,007	0,004	0,009	0,000
Ni	0,04	0,04	0,01	0,01	0,044	0,039	0,013	0,002	0,031	0,018	0,014	0,005	0,067	0,081	0,018	0,014
Co	0,004	0,0028	0,04	0,02	0,005	0,003	0,033	0,017	0,002	0,001	0,041	0,022	0,005	0,004	0,039	0,018
Fe	3,70	2,22	189,59	107,51	4,475	2,937	188,432	94,476	2,415	1,194	116,066	39,499	4,076	1,700	302,172	144,886
B	0,35	0,45	0,03	0,10	0,322	0,527	0,075	0,151	0,414	0,604	0,000	0,000	0,309	0,162	0,000	0,000
Mn	0,19	0,20	0,24	0,13	0,134	0,040	0,183	0,084	0,128	0,070	0,287	0,193	0,400	0,434	0,296	0,066
Cr	0,08	0,06	0,05	0,02	0,122	0,082	0,051	0,028	0,055	0,009	0,057	0,021	0,050	0,027	0,029	0,016
V	0,01	0,004	0,08	0,03	0,007	0,006	0,104	0,018	0,005	0,003	0,050	0,009	0,004	0,001	0,059	0,030
Ca	136,04	225,83	117,24	99,05	220,763	343,093	159,033	125,740	66,336	25,981	101,852	89,540	71,170	42,310	56,749	1,731
Cu	0,36	0,19	0,79	0,47	0,269	0,088	0,540	0,277	0,299	0,151	0,925	0,555	0,624	0,157	1,086	0,673
Mg	112,94	22,31	135,76	117,98	117,632	9,734	171,225	177,427	112,097	36,739	118,084	59,173	104,842	27,857	91,361	1,201
Sr	0,67	1,18	0,96	0,79	1,135	1,788	1,285	1,071	0,331	0,137	0,843	0,572	0,253	0,072	0,491	0,007
Ba	0,06	0,05	0,03	0,02	0,038	0,018	0,036	0,015	0,076	0,075	0,031	0,019	0,076	0,082	0,037	0,027
Li	0,99	0,84	0,79	0,60	0,630	0,161	0,611	0,365	1,436	1,457	0,596	0,340	1,035	0,495	1,418	1,084
K	875,25	217,12	728,12	116,96	984,444	177,587	770,559	150,616	711,917	266,293	685,411	117,104	901,877	107,402	707,309	20,512
Na	1161,92	331,65	1392,98	626,44	1.283,089	206,550	1.863,372	658,113	1.104,912	552,183	1.035,289	345,997	1.005,078	156,304	988,716	70,072

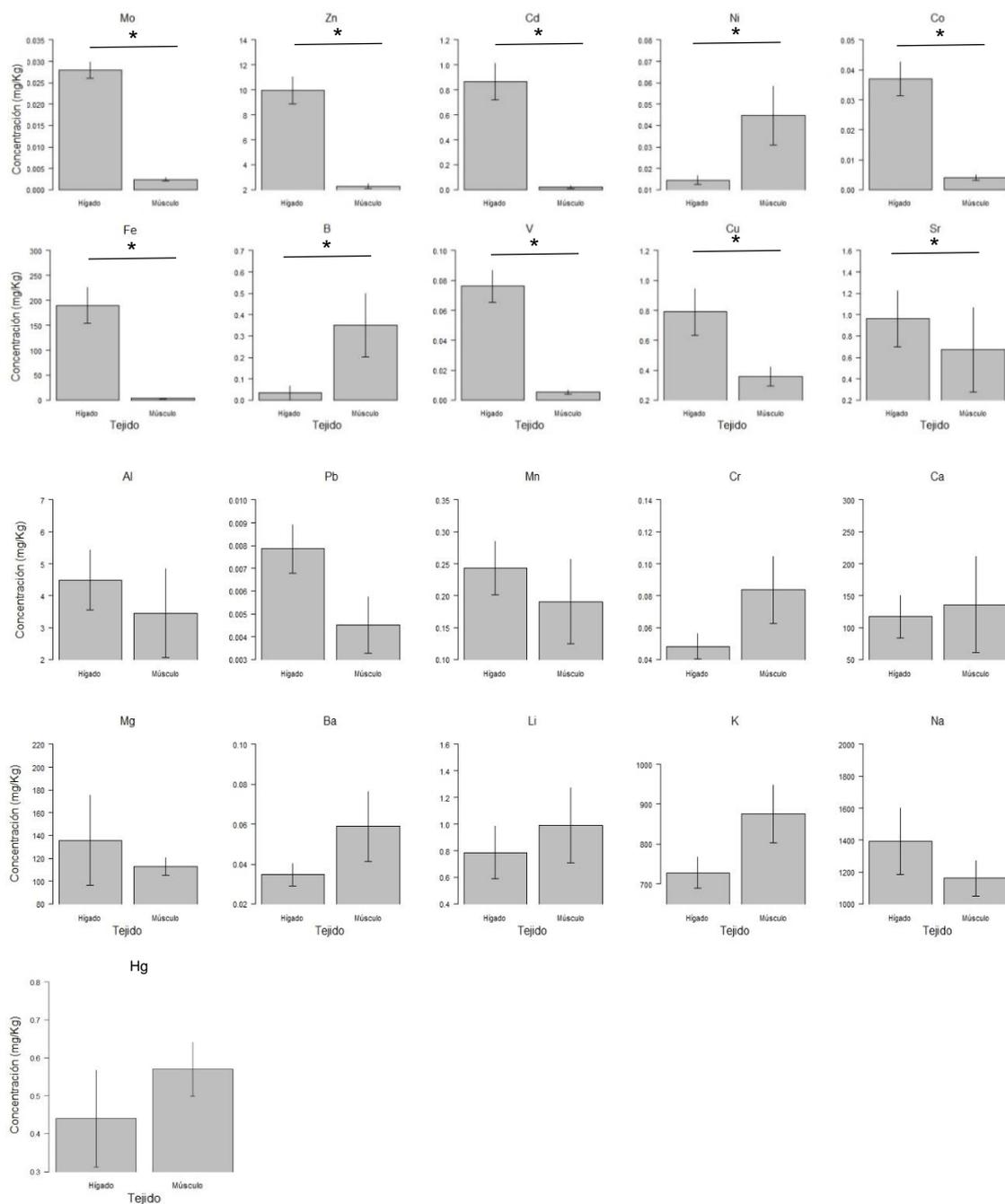


Figura 2: Gráfico de barras comparando la concentración de los metales (mg/Kg) en los tejidos (hígado y músculo) de los ejemplares de *Squatina squatina* de las Islas Canarias. El asterisco encima del gráfico de barras indican diferencias significativas entre los dos tipos de tejido.

### 3.3 Efecto de la talla y el peso en la acumulación de metales en *S. squatina*

La absorción y bioacumulación de metales está muy correlacionada con la talla y el peso de los organismos (Endo et al., 2008; Delshad et al., 2012; Poong et al., 2020; Cordero-Maldonado and Espinoza, 2022). En este estudio los 9 ejemplares varados eran de una talla y un peso muy parecido ( $107,98 \pm 3,99$  cm y  $10,83 \pm 2,3$  kg). En el caso de *S. squatina* podemos observar (Figura 3 y 4) que las variables peso y talla, en las muestras de músculo, no están correlacionadas entre ellas (correlación Spearman -0,4).

A pesar de ello la talla presenta una correlación positiva con la concentración de Hg en el músculo y en el hígado (Spearman 0,9) y con las correlaciones de K, Mg en el músculo (Spearman >0,8), y la concentración de V en el hígado (Spearman 0,8) (Figura 3 y 4). Por otra parte, el peso presenta una correlación negativa con la concentración de Co, Fe, Mn, V y Cr en el músculo (Spearman <-0,7). En el hígado las concentraciones de Mo, Mn se correlacionan positivamente (Spearman >0,7) y negativamente con Al (Spearman <-0,7), con el peso (Figura 3 y 4).

Al tener ejemplares de tamaño y peso tan similares ha impedido la observación de cambios relevantes en la concentración de metales en relación a estas variables. La obtención de ejemplares de mayor y menor tamaño hubiera permitido una comparación mejor y poder comprobar de manera más precisa la correlación entre la talla y el peso y la concentración de metales. Sin embargo, no se han encontrado artículos que comparen la acumulación de metales en el hígado y músculo de los tiburones a lo largo de los distintos estados de crecimiento. A pesar de tener un rango tan acotado se ha observado una relación positiva de la talla y la concentración de K y Mg en el músculo, y una relación positiva de la concentración de V en el hígado. Artículos en peces afirman que el músculo es uno de los principales reservorios de potasio (Varol and Sünbül, 2020), relacionado con la talla y una bioacumulación y magnificación de estos debido al tiempo de vida. En el caso del Mg se observa algo parecido, aunque se conoce que se en el músculo (Bijvelds et al., 1998), pudiéndose correlacionar positivamente con la talla. En el hígado podemos observar también una correlación positiva entre el Ca y el Mg, aunque otros autores habían observado una relación inversa (Cowey et al., 1977). Referente a la correlación entre la concentración positiva de V en el hígado y la talla, se observa lo contrario a otros estudios con peces (Fard et al., 2015), donde existe una correlación

negativa con la talla. En peces teleósteos marinos, *Mugil cephalus*, se ha observado que el hígado es el mayor punto de bioacumulación del vanadio (Fazio et al., 2019), observándose lo mismo en el caso de *S. squatina*, seguramente debido al aumento del órgano durante el crecimiento. Otros autores afirman que los moluscos son uno de los principales bioacumuladores de este metal (Edel and Sabbioni, 1993), una mayor talla de los individuos facilitaría la depredación de moluscos, y por lo tanto un mayor consumo de vanadio, aunque estudios de contenido estomacal indica que *S. squatina* no se alimenta de moluscos y es principalmente ictiófaga (Narvaez, 2012). Otros autores han observado que *G. cuvier* presenta concentraciones de Cd dependiendo de la talla y la edad del individuo (Endo et al., 2015), resultado no observado en el caso del *S. squatina*.

La competición para puntos de unión en metales puede llevar a observar correlaciones negativas entre sus concentraciones (Pagenkopf, 1983; Barrera-García et al., 2013; Dhanakumar et al., 2015). Por ejemplo, las metalotioneínas inducidas por una concentración elevada de Zn y Cu pueden interactuar y desionizar iones metales como los de Cd, Hg y Pb (Palmiter, 1998). No se han observado relaciones en la interacción de Zn-Cd, Cu-Cd y Hg-Cu, pero sí correlaciones positivas entre Zn-Pb y Pb-Cu. Por lo contrario, se observaron concentraciones negativas entre Zn-Hg. Puede ser que estas relaciones sean debidas a la presencia de áreas con vías bioquímicas de deposición de Pb, siendo los factores biológicos y ambientales claves para las correlaciones o no de las concentraciones de metales (Shiple et al., 2021).



Las correlaciones significativas, entre las concentraciones de los metales y las medidas biométricas, son mayoritariamente positivas en el hígado y negativas en el músculo. Puede ser debido a un aumento de la concentración de metales en el músculo en edades tempranas y un descenso de estas con el paso del tiempo y el crecimiento. En cambio, el hígado al ser un órgano filtrador se observa lo contrario, un aumento de las concentraciones con el tiempo y crecimiento del ejemplar.

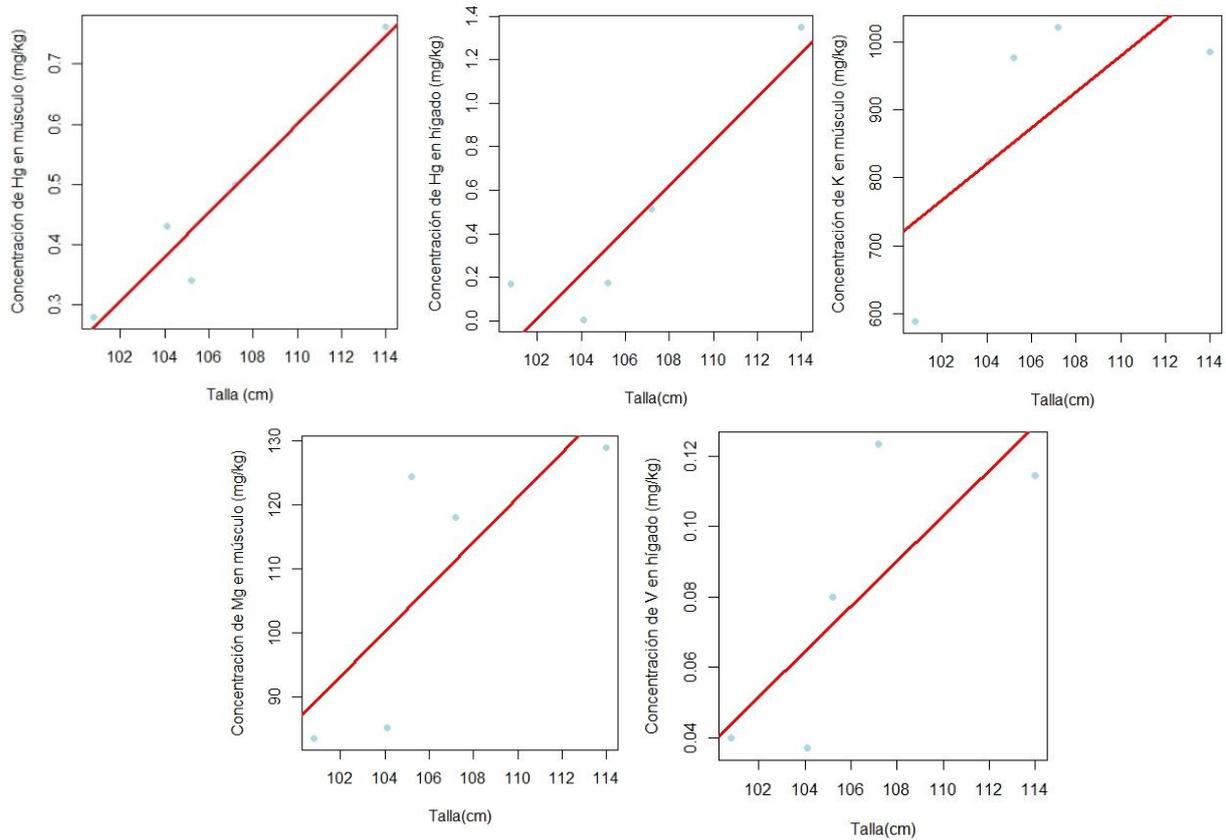


Figura 5: Correlación lineales entre la talla de los ejemplares (cm) y las concentraciones de los metales pesados (mg/Kg) en el hígado y músculo de *Squatina squatina* (n=6).

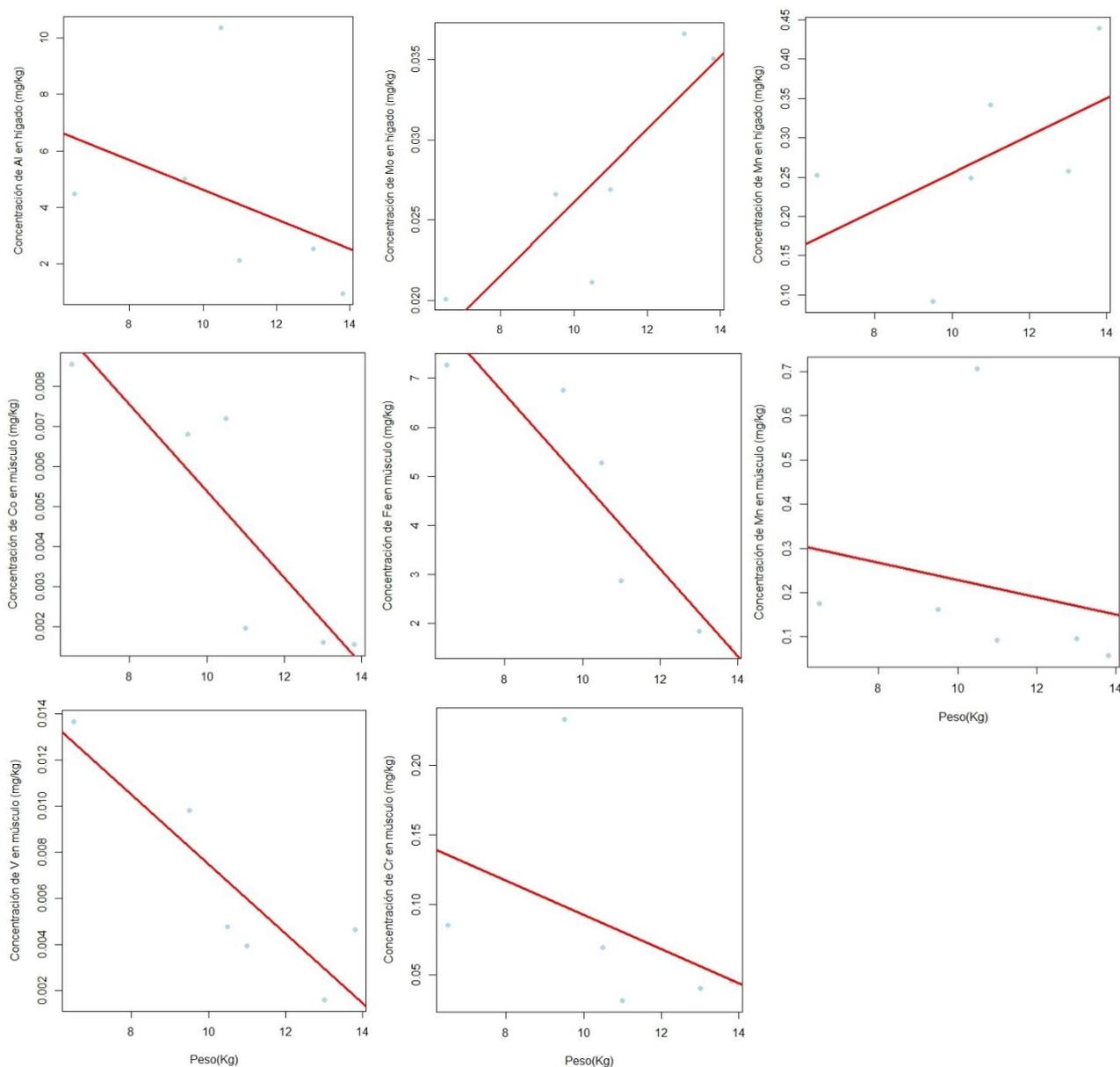


Figura 6: Correlación lineales entre el peso de los ejemplares (Kg) y las concentraciones de los metales pesados (mg/Kg) en el hígado y músculo de *Squatina squatina* (n=6).

### 3.4 Acumulación de mercurio en *S. squatina*

Si hacemos una comparación interespecifica, con resultados obtenidos bibliográficamente de otros autores en la concentración de mercurio (Tabla 2), vemos que la concentración en *S. squatina* el hígado es significativamente mayor a la de Reino Unido (T-student test, p-valor<0,05, t=-3,2028 y df= 197,26). Con el resto de especies se ve que la concentración de mercurio en *S. squatina* de las Islas Canarias es mucho mayor a la concentración de *S. guggenheim* (Brasil) o *S. dumeril* (Atlántico Noreste). En cambio, con *S. californica* de Tomales Bay (Norte California) y *S. aculeata*, del Mediterráneo, se

observa que las concentraciones en el músculo son muy parecidas. Los datos obtenidos del músculo de *S. argentina* nos indican que las concentraciones parecen menores a las observadas en este trabajo.

Las diferencias observadas en las concentraciones de mercurio entre las especies de *Squatinae* pueden estar estrechamente relacionadas con la posición trófica, el hábitat, el tamaño de individuo o la edad (Rumbold et al., 2014). Aun así, parece ser que la concentración de mercurio en los angelotes se parece mucho más a la de los batoideos. Posiblemente, esto se deba a que ambos habitan en los fondos y son principalmente demersales, siendo el mercurio un elemento que se acumula fácilmente en los sedimentos marinos a través de causas antropogénicas (Gagnon et al., 1997).

Tabla 2: Comparación de la concentración de mercurio en el músculo e hígado de tiburones de la familia *Squatinae*, con los resultados obtenidos en este trabajo. Resultados bibliográficos.

Espécies	Nº de muestras	Tejido	Mercurio (mg/kg)	Ubicación	Referencia
<i>S. aculeate</i>	1	Hígado	0,4±0,04	Noreste del mediterráneo	(Turan et al., 2021)
<i>S. aculeate</i>	1	Músculo	19,99±1,61	Noreste del mediterráneo	(Turan et al., 2021)
<i>S. argentina</i>	2	Músculo	0,304	Sud de Brasil	(Kütter et al., 2009)
<i>S. argentina</i>	1	Músculo	0,48±0,23	Bahia Blanca Argentina	(Marcovecchio et al., 1988)
<i>S. californica</i>	18	Músculo	0,47±0,15	Tomales Bay	(Gassel et al., 2004)
<i>S. californica</i>	94	Músculo	0,24±0,28	Gulf of California	(Escobar-Sánchez et al., 2016)
<i>S. californica</i>	9	Músculo	0,43±0,06	Tomales Bay	(Johnson et al., 2009)
<i>S. dumeril</i>	1	Músculo	0,08	Noroeste del Atlántico	(Greig et al., 1975)
<i>S. guggenheim</i>	9	Hígado	0,02±0,01	Sureste de Brasil	(Martins et al., 2021)
<i>S. guggenheim</i>	9	Músculo	0,02±0,05	Sureste de Brasil	(Martins et al., 2021)
<i>S. squatina</i>	1	Hígado	0,07	Cardigan Bay Reino Unido	(Morris et al., 1989)
<i>S. squatina</i>	7	Músculo	0,57±0,21	Archipiélago Canario	Este trabajo
<i>S. squatina</i>	7	Hígado	0,44±0,38	Archipiélago Canario	Este trabajo

### 3.5 *S. squatina* presenta diferencias geográficas en relación a la concentración de metales

Si comparamos la concentración de los metales sin tener en cuenta la localización (Gales o Canarias) vemos que hay una diferencia significativa dependiendo del tipo de tejido (Figura 7 y 8). Se observa esta diferencia en todos los casos menos en el Pb. Por otra parte, si estudiamos la concentración de metales respecto la localización hay una diferencia significativa en el caso del Zn, Cd, Mn y Cr (Figura 8), pero no en el caso del Pb, Ni, Fe, Cu (Figura 8).

Estudiando la interacción entre los dos factores (tejido y procedencia) se ve que hay una diferencia significativa en el Zn, Cd, Cr y Hg (Figura 8). La concentración de Zn es significativamente diferente en el músculo de los individuos de Gales y los individuos de Canarias. La concentración de Cd en hígado es significativamente distinta en los ejemplares de las dos zonas.

En la concentración de cromo se observa una diferencia significativa en el hígado de los ejemplares de gales y los ejemplares de canarias. En el caso del mercurio podemos observar que hay una diferencia significativa en la concentración de este metal en el hígado de los ejemplares de Gales y de Canarias, también se observa entre el músculo de los individuos de Canarias y el hígado de los individuos de Gales.

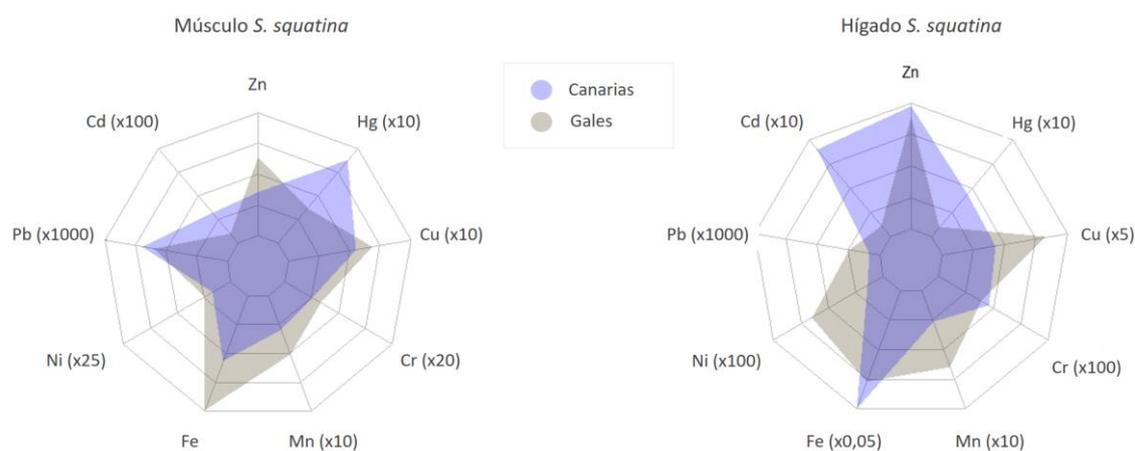


Figura 7: Gráfico radial de la concentración de Zn, Hg, Cu, Cr, Mn, Fe, Ni, Pb y Cd en el músculo y el hígado de *Squatina squatina* en los individuos de Canarias, Gales y el individuo prenatal. En paréntesis el factor aplicado a la concentración actual para adaptar los valores a la visualización de estos. Representación de la concentración con valores máximos de 7 mg·Kg<sup>-1</sup> en el músculo y de 10 mg·Kg<sup>-1</sup> en el hígado.

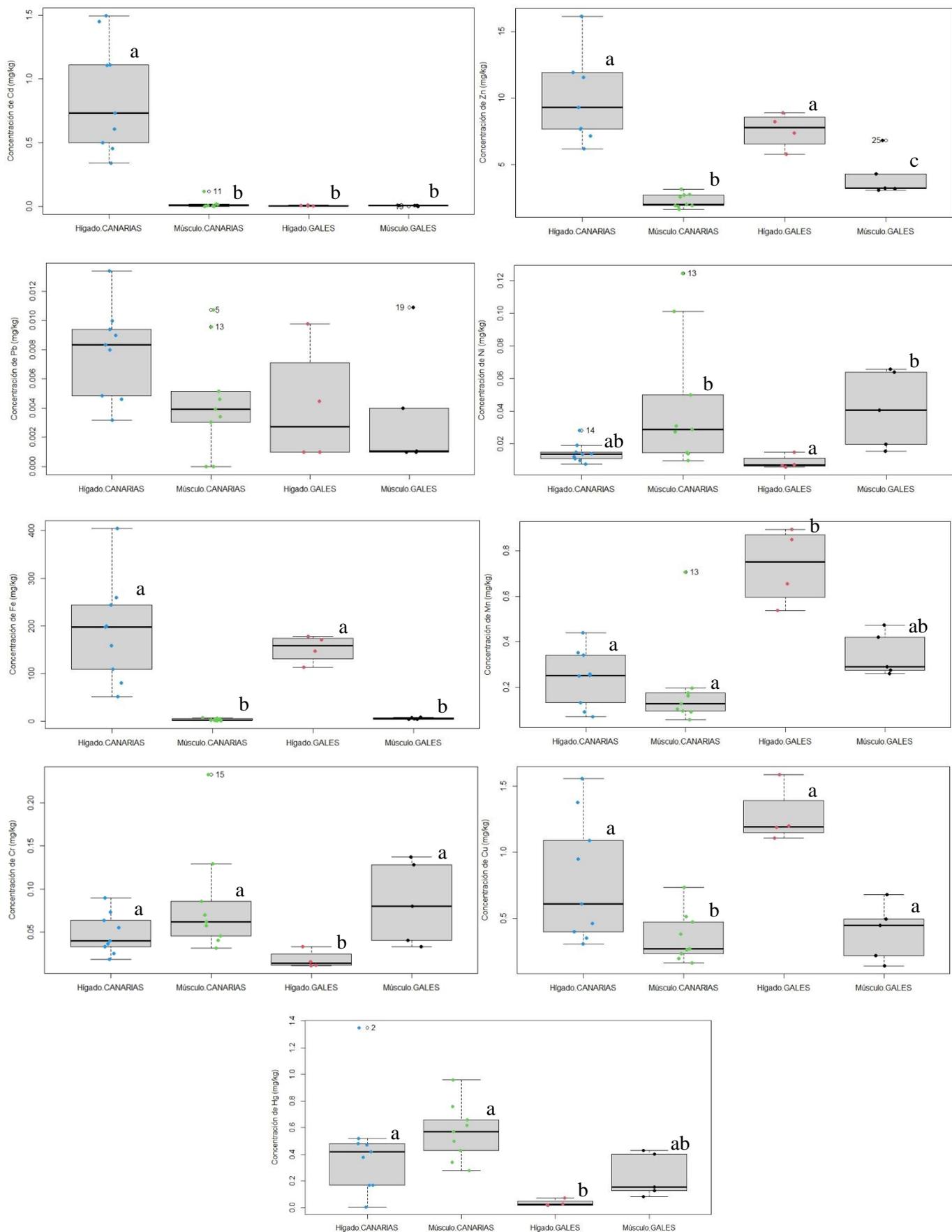


Figura 8: Boxplot entre los tejidos (hígado y músculo) de las dos localizaciones (Canarias y Gales) y la concentración de metales observada ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Las letras encima del boxplot marcan los grupos de variancia homogénea, según un test posthoc (TukeyHSD).

Comparando los ejemplares del Archipiélago Canario y los del mar de Irlanda y Gales, podemos observar que entre tejidos sí hay diferencias entre las concentraciones de metales, constatando las diferencias intraespecífica (Rumbold et al., 2014), debido a un efecto del hábitat. Aunque el número de muestras de Gales es menor al de Canarias, y los individuos no eran adultos, y no se sabe exactamente el tamaño de estos. Por esto no se ha podido estudiar las medidas biométricas como fuente de variación de los metales pesados entre ambas poblaciones. Aunque en las muestras de Canarias se ha podido observar que las concentraciones no estaban correlacionadas con la talla o el peso de los ejemplares, se considera que aun así puede ser una fuente de variación debido al rango de tallas y peso estudiado es muy estrecho.

Se han observado diferencias entre los ejemplares de ambos sitios en la concentración de Hg, Cr y Cd en el hígado, siendo en todos los casos la concentración de Canarias mucho superior a la de Gales. Esto podría indicar que las condiciones ambientales, la concentración base de metales o contaminantes en el agua y el sedimento o la posición trófica en ambas zonas y las dietas de los tiburones, pueden condicionar la concentración de metales en los tejidos de éstos (Rumbold et al., 2014; Amezcua et al., 2022). Por otra parte, en el caso del Zn se han observado diferencias entre la concentración en el músculo de ambas zonas de estudio, habiendo más concentración de este metal en los ejemplares de Gales. Se han observado diferencias parecidas en otros trabajos, relacionándose las diferencias con la alimentación más que con el hábitat (Marcovecchio et al., 1991), o con el tamaño de los ejemplares (Endo et al., 2015).

La diferencia observada entre ambos sitios podría deberse a la contaminación de metales en cada zona, siendo mayor en el Mar de Irlanda. En Canarias debido a su ubicación geográfica y las corrientes dominantes, puede que la contaminación antrópica se vea mucho más apaciguada que en el Mar de Irlanda, que es una zona más cerrada y con menos difusión potencial. Otro factor que puede influir es la temperatura del agua (Mohan et al., 2018). También podría estar influida por su dieta o la concentración de metales en los organismos de niveles inferiores o productores. Un estudio de los hábitos tróficos de ambas poblaciones, juntamente con una comparación de las concentraciones ambientales, disuelta y sedimentos, ayudaría a entender las diferencias observadas.

### 3.6 Análisis multivariante de la presencia de metales en los tejidos de *S. squatina*

La distribución de las muestras en un espacio de ordenación multidimensional (PCA) muestra claramente la importancia del tejido por encima de la distribución geográfica de los individuos como elemento principal de las diferencias observadas. En el análisis de componentes principales, las dos primeras dimensiones PCA1 y PCA2, contribuyen a la explicación del 39,5 y 27,9% de la variabilidad (Figura 9). Las muestras se distribuyen claramente en dos grupos, uno de los cuales corresponde a las muestras de músculo (M) y el otro a las de hígado (L). Se puede observar que la localización de los individuos capturados no es significativa. La distribución de las muestras obedece a variaciones significativas principalmente en la concentración de cromo, más elevadas en las muestras de músculo, de zinc, de cadmio y de hierro, más abundantes en las muestras de hígado, tal y como se aprecia en la dirección de los vectores. Por último, destacar la posición de la muestra G.L1 muy alejada del resto. Se trata de una muestra de hígado de un individuo prenatal con concentraciones de Cu, Mn, Pb y Ni mucho más elevadas que en el resto de las muestras (Figura 10).

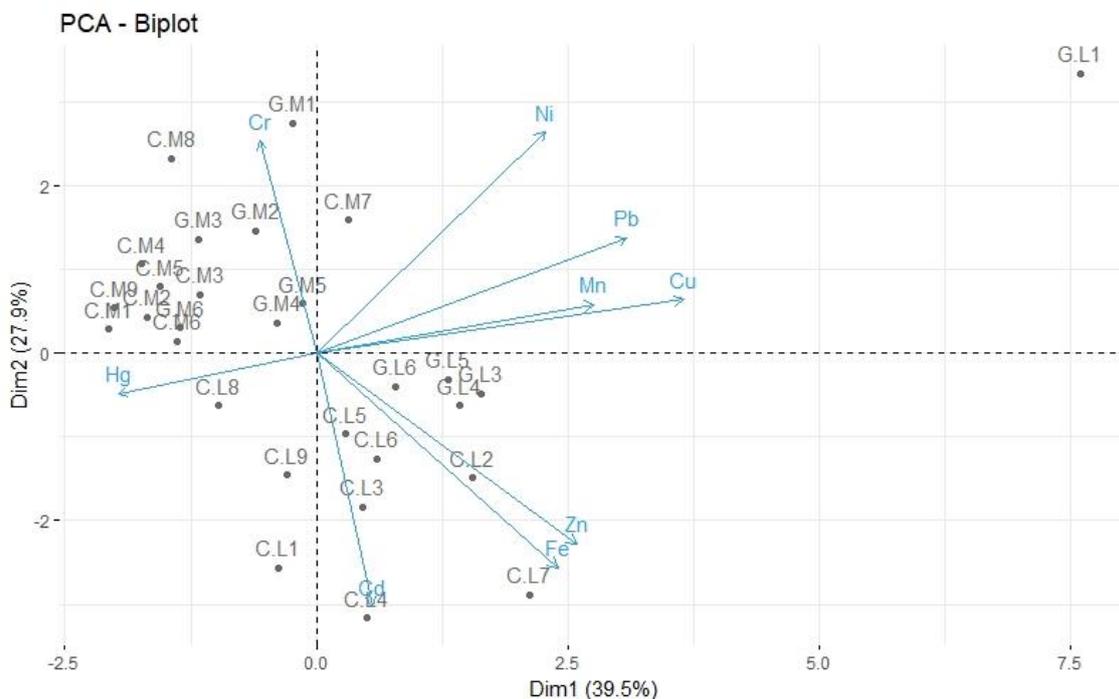


Figura 9: PCA de dos dimensiones con los distintos ejemplares y la concentración de metales presentes en sus tejidos. Por el tejido se utilizó la L por el hígado y la M por el músculo blanco, y por la procedencia la C si se encontraron en el Archipiélago Canario y la G si son ejemplares de Gales. Por lo tanto el G.L1 corresponde al hígado del ejemplar 1 de Gales.

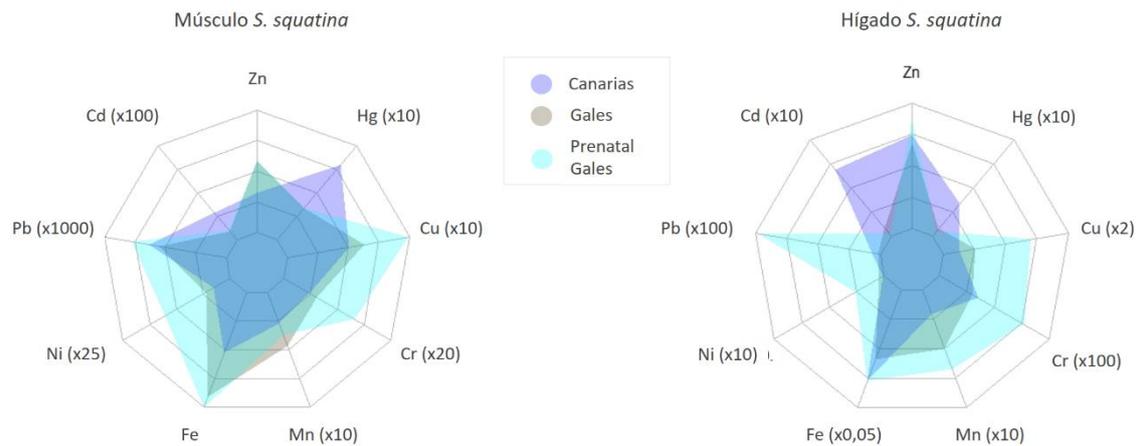


Figura 10: Gráfico radial de la concentración de Zn, Hg, Cu, Cr, Mn, Fe, Ni, Pb y Cd en el músculo y el hígado de *Squatina squatina* en los individuos de Canarias, Gales y el individuo prenatal. En paréntesis el factor aplicado a la concentración actual para adaptar los valores a la visualización de estos. Representación de la concentración con valores máximos de  $7 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$  en el músculo y de  $13 \text{ mg} \cdot \text{Kg}^{-1}$  en el hígado.

Es interesante resaltar que, aunque lamentablemente se trata de un solo ejemplar, La concentración de Hg en el G.1 es mucho menor (en hígado y músculo, Figura 10) que, en los ejemplares adultos, dando a entender que este metal sí se bioacumularía en los tejidos de *S. squatina* durante el desarrollo de los individuos tal y cómo se ha observado en otros elasmobranquios (Rumbold et al., 2014; Endo et al., 2016). Por lo contrario, la concentración de Ni, Mn y Cu era mucho más elevada en el ejemplar prenatal que en los ejemplares adultos, viendo un descenso de estas concentraciones con el aumento del tiempo y crecimiento de los ejemplares. Esta variación en la composición de metales en el individuo prenatal nos permite sugerir que la edad (y por tanto su tamaño) de los individuos podría ser también relevante en la acumulación de metales en los tejidos de *S. squatina*, aunque esta posibilidad no se ha podido documentar bibliográficamente. Un estudio de la concentración de metales en individuos con un rango de tallas y condiciones de desarrollo más elevado sería necesario para confirmar estos resultados. En otras especies de tiburones se ha observado que la concentración de Cu tiende a decrecer con el crecimiento de los ejemplares (Endo et al., 2008). Tanto el Ni cómo el Mn puede presentar un patrón similar con el crecimiento, bibliográficamente algunos autores dicen que estos metales no presentan relaciones con el tamaño de los ejemplares (Cornish et al., 2007).

#### 4. CONCLUSIONES

El presente estudio es el primero en analizar en el Archipiélago Canario los elementos traza y los metales pesados en el músculo y hígado de *S. squatina*. Este pretende abrir un nuevo frente de estudio en la conservación y protección de esta especie emblemática en las Islas Canarias.

- El sexo de los individuos no parece influir en la concentración de metales pesados en el hígado o músculo de *S. squatina*.
- La concentración de metales se correlaciona negativamente en el hígado con las medidas biométricas, peso y talla, y positivamente en el músculo. Diferencias debidas principalmente a la fisiología de ambos órganos y su función de reservorio o filtraje.
- Se observan diferencias entre las concentraciones de Cd, Cr y Hg en el hígado de las poblaciones de Gales y Canarias, y en las concentraciones de Zn en el músculo entre ambas poblaciones. Viendo que la localización y ambiente modula las concentraciones de metales dentro de poblaciones de una misma especie.
- Las concentraciones de individuos prenatales son completamente distintas a la de los adultos, siendo la de estos mayores en el caso de Pb, Ni, Cr, Cu y Mn, viendo una correlación negativa de las concentraciones con el crecimiento. En las concentraciones de Cd, Zn y Hg, se observa una bioacumulación o biomagnificación de estos en los tejidos de *S. squatina* durante el desarrollo.
- Un mayor número de muestras, con un rango de tallas y edades más amplio sería recomendable para poder determinar con mayor precisión el proceso de bioacumulación de estos metales.

## 5. AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi agradecimiento a Ángel por su tutorización. Su invaluable ayuda, paciencia, correcciones y consejos han sido fundamentales para la redacción de esta memoria. Estoy sinceramente agradecido por la oportunidad de trabajar en el laboratorio del área de toxicología de la Universidad de La Laguna y por todo lo que he aprendido y absorbido durante mi tiempo allí, tanto en el análisis de datos como en la redacción de la memoria.

Además, agradecer a Mike y a todo el equipo de ASP:CI por brindarme esta maravillosa oportunidad de trabajar con muestras de *Squatina squatina*. Po poder haber participado en sus campañas y agradezco su paciencia al responder a mis innumerables preguntas. También quiero mencionar y agradecer a Héctor y David por sus correcciones y su ayuda en varias partes de este trabajo.

Asimismo, quiero agradecer aal equipo de ASP:Gales, a Jo, Charlotte y Eva, quienes amablemente compartieron conmigo los resultados de los análisis de metales pesados previamente realizados en las muestras del Mar de Irlanda, así como a todos los centros que colaboraron y contribuyeron a la realización de estos análisis.

Una mención especial para Andrea y Dani, quienes estuvieron presentes todos los días en el laboratorio, asegurándose de que todos los protocolos se llevaran a cabo sin problemas.

Por último, quiero agradecer a mi familia por su apoyo incondicional, su ayuda y por facilitar la realización de este trabajo.

¡Muchas gracias a todos por su apoyo y confianza!

Este proyecto de máster se ha realizado con el apoyo económico del Departamento y área de Toxicología de la Universidad de la Laguna, el Angel Shark Project ([angelsharkproject.com](http://angelsharkproject.com)), la Universidad de las Palmas de Gran Canaria y el IUSA, el proyecto SIARC ([projectsiarc.com](http://projectsiarc.com)) y los Laboratorios CEFAS.



## 6. BIBLIOGRAFIA

- Adel, M., Mohammadmoradi, K., and Ley-Quíñonez, C. P. (2017). Trace element concentrations in muscle tissue of milk shark, (*Rhizoprionodon acutus*) from the Persian Gulf. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 5933–5937. doi: 10.1007/s11356-016-8358-6.
- Adel, M., Oliveri Conti, G., Dadar, M., Mahjoub, M., Copat, C., and Ferrante, M. (2016). Heavy metal concentrations in edible muscle of whitecheek shark, *Carcharhinus dussumieri* (elasmobranchii, chondrichthyes) from the Persian Gulf: A food safety issue. *Food Chem. Toxicol.* 97, 135–140. doi: 10.1016/j.fct.2016.09.002.
- Ali, H., and Khan, E. (2018). What are heavy metals? Long-standing controversy over the scientific use of the term ‘heavy metals’—proposal of a comprehensive definition. *Toxicol. Environ. Chem.* 100, 6–19. doi: 10.1080/02772248.2017.1413652.
- Amezcuca, F., Ruelas-Inzunza, J., Coiraton, C., Spanopoulos-Zarco, P., and Páez-Osuna, F. (2022). A Global Review of Cadmium, Mercury, and Selenium in Sharks: Geographical Patterns, Baseline Levels and Human Health Implications. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 260. doi: 10.1007/s44169-021-00006-2.
- Aslam, S., and Yousafzai, A. M. (2017). Chromium toxicity in fish: A review article. ~ 1483 ~ *J. Entomol. Zool. Stud.* 5, 1483–1488.
- Barker, J., Bartoli, A., Clark, M., Dulvy, N. K., Gordon, C., Hood, A., et al. (2016). Plan de Acción para el Angelote en las Islas Canarias. Available at: <http://www.submon.org/wp-content/uploads/2017/03/Plan-de-Accion-para-el-Angelote-en-las-Islas-Canarias.pdf>.
- Barrera-García, A., O’Hara, T., Galván-Magaña, F., Méndez-Rodríguez, L. C., Castellini, J. M., and Zenteno-Savín, T. (2013). Trace elements and oxidative stress indicators in the liver and kidney of the blue shark (*Prionace glauca*). *Comp. Biochem. Physiol. - A Mol. Integr. Physiol.* 165, 483–490. doi: 10.1016/j.cbpa.2013.01.024.
- Bergés-Tiznado, M. E., Márquez-Farías, F., Lara-Mendoza, R. E., Torres-Rojas, Y. E., Galván-Magaña, F., Bojórquez-Leyva, H., et al. (2015). Mercury and selenium in muscle and target organs of scalloped hammerhead Sharks *sphyrna lewini* of the se gulf of California: Dietary intake, molar ratios, loads, and human health risks. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 69, 440–452. doi: 10.1007/s00244-015-0226-8.
- Bijvelds, M. J. C., Van Der Velden, J. A., Kolar, Z. I., and Flik, G. (1998). Magnesium transport in freshwater teleosts. *J. Exp. Biol.* 201, 1981–1990. doi: 10.1242/jeb.201.13.1981.
- Bricker, N. S., Guerra, L., Klahr, S., Beaman, W., and Marchena, C. (1968). Sodium transport and metabolism by erythrocytes of the dogfish shark. *Am. J. Physiol.* 215, 383–388. doi: 10.1152/ajplegacy.1968.215.2.383.
- Brooks, E. J., Mandelman, J. W., Sloman, K. A., Liss, S., Danylchuk, A. J., Cooke, S. J., et al. (2012). The physiological response of the Caribbean reef shark (*Carcharhinus perezii*) to longline capture. *Comp. Biochem. Physiol. - A Mol. Integr. Physiol.* 162, 94–100. doi: 10.1016/j.cbpa.2011.04.012.

- BURROWS, G. D. (1986). The History of Lithium Therapy; The Psychopharmacology of Lithium. *Am. J. Psychiatry* 143, 1052–1053. doi: 10.1176/ajp.143.8.1052-a.
- Bury, N., and Grosell, M. (2003). Iron acquisition by teleost fish. in *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 97–105. doi: 10.1016/S1532-0456(03)00021-8.
- Bustamante, P., Caurant, F., Fowler, S. W., and Miramand, P. (1998). Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the north-east Atlantic Ocean. *Sci. Total Environ.* 220, 71–80. doi: 10.1016/S0048-9697(98)00250-2.
- Castro-González, M. I., and Méndez-Armenta, M. (2008). Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 26, 263–271. doi: 10.1016/j.etap.2008.06.001.
- Cordero-Maldonado, C., and Espinoza, P. (2022). Cadmium and lead levels in muscle tissue of blue shark (*Prionace glauca*) in the Southeastern Pacific Waters. *Mar. Pollut. Bull.* 177. doi: 10.1016/j.marpolbul.2022.113523.
- Cornish, A. S., Ng, W. C., Ho, V. C. M., Wong, H. L., Lam, J. C. W., Lam, P. K. S., et al. (2007). Trace metals and organochlorines in the bamboo shark *Chiloscyllium plagiosum* from the southern waters of Hong Kong, China. *Sci. Total Environ.* 376, 335–345. doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.01.070.
- Cowey, C. B., Knox, D., Adron, J. W., George, S., and Pirie, B. (1977). The production of renal calcinosis by magnesium deficiency in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Br. J. Nutr.* 38, 127–135. doi: 10.1079/bjn19770068.
- Dapp, D. R., Huveneers, C., Walker, T. I., Drew, M., and Reina, R. D. (2016). Moving from measuring to predicting bycatch mortality: Predicting the capture condition of a longline-caught pelagic shark. *Front. Mar. Sci.* 2. doi: 10.3389/fmars.2015.00126.
- Daraei, M., Kalantari, H., and Khoragani, Z. N. (2021). Determining the Lithium and Calcium Concentrations in Canned Tuna Fish in Iran. *Int. J. Chem.* 13, 35. doi: 10.5539/ijc.v13n2p35.
- Delshad, S. T., Mousavi, S. A., Islami, H. rajabi, and Pazira, A. (2012). Mercury concentration of the whitecheek shark, *carcharhinus dussumieri* (elasmobranchii, chondrichthyes), and its relation with length and sex. *Panam. J. Aquat. Sci.* 7, 135–142.
- Dhanakumar, S., Solaraj, G., and Mohanraj, R. (2015). Heavy metal partitioning in sediments and bioaccumulation in commercial fish species of three major reservoirs of river Cauvery delta region, India. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 113, 145–151. doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.11.032.
- Dulvy, N. K., Fowler, S. L., Musick, J. A., Cavanagh, R. D., Kyne, P. M., Harrison, L. R., et al. (2014). Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *Elife* 3. doi: 10.7554/elife.00590.
- Edel, J., and Sabbioni, E. (1993). Accumulation, distribution and form of vanadate in the tissues and organelles of the mussel *Mytilus edulis* and the goldfish *Carassius auratus*. *Sci. Total Environ.* 133, 139–151. doi: 10.1016/0048-9697(93)90118-P.

- Eisler, R. (1993). Zinc hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. *Biol. Rep. - US Fish Wildl. Serv.* 10.
- Ellis, J. R., Barker, J., McCully Phillips, S. R., Meyers, E. K. M., and Heupel, M. (2021). Angel sharks (Squatinae): A review of biological knowledge and exploitation. *J. Fish Biol.* 98, 592–621. doi: 10.1111/jfb.14613.
- Endo, T., Hisamichi, Y., Haraguchi, K., Kato, Y., Ohta, C., and Koga, N. (2008). Hg, Zn and Cu levels in the muscle and liver of tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*) from the coast of Ishigaki Island, Japan: Relationship between metal concentrations and body length. *Mar. Pollut. Bull.* 56, 1774–1780. doi: 10.1016/j.marpolbul.2008.06.003.
- Endo, T., Kimura, O., Ogasawara, H., Ohta, C., Koga, N., Kato, Y., et al. (2015). Mercury, cadmium, zinc and copper concentrations and stable isotope ratios of carbon and nitrogen in tiger sharks (*Galeocerdo cuvier*) culled off Ishigaki Island, Japan. *Ecol. Indic.* 55, 86–93. doi: 10.1016/j.ecolind.2015.03.008.
- Endo, T., Kimura, O., Ohta, C., Koga, N., Kato, Y., Fujii, Y., et al. (2016). Metal Concentrations in the Liver and Stable Isotope Ratios of Carbon and Nitrogen in the Muscle of Silvertip Shark (*Carcharhinus albimarginatus*) Culled off Ishigaki Island, Japan: Changes with Growth. *PLoS One* 11. doi: 10.1371/journal.pone.0147797.
- Eschmeyer, W. N., Fricke, R., and van der Laan, R. (2017). CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES, REFERENCES. *Eschmeyer's Cat. Fishes* 3882.
- Escobar-Sánchez, O., Ruelas-Inzunza, J., Moreno-Sánchez, X. G., Romo-Piñera, A. K., and Frías-Espericueta, M. G. (2016). Mercury Concentrations in Pacific Angel Sharks (*Squatina californica*) and Prey Fishes from Southern Gulf of California, Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 96, 15–19. doi: 10.1007/s00128-015-1708-0.
- Escobar-Sánchez, O., Ruelas-Inzunza, J., Patrón-Gómez, J. C., and Corro-Espinosa, D. (2014). Mercury levels in myliobatid stingrays (Batoidea) from the Gulf of California: Tissue distribution and health risk assessment. *Environ. Monit. Assess.* 186, 1931–1937. doi: 10.1007/s10661-013-3506-7.
- Fard, N. J. H., Ravanbakhsh, M., Ramezani, Z., Ahmadi, M., Angali, K. A., and Javid, A. Z. (2015). Determination of mercury and vanadium concentration in *Johnius belangerii* (C) fish in Musa estuary in Persian Gulf. *Mar. Pollut. Bull.* 97, 499–505. doi: 10.1016/j.marpolbul.2015.05.036.
- Fazio, F., Saoca, C., Sanfilippo, M., Capillo, G., Spanò, N., and Piccione, G. (2019). Response of vanadium bioaccumulation in tissues of *Mugil cephalus* (Linnaeus 1758). *Sci. Total Environ.* 689, 774–780. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.06.476.
- Fischer, J., Erikstein, K., D'Offay, B., Guggisberg, S., and Barone, M. (2012). Review of the implementation of the international plan of action for the conservation and management of sharks. *FAO Fish. Aquac. Circ.*, 120.
- Fordtran, J. S., Morawski, S. G., and Santa Ana, C. A. (1985). Effect of magnesium on active and passive sodium transport in the human ileum. *Gastroenterology* 89. doi: 10.1016/0016-5085(85)90208-2.

- Fouts, W. R., and Nelson, D. R. (1999). Prey capture by the pacific angel shark, *Squatina californica*: Visually mediated strikes and ambush-site characteristics. *Copeia*, 304–312. doi: 10.2307/1447476.
- Gagnon, C., Pelletier, É., and Mucci, A. (1997). Behaviour of anthropogenic mercury in coastal marine sediments. *Mar. Chem.* 59, 159–176. doi: 10.1016/S0304-4203(97)00071-6.
- Glover, J. W. (1979). Concentrations of Arsenic, Selenium and Ten Heavy Metals in School Shark, *Galeorhinus Australis* (Macleay), and Gummy Shark, *Mustelus Antarcticus günther*, from South-Eastern Australian Waters. *Mar. Freshw. Res.* 30, 505–510. doi: 10.1071/MF9790505.
- Gordon, C. A. (2022). *A guide to angel shark identification*. First. The Shark Trust, United Kingdom. Available at: <https://www.sharktrust.org/>.
- Greig, R. A., Wenzloff, D., and Shelpuk, C. (1975). Mercury concentrations in fish, North Atlantic offshore waters 1971. *Pestic. Monit.* 9.
- Groves, J. T. (1984). A Review of: “Zinc Enzymes. Volume 5 in the Metals in Biology Series; T. G. Spiroed., Wiley-Interscience, New York, 1983, ix + 359 pp., \$89.95.” *Synth. React. Inorg. Met. Chem.* 14, 433–434. doi: 10.1080/00945718408055900.
- Hornung, H., Krom, M. D., Cohen, Y., and Bernhard, M. (1993). Trace metal content in deep-water sharks from the eastern Mediterranean Sea. *Mar. Biol.* 115, 331–338. doi: 10.1007/BF00346351.
- Hurtado-Banda, R., Gomez-Alvarez, A., Márquez-Farías, J. F., Cordoba-Figueroa, M., Navarro-García, G., and Medina-Juárez, L. Á. (2012). Total mercury in liver and muscle tissue of two coastal sharks from the Northwest of Mexico. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 88, 971–975. doi: 10.1007/s00128-012-0623-x.
- Jiménez-Alvarado, D., Meyers, E. K. M., Caro, M. B., Sealey, M. J., and Barker, J. (2020). Investigation of juvenile angelshark (*Squatina squatina*) habitat in the Canary Islands with recommended measures for protection and management. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 30, 2019–2025. doi: 10.1002/aqc.3337.
- Kim, S. W., Han, S. J., Kim, Y., Jun, J. W., Giri, S. S., Chi, C., et al. (2019). Heavy metal accumulation in and food safety of shark meat from Jeju island, Republic of Korea. *PLoS One* 14. doi: 10.1371/journal.pone.0212410.
- Kühlmann, D. H. H. (1986). L. J. V. Compagno: FAO Species Catalogue. Vol. 4, Sharks of the world. An Annotated and Illustrated Catalogue of Shark Species Known to Date. Part 1 — Hexanchiformes to Lamniformes. = FAO Fisheries Synopsis No. 125, Vol. 4, Part 1, 249 S., Rome: Food and . *Int. Rev. der gesamten Hydrobiol. und Hydrogr.* 71, 295–295. doi: 10.1002/iroh.19860710229.
- Kumar, P., and Singh, A. (2010). Cadmium toxicity in fish: An overview. *Environ. Health Perspect.* 1, 41–47. Available at: [http://gerfbb.com/images/upload/article/pdf/1387124116\\_Puneet and anu Dec 2010.pdf](http://gerfbb.com/images/upload/article/pdf/1387124116_Puneet%20and%20anu%20Dec%202010.pdf).
- Kütter, V. T., Mirlean, N., Baisch, P. R., Kütter, M. T., and Silva-Filho, E. V. (2009). Mercury in freshwater, estuarine, and marine fishes from Southern Brazil and its ecological implication. *Environ. Monit. Assess.* 159. doi: 10.1007/s10661-008-

0610-1.

- Last, P. R., and White, W. T. (2008). Three new angel sharks (Chondrichthyes: Squatinidae) from the Indo-Australian region. *Zootaxa*, 1–26. doi: 10.11646/zootaxa.1734.1.1.
- Lawson, J. M., Pollom, R. A., Gordon, C. A., Barker, J., Meyers, E. K. M., Zidowitz, H., et al. (2020). Extinction risk and conservation of critically endangered angel sharks in the Eastern Atlantic and Mediterranean Sea. *ICES J. Mar. Sci.* 77, 12–29. doi: 10.1093/icesjms/fsz222.
- Lee, J. W., Choi, H., Hwang, U. K., Kang, J. C., Kang, Y. J., Kim, K. Il, et al. (2019). Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 68, 101–108. doi: 10.1016/j.etap.2019.03.010.
- Lippmann, M., and Leikauf, G. D. (2020). *Environmental toxicants: Human exposures and their health effects*. doi: 10.1002/9781119438922.
- Lopez, S. A., Abarca, N. L., and Meléndez, C. R. (2013). Heavy metal concentrations of two highly migratory sharks (*Prionace glauca* and *Isurus oxyrinchus*) in the southeastern Pacific waters: Comments on public health and conservation. *Trop. Conserv. Sci.* 6, 126–137. doi: 10.1177/194008291300600103.
- Lozano-Bilbao, E., Lozano, G., Gutiérrez, Á. J., Rubio, C., and Hardisson, A. (2018). Mercury, cadmium, and lead content in demersal sharks from the Macaronesian islands. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 25, 21251–21256. doi: 10.1007/s11356-018-2550-9.
- Manire, C., Hueter, R., Hull, E., and Spieler, R. (2001). Serological Changes Associated with Gill-Net Capture and Restraint in Three Species of Sharks. *Trans. Am. Fish. Soc.* 130, 1038–1048. doi: 10.1577/1548-8659(2001)130<1038:scawgn>2.0.co;2.
- Marcovecchio, J. E., Moreno, V. J., and Perez, A. (1988). Determination of heavy metal concentrations in biota of Bahía Blanca, Argentina. *Sci. Total Environ.* 75. doi: 10.1016/0048-9697(88)90031-9.
- Marcovecchio, J. E., Moreno, V. J., and Pérez, A. (1991). Metal accumulation in tissues of sharks from the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Mar. Environ. Res.* 31, 263–274. doi: 10.1016/0141-1136(91)90016-2.
- Mársico, E. T., Machado, M. E. S., Knoff, M., and São Clemente, S. C. (2007). Total mercury in sharks along the southern Brazilian Coast. *Arq. Bras. Med. Vet. e Zootec.* 59, 1593–1596. doi: 10.1590/S0102-09352007000600039.
- Martínez-Ayala, J. C., Galván-Magaña, F., Tripp-Valdez, A., Marmolejo-Rodríguez, A. J., Piñón-Gimate, A., Huerta-Díaz, M. A., et al. (2022). Heavy metal concentrations in the Pacific sharpnose shark *Rhizoprionodon longurio* from the Santa Rosalia mining zone, Baja California Sur, Mexico. *Mar. Pollut. Bull.* 182. doi: 10.1016/j.marpolbul.2022.114018.
- Martins, M. F., Costa, P. G., Gadig, O. B. F., and Bianchini, A. (2021). Metal contamination in threatened elasmobranchs from an impacted urban coast. *Sci. Total Environ.* 757. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.143803.
- McMeans, B. C., Borgå, K., Bechtol, W. R., Higginbotham, D., and Fisk, A. T. (2007).

- Essential and non-essential element concentrations in two sleeper shark species collected in arctic waters. *Environ. Pollut.* 148, 281–290. doi: 10.1016/j.envpol.2006.10.039.
- Mendil, D., Demirci, Z., Tuzen, M., and Soylak, M. (2010). Seasonal investigation of trace element contents in commercially valuable fish species from the Black sea, Turkey. *Food Chem. Toxicol.* 48, 865–870. doi: 10.1016/j.fct.2009.12.023.
- Merly, L., Lange, L., Meÿer, M., Hewitt, A. M., Koen, P., Fischer, C., et al. (2019). Blood plasma levels of heavy metals and trace elements in white sharks (*Carcharodon carcharias*) and potential health consequences. *Mar. Pollut. Bull.* 142, 85–92. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.03.018.
- Meyers, E. K. M., Tuya, F., Barker, J., Jiménez Alvarado, D., Castro-Hernández, J. J., Haroun, R., et al. (2017). Population structure, distribution and habitat use of the Critically Endangered Angelshark, *Squatina squatina*, in the Canary Islands. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 27, 1133–1144. doi: 10.1002/aqc.2769.
- Mohan, J. A., Miller, N. R., Herzka, S. Z., Sosa-Nishizaki, O., Kohin, S., Dewar, H., et al. (2018). Elements of time and place: Manganese and barium in shark vertebrae reflect age and upwelling histories. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 285. doi: 10.1098/rspb.2018.1760.
- Morris, R. J., Law, R. J., Allchin, C. R., Kelly, C. A., and Fileman, C. F. (1989). Metals and organochlorines in dolphins and porpoises of Cardigan Bay, West Wales. *Mar. Pollut. Bull.* 20. doi: 10.1016/0025-326X(89)90140-9.
- Narvaez, K. (2012). Aspectos biológicos y ecológicos del tiburón ángel ‘*Squatina squatina*’ (Linnaeus 1758) en la isla de Gran Canaria. Available at: <http://hdl.handle.net/10553/16293>.
- Nielsen, F. H. (2008). Is boron nutritionally relevant? *Nutr. Rev.* 66, 183–191. doi: 10.1111/j.1753-4887.2008.00023.x.
- Olmedo, P., Hernández, A. F., Pla, A., Femia, P., Navas-Acien, A., and Gil, F. (2013). Determination of essential elements (copper, manganese, selenium and zinc) in fish and shellfish samples. Risk and nutritional assessment and mercury-selenium balance. *Food Chem. Toxicol.* 62, 299–307. doi: 10.1016/j.fct.2013.08.076.
- Pagenkopf, G. K. (1983). Gill Surface Interaction Model for Trace-Metal Toxicity to Fishes: Role of Complexation, pH, and Water Hardness. *Environ. Sci. Technol.* 17, 342–347. doi: 10.1021/es00112a007.
- Palmiter, R. D. (1998). The elusive function of metallothioneins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 8428–8430. doi: 10.1073/pnas.95.15.8428.
- Pancaldi, F., Páez-Osuna, F., Soto-Jiménez, M. F., Whitehead, D. A., González-Armas, R., Vázquez-Haikin, A., et al. (2021). Concentrations of Silver, Chrome, Manganese and Nickel in Two Stranded Whale Sharks (*Rhincodon typus*) from the Gulf of California. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 107, 827–832. doi: 10.1007/s00128-021-03244-1.
- Pasqualetti, S., Banfi, G., and Mariotti, M. (2013). The effects of strontium on skeletal development in zebrafish embryo. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 27, 375–379. doi: 10.1016/j.jtemb.2013.06.002.

- Perez-Benito, J. F. (2006). Effects of chromium(VI) and vanadium(V) on the lifespan of fish. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 20, 161–170. doi: 10.1016/j.jtemb.2006.04.001.
- Pethybridge, H., Cossa, D., and Butler, E. C. V. (2010). Mercury in 16 demersal sharks from southeast Australia: Biotic and abiotic sources of variation and consumer health implications. *Mar. Environ. Res.* 69, 18–26. doi: 10.1016/j.marenvres.2009.07.006.
- Poong, J. H., Tee, L. S., Tan, E., Yip, T. H., Ramli, M. H., Hassan, A. R. A., et al. (2020). Level of heavy metals in bamboo sharks (*Chiloscyllium* sp.) in straits of malacca, malaysia. *Malaysian J. Anal. Sci.* 24, 546–557.
- Ragsdale, S. W. (1998). Nickel biochemistry. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 2, 208–215. doi: 10.1016/S1367-5931(98)80062-8.
- Reigh, R. C., Robinson, E. H., and Brown, P. B. (1991). Effects of Dietary Magnesium on Growth and Tissue Magnesium Content of Blue Tilapia *Oreochromis aureus*. *J. World Aquac. Soc.* 22, 192–200. doi: 10.1111/j.1749-7345.1991.tb00734.x.
- Ruelas-Inzunza, J., Escobar-Sánchez, O., Patrón-Gómez, J., Moreno-Sánchez, X. G., Murillo-Olmeda, A., Spanopoulos-Hernández, M., et al. (2013). Mercury in muscle and liver of ten ray species from Northwest Mexico. *Mar. Pollut. Bull.* 77, 434–436. doi: 10.1016/j.marpolbul.2013.09.010.
- Rumbold, D., Wasno, R., Hammerschlag, N., and Volety, A. (2014). Mercury Accumulation in Sharks From the Coastal Waters of Southwest Florida. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 67, 402–412. doi: 10.1007/s00244-014-0050-6.
- Schwieterman, G. D., Winchester, M. M., Shiels, H. A., Bushnell, P. G., Bernal, D., Marshall, H. M., et al. (2021). The effects of elevated potassium, acidosis, reduced oxygen levels, and temperature on the functional properties of isolated myocardium from three elasmobranch fishes: clearnose skate (*Rostroraja eglanteria*), smooth dogfish (*Mustelus canis*), and sandbar s. *J. Comp. Physiol. B Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 191, 127–141. doi: 10.1007/s00360-020-01328-8.
- Senthil Murugan, S., Karuppasamy, R., Poongodi, K., and Puvanewari, S. (2008). Bioaccumulation pattern of zinc in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch.) after chronic exposure. *Turkish J. Fish. Aquat. Sci.*, 55–59.
- Shiple, O. N., Lee, C. S., Fisher, N. S., Sternlicht, J. K., Kattan, S., Staaterman, E. R., et al. (2021). Metal concentrations in coastal sharks from The Bahamas with a focus on the Caribbean Reef shark. *Sci. Rep.* 11. doi: 10.1038/s41598-020-79973-w.
- Silva, P., Stoff, J., and Field, M. (1977). Mechanism of active chloride secretion by shark rectal gland: role of Na-K-ATPase in chloride transport. *Am. J. Physiol. - Ren. Fluid Electrolyte Physiol.* 2. doi: 10.1152/ajprenal.1977.233.4.f298.
- Smith, W. D., Miller, J. A., and Heppell, S. S. (2013). Elemental Markers in Elasmobranchs: Effects of Environmental History and Growth on Vertebral Chemistry. *PLoS One* 8. doi: 10.1371/journal.pone.0062423.
- Solgi, E., and Mirmohammadvali, S. (2021). Comparison of the Heavy Metals, Copper, Iron, Magnesium, Nickel, and Zinc Between Muscle and Gills of Four Benthic Fish Species from Shif Island (Iran). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 106, 658–

664. doi: 10.1007/s00128-021-03155-1.
- Soulen, B. K., Adams, D. H., and Roberts, A. P. (2019). Mercury accumulation, speciation, and temporal trends in Atlantic Stingrays (*Hypanus sabinus*). *Ecotoxicology* 28, 251–260. doi: 10.1007/s10646-018-02014-w.
- Stelbrink, B., von Rintelen, T., Cliff, G., and Kriwet, J. (2010). Molecular systematics and global phylogeography of angel sharks (genus *Squatina*). *Mol. Phylogenet. Evol.* 54, 395–404. doi: 10.1016/j.ympev.2009.07.029.
- Sures, B., Dezfuli, B. S., and Krug, H. F. (2003). The intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) interferes with the uptake and accumulation of lead (210Pb) in its fish host chub (*Leuciscus cephalus*). *Int. J. Parasitol.* 33. doi: 10.1016/S0020-7519(03)00251-0.
- Tidball, C. S. (1964). Magnesium and calcium as regulators of intestinal permeability. *Am. J. Physiol.* 206, 243–246. doi: 10.1152/ajplegacy.1964.206.1.243.
- Trulls, H., and Ortiz, M. L. (2022). Major minerals and trace elements in fresh and sea water fish meat. *Compend. Ciencias Vet.* 12, 32–42. doi: 10.18004/compend.cienc.vet.2022.12.01.32.
- Turan, F., Yola, M. L., Ergenler, A., and Turan, C. (2021). the First Assessment on Metal Contamination in the Critically Endangered Sawback Angel Shark (*Squatina Aculeata*) From North-Eastern Mediterranean. *Pakistan J. Mar. Sci.* 30.
- Türkmen, M., Tepe, Y., Türkmen, A., Kemal Sangün, M., Ateş, A., and Genç, E. (2013). Assessment of heavy metal contamination in various tissues of six ray species from İskenderun Bay, northeastern Mediterranean sea. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 90, 702–707. doi: 10.1007/s00128-013-0978-7.
- Turoczy, N. J., Laurenson, L. J. B., Allinson, G., Nishikawa, M., Lambert, D. F., Smith, C., et al. (2000). Observations on metal concentrations in three species of shark (*Deania calcea*, *Centroscymnus crepidater*, and *Centroscymnus owstoni*) from Southeastern Australian waters. *J. Agric. Food Chem.* 48, 4357–4364. doi: 10.1021/jf000285z.
- Urist, M. R. (1961). Calcium and phosphorus in the blood and skeleton of the Elasmobranchii. *Endocrinology* 69, 778–801. doi: 10.1210/endo-69-4-778.
- Vallee, B. L., and Falchuk, K. H. (1993). The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol. Rev.* 73, 79–118. doi: 10.1152/physrev.1993.73.1.79.
- Van Der Putte, I., and Pärt, P. (1982). Oxygen and chromium transfer in perfused gills of rainbow trout (*salmo gairdneri*) exposed to hexavalent chromium at two different pH levels. *Aquat. Toxicol.* 2, 31–45. doi: 10.1016/0166-445X(82)90004-2.
- Varol, M., and Sünbül, M. R. (2020). Macroelements and toxic trace elements in muscle and liver of fish species from the largest three reservoirs in Turkey and human risk assessment based on the worst-case scenarios. *Environ. Res.* 184. doi: 10.1016/j.envres.2020.109298.
- Vas, P. (1991). Trace metal levels in sharks from British and Atlantic waters. *Mar. Pollut. Bull.* 22, 67–72. doi: https://doi.org/10.1016/0025-326X(91)90138-I.

- Watanabe, T., Kiron, V., and Satoh, S. (1997). Trace minerals in fish nutrition. in *Aquaculture*, 185–207. doi: 10.1016/S0044-8486(96)01503-7.
- Webster, C. D. (2020). ‘Dietary Iron and Fish Health’, in *Nutrition and Fish Health*, 211–222. doi: 10.1201/9781439800041-19.
- Wheeler, A., Whitehead, P. J. P., Bauchot, M.-L., Hureau, J.-C., Nielsen, J., and Tortonese, E. (1986). Fishes of the North-Eastern Atlantic and the Mediterranean. Vol. 1. *Copeia* 1986, 266. doi: 10.2307/1444931.
- White, W. T., Last, P. R., and Compagno, L. J. V. (2005). Description of a new species of weasel shark, *Hemigaleus australiensis* n. sp. (Carcharhiniformes: Hemigaleidae) from Australian waters. *Zootaxa*, 37–49. doi: 10.11646/zootaxa.1077.1.3.