

Trabajo de Fin de Grado

Estudio de microplásticos en contenido estomacal de la especie pelágica Scomber colias en el Golfo de Cádiz

Autor: Gabriel Rivas Mena

Tutores: Free Espinosa Torre y Enrique González Ortigón



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

ICMAN

Instituto de Ciencias Marinas de Andalucía

Grado en Biología
Universidad de Sevilla
Curso 2021/2022



Agradecimientos

A mi familia, C y amigos por ayudarme, entenderme y servirme de apoyo, especialmente a mi madre que se encarga de que todo lo que yo me proponga lo pueda hacer realidad.

A Enrique González Ortegón y Free Espinosa Torre por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo de carácter experimental, y a Miky por ayudarme siempre que lo he necesitado.

Índice

Introducción	1
<i>El Golfo de Cádiz</i>	1
<i>Actividad humana en el Golfo de Cádiz</i>	1
<i>Microplásticos</i>	2
<i>Microplásticos en la cadena trófica</i>	3
<i>Especie de estudio</i>	4
Objetivo	5
Material y métodos	6
<i>Área de estudio</i>	6
<i>Selección de los individuos</i>	8
<i>Procesamiento de los ejemplares</i>	8
<i>Preparación del KOH</i>	9
<i>Procesamiento de los estómagos</i>	9
<i>Contaminación por microplásticos</i>	9
<i>Filtración de las muestras</i>	10
<i>Visualización de microplásticos</i>	10
<i>Análisis de datos</i>	10
Resultados	11
<i>Individuos</i>	11
<i>Contaminación</i>	11
<i>Ingestión de microplásticos</i>	12
<i>Microplásticos</i>	14
<i>Fibras</i>	15
<i>Fragmentos</i>	16
Discusión	16
Conclusión	22
Bibliografía	22



Resumen

La contaminación por microplásticos ha recibido mucha atención durante los últimos años debido a su impacto en el medio ambiente y en los organismos (incluyendo a los humanos). Los microplásticos son ingeridos con facilidad por organismos marinos debido a su pequeño tamaño (<5 mm) y pueden ser bioacumulados en la cadena trófica. Este es el primer estudio que analiza la cantidad de microplásticos ingeridos en la caballa (*Scomber colias*) en el Golfo de Cádiz. De los 58 estómagos analizados, el 93% contenía microplásticos con una media de 5,9 microplásticos/individuo. De los 747 microplásticos analizados, el 91,83% eran fibras y el 8,17% fragmentos, siendo los colores más frecuentes el negro (34%) y el azul (27%).

Introducción

El Golfo de Cádiz

El Golfo de Cádiz es una cuenca que conecta el norte del Océano Atlántico y el Mar Mediterráneo¹. La península Ibérica es el límite norte y este de la cuenca, mientras que el continente africano es el límite sur¹. El punto más al oeste del golfo es el Cabo San Vicente, el cual, debido a su topografía, cambia la línea de costa de norte a este en un ángulo casi recto, permitiendo separar el régimen oceanográfico al oeste de Portugal del régimen más propio del Golfo de Cádiz¹. El Golfo de Cádiz, que es la zona de estudio, se puede separar en cuatro zonas oceanográficas diferentes, marcadas por el Cabo Santa María y los principales ríos del Golfo de Cádiz. De tal manera que una zona sería entre el Cabo San Vicente y el Cabo Santa María, donde la plataforma continental es estrecha (15 km) y se encuentra el cañón submarino de Portimao, y las otras tres zonas marcadas por la influencia de los ríos principales, el Guadiana, Guadalquivir, Tinto y Odiel¹.

Los estudios iniciales sobre el Golfo de Cádiz en 1977 señalan tres puntos oceanográficos importantes: La zona de upwelling portugués, el frente de Huelva y el remolino de Tarifa¹.

Actividad humana en el Golfo de Cádiz

El Golfo de Cádiz es una zona con una gran importancia para la actividad humana, ha servido como asentamiento a numerosos pueblos a lo largo de la historia, es una de las zonas marítimas más transitadas por barcos del mundo² y recibe agua de cuencas fluviales densamente pobladas³. Como resultado de toda esta actividad antropogénica y de las

características oceanográficas de la zona, no es de extrañar que el Golfo de Cádiz sea la vía de entrada de plásticos al Mar Mediterráneo, donde se acumulan⁴.

Microplásticos

Los plásticos, diversos tipos de polímeros sintéticos derivados de combustibles fósiles⁵, son uno de los materiales más abundantes en el planeta. De hecho, algunos autores se refieren a la época actual como “Era del Plástico”⁶, y es que en 2015 se estimó que 8300 millones de toneladas métricas (Tm) de plásticos habrían sido producidas hasta la fecha⁷. Además, como resultado del elevado contenido de carbono que se encuentra en los plásticos, algunos autores han sugerido un ciclo geoquímico plástico-carbono⁸. Este ciclo se iniciaría con la producción industrial de polímeros de elevado peso molecular (plásticos) y terminaría con la degradación de estos en compuestos no poliméricos de bajo peso molecular⁸.

Estos desperdicios de plásticos frecuentemente terminan en vertederos o en el entorno natural⁷ expuestos a mecanismos físicos, térmicos, fotoquímicos y bioquímicos que los van degradando⁸. Los restos o partículas degradadas pueden ser transportados por el viento o el agua⁸. El 80% de los plásticos que encontramos en el mar proceden del medio terrestre⁹, mientras que el 20% restante proviene de actividades realizadas en el propio mar como la pesca, acuicultura, transporte de mercancías o extracción de petróleo⁹.

Los microplásticos son todos aquellos plásticos de tamaño inferior a 5mm¹⁰, y pueden ser primarios o secundarios. Los microplásticos primarios son aquellos que fueron directamente fabricados para ser de tamaño microscópico¹¹. Estos son propios de productos cosméticos, pellets o de algunos vectores químicos usados en medicina¹¹. Por otro lado, podemos encontrar los microplásticos secundarios, los cuales son los productos de los mecanismos de degradación mencionados anteriormente⁸. Por ejemplo, macroplásticos que son transportados por los ríos hasta los océanos¹², y se degradan y fragmentan en forma de fragmentos o de fibras, siendo estos últimos los más frecuentes en el ambiente debido a su origen textil¹³. Ligado a los microplásticos secundarios se encuentra el concepto de nanoplastico¹¹. Los nanoplasticos son aquellos microplásticos que se han degradado hasta alcanzar un tamaño menor a 1,6 μm ¹⁴. Se piensa que durante las próximas décadas existirá un aumento significativo en la presencia de nanoplasticos en los océanos debido a un mayor tiempo de exposición¹¹. El reducido peso de los microplásticos hace que se encuentren sometidos con facilidad a fenómenos de transporte

por las corrientes de aire que hace que terminen en los océanos¹², siendo las zonas costeras las más afectadas por la presencia de estos¹⁵.

Microplásticos en la cadena trófica

Un estudio reciente predice que la mayor interacción entre la biota marina y los microplásticos se dará en las zonas costeras¹⁶. Este aumento en la biodisponibilidad de los microplásticos hace que se puedan incorporar a la cadena trófica por ingestión o inhalación¹⁵. La ingestión de microplásticos depende de la concentración en el medio, tamaño, forma, distribución y características químicas, además de los hábitos alimenticios del organismo y su distribución en la columna de agua¹⁵. Los organismos filtradores como zooplancton, larvas de peces y algunas especies de peces tendrán una mayor probabilidad de ingerirlos de forma directa¹⁵. Una vez ingeridos, estos serán bioacumulables en la cadena trófica, dicho con otras palabras, un organismo de un nivel trófico superior que consuma al organismo que ha ingerido el microplástico, incorporará el microplástico indirectamente en su dieta¹⁵.

Los efectos de la ingestión de microplásticos puede causar severos problemas en la fisiología del organismo como reducción en la alimentación, inhibición del crecimiento y el desarrollo, alteraciones en el sistema endocrino, problemas energéticos, reducción en la actividad del sistema inmune, disfunción del sistema nervioso, genotoxicidad y potencialmente la muerte^{17,18,19}.

Varios estudios ya han reportado la ingestión de microplásticos en diferentes especies de peces comerciales de las costas de la península Ibérica como *Boops boops* (boga)²⁰, *Engraulis encrasicolus* (anchoa)²¹, *Sardina pilchardus* (sardina)²¹ y *Trachurus mediterraneus* (jurel)²⁰. Hay que tener en cuenta que especies como las anchoas o las sardinias representan un gran porcentaje de las capturas totales (39% en el periodo entre 2014 y 2016) en la costa sur de la península Ibérica²¹, por lo que son altamente consumidas por humanos.

De hecho, varios estudios recientes han hallado microplásticos en diferentes órganos y tejidos humanos como en intestinos²², en placentas²³ o en la sangre²⁴. En humanos, los microplásticos podrían causar inflamaciones de algunos tejidos que podrían derivar en cáncer y un aumento en la incidencia de enfermedades neurodegenerativas y en trastornos inmunitarios²⁵, aunque aún quedan por hacer estudios más profundos sobre sus efectos. Esto nos lleva a realizar este tipo de estudios para cuantificar el contenido de

microplásticos en especies comerciales. En este contexto, este estudio busca cuantificar los microplásticos en el contenido estomacal de la especie *Scomber colias* (caballa).

Especie de estudio

La especie objeto de este estudio es el tonino o caballa del sur, una especie que pertenece a los metazoos del filo *Chordata*, clase *Actinopterygii*, del orden *Perciformes*, familia *Scombridae*. Hasta hace poco, todos los estudios se referían a esta especie como *Scomber japonicus*, pero la diversidad en los datos morfológicos y genéticos ha llevado a diferenciar entre dos especies; *Scomber japonicus* en el Indo-Pacífico y *Scomber colias* en el Atlántico²⁶. Durante el trabajo nos referiremos a la especie de estudio como caballa (figura 1).

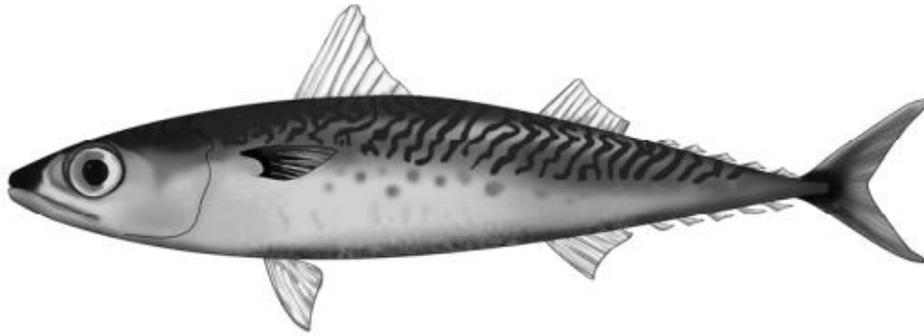


Figura 1: *Scomber colias*²⁷.

La caballa es una especie comercial que habita en aguas templadas y subtropicales del Atlántico, a profundidades que van desde cerca de la superficie hasta aproximadamente los 500 m de profundidad²⁸ (figura 2), estando estas profundidades determinadas por la disponibilidad de alimento y la etapa del ciclo de vida en la que se encuentre²⁹. Es una especie pelágica costera que se distribuye por toda la plataforma continental y puede ser encontrada en el océano Atlántico, Mar Mediterráneo y Mar Negro²⁸. En España se distribuye a lo largo de la costa sudatlántica, al oeste del estrecho de Gibraltar y por toda la costa mediterránea³⁰.

Durante la época de desove, los adultos migran desde las aguas frías más profundas del talud superior hasta las aguas templadas donde hay más alimento disponible, normalmente fitoplancton y microzooplancton²⁹. Esta época, suele durar de 3 a 5 meses y diversos estudios de poblaciones de caballa en las costas atlánticas de la península Ibérica^{31,32,33} sugieren que este periodo podría estar comprendido entre los meses del primer semestre del año.

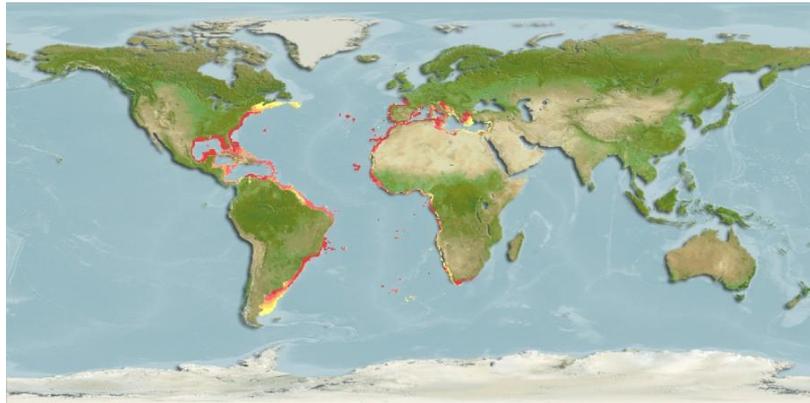


Figura 2: distribución de la especie *Scomber colias*, el rango de colores indica la probabilidad de encontrar a la especie. AquaMaps (2019, October). <https://www.aquamaps.org>.

En las zonas costeras, una vez que los juveniles llegan a la edad de primera maduración, estos siguen a los adultos hacia las zonas de alimentación en las aguas profundas del talud superior y de la plataforma continental. Estas son zonas de alimentación y de recuperación post-desove para los individuos en las fases del ciclo de vida más avanzado. Estos individuos encuentran en estas zonas una mayor disponibilidad de macroplankton y de peces adultos que les servirán de alimentos²⁸.

La caballa se encuentra en el nivel intermedio de la cadena trófica. Es un componente importante en la dieta de otras especies de peces y tiburones como *Thunnus alalunga* (atún rojo), *T. thynnus* (atún de aleta azul), *Xiphias gladius* (pez espada) y *Sphyrna zygaena* (tiburón martillo)³⁴. Al mismo tiempo, es un depredador importante de especies de copépodos, apendicularios y misidáceos, además de otras especies de peces como *Sardina pilchardus* (sardina) o *Atherina presbyter* (abichón)³⁴.

El consumo de caballa por humanos se remonta a la prehistoria y, actualmente, es una de las especies más capturadas entre los países pertenecientes a la Unión Europea debido a su alto interés nutricional³⁵. Por lo tanto, este estudio busca cuantificar el contenido estomacal de microplásticos de una de las principales especies comerciales de Europa, *Scomber colias*.

Objetivo

El fin de este estudio es:

1. Cuantificar la cantidad de microplásticos presentes en estómagos de la especie *Scomber colias* en el golfo de Cádiz.

Material y métodos

Área de estudio

Los individuos de la especie fueron recolectados durante la campaña *ECOCADIZ-RECLUTAS* en octubre del año 2020 en el Golfo de Cádiz. Se tomaron un total de 50 ejemplares al azar en los 11 lances muestreados (*tabla 1*). Los 11 lances se agruparon en cuatro zonas según los límites geográficos y características oceanográficas parecidas a lo largo del Golfo de Cádiz (*figura 3*).

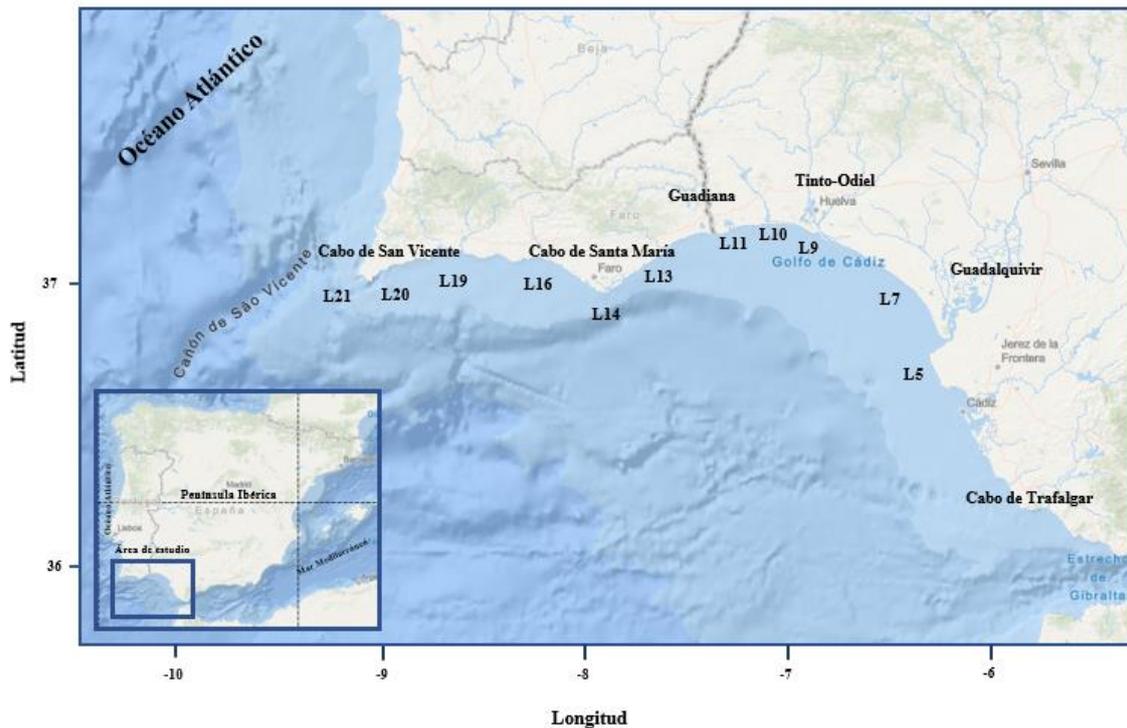


Figura 3: Mapa del área de estudio donde se muestran la localización de cada lance³⁶.

En la zona 1 se encuentran los lances L5 y L7, aquellos situados en la zona este del Golfo de Cádiz y cercanos a la desembocadura del río Guadalquivir.

En la zona 2 se encuentran los lances L9, L10 y L11, los cuales están situados al este de la desembocadura del río Guadiana y muy próximos a la desembocadura de otros ríos importantes de la provincia de Huelva como el río Odiel y el río Tinto.

En la zona 3 se encuentran los lances L13, L14 y L16, aquellos situados en el cabo de Santa María y al oeste de la desembocadura del río Guadiana.

En la zona 4 se encuentran los lances L19, L20 y L21. Esta zona se extiende desde el oeste del cabo de Santa María hasta el cabo de San Vicente, el límite occidental del Golfo de Cádiz.

Lance	Localización	Fecha	Inicio				Fin			
			Latitud	Longitud	Hora UTC	Profundidad (m)	Latitud	Longitud	Hora UTC	Profundidad (m)
L5	Chipiona	10/10/20	36°31,217'N	6°46,299'W	13:45	196	36°40,389'N	6°29,462'W	17:36	21
L7	Matalascañas	11/10/20	36°44,009'N	6°58,357'W	10:47	200	36°53,949'N	6°39,976'W	14:30	19
L9	Punta Umbría	19/10/20	36°49,732'N	7°06,459'W	08:29	192	37°04,294'N	6°56,138'W	10:16	22
L10	El Rompido	18/10/20	36°50,087'N	7°07,207'W	11:34	196	37°07,933'N	7°07,225'W	17:26	19
L11	Isla Cristina	18/10/20	37°06,884'N	7°17,218'W	06:48	21	36°53,544'N	7°17,105'W	09:58	188
L13	Tavira	12/10/20	36°57,094'N	7°37,117'W	10:41	190	37°05,207'N	7°37,223'W	13:36	16
L14	Fuzeta	14/10/20	36°59,133'N	7°47,102'W	06:40	47	36°55,462'N	7°47,020'W	07:03	197
L16	Quarteira	15/10/20	37°01,787'N	8°06,961'W	06:45	18	36°49,647'N	8°06,811'W	11:10	231
L19	Portimao	16/10/20	36°51,914'N	8°36,743'W	10:52	150	37°04,297'N	8°37,063'W	12:08	38
L20	Burgau	17/10/20	37°02,564'N	8°46,947'W	06:47	43	36°51,954'N	8°46,661'W	09:52	201
L21	Punta de Sagres	17/10/20	36°59,601'N	8°56,610'W	10:50	202	36°59,166'N	8°56,826'W	13:52	28

Tabla 1: localización y recorrido de cada lance³⁶.

Selección de los individuos

De los 550 individuos recolectados totales se seleccionaron 10 individuos por lance, haciendo un total de 110 individuos. Posteriormente, debido a que el tiempo de digestión de los estómagos fue algo más lento de los esperado, se terminaron seleccionando 58 individuos al azar (*tabla 2*), siendo esta una muestra suficientemente representativa para el estudio del Golfo de Cádiz³⁷.

Zona	Lance	NºIndividuos	Total zona
1	L5	10	
	L7	1	11
2	L9	6	
	L10	4	13
	L11	3	
3	L13	2	
	L14	7	17
	L16	8	
4	L19	3	
	L20	8	17
	L21	6	

Tabla 2: Tabla resumen del número de individuos estudiados por cada una de los lances y número de individuos totales estudiados en cada una de las cuatro zonas.

Procesamiento de los ejemplares

Todos los ejemplares fueron congelados directamente tras su captura y almacenados a -20°C hasta el análisis de microplásticos²¹.

Se seleccionaron 58 individuos de caballa con un rango de talla de entre los 18,1 a los 25,6 cm y el rango de peso desde los 45 g hasta los 142 g. El índice de condición de los individuos estaba comprendido entre 0,74 y 1. El sexo no fue determinado debido a que los ejemplares fueron capturados en el mes de octubre, mes en el que las gónadas de la caballa se encuentran aún en un desarrollo temprano que no permite diferenciar entre individuos hembras y machos³³.

Los estómagos fueron extraídos usando tijeras y pinzas de acero inoxidable. La disección fue realizada cortando a los ejemplares desde la cloaca hasta el final del

esófago, para posteriormente extraer todas las vísceras y seleccionar los estómagos que fueron pesados, lavados con agua destilada y guardados en recipientes de cristal.

Los estómagos fueron transportados a una campana de flujo vertical en cajas y el contenido estomacal fue extraído de los estómagos usando unas pinzas de acero inoxidable. Se determinó el peso del estómago vacío. El estómago se dejó junto al contenido estomacal dentro de los recipientes de cristal.

Preparación del KOH

Se preparó una solución de 124 g de hidróxido de potasio (KOH) en 1100 ml de agua destilada para digerir los estómagos extraídos. La solución se preparó en un matraz que, posteriormente, se colocaba en un agitador magnético analógico (*AGIMATIC-N*) para que el KOH se diluyese.

El KOH es una base fuerte que ha demostrado ser muy eficaz a la hora de eliminar materia orgánica³⁸, por ello ha sido utilizado en varios estudios sobre la ingestión de microplásticos³³.

Procesamiento de los estómagos

Se añadieron 80 ml de KOH 10% a cada uno de los recipientes que contenían el contenido estomacal y los estómagos vacíos, de forma que toda la materia orgánica fuese digerida y quedara únicamente la materia inorgánica. Posteriormente se agitaba la solución con una cucharilla de acero inoxidable. Finalmente, los recipientes de cristal se metieron en la estufa a una temperatura de 45°C durante un mes. Durante este mes, una o dos veces a la semana las muestras se agitaban para acelerar el proceso de digestión³⁹.

Contaminación por microplásticos

Para evitar que las muestras se contaminaran con microplásticos externos a las propias muestras, se tomaron algunas medidas de prevención. Antes de empezar todos los procesos o al cambiar de muestra, todos los materiales eran lavados con etanol 96° y agua destilada⁴⁰. Además, siempre se trabajó dentro de una campana de flujo vertical.

Aunque se tomaron precauciones, también se llevaron a cabo ciertas medidas para poder cuantificar el número de microplásticos externos. Para ello se utilizaron cuatro blancos de contaminación externa, los cuales eran recipientes de cristal que estaban rellenos de 80 ml de KOH 10%, pero no contenían estómagos y acompañaban al resto de muestras durante todos los procesos.

Por otro lado, también se usaron cuatro blancos de contaminación cruzada, los cuales cuantificarían los microplásticos procedentes de las propias muestras que podrían

haberse translocado de una muestra a otra durante el proceso de agitación. Esta translocación se produciría al haber agitado una muestra y, tras limpiar la cucharilla de acero inoxidable con agua destilada, alguno de los microplásticos de la primera muestra se hubiera podido quedar retenido en la cucharilla, de forma que pasaría a la próxima muestra. La cuantificación de este tipo de contaminación serviría para saber si ha habido una sub- o sobreestimación de microplásticos. Estos blancos de contaminación cruzada eran recipientes de cristal que estaban rellenos de 80 ml de KOH 10%, pero no contenían estómagos y acompañaban al resto de muestras durante todos los procesos. Los blancos de contaminación externa y los blancos de contaminación cruzada acompañaban a las muestras durante los procesos de agitación y en la estufa. La única diferencia entre los blancos de contaminación externa y los de contaminación cruzada era que los primeros no eran agitados durante el procesamiento de los estómagos, mientras que los últimos sí.

Filtración de las muestras

Una vez que la digestión de los estómagos se completaba (el tiempo que tardaba esto en suceder variaba entre las muestras), el contenido dentro del recipiente de cristal era filtrado con una bomba de vacío (*SELECTA SEL4001612*), usando filtros de microfibras de vidrio (*0,7 PRAT DUMMAS 90 mm de diámetro*)³⁹. Los filtros se dejaban secar a 40°C dentro de placas de Petri en la estufa por un día.

Visualización de microplásticos

Una vez secos, los filtros se visualizaban en una lupa (*NIKON SMZ25*) equipada con una cámara fotográfica (*Nikon*) para localizar y tomar fotografías de los microplásticos³⁹. Para cada uno de los microplásticos se tomaron las medidas, forma (fibra o fragmento) y color. Posteriormente, se usó un software de procesamiento de imágenes (*NIS-Elements D 5.21.03*) para medir el tamaño de los microplásticos.

Análisis de datos

La normalidad de los conjuntos de datos fue analizada realizando una prueba Shapiro-Wilk en el software *R*. Asimismo, la normalidad entre las distintas zonas fue analizada con el programa informático *IBM SPSS*. Como la distribución de los datos era normal, se realizó una prueba ANOVA para comprobar si había diferencias entre las distintas zonas.

Con el software *R* se representó gráficamente la cantidad de microplásticos ingeridos por los individuos en cada zona, así como la relación entre el número de microplásticos ingeridos y el índice de condición de los individuos (K de Fulton = $100(\text{Peso}/\text{Talla}^3)$).

Posteriormente, se usó el programa informático *PRIMER* para analizar la relación entre las diferentes variables (número, tamaño, rangos de tamaño y color) correspondientes a los microplásticos totales, fibras y fragmentos con el factor zona de estudio y la covariable talla de los individuos. Para las variables número y tamaño se realizaron análisis de similitudes (ANOSIM) y análisis multivariante de permutación de la varianza (PERMANOVA) para el factor zona, con la idea de usar un análisis por permutaciones, aunque fuera para una única variable. Con las variables rango de tamaños y color se realizaron los mismos análisis multivariantes. Para ver la contribución de cada color a cada zona de estudio se realizó un análisis del porcentaje de similitud (SIMPER).

Resultados

Individuos

Los microplásticos se encontraron en un total de 54 individuos (93%). De estos 54 individuos, en 31 (57,4%) se encontraron fragmentos de plásticos en sus estómagos y en otros 52 (96,3%) fibras. Los resultados de la correlación de Pearson para determinar la relación entre la cantidad de microplásticos ingeridos y el índice de condición de la caballa no mostraron una correlación significativa ($R = 0,16$, $p = 0,23$) (Figura 4).

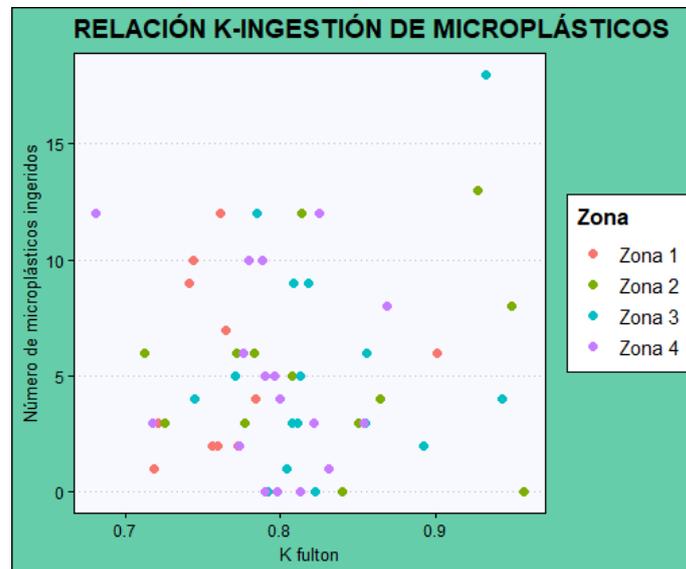


Figura 4: relación entre el número de microplásticos ingeridos y el índice de condición (K de Fulton).

Contaminación

Los cuatro blancos que utilizamos para cuantificar la contaminación de microplásticos externos tenían un promedio de $7,75 \approx 8$ microplásticos. Los resultados de la prueba ANOVA para determinar si había significancia entre el número de microplásticos que

procedían de contaminación externa y el número de microplásticos ingeridos mostraron diferencias significativas (*tabla 3*).

ANOVA de un factor

Número de microplásticos totales encontrados

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	99,113	1	99,113	5,153	,027
Intra-grupos	1154,129	60	19,235		
Total	1253,242	61			

Tabla 3: Resultados de la prueba ANOVA para determinar si había diferencia entre microplásticos externos y microplásticos ingeridos.

Por otro lado, los blancos de contaminación cruzada tenían un promedio de 9 microplásticos. Por lo que, pudimos determinar que el error cometido a la hora de cuantificar el número de microplásticos ingeridos por los individuos era de ± 1 microplástico (número de microplásticos procedentes de contaminación cruzada – número de microplásticos procedentes de contaminación externa).

Ingestión de microplásticos

El promedio de microplásticos ingeridos por los 54 individuos que presentaban microplásticos fue de $5,90 \pm 3,85$ microplásticos. Esta cifra (número de microplásticos corregidos) se obtuvo después de restar el número de microplásticos procedentes de contaminación externa al número de microplásticos encontrados en cada individuo. El número mínimo de microplásticos encontrados fue de 1, mientras que el número máximo de microplásticos ingeridos fue de 18. Tras realizar la prueba ANOVA, se determinó que no había diferencias significativas entre las distintas zonas ($p > 0,05$). El número medio de microplásticos por individuo en cada una de las zonas fue: Zona 1 = 5,27, Zona 2 = 6,27, Zona 3 = 6,00 y Zona 4 = 6,00. La mediana (*figura 5*) para cada una de las zonas fue: Zona 1 = 4 microplásticos, Zona 2 = 6 microplásticos, Zona 3 = 4,5 microplásticos y Zona 4 = 5 microplásticos. Los tipos de microplásticos ingeridos más frecuentes se muestran en las *figuras 6-10*.

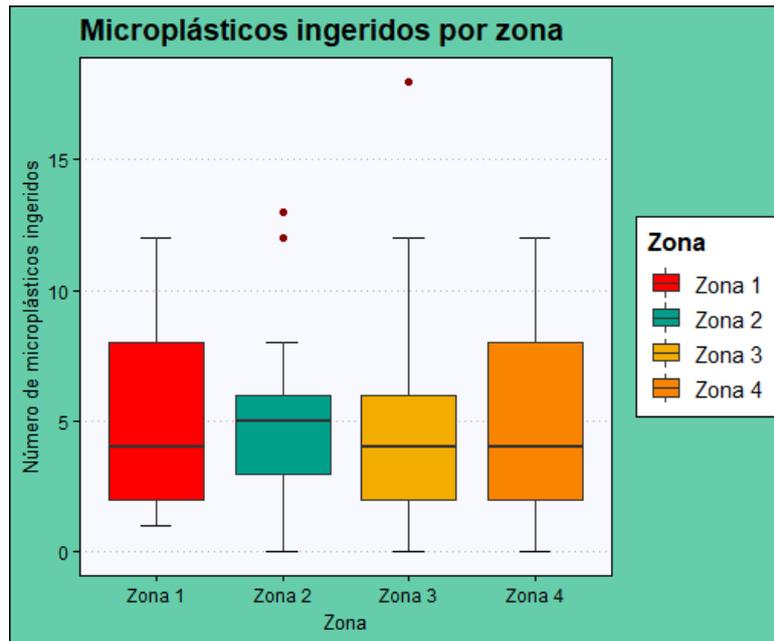


Figura 5: gráfico boxplot que muestra las diferencias entre el número de microplásticos ingeridos corregido para los individuos de cada zona. Las cajas muestran los valores entre el percentil 25 y el 75, la barra representa la mediana, los bigotes representan el error estándar y los puntos representan los outliers.

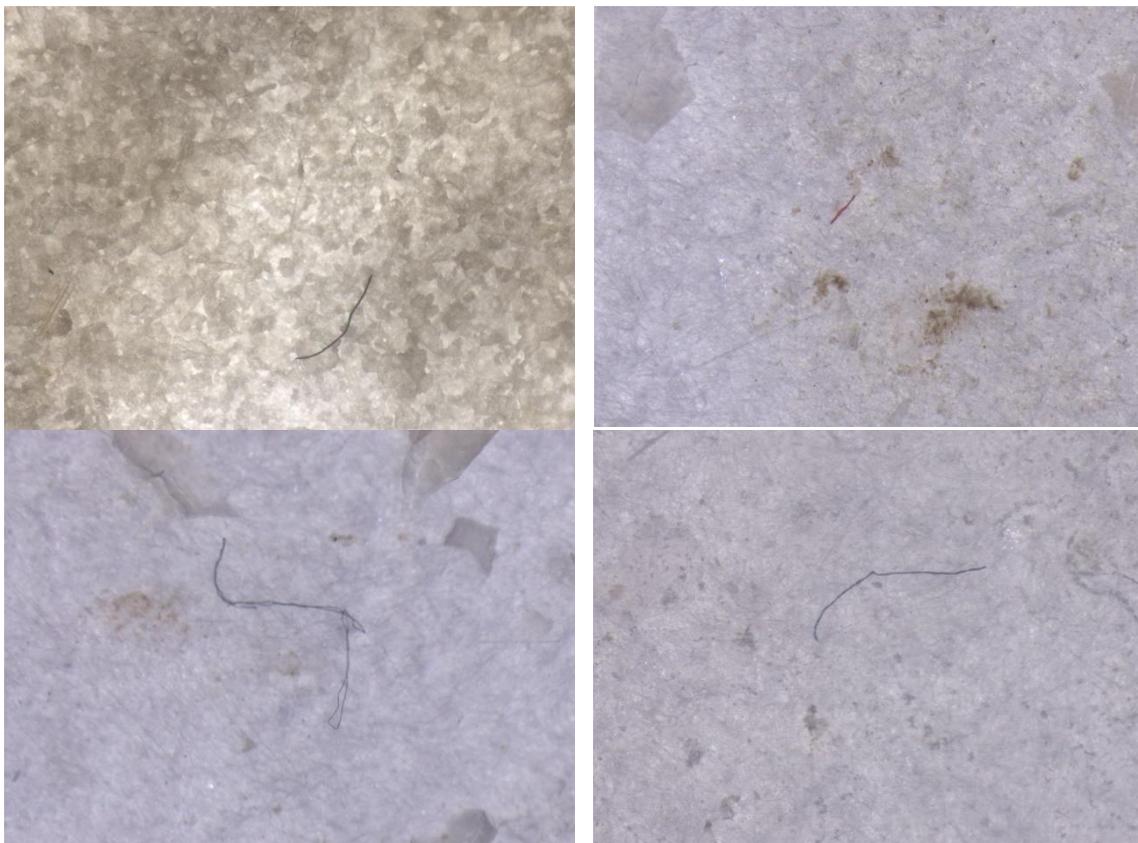


Figura 6-10: fotos de algunos de los microplásticos ingeridos encontrados.

Microplásticos

Se contabilizó un total de 747 microplásticos, de los cuales 686 (91,83%) eran fibras y 61 (8,17%) fragmentos. La longitud promedio de los 747 microplásticos (fibras y fragmentos) fue de $937,05 \pm 884,96 \mu\text{m}$. El análisis PERMANOVA sobre la longitud de los microplásticos analizados utilizando la talla de los peces como covariable no mostró diferencias significativas ni para la covariable ($Pseudo-F = 0,46517$, $p = 0,7152$) ni para el factor zona de estudio ($Pseudo-F = 1,1148$, $p = 0,352$) en la que se encontraban los peces muestreados.

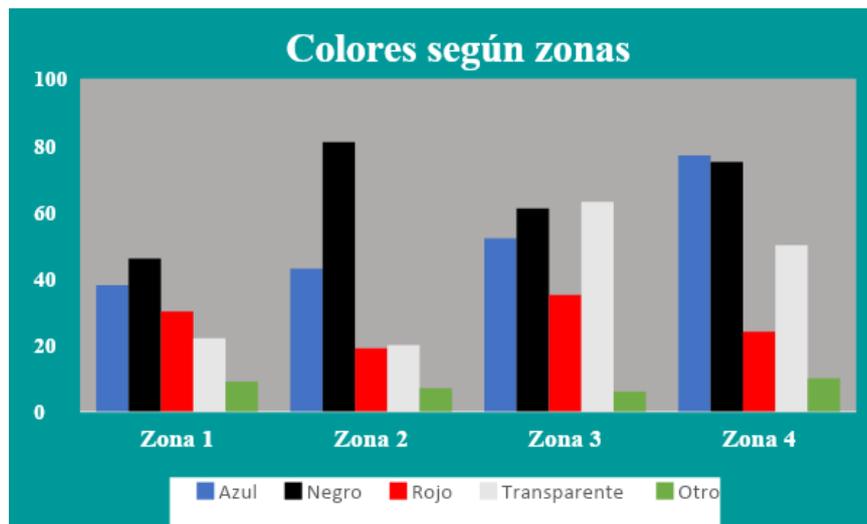


Tabla 4: resultados del análisis PERMANOVA para la frecuencia de los colores de los microplásticos analizados. Talla: covariable (talla de los individuos). df: grados de libertad. p: nivel de significancia.

Los colores más frecuentes de los microplásticos encontrados en los contenidos estomacales fueron el negro (34%), seguido del azul (27%), transparente (20%) y rojo (14%). En menor medida se encontraron otros colores como el verde o el púrpura. El análisis PERMANOVA sobre las frecuencias de los colores de los microplásticos analizados utilizando la talla de los peces como covariable no mostró diferencias significativas para la covariable pero sí entre las zonas de estudio (tabla 4).

Colores de microplásticos				
Variables	df	<i>Pseudo-F</i>	<i>p</i>	Permutaciones
Covariable (Talla)	1	0,037826	0,9961	9952
Zona	3	2,4878	0,0112	9930
Residuos	54			
Total	58			

Figura 11: gráfico de barras que muestra la abundancia de microplásticos de cada color en cada zona.

Para comprender entre que zonas había diferencias en el color de los microplásticos (*figura 11*) realizamos un análisis PERMANOVA por pares, encontrando diferencias significativas entre los pares zona 1-zona 4 ($p = 0,0096$), zona 2-zona 3 ($p = 0,0255$) y zona 2-zona 4 ($p = 0,0092$).

El análisis SIMPER indicó que los colores que más contribuían a las diferencias entre la zona 1 y la zona 4 fueron el transparente (25,19%), el azul (23,92%) y el rojo (25,31%). Los colores que más contribuían a las diferencias de la zona 2 con la zona 3 fueron el negro (33,36%), el azul (15,34%) y el transparente (35,80%). Los colores que más contribuían a las diferencias de la zona 2 con la zona 4 también fueron el negro (33,92%), el azul (26,24%) y el transparente (27,06%).

Fibras

De los 747 microplásticos analizados, 686 (91,83%) eran fibras. El análisis PERMANOVA sobre el número de fibras ingeridas utilizando la talla de los peces como covariable no mostró diferencias significativas ni para la covariable ni para el factor zona de estudio en la que se encontraban los peces muestreados (*tabla 5*).

Número de fibras				
Variab	df	Pseudo-F	p	Permutaciones
Covariable	1	0,078919	0,7782	9826
(Talla)				
Zona	3	0,17649	0,9105	9944
Residuos	54			
Total	58			

Tabla 5: resultados del análisis PERMANOVA para el número de fibras encontradas en los individuos analizados. Talla: covariable (talla de los individuos). df: grados de libertad. p: nivel de significancia.

Las fibras tenían una longitud promedio de $993,94 \pm 863,58 \mu\text{m}$, siendo la longitud mínima registrada de $31,58 \mu\text{m}$ y la máxima de $4846,77 \mu\text{m}$. El resultado del análisis PERMANOVA sobre la longitud de las fibras utilizando la talla de los peces como covariable no mostró diferencias significativas ni para la covariable ($Pseudo-F = 0,88804$, $p = 0,3419$) ni para la zona de estudio ($Pseudo-F = 0,9077$, $p = 0,4365$).

Fragmentos

De los 747 microplásticos analizados, 61 (8,17%) eran fragmentos. En cuanto a los fragmentos, el análisis PERMANOVA sobre el número de fragmentos ingeridos usando la talla de los peces como variable no mostró diferencias significativas ni para la covariable ni para la zona de estudio (*tabla 6*).

Número de fragmentos				
Variables	df	Pseudo-F	p	Permutaciones
Covariable (Talla)	1	0,034247	0,8545	9838
Zona	3	0,5486	0,663	9958
Residuos	54			
Total	58			

Tabla 6: resultados del análisis PERMANOVA para el número de fragmentos encontradas en los individuos analizados. Talla: covariable (talla de los individuos). df: grados de libertad. p: nivel de significancia.

Los fragmentos encontrados tenían una longitud promedio de $130,81 \pm 103,33$ μm , siendo la longitud mínima registrada de $30,13$ μm y la máxima de $618,81$ μm . El resultado del análisis ANOSIM ($r = -0,002$) reveló que no había diferencias significativas entre la longitud de los fragmentos ingeridos según las distintas zonas ni la talla de los individuos. En este caso, no se realizó un análisis PERMANOVA, ya que sin tener en cuenta los outliers, el tamaño de los fragmentos es homogéneo y el número de fragmentos encontrados era bajo, por lo que el análisis ANOSIM nos aporta suficiente información. Además, debido a estos outliers, los resultados del análisis PERMANOVA no parecían veraces.

Discusión

La ingestión de microplásticos es un fenómeno que ha sido y está siendo estudiado en todo el mundo y que cambia según la especie de estudio, dependiendo de su hábitat, hábitos alimenticios, características y la abundancia de los microplásticos en el medio. Por ello, aunque existen varios estudios sobre la ingestión de microplásticos (*tabla 7*) en caballa, este es el primer estudio que se ha realizado en el golfo de Cádiz.

Además, en este tipo de estudio, la metodología usada es muy importante, ya que la cantidad de microplásticos puede variar según el método utilizado. La cuantificación de microplásticos presentes en el tracto digestivo o en el estómago se puede realizar directamente visualizándolos bajo la lupa (no digestión) o realizando una digestión

Localización	Nº	Especie	Incidencia	MPs/Individuo	Color	Tipo	Metodología	Referencia
Océano Atlántico, Islas Canarias	120	<i>Scomber colias</i>	78%	2,77	Azul	74% Fibras	Contenido tracto digestivo, KOH 10%	41
Océano Atlántico, costa portuguesa	82	<i>Trachurus trachurus</i>	67%	2,24	Azul	79% Fibras	Contenido junto a tracto digestivo, KOH 10%	42
	82	<i>Scomber colias</i>	67%	2,62				
Mar Mediterráneo, costa española	63	<i>Scomber colias</i>	22,2%	0,71	Negro	64% Fibras	No digestión	43
Mar Adriático	20	<i>Chelon auratus</i>	95%	9,5	N/A	97% Fibras	Contenido estómago e intestino, H ₂ O ₂	44
	20	<i>Solea solea</i>	100%	7,3				
Estuario del Mondego, Portugal	40	<i>Diplodus vulgaris</i>	73%	3,14	Azul	96% Fibras	Contenido tracto digestivo, KOH 10%	45
Mar Mediterráneo, costa española	105	<i>Sardina pilchardus</i>	15%	0,21	N/A	83% Fibras	No digestión	46
	105	<i>Engraulis encrasicolus</i>	14%	0,18				
Océano Atlántico, Golfo de Cádiz	24	<i>Scyliorhinus canicula</i>	20,8%	1,20	Negro	71% Fibras	Contenido estomacal, NaOH 10%	47
	12	<i>Merluccius merluccius</i>	20,8%	1,20				
Mar Mediterráneo, costa italiana	379	<i>Boops boops</i>	56%	1,8	Negro	87% Fibras	Contenido junto a tracto digestivo, H ₂ O ₂ 15%	48
Océano Atlántico, costa marroquí	118	<i>Scomber spp.</i>	27%	N/A	N/A	N/A	No digestión	49
	82	<i>Sardina pilchardus</i>	9%					
	51	<i>Trachurus trachurus</i>	30%					
Océano Atlántico, costa portuguesa	35	<i>Scomber japonicus</i>	31%	0,57	N/A	Fibras (no porcentaje)	No digestión	50
	13	<i>Scomber scombrus</i>	31%	0,46				
Océano Atlántico, canal de la Mancha	225	<i>Especies pelágicas</i>	38%	1,90	Negro	68% Fibras	No digestión	51
	279	<i>Especies demersales</i>	35%	1,90				
Mar Cantábrico, costa española	262	<i>Sardina pilchardus</i>	87%	1,77	Transparente	88% Fibras	Contenido junto a estómago, KOH 10%	39
	237	<i>Engraulis encrasicolus</i>	87%	1,92				
Océano Atlántico, Golfo de Cádiz	58	<i>Scomber colias</i>	93%	5,90	Negro	92% Fibras	Contenido junto a estómago, KOH 10%	Estudio presente

Tabla 7: Comparación de varios estudios sobre la ingestión de microplásticos en especies de peces. En la tabla observamos la zona de estudio (localización), el número de muestras (Nº), la especie estudiada, el porcentaje de peces que han ingerido microplásticos (Incidencia), media del número de microplásticos ingeridos encontrado (MPS/Individuo), el color de microplástico dominante (Color), el tipo de microplástico dominante (Tipo) y la metodología usada para observar cuantificar los microplásticos (Metodología) para cada uno de los estudios. En el apartado digestión cuando se habla de digestión de contenido tracto digestivo o estomacal hablamos de que se digiere solo el contenido, mientras que, si hablamos de contenido junto a tracto digestivo o estómago, hablamos de que se digirió el propio órgano junto al contenido. De los datos que no los estudios no dan información se señalan con N/A.

utilizando un disolvente, como pueden ser el KOH 10% o el H₂O₂, para eliminar la materia orgánica y solo quedarnos con los microplásticos. Comparando la metodología utilizada entre los diferentes estudios, podemos observar que aquellos estudios que no digirieron los estómagos tuvieron un bajo porcentaje de incidencia (número de individuos que presentaban microplásticos) y el número de microplásticos encontrado era bajo. En cambio, cuando sí se realizaba digestión, la incidencia (superior al 70%) y la cantidad de microplásticos encontrados aumentaba. Estas diferencias se podrían deber a la cantidad de materia orgánica que hay cuando se visualizan los estómagos sin digestión previa para el conteo, ya que esta materia orgánica dificultaría la contabilización, llevando a una subestimación del número real de microplásticos ingestados. A pesar de que realizar la digestión nos da una mayor certeza a la hora de cuantificar los microplásticos, este método también podría llevar a una sobrestimación, pues hay una mayor facilidad de que se de contaminación externa debida a un mayor tiempo de exposición de las muestras. Aunque esta contaminación externa es fácil de evitar llevando a cabo las medidas de prevención adecuadas en el laboratorio, y se puede cuantificar con blancos para contaminación externa.

También puede haber una pérdida de microplásticos en los individuos capturados en el campo, ya que muchas especies regurgitan o defecan cuando son sometidos a condiciones de estrés, movimientos bruscos o especificaciones fisiológicas o comportamentales de la especie durante la pesca de los individuos⁴⁰. Esto afectaría a todos los estudios realizados, porque esta subestimación es independiente a la metodología usada en el laboratorio, aunque se podría evitar en algunas ocasiones si las capturas de los organismos son más cuidadosas, lo que estresaría al animal lo menos posible⁴⁰.

Cuando se ha realizado una digestión, es oportuno saber si se ha hecho del contenido de todo el tracto digestivo o solo del contenido del estómago. Asimismo, si se incluyó el tracto digestivo o el estómago también en la digestión. El uso de todo el tracto digestivo nos puede dar una mayor información sobre el número de microplásticos ingerido que solo si se usara el estómago, ya que en el esófago y en el intestino también se pueden quedar retenidos los microplásticos. Igualmente, al usar solo el contenido estomacal y no incluir ninguna de las vísceras en la digestión se puede incurrir en una subestimación debida a que algunos microplásticos se queden retenidos en las paredes de estos órganos.

En nuestro estudio realizamos una digestión KOH 10% del contenido estomacal junto al estómago. Si comparamos el estudio podemos observar que la incidencia y la

cantidad de microplásticos ingeridos son superiores al resto de estudios en el que se realizó el mismo protocolo. El porcentaje de individuos que presentaban microplásticos en sus estómagos era comparable al de otros estudios realizados en zonas con las mismas características geográficas. Por ejemplo, un estudio en el estuario del río Mondego (Portugal) reveló que el 73% de individuos de *Diplodus vulgaris* (sargo) presentaban microplásticos⁴⁵, estudio en el que solo se analizó el contenido estomacal que había en el tracto digestivo. También, otro estudio en el mar Adriático demostró que el 95% de individuos de *Chelon auratus* (lisa dorada) habían ingerido de media 9,5 microplásticos y el 100% de individuos de *Solea solea* (lenguado) presentaban una media de 7,3 microplásticos ingeridos⁴⁴, estudio en el que se analizó el contenido de todo el tracto digestivo y el propio tracto digestivo. No se han observado diferencias en la ingestión de microplásticos entre especies pelágicas y bentónicas⁵¹.

Además, los 5,9 microplásticos de media es un valor similar al registrado en mares cerrados como el mar Adriático⁴⁴ o en puertos como el de Sidney⁵² o Sudáfrica⁵³. Al igual que el golfo de Cádiz, los estudios mencionados se realizaron en lugares bajo mucha actividad antropogénica como puertos, estuarios o mares cerrados, donde la acumulación de microplásticos ocurre con facilidad¹⁹. No solo esto, sino que los microplásticos más abundantes en este estudio, fibras negras y azules, eran similares a los que más se producen por la industria del plástico y los que más encontramos en el medio marino⁵⁴, lo cual se explica con la hipótesis de que en estuarios es más probable encontrar contaminación por fibras microplásticas que en mar abierto debido al transporte fluvial⁵⁵, y precisamente el Golfo de Cádiz tiene varios estuarios importantes. Estas fibras también podrían tener su origen en las plantas de tratamiento de agua residuales⁴⁵ (de las cuales encontramos varias a lo largo del cauce de los ríos Guadalquivir, Odel, Tinto y Guadiana) y de fuentes como la ropa, contenedores plásticos, etc... que pueden ser transportada hasta los ríos por el aire⁸ o por aguas subterráneas⁵⁶. En un estudio realizado a lo largo del golfo de Cádiz se determinó que hay un gradiente de densidad en la distribución de los microplásticos que se dirigen desde los estuarios del río Guadalquivir y del río Guadiana hasta mar abierto⁵⁷. Este gradiente entre zona costera y mar abierto no se podría determinar porque la captura a lo largo del lance no diferencia la distancia a costa. Sin embargo, cuando se analizan las diferencias entre las cuatro zonas de estudio tampoco encontramos diferencias, a pesar de que en el estuario del río Guadalquivir y Guadiana encontramos una mayor concentración de microplásticos⁵⁷, y por ello hubiera sido esperable encontrar un mayor contenido de microplásticos en los individuos de caballa

capturados en las zonas que están bajo la influencia de estos ríos.

Los microplásticos que encontramos en el medio estarán biodisponibles para los diversos organismos que habitan en el golfo de Cádiz. Los resultados de nuestro estudio determinaron que los individuos no tenían preferencia por ningún tipo, tamaño o color de microplásticos específico y que la talla del individuo no afectaba al contenido y el tamaño de los mismos. Esto nos lleva a pensar que la ingestión de microplásticos se realiza de forma directa al confundirlos por posibles presas o indirectamente al consumir organismos que contienen microplásticos^{58,59}. Además, el rango de tamaño de los microplásticos encontrados (30µm - 5000µm) se solapa con el rango de tamaño de algunas de las presas de especies pelágicas como la caballa⁶⁰, y que forma parte del zooplancton, en concreto copépodos, apendicularios y misidáceos³⁴. También se ha comprobado que los fragmentos, al ser normalmente de menor tamaño que las fibras, tienen la capacidad de pasar por todo el tracto digestivo y ser liberados por las heces⁶¹, por ello su incidencia en muchos casos es menor que la de las fibras.

En los individuos estudiados, la talla o el peso de los individuos no se encontraban afectados por la cantidad de microplásticos ingeridos. A pesar de que no se ha comprobado que la ingestión de microplásticos afecte a variables morfológicas como la talla o el peso^{62,63}, si se conoce sus efectos en la fisiología del pez^{17,18,19}. La presencia de microplásticos en el tracto digestivo puede causar alteraciones en la funcionalidad histopatológica debido a su toxicidad, bloquear el tracto digestivo, provocar una falsa sensación de saciedad⁶⁴ lo que conlleva a un menor consumo de presas y lesiones en el estómago que pueden llegar a causar la muerte del individuo⁶⁵. En un estudio sobre como afectaban fisiológicamente los microplásticos a la caballa⁶⁵, se observó presencia de estos en las branquias, el tracto digestivo y en los músculos. Aunque en este estudio solo se estudió la presencia de microplásticos en el estómago de la caballa, hay evidencias de que su presencia en branquias puede conducir a hipoxia, lesiones en las branquias, rotura de los filamentos de las branquias y la muerte⁶⁵. La ingestión directa de microplásticos de tamaños menores a 150µm puede llevar a la translocación de estos a los riñones, hígado y a los músculos. Se han observado microplásticos de grandes tamaños en el músculo de la caballa⁶⁵, aunque se desconoce el mecanismo por el que se produce esta internalización. En otras especies de peces se han demostrado cambios fisiológicos debidos a microplásticos como pueden ser malfuncionamiento del sistema endocrino, reducción de la respuesta inmune, esterilidad o cáncer debido a la inflamación de los tejidos⁶⁴.

El alto número de microplásticos ingeridos puede deberse a algunas características

ecológicas como al tiempo que pasa en aguas cercanas a la costa o al comportamiento alimenticio, además de a algunas características fisiológicas propias de la caballa⁶⁵. Este tiempo que pasa más cercano a la costa, podría explicar la ingestión de microplásticos de colores diferentes al negro y al azul⁶⁵, ya que en estas zonas hay una mayor variedad de microplásticos de origen antropogénico. La ingestión de fibras microplásticas de color azul y negro suele ser la más frecuente debido a su confusión con presas⁵⁸. Además, la ingestión se puede dar de forma indirecta al consumir otras presas, de forma que los microplásticos se bioacumularían en la cadena trófica⁵⁹. En el ecosistema pelágico del golfo de Cádiz⁶⁶ encontramos presas de la caballa como el zooplancton, sardinas, boquerones e, incluso, el fitoplancton^{34, 67, 68}. En muchos de estos organismos se ha reportado la ingestión de microplásticos^{39,46,49,69}, que podrían terminar siendo ingeridos de forma indirecta por la caballa. Asimismo, durante el procesamiento de los estómagos se observó que había habido ingestión de algunas presas, en su mayoría peces como boquerones, aunque la mayoría no se pudieron identificar. Tampoco se pudo comprobar si estas presas contenían microplásticos en su interior. A diferencia de la bioacumulación, la biomagnificación no ha sido claramente observada para los microplásticos⁷⁰.

De producirse esta bioacumulación, el consumo de especies comerciales como la caballa podría ser un riesgo para la salud humana. La caballa es una de las especies comerciales más consumidas debido a su abundancia y bajos precios⁷¹. Aunque tradicionalmente el tracto digestivo no es consumido, existe una gran preocupación por los potenciales riesgos para humanos asociados a la transferencia de contaminantes químicos presentes en microplásticos, a través de dietas que contengan pescado¹⁸. Se estima que el consumo de 300 g de especies como la caballa a la semana por un humano adulto, resultaría en una ingestión media de 16 microplásticos/semana o 842 microplásticos/año⁷². Este dato difiere según el país, la edad de la persona o los hábitos alimenticios, por lo que, en países como España o Portugal con un alto consumo de pescado, estos niveles podrían ser mayores. Además, el pescado no sería el único alimento en el que se han encontrado microplásticos (miel, sal, azúcar)^{72,73,74}, durante la preparación de la comida y su consumo⁷⁶, por contaminación ambiental como puede ser la procedente de la ropa⁷⁷ o neumáticos⁷⁸. Ya existen estudios que demuestran la presencia de microplásticos en diferentes órganos humanos (intestinos, placentas o en la sangre)^{22,23,24}. Algunos estudios indican que la exposición a microplásticos podría causar inflamaciones de algunos tejidos que podrían derivar en cáncer y un aumento en la

incidencia de enfermedades neurodegenerativas y en trastornos inmunitarios²⁵, aunque aún quedan por hacer estudios más profundos sobre sus efectos.

Conclusión

La ingestión de microplásticos en caballa se da de forma directa por confusión con alguna de sus presas naturales y de forma indirecta por consumo de presas que contengan microplásticos en su interior, ya que no hay ninguna preferencia de estas por alguna de las características propias de los microplásticos.

Esto nos lleva a pensar que el consumo de microplásticos dependerá principalmente de los microplásticos disponibles en el medio. Por lo tanto, los microplásticos serán accesibles a otras especies comerciales aparte de la caballa y se podrán bioacumular en la cadena trófica suponiendo un riesgo para la salud humana.

Debido al alto consumo de microplásticos en las caballas, podemos estimar que la contaminación por microplásticos del golfo de Cádiz es notable en comparación con otros estudios similares, con un valor medio registrado de 5,9 microplásticos ingeridos por individuo.

No se identifican diferencias en las cantidades de microplásticos en los individuos de caballa analizados entre las diferentes zonas analizadas, ni hay un efecto del tamaño de la caballa en la cantidad de fibras y partículas ingeridas, así como en el color de estas.

Bibliografía

1. Lafuente, J. G., & Ruiz, J. (2007). The Gulf of Cádiz pelagic ecosystem: a review. *Progress in Oceanography*, 74(2-3), 228-251.
2. Richards, L.M. (2008), "CIESIN, Center for International Earth Science Information Network at Columbia University", *Reference Reviews*, Vol. 22 No. 7, pp. 28-28.
3. Directive, F. (2011). Options for Delivering Ecosystem-based Marine Management.
4. Cózar, A., Sanz-Martín, M., Martí, E., González-Gordillo, J. I., Ubeda, B., Gálvez, J. Á., ... & Duarte, C. M. (2015). Plastic accumulation in the Mediterranean Sea. *PloS one*, 10(4), e0121762.
5. Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, 3(7), e1700782.
6. Lebreton, L. M., Greer, S. D., & Borrero, J. C. (2012). Numerical modelling of floating debris in the world's oceans. *Marine pollution bulletin*, 64(3), 653-661.
7. Geyer, R., Jambeck, J. R., & Law, K. L. (2017). Production, use, and fate of all plastics ever made. *Science advances*, 3(7), e1700782.
8. Stubbins, A., Law, K. L., Muñoz, S. E., Bianchi, T. S., & Zhu, L. (2021). Plastics in the Earth system. *Science*, 373(6550), 51-55.

9. Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine pollution bulletin*, 62(8), 1596-1605.
10. Arthur, C., Baker, J. E., & Bamford, H. A. (2009). Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic Marine Debris, September 9-11, 2008, University of Washington Tacoma, Tacoma, WA, USA.
11. Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment: a review. *Marine pollution bulletin*, 62(12), 2588-2597.
12. Horton, A. A., & Dixon, S. J. (2018). Microplastics: An introduction to environmental transport processes. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, 5(2), e1268.
13. Scopetani, C., Esterhuizen-Londt, M., Chelazzi, D., Cincinelli, A., Setälä, H., & Pflugmacher, S. (2020). Self-contamination from clothing in microplastics research. *Ecotoxicology and environmental safety*, 189, 110036.
14. Cardoso, A. C., Cochrane, S., Doerner, H., Ferreira, J. G., Galgani, F., Hagebro, C., ... & Van de Bund, W. (2010). Scientific support to the European Commission on the Marine Strategy Framework Directive: management group report. *JRC Scientific and Technical Reports*, 11.
15. Zeng, E. Y., Setälä, O., Lehtiniemi, M., Coppock, R., & Cole, M. (2018). Microplastics in marine food webs. En *In Microplastic contamination in aquatic environments* (Microplastic Contamination in Aquatic Environments ed., Vol. 11, pp. 339–363). Elsevier.
16. Clark, J. R., Cole, M., Lindeque, P. K., Fileman, E., Blackford, J., Lewis, C., ... & Galloway, T. S. (2016). Marine microplastic debris: a targeted plan for understanding and quantifying interactions with marine life. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 14(6), 317-324.
17. Avio, C. G., Gorbi, S., & Regoli, F. (2015). Experimental development of a new protocol for extraction and characterization of microplastics in fish tissues: first observations in commercial species from Adriatic Sea. *Marine environmental research*, 111, 18-26.
18. Rochman, C. M., Tahir, A., Williams, S. L., Baxa, D. V., Lam, R., Miller, J. T., ... & Teh, S. J. (2015). Anthropogenic debris in seafood: Plastic debris and fibers from textiles in fish and bivalves sold for human consumption. *Scientific reports*, 5(1), 1-10.
19. Wright, S. L., Rowe, D., Thompson, R. C., & Galloway, T. S. (2013). Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. *Current Biology*, 23(23), R1031-R1033.
20. Garcia-Garin, O., Vighi, M., Aguilar, A., Tsangaris, C., Digka, N., Kaberi, H., & Borrell, A. (2019). Boops boops as a bioindicator of microplastic pollution along the Spanish Catalan coast. *Marine Pollution Bulletin*, 149, 110648.
21. Pennino, M. G., Bachiller, E., Lloret-Lloret, E., Albo-Puigserver, M., Esteban, A., Jadaud, A., ... & Coll, M. (2020). Ingestion of microplastics and occurrence of parasite association in Mediterranean anchovy and sardine. *Marine Pollution Bulletin*, 158, 111399.
22. Schwabl, P., Köppel, S., Königshofer, P., Bucsecs, T., Trauner, M., Reiberger, T., & Liebmann, B. (2019). Detection of various microplastics in human stool: a prospective case series. *Annals of internal medicine*, 171(7), 453-457.

23. Ragusa, A., Svelato, A., Santacroce, C., Catalano, P., Notarstefano, V., Carnevali, O., ... & Giorgini, E. (2021). Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. *Environment International*, 146, 106274.
24. Leslie, H. A., Van Velzen, M. J., Brandsma, S. H., Vethaak, D., Garcia-Vallejo, J. J., & Lamoree, M. H. (2022). Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environment International*, 107199.
25. Prata, J. C., da Costa, J. P., Lopes, I., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2020). Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects. *Science of the total environment*, 702, 134455.
26. Infante, C., Blanco, E., Zuasti, E., Crespo, A., & Manchado, M. (2007). Phylogenetic differentiation between Atlantic *Scomber colias* and Pacific *Scomber japonicus* based on nuclear DNA sequences. *Genetica*, 130(1), 1-8.
27. Vasconcelos, J., M.A. Dias & G. Faria (2011). Age and growth of the Atlantic chub mackerel *Scomber colias* Gmelin, 1789 off Madeira Island. *Arquipelago. Life and Marine Sciences*, 28, 57-70.
28. Whitehead, P. J. P. (1986). Fishes of the North-eastern Atlantic and Mediterranean (PJP Whitehead, M.-L. Bauchot, J.-C. Hureau, J. Nielsen, E. Tortonese eds.) UNESCO. *United Kingdom*, 1.
29. Porfírio, A. C. M. (2017). *Biologia do crescimento da Cavala (Scomber colias) na Costa Portuguesa* (Doctoral dissertation). *Universidade de Lisboa*.
30. Rodríguez-Roda, J. (1982). Biología de la caballa (o estornino), *Scomber* (*Pneumatophorus*) *japonicus* Houttuyn (1782) del Golfo de Cadiz. *Investigaciones Pesqueras*, 46, 143-159.
31. Carvalho, N., Perrotta, R. G., & Isidro, E. (2002). Age, growth and maturity in the chub mackerel (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1782) from the Azores. *Life and Marine Sciences*, 19, 93-99.
32. Gonzalez-Pajuelo, J. M., Lorenzo Nespereira, J. M., & Ramos, A. G. (1995). Growth of the chub mackerel *Scomber japonicus* (Pisces: Scombridae) off the Canary Islands. *Scientia Marina*.
33. Vasconcelos, J., Afonso-Dias, M., & Faria, G. (2012). Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) spawning season, size and age at first maturity in Madeira waters. *ARQUIPÉLAGO. Life and Marine Sciences*, (29), 43-51.
34. Castro, J. J. (1993). Feeding ecology of chub mackerel *Scomber japonicus* in the Canary Islands area. *South African Journal of Marine Science*, 13(1), 323-328.
35. del Rosario Saavedra, M. (2021). Técnicas empleadas en la evaluación de la calidad de la caballa (*Scomber japonicus peruanus*), durante el proceso de descomposición: Una Revisión. *Revista de investigación Agropecuaria Science and Biotechnology*, 1(3), 29-43.
36. Doray, M., & Boyra, G. (2021). ICES Survey Protocols—Manual for acoustic surveys coordinated under ICES Working Group on Acoustic and Egg Surveys for Small Pelagic Fish (WGACEGG). *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, 64.
37. Barrio Martínez, M. (2018). *Quantification of microplastic ingestion in Scomber colias (Gmelin, 1789) along the Mediterranean coast* (Bachelor's thesis).

38. Kühn, S., Van Werven, B., Van Oyen, A., Meijboom, A., Rebolledo, E. L. B., & Van Franeker, J. A. (2017). The use of potassium hydroxide (KOH) solution as a suitable approach to isolate plastics ingested by marine organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 115(1-2), 86-90.
39. Filgueiras, A. V., Preciado, I., Cartón, A., & Gago, J. (2020). Microplastic ingestion by pelagic and benthic fish and diet composition: a case study in the NW Iberian shelf. *Marine Pollution Bulletin*, 160, 111623.
40. Lusher, A. L., Welden, N. A., Sobral, P., & Cole, M. (2020). Sampling, isolating and identifying microplastics ingested by fish and invertebrates. In *Analysis of nanoplastics and microplastics in food* (pp. 119-148). CRC Press.
41. Herrera, A., Štindlová, A., Martínez, I., Rapp, J., Romero-Kutzner, V., Samper, M. D., ... & Gómez, M. (2019). Microplastic ingestion by Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) in the Canary Islands coast. *Marine pollution bulletin*, 139, 127-135.
42. Dhimmer, V. R. (2017). *Microplastics in gastrointestinal tracts of Trachurus trachurus and Scomber colias from the Portuguese Coastal waters* (Doctoral dissertation).
43. Barrio Martínez, M. (2018). *Quantification of microplastic ingestion in Scomber colias (Gmelin, 1789) along the Mediterranean coast* (Bachelor's thesis).
44. Anastasopoulou, A., Viršek, M. K., Varezić, D. B., Digka, N., Fortibuoni, T., Koren, Š., ... & Tutman, P. (2018). Assessment on marine litter ingested by fish in the Adriatic and NE Ionian Sea macro-region (Mediterranean). *Marine pollution bulletin*, 133, 841-851.
45. Bessa, F., Barría, P., Neto, J. M., Frias, J. P., Otero, V., Sobral, P., & Marques, J. C. (2018). Occurrence of microplastics in commercial fish from a natural estuarine environment. *Marine pollution bulletin*, 128, 575-584.
46. Compa, M., Ventero, A., Iglesias, M., & Deudero, S. (2018). Ingestion of microplastics and natural fibres in *Sardina pilchardus* (Walbaum, 1792) and *Engraulis encrasicolus* (Linnaeus, 1758) along the Spanish Mediterranean coast. *Marine pollution bulletin*, 128, 89-96.
47. Bellas, J., Martínez-Armental, J., Martínez-Cámara, A., Besada, V., & Martínez-Gómez, C. (2016). Ingestion of microplastics by demersal fish from the Spanish Atlantic and Mediterranean coasts. *Marine pollution bulletin*, 109(1), 55-60.
48. Sbrana, A., Valente, T., Scacco, U., Bianchi, J., Silvestri, C., Palazzo, L., ... & Matiddi, M. (2020). Spatial variability and influence of biological parameters on microplastic ingestion by Boops boops (L.) along the Italian coasts (Western Mediterranean Sea). *Environmental Pollution*, 263, 114429.
49. Maaghloud, H., Houssa, R., Ouansafi, S., Bellali, F., El Bouqdaoui, K., Charouki, N., & Fahde, A. (2020). Ingestion of microplastics by pelagic fish from the Moroccan Central Atlantic coast. *Environmental Pollution*, 261, 114194.
50. Neves, D., Sobral, P., Ferreira, J. L., & Pereira, T. (2015). Ingestion of microplastics by commercial fish off the Portuguese coast. *Marine pollution bulletin*, 101(1), 119-126.
51. Lusher, A. L., Mchugh, M., & Thompson, R. C. (2013). Occurrence of microplastics in the gastrointestinal tract of pelagic and demersal fish from the English Channel. *Marine pollution bulletin*, 67(1-2), 94-99.

52. Halstead, J. E., Smith, J. A., Carter, E. A., Lay, P. A., & Johnston, E. L. (2018). Assessment tools for microplastics and natural fibres ingested by fish in an urbanised estuary. *Environmental Pollution*, 234, 552-561.
53. Naidoo, T., Smit, A. J., & Glassom, D. (2016). Plastic ingestion by estuarine mullet *Mugil cephalus* (Mugilidae) in an urban harbour, KwaZulu-Natal, South Africa. *African Journal of Marine Science*, 38(1), 145-149.
54. GESAMP. 2015. Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: A global assessment, p. 96. IMO/FAO/UNESCO-IOC/UNIDO/WMO/IAEA/UN/UNEP/UNDP Joint Group of Experts on the Scientific Aspects of Marine Environmental Protection. Rep. Stud. GESAMP No. 90.
55. Jabeen, K., Su, L., Li, J., Yang, D., Tong, C., Mu, J., & Shi, H. (2017). Microplastics and mesoplastics in fish from coastal and fresh waters of China. *Environmental Pollution*, 221, 141-149.
56. Re, V. (2019). Shedding light on the invisible: addressing the potential for groundwater contamination by plastic microfibers. *Hydrogeology Journal*, 27(7), 2719-2727.
57. González-Ortegón, E., Sendra, M., Sparaventi, E., Leal, R. F. S., de los Ríos, I., Baldó, F., ... & Yeste, M. P. (2022). Coastal gradients of small microplastics and associated pollutants influenced by estuarine sources. *Marine Pollution Bulletin*, 174, 113292.
58. Batel, A., Linti, F., Scherer, M., Erdinger, L., & Braunbeck, T. (2016). Transfer of benzo [a] pyrene from microplastics to *Artemia nauplii* and further to zebrafish via a trophic food web experiment: CYP1A induction and visual tracking of persistent organic pollutants. *Environmental toxicology and chemistry*, 35(7), 1656-1666.
59. Romeo, T., Pietro, B., Pedà, C., Consoli, P., Andaloro, F., & Fossi, M. C. (2015). First evidence of presence of plastic debris in stomach of large pelagic fish in the Mediterranean Sea. *Marine pollution bulletin*, 95(1), 358-361.
60. Lopes, C., Raimundo, J., Caetano, M., & Garrido, S. (2020). Microplastic ingestion and diet composition of planktivorous fish. *Limnology and Oceanography Letters*, 5(1), 103-112.
61. Karakolis, E. G., Nguyen, B., You, J. B., Graham, P. J., Rochman, C. M., & Sinton, D. (2018). Digestible fluorescent coatings for cumulative quantification of microplastic ingestion. *Environmental Science & Technology Letters*, 5(2), 62-67.
62. Foley, C. J., Feiner, Z. S., Malinich, T. D., & Höök, T. O. (2018). A meta-analysis of the effects of exposure to microplastics on fish and aquatic invertebrates. *Science of the total environment*, 631, 550-559.
63. de Vries, A. N., Govoni, D., Árnason, S. H., & Carlsson, P. (2020). Microplastic ingestion by fish: Body size, condition factor and gut fullness are not related to the amount of plastics consumed. *Marine pollution bulletin*, 151, 110827.
64. Mallik, A., Xavier, K. M., Naidu, B. C., & Nayak, B. B. (2021). Ecotoxicological and physiological risks of microplastics on fish and their possible mitigation measures. *Science of the Total Environment*, 779, 146433.
65. Barboza, L. G. A., Lopes, C., Oliveira, P., Bessa, F., Otero, V., Henriques, B., ... & Guilhermino, L. (2020). Microplastics in wild fish from North East Atlantic Ocean and its potential for causing

- neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks associated with ingestion exposure. *Science of the Total Environment*, 717, 134625.
66. Torres, M. Á., Coll, M., Heymans, J. J., Christensen, V., & Sobrino, I. (2013). Food-web structure of and fishing impacts on the Gulf of Cadiz ecosystem (South-western Spain). *Ecological modelling*, 265, 26-44.
 67. Martins, M. M., Skagen, D., Marques, V., Zwolinski, J., & Silva, A. (2013). Changes in the abundance and spatial distribution of the Atlantic chub mackerel (*Scomber colias*) in the pelagic ecosystem and fisheries off Portugal. *Sci Mar*, 77(4), 551-563.
 68. Garrido, S., Silva, A., Pastor, J., Dominguez, R., Silva, A. V., & Santos, A. M. (2015). Trophic ecology of pelagic fish species off the Iberian coast: diet overlap, cannibalism and intraguild predation. *Marine Ecology Progress Series*, 539, 271-285.
 69. Frias, J. P., Otero, V., & Sobral, P. (2014). Evidence of microplastics in samples of zooplankton from Portuguese coastal waters. *Marine environmental research*, 95, 89-95.
 70. Miller, M. E., Hamann, M., & Kroon, F. J. (2020). Bioaccumulation and biomagnification of microplastics in marine organisms: a review and meta-analysis of current data. *PLoS One*, 15(10), e0240792.
 71. Castro Hernández, J. (1991). Ecología Trófica de la Caballa (*Scomber japonicus* Houttuyn, 1780). *Aguas del Archipiélago Canario. Universidad de las Palmas de Gran Canaria*.
 72. EFSA Dietetic Products, Nutrition, and Allergies (NDA). (2014). Scientific Opinion on health benefits of seafood (fish and shellfish) consumption in relation to health risks associated with exposure to methylmercury. *EFSA journal*, 12(7), 3761.
 73. Liebezeit, G., & Liebezeit, E. (2013). Non-pollen particulates in honey and sugar. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(12), 2136-2140.
 74. Kim, J. S., Lee, H. J., Kim, S. K., & Kim, H. J. (2018). Global pattern of microplastics (MPs) in commercial food-grade salts: sea salt as an indicator of seawater MP pollution. *Environmental science & technology*, 52(21), 12819-12828.
 75. Peixoto, D., Pinheiro, C., Amorim, J., Oliva-Teles, L., Guilhermino, L., & Vieira, M. N. (2019). Microplastic pollution in commercial salt for human consumption: A review. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 219, 161-168.
 76. Catarino, A. I., Macchia, V., Sanderson, W. G., Thompson, R. C., & Henry, T. B. (2018). Low levels of microplastics (MP) in wild mussels indicate that MP ingestion by humans is minimal compared to exposure via household fibres fallout during a meal. *Environmental pollution*, 237, 675-684.
 77. Zhang, Y. Q., Lykaki, M., Alrajoula, M. T., Markiewicz, M., Kraas, C., Kolbe, S., ... & Stolte, S. (2021). Microplastics from textile origin—emission and reduction measures. *Green Chemistry*.
 78. Luo, Z., Zhou, X., Su, Y., Wang, H., Yu, R., Zhou, S., ... & Xing, B. (2021). Environmental occurrence, fate, impact, and potential solution of tire microplastics: Similarities and differences with tire wear particles. *Science of the Total Environment*, 795, 148902.