

**Tesina para optar por el Título de Licenciada en Ciencias Biológicas**

# **Bioacumulación de mercurio en hembras y crías de dos especies de pinnípedos en Uruguay**

Anaclara Roselli Laclau

Orientadora: Dra. Valentina Franco-Trecu

Co-orientador: Dr. Javier García Alonso

Tribunal:

Dra. Diana Szteren

Dra. Fiorella Iaquina

Dra. Valentina Franco-Trecu

**Contribución de esta tesina (Anexo):**

Roselli-Laclau, A., García-Alonso, J., Valdés-Gómez, A., Freitas-Souza, M., De Rezende, C. E., & Franco-Trecu, V. (2024). Unveiling mercury levels: Trophic habits influence on bioaccumulation in two Otariid species. *Environmental Pollution*, 361, 124804.

## INDICE

<i>Agradecimientos</i> .....	4
<b>RESUMEN</b> .....	5
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	6
<i>Grupo de estudio</i> .....	9
<b>HIPÓTESIS</b> .....	11
<b>OBJETIVOS</b> .....	11
<i>Objetivo general</i> .....	11
<i>Objetivos específicos</i> .....	12
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	13
<i>Área de estudio y muestreo</i> .....	13
<i>Análisis de laboratorio</i> .....	13
<i>Análisis de datos</i> .....	14
<b>RESULTADOS</b> .....	15
<i>Relación de HgT con hábitos alimenticios</i> .....	16
<i>Transferencia de mercurio madre-cría</i> .....	18
<b>DISCUSIÓN</b> .....	22
1. <i>Acumulación de HgT en hembras adultas</i> .....	22
2. <i>Potenciales efectos de Hg en la salud</i> .....	23
3. <i>Relaciones a nivel intraespecífico</i> .....	24
4. <i>Correlación madre-cría de los niveles de HgT</i> .....	25
<b>CONCLUSIONES</b> .....	26
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	27
<b>ANEXO - Artículo publicado:</b> Roselli-Laclau A., García-Alonso J., Valdés A., Freitas M., de Rezende C.E. & Franco-Trecu V. (2024). Unveiling Mercury Levels: Dietary Influence on Bioaccumulation in Two Otariid Species. <i>Environmental Pollution</i> 361, 124804.....	37

## **Agradecimientos**

Primeramente agradecer a mis tutores por su esfuerzo, confianza y ganas de enseñarme. A Valen por guiarme en esta etapa de mi carrera, por su paciencia a la hora de explicarme, por su empatía y todo lo que me enseñó, que va más allá de lo generado en esta tesina. A Javi, por su disposición en presentarme una nueva área de conocimiento y orientarme en todas las aristas que presenta.

A Alex, quien siempre estuvo para mí cuando lo necesite y nos pudimos motivar para hacer de este último tramo de la carrera lo mejor posible.

A Carlos “Carlao” Eduardo de Rezende por brindarme el todos los insumos del Laboratório de Ciências Ambientais de la Universidade Estadual do Norte Fluminense que necesité y más. A Mariana Freitas por su dedicación a ayudarme y enseñarme toda la metodología de laboratorio.

A mis amigas y amigos, de la Facultad y de la vida, que me acompañaron, a veces sin entender muy bien que estaba haciendo, en cada parte de este trabajo. Por siempre buscar aliviarme en los momentos complicados de la carrera.

Y por último, pero no por eso menos importante, a mi familia quienes desde la distancia o de cerquita me cuidaron para que no me perdiera en la bruma de todo lo que pasaba. Y puntualmente a mis padres, no solo por su compañía y apoyo continuo en mis decisiones, también por cómo me motivaron desde mi infancia a armar mi propio camino con lo que disfrutaba. A mi padre por animarme siempre a conocer más, aunque a veces no entendía mi fascinación y empatía por los animales. Y a mi madre por regalarme libros desde chica sobre animales y sus ecosistemas, por motivarme a conocer el mundo que me rodeaba.

Muchísimas gracias de corazón por todo...

## RESUMEN

La presencia de mercurio (Hg) tiene efectos negativos, particularmente para niveles tróficos altos, en de las comunidades acuáticas costeras. El Hg se bioacumula en los individuos y se biomagnifica en las redes tróficas, por lo cual depredadores tope pueden sufrir efectos negativos en la salud. Dos especies de pinnípedos, depredadores tope, viven y se reproducen en Uruguay: el lobo fino (*Arctocephalus australis*, Aa) y el león marino sudamericano (*Otaria flavescens*, Of). Ambas especies presentan colonias reproductivas en la Isla de Lobos (Maldonado), Of depreda en el ambiente costero-bentónico y tiene un nivel trófico mayor, mientras que Aa se alimenta en aguas pelágicas a la altura del quiebre del talud continental. Los objetivos de la tesina fueron determinar los niveles de Hg en hembras adultas de Of y Aa, y evaluar la existencia de una correlación entre el Hg de hembras y sus crías, usando el pelo. Además, dado que el Hg ingresa a los organismos por medio de su dieta, se pretende evaluar la relación entre los niveles de Hg de hembras adultas y sus hábitos tróficos, por medio del análisis de isótopos estables de Carbono y Nitrógeno. Para ello, Se tomaron muestras de pelo de hembras y crías de ambas especies, se cuantificó la acumulación de Hg total (HgT) y los niveles isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ . Se utilizaron modelos de regresión para evaluar el efecto de los valores isotópicos de las hembras, así como de los niveles de HgT en crías y el sexo de estas, de forma independiente en el HgT de las hembras. Of presentó valores significativamente mayores de HgT (30,5 $\mu\text{g/g}$  peso seco, rango de 19,9 - 53,4 $\mu\text{g/g}$ ), de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $-13,8 \pm 0,22$ ) y de  $\delta^{15}\text{N}$  ( $19,2 \pm 0,56$ ), que en Aa (6,3 $\mu\text{g/g}$ , rango de 1,3 - 10,3  $\mu\text{g/g}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ :  $-15,5 \pm 0,63$  y  $\delta^{15}\text{N}$ :  $16,5 \pm 0,53$  respectivamente,  $p < 0,001$ ). A nivel intraespecífico, en Of se detectó un efecto positivo del  $\delta^{13}\text{C}$  en la acumulación de HgT en pelo ( $p=0,003$ ), mientras que en Aa no hubo ningún efecto. No se encontró un efecto del  $\delta^{15}\text{N}$  en HgT, para ninguna de las dos especies. La diferencia observada en los niveles de HgT entre hembras de ambas especies puede explicarse por el mayor nivel trófico de Of y por la capacidad del Hg de biomagnificarse. Por otro lado, en Of el efecto del  $\delta^{13}\text{C}$  sobre el HgT reflejaría que la alimentación más costera incrementa los niveles de HgT. Con respecto a los niveles de HgT de las hembras y sus crías, se detectó una relación positiva y significativa en Of, pero no en Aa. Esto podría relacionarse con los elevados niveles de HgT reportados en las hembras de Of, que podrían superar la capacidad de detoxificación, por lo que el Hg atravesaría la barrera hemato-placentaria y se transmitiría a la cría durante la gestación. Este trabajo analizó por primera vez la bioacumulación de Hg en pinnípedos de Uruguay, registrando los niveles más elevados para *Otaria flavescens*, poniendo de manifiesto que esta especie estaría siendo afectada por el Hg, lo que podría tener consecuencias en su salud a corto y largo plazo.

**Palabras claves:** Bioacumulación, crías, leones marinos, lobos marinos, mercurio, pinnípedos.

## INTRODUCCIÓN

La contaminación ambiental ha ido en aumento en las últimas décadas siendo en la actualidad uno de los principales problemas que el planeta enfrenta. Los distintos tipos de contaminantes químicos que afectan los sistemas acuáticos pueden ser orgánicos o inorgánicos provenientes de industrias, urbanizaciones, agricultura, minería, transporte, entre otros (Organización de las Naciones Unidas [ONU], 2010). La contaminación inorgánica, principalmente por metales es una de las más severas amenazas que afectan a la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas (ONU, 2010; Potters, 2013; Reyes et al., 2016).

Los elementos traza están presentes de forma natural en la corteza terrestre en muy bajas concentraciones, y se clasifican en esenciales y no-esenciales. Los elementos esenciales se caracterizan por ser indispensables para el funcionamiento de los organismos, ya que forman biomoléculas, pero si sobrepasan cierto umbral, se vuelven tóxicos (Luoma & Rainbow, 2008). Los metales no-esenciales, sin función biológica aparente, pueden ser tóxicos incluso en muy bajas concentraciones, como es el caso del mercurio (Hg) (Jaishankar et al., 2014).

El Hg, debido a sus propiedades, presenta un ciclo biogeoquímico que incluye una circulación global entre los continentes, la atmósfera y los océanos (Luoma & Rainbow, 2008; Selin, 2009). En su ciclo natural las emisiones se dan principalmente en erupciones de volcanes y otras actividades geológicas en zonas donde el suelo y las rocas presentan gran reserva de mercurio (Fitzgerald & Lamborg, 2005). Éste es liberado a la atmósfera, donde puede permanecer días o meses, principalmente como  $Hg^0$ , hasta decantar en sistemas terrestres o acuáticos. El Hg entra a los ecosistemas marinos usualmente proveniente de ambientes dulceacuícolas, parte del mismo es incorporado al ambiente acuático y el resto vuelve a la atmósfera donde continúa con su ciclo (Pehkonen & Lin, 1998; Mason & Sheu, 2002; Selin, 2009).

Existe una serie de actividades antrópicas que aceleran y/o modifican el ciclo natural del Hg y generan que sus concentraciones sean mayores a los umbrales tóxicos de los organismos (Luoma & Rainbow, 2008). Estas actividades que generan emisiones hacia la atmósfera, ríos y océanos son principalmente la quema de combustibles fósiles, especialmente la quema de carbón y la minería, siendo la más contaminante la de oro (UNEP, 2013). Otras actividades que también aportan Hg son la producción industrial (soda cáustica, cemento), la agricultura, la deforestación

y los vertidos domésticos (Selin, 2009; Streets et al., 2017; UN Environment, 2019). Debido a todas éstas fuentes, la deposición atmosférica de Hg desde 1800, asociada a la Revolución Industrial, ha aumentado a nivel global (Lamborg et al., 2002; Schuster et al., 2002; UNEP, 2013). Por estos motivos, en el siglo XX la deposición de Hg fue cuatro veces mayor en el hemisferio norte (Li et al., 2020). Sin embargo, en las últimas décadas el aumento de la emisión de Hg se dio en ambos hemisferios, pero de forma diferencial. Mientras que Europa y América del Norte disminuyeron su liberación, Asia aumentó. Además, en América del Sur y África Subsahariana la principal fuente de Hg es la minería de oro, la cual aporta el 38% a nivel mundial, en otras regiones la principal fuente es la quema de combustibles (UN Environment, 2019).

El Hg se puede encontrar en el ambiente de tres maneras: mercurio elemental, inorgánico u orgánico, estos últimos se dividen en metil-, etil- y fenil-mercurio. El metilmercurio (MeHg) es el que se encuentra en mayor cantidad en el ambiente (Goldman & Shannon, 2001; Clarkson, 2002; Tchounwou et al., 2003). Suele generarse en ambientes acuáticos donde el Hg inorgánico se transforma en MeHg en un proceso facilitado por bacterias (Goldman & Shannon, 2001; Ullrich et al., 2001; Selin, 2009). El MeHg presenta mayor nivel de toxicidad para los seres vivos que el Hg inorgánico. Ambos tipos de mercurio, como el resto de los metales y los contaminantes orgánicos, se acumula en los sedimentos, desde donde entra en las redes tróficas por medio de los productores primarios (e. g. macrófitas, algas) y consumidores primarios (e. g. organismos bentónico detritívoros) (Luoma & Rainbow, 2008).

Dos propiedades fundamentales del MeHg en ambientes acuáticos son la bioacumulación y biomagnificación. La bioacumulación se refiere al ingreso de Hg desde el ambiente a los organismos acumulándose a lo largo de la vida de estos, de manera que se almacena e incrementa su nivel a medida que el organismo crece. Es el resultado de interacciones entre las rutas de ingreso, excreción y metabolización del elemento (Streit, 1998). Se considera que hay una bioacumulación cuando los niveles presentes dentro de los organismos son mayores que en el ambiente en el que habita (Dallinger et al., 1987). Mientras que la biomagnificación ocurre cuando los niveles de Hg van aumentando progresivamente a medida que aumenta el nivel trófico, haciendo que los depredadores tope sean los que presentan mayores niveles de Hg (Dallinger et al., 1987; Storelli, 2008). El MeHg tiene la capacidad de bioacumularse hasta un millón de veces a lo largo de las redes tróficas acuáticas desde los microorganismos hasta los

depredadores topos, por lo que este es el principal responsable de la biomagnificación (Kehrig et al., 2009). La biomagnificación no depende solamente de interacciones tróficas, también varía dependiendo de características físico-químicas como la temperatura, el pH, la salinidad, productividad, entre otros (Lavoie et al., 2013; Córdoba-Tovar et al., 2022).

A la hora de analizar los niveles de Hg de las muestras, usualmente no se distingue entre los diferentes tipos sino que se mide el mercurio total (HgT). Este es representativo de los niveles de MeHg.

En diversos ambientes costeros (manglares, estuarios, entre otros) se han reportado niveles elevados de HgT (Muresan et al., 2008; Eagles-Smith & Ackerman, 2014; Briant et al., 2017). Por ejemplo, en sustrato de varias zonas de la Costa de Oro (Ecuador), se encontraron niveles mayores que los indicados por las normas internacionales de calidad de sedimento según Environment Canada (1990), con concentraciones de HgT que oscilaron entre 6,57 y 7,61  $\mu\text{g/g}$  (Marín et al., 2016). Las desembocaduras de los grandes ríos, se presentan como sitios puntuales de entrada de Hg en los océanos, y se ha planteado mediante modelización que las primeras capas del océano han duplicado su concentración de Hg en los últimos 100 años (UNEP, 2013; Zhang et al., 2014).

En la costa Uruguaya del Río de la Plata y Océano Atlántico adyacente, se reportaron HgT en el intermareal arenoso de 13 playas, con valores medios de 10,9 ng/g ( $\pm 21$  ng/g), los puntos con mayores niveles fueron frente a la desembocadura del río Santa Lucía y las playas de la ciudad de Montevideo (García-Alonso et al., 2017). Próximo a la desembocadura del río Santa Lucía se encuentra la industrial cloro-alkali Eface S.A. que utiliza celdas de mercurio en su producción, en este proceso se utiliza un electrodo de mercurio. El Estado Uruguayo le ha solicitado desde el 2016 que modifique su forma de producción (Resolución 310/016, Ministerio de Vivienda, Ordenamiento Territorial y Medio Ambiente). Hasta el día de hoy siguen implementando el uso del Hg, pero tiene que cesar su uso antes del 31 de diciembre de 2025.

En octubre de 2013 en Kumamoto-Japón, en el marco de la reunión de las Naciones Unidas, Uruguay se suscribió el Convenio de Minamata, que es un tratado mundial para proteger la salud humana y el ambiente de los efectos adversos del mercurio ([www.mercuryconvention.org](http://www.mercuryconvention.org)). En setiembre de 2014 Uruguay ratificó el convenio, bajo la Ley 19.267, que entró en vigor el 16 de agosto de 2017. La ley incluye varios artículos enfocados a la

restauración, implementación de alternativas al empleo de mercurio, así como un artículo específico (19), en donde los países ratificantes se comprometen a generar investigación, desarrollo y vigilancia del mercurio en los ecosistemas.

Si bien se han reportado niveles de Hg en diversos ambientes costeros de Uruguay, como en el intermareal arenoso de varias playas (García-Alonso et al., 2017), los estudios realizados hasta ahora se han centrado principalmente en organismos de niveles tróficos bajos y medios, sin abordar a los depredadores tope. Por lo tanto, es fundamental avanzar en este tipo de investigaciones, dado que proporcionan información clave sobre los efectos del Hg en la biota y sus potenciales riesgos en las redes tróficas costeras.

### *Grupo de estudio*

Los pinnípedos están compuestos por tres familias: Otariidae (lobos y leones marinos), Odobenidae (morsas) y Phocidae (focas) (Berta, 2018). Los primeros análisis para estimar Hg en tejidos de pinnípedos se hicieron en la década de los 60 en fócidos de Europa (Henriksson et al., 1969), y no fue hasta la década de los 80 que se empezaron a realizar estudios en el hemisferio sur. El Hg en pinnípedos se suele medir en tejidos colectados de organismos muertos y donde el mercurio se acumula (i.e. hígado, riñón, músculo) (Brookens et al., 2007; Krey et al., 2015; Lima et al., 2022). El pelo, por su parte, constituye una matriz biológica que también permite conocer la exposición a Hg en organismos tanto vivos como muertos. Es importante mencionar que cuando se trabaja con animales vivos, es muy frecuente que los estudios se realicen en crías y juveniles, ya que son más fáciles de manipular (i.e. Brookens et al., 2007; Lima et al., 2022).

Dentro de una misma población se ha visto diferencias en los niveles de HgT según rango etario, teniendo menor valor las crías y juveniles que los adultos. También se registraron diferencias según el sexo en adultos de especies que presentan dimorfismo sexual, siendo mayor en machos. En crías no se ha registrado que la acumulación sea diferente entre los sexos (Brookens et al., 2007; Grajewska et al., 2020; McHuron et al., 2016).

Los efectos del mercurio que han sido registrados en pinnípedos son muy variados. Por ejemplo, altos niveles de Hg se han relacionado con neumonía e infecciones bacterianas (Taylor et al., 2022). El Hg se acumula en el sistema nervioso, más precisamente en el cerebro, pudiendo generar grandes problemas por su característica neurotóxica (López-Berenguer et al., 2020). La

presencia de Hg *in vitro* e *in vivo* en pinnípedos, ha generado inmunosupresión, disminuyendo la proliferación de linfocitos, pudiendo desencadenar diversas enfermedades (Kakuschke et al., 2008, 2009, 2011; Levin et al., 2020; Taylor et al., 2022). El efecto sobre el sistema inmune de pinnípedos es mayor durante períodos críticos del desarrollo, siendo las crías recién nacidas (hasta los 50 días de vida), las más vulnerables (Kakuschke et al., 2008; Taylor et al., 2022).

En Uruguay se reproducen dos especies de otáridos: el lobo fino Sudamericano (*Arctocephalus australis*, Aa) y el león marino Sudamericano (*Otaria flavescens*, Of) (Vaz-Ferreira, 1976a, 1976b). Ambas especies han sido explotadas en nuestro país, por lo que se registró una disminución del número de individuos en sus colonias reproductivas durante el siglo XX. Dicha disminución fue más grave en los leones marinos, ya que se explotaron principalmente crías. La tendencia de crecimiento poblacional del lobo fino es del 1,5% anual (Franco-Trecu et al., 2019), mientras que la de los leones marinos es de -2% (Franco-Trecu, 2015).

Ambas especies son depredadores tope que se alimentan principalmente de peces y cefalópodos. Por un lado, Aa se alimenta principalmente en ambientes pelágicos cercanos al quiebre del talud continental (Franco-Trecu et al., 2021), de presas como merluza (*Merluccius hubbsi*), anchoíta (*Engraulis anchoita*), calamares (*Illex argentinus* y *Loligo sanpaulensis*), pez sable (*Trichiurus lepturus*) y pescadilla de red (*Cynoscion guatucupa*) (Franco-Trecu et al., 2013). Por otro lado, Of se alimenta en áreas costeras de la plataforma continental (Riet-Sapriza et al., 2013), de presas costero-bentónicas como la corvina rubia (*Micropogonias furnieri*), la brótola (*Uruphycis brasiliensis*) la pescadilla de red y calamares (Franco-Trecu et al., 2013).

Debido a que el mercurio ingresa en los organismos principalmente por medio de su dieta, conocer aspectos de los hábitos alimenticios de los individuos analizados es extremadamente relevante para poder relacionarlos con la concentración de mercurio encontrada. La técnica de isotopos estables se basa en que la composición isotópica de los tejidos del depredador, refleja la de las presas consumidas y asimiladas, sumado a un factor de enriquecimiento trófico ( Fry, 2006; Caut et al., 2009). En estudios de ecología trófica se utilizan principalmente el isótopo del nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ) como indicador del nivel trófico de los individuos, y el de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) que da información del origen de la productividad primaria. Para las aguas uruguayas existen antecedentes que indican una clara diferenciación isotópica entre presas

bentónica-costeras y las pelágicas, donde las primeras presentan valores mayores de  $\delta^{13}\text{C}$  (Franco-Trecu et al., 2012). Además se ha descrito que el león marino depreda en un mayor nivel trófico ( $\delta^{15}\text{N}$ ) que el lobo fino y la existencia de una segregación espacial entre especies, respaldada por medio del  $\delta^{13}\text{C}$  (Franco-Trecu et al., 2012, 2013, 2014).

Si bien se han reportado valores de Hg en sedimento de la costa Río de la Plata y Océano Atlántico, además de la rectificación al acuerdo de Minamata y un previo estudio donde se midieron los niveles de ciertos metales en ambas especies de pinnípedos (De María et al., 2021), hasta la fecha no se ha evaluado los niveles de Hg en estas. Dado que conocer la situación costera de nuestro país en relación a la contaminación por Hg es de interés nacional e internacional y teniendo en cuenta el rol ecológico que cumplen los depredadores tope, en esta tesina se evaluó la acumulación de Hg en Aa y Of.

## HIPÓTESIS

I- El mercurio, es un elemento traza que se biomagnifica (Lavoie et al., 2013; Córdoba-Tovar et al., 2022), por lo que es de esperar que organismos con un nivel trófico superior deberían presentar mayor acumulación de HgT. Considerando que *O. flavescens* presenta un mayor nivel trófico que *A. australis* (Franco-Trecu et al., 2014), hipotetizamos que las hembras del león marino tendrán mayor acumulación de HgT en pelo que las hembras de lobo fino.

II- Dado que el Hg es un compuesto tóxico que puede atravesar la barrera placentaria (Caserta et al., 2013; Habran et al., 2011). La generación del pelo con el que nacen las crías (lanugo) se da durante la última etapa de la gestación por lo que esperamos que el nivel de HgT del lanugo, refleje la exposición fetal y se relacione de forma significativa y positiva con los valores de HgT en pelo de sus madres en ambas especies de pinnípedos. Teniendo en cuenta que no se ha visto diferencia de la acumulación en pelo en cría entre sexo (McHuron et al., 2016), esperaríamos que el sexo de la cría no afecte su acumulación de HgT.

## OBJETIVOS

### *Objetivo general*

Evaluar la acumulación de HgT en las hembras de *O. flavescens* y *A. australis* de la Isla de Lobos -Uruguay en relación a sus hábitos tróficos y la transferencia de este elemento traza a sus crías durante la gestación.

*Objetivos específicos*

- I. Determinar los valores de HgT acumulado en pelo de hembras en ambas especies y evaluar su relación con los hábitos tróficos.
- II. Evaluar si existe una correlación de los niveles de HgT entre las hembras y sus crías en ambas especies de pinnípedos, considerando el efecto del sexo de las crías.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Área de estudio y muestreo*

El muestreo fue realizado en la Isla de Lobos (35°01'S, 54°50'W), ubicada aproximadamente a 9 km de la costa de Punta del Este, Maldonado, Uruguay, en la confluencia del Río de la Plata con el océano Atlántico. En esta isla se encuentran colonias reproductivas de ambas especies de Pinnípedos, donde ocurren los nacimientos, cópulas y cuidado maternal de las crías (Franco-Trecu et al., 2010, 2015). Entre las temporadas reproductivas de 2006 y 2013 se capturaron 12 hembras adultas de Of y 25 de Aa con sus crías y se obtuvieron muestras de pelo de la parte dorsal trasera de ambos por medio de un corte con tijera. Los individuos fueron medidos, pesados y las crías sexadas, las crías presentaban hasta un mes de vida. Las hembras fueron anestesiadas según protocolos descritos en Katz et al. (2018).

### *Análisis de laboratorio*

Las muestras fueron lavadas dos veces con Extran al 2% y agua desionizada para luego ser enjuagadas con agua ultrapura mili-Q. Las muestras fueron liofilizadas, y organizadas en los pares hembra-cría. Luego de esto, cada muestra fue utilizada para los análisis de isótopos estables y la cuantificación de HgT.

Para el análisis de mercurio total, se digirieron alícuotas secas de 100 a 300 mg de cabello en 8mL de agua regia (3 HCl: 1 HNO<sub>3</sub>), con 4 mL de agua ultrapura + 2 mL de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) + 6 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:HNO<sub>3</sub> (1:1). Los extractos se digirieron en un horno microondas (Mars Xpress, CEM, Modelo 907,501, EE. UU.), siguiendo el protocolo descrito en Gomes et al., (2022). El tiempo total de digestión de los tejidos fue de 35 min (10 min, hasta alcanzar 95°C; y 25 min con temperatura constante de 95°C) con una potencia de 1600W. Después de enfriar durante 30 min, los extractos se filtraron a través de papel Whatman® 40 y se colocaron en tubos, que se llenaron hasta 25 mL con agua ultrapura (Milipore MiliQ). Posteriormente, se añadió 1 mL de cada extracto final a 29 mL de agua ultrapura y luego se añadieron 150 µL de BrCl, 60 µL de NH<sub>2</sub>OH·HCl y 150 µL de SnCl<sub>2</sub>. En todos los análisis se incluyeron soluciones de control analítico (n=3). La determinación de HgT en los tejidos se realizó mediante espectrofotometría de fluorescencia atómica utilizando la técnica de generación de vapor frío (Sistema de análisis de mercurio CV-AFS, Modelo 2600, Tekran Instruments Corporation).

Para el análisis de isótopos estables se pesaron muestras de entre 0,4 a 0,5 mg utilizando una balanza analítica (precisión de 0,001 mg) y se encapsularon en cápsulas de estaño para la posterior determinación isotópica. Las muestras fueron analizadas utilizando un analizador elemental Thermo Scientific (Flash 2000) con una interfase CONFLO IV acoplada a un espectrómetro de masas Delta V Advantage (Thermo Scientific, Alemania). Los resultados se expresan en delta ( $\delta$ ), significando la desviación en ‰ con respecto a los estándares internacionales, (Belemiteo de Pee Dee de Viena (VPDB) para Carbono y N<sub>2</sub> atmosférico para Nitrógeno), utilizando la fórmula:  $\delta X = (R_{\text{muestra}} / R_{\text{referencia}}) - 1$ . Donde la X se refiere a <sup>13</sup>C y <sup>15</sup>N, la relación R<sub>muestra</sub> con R<sub>referencia</sub> son <sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C o <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N, o sea la relación muestra y estándares internacionales respectivamente.

#### *Análisis de datos*

Se evaluaron diferencias en HgT,  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  de las hembras entre especies por medio de ANOVAs de 2 vías, incluyendo el sexo de las crías como segunda variable. Para comprender como afectan los hábitos tróficos la bioacumulación de HgT se realizaron modelos de regresión con los valores isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  como variables explicativas, y la acumulación de HgT en pelo de hembras como variable respuesta. En ambos casos, se comenzó por el modelo completo que incluye la interacción entre especie y el valor isotópico, que se fue simplificando, eliminando las variables no significativas.

Se buscó identificar una posible diferencia en la bioacumulación de Hg entre los sexos de las crías, esto se evaluó mediante modelos de regresión lineal (GLM), donde se utilizó el sexo de la cría y la especie como las variables explicativas, mientras que los niveles de HgT en las crías como la variable respuesta. Para analizar el efecto de la concentración de HgT de las hembras en la de sus crías, se utilizaron modelos de regresión, evaluando el efecto del sexo de las crías como variable explicativa. En todos los casos la selección de modelos se realizó por medio del criterio de información de Akaike (AIC). Todos los análisis de datos se realizaron en el software libre R versión 4.3.1 (R Core Team, 2023).

## RESULTADOS

Los valores de HgT en pelo de hembras adultas de Of fueron significativamente mayores (media=30,5; DS=9,3  $\mu\text{g/g}$ ; rango = 19,9 - 53,4 $\mu\text{g/g}$ ) que en hembras de Aa (media= 6,3; DS=2,5  $\mu\text{g/g}$ ; rango= 1,3 - 10,3 $\mu\text{g/g}$ ) ( $p<0,001$ ) (Fig. 1). No se encontró un efecto del sexo de las crías (Tabla 1).

Tabla 1. Modelos lineales de concentración de HgT en función de la especie y al sexo de las crías. Se muestra el valor del estimado y su error estándar entre paréntesis, así como el *p*-valor correspondiente para cada variable del modelo. Se muestra el R<sup>2</sup> ajustado y el Criterio de Información de Akaike (AIC) para cada modelo.

Modelo	Intercepto	Especie (SASL)	Sexo cría (macho)	Especie (SASL)*Sexo cría (macho)	R <sup>2</sup> -ajustado	AIC
<b>Hg hembra ~ Especie * Sexo cría</b>	(7,11; 1,47) $p<<0,001$	(24,96; 2,61) $p<<0,001$	(-1,91; 2,32) $p=0,42$	(0,46; 4,07) $p=0,91$	0,81	239
<b>Hg hembra ~ Especie + Sexo cría</b>	(7,05; 1,35) $p<<0,001$	(25,15; 1,97) $p<<0,001$	(-1,76; 1,88) $p=0,36$	-	0,82	237
<b>Hg hembra ~ Especie</b>	(6,34; 1,2) $p<<0,001$	(25,13; 1,12) $p<<0,001$	-	-	0,82	236

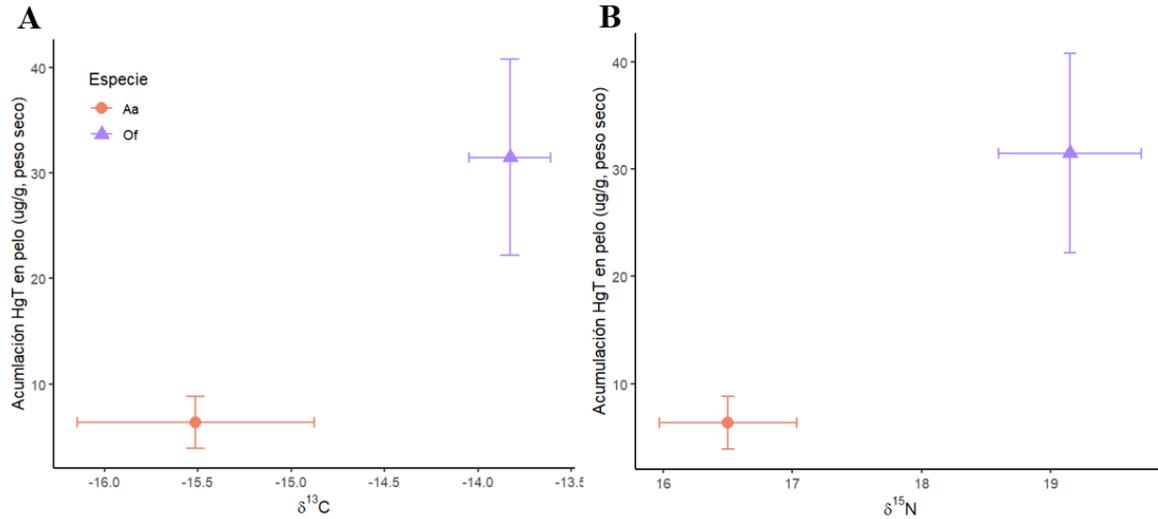


Figura 1. Acumulación de HgT en pelo de hembras de *Arctocephalus australis* (Aa) y *Otaria flavescens* (Of) en relación a (A) la firma isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  y (B) la firma isotópica de  $\delta^{15}\text{N}$ .

#### Relación de HgT con hábitos alimenticios

Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (media= -13,8‰; DS=0,2‰; rango= -14,1 – -13,5‰) y  $\delta^{15}\text{N}$  (media=19,2‰; DS=0,6‰; rango = 18,3 - 20,4‰) en pelo de hembras adultas de Of fueron significativamente mayores que en hembras de Aa ( $\delta^{13}\text{C}$  media= -15,5‰; DS=0,6‰; rango = -16,2 – -13,3‰,  $\delta^{15}\text{N}$  media=16,5‰; DS=0,5‰; rango = 15,6 - 17,7‰, respectivamente,  $p<0,001$ ) (Fig. 1).

A nivel intraespecífico se encontró un efecto significativo de la interacción de especie y  $\delta^{13}\text{C}$  en el HgT, indicando que para Of, los hábitos tróficos más costeros (mayor  $\delta^{13}\text{C}$ ), aumentan la acumulación de HgT en pelo ( $p=0,003$ ), mientras que no hay efecto en Aa (Fig. 2, Tabla 2). No se encontró efecto del  $\delta^{15}\text{N}$  en los valores de HgT (Tabla 2).

Tabla 2. Modelos lineales para la acumulación de HgT en hembras en función de la especie y de los valores isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$ , por separado. Para cada variable se muestra el valor del estimado, su error estándar entre paréntesis, así como el *p*-valor correspondiente. Se muestra el  $R^2$  ajustado y el Criterio de Información de Akaike (AIC) para cada modelo.

Modelo	Intercepto	Especie (SASL)	Valor isotópico	Especie*valor isotópico	R <sup>2</sup> -ajustado	AIC
<b>Hg hembra ~ Especie * <math>\delta^{13}\text{C}</math></b>	(-2,4; 25,1) <i>p</i> = 0,93	(398,6; 116,6) <i>p</i> =0,002	(-0,6; 1,6) <i>p</i> =0,73	(26,8; 8,4) <b><i>p</i>=0,003</b>	0,85	230
<b>Hg hembra ~ Especie + <math>\delta^{13}\text{C}</math></b>	(13,3; 27,8) <i>p</i> = 0,6	(24,4; 3,5) <i>p</i> <<0,001	(0,4; 1,8) <i>p</i> = 0,8	-	0,81	238
<b>Hg hembra ~ Especie * <math>\delta^{15}\text{N}</math></b>	(-8,5; 36,5) <i>p</i> =0,8	(38,3; 72,2) <i>p</i> =0,6	(0,9; 2,2) <i>p</i> =0,69	(-0,8; 3,9) <i>p</i> =0,84	0,81	240
<b>Hg hembra ~ Especie + <math>\delta^{15}\text{N}</math></b>	(-4,3; 29,7) <i>p</i> =0,8	(23,4; 1,8) <b><i>p</i>&lt;&lt;0,001</b>	(0,6; 1,8) <i>p</i> =0,7	-	0,81	238
<b>Hg hembra ~ Especie</b>	(6,3; 1,2) <i>p</i> <<0,001	(25,1; 1,1) <i>p</i> <<0,001	-	-	0,82	236

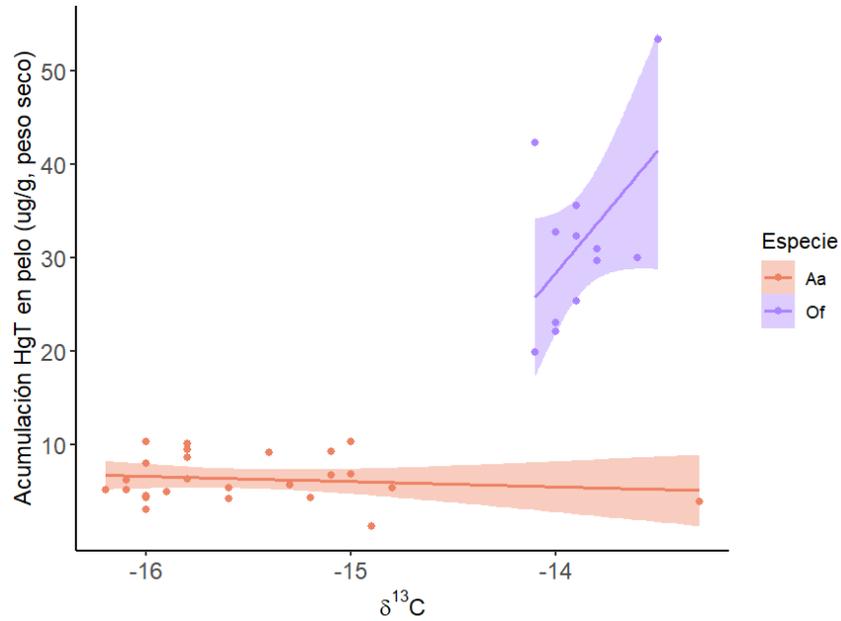


Figura 2. Acumulación de HgT en pelo de hembras de *Arctocephalus australis* (Aa) y *Otaria flavescens* (Of) en función de los valores del isótopo estable  $\delta^{13}\text{C}$ . Las líneas representan el modelo ajustado para los valores cada especie con su respectivo intervalo de confianza del 95%.

#### *Transferencia de mercurio madre-cría*

El valor medio de HgT en pelo de crías de Aa fue significativamente menor ( $4,9 \pm 1,8\mu\text{g/g}$ ) que en las crías de Of ( $25,0 \pm 6,3\mu\text{g/g}$ ) ( $p < 0,001$ ) (Fig. 3, Tabla 3). Se encontró una relación significativa entre la acumulación del HgT de hembras y sus crías en Of, a pesar de que el sexo de las crías no fue significativo, el modelo con menor AIC contiene la interacción entre el Hg de la cría con su sexo (Fig. 4, Tabla 4). En el caso de las díadas de Aa no se encontró una relación significativa entre hembras y crías (Fig. 5, Tabla 4).

Tabla 3. Modelos lineales de concentración de HgT en crías en función de la especie y del sexo. Se muestra el valor del estimado y su error estándar entre paréntesis, así como el *p*-valor correspondiente para variable del modelo. Se indican el R<sup>2</sup> ajustado y el AIC Criterio de Información de Akaike (AIC) de cada modelo.

Modelo	Intercepto	Especie (SASL)	Sexo cría (macho)	Especie (SASL)*Sexo cría (macho)	R <sup>2</sup> -ajustado	AIC
Hg cría ~ Especie * Sexo cría	(4,6; 0,9) <i>p</i> <<0,001	(23,8; 1,8) <i>p</i> << <b>0,001</b>	(0,8; 1,5) <i>p</i> =0,6	(-7,2; 2,5) <i>p</i> =0,008	0,88	212
Hg cría ~ Especie + Sexo cría	(5,6; 0,9) <i>p</i> <<0,001	(20,3; 1,4) <i>p</i> <<0,001	(-1,7; 1,3) <i>p</i> =0,2	-	0,85	218

Tabla 4. Modelos lineales de concentración de HgT en hembras en función del HgT y el sexo de las crías. Se muestra el valor del estimado y su error estándar entre paréntesis, así como el *p*-valor correspondiente para variable del modelo. Se indican el R<sup>2</sup> ajustado y el Criterio de Información de Akaike (AIC) de cada modelo.

Especie	Modelo	Intercepto	Hg cría	Sexo cría (macho)	Hg cría*Sexo cría (macho)	R <sup>2</sup> -ajustado	AIC
Of	Hg hembra ~ Hg cría * Sexo cría	(-18,7; 11,8) <i>p</i> = 0,2	(1,8; 0,4) <i>p</i> = <b>0,003</b>	(31,1; 14,9) <i>p</i> =0,07	(-0,9; 0,6) <i>p</i> =0,1	0,67	73
	Hg hembra ~ Hg cría + Sexo cría	(-4,7; 9,4) <i>p</i> =0,6	(1,3; 0,3) <i>p</i> =0,003	(6,6; 4,2) <i>p</i> =0,2	-	0,60	75
Aa	Hg hembra ~ Hg cría * Sexo cría	(6,7; 1,8) <i>p</i> = 0,001	(0,08; 0,39) <i>p</i> =0,8	(-3,5; 2,9) <i>p</i> =0,2	(0,3; 0,5) <i>p</i> =0,6	0,07	119
	Hg hembra ~ Hg cría + Sexo cría	(6,1; 1,4) <i>p</i> <<0.001	(0,3; 0,9) <i>p</i> =0,4	(-2,1; 0,9) <i>p</i> = <b>0,04</b>	-	0,1	118

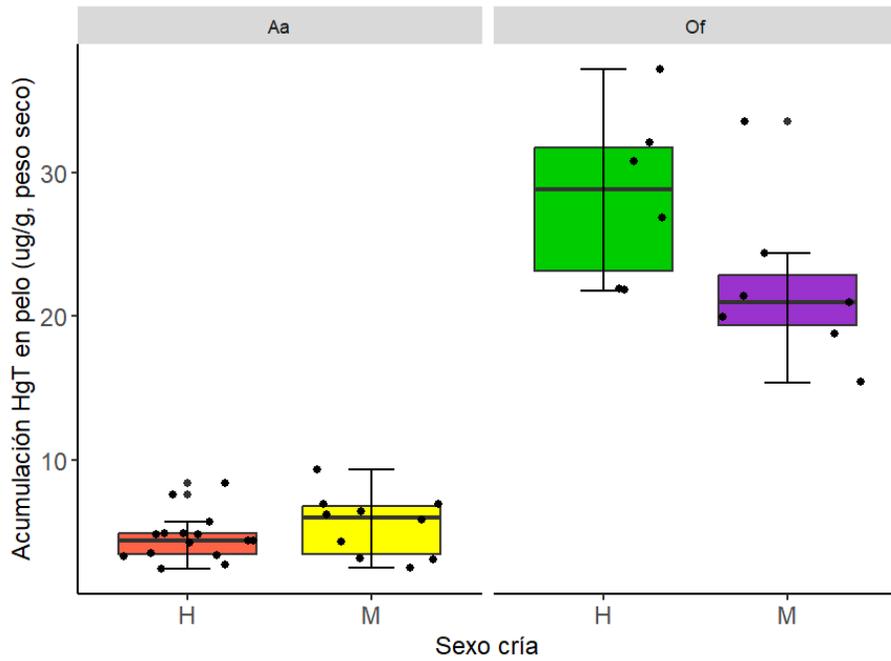


Figura 3. Acumulación de HgT en pelo de crías de *Arctocephalus australis* (Aa) y *Otaria flavescens* (Of) según su sexo.

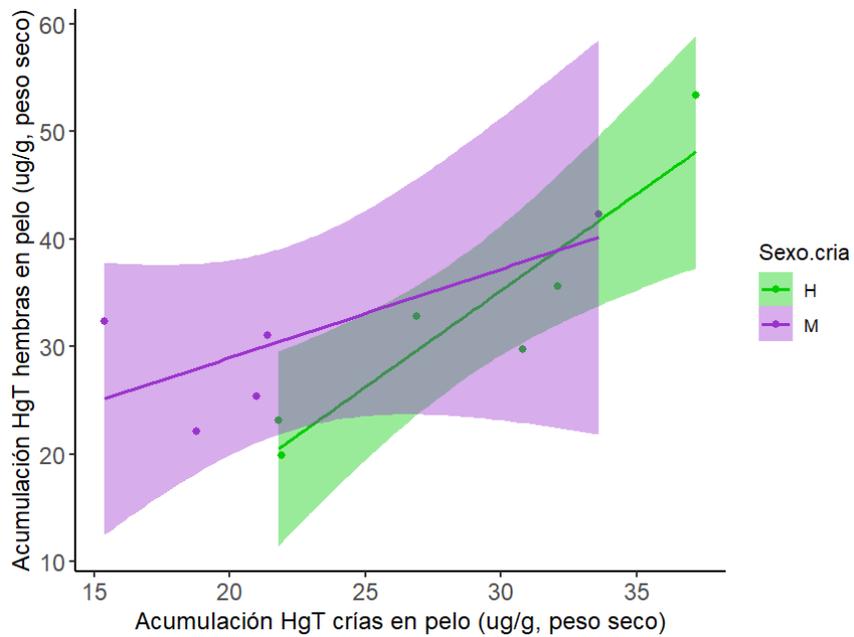


Figura 4. Regresión lineal de la relación de la acumulación de HgT en pelo de hembras y crías de *Otaria flavescens* diferenciando por el sexo de las crías.

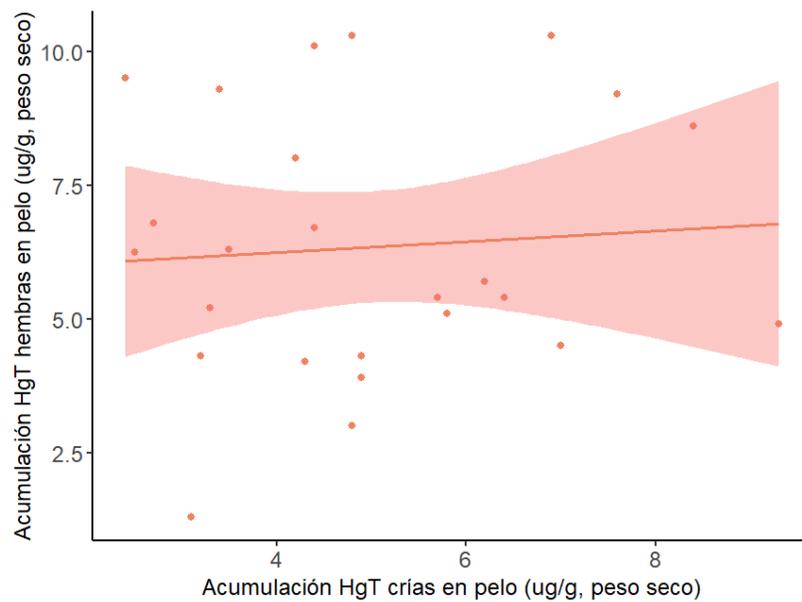


Figura 5. Regresión lineal de la acumulación de HgT en pelo de hembras en función del Hg de crías de *Arctocephalus australis*.

## DISCUSIÓN

En este trabajo se reporta por primera vez los niveles de HgT de hembras y crías de *Otaria flavescens* y *Arctocephalus australis* de Uruguay, analizando su relación con los hábitos alimenticios, por medio del análisis de isótopos estables. El valor de HgT aquí reportado para Of es el mayor encontrado en otáridos globalmente. Además, es mayor que en otras poblaciones cercanas de la misma especie (Fossi et al., 1997; Peña et al., 1988). Se reportó una relación positiva y significativa entre la acumulación de HgT en pelo de hembras de Of y sus crías.

### 1. Acumulación de HgT en hembras adultas

Las hembras adultas de Of presentaron mayores valores de HgT y de  $\delta^{15}\text{N}$  que las de Aa. Estos resultados apoyan la hipótesis 1, indicando que los niveles de HgT se vieron afectados por un mayor nivel trófico. Por otra parte, Of tiene una alimentación costera, señalado por los mayores valores de  $\delta^{13}\text{C}$ . La alimentación costera podría ser otro de los motivos que explicarían los mayores niveles de acumulación de Hg debido a que La costa uruguaya está influenciada por la confluencia Brasil-Malvinas, así como por la descarga del Río de la Plata. Debido a que se han reportado niveles elevados de Hg en sedimentos de playas del Río de la Plata (García-Alonso et al., 2017), es probable que estos niveles se deban a aportes de ciertos afluentes, como los ríos Pilcomayo y Paraná que presentan zonas de minería aledañas, que liberan Hg al río (Hylander et al., 2000; Nriagu, 1993). También los valores presentes en el sedimento podrían estar relacionados con descargas que se realizan directamente al Río de la Plata, ya que se encontraron valores elevados en la descarga del Río Santa Lucía y en la bahía de Montevideo (García-Alonso et al., 2017). En un trabajo realizado en el sur Brasil, cerca de la costa uruguaya, se comparó el HgT en cuatro especies de delfines con distintos hábitos tróficos. Se encontró que las especies con áreas de alimentación costeras (e.g. *Pontoporia blainvillei*) presentaban los menores niveles de mercurio, mientras que las especies con hábitos costero-bentónicos (e.g. *Tursiops truncatus* y *Sotalia guianensis*) presentaban valores intermedios. Los ejemplares de *Steno bredanensis*, que presentaban hábitos pelágicos, tuvieron los valores mayores de mercurio (Baptista et al., 2016). Los autores lo explican debido a los hábitos tróficos, por su zona de alimentación y su preferencia individual en las presas. Este trabajo realizado en una zona cercana a nuestro país muestra un patrón opuesto a nuestros resultados, lo que indicaría que el área costera no siempre es propensa a tener mayores niveles de HgT *per se*, lo que podía esperarse por el impacto

humano. Estos resultados tal vez indiquen que los altos niveles de Hg encontrados en el ambiente costero de Uruguay podrían relacionarse con la descarga del Río de la Plata.

Los niveles de mercurio total (HgT) en el pelo de otáridos en Sudamérica muestran variaciones según la especie y sus hábitos tróficos. En Perú, las concentraciones en vibrisas de adultos de Of y Aa presentaron valores de 2,3  $\mu\text{g/g}$  ( $\pm 2,1$   $\mu\text{g/g}$ ) y 2,3  $\mu\text{g/g}$  ( $\pm 2,1$   $\mu\text{g/g}$ ) respectivamente (Kooyomjian, 2021). En *Zalophus californianus* del Golfo de México se estudió los niveles de HgT en distintos islotes de la colonia, los que presentaron mayores valores tuvieron una media de 14,1  $\mu\text{g/g}$  ( $\pm 9,3$   $\mu\text{g/g}$ ) (Elorriaga-Verplancken & Auriolles-Gamboa, 2008). También en otra colonia de *Z. californianus* de Portugal en hembras adultas se encontró en pelo una media de 12,1  $\mu\text{g/g}$  ( $\pm 3,7$ ) los valores presentes fueron mayores que en otáridos de Perú, pero es menor que la media registrada para Of en este estudio (McHuron et al., 2016). Los niveles de Aa encontrados en Perú son menores que los registrados en el presente estudio, y a pesar que los valores de *Z. californianus* en ambas investigaciones son mayores que los planteados en leones marinos de Perú, siguen siendo menores que los registrados en este estudio.

## 2. Potenciales efectos de HgT en la salud

Los valores de HgT reportados en el presente estudio para Of fueron mayores a los umbrales toxicológicos descritos para otros mamíferos como el del oso polar (5,4 $\mu\text{g/g}$ ) (Basu et al., 2009) y el de mustélidos (nutria marina) (20 y 30  $\mu\text{g/g}$  el mínimo y máximo respectivamente) (Basu et al., 2007). Esto podría indicar que las hembras de león marino presentarían efectos tóxicos por el Hg. Por otro lado, se ha planteado que la acumulación de HgT en pelo es una vía de detoxificación de los organismos, neutralizando el efecto de éste elemento en el organismo (Peña et al., 1988). Se menciona que los niveles de Hg encontrados en pelo no siempre reflejan los niveles de Hg en los tejidos internos como la sangre (Peterson et al., 2015). Un trabajo estimó que solo el 4% del Hg que ingresa al organismo es incorporado al pelo (Grajewska et al., 2020). A pesar que los umbrales planteados son en pelo, sería importante realizar nuevos análisis comparando los niveles de HgT encontrados en pelo y sangre de estas poblaciones, para identificar si existe o no una relación y si el Hg podría generar problemas en la salud de los organismos.

Se han descrito diferentes efectos adversos de la acumulación de mercurio en la salud de Pinnípedos. Un ejemplo es el de la foca común (*Phoca vitulina*) del Mar del Norte, en la cual se reportó la influencia del MeHg en el sistema inmune, actuando como un inmunosupresor, generando procesos inflamatorios agudos y crónicos (Kakuschke et al., 2008, 2009). Dichas inflamaciones podrían ocurrir por la capacidad del Hg en disminuir la expresión de citosinas. En muestras *in vitro* de sangre del león marino de Steller (*Eumetopias jubatus*), se obtuvo que con concentraciones de 0,1 µg/g de MeHg hay una disminución del 50% de expresión de citosinas (Levin et al., 2020). El efecto inmunosupresor del Hg permite la entrada de nuevos patógenos, como es el caso de las crías del león marino australiano (*Neophoca cinerea*) que presentan infección por anquilostoma. Esta es generada por el nemátodo *Uncinaria sanguinis*, que ocasiona contagio de enfermedades y la muerte de crías (Taylor et al., 2022). Estos trabajos demuestran que la exposición a Hg debilita el sistema inmune pudiendo conllevar el contagio de enfermedades e incluso la muerte en pinnípedos.

Durante el 2023 en varios países de Sudamérica, incluido Uruguay, distintas poblaciones de otáridos fueron afectados por la influenza aviar A (H5N1) (De Araujo et al., 2024; Gamarra-Toledo et al., 2024; Tomás et al., 2024). En Uruguay los leones marinos fueron más afectados que los lobos marinos, sufriendo mayor mortandad (Szteren & Franco-Trecu, aceptado). Por otra parte, Katz et al. (2022) testearon muestras de Of y Aa para *Leptospira* spp (genera leptospirosis), *Mycobacterium* spp (relacionada con la tuberculosis), *Toxoplasma gondii* y *Neospora canium*, las dos últimas generan toxoplasmosis, reportando en todos los casos mayor cero prevalencia en Of. Dados estos antecedentes, se podría hipotetizar que los mayores niveles de Hg en Of podrían estar afectando su sistema inmune, haciendo a su población más propensa a contraer infecciones y eventualmente causar su mortalidad.

### 3. Relaciones a nivel intraespecífico

En hembras del león marino, los individuos que presentaron mayores niveles de HgT, también tuvieron mayores valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , indicando que el uso de recursos más costeros, incrementa la acumulación de HgT. Las hembras lactantes de león marino de Isla de Lobos, utilizan áreas de alimentación ubicadas exclusivamente en la plataforma continental. Sin embargo, más allá de que todas se alimentan en el ambiente costero, se ha reportado que las

distancias máximas que las hembras se alejaron desde la colonia variaron entre 38 y 135 Km (Riet-Sapriza et al., 2013). Esto indicaría que algunas hembras se alimentan en áreas más cercanas a la costa o más influenciadas por el Río de la Plata, mientras que otras se alimentan en aguas más influenciadas por el Océano Atlántico. El efecto del área de alimentación sobre el Hg a nivel intraespecífico también se observó en otros Pinnípedos, como en el elefante marino del norte (*M. angustirostris*), donde las crías de hembras que se alimentaban en la zona mesopelágica presentaban menor acumulación de Hg que aquellas que se alimentaban en profundidades mayores (Peterson et al., 2024). En el caso de Aa, no se detectó un efecto del  $\delta^{13}\text{C}$  en el nivel de HgT, si consideramos a la región pelágica como prístina, se esperaría que distintas áreas de alimentación en esta región presentan valores similares de HgT. No se observó un efecto de los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  en la acumulación de HgT en pelo de hembras de ninguna de las dos especies, las hembras presentan valores similares de  $\delta^{15}\text{N}$  por lo que no se aprecia el resultado de la biomagnificación dentro de las poblaciones. Elorriaga-Verplancken y Aurióles-Gamboa (2008) reportaron que las hembras de *Z. californianus* del Golfo de California, México, presentaban una relación significativa entre los niveles de HgT y los valores de  $\delta^{15}\text{N}$ . A diferencia de las hembras analizadas en el presente estudio, esta población de *Z. californianus* estaba dividida en diferentes zonas de alimentación, con preferencias por presas de distintos niveles tróficos. Esto generaba variaciones en los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  entre las hembras, lo que permitía evidenciar el proceso de biomagnificación.

Los resultados relacionados con este objetivo fueron publicados en una revista internacional arbitrada (ver Anexo).

#### 4. Correlación madre-cría de los niveles de HgT

La relación positiva y significativa reportada entre los niveles de Hg de hembras y sus crías apoya la hipótesis propuesta para Of, y representa evidencia de la permeabilidad de la placenta en relación al HgT. Si bien se ha planteado que la placenta podría operar como un filtro controlando que las toxinas en la sangre de la hembra no pasen a su cría (Morgan-Ortiz et al., 2015), existe numerosa evidencia que muestra que el Hg tiene capacidad de traspasar la barrera placentaria. Se ha encontrado este elemento en placentas de la foca gris (*Halichoerus grypus grypus*) (media= 0,26  $\mu\text{g/g}$ , rango= 0,3-0,12 $\mu\text{g/g}$ ) (Nehring et al., 2017), en lanugo de crías de elefantes marinos del norte (*M. angustirostris*) (media= 26,38 $\mu\text{g/g}$ , rango= 10,07 - 44,26  $\mu\text{g/g}$ ) (Peterson et al., 2024), así como de *P. vitulina* (rango= 1,52 - 6,68  $\mu\text{g/g}$ ) (Trukhin & Kalinchuk,

2018). La transferencia de HgT a las crías durante la gestación podría ocasionar efectos adversos en su desarrollo. Por ello, resulta fundamental llevar a cabo estudios específicos que evalúen los posibles impactos durante las etapas de desarrollo y las consecuencias a largo plazo que este fenómeno podría generar a lo largo de su vida.

A pesar de lo visto en *Of*, en el caso de *Aa* no se encontró relación entre los niveles de HgT de las hembras y sus crías, rechazando nuestra segunda hipótesis para esta especie. Esto podría estar relacionado con que los bajos niveles de HgT en hembras, pudiendo existir un umbral donde al pasar el mismo existiría la relación significativa entre la hembra y su cría. Este resultado pone en duda que se use el valor de las crías como representante de las madres sin tener en cuenta cómo es la transferencia de HgT en la población.

La transferencia entre madre y cría durante la gestación podría ocasionar efectos adversos en el desarrollo de los fetos, incluyendo alteraciones neuroquímicas e inmunotóxicas, como se ha reportado en otras especies (Gundacker & Hengstschläger, 2012). Por lo que estos resultados resaltan la importancia de seguir profundizando en el estudio de la transferencia de HgT en pinnípedos. Hasta el momento, no se han encontrado estudios comparativos en otras especies, lo que limita la comprensión de este fenómeno en el contexto más amplio de la ecología y la conservación de estas especies.

## CONCLUSIONES

Las hembras y crías de *Otaria flavescens* presentan una mayor acumulación de HgT en pelo en comparación con *Arctocephalus australis*. Los valores isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  también son significativamente mayores en hembras adultas de *O. flavescens*. A nivel intraespecífico, *O. flavescens* muestra una relación positiva entre la acumulación de HgT en pelo y la firma isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$ . Por otro lado, existe una relación positiva y significativa entre la acumulación de HgT en el pelo de las hembras y la de sus crías en *O. flavescens*.

## BIBLIOGRAFÍA

- Baptista, G., Kehrig, H. A., Di Benedetto, A. P. M., Hauser-Davis, R. A., Almeida, M. G., Rezende, C. E., Siciliano, S., De Moura, J. F., & Moreira, I. (2016). Mercury, selenium and stable isotopes in four small cetaceans from the Southeastern Brazilian coast: Influence of feeding strategy. *Environmental Pollution*, 218, 1298-1307. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.088>
- Basu, N., Scheuhammer, A. M., Bursian, S. J., Elliott, J., Rouvinen-Watt, K., & Chan, H. M. (2007). Mink as a sentinel species in environmental health. *Environmental Research*, 103(1), 130-144. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.04.005>
- Basu, N., Scheuhammer, A. M., Sonne, C., Letcher, R. J., Born, E. W., & Dietz, R. (2009). Is dietary mercury of neurotoxicological concern to wild polar bears (*Ursus maritimus*)? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(1), 133-140. <https://doi.org/10.1897/08-251.1>
- Berta, A. (2018). Pinnipeds. En *Encyclopedia of Marine Mammals* (pp. 733-740). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804327-1.00199-0>
- Briant, N., Chouvelon, T., Martinez, L., Brach-Papa, C., Chiffolleau, J., Savoye, N., Sonke, J., & Knoery, J. (2017). Spatial and temporal distribution of mercury and methylmercury in bivalves from the French coastline. *Marine Pollution Bulletin*, 114(2), 1096-1102. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.018>
- Brookens, T., Harvey, J., & Ohara, T. (2007). Trace element concentrations in the Pacific harbor seal (*Phoca vitulina richardii*) in central and northern California. *Science of The Total Environment*, 372(2-3), 676-692. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.10.006>
- Caserta, D., Graziano, A., Monte, G. L., Bordi, G., & Moscarini, M. (2013). Heavy metals and placental fetal-maternal barrier: A mini-review on the major concerns. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 17, 2198-2206.
- Caut, S., Angulo, E., & Courchamp, F. (2009). Variation in discrimination factors ( $\Delta^{15}\text{N}$  and  $\Delta^{13}\text{C}$ ): The effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology*, 46(2), 443-453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01620.x>
- Clarkson, T. W. (2002). The three modern faces of mercury. *Environmental Health Perspectives*, 110(suppl 1), 11-23. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110s111>

- Córdoba-Tovar, L., Marrugo-Negrete, J., Barón, P. R., & Díez, S. (2022). Drivers of biomagnification of Hg, As and Se in aquatic food webs: A review. *Environmental Research*, 204, 112226. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112226>
- Dallinger, R., Prosi, F., Segner, H., & Back, H. (1987). Contaminated food and uptake of heavy metals by fish: A review and a proposal for further research. *Oecologia*, 73(1), 91-98. <https://doi.org/10.1007/BF00376982>
- De Araujo, A. C., Silva, L. M. N., Cho, A. Y., Repenning, M., Amgarten, D., de Moraes, A. P., Malta, F., Miller, M., Dorlass, E. G., Palameta, S., Oliveira, D. B. L., de Araújo, J., Arns, C. W., Durigon, E. L., Pinho, J. R. R., Lee, D.-H., & Ferreira, H. L. (2024). Incursion of Highly Pathogenic Avian Influenza A (H5N1) Clade 2.3.4.4b Virus, Brazil, 2023. *Emerging Infectious Diseases*, 30(3), 619-621.
- De María, M., Szteren, D., García-Alonso, J., De Rezende, C. E., Araújo Gonçalves, R., Godoy, J. M., & Barboza, F. R. (2021). Historic variation of trace elements in pinnipeds with spatially segregated trophic habits reveals differences in exposure to pollution. *Science of The Total Environment*, 750, 141296. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141296>
- Eagles-Smith, C. A., & Ackerman, J. T. (2014). Mercury bioaccumulation in estuarine wetland fishes: Evaluating habitats and risk to coastal wildlife. *Environmental Pollution*, 193, 147-155. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.015>
- Elorriaga-Verplancken, F., & Aurióles-Gamboa, D. (2008). Trace Metal Concentrations in the Hair of *Zalophus californianus* Pups and their Relation to Feeding Habits. *Biological Trace Element Research*, 126(1-3), 148-164. <https://doi.org/10.1007/s12011-008-8186-8>
- Fitzgerald, W., & Lamborg, C. (2005). *Geochemistry of Mercury* (Vol. 9). Environmental geochemistry.
- Fossi, M. C., Marsili, L., Junin, M., Castello, H., Lorenzani, J. A., Casini, S., Savelli, C., & Leonzio, C. (1997). Use of nondestructive biomarkers and residue analysis to assess the health status of endangered species of pinnipeds in the south-west Atlantic. *Marine Pollution Bulletin*, 34(3), 157-162. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(96\)00073-2](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(96)00073-2)
- Franco-Trecu, V. (2015). *Tácticas comportamentales de forrajeo y apareamiento y dinámica poblacional de dos especies de otáridos simpátricas con tendencias poblacionales contrastantes* [Tesis Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad de la República]. <https://academic.oup.com/beheco/article-lookup/doi/10.1093/beheco/aru145>

- Franco-Trecu, V., Auriolles-Gamboa, D., Arim, M., & Lima, M. (2012). Prepartum and postpartum trophic segregation between sympatrically breeding female *Arctocephalus australis* and *Otaria flavescens*. *Journal of Mammalogy*, *93*(2), 514-521. <https://doi.org/10.1644/11-MAMM-A-174.1>
- Franco-Trecu, V., Auriolles-Gamboa, D., & Inchausti, P. (2014). Individual trophic specialisation and niche segregation explain the contrasting population trends of two sympatric otariids. *Marine Biology*, *161*(3), 609-618. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2363-9>
- Franco-Trecu, V., Drago, M., Baladán, C., García-Olazábal, M. D., Crespo, E. A., Cardona, L., & Inchausti, P. (2015). Postharvesting population dynamics of the South American sea lion (*Otaria byronia*) in the southwestern Atlantic. *Marine Mammal Science*, *31*(3), 963-978. <https://doi.org/10.1111/mms.12197>
- Franco-Trecu, V., Drago, M., Grandi, M. F., Soutullo, A., Crespo, E. A., & Inchausti, P. (2019). Abundance and Population Trends of the South American Fur Seal (*Arctocephalus australis*) in Uruguay. *Aquatic Mammals*, *45*(1), 48-55. <https://doi.org/10.1578/AM.45.1.2019.48>
- Franco-Trecu, V., Drago, M., Riet-Saprizá, F. G., Parnell, A., Frau, R., & Inchausti, P. (2013). Bias in Diet Determination: Incorporating Traditional Methods in Bayesian Mixing Models. *PLoS ONE*, *8*(11), e80019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080019>
- Franco-Trecu, V., Naya, D. E., & Inchausti, P. (2021). Fur Seal Trophic Ecology in Uruguay. En *Ethology and Behavioral Ecology of Otariids and the Odobenid* (pp. 635-642).
- Franco-Trecu, V., Tassino, B., & Soutullo, A. (2010). Allo-suckling in the South American fur seal (*Arctocephalus australis*) in Isla de Lobos, Uruguay: Cost or benefit of living in a group? *Ethology Ecology & Evolution*, *22*(2), 143-150. <https://doi.org/10.1080/03949371003707745>
- Fry, B. (2006). *Stable isotope ecology*. Springer.
- Gamarra-Toledo, V., Plaza, P. I., Gutiérrez, R., Inga-Díaz, G., Saravia-Guevara, P., Pereyra-Meza, O., Coronado-Flores, E., Calderón-Cerrón, A., Quiroz-Jiménez, G., Martínez, P., Huamán-Mendoza, D., Nieto-Navarrete, J. C., Ventura, S., & Lambertucci, S. A. (2024). Pathogenic Avian Influenza. *Emerging Infectious Diseases*, *29*(12).
- García-Alonso, J., Lercari, D., Araujo, B. F., Almeida, M. G., & Rezende, C. E. (2017). Total and extractable elemental composition of the intertidal estuarine biofilm of the Río de la

- Plata: Disentangling natural and anthropogenic influences. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 187, 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.12.018>
- Goldman, L. R., & Shannon, M. W. (2001). Technical Report: Mercury in the Environment: Implications for Pediatricians. *Pediatrics*, 108, 197-205.
- Gomes, P. R., Pestana, I. A., De Almeida, M. G., De Oliveira, B. C. V., & De Rezende, C. E. (2022). Effects of illegal gold mining on Hg concentrations in water, *Pistia stratiotes*, suspended particulate matter, and bottom sediments of two impacted rivers (Paraíba do Sul River and Muriaé River), Southeastern, Brazil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 194(11), 797. <https://doi.org/10.1007/s10661-022-10477-y>
- Grajewska, A., Falkowska, L., Saniewska, D., & Pawliczka, I. (2020). Fur and faeces – Routes of mercury elimination in the Baltic grey seal (*Halichoerus grypus grypus*). *Science of The Total Environment*, 717, 137050. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137050>
- Gundacker, C., & Hengstschläger, M. (2012). The role of the placenta in fetal exposure to heavy metals. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 162(9-10), 201-206. <https://doi.org/10.1007/s10354-012-0074-3>
- Habran, S., Debier, C., Crocker, D. E., Houser, D. S., & Das, K. (2011). Blood dynamics of mercury and selenium in northern elephant seals during the lactation period. *Environmental Pollution*, 159(10), 2523-2529. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2011.06.019>
- Hylander, L. D., Pinto, F. N., Guimaraes, J. R. D., Meili, M., Oliveira, L. J., & de Castro e Silva, E. (2000). Fish mercury concentration in the Alto Pantanal, Brazil: Influence of season and water parameters. *The Science of The Total Environment*, 261(1-3), 9-20. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00591-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00591-X)
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B., & Beeregowda, K. N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7(2), 60-72. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>
- Kakuschke, A., Valentine-Thon, E., Fonfara, S., Griesel, S., Rosenberger, T., Siebert, U., & Prange, A. (2008). Metal-Induced Impairment of the Cellular Immunity of Newborn Harbor Seals (*Phoca Vitulina*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 55, 129-136.

- Kakuschke, A., Valentine-Thon, E., Fonfara, S., Kramer, K., & Prange, A. (2009). Effects of methyl-, phenyl-, ethylmercury and mercurychlorid on immune cells of harbor seals (*Phoca vitulina*). *Journal of Environmental Sciences*, 21(12), 1716-1721. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62478-X](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62478-X)
- Kakuschke, A., Valentine-Thon, E., Griesel, S., Fonfara, S., Siebert, U., & Prange, A. (2011). Are metal-induced hypersensitivities in harbor seals associated with liver function? *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1891-1894. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.034>
- Katz, H., Reisfeld, L., & Franco-Trecu, V. (2018). Chemical immobilization protocols in free-ranging South American fur seal (*Arctocephalus australis*) and adult female South American sea lion (*Otaria byronia*): Notes. *Marine Mammal Science*, 35(1), 327-335. <https://doi.org/10.1111/mms.12524>
- Katz, H., Schelotto, F., Bakker, D., Castro-Ramos, M., Gutiérrez-Expósito, D., Panzera, Y., Pérez, R., Franco-Trecu, V., Hernández, E., Menéndez, C., & Meny, P. (2022). Survey of selected pathogens in free-ranging pinnipeds in Uruguay. *Diseases of Aquatic Organisms*, 150, 69-83. <https://doi.org/10.3354/dao03676>
- Kehrig, H. D. A., Seixas, T. G., Palermo, E. A., Baêta, A. P., Castelo-Branco, C. W., Malm, O., & Moreira, I. (2009). The relationships between mercury and selenium in plankton and fish from a tropical food web. *Environmental Science and Pollution Research*, 16(1), 10-24. <https://doi.org/10.1007/s11356-008-0038-8>
- Kooyomjian, C. (2021). *Elemental Distribution and Offloading in Peruvian Pinnipeds* [Master thesis]. Nova Southeastern University.
- Krey, A., Ostertag, S. K., & Chan, H. M. (2015). Assessment of neurotoxic effects of mercury in beluga whales (*Delphinapterus leucas*), ringed seals (*Pusa hispida*), and polar bears (*Ursus maritimus*) from the Canadian Arctic. *Science of The Total Environment*, 509-510, 237-247. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.134>
- Lamborg, C. H., Fitzgerald, W. F., O'Donnell, J., & Torgersen, T. (2002). A non-steady-state compartmental model of global-scale mercury biogeochemistry with interhemispheric atmospheric gradients. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66(7), 1105-1118. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(01\)00841-9](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(01)00841-9)

- Lavoie, R. A., Jardine, T. D., Chumchal, M. M., Kidd, K. A., & Campbell, L. M. (2013). Biomagnification of Mercury in Aquatic Food Webs: A Worldwide Meta-Analysis. *Environmental Science & Technology*, 47(23), 13385-13394. <https://doi.org/10.1021/es403103t>
- Levin, M., Jasperse, L., Desforges, J.-P., O'Hara, T., Rea, L., Castellini, J. M., Maniscalco, J. M., Fadely, B., & Keogh, M. (2020). Methyl mercury (MeHg) in vitro exposure alters mitogen-induced lymphocyte proliferation and cytokine expression in Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*) pups. *Science of The Total Environment*, 725, 138308. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138308>
- Li, C., Sonke, J. E., Le Roux, G., Piotrowska, N., Van Der Putten, N., Roberts, S. J., Daley, T., Rice, E., Gehrels, R., Enrico, M., Mauquoy, D., Roland, T. P., & De Vleeschouwer, F. (2020). Unequal Anthropogenic Enrichment of Mercury in Earth's Northern and Southern Hemispheres. *ACS Earth and Space Chemistry*, 4(11), 2073-2081. <https://doi.org/10.1021/acsearthspacechem.0c00220>
- Lima, G., Menegario, A., Sulato, E., Pedrobon, J., Torres-Florez, J., De Araújo Júnior, M., & Barreto, A. (2022). Mercury Concentration in Liver Tissues of South American Fur Seals (*Arctocephalus australis*) from Southwestern Atlantic Ocean. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20220062>
- López-Berenguer, G., Peñalver, J., & Martínez-López, E. (2020). A critical review about neurotoxic effects in marine mammals of mercury and other trace elements. *Chemosphere*, 246, 125688. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.125688>
- Luoma, S. N., & Rainbow, P. S. (2008). *Metal contamination in aquatic environments: Science and lateral management*. Cambridge university press.
- Marín, A., Gonzalez, V. H., Lapo, B., Molina, E., & Lemus, M. (2016). Niveles de mercurio en sedimentos de la zona costera de El Oro, Ecuador. *Gayana (Concepción)*, 80(2), 147-153. <https://doi.org/10.4067/S0717-65382016000200147>
- Mason, R. P., & Sheu, G. -R. (2002). Role of the ocean in the global mercury cycle. *Global Biogeochemical Cycles*, 16(4). <https://doi.org/10.1029/2001GB001440>
- McHuron, E. A., Peterson, S. H., Ackerman, J. T., Melin, S. R., Harris, J. D., & Costa, D. P. (2016). Effects of Age, Colony, and Sex on Mercury Concentrations in California Sea

- Lions. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(1), 46-55.  
<https://doi.org/10.1007/s00244-015-0201-4>
- Morgan-Ortiz, F., Morgan-Ruiz, F. V., Quevedo-Castro, E., & Báez-Barraza, J. (2015). *Anatomía y fisiología de la placenta y líquido amniótico*. 5(4).
- Muresan, B., Cossa, D., Coquery, M., & Richard, S. (2008). Mercury sources and transformations in a man-perturbed tidal estuary: The Sinnamary Estuary, French Guiana. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(22), 5416-5430.  
<https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.08.021>
- Nehring, I., Grajewska, A., Falkowska, L., Staniszevska, M., Pawliczka, I., & Saniewska, D. (2017). Transfer of mercury and phenol derivatives across the placenta of Baltic grey seals (*Halichoerus grypus grypus*). *Environmental Pollution*, 231, 1005-1012.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.08.094>
- Nriagu, J. O. (1993). Legacy of mercury pollution. *Nature*, 363(6430), 589-589.  
<https://doi.org/10.1038/363589a0>
- Pehkonen, S. O., & Lin, C.-J. (1998). Aqueous Photochemistry of Mercury with Organic Acids. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 48(2), 144-150.  
<https://doi.org/10.1080/10473289.1998.10463661>
- Peña, N. I., Moreno, V. J., Marcovecchio, J. E., & Pérez, A. (1988). Total Mercury, Cadmium and Lead Distribution in Tissues of the Southern Sea Lion (*Otaria flavescens*) in the Ecosystem of Mar del Plata, Argentina. En U. Seeliger, L. D. De Lacerda, & S. R. Patchineelam (Eds.), *Metals in Coastal Environments of Latin America* (pp. 140-146). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-71483-2\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-642-71483-2_15)
- Peterson, S. H., McHuron, E. A., Kennedy, S. N., Ackerman, J. T., Rea, L. D., Castellini, J. M., O'Hara, T. M., & Costa, D. P. (2015). Evaluating Hair as a Predictor of Blood Mercury: The Influence of Ontogenetic Phase and Life History in Pinnipeds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 70(1), 28-45.  
<https://doi.org/10.1007/s00244-015-0174-3>
- Peterson, S. H., Peterson, M. G., Ackerman, J. T., Debier, C., Goetsch, C., Holser, R. R., Hückstädt, L. A., Johnson, J. C., Keates, T. R., McDonald, B. I., McHuron, E. A., & Costa, D. P. (2024). Foraging behavior and age affect maternal transfer of mercury to

- northern elephant seal pups. *Scientific Reports*, 14(1), 4693.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-54527-6>
- Potters, G. (2013). *Marine Pollution*. Bookboon.
- R Core Team. (2023). *R: A language and environment for statistical computing* [R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria].
- Reyes, Y. C., Vergara, I., Torres, O. E., Díaz, M., & González, E. E. (2016). Contaminación por metales pesados: implicaciones en salud, ambiente y seguridad. *Ingeniería Investigación y Desarrollo*, 16(2). <https://doi.org/10.19053/1900771X.v16.n2.2016.5447>
- Riet-Sapriza, F. G., Costa, D. P., Franco-Trecu, V., Marín, Y., Chocca, J., González, B., Beathyate, G., Louise Chilvers, B., & Hückstadt, L. A. (2013). Foraging behavior of lactating South American sea lions (*Otaria flavescens*) and spatial-temporal resource overlap with the Uruguayan fisheries. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 88-89, 106-119. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2012.09.005>
- Schuster, P. F., Krabbenhoft, D. P., Naftz, D. L., Cecil, L. D., Olson, M. L., Dewild, J. F., Susong, D. D., Green, J. R., & Abbott, M. L. (2002). Atmospheric Mercury Deposition during the Last 270 Years: A Glacial Ice Core Record of Natural and Anthropogenic Sources. *Environmental Science & Technology*, 36(11), 2303-2310. <https://doi.org/10.1021/es0157503>
- Selin, N. E. (2009). Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annual Review of Environment and Resources*, 34(1), 43-63. <https://doi.org/10.1146/annurev.enviro.051308.084314>
- Storelli, M. M. (2008). Potential human health risks from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: Estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2782-2788. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.05.011>
- Streets, D. G., Horowitz, H. M., Jacob, D. J., Lu, Z., Levin, L., Ter Schure, A. F. H., & Sunderland, E. M. (2017). Total Mercury Released to the Environment by Human Activities. *Environmental Science & Technology*, 51(11), 5969-5977. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00451>

- Streit, B. (1998). Bioaccumulation of contaminants in fish. En T. Braunbeck, D. E. Hinton, & B. Streit (Eds.), *Fish Ecotoxicology* (pp. 353-387). Birkhäuser Basel. [https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8853-0\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8853-0_12)
- Szteren, D., & Franco-Trecu, V. (aceptada). Incidence of Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 in Pinnipeds in Uruguay. *Diseases of Aquatic organisms*.
- Taylor, S., Terkildsen, M., McQuilty, R., Lee, D., Wing-Simpson, A., & Gray, R. (2022). Non-essential heavy metals and protective effects of selenium against mercury toxicity in endangered Australian sea lion (*Neophoca cinerea*) pups with hookworm disease. *Environment International*, 169, 107521. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107521>
- Tchounwou, P. B., Ayensu, W. K., Ninashvili, N., & Sutton, D. (2003). Review: Environmental exposure to mercury and its toxicopathologic implications for public health. *Environmental Toxicology*, 18(3), 149-175. <https://doi.org/10.1002/tox.10116>
- Tomás, G., Marandino, A., Panzera, Y., Rodríguez, S., Wallau, G. L., Dezordi, F. Z., Pérez, R., Bassetti, L., Negro, R., Williman, J., Uriarte, V., Grazioli, F., Leizagoyen, C., Riverón, S., Coronel, J., Bello, S., Páez, E., Lima, M., Méndez, V., & Pérez, R. (2024). Highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infections in pinnipeds and seabirds in Uruguay: Implications for bird-mammal transmission in South America. *Virus Evolution*, veae031. <https://doi.org/10.1093/ve/veae031>
- Trukhin, A. M., & Kalinchuk, V. V. (2018). Hair mercury concentrations in the spotted seal (*Phoca largha*) pups from the Sea of Japan. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(27), 27133-27140. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2731-6>
- Ullrich, S. M., Tanton, T. W., & Abdrashitova, S. A. (2001). Mercury in the Aquatic Environment: A Review of Factors Affecting Methylation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 31(3), 241-293. <https://doi.org/10.1080/20016491089226>
- UN Environment. (2019). *Global Mercury Assessment 2018*. Environment Programme, Chemicals and Health Branch Geneva, Switzerland.
- UNEP. (2013). *Global Mercury Assessment 2013: Sources, Emissions, Releases and Environmental Transport*. UNEP Chemicals Branch, Geneva, Switzerland.
- United Nations. (2010). *Ecosystem approaches to the Management of Ocean-related Activities Training Manual*.

- Vaz-Ferreira, R. (1976a). *Arctocephalus australis* (Zimmermann) South American fur seal. *Advisory Committee on Marine Resources research*, 1-13.
- Vaz-Ferreira, R. (1976b). *Otaria flavescens* (Shaw) South America sea Lion. *Advisory Committee on Marine Resources research*, 1-20.
- Zhang, Y., Jaeglé, L., & Thompson, L. (2014). Natural biogeochemical cycle of mercury in a global three-dimensional ocean tracer model. *Global Biogeochemical Cycles*, 28(5), 553-570. <https://doi.org/10.1002/2014GB004814>



Contents lists available at ScienceDirect

Environmental Pollution

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/envpol](http://www.elsevier.com/locate/envpol)



## Unveiling mercury levels: Trophic habits influence on bioaccumulation in two Otariid species<sup>☆</sup>

Anaclara Roselli-Laclau<sup>a,b</sup>, Javier García-Alonso<sup>b</sup>, Alex Valdés-Gómez<sup>a,b</sup>, Mariana Freitas-Souza<sup>c</sup>, Carlos Eduardo de Rezende<sup>c</sup>, Valentina Franco-Trecu<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ecología y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Igúá 4225, 11400, Montevideo Uruguay

<sup>b</sup> Departamento de Ecología y Gestión Ambiental, Centro Universitario Región Este, Universidad de la República, Cachimba del Rey y Aparicio Saravia, 20000, Maldonado, Uruguay

<sup>c</sup> Laboratório de Ciências Ambientais, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacases, Rio de Janeiro, 28.013-602, Brazil

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
*Arctoccephalus australis*  
 Mercury  
*Otaria flavescens*  
 Río de la plata  
 Stable isotopes  
 Uruguay

### ABSTRACT

Mercury, a toxic metal released by various human activities, exerts environmental stress through its bioaccumulation and biomagnification, particularly in marine habitats. South American fur seals (*Arctoccephalus australis*) and sea lions (*Otaria flavescens*) reproduce on the Atlantic coast of Uruguay. As top predators, they can accumulate toxic levels of mercury and are often used as sentinel species for monitoring ecosystem health. Fur seals prey on pelagic species, such as fish and squid, while sea lions consume coastal-benthic prey. We analyzed the total mercury concentration (THg) in hair and the trophic habits ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) of females from both species. The average THg concentration in adult female sea lions ( $30.5 \pm 9.3 \mu\text{g/g}$  dry weight) was significantly higher than in fur seals ( $6.3 \pm 2.5 \mu\text{g/g}$  dry weight). Additionally, the mean  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values were significantly higher in sea lion ( $\delta^{15}\text{N}$ :  $19.2 \pm 0.6\%$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ :  $-13.8 \pm 0.2\%$ ) compared to fur seals ( $\delta^{15}\text{N}$ :  $16.5 \pm 0.5\%$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ :  $-15.5 \pm 0.6\%$ ). Our results suggest that different trophic levels and feedings areas affect the THg concentration in Uruguayan Otariids. Notably, at the intraspecific level, the THg concentration in sea lions increased with  $\delta^{13}\text{C}$  values, suggesting a link to coastal feeding habits. This indicates that coastal feeding behaviors, compared to feeding in pelagic environments, enhance mercury bioaccumulation in Otariids along the Uruguayan coast, with the discharge of freshwater from the Río de la Plata (one of the largest estuaries in South America) basin identified as a potential mercury source. THg concentrations found in female sea lion hair are the highest reported in Otariids globally. Mercury levels exceeded toxic thresholds observed in other mammals and could pose significant health risks. Our findings may explain why sea lions were particularly affected by the avian influenza outbreak in Uruguay compared to fur seals. Monitoring the declining sea lion population is crucial, making our results significant for integrated conservation and management strategies.

### 1. Introduction

Mercury (Hg), an extremely toxic and non-essential metallic element, is a trace component found in relatively low concentrations in the environment (Jaishankar et al., 2014; Luoma & Rainbow, 2008). In recent years, the release of Hg from anthropogenic sources has increased due to fossil fuel combustion, mining, and global industrialization. Between 2010 and 2015, mercury emissions increased by 20% (AMAP/UN Environment, 2019). Mercury, like other trace elements, undergoes

various speciation and partitioning processes upon entering the aquatic environment (Luoma & Rainbow, 2008). One of the most critical processes involves microbial action converting mercury into methylmercury (Rasmussen et al., 2005), which accumulates in biological tissues across benthic and pelagic ecosystems.

Total mercury (THg), predominantly as MeHg, is found in substrates, macrophytes, and benthic organisms, while higher concentrations are observed in piscivorous fish (Driscoll et al., 2013; Ullrich et al., 2001). This metal subsequently enters other organisms through dietary intake,

<sup>☆</sup> This paper has been recommended for acceptance by Maria Cristina Fossi.  
<sup>\*</sup> Corresponding author.

E-mail addresses: [aroselli@fcien.edu.uy](mailto:aroselli@fcien.edu.uy) (A. Roselli-Laclau), [jgalonso@cure.edu.uy](mailto:jgalonso@cure.edu.uy) (J. García-Alonso), [crezende@uenf.br](mailto:crezende@uenf.br) (C.E. de Rezende), [vfranco-trecu@fcien.edu.uy](mailto:vfranco-trecu@fcien.edu.uy) (V. Franco-Trecu).

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124804>

Received 17 May 2024; Received in revised form 20 August 2024; Accepted 22 August 2024

Available online 23 August 2024

0269-7491/© 2024 Elsevier Ltd. All rights are reserved, including those for text and data mining, AI training, and similar technologies.

accumulating and magnifying at higher trophic levels. Bioaccumulation refers to the integration of Hg into biomolecules and its accumulation in tissues over an organism's lifespan (Dallinger et al., 1987; Streit, 1998), while biomagnification describes the process where Hg concentrations increase with trophic position (Storelli, 2008). Top predator species, such as sharks, cetaceans, and pinnipeds, are particularly susceptible to toxic effects of mercury (Lehnherr, 2014). Marine mammals, often used as sentinel species due to their pivotal ecological roles, provide valuable insights into ecosystem health (Estes et al., 2016; Fleming et al., 2016; Sergio et al., 2008; Sydeman et al., 2015). Previous studies have found high concentrations of THg and other metals in several pinniped species, generally when their feeding grounds are near urbanized coastal areas with a history of mercury-specific contamination, such as abandoned mining sites. Examples include *Zalophus californianus* in Baja California (Fernández-Robledo et al., 2022) and *Phoca vitulina* in California (McHuron et al., 2014). Over the last thirty years, there has been a growing use of stable isotope analysis (SIA) to investigate various aspects of trophic ecology across different organisms (Layman et al., 2012). The SIA technique is based on the premise that the isotopic composition of a consumer's tissue reflects that of its assimilated prey, adjusted by a trophic enrichment factor (Caut et al., 2009; Crawford et al., 2008). Nitrogen stable isotope ratios ( $\delta^{15}\text{N}$ ) indicate the individual's trophic level, while carbon stable isotope ratios ( $\delta^{13}\text{C}$ ) indicate the source of primary productivity, allowing differentiation between benthic-coastal and pelagic prey in Uruguay (Franco-Trecu et al., 2012). Since the entry of Hg into organisms primarily occurs through their diet, mercury analysis is often coupled with stable isotope analysis to determine trophic position and dietary sources, allowing researchers to better understand the pathways and extent of bioaccumulation and biomagnification within the food web (Beneditto et al., 2013; Kehrig et al., 2017).

Otariids (fur seals and sea lions) are marine mammals that breed on land and feed at sea (Berta, 2018). There are two species that reproduce in Uruguay, the South American fur seal (*Arctocephalus australis*) and the South American sea lion (*Otaria flavescens*) (Vaz-Ferreira, 1976a, 1976b). The Uruguayan sea lion population is estimated at approximately 10,000 individuals, with a negative annual growth rate of  $-2\%$  (Franco-Trecu, 2015) while the fur seal population, which is an order of magnitude larger, has a positive annual growth rate of  $1.5\%$  (Franco-Trecu et al., 2019).

Both species are generalist predators, although they differ in their feeding areas. Fur seals feed on pelagic prey like Argentine hake (*Merluccius hubbsi*), Argentine anchovy (*Engraulis anchoita*), squid (*Illex argentinus* and *Loligo sanpaulensis*), largehead hairtail (*Trichiurus lepturus*) and striped weakfish (*Cynoscion guatucupa*) (Franco-Trecu et al., 2013) at the break of the continental margin (Franco-Trecu et al., 2021), which is located about 200 nautical miles from the coast. Sea lions feed on coastal and benthic prey like Whitemouth croaker (*Micropogonias furnieri*), Brazilian codling (*Urophycis brasiliensis*), striped weakfish and squid (Franco-Trecu et al., 2013; Riet-Sapriza et al., 2013).

Environmental degradation has been observed along the Uruguayan coast due to changes in land use, including unsustainable agricultural practices, industrial activities, and urbanization (Bonilla et al., 2015; García-Alonso et al., 2019). Furthermore, sediments in Uruguayan beaches affected by anthropogenic activities—such as urbanization, port transportation, oil refineries, and the chlor-alkali industry—show elevated levels of various elements, including Hg, Pb, Cu, and Zn (García-Alonso et al., 2017). Additionally, some metals have been found to accumulate in sediment-feeding annelid polychaetes (Castiglioni et al., 2018; García-Alonso et al., 2017). Even though the concentrations of various elements (e.g., Cu, Cr, Pb, Zn) in the dentine of otariids have been previously measured (De María et al., 2021), Hg concentration values were not assessed for the Uruguayan populations of sea lions and fur seals. In this study, we aimed to determine the concentrations of THg in female sea lions and fur seals from Uruguay. Additionally, we sought to evaluate whether these levels were linked to the trophic habits of both

species. To achieve this, we conducted stable isotope analyses of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  on the same tissue samples. We expected that female sea lions would exhibit higher levels of THg compared to fur seals. This expectation arises from sea lions having a higher trophic level (Franco-Trecu et al., 2013, 2014) and feeding in coastal waters (Franco-Trecu et al., 2014; Riet-Sapriza et al., 2013), which are areas with degraded environmental conditions in Uruguay (García-Alonso et al., 2017). Additionally, we anticipate that individuals within each species consuming prey from higher trophic levels (indicated by higher  $\delta^{15}\text{N}$  values) would have elevated levels of THg due to biomagnification processes.

## 2. Materials and methods

We worked in Isla de Lobos ( $35^{\circ}01'S$ ,  $54^{\circ}50'W$ ), where female fur seals and sea lions breed and suckle their pups (Franco-Trecu et al., 2010; Franco-Trecu, 2015). This breeding colony is located five nautical miles from the mainland in the easternmost part of the Río de la Plata estuary, the second largest estuary in South America. Isla de Lobos is part of a group of coastal islands located on the broad and shallow continental shelf. The Río de la Plata estuary has a dynamic mixing of seawater and freshwater due to the confluence of the Brazil and Falkland (Malvinas) currents along with the discharge of water from an enormous basin that includes extensive mining, agriculture, and industrial activities. From the 2006 to 2012 reproductive seasons, females (12 sea lions and 25 fur seals) were anesthetized according to Katz et al. (2018) to cut hair samples from the dorsal region near the tail, with sample weights ranging from 100 to 300 mg. Measurements of standard length (cm) and body mass (g) were also taken.

### 2.1. Samples preparation for Hg and SIA

To avoid interference in isotope and mercury analyses, hair samples were washed twice with 2% Extran detergent and rinsed with ultrapure Milli-Q water. After that, samples were freeze-dried. Subsamples of 0.4–0.5 mg were collected in tin capsules for elemental and isotopic determination using a Flash 2000 elemental analyzer coupled to a Delta V mass spectrometer. Analytical control was performed for every 10 samples using certified isotopic standards (Elemental Microanalysis Protein Standard OAS:  $46.5 \pm 0.78\%$  for C;  $13.32 \pm 0.40\%$  for N;  $-26.98 \pm 0.13\%$  for  $\delta^{13}\text{C}$ ;  $+5.94 \pm 0.08\%$  for  $\delta^{15}\text{N}$ ) and uncertainty were determined ( $0.05\%$  for C,  $0.03\%$  for N, and  $\pm 0.2\%$  for  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ ). Accuracy was calculated and the values were above 95%.

To determine the THg concentration, dry aliquots of 100–300 mg of hair were solubilized in 8 mL of aqua regia ( $3\text{HCl}:1\text{HNO}_3$ ), with 4 mL of ultrapure water, 2 mL of hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), and 6 mL of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:1). The total digestion time of the tissues was 35 min (10 min to reach  $95^{\circ}\text{C}$ , and 25 min at a constant temperature of  $95^{\circ}\text{C}$ ) at a power of 1600 W. After cooling for 30 min, the extracts were filtered through Whatman® 40 paper and placed in tubes, which were filled to 25 mL with ultrapure water (Milipore Milli-Q). After this, 1 mL of each final extract was added to 29 mL of ultrapure water and then 150  $\mu\text{L}$  of  $\text{BrCl}$ , 60  $\mu\text{L}$  of  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  and 150  $\mu\text{L}$  of  $\text{SnCl}_2$  were added. Analytical control solutions ( $n = 3$ ) were included in all analyses, and the coefficient of variation was less than 10%. To determine accuracy, we used certified animal tissue material (NIST Reference Material 2976;  $61.0 \pm 3.6\ \mu\text{g}\ \text{kg}^{-1}$  dry weight) and obtained a variation of  $95 \pm 15\%$  (ranging from 92 to 104%) of the certified concentration. The determination of Hg was carried out by atomic fluorescence spectrophotometry using the cold vapor generation technique with a quantification limit of  $0.07\ \text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  (CV-AFS Mercury Analysis System, Model 2600, Tekran Instruments Corporation).

### 2.2. Data analysis

Differences in THg,  $\delta^{15}\text{N}$ , and  $\delta^{13}\text{C}$  between species were assessed using ANOVAs. We evaluated the effect of female length and body mass

on Hg concentration using linear models. To assess the effect of foraging habitat and trophic level on THg concentrations, we employed regression models with the independent variables of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values, respectively. In both regression models, species, as well as the interaction between species and isotopic values, were included as explanatory variables. In both cases, the interaction was removed if found to be non-significant, and assessing this simplification with the Akaike Information Criterion (AIC) using the  $\Delta\text{AIC} > 2$  criterion (Bolker, 2007). Selected statistical models were validated by residuals analysis (results not shown) by checking the randomness, homogeneity of variance, and normality of the deviance residuals (Pinheiro & Bates, 2000). All statistical analyses were carried out in the software R 4.2.0 (R Core Team, 2022).

### 3. Results

The average THg concentration in adult female sea lions ( $30.5 \pm 9.3$   $\mu\text{g/g}$  dry weight) was significantly higher than in fur seals ( $6.3 \pm 2.5$   $\mu\text{g/g}$  dry weight) ( $F_{(1, 37)} = 163.10$ ,  $p < 0.001$ ). Additionally, the mean  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F_{(1, 37)} = 216.00$ ,  $p < 0.001$ ) and  $\delta^{13}\text{C}$  ( $F_{(1, 37)} = 91.58$ ,  $p < 0.001$ ) values were significantly higher in female sea lions ( $\delta^{15}\text{N}$ :  $19.15 \pm 0.56\%$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ :  $-13.83 \pm 0.22\%$ ) compared to female fur seals ( $\delta^{15}\text{N}$ :  $16.50 \pm 0.53\%$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ :  $-15.51 \pm 0.63\%$ ) (Fig. 1 A and B). We did not find a significant effect of length or body mass on THg in either sea lions (length:  $F_{(1,10)} = 1.09$ ,  $p = 0.32$ ; body mass:  $F_{(1,10)} = 1.64$ ,  $p = 0.23$ ) or fur seals (length:  $F_{(1,23)} = 1.16$ ,  $p = 0.29$ ; body mass:  $F_{(1,16)} = 0.01$ ,  $p = 0.93$ ). Regarding the effect of trophic habits on THg concentrations, there was a significant interaction between  $\delta^{13}\text{C}$  values and species on THg concentration (Table 1). In fur seals, THg concentration did not vary with  $\delta^{13}\text{C}$  values. However, in female sea lions, THg concentration increased with  $\delta^{13}\text{C}$  values (Fig. 2, Table 1). At the intraspecific level, there was no significant effect of  $\delta^{15}\text{N}$  values on THg concentration, and no interaction between species and  $\delta^{15}\text{N}$  values was observed (Table 1).

### 4. Discussion

Here we report for the first time the concentration of mercury in South American sea lion and fur seal adult females from the Uruguayan Atlantic coast. Notably, the mean THg value obtained in the hair of adult female sea lions ( $\sim 30.5$   $\mu\text{g/g}$ ) is the highest reported in Otariids globally. According to the literature, *Eumetopias jubatus* adult females showed an average THg concentration in hair of  $16.09$   $\mu\text{g/g}$  (Peterson et al., 2015), which is lower than all individual values herein reported for sea lions (range:  $19.9$ – $53.4$   $\mu\text{g/g}$ ). Moreover, sea lions' THg levels in hair were higher than reported for the same species in Argentina ( $33.3$  and  $17.9$   $\mu\text{g/g}$ ) (Fossi et al., 1997; Peña et al., 1988). Higher mean values have been reported for *Phoca vitulina* in Germany ( $55.9 \pm 61.3$   $\mu\text{g/g}$ ) (Wenzel et al., 1993).

Our findings suggested a significant influence of trophic levels ( $\delta^{15}\text{N}$ ) and feeding areas ( $\delta^{13}\text{C}$ ) used by females on THg concentration in Uruguay. Female fur seals primarily consumed pelagic resources (lower  $\delta^{13}\text{C}$  values) in offshore areas near the continental slope break (Franco-Trecu et al., 2013, 2021), whereas female sea lions predominantly consumed benthic resources (higher  $\delta^{13}\text{C}$  values) in coastal waters (Franco-Trecu et al., 2013; Riet-Sapirza et al., 2013). It is important to highlight that the prey of these species in Uruguayan waters not only had higher  $\delta^{13}\text{C}$  values in the benthic-coastal environment compared to the pelagic one but also exhibited elevated  $\delta^{15}\text{N}$  values (Franco-Trecu et al., 2012). These results suggest that the benthic food web at the coast exhibits elevated Hg levels compared to the pelagic food web near the continental slope break. In Uruguay, the coastal area where sea lions feed is strongly influenced by the Río de la Plata plume. This plume carries freshwater from one of the largest basins in America, transporting Hg from various continental sources and activities (García-Alonso et al., 2019) in tributaries such as the Pilcomayo River, which includes areas with historical mining activities that have released mercury for centuries (Nriagu, 1993). Additionally, gold mining in Paraná tributaries has contributed Hg to the basin (Hylander et al., 2000). Another historical source of mercury is organomercurial fungicides used for decades in sugarcane plantations, banned in Brazil in

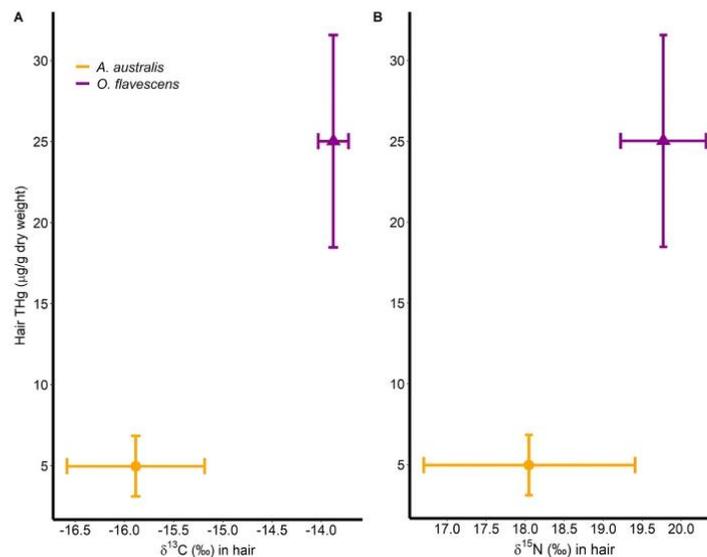


Fig. 1. Mean and standard deviation of A)  $\delta^{13}\text{C}$  and B)  $\delta^{15}\text{N}$  as a function of hair THg concentration ( $\mu\text{g/g}$ , dry weight) for female South American fur seals (*Arctocephalus australis*, triangle) and sea lions (*Otaria flavescens*, circle).

**Table 1**

Linear models for hair THg concentration related to stable isotopes value ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) and species. Estimates and their Standard Error are shown in parentheses, F-statistic and  $p$  correspond to the statistical significance for each variable and interaction in each model. The R adjusted are shown for each model.

Model	Intercept	Species (SASL)	Isotopic value	Species*isotopic value	R <sup>2</sup> -adjusted
THg ~ Species * $\delta^{13}\text{C}$	(-2.4, 25.1) $p = 0.93$	(398.6, 116.6) $F_{(1,33)} = 202.2$ $p = 0.002$	(-0.6, 1.6) $F_{(1,33)} = 0.08$ $p = 0.73$	(26.8, 8.4) $F_{(1,33)} = 10.3$ $p = 0.003$	0.85
THg ~ Species * $\delta^{15}\text{N}$	(-8.5, 36.5) $p = 0.82$	(38.3, 72.2) $F_{(1,33)} = 154.6$ $p = 0.60$	(0.9, 2.2) $F_{(1,33)} = 0.12$ $p = 0.69$	(-0.8, 3.9) $F_{(1,33)} = 0.04$ $p = 0.84$	0.81
THg ~ Species + $\delta^{15}\text{N}$	(-4.3, 29.7) $p = 0.89$	(23.4, 1.8) $F_{(1,34)} = 159.0$ $p < 0.001$	(0.6, 1.8) $F_{(1,34)} = 0.13$ $p = 0.72$	-	0.81

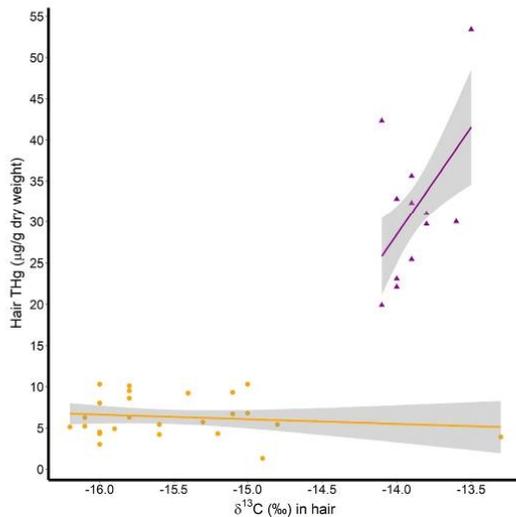


Fig. 2. Individuals hair THg concentration ( $\mu\text{g/g}$  dry weight) in relation to isotopic  $\delta^{13}\text{C}$  value for each species (circles for South American fur seals,  $n = 25$ , and triangles for South American sea lions,  $n = 12$ ). The grey area indicates the 95% confidence interval.

1980 (Lacerda et al., 1993). Recently, elevated levels of THg have been detected in sandy beaches of the Río de la Plata estuary, indicating recent anthropogenic discharge of this toxic element, probably from chlor-alkali industries at the estuarine coast (García-Alonso et al., 2017). A study conducted in four species of small piscivorous cetaceans along the South Atlantic coast of Brazil (relatively close to Uruguay) reports that species with coastal habits exhibited lower levels of accumulated THg, while pelagic species showed the highest Hg levels, and those with coastal-pelagic habits displayed intermediate values (Baptista et al., 2016). These results suggest that while the coastal environment itself may not necessarily be more polluted, the coastal environment of Uruguay is particularly affected by Hg contamination due to the discharge of the Río de la Plata plume.

Within female sea lions, a positive relationship was found between  $\delta^{13}\text{C}$  values and THg levels, indicating that females with more coastal foraging habits were associated with greater concentration of THg. Interestingly, a recent study on northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*) show that individuals foraging at shallower depths within the mesopelagic zone transferred lower levels of Hg to their offspring, compared to those foraging at deeper mesopelagic depths, which transferred higher levels of Hg. Maternal transfer of Hg to developing seal pups was related to maternal Hg concentration and was strongly correlated with maternal foraging behavior (Peterson et al.,

2024). This suggests that the mesopelagic North Pacific contains elevated levels of THg. These differences in foraging behavior and Hg concentration highlight the complexity of Hg bioaccumulation in marine mammals and the need for species-specific assessments.

A significant body of evidence suggests that Hg biomagnifies across trophic levels (Lehnherr, 2014; Storelli, 2008). In line with this, the interspecies comparison shows that the mean  $\delta^{15}\text{N}$  values and THg levels were significantly higher in female sea lions compared to female fur seals, confirming, as expected, that trophic level influences THg concentration. However, our models evaluating intraspecific effects showed no consistent relationship between  $\delta^{15}\text{N}$  values and THg levels within either species. Interestingly, a relationship between  $\delta^{13}\text{C}$  and THg levels was detected, but this pattern was specific to coastal sea lions and not observed in the pelagic fur seals. Additionally, the observed  $\delta^{15}\text{N}$  values within each species likely do not span a full trophic level, which may explain the lack of a clear association between  $\delta^{15}\text{N}$  and THg at intra-specific level.

Remarkably, the values of THg found in sea lions' hair were far above the threshold level (5.4  $\mu\text{g/g}$ ) known to produce neurological damage in polar bears (Basu et al., 2009). Additionally, these values exceed the toxicological thresholds established for hair in other piscivorous mammals, such as mustelids, with reported thresholds of 20  $\mu\text{g/g}$  (Basu et al., 2007). This suggests that the sea lions in our study may be exposed to potentially harmful levels of mercury. It has been suggested that the incorporation of Hg into the hair of these species is a significant detoxification pathway, neutralizing the toxic metal (Peña et al., 1988). However, THg concentrations in hair are generally a poor index of internal THg concentrations throughout the year, although even close to active hair growth the relationship between THg concentrations in hair and blood were quite weak (Peterson et al., 2015). Despite this, recent research estimated that the incorporation of Hg into newly formed fur is a less effective method of Hg elimination, removing just 4% of mercury entering the body via the alimentary route (Grajewska et al., 2020). This highlights the potential risk of mercury exposure in sea lions, given the high THg levels observed in their hair.

Adverse effects of Hg concentration above the toxicological threshold have been reported in different pinniped species and their impact on health has been diverse. In harbor seal (*P. vitulina*), multiple influences of methylmercury (MeHg) on the immune system were reported, such as immunosuppression or acute and chronic inflammatory processes leading to hypersensitivities or autoimmune diseases (Kakuschke et al., 2008, 2009). In Australian sea lions (*Neophoca cinerea*), an endangered species with a marked population decline, an intestinal nematode (*Uncinaria sanguinis*) has been identified as an important cause of disease and mortality in pups. In turn, several parameters related to red blood cells were affected by the presence of metals and suggest that they could be exacerbating the anemia caused by hookworm disease (Taylor et al., 2022). All these findings support the suggestion of a chronic influence of metal contaminants on the health of pinnipeds. In Uruguay, the seroprevalence of *Leptospira* spp., tuberculosis antigens, and *N. caninum* and *T. gondii* is higher in sea lions than in fur seals (Katz et al., 2022). A recent study reported a positive relationship between avian influenza prevalence and Hg concentrations in

several species of migratory wild ducks, suggesting that high mercury levels could have immunotoxic effects and contribute to the spread of avian influenza, even beyond contaminated areas. The study found that the odds of prior influenza infection increased more than fivefold across the observed range of blood mercury concentrations, indicating that mercury contamination may weaken the immune system, making ducks more susceptible to influenza and facilitating its spread along migratory routes (Teitelbaum et al., 2022). As well as in other South American countries, a high mortality rate among otariid species was recorded in 2023 due to a panzootic outbreak caused by the highly pathogenic avian influenza A (H5N1) (De Araujo et al., 2024; Gamarrá-Toledo et al., 2024; Tomás et al., 2024). Sea lions were notably more affected than fur seals, despite the latter's larger population (Szteren and Franco-Trecu, ). Hence, considering the impact of Hg on immune system cells, it is plausible to posit that the elevated levels of THg in sea lions may induce immunosuppression, thereby diminishing the response to pathogenic avian influenza A (H5N1) and potentially increasing mortality within the population.

In summary, we report that female sea lions exhibit higher concentrations of THg,  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  compared to fur seals, in Uruguay. Our results suggest that different trophic levels and feedings areas affect the concentration of THg in Otariids along the Uruguayan coast. We hypothesize that these elevated levels can be attributed to the freshwater discharge from the Rio de la Plata basin. Such elevated THg levels in female sea lions could potentially lead to immunosuppression, making this declining population more susceptible to disease. Future research should focus on identifying specific sources of mercury and developing mitigation strategies to protect these marine mammals.

#### Ethic statement

All procedures of animal manipulation were submitted to and approved by the Ethics Committee in Animal Experimentation of the University of the Republic (Uruguay). The fieldwork and sampling were authorized by the National Council for Aquatic Resources, Ministry of Livestock, Agriculture and Fishing (DINARA, Uruguay) under permit No 603/2006, 572/2008 and 1022/2010.

#### CRediT authorship contribution statement

**Anaclara Roselli-Laclau:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Methodology, Data curation. **Javier García-Alonso:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Conceptualization. **Alex Valdés-Gómez:** Writing – review & editing, Data curation. **Mariana Freitas-Souza:** Writing – review & editing, Data curation. **Carlos Eduardo de Rezende:** Writing – review & editing, Methodology, Funding acquisition. **Valentina Franco-Trecu:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Supervision, Software, Project administration, Investigation, Funding acquisition, Formal analysis, Data curation, Conceptualization.

#### Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

#### Data availability

Data will be made available on request.

#### Acknowledgements

We extend our gratitude to all individuals who provided assistance and logistical support during fieldwork in Uruguay and laboratory work

in Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Brazil. Additionally, we thank the anonymous reviewers for their thorough evaluation and valuable suggestions, which greatly improved the quality of this article. VFT and JGA were funded by ANII (SNI: 2021\_1\_1010934.) and ARL and AV by CSIC-PAIE (N°62). The present article is a contribution to Anaclara Roselli-Laclau graduate thesis, tutored by Valentina Franco-Trecu and Javier García-Alonso.

#### References

- AMAP/UN Environment, 2019. Technical background report for the global mercury assessment 2018. Arctic Monitoring and Assessment Program, Oslo, Norway/UN Environment Programme, Chemicals and Health Branch, Geneva, Switzerland. viii + 426 pp including E-Annexes.
- Baptista, G., Kehrig, H.A., Di Benedetto, A.P.M., Hauser-Davis, R.A., Almeida, M.G., Rezende, C.E., Siciliano, S., De Moura, J.F., Moreira, I., 2016. Mercury, selenium and stable isotopes in four small cetaceans from the Southeastern Brazilian coast: influence of feeding strategy. *Environ. Pollut.* 218, 1298–1307. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.08.088>.
- Basu, N., Scheuhammer, A.M., Bursian, S.J., Elliott, J., Rouvinen-Watt, K., Chan, H.M., 2007. Mink as a sentinel species in environmental health. *Environ. Res.* 103 (1), 130–144. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.04.005>.
- Basu, N., Scheuhammer, A.M., Sonne, C., Letcher, R.J., Born, E.W., Dietz, R., 2009. Is dietary mercury of neurotoxicological concern to wild polar bears (*Ursus maritimus*)? *Environ. Toxicol. Chem.* 28 (1), 133–140. <https://doi.org/10.1897/08-251.1>.
- Benedetto, A.P.M.D., Bittar, V.T., Rezende, C.E.D., Camargo, P.B., Kehrig, H.A., 2013. Mercury and stable isotopes ( $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ ) as tracers during the ontogeny of *Trichurus lepturus*. *Neotrop. Ichthyol.* 11 (1), 211–216. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252013000100024>.
- Berta, A., 2018. Pinnipeds. *Encyclopedia Of Marine Mammals*. Elsevier, pp. 733–740. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804327-1.00199-0>.
- Bolker, B., 2007. *Ecological Models and Data in R*. Princeton University Press.
- Caut, S., Angulo, E., Courchamp, F., 2009. Variation in discrimination factors ( $\Delta^{15}\text{N}$  and  $\Delta^{13}\text{C}$ ): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *J. Appl. Ecol.* 46 (2), 443–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2009.01620.x>.
- Crawford, K., McDonald, R.A., Bearhop, S., 2008. Applications of stable isotope techniques to the ecology of mammals. *Mamm. Rev.* 38 (1), 87–107. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2008.00120.x>.
- Dallinger, R., Prosi, F., Segner, H., Back, H., 1987. Contaminated food and uptake of heavy metals by fish: a review and a proposal for further research. *Oecologia* 73 (1), 91–98. <https://doi.org/10.1007/BF00376982>.
- De Araujo, A.C., Silva, L.M.N., Cho, A.Y., Repenning, M., Angarten, D., de Moraes, A.P., Malta, F., Miller, M., Dorlase, E.G., Palameta, S., Oliveira, D.B.L., de Araujo, J., Arns, C.W., Durigon, E.L., Pinho, J.R.R., Lee, D.-H., Ferreira, H.L., 2024. Incursion of highly pathogenic Avian Influenza A (H5N1) clade 2.3.4.4b virus, Brazil, 2023. *Emerg. Infect. Dis.* 30 (3), 619–621.
- De María, M., Szteren, D., García-Alonso, J., De Rezende, C.E., Araújo Gonçalves, R., Godoy, J.M., Barboza, F.R., 2021. Historic variation of trace elements in pinnipeds with spatially segregated trophic habits reveals differences in exposure to pollution. *Sci. Total Environ.* 750, 141296. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141296>.
- Driscoll, C.T., Mason, R.P., Chan, H.M., Jacob, D.J., Pirrone, N., 2013. Mercury as a global pollutant: sources, pathways, and effects. *Environ. Sci. Technol.* 47 (10), 4967–4983. <https://doi.org/10.1021/es305071v>.
- Estes, J.A., Heithaus, M., McCauley, D.J., Rasher, D.B., Worm, B., 2016. Megafaunal impacts on structure and function of ocean ecosystems. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 41 (1), 83–116. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-110615-085622>.
- Fleming, A.H., Clark, C.T., Calambokidis, J., Barlow, J., 2016. Humpback whale diets respond to variance in ocean climate and ecosystem conditions in the California Current. *Global Change Biol.* 22 (3), 1214–1224. <https://doi.org/10.1111/gcb.13171>.
- Fossi, M.C., Marsili, L., Junin, M., Castello, H., Lorenzani, J.A., Casini, S., Savelli, C., Leonzio, C., 1997. Use of nondestructive biomarkers and residue analysis to assess the health status of endangered species of pinnipeds in the south-west Atlantic. *Mar. Pollut. Bull.* 34 (3), 157–162. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(96\)00073-2](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(96)00073-2).
- Franco-Trecu, V., 2015. Tácticas comportamentales de forrajeo y apareamiento y dinámica poblacional de dos especies de otáridos simpátricas con tendencias poblacionales contrastantes. Tesis de Doctorado, PEDECIBA, UdelaR, Uruguay, p. 225.
- Franco-Trecu, V., Aurióles-Gamboa, D., Arim, M., Lima, M., 2012. Prepartum and postpartum trophic segregation between sympatrically breeding female *Arctocephalus australis* and *Otaria flavescens*. *J. Mammal.* 93 (2), 514–521. <https://doi.org/10.1644/11-MAMM-A-174.1>.
- Franco-Trecu, V., Aurióles-Gamboa, D., Inchausti, P., 2014. Individual trophic specialisation and niche segregation explain the contrasting population trends of two sympatric otariids. *Marine Biology* 161 (3), 609–618. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2363-9>.
- Franco-Trecu, V., Drago, M., Grandi, M.F., Soutullo, A., Crespo, E.A., Inchausti, P., 2019. Abundance and Population Trends of the South American Fur Seal (*Arctocephalus australis*) in the Southern Atlantic. *Aquat. Mamm.* 45, 48–55. <https://dx.doi.org/10.1578/AM.45.1.2019.48>.

- Franco-Trecu, V., Drago, M., Riet-Sapirza, F.G., Parnell, A., Frau, R., Inchausti, P., 2013. Bias in diet determination: incorporating traditional methods in bayesian mixing models. *PLoS One* 8 (11), e80019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080019>.
- Franco-Trecu, V., Naya, D.E., Inchausti, P., 2021. Fur seal trophic ecology in Uruguay. *Ethology and Behavioral Ecology of Otariids and the Odobenid* 635–642.
- Franco-Trecu, V., Tassinio, B., Soutullo, A., 2010. Allo-suckling in the South American fur seal (*Arctocepalhus australis*) in Isla de Lobos, Uruguay: Cost or benefit of living in a group? *Ethology Ecology & Evolution* 22 (2), 143–150. <https://doi.org/10.1080/03949371003707745>.
- Gamarrá-Toledo, V., Plaza, P.I., Gutiérrez, R., Inga-Díaz, G., Saravia-Guevara, P., Pereyra-Meza, O., Coronado-Flores, E., Calderón-Cerrón, A., Quiroz-Jiménez, G., Martínez, P., Huamán-Mendoza, D., Nieto-Navarrete, J.C., Ventura, S., Lambertucci, S.A., 2024. Pathogenic avian influenza. *Emerg. Infect. Dis.* 29 (12).
- García-Alonso, J., Lercari, D., Araujo, B.F., Almeida, M.G., Rezende, C.E., 2017. Total and extractable elemental composition of the intertidal estuarine biofilm of the Río de la Plata: Disentangling natural and anthropogenic influences. *Estuar. Coast Shelf Sci.* 187, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.12.018>.
- García-Alonso, J., Lercari, D., Defeo, O., 2019. Río de la Plata: a neotropical estuarine system. *coasts and estuaries*. Elsevier, pp. 45–56. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814003-1.00003-4>.
- Grajewska, A., Falkowska, L., Saniewska, D., Pawliczka, I., 2020. Fur and faeces – routes of mercury elimination in the Baltic grey seal (*Halichoerus grypus grypus*). *Sci. Total Environ.* 717, 137050 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137050>.
- Hylland, L.D., Pinto, F.N., Guimarães, J.R.D., Meili, M., Oliveira, L.J., de Castro e Silva, E., 2000. Fish mercury concentration in the Alto Pantanal, Brazil: influence of season and water parameters. *Sci. Total Environ.* 261 (1–3), 9–20. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(00\)00591-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00591-X).
- Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B., Beeregowda, K.N., 2014. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscipl. Toxicol.* 7 (2), 60–72. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>.
- Kakuschke, A., Valentine-Thon, E., Fonfara, S., Griesel, S., Rosenberger, T., Siebert, U., Prange, A., 2008. Metal-induced impairment if the cellular immunity of newborn harbor seals (*Phoca vitulina*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 55, 129–136.
- Kakuschke, A., Valentine-Thon, E., Fonfara, S., Kramer, K., Prange, A., 2009. Effects of methyl-, phenyl-, ethylmercury and mercurychlorid on immune cells of harbor seals (*Phoca vitulina*). *Journal of Environmental Sciences* 21 (12), 1716–1721. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(09\)62478-X](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(09)62478-X).
- Katz, H., Reisfeld, L., Franco-Trecu, V., 2018. Chemical immobilization protocols in free-ranging South American fur seal (*Arctocepalhus australis*) and adult female South American sea lion (*Otaria byronia*). *Notes. Mar. Mamm. Sci.* 35 (1), 327–335. <https://doi.org/10.1111/mms.12524>.
- Katz, H., Schelotto, F., Bakker, D., Castro-Ramos, M., Gutierrez-Exposito, D., Panzera, Y., Pérez, R., Franco-Trecu, V., Hernández, E., Menéndez, C., Meny, P., 2022. Serological, cultural and molecular survey of specific pathogens in free-ranging pinnipeds in Uruguay. *Dis. Aquat. Org.* 150, 69–83. <https://doi.org/10.3354/dao03676>.
- Kehrig, H.A., Baptista, G., Di Benedetto, A.P.M., Almeida, M.G., Rezende, C.E., Scigliano, S., De Moura, J.F., Moreira, I., 2017. Biomagnification de mercurio en la cadena trófica del Delfín Moteado del Atlántico (*Stenella frontalis*), usando el isótopo estable de nitrógeno como marcador ecológico. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 52 (2), 233–244. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572017000200004>.
- Lacerda, L.D., Carvalho, C.E.V., Rezende, C.E., Pfeiffer, W.C., 1993. Mercury in sediments from the Paraíba do Sul River continental shelf, S.E. Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 26 (4), 220–222. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(93\)90626-U](https://doi.org/10.1016/0025-326X(93)90626-U).
- Layman, C.A., Araujo, M.S., Boucek, R., Hammerschlag-Peyer, C.M., Harrison, E., Jud, Z. R., Matich, P., Rosenblatt, A.E., Vaudo, J.J., Yeager, L.A., Post, D.M., Bearhop, S., 2012. Applying stable isotopes to examine food-web structure: an overview of analytical tools. *Biol. Rev.* 87 (3), 545–562. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2011.00208.x>.
- Lehnherr, I., 2014. Methylmercury biogeochemistry: a review with special reference to Arctic aquatic ecosystems. *Environ. Rev.* 22 (3), 229–243. <https://doi.org/10.1139/er-2013-0059>.
- Luoma, S.N., Rainbow, P.S., 2008. *Metal Contamination in Aquatic Environments: Science and Lateral Management*. Cambridge university press.
- Nriagu, J.O., 1993. Legacy of mercury pollution. *Nature* 363 (6430). <https://doi.org/10.1038/363589a0>, 589–589.
- Peña, N.I., Moreno, V.J., Marcovecchio, J.E., Pérez, A., 1988. Total Mercury, Cadmium and Lead Distribution in Tissues of the Southern Sea Lion (*Otaria flavescens*) in the Ecosystem of Mar del Plata, Argentina. In: Seeliger, En U., De Lacerda, L.D., Patchineelam, S.R. (Eds.), *Metals in Coastal Environments of Latin America*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 140–146. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-71483-2\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-642-71483-2_15).
- Peterson, S.H., McHuron, E.A., Kennedy, S.N., Ackerman, J.T., Rea, L.D., Castellini, J.M., O'Hara, T.M., Costa, D.P., 2015. Evaluating hair as a predictor of blood mercury: the influence of ontogenetic phase and life history in pinnipeds. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 70 (1), 28–45. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0174-3>.
- Peterson, S.H., Peterson, M.G., Ackerman, J.T., Debier, C., Goetsch, C., Holser, R.R., Hückstadt, L.A., Johnson, J.C., Keates, T.R., McDonald, B.I., McHuron, E.A., Costa, D.P., 2024. Foraging behavior and age affect maternal transfer of mercury to northern elephant seal pups. *Sci. Rep.* 14 (1), 4693. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54527-6>.
- Pinheiro, J.C., Bates, D.M., 2000. *Mixed-Effects Models in S and S-PLUS*. Springer-Verlag, New York, Inc.
- R Core Team, 2022. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.
- Rasmussen, R.S., Nettleton, J., Morrissey, M.T., 2005. A review of mercury in seafood: special focus on tuna. *J. Aquat. Food Prod. Technol.* 14 (4), 71–100. [https://doi.org/10.1300/J030v14n04\\_06](https://doi.org/10.1300/J030v14n04_06).
- Riet-Sapirza, F.G., Costa, D.P., Franco-Trecu, V., Marín, Y., Chocca, J., González, B., Beathate, G., Louise Chilvers, B., Hückstadt, L.A., 2013. Foraging behavior of lactating South American sea lions (*Otaria flavescens*) and spatial-temporal resource overlap with the Uruguayan fisheries. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 88–89, 106–119. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2012.09.005>.
- Sergio, F., Caro, T., Brown, D., Lucas, B., Hunter, J., Ketchum, J., McHugh, K., Hiraldo, F., 2008. Top predators as conservation tools: ecological rationale, assumptions, and efficacy. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 39 (1), 1–19. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.39.1.10707.173545>.
- Storelli, M.M., 2008. Potential human health risks from metals (Hg, Cd, and Pb) and polychlorinated biphenyls (PCBs) via seafood consumption: estimation of target hazard quotients (THQs) and toxic equivalents (TEQs). *Food Chem. Toxicol.* 46 (8), 2782–2788. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.05.011>.
- Streit, B., 1998. In: Braunbeck, En T., Hinton, D.E., Streit, B. (Eds.), *Bioaccumulation of Contaminants in Fish, Fish Ecotoxicology*. Birkhäuser Basel, pp. 353–387. [https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8853-0\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-0348-8853-0_12).
- Sydemann, W.J., Poloczanska, E., Reed, T.E., Thompson, S.A., 2015. Climate change and marine vertebrates. *Science* 350 (6262), 772–777. <https://doi.org/10.1126/science.aac9874>.
- Szteren, D., & Franco-Trecu, V. (in revision). Incidence of highly pathogenic avian influenza H5N1 in Pinnipeds in Uruguay. *Dis. Aquat. Org.*
- Taylor, S., Terkildsen, M., McQuilty, R., Lee, D., Wing-Simpson, A., Gray, R., 2022. Non-essential heavy metals and protective effects of selenium against mercury toxicity in endangered Australian sea lion (*Neophoca cinerea*) pups with hookworm disease. *Environ. Int.* 169, 107521 <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107521>.
- Teitelbaum, C.S., Ackerman, J.T., Hill, M.A., Satter, J.M., Casazza, M.L., De La Cruz, S.E. W., Boyce, W.M., Buck, E.J., Eadie, J.M., Herzog, M.P., Matchett, E.L., Overton, C.T., Peterson, S.H., Plancarte, M., Ramey, A.M., Sullivan, J.D., Prosser, D.J., 2022. Avian influenza antibody prevalence increases with mercury contamination in wild waterfowl. *Proc. Biol. Sci.* 289 (1982), 20221312 <https://doi.org/10.1098/rspb.2022.1312>.
- Tomás, G., Marandino, A., Panzera, Y., Rodríguez, S., Wallau, G.L., Dezordi, F.Z., Pérez, R., Bassetti, L., Negro, R., Williman, J., Uriarte, V., Grazioli, F., Leizagoyen, C., Riverón, S., Coronel, J., Bello, S., Páez, E., Lima, M., Méndez, V., Pérez, R., 2024. Highly pathogenic avian influenza H5N1 virus infections in pinnipeds and seabirds in Uruguay: implications for bird-mammal transmission in South America. *Virus Evolution*. <https://doi.org/10.1093/ve/veae031> veae031.
- Ullrich, S.M., Tanton, T.W., Abdrashitova, S.A., 2001. Mercury in the aquatic environment: a review of factors affecting methylation. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* 31 (3), 241–293. <https://doi.org/10.1080/20016491089226>.
- Vaz-Ferreira, R., 1976a. *Arctocepalhus australis* (Zimmermann) South American fur seal. Advisory Committee on Marine Resources Research, pp. 1–13.
- Vaz-Ferreira, R., 1976b. *Otaria flavescens* (shaw) South America sea lion. Advisory Committee on Marine Resources research 1–20.
- Wenzel, C., Adelung, D., Kruse, H., Wassermann, O., 1993. Trace metal accumulation in hair and skin of the harbour seal, *Phoca vitulina*. *Mar. Pollut. Bull.* 26 (3), 152–155. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(93\)90126-5](https://doi.org/10.1016/0025-326X(93)90126-5).