

Projet Seine-Aval 6

PLASTIC-Seine

« Flux et impacts des microplastiques dans
l'estuaire de la Seine »

Janvier 2021

Coordination : Johnny Gasperi, Jérôme Cachot

Co-auteurs : S. Alligant, R. Amara, ML. Begout, C. Bialais, M. Bruneau, A. Chatel, C. Clérandeau, R. Coulaud, X. Cousin, C. Dreanno, R. Dris, Dufлот, ML. Dutertre, M. El Rakwe, A. Gangnery, MP. Halm-Lemeille, M. Kazour, F. Le Bihanic, F. Maheux, F. Mazeas, I. Métais, F. Misurale, B. Morin, T. Motus, M. Mouloud, C. Mouneyrac, P. Pannetier, Pedriat, H. Perrein-Ettajani, E. Prado, M. Revel, B. Simon, S. Souissi, M. Tardivel, B. Tassin, J. Thery, C. Vignet, B. Xuereb



GIP Seine-Aval
GROUPEMENT D'INTÉRÊT PUBLIC

TABLE DES MATIERES

RESUME EXECUTIF	4
REMERCIEMENTS	7
SCIENTIFIQUES AYANT PARTICIPE AU PROJET	8
PARTICIPANTS AU SUIVI DE PROJET	9
INTRODUCTION	10
1 Sites d'étude et protocoles expérimentaux	12
1.1 Distribution des microplastiques le long du gradient salin	12
1.2 Distribution des microplastiques au cours d'un cycle de marée	13
1.3 Protocoles expérimentaux	15
2 Distribution des MP le long du gradient salin	16
2.1.1 Niveaux de contamination et morphologie des microplastiques	16
2.1.2 Distribution de taille	19
2.1.3 Distribution des MP entre eaux de surface et eaux de subsurface	19
2.1.4 Nature des polymères retrouvés dans la colonne d'eau	20
2.1.5 Evolution des concentrations le long du gradient salin	21
2.1.6 Concentrations en MP et débit de la Seine	22
3 Variabilité temporelle et verticale lors d'un cycle de marée	23
3.1.1 Concentrations en fragments et microbilles au sein de la colonne d'eau	23
3.1.2 Evolution de la distribution de taille des MP au sein du cycle de marée	27
3.1.3 Evolution de la distribution des polymères au sein du cycle de marée	28
4 Contamination en microplastiques des sédiments	29
5 Synthèse sur le continuum Seine	34
CHAPITRE 2 : ETAT DES LIEUX DE LA CONTAMINATION DU RESEAU TROPHIQUE DE LA SEINE	35
2 Sites d'étude et protocoles expérimentaux	35
2.1 Sites d'étude	35
2.2 Démarche qualité et blancs de laboratoire	36
2.3 Conditionnement des animaux avant analyses	37
2.4 Extraction des microplastiques	37
2.4.1 Extraction au KOH	37
2.4.2 Extraction au NaClO	37
2.5 Filtration	38

2.6 Analyses	38
3 Distribution des microplastiques au sein du réseau trophique	40
3.1 Copépodes <i>Eurytemora affinis</i> et <i>Acartia sp</i>	40
3.2 Annélide polychète <i>Hediste diversicolor</i>	42
3.3 Crevette blanche <i>Palaemon longirostris</i>	46
3.4 Moule bleue <i>Mytilus edulis</i>	49
3.5 Flet commun <i>Platichthys flesus</i>	51
3.6 Sole commune : <i>Solea solea</i>	55
3.7 Bar européen <i>Dicentrarchus labrax</i>	57
CHAPITRE 3 : ETUDE DU TRANSFERT ET DES EFFETS DES MICROPLASTIQUES SUR TROIS ESPECES REPRESENTATIVES DES PEUPLEMENTS DE L'ESTUAIRE DE SEINE	62
1 Caractérisation des mélanges MP environnementaux	62
2 Etude du transfert et des effets chez le ver <i>Hediste diversicolor</i>	67
2.1 Cinétique d'ingestion et d'égestion des MP	67
2.2 Etude des effets écotoxicologiques des MP	68
3 Etude du transfert et des effets chez <i>Eurytemora affinis</i>	71
3.1 Etude du transfert et de l'accumulation des MP	71
3.2 Etude des effets écotoxiques des MP	72
3.2.1 Démarche scientifique et protocole d'exposition et d'analyse	72
3.2.2 Principaux résultats obtenus	74
3.3 Conclusions	80
4 Etude du transfert et des effets chez la sole commune <i>Solea solea</i>	81
4.1 Etude de la cinétique d'ingestion et d'égestion des MP	81
4.2 Etude du transfert trophique et des effets écotoxicologiques induits	82
4.3 Conclusions	84
CONCLUSION	85
PERSPECTIVES	91
LISTE DES ILLUSTRATIONS	93
BIBLIOGRAPHIE	97
ANNEXES	101

Annexe 1. Etat de l'art sur la contamination en microplastiques au sein des estuaires – Extrait d'un rapport spécifique à la tâche 1 du projet Plastic-Seine

Annexe 2. Publications et communications en congrès

RESUME EXECUTIF

Le projet PLASTIC-Seine (Flux et impacts des microplastiques dans l'estuaire de la Seine) a pour objectif d'étudier de manière intégrée l'occurrence et les niveaux d'imprégnation de l'estuaire de la Seine par les microplastiques (MP), qu'il s'agisse de la colonne d'eau, du sédiment ou du biote. Ce projet avait également pour objectif d'étudier la cinétique de transfert et les effets des MP sur différentes espèces du réseau trophique de cet estuaire.

Pour répondre à ces objectifs, le projet PLASTIC-Seine est structuré autour de trois tâches analytiques et expérimentales. La première tâche vise à dresser un état des lieux de la contamination des compartiments abiotiques sur le fleuve. La seconde tâche se focalise sur l'état de la contamination de sept espèces représentatives du réseau trophique de l'estuaire de Seine par les MP. La troisième tâche a pour objectif de mieux comprendre le transfert et le devenir des MP dans l'organisme et leurs effets trois des sept espèces sélectionnées.

Les concentrations moyennes et médianes en MP dans les eaux de surface de l'estuaire de Seine ont été estimées respectivement à 6,1 et 4,0 MP.m⁻³, avec une prédominance des fragments et des microbilles pour des tailles < 500 µm. Les concentrations en fragments varient entre 0,2 et 14,9 fragments.m⁻³ (min-max). Pour les microbilles, les concentrations sont en moyenne égales à 2,3 microbilles.m⁻³, mais peuvent atteindre 24,8 microbilles.m⁻³. Pour quelques campagnes, un comptage des fibres totales a été effectué. Leurs concentrations varient entre 0,2 et 6,6 fibres totales par m³ et les fibres non synthétiques (cellulose, rayonne, etc.) sont majoritaires (de l'ordre de 90 %). De manière générale les MP correspondent soit à du PE¹ (40%) soit à du PP¹ (21%) excepté sur le site de Vieux-Port où l'on observe des concentrations très importantes de microbilles de PS¹. Les autres polymères, comme le PET¹, le PMMA¹, le PA¹, l'ABS¹, le PVC¹ ou le PUR¹ ou des copolymères ne sont que très ponctuellement détectés. Au cours des quatre campagnes effectuées en 2017 à 2019, un profil similaire est observé le long du gradient salin avec des concentrations plus importantes de MP à Vieux-Port et des concentrations plus faibles mais similaires aux sites de la Bouille et la Roque. Suite à une variabilité importante et un nombre limité de données, il a été décidé de ne pas évaluer les flux de MP transitant au sein de l'estuaire.

Bien que les résultats obtenus soient soumis à des incertitudes liées à l'échantillonnage et à l'analyse des MP, l'étude de deux cycles de marée à la Roque a permis de mettre en évidence des gradients de concentrations en fragments et dans une moindre mesure en microbilles entre le fond et la surface et des évolutions au cours du cycle de marée. Pour l'ensemble des prélèvements effectués en fin de flot ou en début de jusant, des concentrations plus importantes ont été observées pour les eaux prélevées les plus en profondeur et des concentrations plus faibles pour les eaux de surface. Ce comportement pourrait être lié à la remise en suspension des sédiments riches en MP au cours du flot et de leur sédimentation au cours de l'étalement et/ou à la remise en suspension d'une partie des sédiments au cours du jusant. Des évolutions importantes de la distribution de taille des MP à la fois dans le temps (début vs. fin de jusant) mais aussi sur la verticale (surface, mi-hauteur, fond) ont été aussi observées, notamment pour les MP < 300 µm. Ces résultats doivent être confirmés au moyen d'études complémentaires en

¹ PE : polyéthylène, PP : polypropylène, PS : polystyrène, PET : polyéthylène téréphtalate, PMMA : polyméthacrylate de méthyle, PA : polyamide, ABS : l'acrylonitrile butadiène styrène, PVC : polychlorure de vinyle, PUR : polyuréthane



mettant en œuvre un suivi plus fin que celui réalisé et en s'assurant de la représentativité de l'échantillonnage pour pointer les processus hydro-sédimentaires en jeu.

Notre étude confirme le rôle majeur joué par le sédiment dans la dynamique des MP dans les milieux aquatiques. Les concentrations moyennes dans les sédiments sont respectivement de 238 fragments, 827 microbilles et 349 fibres totales par kg de sédiments. Les polymères de type PE, PP et PS prédominent. Au regard des particules totales (fragments, microbilles et fibres totales), les sédiments de la Roque semblent plus contaminés, suivis par les vasières alors que des niveaux comparables sont observés pour la Bouille et Vieux-Port.

Ces travaux ont permis de mettre en évidence la présence de MP dans l'ensemble des espèces collectées dans l'estuaire de la Seine mais le taux de contamination et le nombre moyen de MP est très variable selon l'espèce mais aussi selon l'individu. Les plus faibles teneurs en MP ont été mesurées chez les crevettes, les plus fortes chez les soles (*Solea solea*) de la classe d'âge G0. Par ailleurs il semblerait que le nombre de MP ingéré augmente avec la taille (l'âge) de l'individu. Les particules sont pour l'essentiel colorées, et les couleurs bleues, rouges et noires représentent la majorité des MP retrouvées dans le tractus digestif des trois espèces de poissons et dans les tissus de vers et de crevette blanche. Les fibres non synthétiques, c'est-à-dire non « plastiques » (naturelles ou cellulosiques notamment), constituent la grande majorité des particules retrouvées dans le biote. Les données d'identification en spectroscopie font apparaître que pour les MP, la majorité est constituée de PET mais on retrouve également une large diversité de polymères puisque huit plastiques différents ont été identifiés dans le biote.

L'étude de la cinétique de contamination du ver *H. diversicolor* et de la sole a montré une ingestion efficace et très rapide des MP (< 1-2 h) chez ces deux espèces. Le transit digestif et donc l'égestion des MP est plus ou moins longue selon l'espèce. Le taux d'ingestion des MP par le ver est fonction du milieu de contamination (eau ou sédiment). L'égestion des particules chez le ver est rapide et intervient au bout d'une à deux heures. Il semblerait qu'une partie des particules persiste plus longtemps dans le tractus ou soit internalisée dans les tissus. Pour la sole le temps de résidence des MP dans le tractus digestif est plus long, il faut compter entre 22 et 30 h selon la taille de la particule. Le copépode *E. affinis* est également capable d'ingérer et d'éliminer des MP (présence dans les fèces) mais de taille sensiblement plus petite, de l'ordre de quelques micromètres.

L'exposition en conditions de laboratoire de ces trois espèces à des MP modèles (PE, PP ou PVC) ou à des plastiques collectés en estuaire de Seine et broyés montre l'absence d'effets aigus mais l'induction d'effets subaigus à moyen et long terme. Ainsi le copépode *E. affinis* exposés sur trois générations à 3 ou 300 µg/L de plastiques de Seine présente des effets principalement sur la 2^{ème} voire la 3^{ème} génération qui conduisent à modifier la structure et la dynamique de sa population. L'exposition des vers à un mélange de PP et PE à des concentrations élevées de 10 et 50 mg/L a conduit à une baisse de la viabilité des coelomocytes mais sans effet significatif sur la phagocytose. Enfin, l'exposition de juvéniles de soles à des vers contaminés avec 1 ou 100 mg/kg d'un mélange de MP de Seine a conduit à une modification de la couleur de la peau des soles (couleur plus claire) et à une modification de l'adaptation chromatique de celles-ci. L'exposition de larves de soles à des microcrustacés ayant ingérés des particules de PVC enrobées avec du BaP a conduit avant métamorphose à un ralentissement du développement et à une modification du comportement natatoire de celles-ci.

Ce projet a permis des avancées techniques et scientifiques majeures pour l'analyse des MP et l'étude des niveaux et de la dynamique de contamination de l'estuaire de Seine ainsi que les niveaux de contamination et les effets sur le biote. Néanmoins certaines analyses de MP sont toujours en cours notamment sur les copépodes.

Pour l'avenir, il serait utile de continuer à optimiser et standardiser les techniques d'analyses des MP et les adapter à la biosurveillance des milieux aquatiques. Il serait judicieux de faire un suivi à moyen et long terme de la contamination MP dans l'estuaire de Seine et d'étudier plus finement le devenir des MP dans l'organisme (translocation, accumulation ou égestion) et le spectre des effets écotoxicologiques induits (perturbations endocriennes notamment). Enfin, il serait pertinent d'évaluer le degré de contamination des produits de la pêche et de l'aquaculture par les MP afin d'évaluer le niveau d'exposition des consommateurs.

REMERCIEMENTS

Le projet PLASTIC-Seine (Flux et impacts des MP dans l'estuaire de la Seine) est financé par le GIP Seine Aval et l'Agence de l'Eau Seine-Normandie. Ce projet est labélisé par la Zone Atelier Seine, le CPIER Vallée de Seine, et fait partie des projets retenus dans le cadre de la phase 6 du programme Seine-Aval. Le projet PLASTIC-Seine a pour objectif d'étudier de manière intégrée l'occurrence et les niveaux d'imprégnation de l'estuaire de la Seine par les MP – MP- (colonne d'eau, sédiment et réseau trophique), mais également d'évaluer leur devenir et leur impact à différents niveaux du réseau trophique.

Ce projet a mobilisé différents acteurs non initialement impliqués dans le projet Plastic-Seine. Nous tenons à remercier Sylvain Duhamel de la cellule du Littoral Haut Normand pour la collecte des bars et des soles en Seine, Romain Tramoy du LEESU pour la collecte des macroplastiques dans l'estuaire de Seine, Fabienne Lagarde et son équipe de l'Institut des Molécules et Matériaux du Mans pour l'identification et broyage des débris plastiques de Seine, Chloé Veclin et Bruno Grassl de l'Institut des sciences analytiques et de physico-chimie pour l'environnement et les matériaux à l'Université de Pau pour le dosage des polluants métalliques sur les débris plastiques de Seine, Sophie Lecomte du CBMN pour sa contribution dans l'analyse des MP dans les bars de Seine et enfin Emilie Caupos, Lila Boudahmane et Chandirane Partibane du LEESU pour le dosage des polluants organiques sur ces mêmes échantillons.

SCIENTIFIQUES AYANT PARTICIPE AU PROJET

- **Equipe 1** : Université de Bordeaux, UMR CNRS EPOC 5805 & UMR CNRS CBMN 5248

Coordination scientifique : J. Cachot

Autres chercheurs (ou équivalents) : C. Clérandeau. F. Le Bihanic. C. Vignet. P. Pannetier. F. Misurale. Q. Pedriat. B. Morin, S. Lecomte

- **Equipe 2** : Université de Paris Est, LEESU

Coordination scientifique : J. Gasperi

Autres chercheurs (ou équivalents) : B. Tassin, R. Dris, S. Alligant

- **Equipe 3** : Université Catholique de l'Ouest, MMS-UCO

Coordination scientifique : C. Mouneyrac

Autres chercheurs (ou équivalents) : A. Chatel, M. Revel, I. Métais, H. Perrein-Ettajani, M. Mouloud, M. Bruneau

- **Equipe 4** : Ifremer, LER Normandie, HGS-LRH : M.-L. Bégout, RDT-LDCM :

Coordination scientifique : M.-P. Halm-Lemeille, M-L Bégout, C. Dreanno

Autres chercheurs (ou équivalents) : A. Gangnery, C. Vignet, P. Pannetier, X. Cousin, F. Mazeas, M. Tardivel, M. El Rakwe, F. Maheux, B. Simon, T. Motus, E. Prado

- **Equipe 5** : Université de Lille, UMR CNRS-Lille-ULCO LOG

Coordination scientifique : S. Souissi

Autres chercheurs (ou équivalents) : R. Amara, M. Kazour, J. They, C. Bialais, D. Dufour

- **Equipe 6** : Université du Havre, Sebio

Coordination scientifique : B. Xuereb

Autres chercheurs (ou équivalents) : R. Coulaud, MA. Dutertre, A. Dufлот

PARTICIPANTS AU SUIVI DE PROJET

Personnes ayant contribué au suivi du projet ou ponctuellement à un atelier de travail.

GIP Seine-Aval : Cédric Fisson, Elise Avenas, Nicolas Bacq, Maud Berlincourt

Acteurs de l'estuaire : Fanny Olivier - Emmanuel Jestin - Barbara Leroy (AESN), Sandrine Curtenaz - Guillaume Fresnel (Métropole Rouen Normandie), Pauline Bachelet (Agglo Seine-Eure), Brigitte Viault (Département 76), Georges Martinez - Arnaud Diarra (DREAL Normandie), Amandine Lafitte (France Chimie Normandie), Annabelle Douguet (HAROPA – Port de Rouen), Pierre Beaudouin (HAROPA – Port du Havre), Damien Ono Dit Bio (Maison de l'estuaire), Laurent Colasse (SOS Mal De Seine)

Scientifiques : Romaric Verney – Arnaud Huvet (IFREMER)

Autres partenaires : Maïa Akopian (OFB).

INTRODUCTION

Le projet PLASTIC-Seine (Flux et impacts des microplastiques dans l'estuaire de la Seine) a pour objectif d'étudier de manière intégrée l'occurrence et les niveaux d'imprégnation de l'estuaire de la Seine par les MP (colonne d'eau, sédiment et réseau trophique), mais également d'évaluer leur devenir et leur impact à différents niveaux du réseau trophique. Ce projet permet de dresser un premier état des lieux de la contamination en MP de l'estuaire.

Deux hypothèses scientifiques principales sous-tendent ce travail de recherche. La première concerne la présence probable de MP dans la colonne d'eau et les sédiments de Seine. En effet, l'estuaire de Seine draine un bassin versant très fortement urbanisé et industrialisé et présente de nombreuses zones de sédimentation et le long des berges, d'accumulation de macrodéchets. Ces particularités suggèrent que les différents compartiments de l'estuaire (colonne d'eau, sédiment et biote) pourraient être fortement contaminés par des MP générés directement par les activités humaines ou produits secondairement par dégradation des macrodéchets.

La seconde hypothèse considère que le transfert des MP au biote est possible. Les MP en raison de leur concentration dans l'estuaire et de leur petite taille pourraient être ingérés ou venir se coller sur les systèmes de filtration des organismes aquatiques et induire des effets délétères de nature physique ou toxicologique.

L'objectif du projet PLASTIC-Seine est donc double. Il vise d'une part à dresser un état des lieux de la présence de MP dans les compartiments abiotiques (colonne d'eau et sédiments) et chez quelques espèces représentatives de l'estuaire de Seine.

Pour répondre à ces objectifs, le projet PLASTIC-Seine est structuré autour de trois tâches scientifiques, structuration reprise dans le cadre de ce rapport de synthèse.

La première tâche s'est focalisée sur la contamination de la colonne d'eau et des sédiments. Pour la colonne d'eau, le premier enjeu était celui de la représentativité des prélèvements et de la variabilité spatio-temporelle des concentrations. Il a été abordé au travers de trois questions :

- **Existe-t-il un gradient de concentration en MP le long de l'estuaire de la Seine ?**
- **Quelle est l'influence du gradient salin sur la distribution verticale des MP ?**
- **Observe-t-on des concentrations en MP plus élevées en période de hautes eaux ou de forts débits comparativement aux périodes de basses eaux ou bas débits mais aussi des évolutions de ces concentrations au cours du cycle de marée ?**

Après une brève présentation des sites d'échantillonnage et des protocoles expérimentaux, la première partie de ce rapport synthétise les résultats sur les compartiments abiotiques. Les concentrations et distributions en MP entre l'eau de surface et l'eau de subsurface sont présentées, puis l'étude des deux cycles de marée. Cette partie s'achève avec la présentation des résultats obtenus pour le sédiment. Le nombre de données disponibles et leur variabilité, n'ont pas permis d'estimer les flux de MP dans l'estuaire et vers la Manche.

Un rapport spécifique sur la tâche 1 a été également rédigé (Gasperi et al., 2020, annexe 1). Dans ce rapport, un état de l'art de la contamination plastique au sein des estuaires est présenté et les résultats décrits plus en détails. Cet état de l'art a été publié récemment : Plastic Debris Flowing from Rivers to Oceans: The Role of the Estuaries as a Complex and Poorly Understood



Key Interface. R. Dris, R. Tramoy, S. Alligant, J. Gasperi, B. Tassin. In: Rocha-Santos T et al (eds) Handbook of microplastics in the environment. Springer Nature Switzerland AG, Cham. DOI: 10.1007/978-3-030-10618-8_3-1.

La seconde tâche se focalise sur l'état de la contamination du réseau trophique de l'estuaire de Seine par les MP. **La question scientifique qui sous-tend ce travail, c'est qu'elle est l'occurrence et la variabilité de l'imprégnation du biote par les MP en estuaire de Seine en fonction du niveau trophique.** Pour répondre à cette question, sept espèces emblématiques du réseau trophique de l'estuaire de Seine ont été échantillonnées sur plusieurs campagnes en 2017 et 2018 : deux composants du zooplancton les copépodes *Eurytemora affinis* et *Acartia sp.*, une annélide polychète *Hediste diversicolor*, un crustacé décapode *Palaemon longirostris*, un mollusque bivalve *Mytilus edulis* et enfin trois poissons dont deux espèces benthiques *Platichthys flesus* et *Solea solea* et la troisième pélagique *Dicentrarchus labrax*. Les MP ont été dénombrés in toto dans le zooplancton et les invertébrés, dans les fèces pour les vers et le tractus digestif pour les poissons. La nature et la morphologie des MP retrouvés dans ces organismes ont été caractérisées et comparées à celles observées dans les compartiments abiotiques.

La troisième tâche a pour objectif de **mieux comprendre le devenir des MP dans l'organisme et leurs effets sur plusieurs maillons de la chaîne trophique.** Les cinétiques d'ingestion et d'égestion de MP environnementaux sur trois espèces représentatives (le copépode *Eurytemora affinis*, l'annélide polychaete *Hediste diversicolor* et le poisson *Solea solea*) seront étudiées. A partir de ces cinétiques, les taux d'ingestion et d'égestion ainsi que le transit dans le tractus digestif de ces MP seront déterminés pour chaque espèce sélectionnée. D'autre part, les effets d'une exposition à deux mélanges environnementaux de MP collectés dans la colonne d'eau et les sédiments de l'estuaire de Seine ont été évalués sur la survie, le comportement et les grandes fonctions physiologiques de ces trois espèces.



1 Sites d'étude et protocoles expérimentaux

1.1 Distribution des microplastiques le long du gradient salin

Pour l'étude de la distribution des MP le long du gradient salin, et de leur variabilité verticale sur les 50 premiers cm de la colonne d'eau, trois sites ont été échantillonnés : la Bouille (LB, pk 260), Vieux-Port (VP, pk 325) et la Roque (LR, pk 345) (Figure 1). Le site de la Bouille, situé dans l'estuaire amont, n'est pas soumis à l'influence du gradient de salinité mais uniquement à la marée dynamique. Le site de la Roque est le plus en aval et est sous forte influence du gradient de salinité. Vieux-Port marque l'amont de l'estuaire moyen où se produit un mélange entre des eaux douces et marines. Cette zone est le siège du bouchon vaseux dont la position fluctue selon le coefficient de marée et le débit. Généralement, Vieux-Port (pk 325) constitue l'amont de ce secteur tandis que l'aval se situe entre Honfleur et Villerville. La Roque est au milieu de ce secteur. Au total, quatre campagnes ont été conduites entre 2017 et 2019 (Tableau 1).

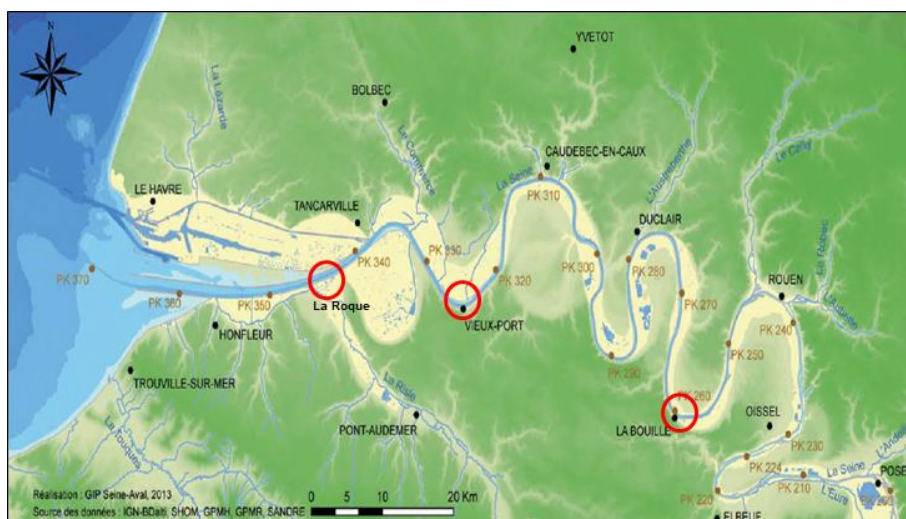


Figure 1 : Sites d'étude de la tâche 1 du projet PLASTIC-Seine

Tableau 1 : Débits à Vernon (Banque Hydro) et coefficients de marée lors des quatre campagnes

Date	Débits ($m^3.s^{-1}$)	Coefficients de marée
15/05/2017	256	70
23/04/2018	627	56
05/09/2018	207	48
28/02/2019	363	36

Sur chaque site, des échantillons d'eau et de sédiments ont été prélevés. Excepté pour la campagne du 15/05/2017 à Vieux-Port où l'échantillon a été prélevé lors du flot, ces derniers l'ont été lors d'un même jusant, généralement au début pour le site de la Roque situé en aval, et en fin pour le site de la Bouille. Un filet de maille 300 μm a été déployé pour prélever les MP. Afin d'étudier la variabilité de surface, le filet a été positionné de sorte à échantillonner les 15 premiers cm - eau de surface - puis les 50 premiers cm de la colonne d'eau - eau de subsurface (Figure 2). Les filets ont été exposés entre 3 et 10 min. Un volucompteur fixé au filet permet d'estimer les volumes d'eau filtrés. A ce jour, les incertitudes liées à la mesure du volume filtré n'ont pas été évaluées. Ponctuellement, un filet de maille 80 μm a été déployé pour échantillonner les eaux de

subsurface. Cet échantillonnage avait essentiellement pour but de produire des ordres de grandeurs de la contamination en fibres. Cette opération a été menée sur les 3 sites pour les deux dernières campagnes. Pour éviter tout colmatage, ce filet a été déployé sur des temps courts (de 1 à 3 min). Après déploiement les filets sont abondamment rincés par l'extérieur et le contenu du flacon collecteur est transféré dans un flacon en verre.

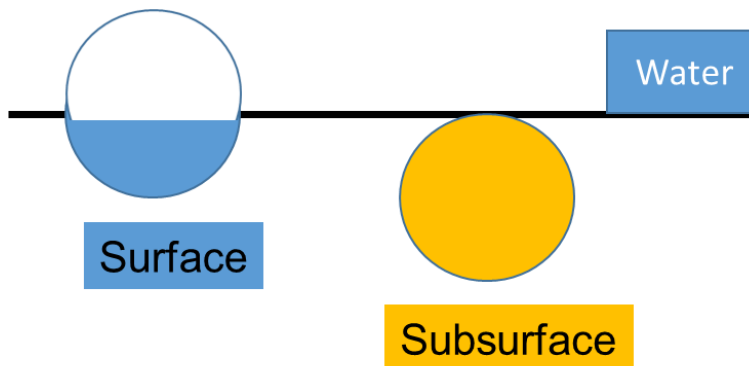


Figure 2 : Echantillonnage des eaux de surface et de subsurface

Les sédiments ont été prélevés sur chaque site à l'aide d'une benne Ponar. Ces échantillons ont été prélevés en bordure du chenal de navigation en raison de la navigation et des fréquents dragages du chenal de la Seine. Excepté lors de la première campagne au site de la Roque, des sédiments ont été prélevés à chaque site et pour chaque campagne (n=11). Deux échantillons de la Roque (LR2 et LR3) ont été analysés en triplicatas. Quatre échantillons ont été prélevés au niveau de la vasière du Havre ont été également analysés. Ces derniers ont été prélevés rive droite, à proximité du pont de Normandie.

1.2 Distribution des microplastiques au cours d'un cycle de marée

La seconde stratégie a consisté à explorer la distribution des MP au sein de la colonne d'eau et au cours d'un cycle de marée. Dans ce but, deux expérimentations ont été conduites en mettant en œuvre un échantillonnage en un point fixe au site de La Roque.

Différentes profondeurs, i.e. subsurface, mi-hauteur et proximité du fond ont été échantillonnées à l'aide d'un filet 300 μm . Une vidéo présente le système d'échantillonnage développé spécifiquement pour répondre aux objectifs du projet (<https://www.ifremer.fr/lern/Projets-de-recherche/Pollution-plastique/Plastic-Seine-microplastiques>). Si ce système s'est montré bien adapté pour de faibles profondeurs, il convient de préciser que son déploiement à proximité du fond s'est révélé plus complexe. En effet, en point fixe dans un fort courant, la résistance due aux frottements des cordages augmente très rapidement avec la profondeur. Par ailleurs, il était également nécessaire d'immerger rapidement le filet dans la colonne d'eau afin d'éviter tout échantillonnage au cours de la descente. Par conséquent, il n'a pas toujours été possible de positionner le filet exactement au fond. Les résultats doivent donc être analysés au regard de la position relative du filet dans la colonne d'eau plutôt qu'en fonction de la profondeur mesurée.



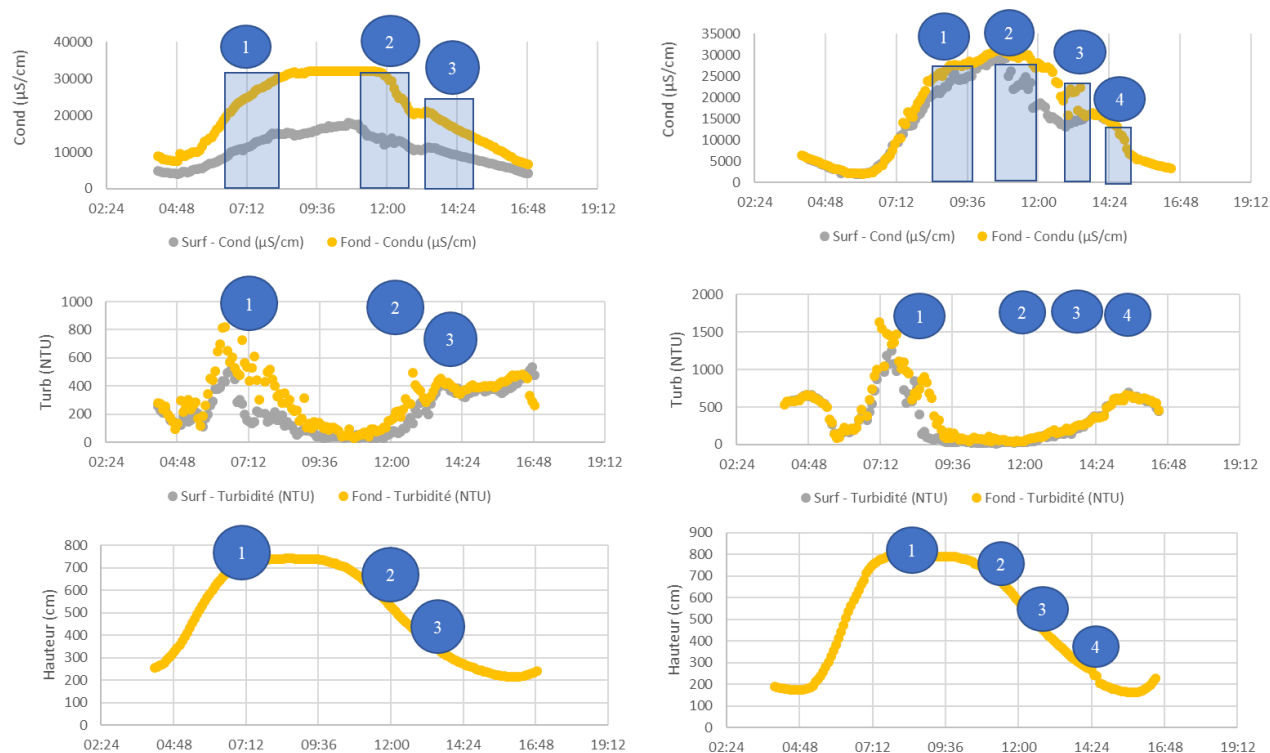


Figure 3 : Profils de conductivité et turbidité (surface et fond) et marégrammes observés à Fatouville (données du réseau SYNAPSES) lors des deux cycles de marées (cycle 1, sept 2018 à gauche, cycle 2, mai 2019, à droite).

Les heures sont données dans le référentiel TU + 1. Pour la conductivité, les rectangles bleus correspondent aux plages horaires des prélèvements.

Pour le premier cycle de marée (7/09/2018 ; débit de $199 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$; coefficients de marée de 69-77), trois prélèvements ont été réalisés : le premier en fin de flot, le second en fin d'étales et le dernier en milieu de jusant (Figure 3). Les plages horaires de travail sont également spécifiées. Pour le second cycle de marée (17/05/2019 ; débit de $440 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$; coefficients de marée de 88-92), 4 prélèvements ont été réalisés : étales puis début, milieu et fin de jusant. Les profils de conductivité et de turbidité (surface et fond) ainsi que les marégrammes (sur lesquels les échantillonnages ont été reportés) observés pour chaque cycle sont illustrés sur la Figure 3.

Tableau 2 : Points considérés lors des deux cycles de marée

Date	Point	Dénomination	Plage horaire (TU+1)	Point
Cycle 1 7/09/2018	Point 1	C1-Point 1	06:44 – 07:35	Fin de flot
	Point 2	C1-Point 2	11:48 – 12:03	Fin d'étales
	Point 3	C1-Point 3	13:42 – 14:09	Milieu jusant
Cycle 2 17/05/2019	Point 1	C2-Point 1	09:00 – 09:18	Étales
	Point 2	C2-Point 2	11:32 – 12:45	Début jusant
	Point 3	C2-Point 3	13:16 – 13:43	Milieu jusant
	Point 4	C2-Point 4	14:32 – 14:41	Fin jusant

Quel que soit le cycle étudié, l'intrusion marine est bien visible sur les profils de conductivité observés au site de Fatouville. Pour le premier cycle, une stratification de la colonne d'eau peut être observée avec une amplitude d'autant plus forte autour de l'étales de pleine mer. Elle

s'amenuise avec le jusant pour finalement disparaître en fin de jusant. Pour le second cycle, aucune stratification n'est observée.

1.3 Protocoles expérimentaux

Deux protocoles différents de pré-traitement des échantillons ont été appliqués pour la colonne d'eau et les sédiments. La Figure 4 illustre celui utilisé pour la colonne d'eau. Après une étape de tamisage qui permet d'éliminer les débris grossiers, une étape de dénaturation des protéines via l'utilisation de SDS (tensioactif) est mise en œuvre. Ensuite, l'échantillon subit une digestion enzymatique (étape 3), suivie d'une oxydation chimique avec une solution de H₂O₂ concentrée à 30 % (étape 4). A chaque étape, l'échantillon est chauffé à 40°C pendant 24 à 48 h. Enfin, une séparation densimétrique utilisant une solution d'iodure de sodium (NaI) de densité 1,65 g.cm⁻³ permet de récupérer les MP par flottation (étape 5). Les extraits sont filtrés sur des filtres GF/F. Pour les sédiments, après séchage, les échantillons suivent un protocole très similaire mais avec une première étape de séparation densimétrique sur 4 x 25 g de sédiment sec.



Figure 4 : Etapes de purification des échantillons de MP de la colonne d'eau

Chaque filtre est observé intégralement sous stéréomicroscope pour permettre le dénombrement des particules. Lors de cette étape, la taille (dimension maximale) et la morphologie des particules (fragments ou fibres) ressemblant à des MP sont déterminées. La limite d'observation au stéréomicroscope est de 50 µm. Suite à cette étape, une contamination de MP dits suspectés par m³ ou par kg est formulée. Ensuite, les MP suspectés sont caractérisés par microspectroscopie Raman (µ-Raman) ou Infrarouge à Transformée de Fourier (µ-IRTF). La µ-Raman a été préférentiellement utilisée pour les échantillons de colonne d'eau alors que ceux des sédiments ont été caractérisés par µ-IRTF. Compte tenu du caractère chronophage de cette étape, le consortium du projet PLASTIC-Seine s'est fixé l'objectif de caractériser 25 % des particules par échantillon. Ce taux est considéré comme un bon compromis entre caractériser l'ensemble des particules sur un filtre ou une caractérisation a minima telle que l'on peut parfois la trouver dans la littérature (seulement quelques pourcents). Pour caractériser les particules, deux méthodes distinctes ont été utilisées. Pour les échantillons de la colonne d'eau, les particules à caractériser

ont été transférées sur des filtres vierges en fibres de verre. Pour l'analyse en μ -IRTF, les particules étaient transférées sur des filtres en alumine et analysées en mode transmission. Pour les deux techniques, les spectres sont ensuite confrontés à des bibliothèques de spectres spécifiques des polymères. La nature des particules a été déterminée dès lors qu'un taux de similarité, évalué par le logiciel constructeur, dépassait les 80 %. Pour la tâche 1, l'étape de caractérisation étant particulièrement chronophage, seuls les MP des deux premières campagnes d'échantillonnage pour les 3 sites ont été caractérisés.

Afin d'éviter la contamination des échantillons par des MP présents dans l'environnement de travail, toute la verrerie utilisée lors du conditionnement et du traitement des échantillons était préalablement brûlée à 500°C pendant 2 h puis recouverte d'aluminium. Pendant toutes les manipulations en laboratoire, les échantillons étaient constamment recouverts d'aluminium. De plus, l'utilisation d'une hotte à flux laminaire était privilégiée lorsque cela était possible afin de minimiser le risque de contamination des échantillons. Le manipulateur portait une blouse de coton et des gants de latex.

Dans le but d'estimer la contamination induite par les manipulations de purification des échantillons, des blancs en laboratoire ont été réalisés. Les blancs montrent qu'une contamination par les fibres textiles (incluant fibres synthétiques et non synthétiques) est possible lors du traitement des échantillons. Cette contamination varie entre 3 et 10 fibres par filtre pour la totalité de la chaîne analytique. Au vu des concentrations des échantillons considérés dans la tâche 1, ces contaminations apparaissent comme très faibles. Aucune contamination en fragments ($> 50 \mu\text{m}$) n'a été observée.

2 Distribution des MP le long du gradient salin

Les concentrations en MP suspectés (mp.m^{-3}) en surface (Surf) et subsurface (Subsurf) pour la Roque (LR), Vieux-Port (VP) et la Bouille (LB) et les 4 campagnes sont illustrées Figure 5. Les distributions de tailles selon 5 classes sont aussi précisées. Etant donné notre limite d'observation, la première classe correspond à la fraction [50-300 μm]. Cette figure permet d'apprécier les concentrations le long du gradient salin, mais aussi de comparer les résultats entre eaux de surface et de subsurface.

2.1.1 Niveaux de contamination et morphologie des microplastiques

Sur l'ensemble des échantillons ($n=24$), les concentrations varient entre 0,2 et 37,7 mp.m^{-3} (min-max), avec des valeurs moyennes et médianes de 6,1 et 4,0 mp.m^{-3} . Deux typologies de particules sont retrouvées : des fragments, de forme irrégulière, et des microbilles dont la géométrie se rapproche d'une sphère. A l'exception du site du Vieux-Port pour lequel la présence de microbilles est marquée (notamment lors de la campagne 1), les fragments prédominent pour les autres sites. Les concentrations en fragments varient entre 0,2 et 14,9 fragments.m^{-3} (min-max), avec des valeurs moyennes et médianes de 3,8 et 2,6 fragments.m^{-3} . Pour les microbilles, les concentrations sont en moyenne égales à 2,3 $\text{microbilles.m}^{-3}$.



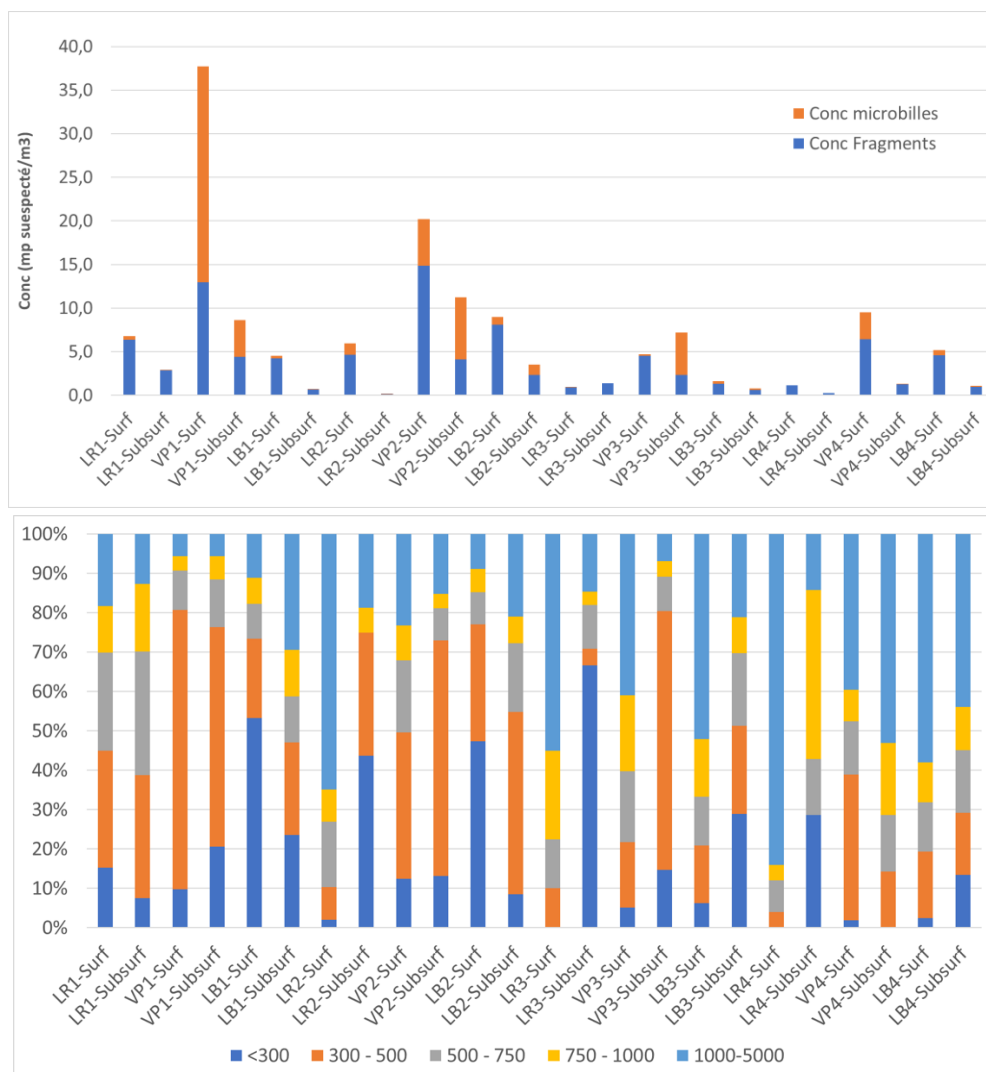


Figure 5 : Concentrations en MP suspectés et distributions en taille – 5 classes de taille en μm - pour les eaux de surface (Surf) et de subsurface (Subsurf) aux sites de la Roque (LR), Vieux-Port (VP) et la Bouille (LB) et pour les 4 campagnes

Puisque les échantillonnages ont été effectués avec un filet de maille 300 μm ce qui est le plus couramment répandu, les concentrations en fragments peuvent être comparées à diverses études de la littérature. Les concentrations en Seine apparaissent dans la gamme moyenne de celles rapportées pour différents estuaires européens (Frère et al., 2017; Rodrigues et al., 2019; Sadri and Thompson, 2014) mais inférieures aux concentrations mentionnées pour les estuaires chinois, souvent considérés comme les plus pollués (Cheung et al., 2018; Wu et al., 2019; Zhao et al., 2015). La Figure 6, tirée de Dris et al. (2020), illustre les concentrations observées dans les estuaires.

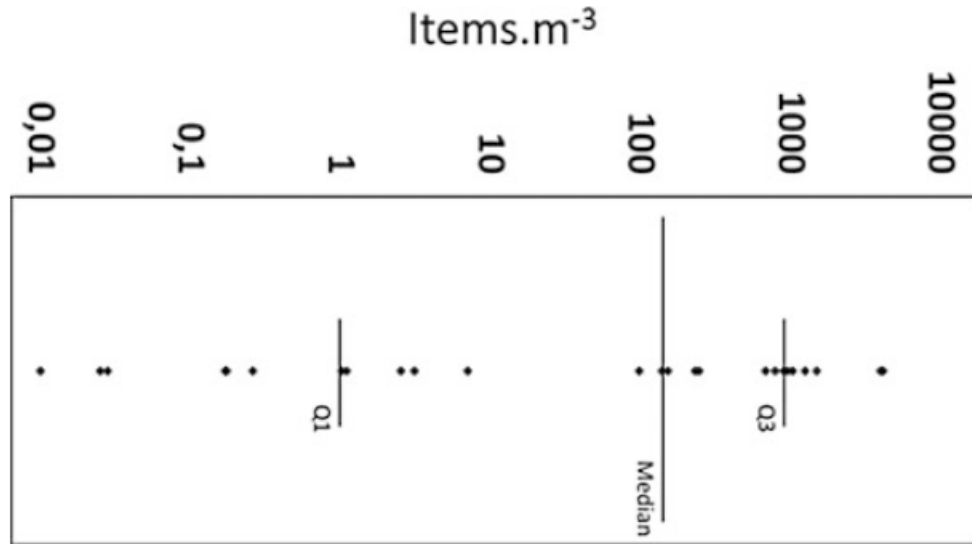


Figure 6 : Concentrations en MP observées dans les estuaires (Dris et al., 2020)

Une étude récente menée en Seine, au niveau du port du Havre, estime des concentrations en MP beaucoup plus élevées (Kazour et al., 2020), entre 300 et 400 fragments.m⁻³. Il convient de préciser que les auteurs analysent les MP mesurant jusqu'à 1 µm contre 300 µm dans cette étude. Les fragments < 400 µm y sont décrits comme les plus abondants, représentant entre 50 et 80 % des MP totaux ; les fragments < 200 µm représentant 30 à 65 %. Si l'on souhaite une comparaison entre cette étude et la nôtre, les concentrations doivent être recalculées en considérant que les fragments < 300 µm contribuent entre 40 et 75 % des fragments totaux. Selon cette hypothèse, les concentrations en fragments varieraient entre 75 et 100 fragments.m⁻³, ce qui reste bien supérieur aux concentrations rapportées dans cette présente étude. Alors que la nature des polymères observée entre les deux études est relativement proche, ces différences pourraient être liées à des différences méthodologiques, à savoir dénombrement visuel d'un côté avec la caractérisation des particules par µ-IRTF vs un dénombrement automatisé sur un sous-échantillon limité et extrapolation à la totalité de l'échantillon.

Sur la partie amont du bassin de la Seine, plusieurs études ont été réalisées en amont et en aval de la région parisienne. Dris et al. (2018) rapportent une concentration médiane égale à 0,54 fragments.m⁻³. Treilles et al. (2019) indiquent des concentrations entre 0,4 et 11,8 fragments.m⁻³ en période de basses et moyennes eaux, et entre 1,0 et 5,6 fragments.m⁻³ en période de crue. Pour les microbilles, bien que cette typologie de MP soit parfois identifiée dans la littérature, aucune étude ne fournit d'ordre de grandeur. Ces microbilles observées sur la partie estuarienne de la Seine ne sont pas observées en amont. Leur présence pourrait être due à une activité industrielle locale, occasionnant une contamination ponctuelle spécifique.

Pour quelques campagnes et celles réalisées ponctuellement avec le filet 80 µm, un dénombrement des fibres totales (fibres synthétiques et non synthétiques, Figure 7) a été réalisé. Les concentrations varient typiquement entre 0,2 et 6,6 fibres totales.m⁻³ avec une valeur médiane de 1,2 fibres totales.m⁻³. Pour une même campagne, les concentrations mesurées avec un filet 80 µm sont supérieures à celles mesurées avec un filet 300 µm, ce qui est directement lié à la taille des mailles du filet et à la distribution de tailles des fibres. Ces concentrations apparaissent bien inférieures à celles rapportées pour l'amont avec un filet similaire de 300 µm :

entre 9 et 18 fibres.m⁻³ (Treilles et al., 2019). Elles sont également très nettement inférieures aux niveaux observés avec un filet 80 µm, i.e. entre 33 et 43 fibres.m⁻³ (Dris et al., 2018).

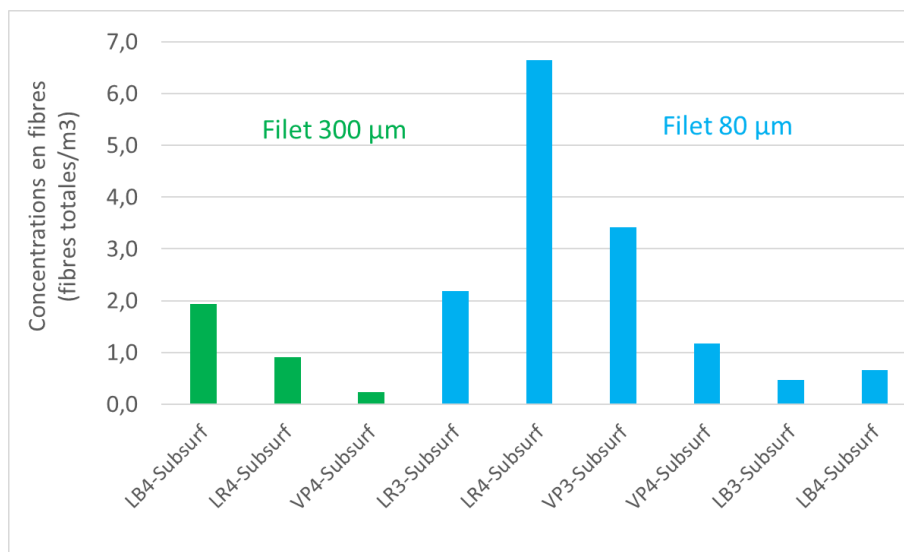


Figure 7 : Concentrations en fibres totales des eaux de subsurface (Subsurf) aux sites de la Roque (LR), Vieux-Port (VP) et la Bouille (LB) pour les campagnes d'échantillonnage 3 et 4

2.1.2 Distribution de taille

Toutes particules confondues, la plupart des MP suspectés ont une taille < 1 mm (Figure 5). Les particules entre 300 et 500 µm sont prédominantes. Bien que les échantillonnages aient été effectués avec un filet de maille 300 µm, on retrouve une fraction non négligeable de particules < 300 µm mais supérieures à notre limite de détection de 50 µm. Cette classe de taille représente en moyenne 17 % des MP totaux, mais peut atteindre 67 %. L'observation de ces MP de très petite taille s'explique par l'agglomération de ces MP sur des particules de plus grande taille qu'elles soient d'origines naturelle ou anthropique. Nos observations sont en accord avec celles établies par Kazour et al. (2019) indiquant que les fragments < 400 µm sont les plus abondants, représentant entre 50 et 80 % des MP totaux. Les distributions de tailles des MP sont particulièrement fluctuantes, et aucune tendance nette n'apparaît clairement entre les eaux de surface et de subsurface ou le long des trois stations considérées. Même si ces distributions de taille de MP sont fluctuantes, elles apparaissent néanmoins en accord avec ce qui est observé sur la partie amont du bassin de la Seine. Treilles et al. (2019) indiquent que la fraction < 300 µm contribue à environ 16 % des MP totaux, et que la fraction 300-500 µm compte pour environ 39 % des MP totaux.

2.1.3 Distribution des MP entre eaux de surface et eaux de subsurface

Pour les douze paires d'échantillons d'eau de surface et de subsurface, les concentrations en MP en surface sont quasi-systématiquement supérieures aux concentrations relevées en subsurface (Figure 5). Les concentrations des eaux de surface apparaissent en moyenne 5 à 6 fois supérieures à celles des eaux de subsurface. Ces différences sont attribuables à l'accumulation importante de MP dans la microcouche de surface (Anderson et al., 2018). Malheureusement, dans la littérature, le positionnement exact du filet par rapport à la surface de l'eau n'est jamais



clairement précisé, et il est difficile de comparer les résultats obtenus. Toutefois, Gary et al. (2018) qui ont étudié spécifiquement la microcouche de surface (premier mm) rapportent des concentrations entre 3 000 et 88 000 particules.m⁻³ pour les eaux du port de Charleston (USA). Ce phénomène s'explique en partie par la flottabilité de certains MP qui se trouveront en majorité à la surface de l'eau. D'un point de vue qualitatif, les eaux de surface et de subsurface ne se démarquent pas et présentent des distributions de tailles similaires.

2.1.4 Nature des polymères retrouvés dans la colonne d'eau

L'étape de caractérisation étant particulièrement chronophage car non automatisée, seuls les MP des deux premières campagnes d'échantillonnage pour les 3 sites ont été caractérisés (Figure 8). De manière générale, excepté sur le site de Vieux-Port où l'on observe des concentrations très importantes de microbilles de polystyrène (PS), les MP correspondent soit à du polyéthylène (PE) soit à du polypropylène (PP).

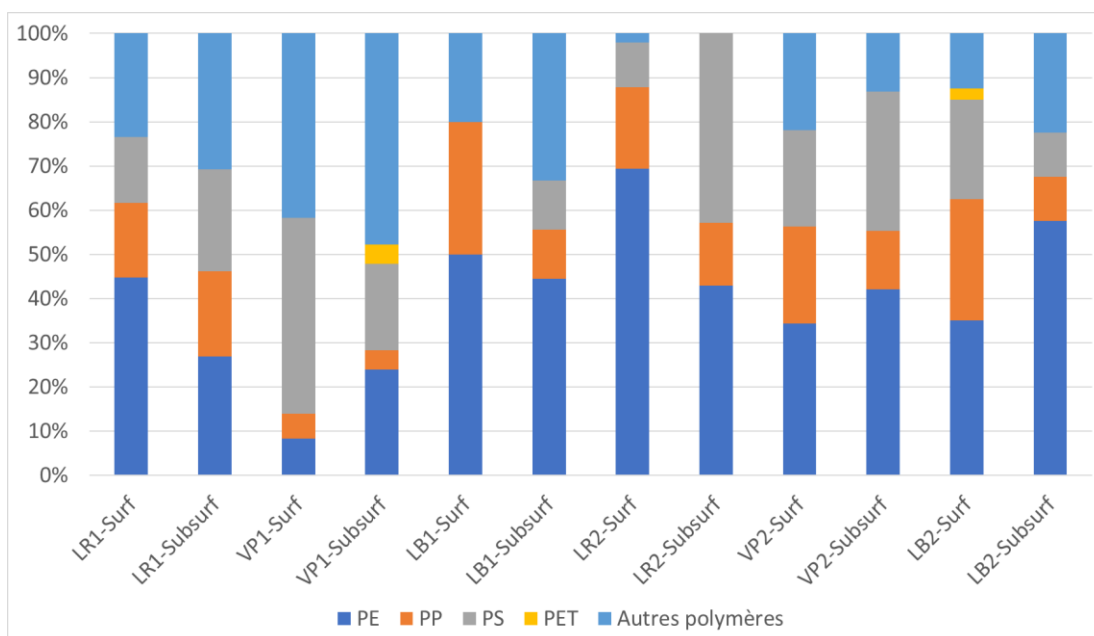


Figure 8 : Nature des MP en surface (Surf) et subsurface (Subsurf) aux sites de la Roque (LR), Vieux-Port (VP) et la Bouille (LB) pour les deux premières campagnes d'échantillonnage

En moyenne, 40 % des MP sont en PE et 21 % en PP. Ces deux polymères sont les plus abondamment retrouvés dans les études environnementales portant sur les eaux douces et représentent à eux deux entre 44 et 86 % des MP totaux. D'autres polymères, comme le polyéthylène téréphtalate (PET), le polyméthacrylate de méthyle (PMMA), le polyamide (PA), l'acrylonitrile butadiène styrène (ABS), le polychlorure de vinyle (PVC), le polyuréthane (PUR) ou des copolymères ne sont que très ponctuellement détectés. La diversité des polymères observés est en accord avec les résultats de Kazour et al. (2019) qui identifient 11 types de polymères dans les quelques échantillons d'eau de surface collectés à proximité du port du Havre. Ces auteurs indiquent également que les distributions sont extrêmement fluctuantes et que le PS (40 %), le PA (18 %) et le PET (14 %) sont les plus abondants. Pour une même campagne, la Figure 8 montre une relative stabilité de la distribution des polymères entre eaux de surface et de subsurface, ce qui pourrait témoigner que la microcouche, si elle est enrichie en MP

comparativement aux autres 50 premiers cm de la colonne d'eau, présente une distribution relativement proche. Cet aspect qualitatif n'est jusqu'à présent pas abordé dans la littérature.

2.1.5 Evolution des concentrations le long du gradient salin

Les microbilles ne sont observées que très localement au niveau de Vieux-Port, même si une dispersion de ces microbilles sur les sites amont ou aval est perçue. L'étape de caractérisation a permis de confirmer que ces microbilles, qui sont très facilement reconnaissables due à leur forme sphérique et à leur aspect transparent, correspondent à du polystyrène sous forme « cristal ». De telles microbilles transparentes ont été aussi abondamment détectées le long du Rhin (Mani et al., 2015). Les auteurs indiquent également une forte proportion de PS et émettent l'hypothèse que ces microbilles pourraient provenir des nombreuses industries le long du Rhin, suite au sablage à l'air ou au lavage des déchets plastiques produits. Une hypothèse similaire pourrait être posée sur l'estuaire de Seine en lien avec la présence d'industrie pétrochimique dans l'estuaire et à proximité du site de Vieux-Port.

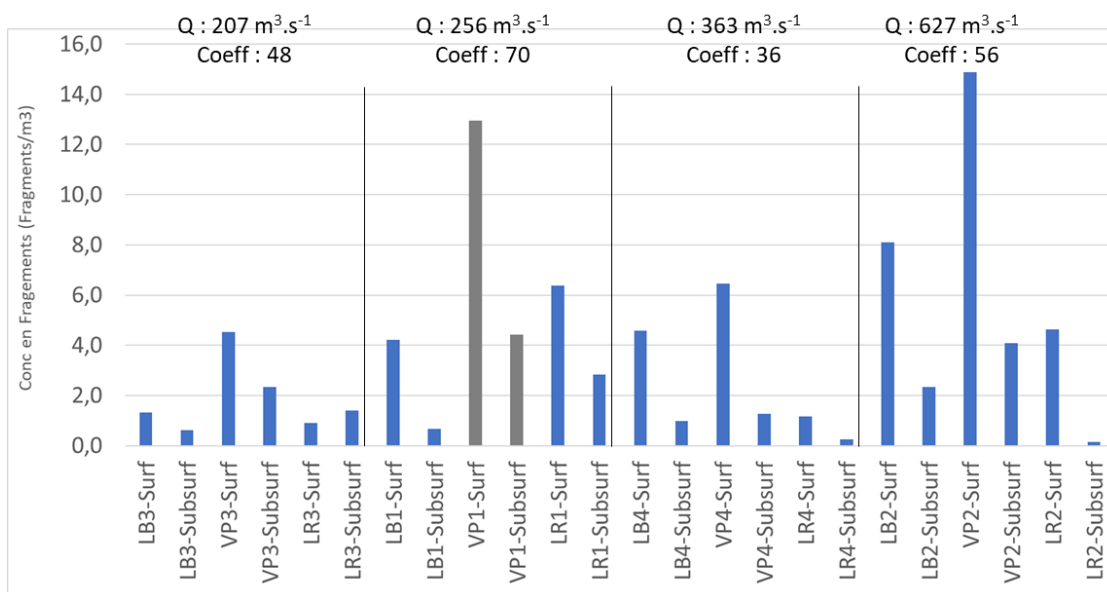


Figure 9 : Concentrations en fragments dans les eaux de surface (Surf) et subsurface (Subsurf) aux sites de la Roque (LR), Vieux-Port (VP) et la Bouille (LB) pour quatre campagnes d'échantillonnage

Etant donné la pollution en microbilles très localisée sur Vieux-Port, seules les concentrations en fragments doivent être considérées pour appréhender une potentielle évolution de la concentration en MP le long du gradient salin (Figure 9). Les résultats sont présentés de l'amont vers l'aval et par débit croissant (de 207 à 627 m³.s⁻¹). Pour rappel, toutes les campagnes ont été effectuées en jusant, à l'exception d'une campagne sur Vieux-Port (en grisé, Figure 9). Au cours des campagnes, un profil similaire est observé le long du gradient salin avec des concentrations plus importantes observées sur Vieux-Port et plus faibles mais équivalentes entre la Bouille et la Roque. Ce profil pourrait découler de la combinaison de deux phénomènes distincts que sont 1) l'intrusion marine et les conséquences associées et 2) la présence de zones d'accumulation de macrodéchets dans le secteur de Vieux-Port. D'autres explications pourraient être formulées.

D'une part, plusieurs études de la littérature pointent que les débris plastiques s'accumulent dans les zones d'intrusion marine, autour du front de turbidité maximum. Ce comportement a été observé dans l'estuaire du Rio de la Plata pour les débris anthropiques (Acha et al., 2003) ou plus récemment pour les MP (Pazos et al., 2018). D'autre part, le secteur entre la Bouille et Vieux-Port est un secteur avec de nombreux méandres, propices à l'échouage de macrodéchets. De nombreuses zones d'accumulation sont identifiées le long des berges de ce secteur (GIP Seine-Aval, 2015). Les travaux du projet Macro-Plast ont démontré que les macrodéchets plastiques pouvaient avoir un temps de résidence particulièrement long dans l'estuaire de la Seine, et qu'ils étaient soumis à des séquences d'échouage sur les berges et de remobilisation d'amont en aval et *vice-versa* selon les marées et les conditions hydrodynamiques (Tramoy et al., 2019). Ces déchets sont soumis à des conditions extrêmement favorables à la fragmentation en étant exposés aux UV et en alternant les conditions humides et sèches. A proximité de ces zones, et dans la laisse de marée, la présence de ces nombreux débris plastiques est en effet observée. Un apport important en MP le long du secteur de la Bouille – Vieux-Port est de ce fait possible.

Une dilution des concentrations entre Vieux-Port et la Roque est aussi systématiquement observée. Cette diminution est plus ou moins prononcée et varie pour les eaux de surface d'un facteur 2 à 5. Cette diminution pourrait être la résultante des mélanges entre les eaux douces et les eaux marines et/ou de la formation du bouchon vaseux entre Vieux-Port et la Roque (GIP Seine Aval, 2012) conduisant à un piégeage des matières en suspension (MES) et probablement des MP. Cette diminution des concentrations est plus importante lors des faibles coefficients de marée. Ceci pourrait suggérer que ce phénomène serait plus fortement influencé par la formation du bouchon vaseux et le piégeage des MES et MP que par la dilution des eaux douces par les eaux marines.

2.1.6 Concentrations en MP et débit de la Seine

Selon la littérature, les concentrations de MP augmenteraient selon le débit des cours d'eau (Hitchcock and Mitrovic, 2019; Lima et al., 2016; Rodrigues et al., 2018). A l'amont du bassin, cette tendance a été observée par Treilles et al. (2019) qui ont mis en évidence des concentrations nettement plus importantes en période de crue qu'en période de faibles débits. Afin de vérifier cette tendance sur la partie estuarienne, les concentrations en fragments sur la Bouille ont été examinées (Figure 10). Malgré le nombre limité de campagnes, cette figure semble mettre en exergue l'augmentation des concentrations de MP en fonction du débit. Certains auteurs relient cette augmentation des concentrations à la remise en suspension des sédiments fluviaux lors des périodes de hautes eaux, les sédiments étant fortement contaminés. Le lessivage des sols ou les surverses unitaires de temps de pluie, reconnues comme une source potentielle de MP, pourraient aussi contribuer à cette augmentation des concentrations.



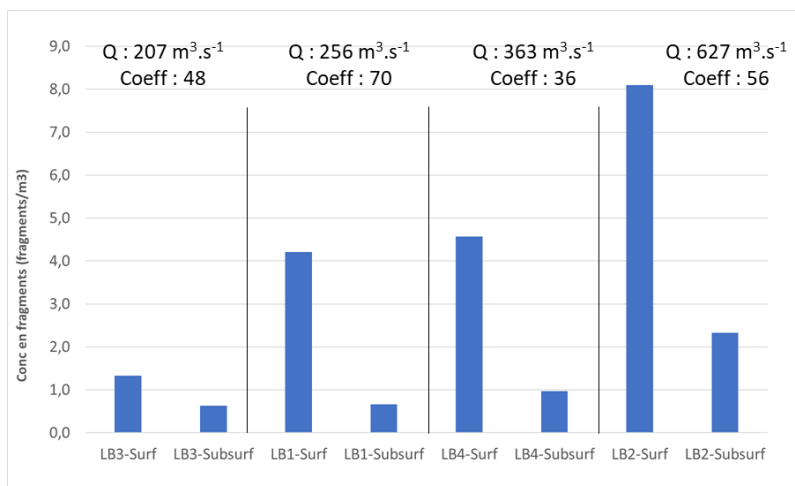


Figure 10 : Concentrations en fragments au site de la Bouille en fonction du débit à Vernon (banque Hydro)

3 Variabilité temporelle et verticale lors d'un cycle de marée

3.1.1 Concentrations en fragments et microbilles au sein de la colonne d'eau

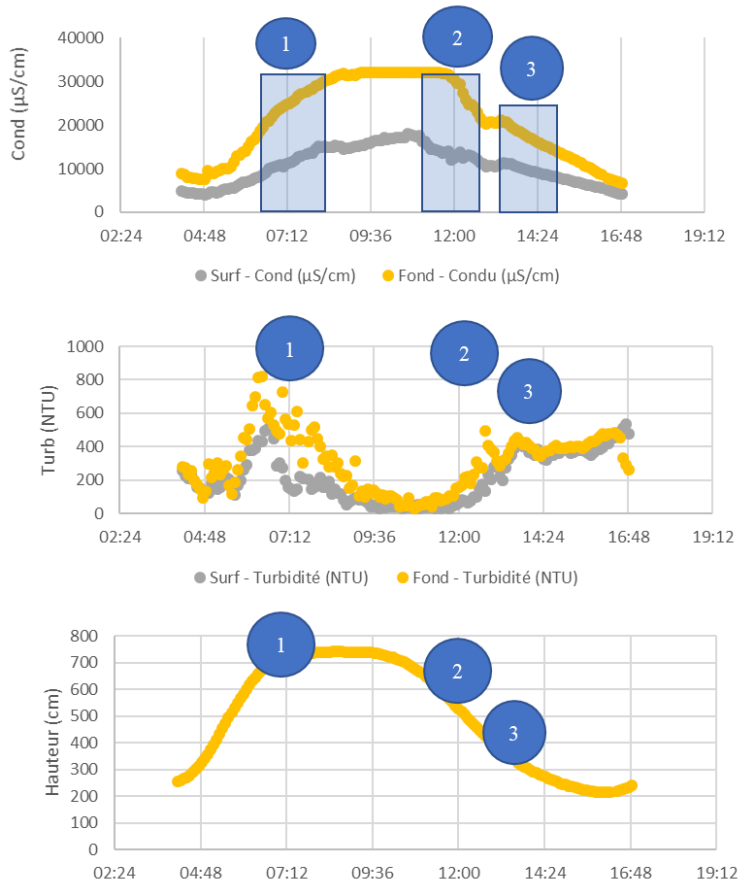
Les concentrations en fragments et en microbilles pour les deux cycles sont respectivement illustrées Figure 11 et Figure 12. Afin de mieux interpréter ces données, les échantillonnages ont été reportés sur les marégrammes et les profils de conductivité et turbidité sont également présentés.

Au regard de la distribution verticale, et ce pour l'ensemble des prélèvements effectués en fin de flot ou en fin de jusant, les eaux prélevées au voisinage du fond présentent régulièrement des concentrations plus importantes en MP par rapport aux eaux de surface, que ce soit pour les fragments comme pour les microbilles. Ce gradient est plus facilement observable pour le cycle 1 que pour le cycle 2. Pour les deux cycles, les différences de concentrations entre les points les plus en profondeur et la surface sont importantes pour les fragments au regard des incertitudes liées à l'échantillonnage (en particulier au temps de l'ordre de 20 secondes pour remonter un filet), à l'estimation des volumes selon les vitesses des courants et enfin à l'incertitude analytique. Ces incertitudes ne sont pas précisément estimées à ce jour, mais elles seraient sans doute de l'ordre de 30 à 50 %. Peu de microbilles ont été observées au cours de deux cycles de marées, et les résultats obtenus pour cette dernière catégorie sont soumis à des incertitudes beaucoup plus importantes. Lorsqu'elles sont détectées, on observe toutefois une tendance proche avec des concentrations plus importantes au fond comparativement à celles de surface ou à mi-hauteur. Le gradient observé entre la surface et le fond peut être rapproché des gradients généralement observés pour les MES, à l'image des profils de turbidité rapportés pour le site de Fatouville (relativement proche de la Roque). Ce gradient peut s'expliquer à la fois par une remise en suspension des sédiments de fond – riches en MP (cf. partie contamination des sédiments) - lors du flot et à leur sédimentation au cours de l'étalement. Cette dynamique est liée à la propagation de l'onde de marée avec une érosion préférentielle en flot et une sédimentation plus importante durant la longue étalement de pleine mer (3 h) (GIP Seine Aval, 2012). Selon les travaux menés en estuaire de Seine, les courants de jusant, plus faibles, ne remobilisent qu'une partie de ces

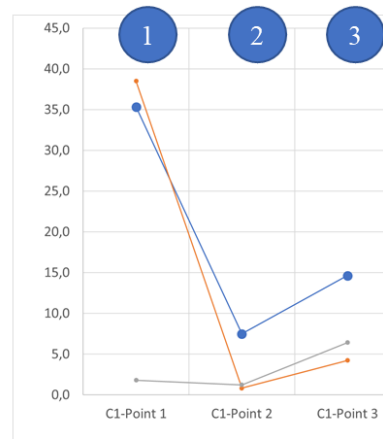
sédiments (Lemoine and Verney, 2015). Ceci pourrait expliquer pourquoi les concentrations mesurées au cours du jusant sont plus faibles qu'à son début. Les profils de courants, avec des courants nettement plus importants en surface comparativement à ceux à mi-hauteur et au fond concourent également à la formation de ces forts gradients verticaux. A partir du suivi de turbidité, cette remise en suspension est clairement visible pour le cycle 2, en toute fin de jusant / début de flot, phase au cours de laquelle les vitesses de courants augmentent.

Le signal obtenu à mi-hauteur est plus variable. La combinaison des processus de stratification, sédimentation et remise en suspension pourrait expliquer cette forte variabilité. Il convient de rappeler qu'à ce jour très peu d'éléments scientifiques sont disponibles quant au devenir des MP dans la colonne d'eau et plus particulièrement en milieu estuarien et que les processus hydro-sédimentaires en Seine sont complexes. Dans ce contexte, la réalisation de nouvelles expérimentations visant à augmenter la densité des données serait intéressante.

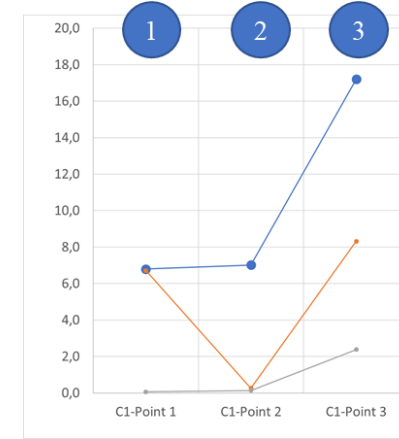
7 septembre 2018



Conc fragments (fragments.m⁻³)



Conc microbilles (microbilles.m⁻³)

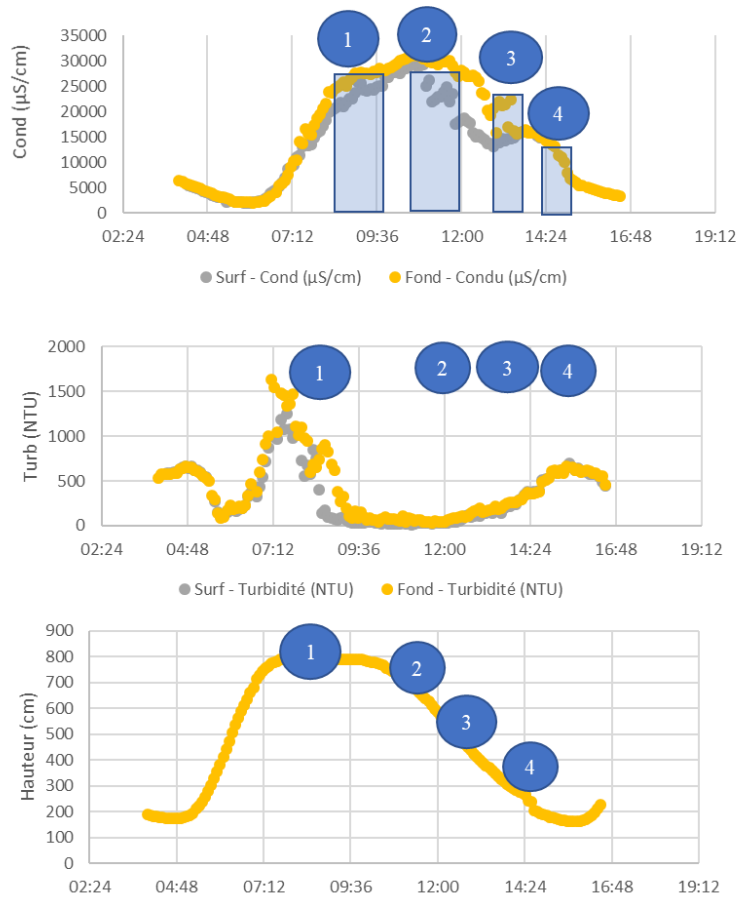


Q Vernon 200 m³/s
Coeff marée 69-77

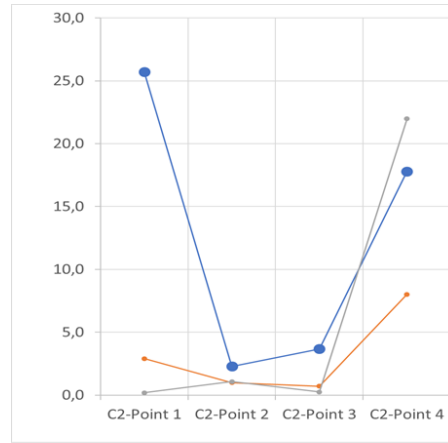
— Fond
— Mi-hauteur
— Surface

Figure 11 : Cycle de marée à la Roque du 7 septembre 2018, marégramme, conductivité et concentrations en fragments et microbilles

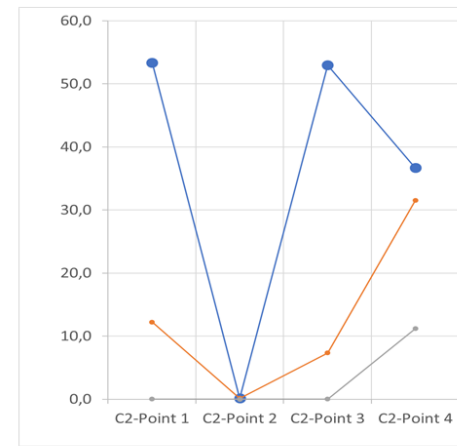
17 mai 2019



Conc fragments (fragments.m⁻³)



Conc microbilles (microbilles.m⁻³)



Q Vernon 440 m³/s
Coeff marée 88-92

— Fond
— Mi-hauteur
— Surface

Figure 12 : Cycle de marée à la Roque du 17 mai 2019, marégramme, conductivité et concentrations en fragments et microbilles

3.1.2 Evolution de la distribution de taille des MP au sein du cycle de marée

Les distributions de taille des MP pour les deux cycles pour les eaux de surface, à mi-hauteur et au fond sont illustrées sur la Figure 13. Comme pour les concentrations en fragments et microbilles, on observe des évolutions importantes de la distribution de taille des MP à la fois dans le temps (début vs fin de jusant) mais aussi sur la verticale (surface, mi-hauteur, fond).

Pour le premier cycle, à l'image des niveaux de concentrations relativement proches entre le voisinage du fond et les prélèvements à mi-hauteur, les distributions de tailles sont similaires. Elles présentent également la même évolution au cours du temps. Les eaux de surface, pour les deux premiers points de prélèvement se démarquent quant à elles de par leur distribution de taille. Cela pourrait s'expliquer par la stratification observée durant cette période.

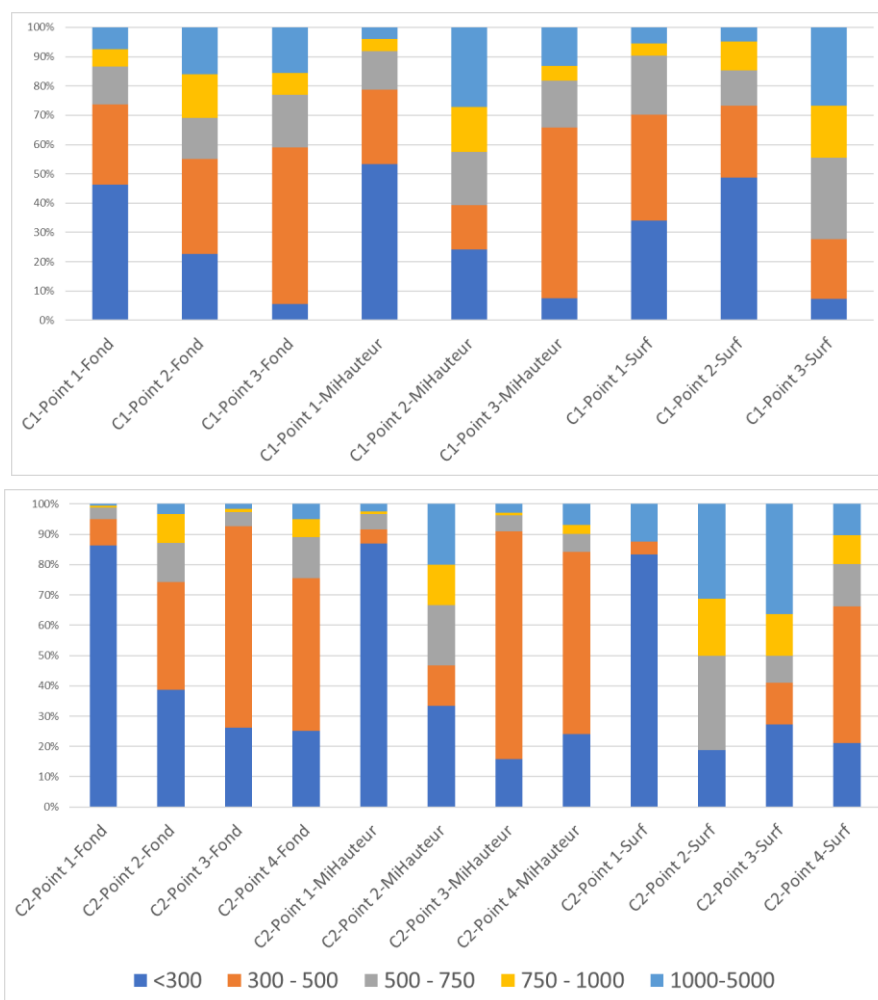


Figure 13 : Evolution de la distribution de taille des MP – 5 classes de taille en µm - pour les deux cycles de marée étudiés (cycle 1 en haut, cycle 2 en bas) pour les eaux prélevées en surface, à mi-hauteur et à proximité du fond

En fin de jusant, période à laquelle plus aucune stratification n'est observée, on constate de manière assez cohérente que les distributions de taille de MP en surface, mi-hauteur et fond sont de nouveau proches. Ces distributions sont caractérisées par une faible proportion de MP < 300

μm et entre 20 à 50 % de particules entre 300 et 500 μm . Une tendance similaire mais plus marquée est observée pour le cycle 2. D'une part, pour le premier point étudié qui correspondent à la fin de l'étalement / début de jusant, on observe une proportion très importante de MP < 300 μm en dépit d'un échantillonnage avec un filet de maille 300 μm . Cette fraction contribue à plus de 80 % des MP totaux alors qu'elle ne représentait qu'entre 10 et 30 % pour les autres campagnes menées le long du continuum de l'estuaire. Contrairement au cycle 1, il est intéressant de noter que, pour ce premier point, cette distribution de taille est uniforme sur la colonne d'eau. Au cours du jusant, cette proportion diminue drastiquement pour les trois compartiments, et se stabilise autour de 25 % des MP totaux. Du fait d'un nombre limité d'échantillons, il n'est pas possible de relier avec certitude les tendances observées avec un processus hydro-sédimentaire particulier mais quelques hypothèses ou pistes peuvent être émises. Ces évolutions de distributions de taille pourraient être reliées à la dynamique des particules et au processus de floculation-défloculation qui peut se dérouler au sein du bouchon vaseux. A l'image d'un grand nombre de particules naturelles, les MP sont en effet chargés négativement (Luo et al., 2020) et pourraient subir les mêmes processus que les particules. Selon les travaux sur la dynamique sédimentaire et les flux de MES dans l'estuaire (Verney, 2006; Verney et al., 2012), les particules fines (< 63 μm) d'origine minérale ou organique, se caractérisent par une forte cohésion qui se traduit, via les processus de floculation - défloculation par le regroupement dynamique de ces particules sous forme d'agrégats, de taille de la dizaine de microns à plusieurs millimètres. Lors des périodes de maximum de courant, lors du flot et du jusant, les MES sont présentes sous la forme de microflocs du fait des fortes turbulences. Lors des périodes d'étalement de pleine mer et de basse mer, la turbulence diminue et les conditions deviennent favorables à la formation de macroflocs, avec des diamètres médians pouvant dépasser 300 μm . Lors de l'étalement, la présence de ces macroflocs pourrait influencer la répartition des MP dans la colonne d'eau et pourrait conduire à l'agrégation de MP < 300 μm . Lors du jusant, avec la turbulence, ces macroflocs pourraient être déstabilisés et conduire à une proportion plus faible de MP < 300 μm . Ces hypothèses devront être vérifiées.

3.1.3 Evolution de la distribution des polymères au sein du cycle de marée

La répartition des polymères mesurée dans les échantillons est présentée sur la Figure 14. Contrairement aux concentrations ou aux distributions de taille, aucune évolution verticale (surface, mi-hauteur et fond) ou temporelle (début et fin de jusant) de la distribution des polymères n'est observée. Pour le cycle 2, une proportion légèrement plus importante de PS est observée suite à des concentrations en microbilles plus importantes. Cette observation semblerait indiquer que les gradients verticaux peuvent générer des gradients de concentrations en MP au sein de la colonne d'eau, mais n'engendrent pas de ségrégation de MP d'un point de vue qualitatif.



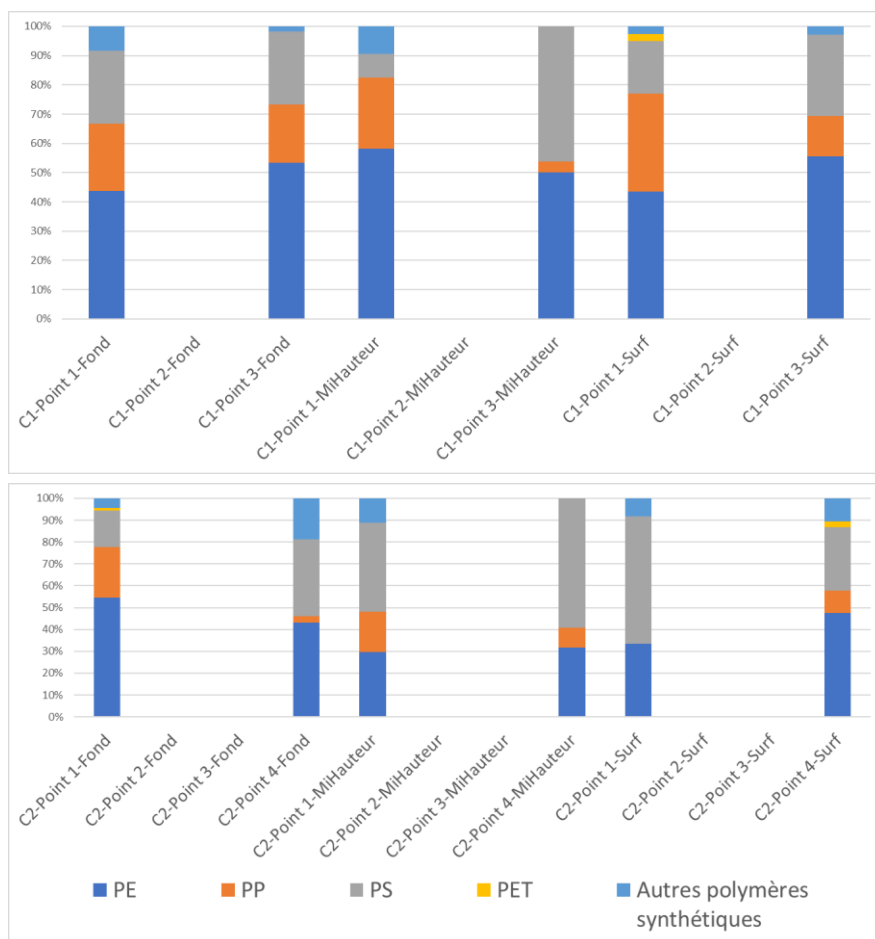


Figure 14 : Evolution de la nature des MP pour les deux cycles (cycle 1 en haut, cycle 2 en bas) de marée étudiés pour les eaux prélevées en surface, à mi-hauteur et au fond

4 Contamination en microplastiques des sédiments

Les concentrations minimales, moyennes, médianes et maximales en fragments, microbilles et fibres totales sont récapitulées dans le Tableau 3. Ces concentrations sont aussi illustrées Figure 15. Pour les échantillons qui ont été analysés en triplicas, les résultats ont été cumulés sur la base des trois mesures et sont aussi illustrés. Ces échantillons portent comme dénomination « intégré ».

Tableau 3 : Concentrations en MP des sédiments en estuaire (items.kg⁻¹)

Items.kg ⁻¹	Fragmentes	Microbilles	Fibres totales
	Min - Moy - Med - Max	Min - Moy - Med - Max	Min - Moy - Med - Max
Sédiments Axe fluvial (n=15)	18 – 207 – 160 - 814	34 – 619 – 254 – 2 649	68 – 694 - 531 - 2814

Malgré la forte variabilité des contaminations dans le sédiment, ces résultats confirment le rôle majeur joué par le sédiment dans la dynamique des MP dans les milieux aquatiques. En effet, alors que les niveaux dans les eaux de surface étaient de l'ordre de 1 à 10 fragments, microbilles



ou fibres totales par m³ d'eau, les niveaux moyens sont respectivement égaux à 238 fragments, 827 microbilles et 349 fibres totales par kg de sédiments. Selon Kazour et al. (2019), à proximité du Havre, on observe en moyenne entre 300 et 850 particules.kg⁻¹ pour les fragments et entre 50 et 200 fibres.kg⁻¹ pour les fibres synthétiques. Si on considère que 30 % des fibres totales sont synthétiques et que notre limite d'observation est de 50 µm contre 1 µm, les niveaux observés sont relativement proches. Pour les fragments, en considérant les différences de limite d'observation et la distribution de tailles que les auteurs fournissent, les niveaux sont également comparables. Pour les fragments, les niveaux observés sont supérieurs à ceux observés dans l'estuaire de la Loire par Phuong et al. (2018), à savoir de 38 à 102 fragments.kg⁻¹ ou dans l'estuaire de Kwazulu-Natal en Afrique du Sud, avec des niveaux variant entre 20 et 46 particules.kg⁻¹ (Naidoo et al., 2015). Les niveaux observés pour les sédiments de Seine sont cependant inférieurs aux valeurs rapportées pour l'estuaire de la rivière des perles en Chine avec 685 particules.kg⁻¹ (Fan et al., 2019) ou dans le delta de l'Ebre en Espagne avec 2 052 particules.kg⁻¹ (Simon-Sánchez et al., 2019). Peu d'études rapportent des niveaux de concentrations en microbilles ou sphères pour les sédiments. Les sédiments en mer du Nord peuvent être contaminés par ce type de particules avec des niveaux entre 100 et 3 600 particules.kg⁻¹ (Leslie et al., 2017). Les comparaisons entre les niveaux de contamination de sédiment sont malheureusement particulièrement restrictives car elles ne tiennent pas en compte des propriétés granulométriques de ces sédiments.

Les deux triplicats réalisés témoignent de la difficulté de travailler avec des sédiments très cohésifs tels que ceux de l'estuaire de la Seine et des prises d'essais limitées (environ 100 g). On observe en effet une hétérogénéité importante de la contamination en MP au sein des sédiments. Pour un même échantillon, des différences d'un facteur 2 à 5 sont observées pour les fragments et peuvent même atteindre un facteur 10 pour les microbilles. Ces différences pourraient essentiellement être liées à l'hétérogénéité du sédiment et à la faible masse de sédiment considérée pour l'analyse des MP (100 g). Le problème de représentativité suite à des prises d'essais limitées est connu. Selon une étude sur des sédiments intertidaux en Loire, une dizaine de répliques de 25 g serait nécessaire pour s'assurer d'une bonne représentativité (Phuong et al., 2018).

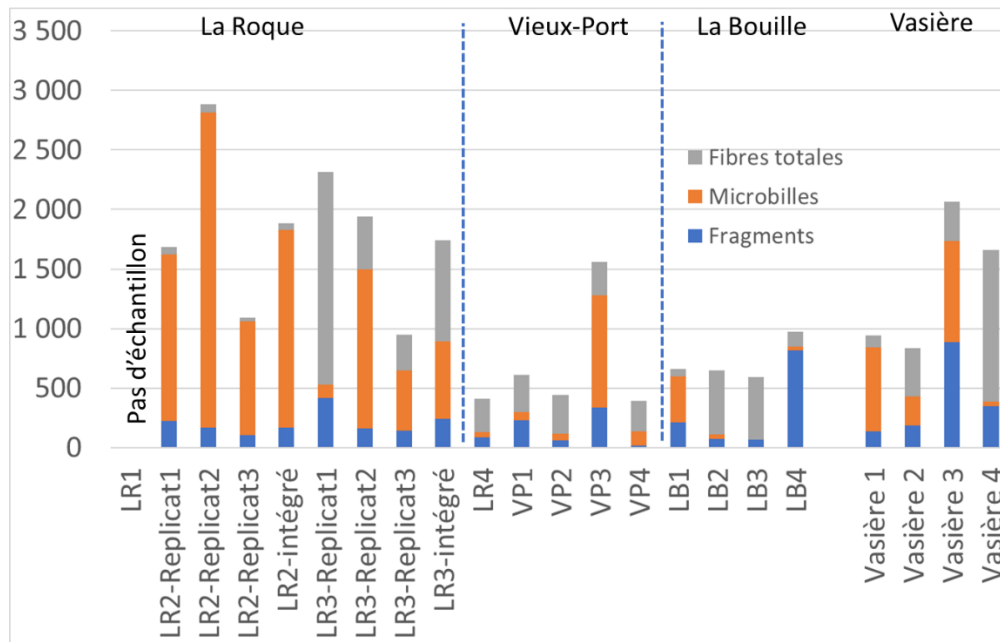


Figure 15 : Typologie des MP dans les sédiments de l'axe fluvial et les vasières en estuaire de Seine

Malgré la forte variabilité de la contamination des sédiments (Figure 15), quelques tendances apparaissent néanmoins. Premièrement, alors que pour la colonne d'eau, la contamination en microbilles semble être particulièrement localisée sur Vieux-Port, des concentrations beaucoup plus importantes sont enregistrées dans les sédiments de la Roque comparativement à ceux de Vieux-Port. Aucune hypothèse ne peut être à ce jour avancée pour expliquer cette répartition. Peu de microbilles sont également observées au niveau de la Bouille. Ces microbilles sont retrouvées dans une moindre mesure dans les vasières. Au regard des particules totales (fragments, microbilles et fibres totales), les sédiments de la Roque semblent plus contaminés, suivis par les vasières alors que des niveaux comparables sont observés pour la Bouille et Vieux-Port. Cette tendance pourrait trouver une explication dans la présence du bouchon vaseux et de sa dynamique à proximité de la Roque. Des analyses complémentaires permettraient de confirmer ou non cette hypothèse.



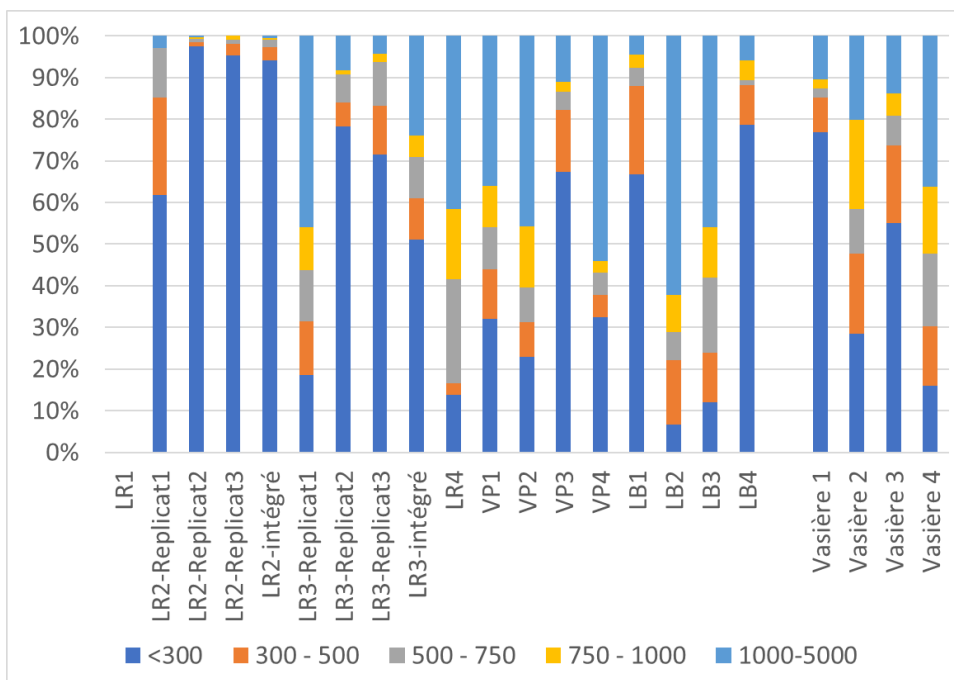


Figure 16 : Distributions de taille des MP – 5 classes de taille en μm -dans les sédiments et vasières

A l'instar des concentrations, une forte variabilité de la distribution de taille des MP est observée à la fois pour un site, mais également le long du continuum Seine (Figure 16). Ces distributions sont sans aucun doute particulièrement sensibles à l'hétérogénéité des échantillons et à la masse de sédiment considérée. Comme Kazour et al. (2019) l'ont observé, les MP de petite taille prédominent, et la fraction [50-300 μm] peut dans certains cas atteindre jusqu'à 80 % des MP totaux. Contrairement à l'étude de Phuong et al. (2018) dans la Loire qui n'identifiait pas de MP > 1 mm, cette étude montre que pour les sédiments de Seine, cette fraction varie entre 5 et 40 % des MP totaux.



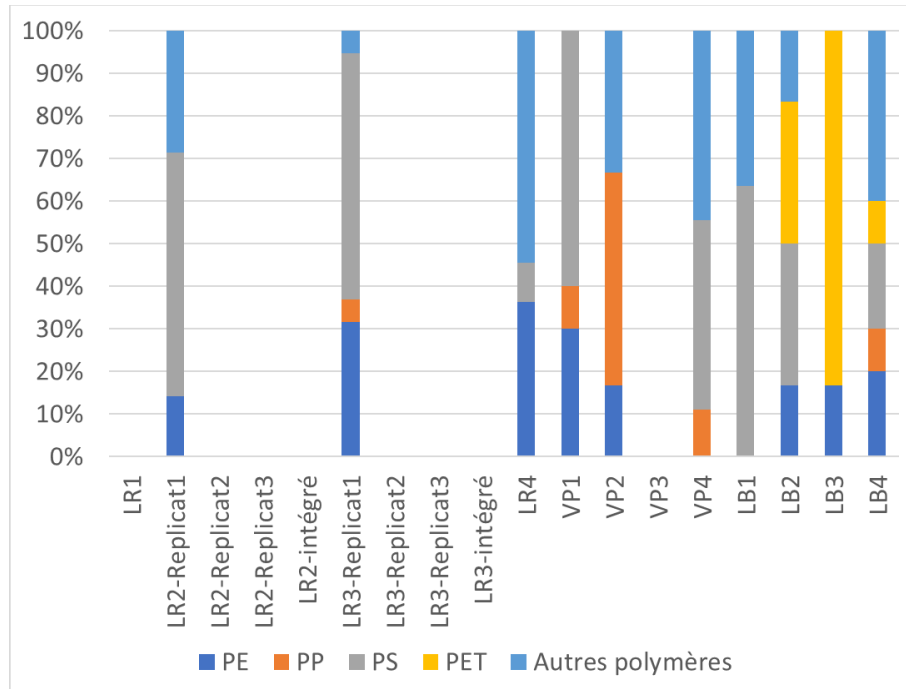


Figure 17 : Distributions des polymères dans les sédiments et vasières

Une première phase de caractérisation des MP présents dans le sédiment a été réalisée (Figure 17). La prédominance du PE, du PP et du PS est observée. Ce dernier polymère peut représenter jusqu'à 60 % des polymères totaux, en lien avec les concentrations de microbilles observés. Comme précédemment souligné pour la contamination du sédiment par les MP et les distributions de taille, on constate une forte variabilité de la distribution des polymères, sans aucun doute liée aux masses de sédiments limitées. Nos résultats corroborent ceux rapportés par Kazour et al. (2019) qui indiquent également que le PS est le polymère prépondérant (38 %). Les sédiments de Seine semblent se démarquer des sédiments intertidaux de Loire (Phuong et al., 2018). En effet, alors que ces auteurs pointent une part importante de PP (38 %) et de PE (24 %), ces derniers indiquent une proportion de PS bien moins abondante (9 %).



5 Synthèse sur le continuum Seine

Grâce aux travaux menés dans le cadre du programme PIREN-Seine, des données sont actuellement disponibles pour la partie amont du bassin de la Seine. Cependant, étant donné des objectifs scientifiques différents, les méthodologies employées dans le cadre du projet PLASTIC-Seine et les actions du PIREN-Seine diffèrent également rendant délicate la comparaison des contaminations en MP, pour toutes les typologies observées et sur un large continuum de taille. Cette comparaison est néanmoins possible pour les fragments, les microbilles et les fibres dont la taille est supérieure à 300 μm .

Le Tableau 4 synthétise les concentrations observées dans la colonne d'eau pour l'amont (périmètre PIREN-Seine, c'est-à-dire à l'amont du barrage de Poses) et l'aval du bassin de la Seine. Les microbilles de PS ne sont pas observées en amont, alors que leurs concentrations peuvent atteindre 24,8 microbilles. m^{-3} dans l'estuaire, avec une moyenne à 2,3 microbilles. m^{-3} . La présence de ces microbilles est liée à une source spécifique de l'estuaire.

Tableau 4 : Concentrations en MP de la colonne d'eau pour la partie amont et aval du bassin de la Seine

	Amont	Aval
Fragments (> 300 μm)	Driss et al. (2018) 0,1 - 1,9 fragments. m^{-3} (min-max)	0,2 - 14,9 fragments. m^{-3} (min-max)
	Treilles et al. (2019) 0,1 et 11,8 fragments. m^{-3} (min-max)	
Microbilles (> 300 μm)	Pas observées	ND – 24,8 microbilles. m^{-3} (min-max)
Fibres	Treilles et al. (2019) 9 - 18 fibres totales. m^{-3} (min-max)	0,2 - 6,6 fibres totales. m^{-3} (min-max)

Pour les fragments et les fibres totales, il est très difficile de dégager une tendance claire entre l'amont et l'aval du bassin de la Seine en raison d'une variabilité importante des concentrations et d'un nombre limité d'échantillons. Pour des méthodologies très proches, les ordres de grandeurs observés dans le cadre de PLASTIC-Seine sont relativement proches de ceux fournis par Treilles et al. (2019).

Pour les sédiments, aucune donnée n'est à ce jour disponible sur la partie amont du bassin et les ordres de grandeur fournis pour la partie estuarienne sont les premiers. Des données seront acquises dans le cadre du projet Sédi-Plast, financé par l'Agence Nationale de la Recherche et qui a démarré en mars 2020.



prélèvements ont été effectués par un pêcheur professionnel (Prélèv'Mar®) à l'aide d'un chalut à crevette (mailles de 11 mm) à une profondeur de 7 à 9 m.

Deux campagnes d'échantillonnage de 50 moules ont été réalisées : en octobre 2017 et février 2018, sur les sites de la Digue sud en aval d'Honfleur et du platier de Villerville. Les dates de prélèvements correspondent à des situations hydroclimatiques fortement contrastées. Le prélèvement d'octobre 2017 a été réalisé en période de faible débit (environ $250 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ de débit moyen à Vernon en octobre) alors que celui de février 2018 faisait suite à une intense et longue période de crue (environ $1\,680 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ à Vernon en février après un pic de $2\,100 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ en début de mois). Les individus ont été calibrés selon la longueur de coquille : 40-50 mm pour les moules prélevées à Honfleur et 35-40 mm pour celles prélevées à Villerville.

Une campagne de prélèvement de bars *D. labrax* a été conduite au cours de l'été 2017 en estuaire de Seine (CSLHN et mutualisation campagne HQFISH) et en septembre 2017 sur la Canche (HQFISH). Au total, 104 bars appartenant à deux premières classes d'âge G0 et G1 ont été pêchés sur 4 sites, 3 en estuaire de Seine (Fosse Nord, Fosse Sud, Vasière) et 1 en Canche. Un échantillonnage de juvéniles de flets (G0, 7-9 cm) a été réalisé en septembre 2017 et 2018 dans l'estuaire de la Canche et de la Seine (fosse Nord). Enfin, des soles communes, *Solea solea*, G0-G1 ont été prélevées dans l'estuaire en juillet-août 2017 et 2018 sur les 3 secteurs correspondant à l'étude Capes (embouchure, fosse nord et sud).

Afin d'avoir une meilleure vision de la possible contamination sur un site donné et de pallier le biais de la mobilité des poissons, des encagements de flets ont parallèlement été réalisés. Des échantillonnages de juvéniles de flets (150 individus, 7-9 cm) ont été réalisés en septembre 2017 dans l'estuaire de la Canche. Les juvéniles ont été acclimatés pendant une semaine dans un aquarium de 500 L en circuit ouvert. Durant cette période d'acclimatation mais aussi de dépuración, les flets ont été nourris quotidiennement avec des proies congelées (*Mysidacea* sp. et *Artemia* sp.). Le jour précédant l'encagement, les juvéniles ont été anesthésiés, pesés, mesurés et marqués individuellement. Les juvéniles ont ensuite été déployés en septembre 2017 dans des cages en Inox immergées (15 à 20 individus/cage) au niveau de 5 sites pour une durée d'un mois : 1 dans l'estuaire de la Canche site témoin, 1 dans la Liane et 3 dans l'estuaire de la Seine. Après exposition, les flets ont été transférés au laboratoire, identifiés, pesés et mesurés afin de déterminer l'indice de condition de Fulton reflétant leur état de santé.

2.2 Démarche qualité et blancs de laboratoire

L'atmosphère ambiante contient des microparticules en aérosol, dont des MP susceptibles de contaminer les échantillons par dépôt lors des différents traitements (extraction, filtration, lecture, etc.). De nombreuses précautions ont alors été prises afin de limiter cette pollution. Les dissections des organismes ont été réalisées sous hotte à flux laminaire. Les solutions utilisées pour le traitement (KOH, KI, NaClO, eau distillée) ont été filtrées sur fiole à vide (millipore®) avec des filtres de porosité 0,7 ou 1,6 μm (Whatman®) en fibre de verre. La verrerie et les outils de dissection ont été grillés ou rincés trois fois avant chaque utilisation avec de l'eau distillée filtrée. Enfin, le port d'une blouse 100 % coton a été préconisé tout au long des manipulations. Cette contamination accidentelle ne pouvant être complètement évitée, elle a été évaluée par la mise en place de blanc de laboratoire au cours des différentes phases de dissection, traitement et observation des échantillons.



2.3 Conditionnement des animaux avant analyses

Avant de procéder au conditionnement avant analyse, chaque individu prélevé a fait l'objet d'une analyse visuelle, de mesures biométriques. Concernant les crevettes, une détermination sexuelle a été effectuée ainsi qu'une évaluation du stade de mue selon la classification de Drach (Drach et Tchernigovtzeff, 1967). Les vers ont, quant à eux, été mis à dépurier dans de l'eau propre pendant 24h pour qu'ils rejettent leur contenu digestif appelé sédiment dépuré. Les échantillons ont été conservés dans du papier d'aluminium pour les vers ou des tubes en verre pour les sédiments dépurés. Les moules ont été nettoyées de leurs épibiontes (balanes principalement), conditionnées par pool de trois individus dans de l'aluminium puis congelées à -20°C. Les crevettes ont été emballées individuellement dans l'aluminium et stockées à -80°C. Après examen visuel externe et mesure biométrique, le tube digestif de chaque poisson a été méticuleusement disséqué sous hotte à flux laminaire, emballé sous aluminium et conservé au laboratoire à -20°C avant analyse.

2.4 Extraction des microplastiques

Afin d'éliminer un maximum de matières organiques et de faciliter la filtration et la lecture des filtres, les MP ont été extraits des matrices considérées selon différents protocoles, décrits succinctement ci-dessous.

2.4.1 Extraction au KOH

Après décongélation à température ambiante, les échantillons sont placés individuellement ou par pool dans un erlenmeyer et recouvert d'une solution filtrée de KOH à 10 % (40/1, ChimiePlus, France) (Dehaut et al., 2016; Hermsen et al., 2018). L'erlenmeyer est alors placé sur une plaque chauffante aimantée à 60°C pendant 24 h. Lorsque cela est nécessaire, une séparation densimétrique est réalisée. Le digestat obtenu est transféré dans une ampoule à décanter (250 mL) pendant 8 h. Le surnageant est conservé et le culot est remis à décanter en présence d'une solution de KI à 50 % pendant 4 h. Le surnageant de la deuxième décantation est rajouté à celui de la première en vue de la filtration (Phuong et al., 2018).

2.4.2 Extraction au NaClO

En raison de la présence d'une cuticule chez la crevette, l'extraction au KOH s'est avérée peu efficace. Le choix a donc été fait de pratiquer les extractions à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium selon le protocole précédemment établi dans la littérature (Collard et al., 2015). Cent sept pools de 3 spécimens ont été réalisés selon le sexe et le stade de mue. Après rinçage à l'eau distillée, les crevettes ont été disséquées : la cuticule a été retirée et l'abdomen placé, après rinçage, dans une solution d'hypochlorite de sodium (1,3 %) à température ambiante, pendant 24 h.



Tableau 5 : Porosité et type des filtres utilisés sur les différents organismes

Organismes	Type de filtre	Diamètre, Porosité
<i>Hediste diversicolor</i>	GF/D	25 mm, 1,6 µm
<i>Palaemon longirostis</i>	GF/D	47 mm, 2,7 µm
<i>Mytilus edulis</i>	GF/D	47 mm, 2,7µm
<i>Solea solea</i>	GF/D	47 mm, 2,7 µm (G1) 25 mm, 1,6 µm (G0)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	GF/A	25 mm, 1,6 µm (bars 2017)
	Inox	47 mm, 26 µm (bars 2018)

2.5 Filtration

Chaque solution obtenue a été filtrée sur filtres Whatman®. Différents types de filtres ont été utilisés selon les organismes (Tableau 5). Chaque filtre a ensuite été placé dans une boîte de Petri en verre, emballée dans de l'aluminium pour la conservation, à température ambiante en attente des analyses microscopiques.

2.6 Analyses

Les filtres obtenus ont été analysés, en premier lieu, en microscopie optique. Pour chaque MP suspecté, la typologie (fibres, fragments, films, microbilles) a été enregistrée et photographiée. Les MP suspectés ont ainsi été dénombrés, mesurés et annotés selon un critère de couleur.

L'identification des MP chez les flets a été réalisée par µ-Raman. Les cinq filtres les plus contaminés par site ont été entièrement analysés. Deux objectifs ont été utilisés (x 10 et x 100). Les filtres ont été analysés soit manuellement soit avec un module de recherche de particule. Chaque spectre a été comparé avec une base de données fournie par le constructeur réunissant un grand nombre de polymères.

Concernant les autres organismes, et en lien avec la tâche 1 du projet, l'objectif de 25 % de caractérisation des particules par échantillon a été fixé *a minima* par le consortium. La caractérisation a été effectuée au laboratoire DCM/RDT de l'Ifremer de Brest par µ-Raman, hormis les échantillons de flets qui ont été analysés au laboratoire LOG de Vimereux. Certains MP suspectés de bar ont également été analysés par ATR-IRTF au laboratoire CBMN à Bordeaux. Les analyses ont été effectuées en utilisant le laser à 785 nm avec un objectif x 10 dans une zone d'analyse entre 200 et 1 800 cm⁻¹.

Les échantillons ont été analysés en utilisant la méthode semi-automatique d'analyse des particules MP (Frere et al., 2016). Un montage vidéo de l'échantillon entier couvrant un large champ de vision a été réalisé par du µ-Raman, équipé d'un module Horiba Scientific ParticleFinder pour LabSpec6. Cet équipement a permis une localisation facile et rapide, un comptage et une caractérisation morphologique (taille, surface, périmètre, forme) des particules. A partir de cela, une seule image de microscope a été obtenue. Après la localisation des particules et la caractérisation morphologique, une analyse en µ-Raman automatisée a été effectuée. Le module ParticleFinder a permis le positionnement automatique des platines motorisées et l'analyse des particules. Les paramètres de mesure ont été sélectionnés pour obtenir un bon compromis entre la qualité spectrale et le temps nécessaire pour les mesures.

Ensuite tous les spectres ont été traités par des méthodes d'analyse multivariées. En premier lieu, les spectres bruts ont été corrigés de la ligne de base puis normalisés. La normalisation est une méthode de prétraitement. Elle est appliquée pour éliminer les facteurs liés aux variations de la source ou du détecteur ce qui permettra de simplifier la comparaison entre les données spectrales. Les spectres sont donc ramenés à la même échelle d'intensité.

Ensuite une méthode de séparation de sources "l'analyse en composantes indépendantes (ICA)" a été appliquée aux spectres normalisés. Cette méthode étudie l'empreinte globale de tous les spectres pour extraire les spectres purs. L'ICA vise à récupérer les signaux originaux purs en estimant une transformation linéaire, qui fournit l'indépendance statistique entre les signaux en supposant que les données ne suivent pas une distribution gaussienne. Ensuite chaque spectre pur est comparé avec les spectres de la base de données pour identifier le type de plastiques. Toutes les analyses chimiométriques ont été réalisées à l'aide du logiciel MATLAB (R2017a).

3 Distribution des microplastiques au sein du réseau trophique

3.1 Copépodes *Eurytemora affinis* et *Acartia sp*

Les travaux menés jusqu'à présent dans le cadre du projet PLASTIC-Seine ont été d'ordre méthodologique afin de pouvoir quantifier l'imprégnation des MP par les copépodes.

Le premier développement s'est focalisé sur l'extraction des MP. Pour digérer les copépodes, des premiers tests avec KOH ont été réalisés. Cependant, cette méthode ne nous a pas apporté entière satisfaction pour notre modèle comportant une cuticule de chitine, ne dégradant pas cette « enveloppe » et ne permettant pas un relargage optimal des MP vers le milieu extérieur. Nous nous sommes orientés vers la protéinase K, qui a montré des résultats encourageants dans la bibliographie pour les échantillons riches en matériel biologique et donc pouvant comporter des fragments de chitine. Ce protocole a été optimisé avec l'ajout des ultrasons. A l'heure actuelle, ce protocole de digestion mis au point est fonctionnel et permet un relargage total des MP ingérés dans le milieu externe. Ce volet méthodologique est l'objet d'un article en préparation (They et al., en prep).

A l'instar de certaines études travaillant sur l'ingestion de MP par les copépodes (Cole et al., 2014, 2013), une méthodologie de marquage fluorescent à l'aide du colorant rouge de Nil des MP employés (Figure 19) est aussi en cours de développement. D'autres colorants ont été testés mais sans succès. Ceci dans le but de pouvoir à termes, utiliser cette méthode sur des MP collectés *in situ*. Actuellement, les essais réalisés sur 3 polymères (PS, PE et acide polylactique) se sont montrés probants. Ces résultats nous permettent de conclure avec certitude qu'*Eurytemora affinis* est capable d'ingérer des MP entre 4 et 6 μm . Les difficultés méthodologiques liées à la taille très petite des copépodes et des MP ingérés (< 20 μm) ainsi que la présence d'une carapace chitineuse chez ce micro-crustacé ont représenté l'essentiel de notre challenge. Nous espérons valider expérimentalement fin 2020 et passer à la quantification sur des échantillons *in situ*. La technique de pyrolyse couplée à la chromatographie gazeuse et à la spectrométrie de masse (pyr-GC/MS) est prometteuse mais demande un enrichissement des bibliothèques des signaux obtenus sur les MP et sur les copépodes.

En conclusion, bien que la mise au point du protocole de détection des MP dans les copépodes *in situ* ait pris du retard, toutes les difficultés techniques et opérationnelles ont pu être identifiées et solutionnées. Une analyse critique de la littérature a été également réalisée et la mise au point d'un nouveau protocole d'observation de MP dans le tube digestion de copépodes est quasiment finalisée. Ce protocole sera valorisé très prochainement dans une publication scientifique. Compte tenu de ce retard, les données d'imprégnation des copépodes *in situ* n'ont pas pu être présentées dans ce rapport et feront l'objet d'un rapport annexe.



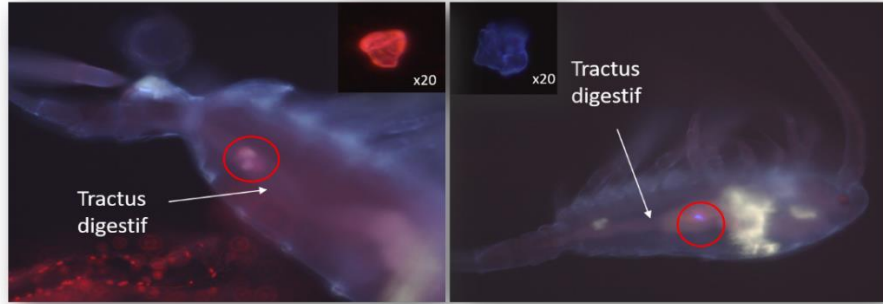


Figure 19 : Observation au microscope à fluorescence (x 10, filtre DAPI : 355-394 nm) d'individus adultes d'*E. affinis* pour lesquels des MP de PLA (à gauche) et de PE (à droite) ont été ingérés après marquage au rouge de Nile

3.2 Annélide polychète *Hediste diversicolor*

La présence de fibres et fragments a été notée dans les tissus et les sédiments dépurés des vers (Figure 20). Au niveau des sédiments dépurés davantage de fibres ont été identifiées.

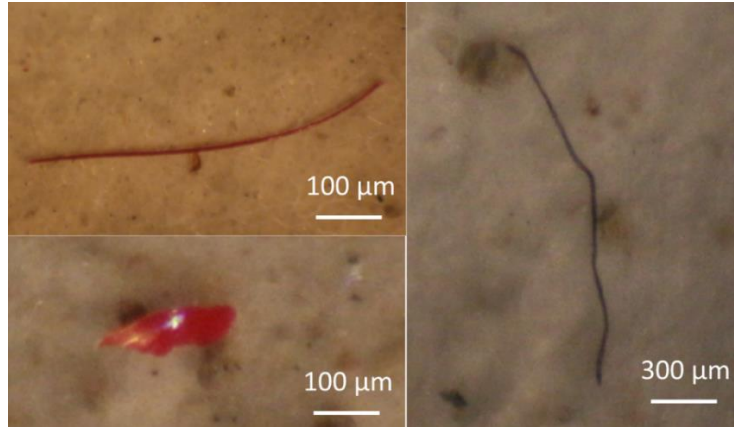


Figure 20 : MP (fibres, fragments) identifiés dans les sédiments dépurés de vers *H. diversicolor* collectés en estuaire de Seine (radiale 8)

Au niveau de la radiale 3/5, un nombre plus faible de particules a été comptabilisé au niveau des vers *H. diversicolor* comparé aux sédiments dépurés des vers avec une moyenne de $0,65 \pm 0,72$ à $4,71 \pm 6,46$ particules/g de tissus et $12,78 \pm 22,48$ à $342,80 \pm 932,76$ particules/g de sédiment dépuré (Tableau 6). Ces valeurs peuvent paraître élevées mais la quantité de sédiment dépuré par ver variait entre 5 et 200 mg par échantillon.

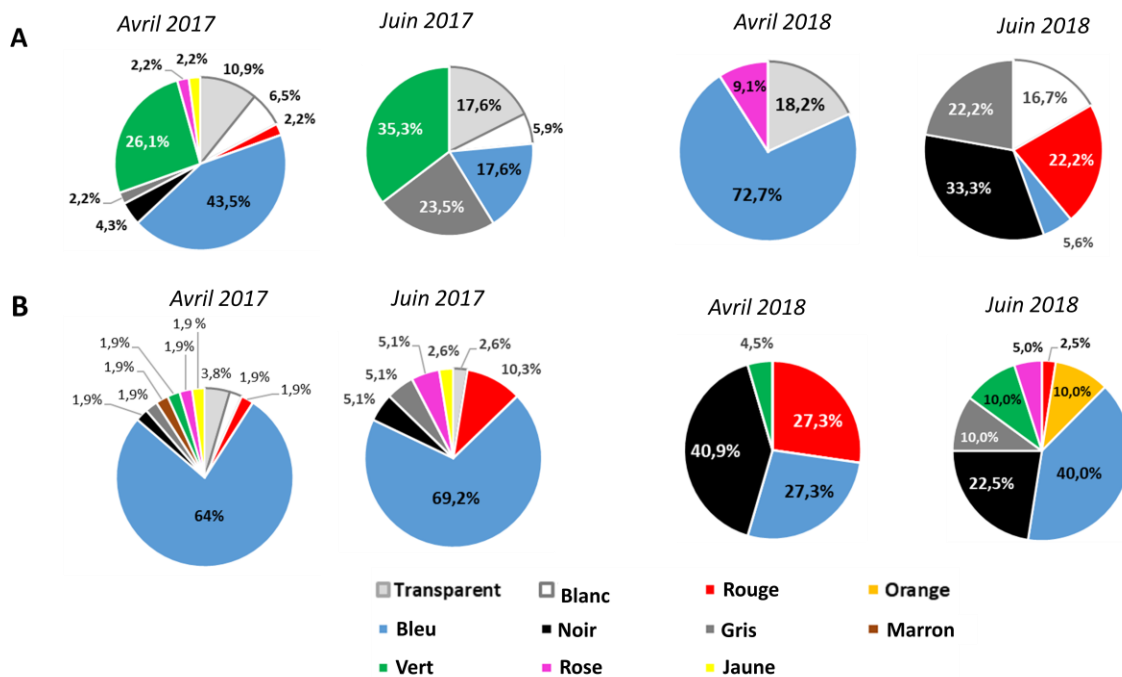


Figure 21 : Pourcentage de particules et fibres en fonction de leur couleur ayant été observées dans les tissus (A) ou sédiments dépurés (B) des vers provenant de la radiale R3/5 dans l'estuaire de Seine.

Tableau 6 : MP suspectés dans les tissus des vers ou les sédiments dépurés de la radiale 3/5 de la vasière nord

MP	Type d'échantillon	Période	Blancs (MP/filtre)		Particules/g N=60 (non corrigé)	
			Moyenne	ET	Moyenne	ET
Total	Vers	avr-17	0,00	/	4,71	6,46
		juin-17	0,75	0,51	1,61	3,25
		avr-18	0,33	0,53	0,60	1,23
		juin-18	0,83	0,75	0,65	0,72
	Sédiment dépuré	avr-17	0,00	/	/	/
		juin-17	0,30	1,00	342,80	932,76
		avr-18	2,00	1,00	12,78	22,48
		juin-18	1,33	1,21	67,13	113,13
Fragments	Vers	avr-17	0,00	/	0,39	1,05
		juin-17	0,33	0,51	1,06	2,76
		avr-18	0,00	/	0,13	0,53
		juin-18	0,00	/	0,58	0,70
	Sédiment dépuré	avr-17	0,00	/	/	/
		juin-17	0,00	/	0,00	/
		avr-18	0,00	/	0,00	/
		juin-18	0,00	/	23,32	75,92
Fibres	Vers	avr-17	0,00	/	2,46	4,63
		juin-17	0,66	0,53	0,34	0,75
		avr-18	0,33	0,53	0,42	1,03
		juin-18	0,83	0,75	0,07	0,29
	Sédiment dépuré	avr-17	0,00	/	/	/
		juin-17	0,30	1,00	342,80	932,76
		avr-18	2,00	1,00	12,78	22,48
		juin-18	1,33	1,21	43,82	91,83
Autres	Vers	avr-17	0,00	/	1,85	4,91
		juin-17	0,00	/	0,12	0,48
		avr-18	0,00	/	0,05	0,28
		juin-18	0,00	/	0,00	/
	Sédiment dépuré	avr-17	0,00	/	/	/
		juin-17	0,00	/	0,00	/
		avr-18	0,00	/	0,00	/
		juin-18	0,00	/	0,00	/

Au niveau de la radiale 8, un nombre plus faible de particules a été comptabilisé au niveau des vers *H. diversicolor* comparé aux sédiments dépurés des vers avec une moyenne de $3,08 \pm 4,71$ à $11,51 \pm 13,80$ particules/g de tissus et $65,88 \pm 50,20$ à $309,36 \pm 442,78$ particules/g de sédiment dépuré (Tableau 7).

Une majorité de particules de couleur bleue puis noire et rouge a été identifiée au niveau des tissus et sédiments dépurés des vers prélevés sur la radiale 3/5 (Figure 21) et la radiale 8.



La taille des particules identifiées était comprise entre 20 et 4 000 µm avec une majorité de particules comprise entre 100 et 4 000 µm. Les analyses en µ-Raman ont permis de caractériser 27,9 % des fragments identifiés dans les tissus et sédiments dépurés des vers provenant des deux radiales. Des différences ont été observées au niveau des deux radiales avec l'identification de PE, PP et PS au niveau de la radiale 8 et de PP+TiO₂ au niveau de la radiale 3/5 (Figure 22).

Tableau 7 : MP suspectés dans les tissus des vers ou les sédiments dépurés de la radiale 8 de la vasière Nord

MP	Echantillon	Période	Blancs (MP/filtre)		Particules/g N=60 (non corrigé)	
			Moyenne	ET	Moyenne	ET
Total	Vers	avr-17	1,00	0,89	11,51	13,80
		juin-17	1,00	1,26	3,40	4,75
		avr-18	0,33	0,52	3,08	4,71
		juin-18	2,17	1,17	3,49	3,10
	Sédiment dépuré	avr-17	1,00	0,63	279,11	297,69
		juin-17	1,50	1,05	309,36	442,78
		avr-18	2,00	2,17	65,88	50,20
		juin-18	2,33	1,51	123,96	173,47
Fragments	Vers	avr-17	0,00	/	4,16	4,14
		juin-17	0,00	/	2,08	3,10
		avr-18	0,00	/	0,00	/
		juin-18	0,00	/	0,34	0,89
	Sédiment dépuré	avr-17	0,33	0,52	60,16	204,01
		juin-17	0,00	/	21,52	52,58
		avr-18	0,00	/	3,41	10,98
		juin-18	0,00	/	0,00	/
Fibres	Vers	avr-17	1,00	0,89	3,46	7,41
		juin-17	1,00	1,26	2,96	3,73
		avr-18	0,33	0,52	3,08	4,71
		juin-18	2,17	1,17	3,29	3,13
	Sédiment dépuré	avr-17	0,67	0,52	231,70	225,91
		juin-17	1,50	1,05	287,84	433,24
		avr-18	2,00	2,17	61,45	49,93
		juin-18	2,33	1,51	123,96	173,47
Autres	Vers	avr-17	0,00	/	1,41	5,31
		juin-17	0,00	/	0,00	/
		avr-18	0,00	/	0,00	/
		juin-18	0,00	/	0,00	/
	Sédiment dépuré	avr-17	0,00	/	3,11	12,10
		juin-17	0,00	/	0,00	/
		avr-18	0,00	/	1,08	4,95
		juin-18	0,00	/	0,00	/

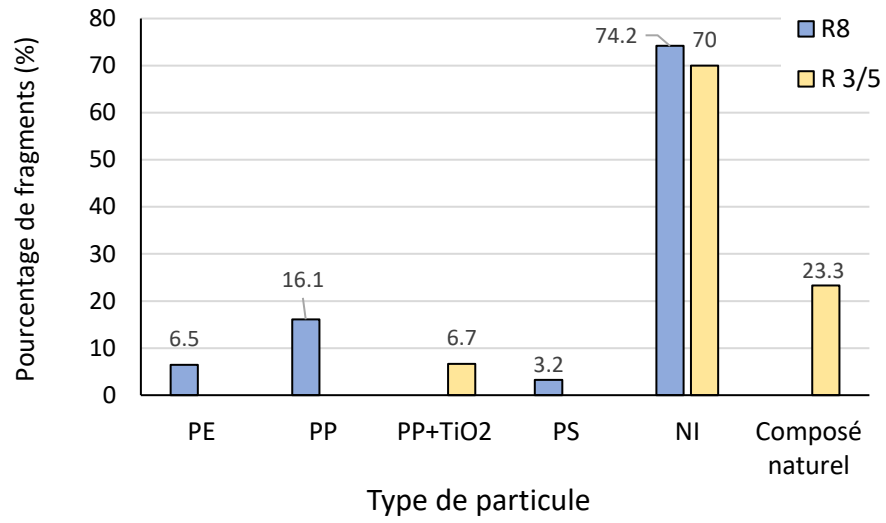


Figure 22 : Caractérisation des fragments analysés en μ -Raman après digestion des tissus et sédiments dépurés de vers prélevés sur la radiale 8 et la radiale 3/5 en estuaire de Seine.

3.3 Crevette blanche *Palaemon longirostris*

Au total, 107 pools de crevettes (n = 3 individus/pool, regroupés en fonction du sexe et du stade de mue) ont été analysés et 99 MP suspectés ont été retrouvés (Tableau 8). Des MP suspectés ont été retrouvés dans 44,5 % des échantillons, avec 81,8 % de fibres, 14,2 % de fragments et 4,0 % de films. L'imprégnation moyenne sur l'ensemble des échantillons est de 0,34 MP suspectés par individu, avec un maximum observé de 2,33 MP par individu. Une grande diversité de couleur est observée avec une majorité de MP bleus ou noirs (

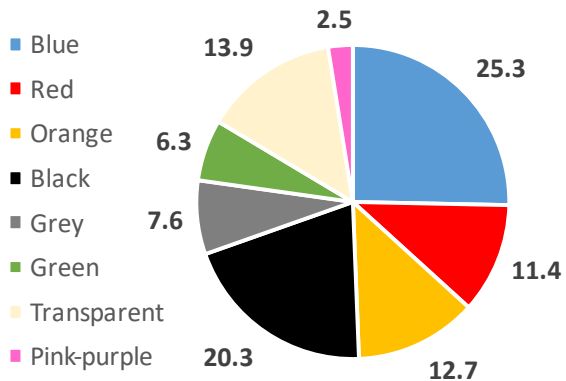


Figure 23). Il faut souligner qu'une concentration importante de MP a été retrouvée dans les eaux de rinçage des crevettes (*i.e.* moyenne 2,8 MP/ind, dont 99 % de fibres).

Tableau 8 : MP suspectés à la surface et dans les tissus des crevettes blanches, *Palaemon longirostris*

	MP	Nombre total	MP/individu ± ET
Tissus (N=107 pools de 3 individus)	Fragments	14	0,03 ± 0,09
	Fibres	81	0,30 ± 0,43
	Films	4	0,02 ± 0,11
Surface cuticule (N=107 pools de 3 individus)	Fragments	16	0,03 ± 0,09
	Fibres	12 74	2,26 ± 2,93
	Films	Non détecté	Non détecté

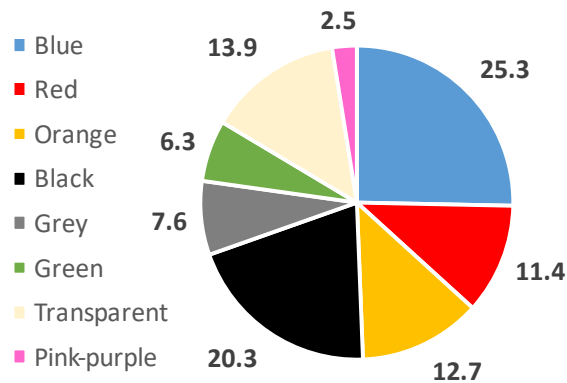


Figure 23 : Couleurs des MP retrouvés dans les tissus des crevettes blanches, *Palaemon longirostris* collectées en estuaire de Seine

Les résultats de la caractérisation par μ -Raman sur quelques échantillons représentatifs, ont indiqué que seulement 18,3 % des MP suspectés correspondaient bien à des polymères et pouvaient donc être considérés comme des MP (*i.e.* acrylique, polyester, époxyde, polyéthylène/polypropylène, polychlorure de vinyle, polyamide et polybutadiène acrylonitrile ; Figure 24). Parmi les 81,7 % restants, 72,5 % correspondaient à des fibres textiles semi-naturelles (*i.e.* coton, viscose et rayonne) et 8,3 % à des « composés naturels » non-identifiés.

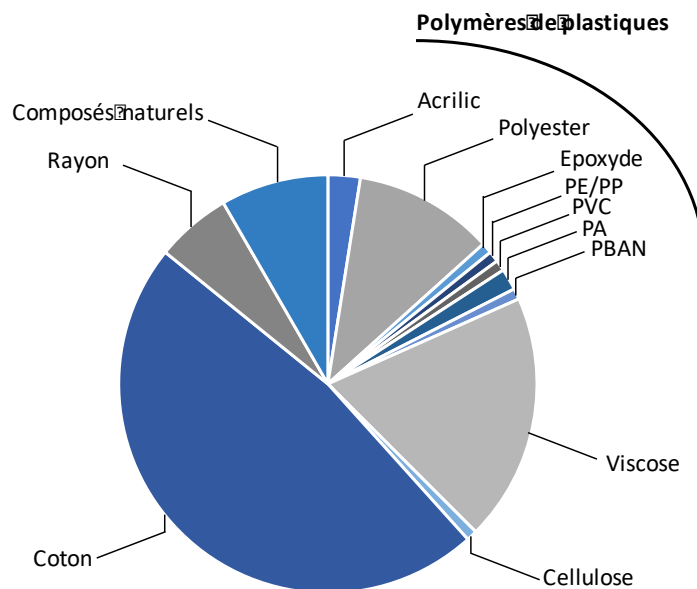


Figure 24 : Caractérisation des MP retrouvés dans les crevettes blanches en Seine par μ -Raman (PE/PP : polyéthylène/polypropylène, PVC : polychlorure de vinyle, PA : polyamide, PBAN : polybutadiène acrylonitrile).

Aucune différence significative des niveaux d'imprégnation n'a été observée entre les différentes zones de l'estuaire (test de Kruskal & Wallis, $p.value = 0,89$, Figure 25A). En revanche, des différences significatives sont observées entre les différentes campagnes de prélèvement (test de Kruskal & Wallis, $p.value < 0,001$, Figure 25B). Ainsi, une diminution significative du niveau d'imprégnation des crevettes a été observé au cours du temps avec 1) d'abord une diminution significative (tests post hoc de Wilcoxon, $p.value < 0,05$) à l'automne 2017 (*i.e.* l'imprégnation passant de 0,65 MP/ind au printemps 2017 à 0,24 MP/ind à l'automne 2017 et au printemps 2018) puis une seconde diminution significative à l'automne 2018 (*i.e.* 0,08 MP/ind en moyenne).



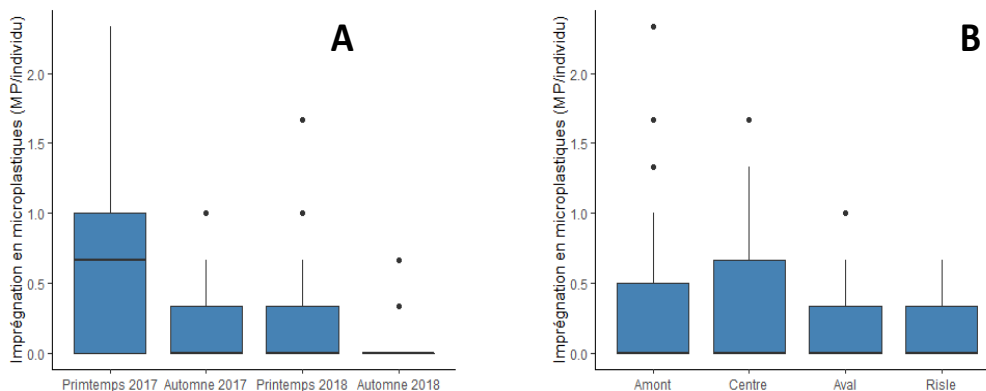


Figure 25 : Variabilité spatio-temporelle de la contamination de la crevette blanche dans l'estuaire de Seine.

A- Variabilité spatiale d'amont en aval de l'estuaire : Amont = la Seine au niveau du pont de Tancarville ($n = 35$), Aval = la Seine au niveau du pont de Normandie ($n = 15$), Centre = la Seine au niveau de la confluence avec la Risle ($n = 18$), Risle = la Risle à proximité de la confluence avec la Seine ($n = 39$). **B-** Variabilité temporelle entre les quatre campagnes de suivis ; $n = 25, 28, 34$ et 20 pour les campagnes du printemps 2017, de l'automne 2017, du printemps 2018 et de l'automne 2018 respectivement.

Aucun effet significatif du sexe (test de Wilcoxon, $p.value = 0,14$, Figure 26A) n'est observé. En revanche, une influence significative du stade de mue des individus sur l'imprégnation des crevettes blanches est notée (test de Kruskal & Wallis, $p.value < 0,01$, Figure 26B). Des imprégnations significativement plus fortes ont été retrouvées chez les individus en postmue (*i.e.* venant d'accomplir l'exuviation) en comparaison aux individus en intermue et prémue. A ce stade, l'interprétation de cette différence reste spéculative mais pourrait être attribuée à une reprise frénétique de l'alimentation en post-mue, après la période de jeûne de prémue.

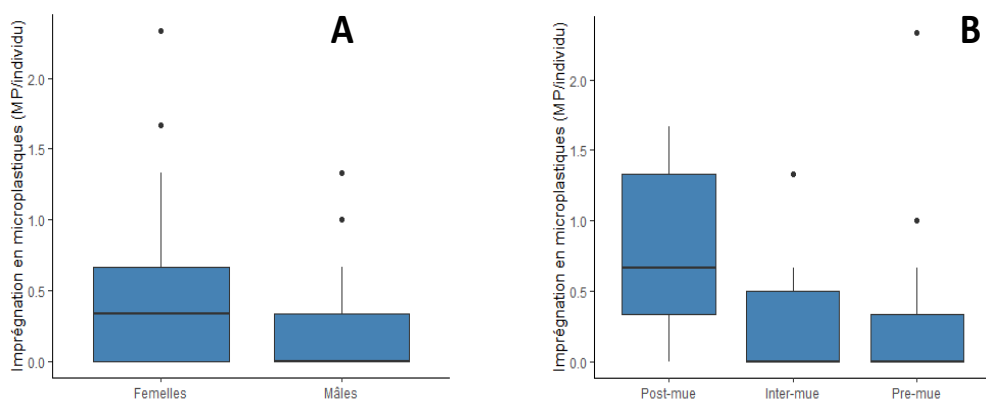


Figure 26 : Influence des facteurs physiologiques sur la contamination de la crevette blanche dans l'estuaire de Seine.

A- Influence du sexe des individus ($n = 49$ pour les femelles et $n = 58$ pour les mâles). **B-** Influence du stade de mue des individus ($n = 11$ pour la post-mue, $n = 7$ pour l'inter-mue et $n = 77$ pour la pré-mue).



3.4 Moule bleue *Mytilus edulis*

L'extraction des MP a été réalisée sur l'ensemble des échantillons de moules. La majorité des MP suspectés sont des fibres, quel que soit l'année ou le site de prélèvement (Tableau 9).

Tableau 9 : MP suspectés retrouvés dans les tissus de moules dans l'estuaire de Seine

Forme	Modalité	Témoins				Nb / pool de 3 moules non corrigés				Nb / g de chair non corrigés	
		moy	sd	min	max	moy	sd	min	max	moy	sd
Fibres	Ts sites x ttes années	4,87	2,53	2	13	9,89	6,27	1	42	1,21	0,63
	2017	Pas d'effet année				12,7	6,88	4	42	1,36	0,69
	2018					7,26	4,25	1	17	1,07	0,56
Fragments	Ts sites x ttes années	Pas de contamination				0,11	0,35	0	2	0,01	0,04
	2017					0,19	0,47	0	2	0,02	0,05
	2018					0,03	0,16	0	1	0,003	0,02
Microbilles	Ts sites x ttes années	Pas de contamination				0,31	0,62	0	2	0,039	0,08
	2017					0,42	0,73	0	2	0,044	0,08
	2018					0,21	0,47	0	2	0,037	0,09

Parmi les différentes typologies de MP retrouvées, les fibres sont significativement les plus nombreuses (ANOVA sur les données / g de chair humide transformées, $p < 2 \times 10^{-16}$) avec une moyenne de $1,21 \pm 0,63$ fibre par gramme de chair humide quels que soient le site et l'année de prélèvement (Tableau 9). Pour les fragments, la moyenne tous sites et années confondus s'élève à $0,01 \pm 0,04$ par g de chair humide. Des microbilles sont régulièrement retrouvées dans les échantillons ($0,04 \pm 0,08$ par g de chair humide en moyenne). Les résultats ne montrent pas de variation significative en fonction du site ($p = 0,58$) mais un effet année est démontré ($p = 0,02$). Une contamination moindre, à la fois pour les fragments et de fibres, a été observée lors des prélèvements réalisés en 2018. Les fibres sont $< 250 \mu\text{m}$ ou dans la gamme $250-500 \mu\text{m}$. Les MP suspectés sont majoritairement de couleur noire. Compte tenu de la prédominance des fibres, seules ces dernières ont été analysées par μ -Raman afin de déterminer leur nature. Les résultats sont présentés Figure 27. Un total de 496 fibres a été analysé. Parmi les fibres dont on a pu déterminer la composition, les fibres cellulosiques c'est à dire des fibres non synthétiques sont majoritaires. On notera également une proportion importante de fibres non identifiées par absence d'obtention de spectre de qualité (33 %) et de spectre non déterminé. Le polyester est le polymère le plus couramment retrouvé alors que le polyacrylate styrène, le polyéthylène et le kevlar sont retrouvés à proportion égale. Enfin la présence de colorant ou de pigment (3 % et 2 % respectivement) peuvent être des additifs du plastique et pourraient être liés à des fibres plastiques.



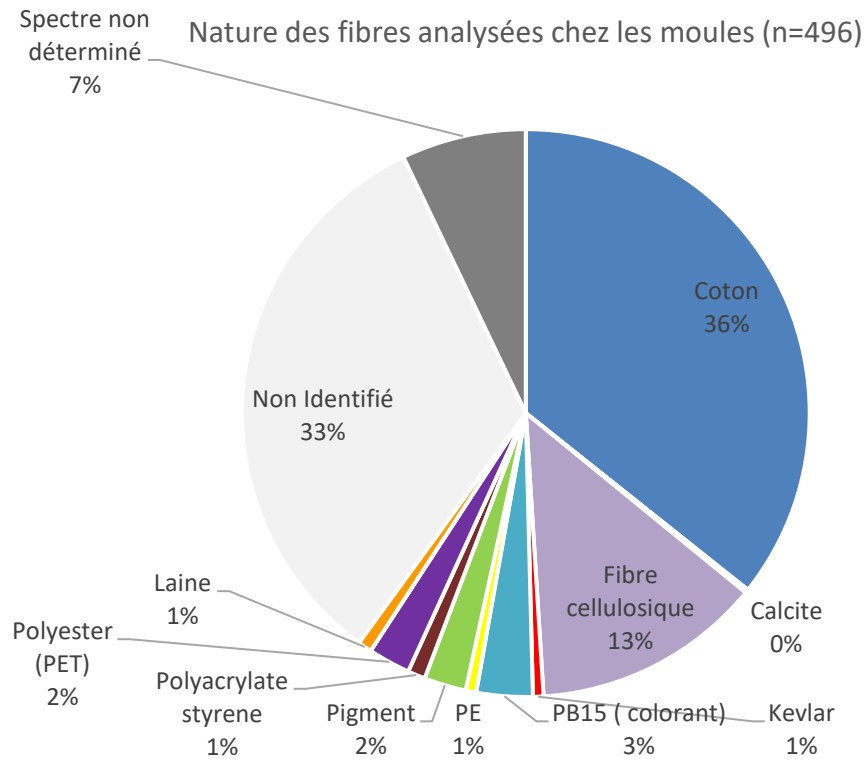


Figure 27 : Composition des fibres analysées (n=496) chez les moules de l'estuaire de Seine

3.5 Flet commun *Platichthys flesus*

Dans l'estuaire de la Seine, 70 à 80 % des juvéniles de flet ont ingéré des MP. Ce chiffre est supérieur à ce qui a été observé en Canche, notamment en 2017 où 36 % seulement des individus avaient ingéré des MP (Tableau 10).

Tableau 10 : Nombre de juvéniles de flet analysés au cours des deux années d'études dans les estuaires de la Canche et de la Seine et pourcentage d'occurrence d'individus ayant ingéré des MP

	Année	Poissons analysés	% Ingestion
La Canche	2017	11	36
	2018	10	70
La Seine (Fosse Nord)	2017	11	80
	2018	10	70

Les juvéniles de flet de la Seine ont ingéré plus de MP (2,4 à 2,8 MP/ind) que ceux de la Canche (1,7 à 1,9 MP/ind) (Figure 28). Parmi les MP ingérés, on retrouve principalement des fibres et des fragments et quelques films. Pour un même site, il n'y a pas de différence significative du nombre de MP ingérés entre les deux années d'études.

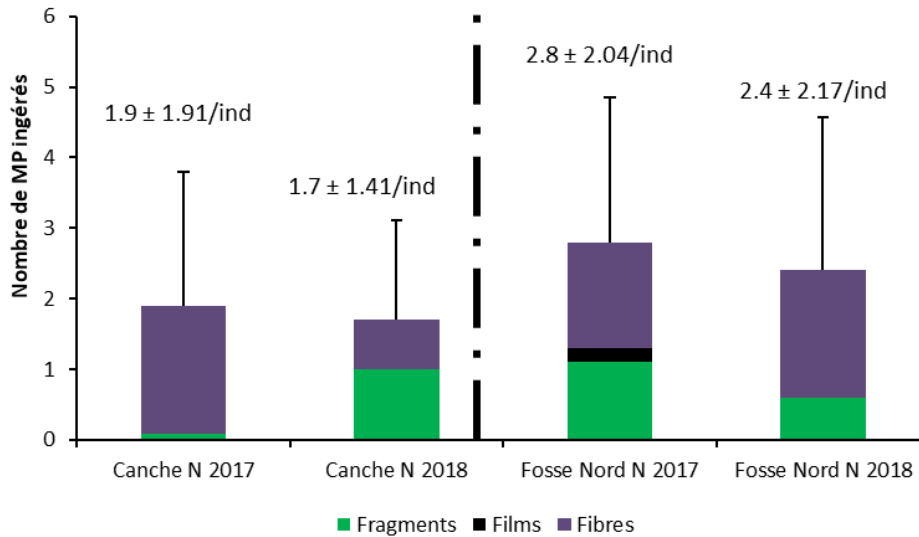


Figure 28 : Nombre moyen (+ ET) de MP ingérés par les juvéniles de flet de la Canche et de la Seine



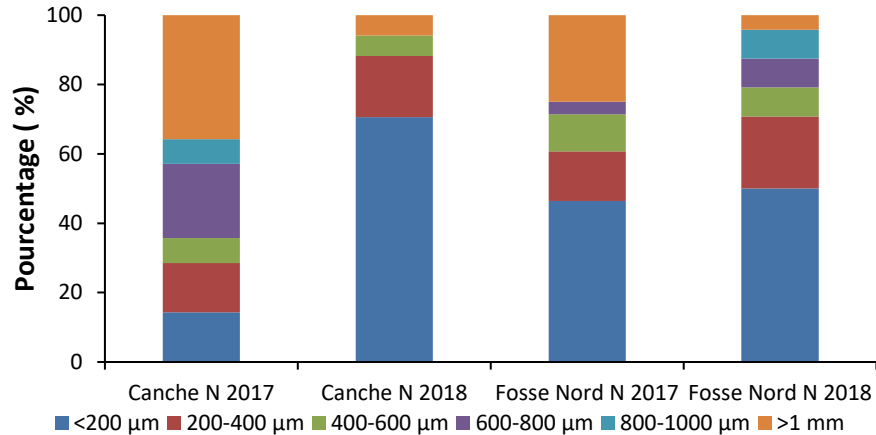


Figure 29 : Distribution de taille des MP ingérés par les juvéniles de flet

Les MP < 200 µm sont dominants (sauf dans la Canche en 2017) et globalement les MP < 600 µm représentent plus de 70 % (Figure 29). En 2017, parallèlement aux juvéniles de flet échantillonnés dans le milieu naturel (*in natura*), des juvéniles de flet ont été engagés au niveau de 3 sites dans la Seine et dans deux petits estuaires : La Canche et la Liane. Soixante flets engagés ont été analysés et les résultats montrent la présence de fibres et de particules dans les tractus digestifs des juvéniles (Figure 30). De manière générale, on retrouve plus de fibres que de fragments. Les fibres de couleur rouge et bleue étant les plus nombreuses. La taille moyenne des fibres varie de 70 à 4 510 µm. Le nombre moyen de particules par poisson varie selon les sites de 0,46 à 2,33 pour les fibres et de 0,9 à 1,41 pour les fragments. Les sites de Rouen et de la Liane présentent le plus de fibres (à mettre probablement en lien avec l'exposition de ces sites aux rejets de STEP). L'avant-port du Havre est le site le plus contaminé par les particules. Les résultats de cette étude ont montré pour la première fois la possibilité de la mise en place d'une biosurveillance active (engagement) de juvéniles de poissons pour étudier la contamination des zones de nurseries par les MP.

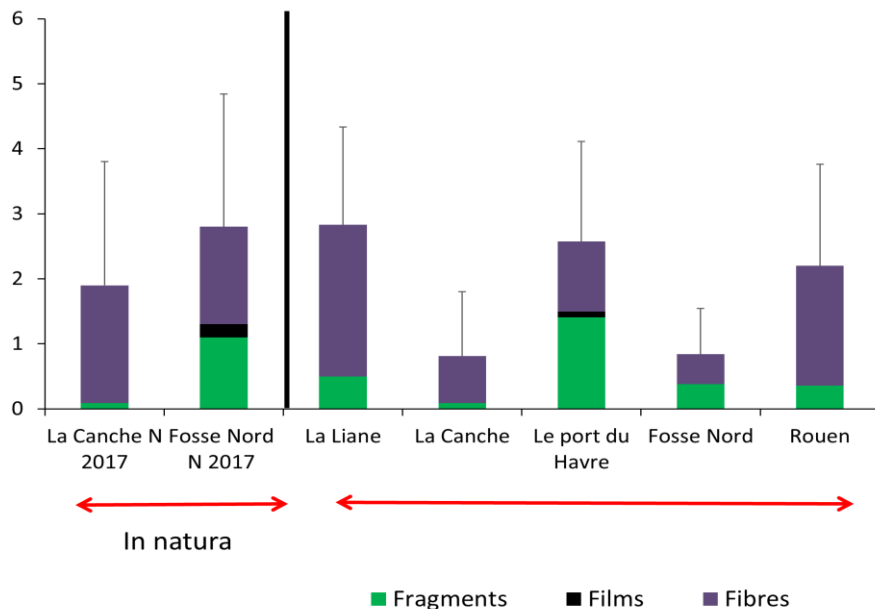


Figure 30 : Nombre moyen (+ ET) de MP suspectés dans le tractus digestif de flets juvéniles sauvages ou encagés sur différents sites estuariens (Kazour et al., 2020)

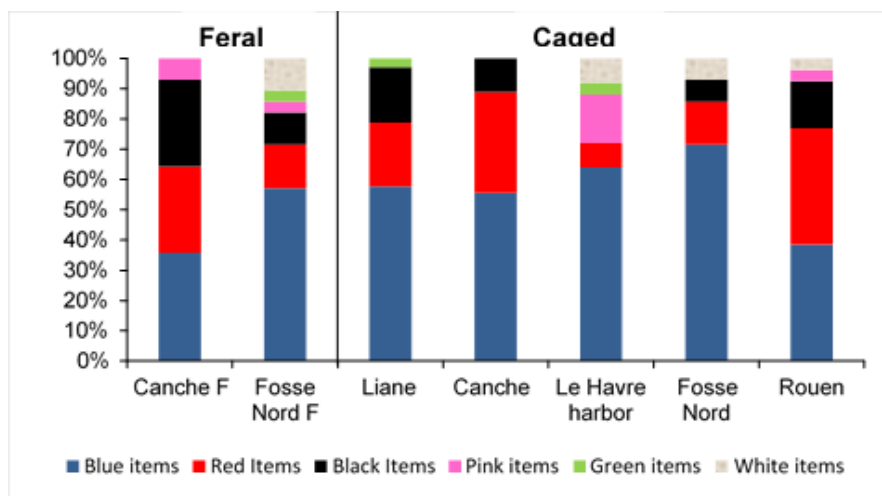


Figure 31 : Couleur des MP ingérés par les juvéniles de flet *in natura* ou encagés pendant un mois

Au niveau des couleurs, le bleu est dominant suivi du rouge et du noir (

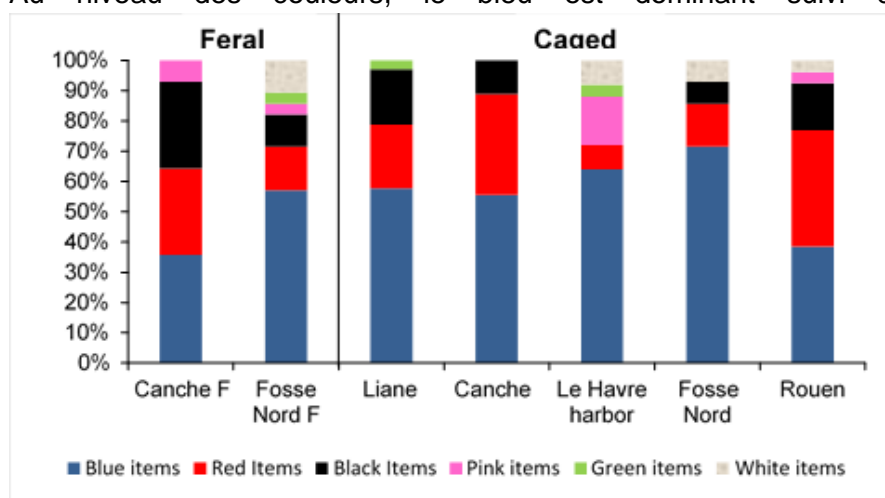


Figure 31). Concernant la caractérisation des MP, 37 fragments ont été analysés avec succès par μ -Raman. Les principaux polymères identifiés sont le polyamide (PA-6), le polyéthylène téréphtalate (PET) et le polyuréthane (PUR) (Figure 32).



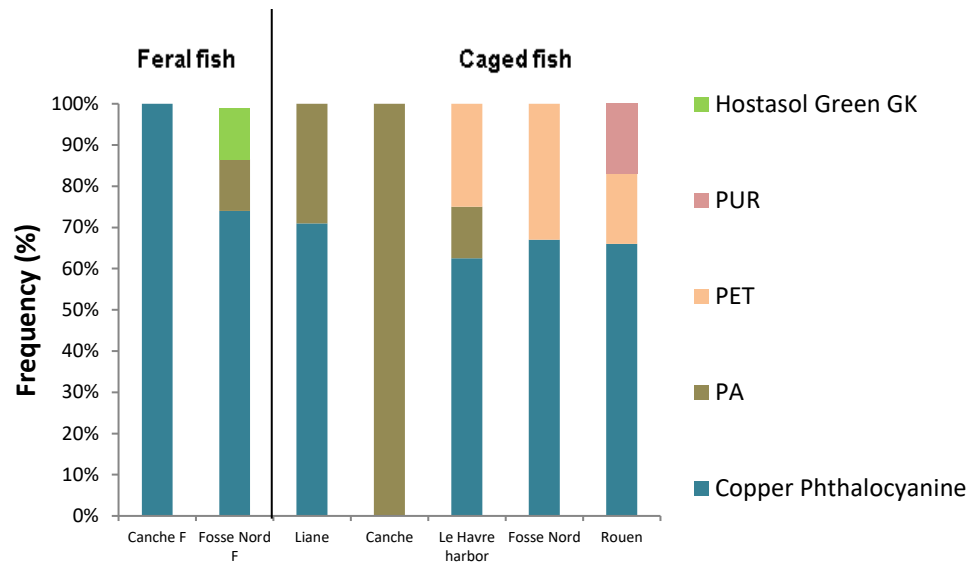


Figure 32 : Identification par μ -Raman de 37 fragments isolés dans le tractus digestif de flet



3.6 Sole commune : *Solea solea*

L'extraction des MP a été réalisée sur la totalité des échantillons prélevés en 2017 (50 individus x 2 classes d'âges- G0 et G1) et 2018 (36 individus G0 et G1). En 2017, 98 % des soles G1 et 80 % des soles G0 étaient contaminés par des MP, les fibres représentant l'essentiel de la contamination (Tableau 11).

Tableau 11 : MP suspectés retrouvés dans le tube digestif des soles en 2017 dans l'estuaire de Seine

Forme	Modalité	Témoins dissection				Témoins digestion/filtration				Nb / individu non corrigés				Nb / g* non corrigés	
		moy	sd	min	max	moy	sd	min	max	moy	sd	min	max	moy	sd
Fibres	Ts âges	1,31	1,6	0	6	3,69	3,67	0	17	7,18	6,68	0	29	19,2	41,9
	G0	Pas d'effet âge				1,98	1,6	0	7	2,73	1,71	0	8	37,0	57,3
	G1					6,67	4,34	1	17	11,1	7,0	1	29	4,15	2,85
Fragments	Ts âges	Pas de contamination				Pas de contamination				0,27	0,67	0	4	0,36	1,95
	G0									0,11	0,44	0	2	0,61	2,86
	G1									0,41	0,80	0	4	0,15	0,30
Microbilles	Ts âges	Pas de contamination				Pas de contamination				0,17	0,43	0	2	0,20	1,05
	G0									0,04	0,21	0	1	0,32	1,54
	G1									0,27	0,53	0	2	0,09	0,18

En 2018, on notera une diminution de la quantité de MP par rapport à 2017 mais toujours une prédominance des fibres (Tableau 12). Les résultats restent néanmoins à reconstruire. Les analyses statistiques et la qualification des MP suspectés sont en cours de finalisation.

Tableau 12 : MP suspectés retrouvés dans le tube digestif des soles en 2018 dans l'estuaire de Seine



Forme	Modalité	Témoins dissection				Témoins digestion/filtration				Nb / individu non corrigés				Nb / g* non corrigés	
		moy	sd	min	max	moy	sd	min	max	moy	sd	min	max	moy	sd
Fibres	Ts âges	1,11	0,92	0	3	2,88	2,24	0	11	3,54	2,34	1	12	28,2	55
	G0					1,98	1,6	0	7	2,59	1,37	1	5	71,36	70,85
	G1					6,67	4,34	1	17	4,11	2,62	1	12	1,76	1,41
Fragments	Ts âges	Pas de contamination				Pas de contamination				0,13	0,41	0	2	0,46	3,13
	G0									0,07	0,27	0	1	1,09	5,08
	G1									0,16	0,48	0	2	0,07	0,21
Microbilles	Ts âges	Pas de contamination				Pas de contamination				0,08	0,37	0	2	0,03	0,12
	G0									0	0	0	0	0	0
	G1									0,14	0,46	0	2	0,07	0,21

L'analyse des fibres (n= 232) dans le tube digestif des soles montre une majorité de fibres naturelles ou cellulósiques. De nombreuses fibres n'ont pas pu être identifiées en raison de verrous techniques liés à la méthode (fibres trop petites, échantillons trop chargés en matière organique, fluorescence, etc.). In fine la proportion de fibres synthétiques et donc « plastiques » avérées est d'environ 6 % et regroupe par ordre de décroissance du polyester (2,6 %) et du polyéthylène (0,9 %) (

Figure 33). A noter cependant que le colorant (PB15) et certains pigments peuvent être également des marqueurs de fibres plastiques.

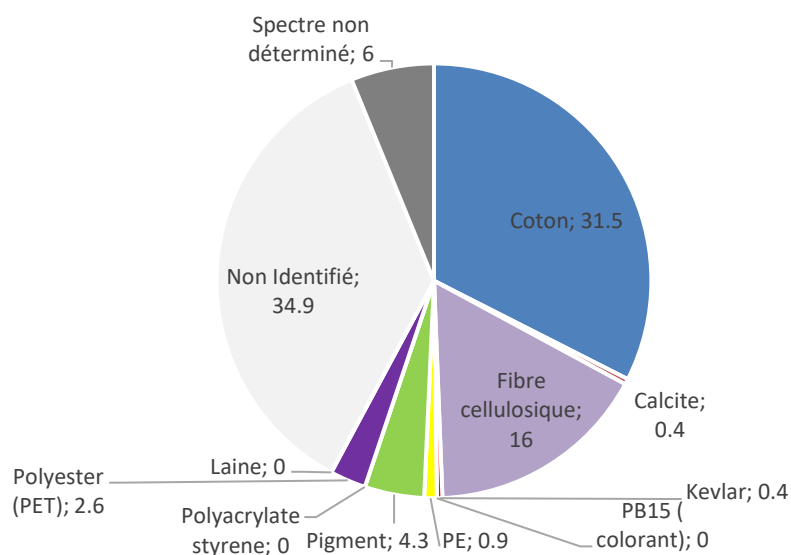


Figure 33 : Nature des fibres analysées (n=232) chez les soles de l'estuaire de Seine

3.7 Bar européen *Dicentrarchus labrax*

Pour les bars pêchés en Seine et Canche en 2017, seuls les fragments ont été analysés dans le tractus digestif des bars. Le pourcentage de bar contaminés par des fragments plastiques suspectés est d'environ 2 fois supérieur en Seine par rapport à la Canche (Tableau 13). En revanche, ce pourcentage n'est pas significativement différent entre les deux classes d'âge (G0 et G1) pour un même estuaire.

Tableau 13 : MP suspectés dans le tube digestif des bars collectés en 2017 dans l'estuaire de Seine et de Canche pour deux classes d'âge (G0 et G1)

Estuaire/classe d'âge	Nombre d'individu	% d'individus contaminés	Nbre moyen particules/ind. ± ET	Taille moyenne particules ± ET des MP
Canche G0	10	20	0,20 ± 0,42	183,7 ± 106,6
Seine G0	33	54,5	0,88 ± 0,69	78,41 ± 32,7
Seine G1	10	70,0	1,10 ± 0,99	167,0 ± 260,4

Le nombre moyen de fragments est significativement supérieur pour les bars de Seine par rapport aux bars de Canche (Figure 34A). En revanche, il n'existe pas de différence significative entre classe d'âge G0 et G1 pour l'estuaire de Seine. Les fragments plastiques isolés sont majoritairement colorés en rouge, vert et bleu (Figure 35B).

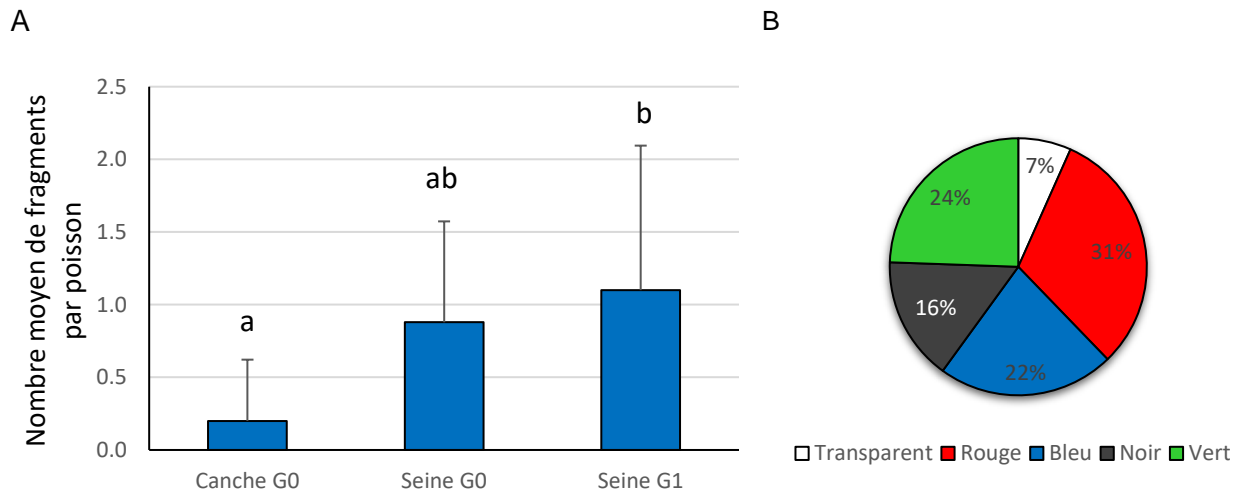


Figure 34 : (A) Nombre moyen de fragments plastiques suspectés dans le tube digestif des bars de Seine et de Canche en 2017 pour deux classes d'âge. (B) Palette de couleurs des 45 fragments isolés dans le tractus digestif des bars de Seine et de Canche.

Les lettres différentes au niveau de chaque colonne indiquent des différences significatives



Tableau 14 : MP suspectés dans le tube digestif des bars collectés en 2018 dans l'estuaire de Seine et de Canche pour deux classes d'âge (G0 et G1)

Estuaire et Classe d'âge	Nbre de poissons analysés	% ind. contaminés	Nbre de particules	Nbre moyen particules /ind.	% Fibres	% Fragments	% Films	% MP identifiés*
Seine G0+G1	34	68	78	2,3	66,7	29,5	3,8	60,5
Seine G1	21	71	52	2,5	76,9	17,3	5,8	76,9
Seine G0	13	61	26	2,0	46,1	53,8	0	35,3
Canche G0	55	60	73	1,3	63,0	37,0	0,0	43,8

* % de microplastiques parmi les particules collectées

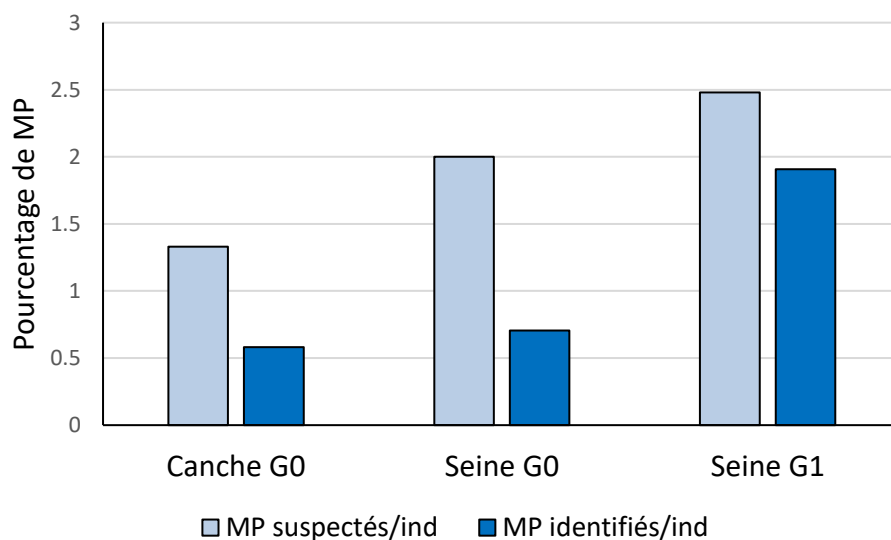


Figure 35 : Nombre de MP suspectés et réellement identifiés dans le tractus digestif des bars en Seine et en Canche à l'automne 2018 et pour deux classes d'âge G0 (0-1 an) et G1 (1-2 ans)

Seine G1 = 21 individus, Seine G0 = 13 individus, Canche G0 = 55 individus. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre conditions.

Pour les bars pêchés en Seine et en Canche pendant l'automne 2018, les fragments, fibres, microbilles et films ont été recherchés dans le tractus digestif. Le pourcentage de bars contaminés apparaît un peu plus élevé en Seine (68%) que dans l'estuaire de Canche (60%) mais le différentiel apparaît plus réduit qu'en 2017. Le nombre moyen de MP/individu est aussi plus élevé dans les bars de Seine (1,38 items/individu) que dans ceux de Canche (0,58 items/individu). Le pourcentage de bar contaminés (61 vs 71%) et le nombre moyen de MP/individu (0,71 vs 1,91

MP/individus) augmentent sensiblement entre les classes d'âge G0 et G1 (Tableau 14 et % de microplastiques parmi les particules collectées

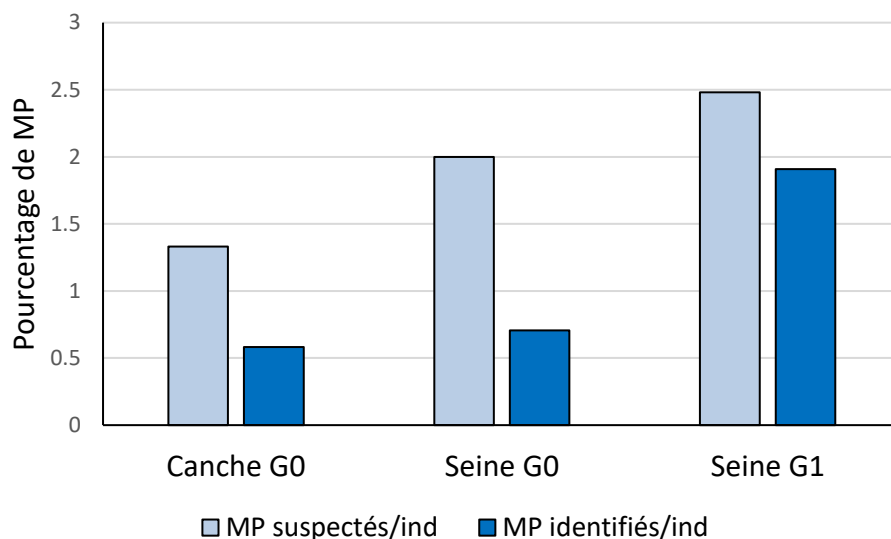


Figure 35). En revanche, la taille des MP ingérés reste sensiblement la même entre ces deux classes d'âge et varie entre 100 et 2 000 μm (Figure 36).

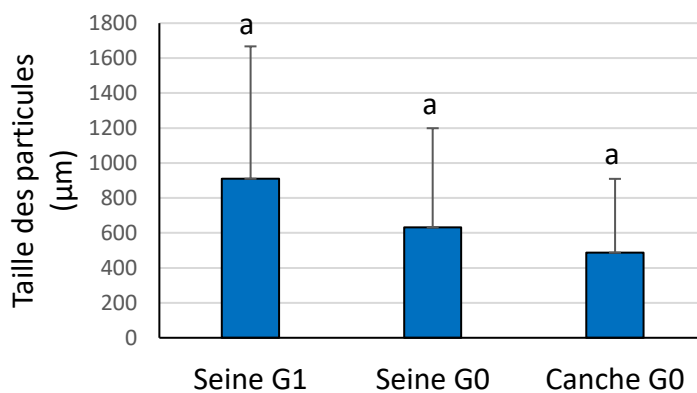


Figure 36 : Taille moyenne des MP suspectés (> 100 μm) dans le tractus digestif des bars en Seine et en Canche à l'automne 2018 et pour deux classes d'âge G0 (0-1 an) et G1 (1-2 ans)

Seine G1 = 21 individus, Seine G0 = 13 individus, Canche G0 = 55 individus. Des lettres différentes indiquent des différences significatives entre conditions.

Les MP sont en grande majorité des fibres (63 à 67%) puis des fragments (29,5 à 37%) et des films (0 à 3,8%) (Tableau 14).

Les microbilles n'ont jamais été observées. Ces MP sont bleus (50 %) et noirs (22,5 %) et de façon moindre rouges (13,6 %), verts (9 %) ou blancs (4,5 %).



Soixante-six fragments et fibres ont été soumis à une analyse spectroscopie en μ -IRTF mais seulement 44 % ont pu être identifiés avec une probabilité suffisante. La Figure 37 présente la composition en polymères. Neuf polymères différents ont été identifiés mais le polyéthylène téréphtalate (PET) est le plus abondant (45 %). Les fibres sont principalement non synthétiques et la cellulose concerne environ $\frac{1}{4}$ des fibres qui ont été isolées dans le tractus des poissons.

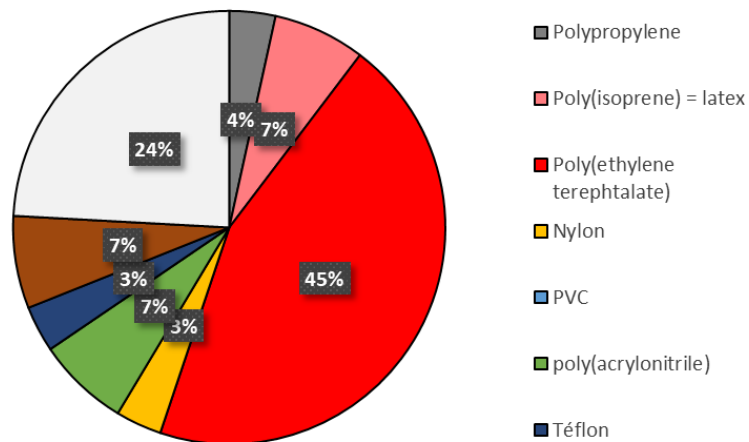


Figure 37 : Identification par IRTF des polymères isolés dans le tractus digestif de bars de classe d'âge G1 collectés en estuaire Seine en 2018

Cette figure a été construite à partir de l'identification de 29 fragments et fibres isolés dans des bars G1 de l'estuaire de Seine.

CHAPITRE 3 : ETUDE DU TRANSFERT ET DES EFFETS DES MICROPLASTIQUES SUR TROIS ESPECES REPRESENTATIVES DES PEUPELEMENTS DE L'ESTUAIRE DE SEINE

Le projet PLASTIC-Seine a proposé dans sa tâche 3 des actions expérimentales très originales visant à mieux comprendre et quantifier la contamination et l'impact de MP modèles (PP et PE principalement) ou de MP représentatifs de l'estuaire sur deux espèces d'invertébrés (le copépoïde *calanoïde Eurytemora affinis* et le ver annélide polychète *Hediste diversicolor*) et deux stades de vie de la sole commune, *Solea solea* (larves et juvéniles) présentes en estuaire de Seine. Le recours à l'approche expérimentale dans des conditions contrôlées est indispensable pour améliorer nos connaissances sur les interactions entre MP et des éléments clés du réseau trophique estuarien et apporter des données utiles aux analyses de risques environnementaux et éventuellement à la modélisation.

1 Caractérisation des mélanges MP environnementaux

Compte tenu de la difficulté de collecter dans l'environnement des MP en quantité suffisante pour les expérimentations en laboratoire, il a été décidé de produire des MP par broyage de macroplastiques retrouvés en estuaire de Seine. Des macrodéchets ont été collectés le 4 avril 2018 à Villequier sur les berges de l'estuaire de Seine lors d'un suivi terrain du projet Macro-Plast. Cinq types de polymères ont été collectés puis identifiés à l'IMMM au Mans par IRTF (VERTEX 70v, Bruker).

Tableau 15 : Répartition massique des échantillons de macroplastiques

Polymère	Répartition massique (%)
PE	62
PET	4
PP	28
PS	1
PVC	5

Les macroplastiques échantillonnés étaient majoritairement composés à 62 % de PE et 28 % PP (Tableau 14). Trois autres polymères, PET, PVC, PS étaient représentés entre 1 et 5 %. Les macroplastiques ont été séparés par type de polymère, fragmentés manuellement en morceaux de 1 cm² environ et cryobroyés pendant 2 cycles de 4 min consécutifs (Freezer/mill 6770, prex Sampleprep). La poudre obtenue a ensuite été tamisée afin de ne conserver que la fraction < 100 µm (10 min, Retsch AS 200). Le profil granulométrique (d_{10} , d_{50} et d_{90}) a été réalisé avec un granulomètre laser de type Malvern après tamisage de la poudre à 800 µm. La taille médiane pour l'ensemble des MP est comprise entre 51,5 et 76,8 µm (Tableau 15). La fraction de MP



inférieure à 18 µm, susceptible d'être ingérée par les adultes du copépode *E. affinis*, représente entre 6,7 et 16,1% des MP produits selon le type de polymère. La fraction inférieure ou égale à 1 µm, correspondant aux nanoplastiques, représente moins de 1% en masse des particules produites par broyage.

Tableau 16 : Granulométrie des différents polymères de plastiques collectés et cryobroyés

Polymères	≤1,05 µm (%)	≤18,6 µm (%)	d10 µm	d50 µm	d90 µm
PE	0,46	13,77	14,35	51,49	120,56
PET	0,28	6,71	27,46	76,78	144,46
PP	0,43	16,11	11,51	51,82	115,46
PVC	0,38	10,06	18,50	62,35	120,45
PS	0,87	12,31	15,24	54,61	110,50

A partir de ces MP broyés, deux mélanges « environnementaux » de MP ont été produits (Tableau 16). Un mélange 1 « eaux de surface » contenant principalement du polyéthylène (65 %) mais aussi du polypropylène (25 %) et du polystyrène (10 %) qui représente une composition moyenne en MP dans les eaux de surface (Mani et al., 2015). Un mélange 2 « sédiment » contenant du PE et PP en proportion majoritaire (40 %) et du PVC et PET en proportion plus réduite (10 %). Ce mélange correspond à une composition moyenne de polymères des MP retrouvés dans les sédiments (Leslie et al., 2017; Phuong et al., 2018).

Tableau 17 : Composition des deux mélanges de microplastiques produits à partir des macroplastiques collectés en estuaire de Seine

Type de mélange MP	Composition (%)
Mélange 1 : Eaux de surface	LDPE 40 %
	HDPE 25 %
	PP 25 %
	PS 10 %
Mélange 2 : Sédiment	PE 40 %
	PP 40 %
	PET 10 %
	PVC 10 %

Ces échantillons ont ensuite été analysés pour quantifier 5 éléments traces métalliques (Pb, Zn, Cr, Cd et Cu). La minéralisation a été effectuée à 18°C en présence d'acide nitrique, sous flux d'azote à l'aide d'un four minéralisateur Milestone Ultrawave suivant le protocole Milestone application Note (Milestone, Helping Chemists). Les minéralisats ont été dilués dans de l'eau ultra pure afin d'obtenir une concentration en HNO₃ de 2 %. Les métaux ont ensuite été dosés par ICP-MS (7500 Series, Agilent). Les concentrations en métaux dans les MP sont très variables d'un polymère à l'autre (Tableau 17). La teneur en Zn est particulièrement élevée pour le PP et plutôt faible dans le PE. La concentration en Cd est forte dans le PP et très faible dans le PS, le PET et le PVC. La teneur en Pb est plus élevée dans le PVC et du même ordre de grandeur dans



les autres polymères. Enfin pour le Cu et le Cr, les concentrations sont plus élevées dans le PS et le PET. Ces concentrations en ETM sont du même ordre de grandeur que celles rapportées dans les MP des sédiments de surface de la rivière Bejiang (Wang et al., 2017). Ces auteurs avancent l'hypothèse que la plupart des métaux sont présents dès l'origine dans le plastique et ont été ajoutés lors de sa fabrication.

Tableau 18 : Teneurs ($\mu\text{g/g}$) en éléments traces métalliques dans les différents polymères de plastiques collectés en estuaire de Seine

Polymères	Cu	Pb	Zn	Cd	Cr
PP	3,5	9,0	4169,8	123,2	77,9
PS	11,0	21,1	64,9	0,6	364,4
PET	13,8	19,5	52,6	<LOQ	359,5
PVC	4,7	786,0	432,3	<LOQ	23,1
PE	2,0	4,9	9,0	6,0	<LOQ

LOQ : limite de quantification

Les deux mélanges de plastiques ont été analysés pour déterminer leur teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), en alkylphénols (AP) et phtalates (PAE).

Trois extractions solides-liquides successives avec 40 ml d'un mélange méthanol / dichlorométhane / hexane (1, 1, 1, v/v) ont été menées. Les étalons internes ou d'extraction des trois familles de composés suivis ont été ajoutés au préalable. L'extraction a été réalisée au moyen d'une table agitation (200 rpm) pendant 2 h. Les trois fractions sont regroupées et des particules ayant été observées, les fractions ont été filtrées sur des filtres plissés. L'extrait final a été ensuite séparé en deux sous-échantillons, un pour l'analyse des alkylphénols et des phtalates (AP et PAE), le second pour l'analyse des hydrocarbures polycycliques aromatiques (HAP). La fraction AP/PAE a été évaporée à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif puis reprise dans 5 ml d'acétate d'éthyle avant purification sur cartouche d'alumine (1 g). La fraction correspondant aux PAE est récupérée après élution de 5 ml d'acétate d'éthyle, évaporée à sec sous flux d'azote puis reprise dans 50 μL d'heptane pour analyse en chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

La fraction AP est récupérée suite à l'élution de 10 ml d'éthanol. Pour cette fraction, des étalons d'injection sont alors ajoutés puis la fraction a été évaporée à sec sous flux d'azote puis reprise dans la phase mobile pour analyse en chromatographie liquide haute pression couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UPLC-MS/MS). La fraction HAP a été évaporée partiellement à l'aide d'un évaporateur rotatif puis purifiée sur colonne de silice. Après récupération de la fraction HAP, cette dernière est évaporée à sec sous flux d'azote puis reprise dans 50 μL d'heptane pour analyse en GC-MS. Les protocoles analytiques sont décrits dans la littérature (Bressy, 2010; Cladière, 2012).

Les concentrations des HAP totaux varient entre 3,5 et 7 $\mu\text{g/g}$ selon le mélange de polymères (Tableau 18). Le mélange 2 contient environ 2 fois plus de HAP que le mélange 1, mais le profil de contamination n'est pas différent entre les deux mélanges (Tableau 18). Le composé



majoritaire est un HAP à 5 cycles benzéniques, le benzo(ghi)perylène. Les HAP lourds (4 à 5 cycles) sont très majoritaires et sont 2 à 4 fois plus représentés que les HAP légers (2-3 cycles). Les teneurs mesurées sur les plastiques de l'estuaire de Seine sont sensiblement plus élevées que celles dosées sur des granulés plastiques dans une carotte sédimentaire sur la plage de la baie de Santos au Brésil (Fisner et al., 2013).

Les phtalates comme les alkylphénols sont des additifs ajoutés à certains plastiques au moment de leur fabrication pour en modifier leurs propriétés physico-chimiques. Leurs concentrations dépendent du polymère, de l'utilisation du plastique, de son vieillissement, etc.

La concentration en phtalates est élevée quel que soit le polymère (>200 µg/g) et le dibutyl phtalate est le composé très largement majoritaire (Tableau 19). Pour les alkylphénols, la concentration varie de 3 à 10 µg/g selon le mélange de polymères considéré et le 4-nonylphénol (NP) est le composé très largement majoritaire (Tableau 20).

Tableau 19 : Dosage des HAP (µg/g) dans les deux mélanges de plastiques de l'estuaire de Seine

Composés	Mélange 1	Mélange 2
Naphtalène	< LD	< LD
Acenaphtylène	0,096	0,178
Acenaphtene	0,073	0,066
Fluorene	0,106	0,255
Phenanthrene	0,140	0,659
Anthracene	< LD	0,537
Fluoranthene	0,271	0,471
Pyrene	0,569	0,835
Benzo(a)anthracene	0,031	0,041
Chrysene	0,038	0,053
Benzo(b)fluoranthene	0,196	0,358
Benzo(k)fluoranthene	0,069	0,090
Benzo(a)pyrene	0,221	0,356
Indo(123)pyrene	0,367	0,695
dibenzo(ah)anthracene	0,179	0,233
benzo(ghi)perylene	1,148	2,097
Somme (µg/g)	3,505	6,924



Tableau 20 : Teneurs en alkylphénols (µg/g) dans les deux mélanges de plastiques de l'estuaire de Seine

Composés	Mélange 1	Mélange 2
Bisphénol A	0,015	0,013
4-Nonylphénol	9,250	2,349
Nonylphénol monoéthoxylé	0,209	0,451
Nonylphénol diéthoxylé	0,085	0,093
Acide nonylphénol carboxylique	< LD	< LD
Octylphénol	0,103	0,012
Octylphénol monoéthoxylé	0,210	0,062
Octylphénol diéthoxylé	0,010	0,008
Somme µg/g	9,882	2,988

LD : limite de détection

Tableau 21 : Teneurs en phtalates (µg/g) dans les deux mélanges de plastiques collectés en estuaire de Seine

Composés	Mélange 1	Mélange 2
dimethyl phtalate	5,983	2,508
diethyl phtalate	9,701	7,527
diisobutyl phtalate	13,652	13,657
dibutyl phtalate	167,326	126,612
dimethoxyethyl phtalate	3,799	5,706
di-4-methyl-2-pentyl phtalate	< LD	0,633
diethoxyethyl phtalate	5,879	2,080
di-n-pentyl phtalate	< LD	0,060
butylbenzyl phtalate	1,677	6,905
di-n-hexyl phtalate	6,509	5,698
di-2-butoxyethyl phtalate	1,147	2,365
dicyclohexyl phtalate	0,450	0,900
di-2-ethylhexyl phtalate	19,081	34,766
di-n-octyl-phtalate	0,503	0,694
DNP	0,868	1,251
Somme µg/g	236,574	211,362

LD : limite de détection



2 Etude du transfert et des effets chez le ver *Hediste diversicolor*

Ce travail avait pour but d'évaluer les effets écotoxicologiques de MP commerciaux (PE et PP) sur le ver *H. diversicolor* avant d'étudier la cinétique d'ingestion et d'égestion et les effets de MP environnementaux collectés en estuaire de Seine.

2.1 Cinétique d'ingestion et d'égestion des MP

Afin d'étudier la cinétique d'ingestion des MP par les vers, les organismes ont été exposés pendant 96 h, via l'eau ou le sédiment contaminé par des microbilles de PE (45-53 μm) avec $1,2 \cdot 10^6$ MP/ml. Les effets neurotoxiques et comportementaux des microbilles ont également été évalués en mesurant l'activité de l'acétylcholine estérase (AChE) et le comportement d'enfouissement avec le Multi Freshwater Biomonitor (MFB). Des photos du tube digestif ont été prises afin d'évaluer la quantité de microbilles accumulées dans les vers après une exposition via de l'eau ou du sédiment contaminé (Figure 38).

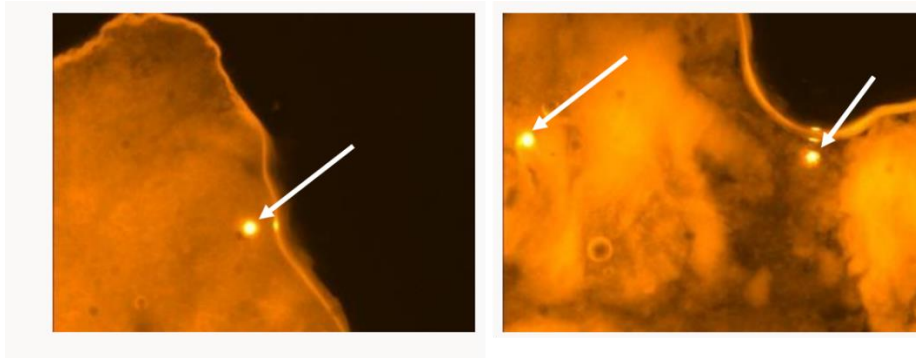


Figure 38 : Observation de microbilles en fluorescence au niveau d'une coupe de tube digestif du ver *Hediste diversicolor* après 30 min d'exposition à des microbilles de PE (45-53 μm) à $1,2 \cdot 10^6$ MP/ml

Les vers ont été classés en 3 groupes en fonction du nombre de microbilles dans le tube digestif : « Faible » pour un nombre de billes inférieur à 5, « Moyen » pour un nombre de billes entre 5 et 15 et enfin, « Haut » lorsque plus de 15 billes ont été identifiées dans le tube digestif. Directement après l'exposition d'une heure via l'eau (T0), les vers avaient déjà ingéré des microbilles (Figure 39).



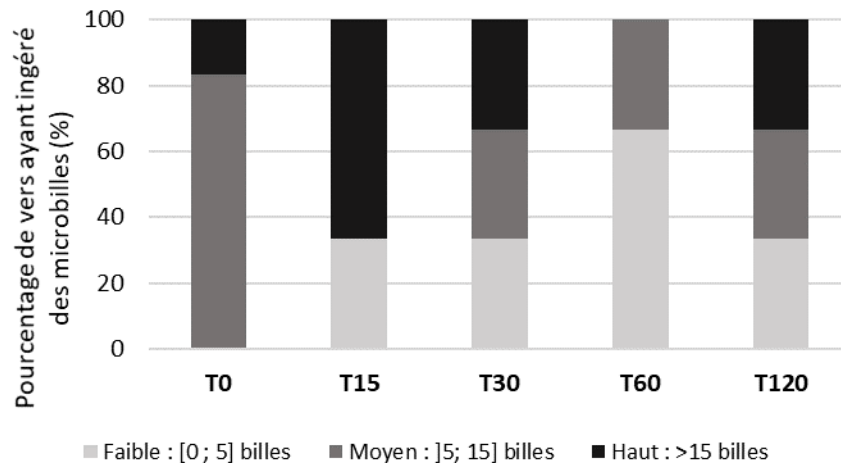


Figure 39 : Proportion de microbilles observées en microscopie à fluorescence dans le tube digestif des vers après 1 h d'exposition aux microbilles de PE (45-53 µm) à 1,2x10⁶ MP/ml à T0, T15, T30, T60 et T120 min de dépuración (vers placés dans de l'eau propre)

Pendant la période de dépuración (T15, T30, 160 puis T120 min), une diminution progressive du nombre de microbilles dans le tube digestif a été observée jusqu'à T60 où aucun des vers ne présentaient une proportion de microbilles élevée (66 % classés en « Faible » et 33 % classés en « Moyen »). Après 120 min de dépuración, les vers ont à nouveau ingéré les microbilles comme indiqué avec l'augmentation du nombre de microbilles. Les vers seraient capables d'ingérer puis d'éliminer puis de réingérer les microbilles.

Concernant l'exposition via le sédiment, les vers présentaient à T0 (après les 96h d'exposition) une grande quantité de microbilles (33 % "Haut" et 66 % "Faible") qui diminuaient progressivement jusqu'à 30 min (T30) de dépuración (100 % "faible" en T30). Comme pour l'exposition via l'eau contaminée, les vers exposés via le sédiment semblaient démontrer une ré-ingestion des MP (dépurés) à partir de 60 min de dépuración (T60). D'une manière générale, les vers ont eu tendance à ingérer moins de microbilles via le sédiment que via l'eau. Aucune modification de l'activité de l'AcChE ou du comportement d'enfouissement n'a été observée chez les vers exposés 96 h aux microbilles de PE via le sédiment.

2.2 Etude des effets écotoxicologiques des MP

Dans une première expérience, des vers ont été exposés via l'eau (96 h) puis le sédiment (96 h et 10 jours) à un mélange de MP composé de 50 % de PE et 50 % de PP et préparés à partir de macroplastiques broyés, à 0, 10 et 100 µg/l ou 0, 10 et 50 mg/kg (protocole standardisé ASTM 2013). L'accumulation des particules a été déterminée après 96 h (eau ou sédiment) et 10 jours (sédiment) au niveau des tissus des vers et des sédiments excrétés par les vers. L'impact des MP a été évalué sur la viabilité cellulaire et la phagocytose en cytométrie en flux ainsi que l'activité de deux enzymes liées au système immunitaire : la phosphatase acide (AcP) et la phénoloxydase, après les 10 jours d'exposition aux MP. Les résultats de l'exposition via la colonne d'eau font apparaître une grande disparité de contamination entre individus avec en moyenne $0,7 \pm 14$ et $9,6 \pm 28,1$ MP par ver chez les vers exposés à 10 et 100 µg/l (50 % PE et 50 % PP) respectivement. Il faut également noter une quantité importante de particules piégées à la surface du corps du ver, notamment dans le mucus qui est davantage sécrété en cas de stress (Figure 40).

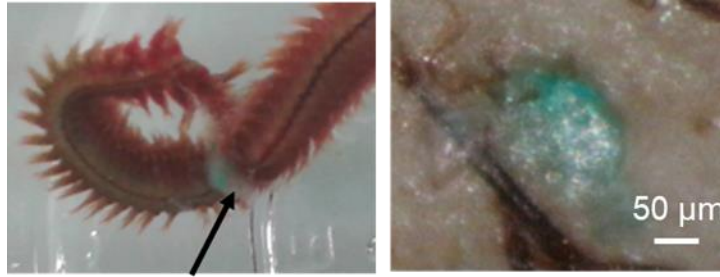


Figure 40 : Photographie d'un ver avec du mucus contenant des particules en PP (à gauche) et une particule de PP observée sur filtre après digestion des tissus de vers (à droite).

Alors que la moitié des vers a été utilisée pour évaluer l'accumulation des MP, l'autre moitié des vers a été exposée à de l'eau propre pendant 24 h pour évaluer la capacité des vers à éliminer les MP. Une moyenne de $0,1 \pm 0,4$ et de $1,1 \pm 4,9$ MP/ver a été comptabilisée chez les vers exposés à $10 \mu\text{g/l}$ et $100 \mu\text{g/l}$ respectivement. D'après ces résultats, cette étape permettrait donc d'éliminer 86 % à 89 % des MP ingérés. Dans la seconde exposition via le sédiment nous avons observé moins de particules de plastiques dans les tissus et dans le sédiment et plus de particules chez les organismes exposés pendant 96 h par rapport à ceux exposés pendant 10 jours (Revel et al., 2020). Cela indique que les vers seraient capables d'éliminer efficacement les particules. Néanmoins, la limite de détection des appareils ne nous permettant pas d'identifier l'accumulation potentielle de MP $< 20 \mu\text{m}$ et de nanoplastiques dans les tissus des vers.

Nous avons également mesuré l'impact de l'exposition aux MP après 10 jours d'exposition sur la viabilité cellulaire et la phagocytose à l'aide de la technique de cytométrie en flux et l'activité de deux enzymes liées au système immunitaire : la phosphatase acide et la phénoloxydase (Figure 41). Alors qu'une baisse de la viabilité a été observé au niveau des coelomocytes des vers exposés à 10 et 50 mg/l, une augmentation de l'activité phagocytaire et diminution des activités enzymatiques mais non significatives ont été observées.



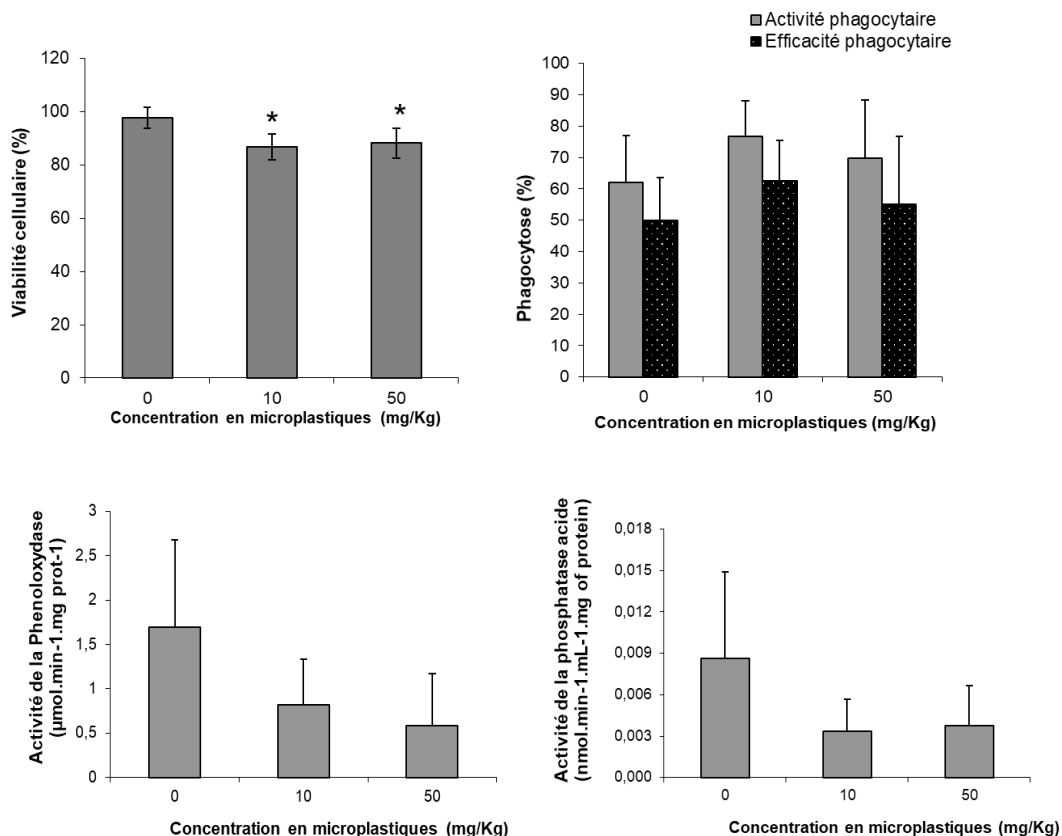


Figure 41 : Viabilité cellulaire, phagocytose et activité enzymatique de l'acide phosphatase et de la phénoloxydase, au niveau des cellules immunitaires des vers après 10 jours d'exposition au mélange de MP (polyéthylène et polypropylène) à 0, 10 ou 50 mg/kg de sédiment (moyenne + ET).

*Le signe * signifie qu'il y a une différence significative avec $p < 0,01$.*

Ces travaux ont permis de mettre en évidence une élimination rapide des microbilles ingérées avec un nombre plus important de microbilles accumulées lors d'une exposition via l'eau par rapport au sédiment. Il a été observé une diminution de la viabilité cellulaire des coelomocytes lorsque les vers étaient exposés à de l'eau contaminée avec des MP de PE et PP (50/50) mais pas d'effets sur les paramètres immunitaires. Par ailleurs, très peu d'effets toxiques ont été observés lors des expositions courtes à des concentrations moyennes à hautes par rapport à l'environnement.



3 Etude du transfert et des effets chez *Eurytemora affinis*

Au niveau de la colonne d'eau, le choix du modèle biologique *Eurytemora affinis* se justifie par son importance au niveau de l'écologie des milieux estuariens et plus généralement par l'importance de sa position centrale au niveau de la chaîne trophique. De plus, plusieurs travaux dans la littérature ont confirmé que les copépodes sont capables d'ingérer des fragments de MP de petites tailles (< 20 µm). Enfin, les connaissances acquises sur ce modèle biologique dans le cadre des travaux Seine-Aval et d'autres programmes associés nous offrent un avantage opérationnel pour réaliser une exposition à long-terme sur cette espèce. Plus particulièrement, la présence d'une culture de ce copépode au laboratoire permet d'avoir un matériel biologique standard pour évaluer les effets des MP. Pour cela, nous avons opté pour l'utilisation du protocole multi-génération mis au point dans le cadre de précédents projets Seine-Aval (A Souissi et al., 2016; A. Souissi et al., 2016) afin de réaliser une exposition complète et identifier d'une façon intégrée les effets de deux concentrations réalistes de MP sur le déroulement du cycle de vie de cette espèce. Le suivi s'est déroulé sur 3 générations en utilisant des concentrations de 3 et 300 µg/l représentatives du milieu naturel et très en dessous des concentrations utilisées dans les travaux expérimentaux sur les copépodes, que de plus, utilisent souvent des microbilles plastiques industrielles, fluorescente et souvent d'un seul polymère.

3.1 Etude du transfert et de l'accumulation des MP

Malgré l'acquisition au laboratoire LOG d'un microscope Raman, l'identification des MP ingérés par les copépodes s'est avérée dans ce projet une tâche extrêmement difficile. Nous avons déployé des efforts considérables pour aboutir à une méthode fiable de digestion des tissus des copépodes et surtout de leur cuticule qui émet un signal en µ-Raman. Mais à ce jour la détection de particules inférieures à 15 µm s'avère techniquement difficile. Nous travaillons sur la résolution de ce défi technique pour quantifier les MP de très petites tailles souvent très non analysés dans les études *in situ*.

Afin de tenter d'identifier les MP nous avons exposé les stades adultes d'*Eurytemora affinis* pendant 24 h au mélange 1 de MP de Seine (colonne d'eau) tamisé à 50 µm. Nous avons par la suite utilisé le protocole mis au point par notre équipe pour observer des MP en utilisant une coloration au rouge de Nile et une observation en microscopie à fluorescence. La figure 42 montre qu'on distingue bien le PE, PS, PP marqués et à l'intérieur du tube digestif des copépodes adultes. Ceci confirme que l'ingestion des MP *in situ* est possible et nous avons estimé le pourcentage d'individus contenant des MP dans leur tube digestif à 20 %. Ce même pourcentage d'ingestion de MP par *E. affinis* a été observé en utilisant d'autres MP industriels de type microbilles de PS ou des fragments de PE de petites tailles. Mais nous pouvons confirmer que l'ingestion de MP utilisés dans ce projet est possible et leur présence dans les fèces a été également démontrée (Figure 42). Par conséquent nous pouvons émettre l'hypothèse que les stades adultes de plus grande taille peuvent ingérer les MP.

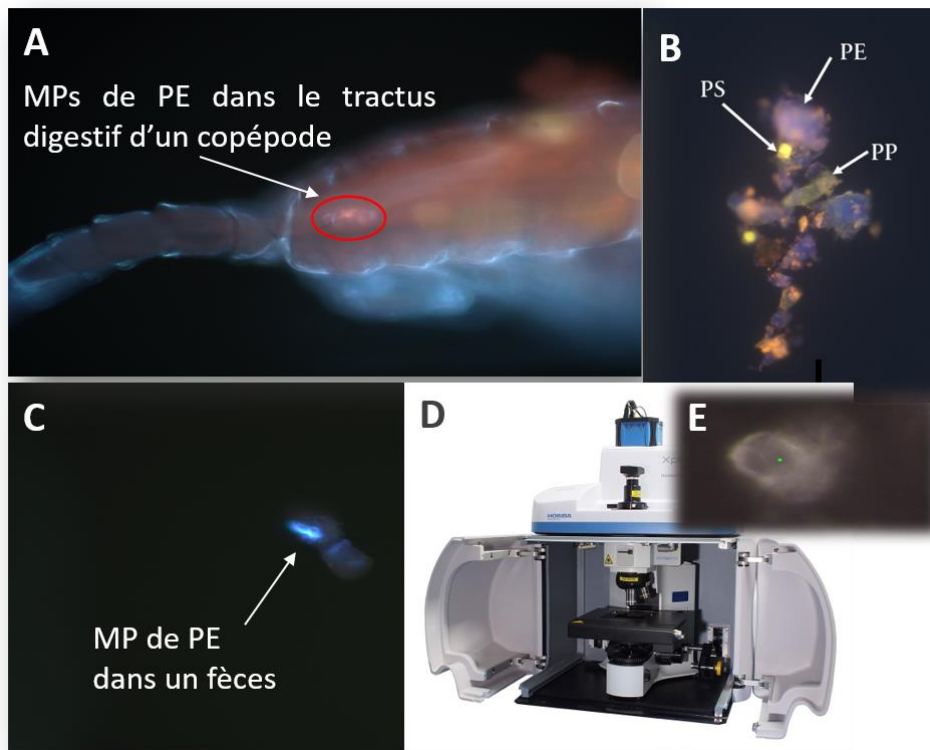


Figure 42 : Mise en évidence de l'ingestion de MP in-situ chez *Eurytemora affinis* après 24 h d'exposition à une concentration de 300 µg/l. Photo prise au microscope à fluorescence (objectif x10, filtre DAPI : 355-394 nm). B Fragments de MP in-situ de l'estuaire de la seine observés au microscope à fluorescence (objectif x20, filtre DAPI) après coloration au Red Nile. Composition de l'échantillon : PE, PS, PP. C : Mise en évidence de MP de PE dans une fèces de copépodes. D : Microscopie Raman acquies récemment au LOG et utilisé pour confirmer la nature des MP identifiés par coloration. E : le laser du Raman qui pointe vers une particule de MP

3.2 Etude des effets écotoxiques des MP

3.2.1 Démarche scientifique et protocole d'exposition et d'analyse

La fraction < 50 µm du mélange 1 (colonne d'eau) a été utilisée pour cette exposition. En utilisant les résultats de la granulométrie laser, nous pouvons estimer qu'entre 10 et 20% des particules ont une taille < 20 µm et donc potentiellement accessibles aux copépodes.

Nous avons émis l'hypothèse que ce cocktail de MP peut engendrer des effets sur les copépodes de trois natures différentes : i) un effet direct de toxicité via l'ingestion et ceci au moins chez les stades adultes, ii) un effet indirect via la diminution de l'ingestion en faisant une compétition avec les micro-algues en suspension et iii) un effet toxique indirect via le relargage de polluants dans le milieu d'exposition.

Compte tenu de la multiplicité des stades de développement des copépodes (12 au total), nous avons exposé tout le cycle de vie d'*E. affinis* durant 3 générations. Le protocole d'exposition est similaire à celui développé précédemment (A Souissi et al., 2016; Souissi et al., 2010). Nous avons utilisé au total 12 béchers de 2 L contenant chacun 1,8 litres d'eau de mer stérilisée (passage à l'autoclave) ajustée à la salinité de 15. Ceci correspond à 4 répliques pour chaque

traitement : témoin (sans MP), une exposition à une faible concentration de 3 µg/L et une exposition à la plus forte concentration de 300 µg/L. La concentration à 300 µg/L a été choisie car c'est la valeur haute de MP (< 5 mm) que l'on retrouve dans le gire subtropical du Pacific Nord (Goldstein et al., 2012). Cette concentration bien que très élevée peut donc être considérée comme réaliste d'un point de vue environnementale. Concernant les MP de taille inférieure à 20 µm, Il existe actuellement très peu de données disponibles dans la littérature.

La figure 43 représente un schéma synthétique des différentes étapes du protocole utilisé pour réaliser un suivi d'une génération.

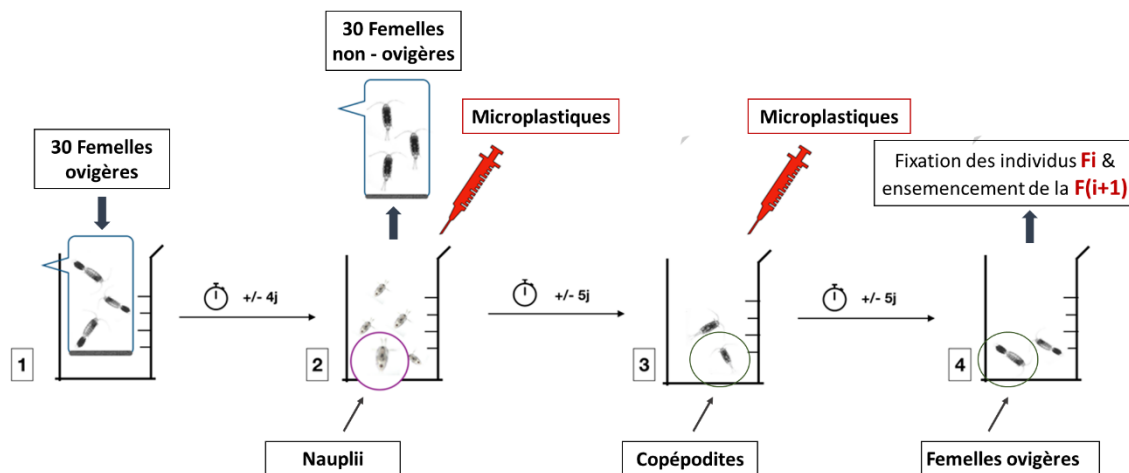


Figure 43 : Schéma du déroulement de l'expérience en cohorte, selon 4 étapes

La première étape représente l'isolation des femelles ovigères, la deuxième étape consiste à exposer les nauplii à un contaminant (dans notre cas 2 concentrations de MP), la troisième étape consiste à exposer les copépodites au même contaminant et la dernière étape consiste à fixer la population finale pour le comptage des différents stades de développement et la réalisation des mesures morphométriques sur les femelles ovigères. A la fin de la première génération ce même protocole est utilisé pour suivre la 2^{ème} génération et ainsi de suite.

Dans chaque bécher 30 femelles ovigères sont placées, les béchers sont munis de pondeurs avec une maille de 200 µm afin de pouvoir récupérer les femelles ovigères après leurs pontes (Figure 43, étape 1). Les béchers sont placés dans une salle thermostatée maintenues à une température de 18°C, avec la présence de bullage, les copépodes sont nourris tous les 2 jours (Devreker et al., 2009) avec 10 mL de la microalgue rouge *Rhodomonas sp* pour chaque bécher. Le fait de nourrir les copépodes abondamment permet d'avoir un meilleur développement. Après éclosion des œufs, les pondeurs sont retirés. Le temps de développement embryonnaire est d'environ 3 jours. Après 3 jours il ne reste plus que les nauplii dans le bécher d'origine (Figure 43, étape 2). C'est à cet instant que les MP sont injectés dans les béchers. Lorsque les nauplii atteignent le stade copépodite (Figure 43, étape 3), l'eau des béchers est changée, avec de l'eau neuve à salinité 15 contenant les différentes concentrations de MP. Lorsque les individus atteignent le stade adulte nous recommençons l'expérience. Pour cela nous prélevons 30 nouvelles femelles ovigères que l'on replace dans chaque bécher à salinité 15 avec les pondeurs. Ainsi la génération 2 est lancée et on réalise le même protocole que pour la génération 1. Après la génération 2 une troisième génération est lancée. Pour chaque population fixée un comptage exhaustif des stades

de développement est réalisé selon les groupes suivants : nauplii (N1-N6), copépodites (C1-C4), pré-adultes (C5 male et C5 femelles) et adultes (males, femelles et femelles ovigères). En plus 20 femelles ovigères sont isolées dans chaque population pour réaliser des mesures de taille et estimer la fécondité. Le logiciel Matlab (Mathworks, Inc.) a été utilisé pour le traitement des données, la réalisation des figures et les analyses statistiques. Afin de comparer les effets 'traitement', 'génération' et de leur interaction ('traitement x génération') une analyse de variance multiple (n-way ANOVA) a été utilisée. En cas de détection d'au moins un seul facteur significatif, un test de comparaison multiple MULTCOMPARE a été utilisé.

3.2.2 Principaux résultats obtenus

La figure 44 montre la variation de l'abondance moyenne de la population produite au cours de chaque génération. Globalement les facteurs 'traitement' et 'génération' ainsi que leur interaction sont significatifs avec $p < 0,01$. En se focalisant que sur l'effet 'traitement', un gradient net de l'effet de la concentration de MP apparaît avec un nombre d'individus produit par le témoin supérieur à celui obtenu pour la concentration de 3 $\mu\text{g/L}$, lui-même supérieur à celui de concentration de 300 $\mu\text{g/L}$. Seule la différence entre le témoin et la plus forte concentration est significative.

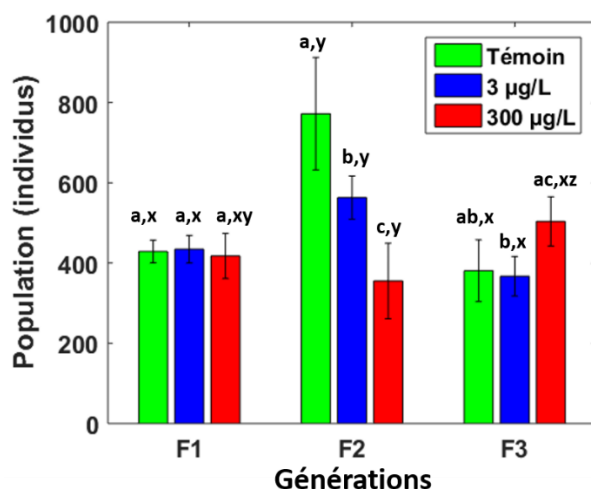


Figure 44 : Variations du nombre moyen de la population produite au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau

Seuls les stades copépodites et adultes produits au cours de la même génération ont été considérés (nauplii indiquant le début de la génération suivante sont exclus). Chaque barre correspond à la valeur moyenne sur 4 répliques et la barre d'erreur correspond à l'écart-type. Les lettres a, b et c indiquent les différences significatives entre les traitements pour une même génération. Les lettres x, y et z indiquent les différences significatives entre les générations pour un même traitement.

Au début de l'expérimentation les 12 béciers ont été initiés avec des femelles ovigères appartenant au même stock homogène provenant de la culture en masse. Nous avons prélevé 50 femelles ovigères du même stock de culture pour estimer la fécondité qui a été en moyenne de 25,06 œufs/femelles. Par conséquent, la première génération qui représente également une étape d'acclimatation de la population dans des béciers de 2 L et aux différentes expositions donne quasiment le même nombre d'individus produits. Mais l'impact des MP est nettement

visible à la 2^{ème} génération, qui intègre les effets d'acclimatation aux mêmes conditions expérimentales durant la F1. Par exemple, le nombre d'individus produits dans les béciers témoins est le double de celui obtenu dans les béciers exposés à la concentration de 300 µg/l (Figure 45). Quant à la 3^{ème} génération, le nombre d'individus produits se stabilise et ceci est en lien avec la forte plasticité de ce copépode mais aussi des effets de la densité comme nous allons détailler plus loin. Au niveau statistiques tous les facteurs testés globalement sont significatifs ($p < 0,01$) mais au niveau « traitement » seule la différence entre témoin et 300 µg/l est significative.

La figure 45 montre l'évolution de la structure de la population en considérant les stades de développement. Nous constatons un retard du développement au niveau du traitement 300 µg/l qui s'est manifesté par un plus grand nombre d'individus aux stades juvéniles C1-C4 (figure 45A), mais également les stades C5 (figure 45BC). Ce retard de développement est nettement visible au niveau de la F3. Toutefois, la différence statistique n'est significative que pour le stade C1-C4 et qu'entre la forte concentration et le témoin ou la faible concentration.

En revanche au niveau des stades adultes la tendance s'inverse en favorisant le témoin avec parfois des gradients nets en fonction de la concentration comme pour les adultes males (Figure 45D). Ce stade est un très bon indicateur car les différences statistiques entre les 3 conditions expérimentales sont hautement significatives ($p < 10^{-5}$). Au niveau des femelles non-ovigères (Figure 45E) et ovigères (Figure 45F) la différence n'est significative qu'entre le témoin et la concentration 300 µg/l. En revanche, la différence observée 3 et 300 µg/l n'est pas significative.

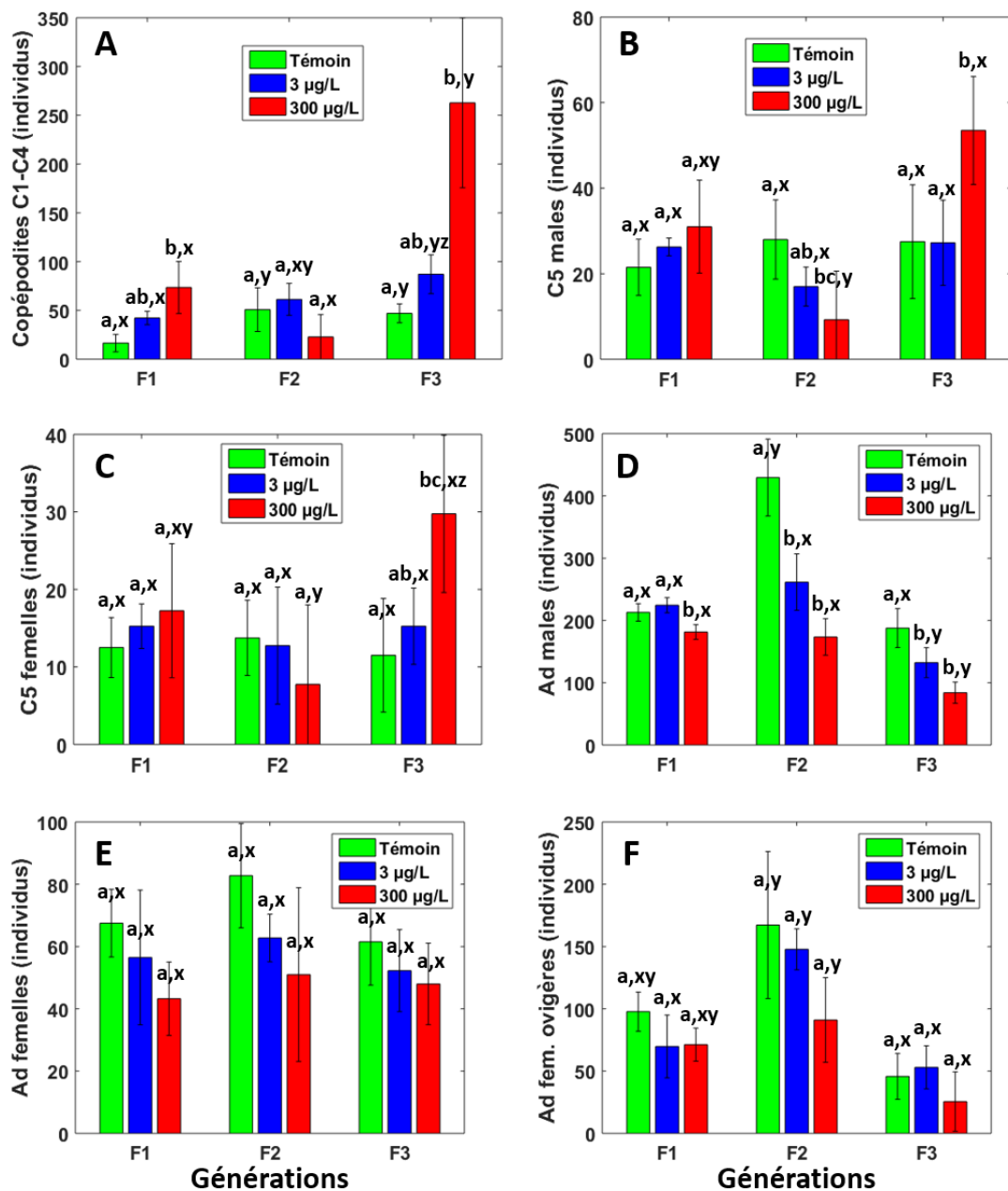


Figure 45 : Variations du nombre moyen de chaque stade de développement produit au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau. A: copépodites C1-C4 (juvéniles), B: pré-adultes mâles (C5 mâles), C: pré-adultes femelles (C5 femelles), D: adultes mâles, E: femelles non-ovigères (sans sac d'œufs) et F: femelles ovigères (porteuses de sacs d'œufs).

Chaque barre correspond à la valeur moyenne sur 4 réplicas et la barre d'erreur correspond à l'écart-type. Les lettres a, b et c indiquent les différences significatives entre les traitements pour une même génération. Les lettres x, y et z indiquent les différences significatives entre les générations pour un même traitement.

En analysant le sex-ratio exprimé en pourcentage d'adultes mâles (figure 46A), seule l'interaction 'traitement' x 'génération' est significative ($p < 0,01$) et ceci malgré que l'effet traitement est proche du seuil de significativité ($p = 0,0565$). Le test MULTCOMPARE montre la présence d'un gradient

du pourcentage de mâles qui diminue avec l'augmentation de la concentration de MP mais que seule la différence entre le témoin et la concentration de 300 µg/L est significative. En général, le sex-ratio de la population d'*Eurytemora affinis* de la Seine est en faveur des mâles. En revanche, le pourcentage de stades juvéniles (copépodites) présenté dans la figure 46B est un excellent indicateur des effets du retard du développement. Cet indice discrimine statistiquement entre les 3 conditions expérimentales et confirme la significativité du gradient croissant en fonction de la concentration en MP.

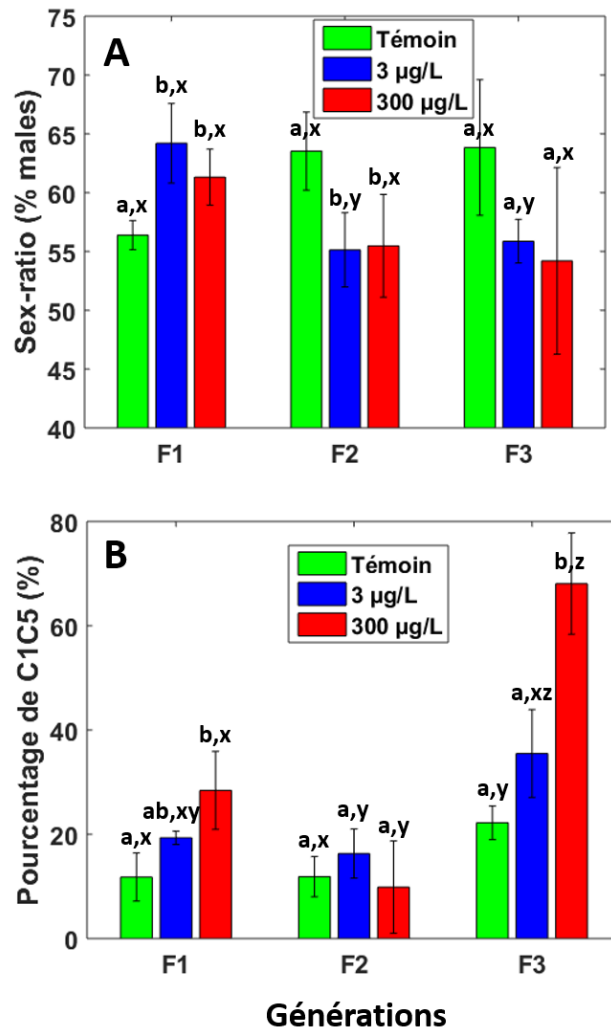


Figure 46 : Sex-ratio moyen exprimé en pourcentage d'adultes mâles au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau et pourcentage de juvéniles (copépodites) dans la population finale en fonction des traitements et des générations.

Chaque barre correspond à la valeur moyenne sur 4 réplicas et la barre d'erreur correspond à l'écart-type.

Afin de standardiser les données des individus produits au cours de chaque génération, nous avons calculé la mortalité observée dans chaque béccher. La figure 47 montre que la mortalité est

quasiment identique au cours de la première génération F1 qui est une acclimatation aux nouvelles conditions expérimentales. En revanche, au cours des générations F2 et F3 le gradient de mortalité est net et il augmente en fonction de la concentration en MP. De point de vue statistique seule la mortalité induite par concentration de 300 µg/l est significativement supérieure aux deux autres conditions.

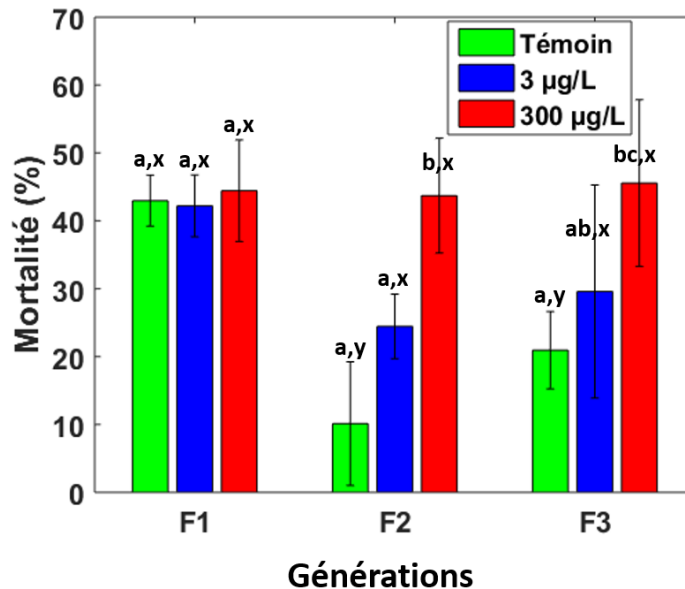


Figure 47 : Variations de la mortalité (exprimée en pourcentage d'individus sur une génération) au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau

La fécondité moyenne des femelles ovigères obtenues dans une génération i (ou bien à partir de la culture en masse pour lancer la première génération) a été multiplié par 30 (nombre de femelles incubées) pour obtenir une production théorique correspondant à une mortalité nulle et utilisée avec les comptages réels pour calculer la mortalité dans chaque béccher. Chaque barre correspond à la valeur moyenne sur 4 réplicas et la barre d'erreur correspond à l'écart-type. Les lettres a, b et c indiquent les différences significatives entre les traitements pour une même génération. Les lettres x et y indiquent les différences significatives entre les générations pour un même traitement.

Afin de présenter des indicateurs à l'échelle individuelle nous avons ciblé le stade femelle oviogère pour estimer la fécondité et la taille de la femelle. La figure 49 montre la variation de la taille du prosome ainsi que la fécondité moyenne au cours des générations. Pour ces deux traits qui sont fortement corrélés, l'analyse globale de l'ANOVA multiple confirme que seul le facteur 'génération' ainsi que l'interaction 'traitement x génération' sont très significatifs ($p < 0,01$). Par conséquent, l'effet de la concentration en MP nettement observée au niveau de la mortalité estimée à l'échelle de la population n'est pas observé au niveau des traits de vie individuels comme la fécondité. Néanmoins, nous pouvons constater qu'au cours de la F1 où les 12 bécchers ont été initiés avec des femelles ovigères homogènes ce qui a donné un nombre d'individus homogène, la fécondité moyenne diminue (Figure 48A). Ceci confirme que les MP ont affecté la condition des femelles ovigères qui ont alloué moins d'énergie vers la reproduction pour lutter contre le stress induit par la présence de MP même en quantité très faible. Au cours de la F2, nous avons l'impression que le pattern de la variation de la taille des femelles et de leur fécondité décrit en F1 s'est inversé. En effet, au cours de la F2 nous assistons à un effet densité-dépendant connu chez cette espèce, car la très forte mortalité observée à la génération F2 pour la



concentration de 300 µg/L a engendré la production d'un nombre faible de descendants (~la moitié du témoin) et stimulé la fécondité individuelle compte tenu de la forte plasticité de cette espèce.

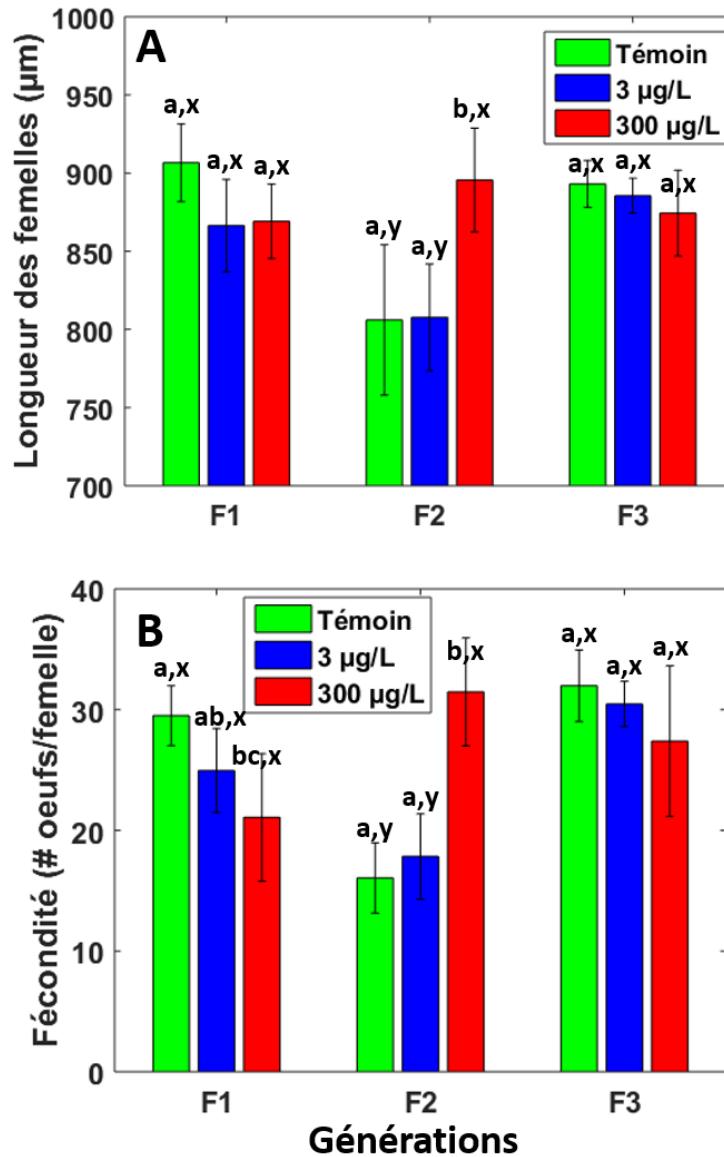


Figure 48 : (A) Variations de la longueur moyenne des femelles (prosoma en µm) au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau. (B) Variations de la fécondité moyenne (nombre moyen d'œufs/femelle ovigère) en fonction des traitements et des générations

Chaque barre correspond à la valeur moyenne sur 4 réplicas et la barre d'erreur correspond à l'écart-type. Pour chaque réplica 20 femelles ovigères ont été sélectionnées au hasard pour estimer la longueur et la fécondité en ouvrant délicatement le sac d'œufs. Les lettres a, b et c indiquent les différences significatives entre les traitements pour une même génération. Les lettres x et y indiquent les différences significatives entre les générations pour un même traitement.



3.3 Conclusions

Le protocole multi-génération mis au point depuis plus de 10 ans a montré son efficacité pour tester les effets des concentrations de MP « environnementaux » retenues par le consortium PLASTIC-Seine. Afin de réduire tout risque expérimental, compte tenu du caractère novateur de l'étude (pas de comparaison possible) et des faibles concentrations en MP sélectionnées, nous avons augmenté nos efforts expérimentaux en ajoutant un 4^{ème} réplica pour chaque traitement et considéré une 3^{ème} génération. En effet, Souissi et al. (2016a) a confirmé que la population d'*E. affinis* de l'estuaire de la Seine est caractérisée par une très grande plasticité phénotypique et que même l'effet d'un très fort choc thermique de +17°C (passage de 7°C à 24°C) n'a pu être observé qu'à partir de la 3^{ème} génération. Ajoutant que souvent la première génération F1 traduit les effets maternels et seules les expositions à des métaux lourds réalisées dans les mêmes conditions ont montré des effets significatifs dès la première génération. La phase de préparation de cette expérience incluant l'acclimatation des copépodes a été longue mais indispensable au bon déroulement des expositions. Les résultats montrent que les effets d'ajout de MP même en concentration très faible de 3 µg/L a pu être démontré notamment au niveau du nombre d'adultes males. Quant à la forte concentration de 300 µg/L les effets sont très nets et souvent statistiquement significatifs. En comparant avec la littérature notre approche contraste avec les études basées sur des expositions expérimentales très courtes, et l'utilisation de microbilles industrielles d'un seul polymère le polystyrène. Seule une étude a exposé le copépode benthique *Tigriopus japonicus* à deux concentrations représentatives du milieu marin (23 µg/L et 230 µg/L) de microbilles de PS de taille de 6 µm (Zhang et al., 2019). Cette étude a consisté à une exposition durant 2 générations (F0 et F1) et une génération (F2) sans ajout de MP (dépuration). Elle a montré que seule la concentration de 230 µg/L a provoqué des effets significatifs sur la survie et la fécondité de l'espèce. Bien que nos deux protocoles de suivi multi-génération soient différents, cette étude récente est importante car elle confirme que même un seul polymère mais de petite taille est susceptible d'engendrer une toxicité chronique. De plus, Zhang et al. (2019) ont complété l'étude par une approche protéomique permettant de confirmer que l'ingestion de microbilles de PS de taille 6 µm s'est manifestée par un stress et forcément un coût énergétique au niveau du métabolisme. Mais l'ajout d'une génération de récupération (sans MP) a permis de montrer la plasticité de ce copépode et un retour à des réponses identiques au témoin. Néanmoins les effets sur le métabolisme ont perduré durant la F2. Ceci confirme que les MP de petites tailles engendrent des effets toxiques chez différents groupes de copépodes. Récemment, une étude a démontré pour la première fois les mécanismes moléculaires liés au stress engendré par l'ingestion de microbilles de polystyrène de tailles différentes (Jeong et al., 2017). Bien que les concentrations utilisées dans cette étude soient a priori plus fortes que les concentrations environnementales, la toxicité à l'échelle cellulaire (infra-individu) de l'ingestion de MP a été bien démontrée. Zhang et al. (2019) ont confirmé que des concentrations environnementales peuvent induire des effets toxiques à ce niveau infra-individuel.



4 Etude du transfert et des effets chez la sole commune *Solea solea*

Ce travail vise à déterminer dans un premier la cinétique de contamination et d'élimination des MP modèles et de MP environnementaux par la sole commune à différents stades de vie. Les poissons ont été acclimatés aux conditions de laboratoire puis exposés pendant une période brève (de quelques heures à 48h) à des MP modèles ou des MP environnementaux avant une période de dépuraton de 24 à 48h pendant laquelle les MP excrétés seront dénombrés. Le taux d'ingestion et d'égestion ainsi que le temps de transit dans le tractus digestif de ces MP ont été déterminés. Dans un deuxième temps, ce travail avait pour but d'évaluer les effets délétères d'une exposition à des mélanges environnementaux de MP sur la survie, le comportement et les grandes fonctions physiologiques des trois espèces sélectionnées. Les animaux ont été acclimatés aux conditions de laboratoire et exposés pendant plusieurs jours (conditions à définir ultérieurement) à un milieu et/ou des proies enrichies en MP.

4.1 Etude de la cinétique d'ingestion et d'égestion des MP

Des larves et des juvéniles de soles ont été nourris pendant 24 h aux différents polymères de plastiques environnementaux collectés en estuaire de Seine et cryobroyés. Les résultats obtenus font apparaître que l'ingestion est très rapide (≤ 2 h) indépendamment du stade ou de la nature des MP et l'égestion s'opère en moins de 30 h sauf pour les particules PVC de plus gran tailles (Figure 49). L'égestion semble plus rapide après la métamorphose.

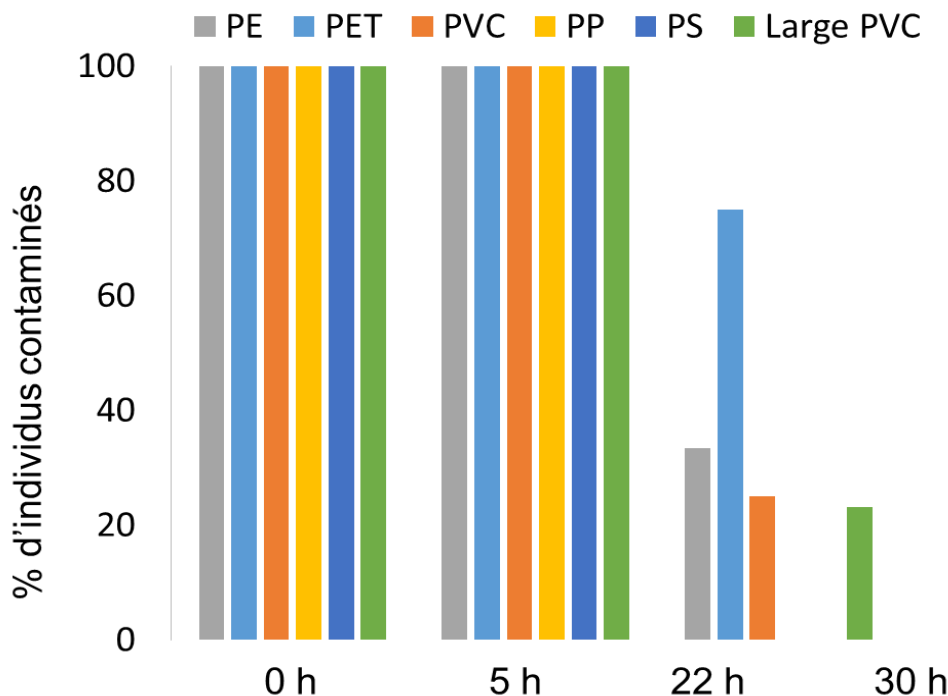


Figure 49 : Cinétique d'égestion de MP par les larves de soles (heure post-contamination)



4.2 Etude du transfert trophique et des effets écotoxicologiques induits

Des juvéniles de sole ont été nourris avec des vers (*Hediste diversicolor*) préalablement exposés aux MP via le sédiment. Les vers ont été cultivés pendant 96 h dans des sédiments propres sans dopage ou avec 1 ou 100 mg de MP par kg de sédiment (mélange 2 de MP tamisés à 100 µm). La contamination des vers a été vérifiée au laboratoire en analysant le contenu en MP des vers (tissus et sédiments dépurés ensemble) après une digestion de 18 à 19 vers par condition, filtration et observation au microscope optique. Aucune particule n'a été identifiée dans les témoins et une moyenne de $0,242 \pm 0,348$ et $0,875 \pm 1,05$ MP/ver a été relevée dans les vers exposés à 1 et 100 mg MP/kg respectivement (Tableau 22). Ces valeurs sont dans la gamme de concentrations des particules mesurées dans les vers de la radiale 3/5 (Tableau 6) et sont légèrement inférieures à celles mesurées pour les vers de la radiale 8 (Tableau 7) dans la vasière nord de l'estuaire de Seine.

Tableau 22 : Concentration en MP dans les vers *H. diversicolor* contaminés via le sédiment à un mélange de MP de l'estuaire de Seine

Concentration MP dans le sédiment (mg/kg)	MP/individu (moyenne ± ET)	MP/g de tissu (moy. ± E T)
0	0	0
1	$0,24 \pm 0,35$	$1,30 \pm 1,34$
100	$0,88 \pm 1,05$	$3,78 \pm 3,15$

La même expérience a été conduite en utilisant des MP d'origine industrielle (PVC 100-250 µm) avec ou sans contamination à deux polluants modèles, le benzo(a)pyrène (BaP, 11,5 µg/g de MP) ou l'oxybenzone (OxyB, 66 ng/g de MP). Les vers ont été cultivés pendant 96 h avec un sédiment contenant 1g/kg de particules plastiques.

Plusieurs marqueurs d'état de santé tels que la survie, la croissance, le comportement, le métabolisme énergétique, le système immunitaire et le système digestif ont été étudiés. Chez les individus ayant consommé des vers exposés à des MP industriels ou environnementaux, une modification significative de comportement (préférence entre fond noir ou blanc) a été mise en évidence pour les individus exposés à la concentration la plus haute de MP environnementaux et les MP industriels enrobés de BaP ou à l'OxyB (Figure 50). Ces observations sont indicatrices d'un stress physiologique. L'exposition aux MP environnementaux n'a en revanche pas mis en évidence de modifications au niveau des réserves énergétiques (concentration en glycogène et en lipides), du taux de peroxydation lipidique (TBARS), du taux de dommages à l'ADN (test des comètes) et de l'activité de la CYP1A (dosage EROD). L'exposition aux MP industriels n'a également pas montré de modifications biochimiques ou d'expression de gènes à l'exception de l'induction de dommages à l'ADN pour les MP contaminés à l'oxyB.



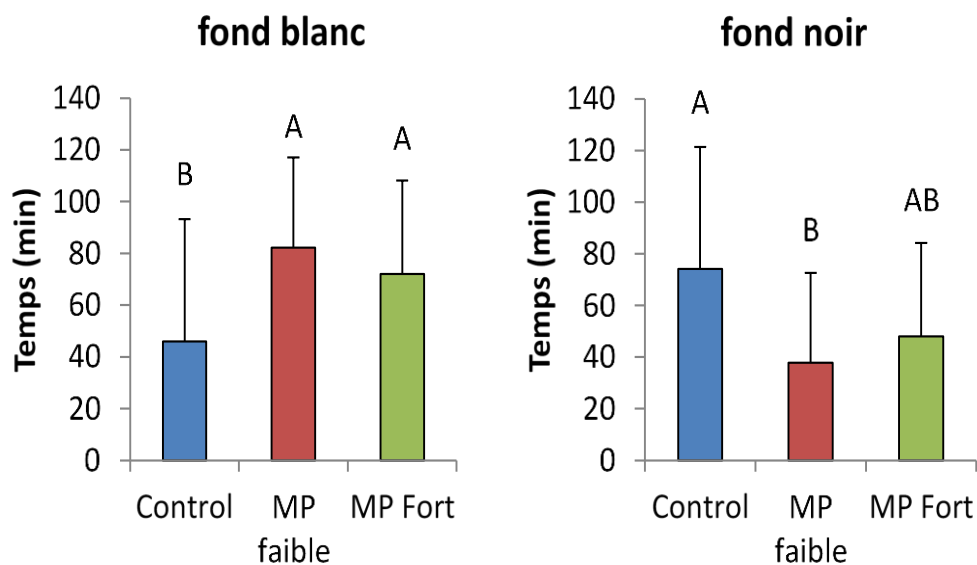


Figure 50 : Temps passé par les juvéniles de soles sur fond noir ou fond blanc après avoir été nourries avec des vers contaminés avec deux concentrations de MP de Seine (mélange 2 à 1 et 100 mg MP/kg).

Afin de compléter ces observations sur les effets d'une exposition via la chaîne alimentaire, des larves de sole juste écloses ont été exposées pendant 1 mois à des copépodes (*Acartia tonsa*) ou à des artémias (*Artemia salina*) ayant eux-mêmes été exposés à des MP industriels (10-13 μm), vierges ou contaminés au BaP (16,9 $\mu\text{g/g}$ de MP) ou à l'oxybenzone (82 ng/g de MP). Les résultats montrent une modification dans la cinétique du développement des larves avant métamorphose (Figure 51) avec un ralentissement du développement chez les larves exposées au MP-BaP ainsi qu'une modification du comportement natatoire avec notamment une réduction de la distance moyenne parcourue après exposition. Une seconde expérimentation devait être conduite au printemps 2020 mais a dû être annulée suite à la crise sanitaire.



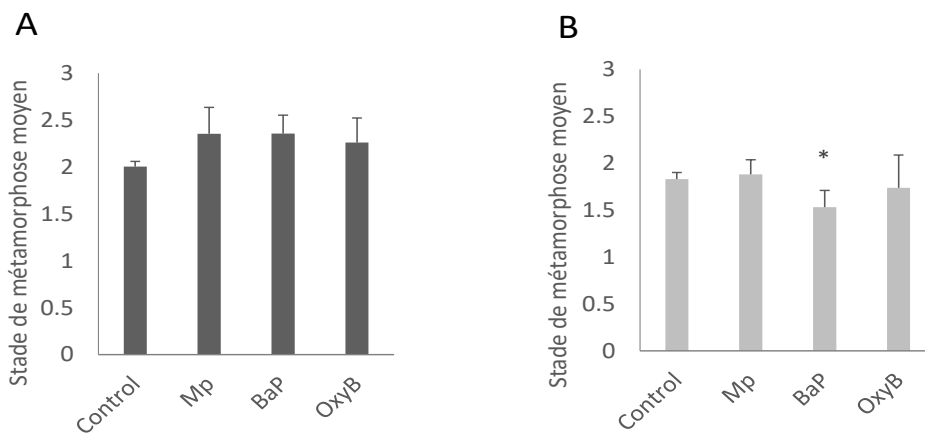
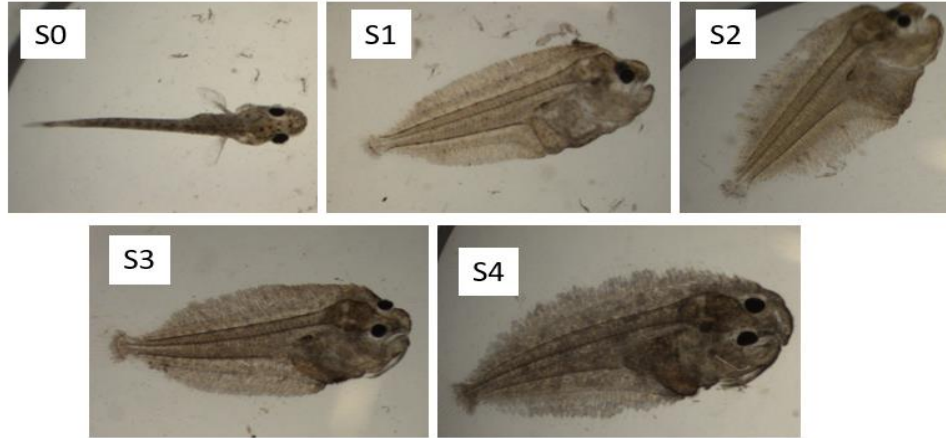


Figure 51 : Stade de métamorphose moyen (moyenne \pm ET) observé à la fin de l'exposition des larves de sole à des microplastiques industriels vierges ou dopés avec du BaP ou de l'oxybenzone via des artémias (A) ou des copépodes (B)

4.3 Conclusions

Ces travaux menés sur la sole commune ont montré une ingestion très rapide des MP quelle que soit leur nature et une égestion plus lente qui s'effectue dans les 30 heures. Il a été aussi démontré un transfert trophique des MP entre proies et prédateurs et des effets subléthaux sur les animaux exposés, notamment sur les réponses comportementales (choix de couleur de fond, activité locomotrice). Il serait intéressant de poursuivre les travaux sur les larves de sole dont nous maîtrisons l'élevage en microplaque afin d'explorer plus avant les effets des microfibrilles plastiques sur le développement et le comportement des larves sachant que les larves pélagiques évoluent dans la couche de surface de la colonne d'eau et sont donc très exposées aux MP de faible densité (Gove et al., 2019).

CONCLUSION

Le projet PLASTIC-Seine visait à dresser un premier état des lieux de la contamination microplastiques dans l'estuaire de Seine à la fois pour les compartiments abiotiques et six espèces emblématiques de l'estuaire de Seine. Si le projet a permis de donner des premiers éléments de contamination des matrices abiotiques, compte tenu du nombre limité d'échantillons et de la forte variabilité rencontrée, les flux transitant au sein de l'estuaire n'ont pas été évalués. PLASTIC-Seine visait ensuite à évaluer en condition de laboratoire le taux d'ingestion et la cinétique d'ingestion et d'égestion ainsi que les effets délétères possibles des microplastiques sur trois espèces représentatives de l'estuaire de Seine, le ver *H. diversicolor*, le copépode *E. affinis* et la sole commune *S. solea*.

Quelle est la typologie des MP et les concentrations rencontrées en Seine ?

Sur l'axe Seine, tous échantillons confondus, les concentrations moyennes et médianes en MP ont été respectivement estimées à 6,1 et 4,0 MP.m⁻³, avec une prédominance des particules < 500 µm. Deux typologies de particules ont été retrouvées, à savoir les fragments, de forme irrégulière, et les microbilles dont la géométrie se rapproche d'une sphère. Les concentrations en fragments varient entre 0,2 et 14,9 fragments.m⁻³ (min-max). Pour les microbilles, les concentrations sont en moyenne égales à 2,3 microbilles.m⁻³, mais peuvent atteindre des concentrations jusqu'à 24,8 microbilles.m⁻³. Ces niveaux apparaissent dans la fourchette moyenne des estuaires européens mais nettement inférieurs aux valeurs rapportées pour les estuaires chinois, considérés généralement comme les plus pollués. Ces concentrations sont aussi globalement comparables à ce qui est observé sur la partie amont du bassin de la Seine. Pour quelques campagnes, un comptage des fibres totales, ce qui inclut les fibres synthétiques et non synthétiques, a été réalisé. Ces concentrations varient entre 0,2 et 6,6 fibres totales.m⁻³. En lien avec la tâche 2 du projet qui s'est concentrée sur le biote, une part majoritaire serait cellulosique, cad non synthétique (de l'ordre de 90 %) alors que les fibres synthétiques représenteraient de l'ordre de 10 %. De manière générale, excepté sur le site de Vieux-Port où l'on observe des concentrations très importantes de microbilles de PS, les MP correspondent soit à du PE soit à du PP. En moyenne, 40 % des MP sont en PE et 21 % en PP sont observés. Ces deux polymères sont les plus abondamment retrouvés dans les études environnementales portant sur les eaux douces et représentent à eux deux entre 44 et 86 % des MP totaux. D'autres polymères, comme le PET, le PMMA, le PA, l'ABS, le PVC ou le PUR ou des copolymères ne sont que très ponctuellement détectés. Bien que l'on dispose que d'un nombre limité de campagnes, l'analyse de nos résultats sur le seul site de la Bouille, site en dehors de l'intrusion saline, semble mettre en exergue l'augmentation des concentrations de MP en fonction du débit. Cette tendance a été observée sur la partie amont du bassin de la Seine ou pour d'autres rivières. Cette tendance pourrait être liée à plusieurs phénomènes dont la remise en suspension des sédiments fluviaux lors des périodes de hautes eaux, les sédiments étant fortement contaminés par les MP.



Quelle est la distribution de microplastiques entre surface et subsurface ?

Les concentrations en MP en surface (15 premiers cm) sont quasi-systématiquement supérieures aux concentrations relevées en subsurface (50 premiers cm). Les concentrations des eaux de surface sont en moyenne de 5 à 6 fois supérieures à celles des eaux de subsurface. Dans la littérature, le positionnement exact du filet par rapport à la surface de l'eau n'est jamais clairement précisé et ces résultats démontrent clairement qu'il est important suite à l'accumulation importante de MP dans la microcouche. Qualitativement, les eaux de surface et de subsurface ne se démarquent pas et présentent des distributions de tailles similaires.

Existe-t-il un gradient de concentration en MP le long du gradient salin de l'estuaire de la Seine ?

Au cours des quatre campagnes, un profil similaire est observé le long du gradient salin avec des concentrations les plus importantes observées à Vieux-Port et des concentrations plus faibles mais équivalentes entre le site de la Bouille et celui de la Roque. Ce profil pourrait découler de la combinaison de deux phénomènes distincts que sont 1) l'intrusion saline et les conséquences associées et 2) les zones d'accumulation de macrodéchets dans le secteur de Vieux-Port. D'une part, l'étude de la littérature souligne une accumulation de débris plastiques (macro ou MP) dans la zone de l'intrusion saline. D'autre part, le secteur entre la Bouille et Vieux-Port est un secteur avec de nombreux méandres, propices à l'échouage de macrodéchets et de nombreuses zones d'accumulation ont été recensées. Ces déchets étant soumis à des conditions extrêmement favorables de fragmentation en étant exposés aux UV et à l'activité de la pédofaune et pédoflore du sol, des apports importants en MP le long du secteur est possible. Une diminution des concentrations entre Vieux-Port et la Roque est aussi systématiquement observée. Cette diminution est plus ou moins prononcée et varie pour les eaux de surface entre un facteur 2 à 5. Cette diminution pourrait être la résultante des mélanges entre les eaux douces et les eaux marines et/ou de la formation du bouchon vaseux entre Vieux-Port et la Roque conduisant à un piégeage important des matières en suspension (MES) et des MP.

Quelles sont les évolutions des concentrations au cours du cycle de marée ?

L'étude de deux cycles de marée à la Roque a permis de mettre en évidence des forts gradients de concentrations entre le fond et la surface et des évolutions au cours du cycle de marée, mais la densité des observations n'est à ce jour pas suffisante pour dégager des processus particuliers. Il semble néanmoins que les processus d'érosion des sédiments et de sédimentations au cours de l'étale auraient un rôle dans la dynamique tidal. Pour l'ensemble des prélèvements effectués en fin d'étale ou en fin de jusant, des concentrations plus importantes ont été observées pour les eaux prélevées au fond (entre 6 et 10 m) et des concentrations plus faibles pour les eaux de surface. Cette tendance est observable pour les fragments et dans une moindre mesure les microbilles, lorsque ces dernières sont détectées. A l'image des MES, ce gradient peut s'expliquer à la fois par une remise en suspension des sédiments de fond riches en MP lors du flot et à leur sédimentation au cours de l'étale. Les concentrations observées à mi-hauteur de la colonne d'eau (entre 4 et 6 m) présentent des comportements intermédiaires, soit proches de ce qui est observé en surface ou au fond, soit entre les deux. Ce comportement pourrait être lié soit à la stratification de la colonne d'eau qui évolue au cours de la marée, soit à la sédimentation des MP au cours de



l'étal et à la remise en suspension d'une partie des sédiments riches en MP. Pour les prélèvements à mi-hauteurs, des études complémentaires s'avèrent nécessaires pour confirmer les tendances observées et préciser les processus hydro-sédimentaire en jeu.

Des évolutions importantes de la distribution de taille des MP à la fois dans le temps (début vs. fin de jusant) mais aussi dans l'espace (surface, mi-hauteur, fond) ont été aussi observées, avec une proportion de MP < 300 µm qui évolue. Au cours du jusant, cette proportion diminue drastiquement pour les trois hauteurs de prélèvement et se stabilise autour de 25 % des MP totaux. Ces évolutions de distributions de taille pourraient être reliées à la dynamique des particules et donc in fine des MP et aux processus de floculation-défloculation qui peuvent se dérouler au sein du bouchon vaseux. Pour les deux cycles de marée, aucune évolution de la distribution des polymères verticalement (surface, mi-hauteur et fond) ou temporellement (début et fin de jusant) n'a été observée. Cette observation indique que les gradients verticaux peuvent générer des gradients de concentrations en MP au sein de la colonne d'eau, mais n'engendrent pas de discrimination de MP d'un point de vue qualitatif. L'ensemble de ces résultats, tant sur les aspects quantitatifs que qualitatifs doivent être confirmés par d'autres campagnes au cours desquelles un suivi plus fin pourrait être mené et pour lesquelles la représentativité des échantillonnages serait plus maîtrisée.

Quel est le niveau de contamination des sédiments par les MP ?

L'analyse des sédiments, quel que soit le site de prélèvement, confirme le rôle majeur joué par le sédiment dans le transfert et le devenir des MP dans les milieux aquatiques. Alors que les niveaux dans les eaux de surface étaient de l'ordre de 1 à 10 fragments, microbilles ou fibres totales par m³ d'eau, les niveaux moyens sont respectivement égaux à 238 fragments, 827 microbilles et 349 fibres totales par kg de sédiments. Ces niveaux sont supérieurs à ceux observés dans l'estuaire de la Loire mais inférieurs aux valeurs rapportées dans la littérature. Les deux triplicats réalisés illustrent la difficulté de travailler avec des sédiments très cohésifs tels que ceux de l'estuaire de la Seine et des prises d'essai limitées (environ 100 g) qui ne permettent pas de limiter l'hétérogénéité de la contamination des sédiments par les MP. De même, une forte variabilité de la distribution de taille à la fois pour un site, mais également le long du continuum Seine, est observée. Ces distributions sont sans aucun doute particulièrement sensibles à l'hétérogénéité des échantillons et à la masse de sédiment considérée. Les MP de petite taille prédominent, et la fraction (50-300 µm) peut atteindre en nombre jusqu'à 80 % des MP totaux. Dans les sédiments, on observe la prédominance du PE, du PP et du PS. Ce dernier polymère peut contribuer significativement, en lien avec les concentrations de microbilles observées. Selon les échantillons, le PS peut en effet contribuer entre 10 et 60 % des polymères totaux. Malgré la forte variabilité de la contamination des sédiments, quelques tendances apparaissent néanmoins. Au regard des particules totales (fragments, microbilles et fibres totales), les sédiments de la Roque semblent les plus contaminés, suivis par les vasières alors que des niveaux comparables sont observés pour la Bouille et Vieux-Port. Cette tendance pourrait trouver une explication dans la présence du bouchon vaseux et de sa dynamique à proximité de la Roque. Ne disposant que d'un nombre limité d'échantillons et face à la variabilité observée, des analyses complémentaires sont requises pour confirmer cette hypothèse.



Est-ce que le réseau trophique de l'estuaire de Seine est contaminé par des MP ?

Ce projet a permis des avancées techniques et scientifiques majeures pour l'analyse des MP dans les matrices biologiques et l'étude des niveaux de contamination et des effets sur des espèces estuariennes. Néanmoins certaines analyses de MP sont toujours en cours dans les copépodes les *E. affinis* et *A. tonsa*. La taille réduite des copépodes et des MP ingérés et la présence d'une cuticule indigestible ont constitué des verrous techniques importants qu'il a fallu lever avant de pouvoir analyser les échantillons collectés en estuaire de Seine. Ces problèmes techniques sont en passe d'être résolus.

Nos travaux ont permis de mettre en évidence la présence de MP dans l'ensemble des espèces prélevées dans l'estuaire de la Seine mais le taux de contamination et le nombre moyen de MP est très variable selon l'espèce et l'individu (Tableau 23). Les plus faibles concentrations de MP sont retrouvées chez les crevettes, les plus fortes sont retrouvées chez les soles G0. Par ailleurs il semblerait que le nombre de MP ingéré augmente avec la taille (l'âge) de l'individu. Une analyse plus fine doit cependant être menée pour préciser les facteurs environnementaux et biologiques qui contrôlent le transfert et le devenir des MP dans le biote.

Les particules isolées sont pour l'essentiel colorées, et les couleurs bleues, rouges et noires représentent la majorité des MP retrouvées dans le tractus digestif des trois espèces de poissons et dans les tissus des vers et des crevettes blanches. Les fibres constituent néanmoins la grande majorité des particules retrouvées dans le biote. Les premières données d'identification en spectroscopie font apparaître que la majorité des fibres sont cellulosiques, ce qui est en accord avec les données de la littérature. Une forte proportion de fibres reste non identifiée. Les fibres synthétiques sont essentiellement constituées de PET mais huit autres polymères ont été identifiés (Tableau 23).

Tableau 23 : Synthèse de la contamination de 6 espèces de l'estuaire de Seine par des MP suspectés

Espèce	% de contamination	Formes majoritaires	Couleurs majoritaires	Gamme de taille (µm)	Polymères majoritaires
<i>H. diversicolor</i>	61	Fibres et fragments	Noire, bleue et rouge	100-4000	PE, PP et PS
<i>P. longirostris</i>	44,5	Fibres	Noire et bleue	100-6000	PS
<i>M. edulis</i>	100	Fibres	Noire	250-500	PE et ASA
<i>P. flesus</i>	70-80	Fibres	Bleue et rouge	< 800	PA, PET et PUR
<i>S. solea</i>	80-98	Fibres	Noire et Bleue	100-5000	PET et PE
<i>D. labrax</i>	60-70	Fibres et fragments	Bleue et rouge	100-2000	PET

PUR : polyuréthane, PA : polyamide, PET : polyéthylène téréphtalate, PP : polypropylène, PE : polyéthylène, PS : polystyrène, ASA : Acrylonitrile styrène acrylate

Les moules de l'estuaire de Seine présentent des niveaux de contaminations en MP présumés supérieurs à ceux de la côte Atlantique française. Par exemple, Phuong et al. (2018) observent



une moyenne de 0,23 MP par gramme de moule de la côte atlantique française (baie d'Aiguillon, Coupelasse et Pen-Bé), ce qui est 5,2 fois plus faible que le nombre de MP relevé dans les moules de cette étude. De même, les taux de contamination sont de 65 % pour des moules sauvages (90 % pour des moules d'élevage) issues de la côte Atlantique, alors que le taux de contamination est de 100 % pour les moules de l'estuaire de Seine. Les niveaux de contamination des soles de l'estuaire de Seine semblent très élevés (28 fibres/g chair humide). Pellini et al. (2017) ont étudié la contamination en MP chez des soles communes (*S. solea*), prélevées en mer Adriatique. Celles-ci présentaient des niveaux de contamination comparables à ceux déterminés pour les soles G0 de l'estuaire de Seine alors que la contamination était 5 fois supérieure pour les soles G1. D'un point de vue qualitatif, la majorité des fibres reste néanmoins des fibres cellulosiques sans que l'on puisse déterminer si la source de contamination est naturelle ou anthropique (textiles). Quoiqu'il en soit les raisons de ces différences de contamination entre ces soles sont probablement plurifactorielles. Premièrement, la sole est un poisson démersal, vivant donc à proximité directe du sédiment. Les MP retrouvés dans le tractus digestif de ces poissons sont vraisemblablement dû à l'ingestion accidentelle de ceux-ci lors de la capture de leurs proies. Concernant le bar, aucune information n'est actuellement disponible dans la littérature sur la contamination du bar européen mais une étude sur un autre poisson prédateur estuarien de l'Atlantique de l'ouest, la Courbine, *Cynoscion acoupa*, rapporte une contamination de plus de 50 % des poissons juvéniles avec principalement des fibres colorées en bleu et une gamme de taille équivalente à celle observée chez le bar européen (Ferreira et al., 2016). Néanmoins aucune information précise n'est rapportée quant à la nature même de ces fibres.

Quelle est la cinétique d'ingestion et d'égestion des MP dans les organismes ?

L'étude de la cinétique de contamination chez le ver *H. diversicolor* et la sole *S. solea* fait apparaître une ingestion efficace et très rapide du MP (< 1-2h) chez ces deux espèces. Le transit digestif et donc l'égestion des MP est plus ou moins long selon l'espèce. Le taux d'ingestion des MP par le ver est fonction du milieu de contamination (eau ou sédiment). L'égestion des particules chez le ver est rapide et intervient au bout d'une à deux heures. Il semblerait qu'une partie des particules persistent plus longtemps dans le tractus digestif ou s'accumulent dans les tissus l'organisme. Pour la sole le temps de résidence est plus long. Selon la taille de la particule il faut entre 22 et 30 heures pour l'éliminer. Le copépode *E. affinis* est également capable d'ingérer et d'éliminer des MP (présence dans les fèces) de quelques micromètres. Compte tenu des difficultés pour détecter les MP dans le copépode, il n'a pas été possible pour le moment de déterminer le temps de transit des MP dans le tube digestif de ces organismes.

Y-a-t-il des effets toxiques induits lors de l'exposition aux MP ?

Les expositions qui ont été conduites dans le cadre de ce projet avec des microplastiques modèles (PE, PP et PVC) ou des microplastiques environnementaux (plastiques de l'estuaire de Seine broyés) ont permis de mettre en évidence des effets létaux chez le *E. affinis* et sublétaux chez *H. diversicolor* et *S. solea*.

Ainsi, l'exposition du copépode *E. affinis* pendant trois générations à 3 ou 300 µg/L du mélange 1 (MP représentatifs de la colonne d'eau) de microplastiques de Seine a conduit à des effets significatifs sur la mortalité des générations F2 et F3, sur l'effectif de la génération F2, sur la



proportion des différents stades de développement de la F3 et enfin sur le sexe ratio et la fécondité de génération F1 et F2. Ces résultats montrent des effets essentiellement à long terme sur la 2^{ème} voire la 3^{ème} génération et des effets qui conduisent à modifier la structure et la dynamique de la population de copépode. A l'heure actuelle on ne connaît pas la gamme de concentrations des MP de taille inférieure à 20 µm dans les écosystèmes aquatiques.

L'exposition des vers à un mélange de MP de type PP et PE à des concentrations élevées de 10 et 50 mg/L a conduit à une baisse de la viabilité des coelomocytes mais sans effet significatif sur la phagocytose.

L'exposition de juvéniles de soles à des vers contaminés avec 1 ou 100 mg/kg du mélange 2 (MP représentatifs du sédiment) de MP de Seine a conduit à une modification de la couleur de la peau des soles (couleur plus clair) et à une modification de l'adaptation chromatique de celles-ci. Les concentrations en MP mesurées dans les vers exposés au laboratoire étaient identiques voire même inférieures à celles mesurées dans les vers de la vasière nord.

L'exposition de larves de soles à des microcrustacés ayant ingérés des particules de PVC enrobées avec du BaP a conduit avant métamorphose à un ralentissement du développement et à une modification du comportement natatoire des larves de sole.

De façon globale nos expérimentations semblent montrer principalement des effets subléthaux des MP qui apparaissent à moyen ou long terme lors d'expositions chroniques voire multigénérationnelles à doses environnementales de MP.

Comment adapter les techniques actuelles d'analyse des MP pour la gestion des politiques publiques vis-à-vis des microplastiques

Les résultats de ce projet démontrent une contamination de tous les milieux biotiques et abiotiques par les microplastiques. Néanmoins, les techniques actuelles de détection des microplastiques sont particulièrement chronophages et peu adaptées à une surveillance de la contamination dans un esprit de gestion et d'appui à la politique publique. Il conviendrait d'évaluer la représentativité des échantillonnages et de développer des indicateurs de suivi de la contamination. Par ailleurs, le développement de méthodes de détection rapides et fiables permettrait de lever les verrous techniques autorisant une surveillance à plus long terme.

Quelle est la distribution spatio-temporelle des microplastiques dans l'estuaire de Seine ?

Il serait judicieux de faire un suivi spatio-temporel de la distribution des MP en estuaire de Seine pour identifier les sources locales (notamment les effluents de stations d'épuration) et les zones d'accumulation de macro et microplastiques. L'analyse des particules et fibres sur l'ensemble de la colonne d'eau et dans des conditions hydrodynamiques contrastées serait également nécessaire pour évaluer les flux de MP dans l'estuaire. Ce même suivi pourrait également être réalisé au débouché des émissaires de station d'épuration et à la confluence des différents tributaires (La Risle, etc.) de l'estuaire de Seine. Des mesures en point fixe, à l'échelle d'un cycle de marée entier, pour différentes conditions de débit et de coefficient de marée pourraient être imaginées. Ce suivi serait une démarche innovante s'il s'appuyait sur une méthode de prélèvement automatique « à l'instar » des pièges à sédiments. Enfin pour compléter ce tableau, il serait important de cartographier les zones d'accumulation sédimentaire et quantifier les MP stockés dans les sédiments de l'estuaire (berges et lit) pour évaluer l'impact d'une possible remobilisation de ces sédiments sur la contamination de la colonne d'eau et du biote par les MP. Il serait également important de travailler sur le développement de modèles pour étudier les transports horizontaux et verticaux des MP à l'échelle de l'estuaire.

Quel est le devenir et quels sont les effets écotoxicologiques des MP dans le biote ?

Il nous paraît important de faire un suivi temporel de la contamination MP du biote dans l'estuaire afin de caractériser la dynamique spatio-temporelle. Pour cela il faudrait travailler sur le développement d'outils opérationnels et standardisés pour la surveillance de la contamination du biote à partir d'un nombre limité d'espèces sentinelles prélevés *in natura* ou encagées (bivalves, crustacés, vers, poissons ...). Ceci nécessiterait aussi de perfectionner et standardiser les protocoles de tri et d'analyse des MP dans le biote et notamment le zooplancton.

Par ailleurs, il nous paraît important d'étudier l'accumulation des MP le long de la chaîne trophique en s'intéressant cette fois-ci aux plus petits MP (taille < 5 μm) et aux chairs plutôt qu'au tractus digestif des poissons afin d'évaluer les MP accumulés dans les tissus. Ceci permettrait de renseigner les questions concernant la translocation, la bioaccumulation et la bioamplification des MP.



Quel est le niveau d'imprégnation des produits de la pêche et de l'aquaculture par les MP ?

Une question importante est celle de la contamination des produits de la pêche et de l'aquaculture par les MP. Assez peu de données sont disponibles actuellement alors que les produits de la mer peuvent être un vecteur de contamination MP pour les consommateurs. Il nous paraît important de pouvoir quantifier et identifier les MP dans les principaux produits de la mer issus de l'estuaire et de la baie de Seine pour pouvoir dans un second temps évaluer l'exposition des consommateurs et le risque sanitaire associé.



LISTE DES ILLUSTRATIONS

<i>Figure 1 : Sites d'étude de la tâche 1 du projet PLASTIC-Seine</i> _____	12
<i>Figure 2 : Echantillonnage des eaux de surface et de subsurface</i> _____	13
<i>Figure 3 : Profils de conductivité et turbidité (surface et fond) et marégrammes observés à Fatouville (données du réseau SYNAPSES) lors des deux cycles de marées (cycle 1, sept 2018 à gauche, cycle 2, mai 2019, à droite).</i> _	14
<i>Figure 4 : Etapes de purification des échantillons de MP de la colonne d'eau</i> _____	15
<i>Figure 5 : Concentrations en MP suspectés et distributions en taille – 5 classes de taille en μm - pour les eaux de surface (Surf) et de subsurface (Subsurf) aux sites de la Roque (LR), Vieux-Port (VP) et la Bouille (LB) et pour les 4 campagnes</i> _____	17
<i>Figure 6 : Concentrations en MP observées dans les estuaires (Dris et al., 2020)</i> _____	18
<i>Figure 7 : Concentrations en fibres totales des eaux de subsurface (Subsurf) aux sites de la Roque (LR), Vieux-Port (VP) et la Bouille (LB) pour les campagnes d'échantillonnage 3 et 4</i> _____	19
<i>Figure 8 : Nature des MP en surface (Surf) et subsurface (Subsurf) aux sites de la Roque (LR), Vieux-Port (VP) et la Bouille (LB) pour les deux premières campagnes d'échantillonnage</i> _____	20
<i>Figure 9 : Concentrations en fragments dans les eaux de surface (Surf) et subsurface (Subsurf) aux sites de la Roque (LR), Vieux-Port (VP) et la Bouille (LB) pour quatre campagnes d'échantillonnage</i> _____	21
<i>Figure 10 : Concentrations en fragments au site de la Bouille en fonction du débit à Vernon (banque Hydro)</i> _	23
<i>Figure 11 : Cycle de marée à la Roque du 7 septembre 2018, marégramme, conductivité et concentrations en fragments et microbilles</i> _____	25
<i>Figure 12 : Cycle de marée à la Roque du 17 mai 2019, marégramme, conductivité et concentrations en fragments et microbilles</i> _____	26
<i>Figure 13 : Evolution de la distribution de taille des MP – 5 classes de taille en μm - pour les deux cycles de marée étudiés (cycle 1 en haut, cycle 2 en bas) pour les eaux prélevées en surface, à mi-hauteur et à proximité du fond</i>	27
<i>Figure 14 : Evolution de la nature des MP pour les deux cycles (cycle 1 en haut, cycle 2 en bas) de marée étudiés pour les eaux prélevées en surface, à mi-hauteur et au fond</i> _____	29
<i>Figure 15 : Typologie des MP dans les sédiments de l'axe fluvial et les vasières en estuaire de Seine</i> _____	31
<i>Figure 16 : Distributions de taille des MP – 5 classes de taille en μm - dans les sédiments et vasières</i> _____	32
<i>Figure 17 : Distributions des polymères dans les sédiments et vasières</i> _____	33
<i>Figure 18 : Sites de prélèvement des différentes espèces représentatives du réseau trophique</i> _____	35
<i>Figure 19 : Observation au microscope à fluorescence (x 10, filtre DAPI : 355-394 nm) d'individus adultes d'E. affinis pour lesquels des MP de PLA (à gauche) et de PE (à droite) ont été ingérés après marquage au rouge de Nile</i>	41
<i>Figure 20 : MP (fibres, fragments) identifiés dans les sédiments dépurés de vers H. diversicolor collectés en estuaire de Seine (radiale 8)</i> _____	42
<i>Figure 21 : Pourcentage de particules et fibres en fonction de leur couleur ayant été observées dans les tissus (A) ou sédiments dépurés (B) des vers provenant de la radiale R3/5 dans l'estuaire de Seine.</i> _____	42
<i>Figure 22 : Caractérisation des fragments analysés en μ-Raman après digestion des tissus et sédiments dépurés de vers prélevés sur la radiale 8 et la radiale 3/5 en estuaire de Seine.</i> _____	45
<i>Figure 23 : Couleurs des MP retrouvés dans les tissus des crevettes blanches, Palaemon longirostris collectées en estuaire de Seine</i> _____	46



Figure 24 : Caractérisation des MP retrouvés dans les crevettes blanches en Seine par μ -Raman (PE/PP : polyéthylène/polypropylène, PVC : polychlorure de vinyle, PA : polyamide, PBAN : polybutadiène acrylonitrile).47	
Figure 25 : Variabilité spatio-temporelle de la contamination de la crevette blanche dans l'estuaire de Seine. 48	
Figure 26 : Influence des facteurs physiologiques sur la contamination de la crevette blanche dans l'estuaire de Seine. _____ 48	
Figure 27 : Composition des fibres analysées (n=496) chez les moules de l'estuaire de Seine _____ 50	
Figure 28 : Nombre moyen (+ ET) de MP ingérés par les juvéniles de flet de la Canche et de la Seine _____ 51	
Figure 29 : Distribution de taille des MP ingérés par les juvéniles de flet _____ 52	
Figure 30 : Nombre moyen (+ ET) de MP suspectés dans le tractus digestif de flets juvéniles sauvages ou encagés sur différents sites estuariens (Kazour et al., 2020) _____ 53	
Figure 31 : Couleur des MP ingérés par les juvéniles de flet in natura ou encagés pendant un mois _____ 53	
Figure 32 : Identification par μ -Raman de 37 fragments isolés dans le tractus digestif de flet _____ 54	
Figure 33 : Nature des fibres analysées (n=232) chez les soles de l'estuaire de Seine _____ 56	
Figure 34 : (A) Nombre moyen de fragments plastiques suspectés dans le tube digestif des bars de Seine et de Canche en 2017 pour deux classes d'âge. (B) Palette de couleurs des 45 fragments isolés dans le tractus digestif des bars de Seine et de Canche. _____ 57	
Figure 35 : Nombre de MP suspectés et réellement identifiés dans le tractus digestif des bars en Seine et en Canche à l'automne 2018 et pour deux classes d'âge G0 (0-1 an) et G1 (1-2 ans) _____ 58	
Figure 36 : Taille moyenne des MP suspectés (> 100 μ m) dans le tractus digestif des bars en Seine et en Canche à l'automne 2018 et pour deux classes d'âge G0 (0-1 an) et G1 (1-2 ans) _____ 59	
Figure 37 : Identification par IRTF des polymères isolés dans le tractus digestif de bars de classe d'âge G1 collectés en estuaire Seine en 2018 _____ 61	
Figure 38 : Observation de microbilles en fluorescence au niveau d'une coupe de tube digestif du ver Hediste diversicolor après 30 min d'exposition à des microbilles de PE (45-53 μ m) à $1,2 \cdot 10^6$ MP/ml _____ 67	
Figure 39 : Proportion de microbilles observées en microscopie à fluorescence dans le tube digestif des vers après 1 h d'exposition aux microbilles de PE (45-53 μ m) à $1,2 \cdot 10^6$ MP/ml à T0, T15, T30, T60 et T120 min de dépuraton (vers placés dans de l'eau propre) _____ 68	
Figure 40 : Photographie d'un ver avec du mucus contenant des particules en PP (à gauche) et une particule de PP observée sur filtre après digestion des tissus de vers (à droite). _____ 69	
Figure 41 : Viabilité cellulaire, phagocytose et activité enzymatique de l'acide phosphatase et de la phénoloxydase, au niveau des cellules immunitaires des vers après 10 jours d'exposition au mélange de MP (polyéthylène et polypropylène) à 0, 10 ou 50 mg/kg de sédiment (moyenne + ET). _____ 70	
Figure 42 : Mise en évidence de l'ingestion de MP in-situ chez Eurytemora affinis après 24 h d'exposition à une concentration de 300 μ g/l. Photo prise au microscope à fluorescence (objectif x10, filtre DAPI : 355-394 nm). B Fragments de MP in-situ de l'estuaire de la seine observés au microscope à fluorescence (objectif x20, filtre DAPI) après coloration au Red Nile. Composition de l'échantillon : PE, PS, PP. C : Mise en évidence de MP de PE dans une fèces de copépodes. D : Microscopie Raman acquis récemment au LOG et utilisé pour confirmer la nature des MP identifiés par coloration. E : le laser du Raman qui pointe vers une particule de MP _____ 72	
Figure 43 : Schéma du déroulement de l'expérience en cohorte, selon 4 étapes _____ 73	
Figure 44 : Variations du nombre moyen de la population produite au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau _____ 74	



Figure 45 : Variations du nombre moyen de chaque stade de développement produit au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau. A: copépodites C1-C4 (juvéniles), B: pré-adultes males (C5 males), C: pré-adultes femelles (C5 femelles), D: adultes males, E: femelles non-ovigères (sans sac d'œufs) et F: femelles ovigères (porteuses de sacs d'œufs). _____ 76

Figure 46 : Sex-ratio moyen exprimé en pourcentage d'adultes males au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau et pourcentage de juvéniles (copépodites) dans la population finale en fonction des traitements et des générations. _____ 77

Figure 47 : Variations de la mortalité (exprimée en pourcentage d'individus sur une génération) au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau _____ 78

Figure 48 : (A) Variations de la longueur moyenne des femelles (prosoma en μm) au cours de chaque génération en fonction des 3 traitements : témoin (vert), faible concentration (bleue) et forte concentration (rouge) en MP représentatifs de la colonne d'eau. (B) Variations de la fécondité moyenne (nombre moyen d'œufs/femelle ovigère) en fonction des traitements et des générations _____ 79

Figure 49 : Cinétique d'égestion de MP par les larves de soles (heure post-contamination) _____ 81

Figure 50 : Temps passé par les juvéniles de soles sur fond noir ou fond blanc après avoir été nourries avec des vers contaminés avec deux concentrations de MP de Seine (mélange 2 à 1 et 100 mg MP/kg). _____ 83

Figure 51 : Stade de métamorphose moyen (moyenne \pm ET) observé à la fin de l'exposition des larves de sole à des microplastiques industriels vierges ou dopés avec du BaP ou de l'oxybenzone via des artémias (A) ou des copépodes (B) _____ 84



Tableau 1 : Débits à Vernon (Banque Hydro) et coefficients de marée lors des quatre campagnes _____	12
Tableau 2 : Points considérés lors des deux cycles de marée _____	14
Tableau 3 : Concentrations en MP des sédiments en estuaire (items.kg ⁻¹) _____	29
Tableau 4 : Concentrations en MP de la colonne d'eau pour la partie amont et aval du bassin de la Seine ____	34
Tableau 5 : Porosité et type des filtres utilisés sur les différents organismes _____	38
Tableau 6 : MP suspectés dans les tissus des vers ou les sédiments dépurés de la radiale 3/5 de la vasière nord43	
Tableau 7 : MP suspectés dans les tissus des vers ou les sédiments dépurés de la radiale 8 de la vasière Nord	44
Tableau 8 : MP suspectés à la surface et dans les tissus des crevettes blanches, Palaemon longirostris _____	46
Tableau 9 : MP suspectés retrouvés dans les tissus de moules dans l'estuaire de Seine _____	49
Tableau 10 : Nombre de juvéniles de flet analysés au cours des deux années d'études dans les estuaires de la Canche et de la Seine et pourcentage d'occurrence d'individus ayant ingéré des MP _____	51
Tableau 11 : MP suspectés retrouvés dans le tube digestif des soles en 2017 dans l'estuaire de Seine _____	55
Tableau 12 : MP suspectés retrouvés dans le tube digestif des soles en 2018 dans l'estuaire de Seine _____	55
Tableau 13 : MP suspectés dans le tube digestif des bars collectés en 2017 dans l'estuaire de Seine et de Canche pour deux classes d'âge (G0 et G1) _____	57
Tableau 14 : MP suspectés dans le tube digestif des bars collectés en 2018 dans l'estuaire de Seine et de Canche pour deux classes d'âge (G0 et G1) _____	58
Tableau 15 : Répartition massique des échantillons de macroplastiques _____	62
Tableau 16 : Granulométrie des différents polymères de plastiques collectés et cryobroyés _____	63
Tableau 17 : Composition des deux mélanges de microplastiques produits à partir des macroplastiques collectés en estuaire de Seine _____	63
Tableau 18 : Teneurs (µg/g) en éléments traces métalliques dans les différents polymères de plastiques collectés en estuaire de Seine _____	64
Tableau 19 : Dosage des HAP (µg/g) dans les deux mélanges de plastiques de l'estuaire de Seine _____	65
Tableau 20 : Teneurs en alkylphénols (µg/g) dans les deux mélanges de plastiques de l'estuaire de Seine ____	66
Tableau 21 : Teneurs en phtalates (µg/g) dans les deux mélanges de plastiques collectés en estuaire de Seine	66
Tableau 22 : Concentration en MP dans les vers <i>H. diversicolor</i> contaminés via le sédiment à un mélange de MP de l'estuaire de Seine _____	82
Tableau 23 : Synthèse de la contamination de 6 espèces de l'estuaire de Seine par des MP suspectés _____	88



BIBLIOGRAPHIE

- Acha, E.M., Mianzan, H.W., Iribarne, O., Gagliardini, D.A., Lasta, C., Daleo, P., 2003. The role of the Río de la Plata bottom salinity front in accumulating debris. *Marine Pollution Bulletin* 46, 197–202. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00356-9](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00356-9)
- Anderson, Z.T., Cundy, A.B., Croudace, I.W., Warwick, P.E., Celis-Hernandez, O., Stead, J.L., 2018. A rapid method for assessing the accumulation of microplastics in the sea surface microlayer (SML) of estuarine systems. *Scientific Reports* 8, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27612-w>
- Bressy, A., 2010. Flux de micropolluants dans les eaux de ruissellement urbaines : effets de différents modes de gestion à l'amont. Paris Est.
- Cheung, P.K., Fok, L., Hung, P.L., Cheung, L.T.O., 2018. Spatio-temporal comparison of neustonic microplastic density in Hong Kong waters under the influence of the Pearl River Estuary. *Sci. Total Environ.* 628–629, 731–739. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.01.338>
- Cladière, M., 2012. Sources, transfert et devenir des alkylphénols et du bisphénol A dans le bassin amont de la Seine : cas de la région Île-de-France. Paris Est.
- Cole, M., Lindeque, P., Fileman, E., Halsband, C., Goodhead, R., Moger, J., Galloway, T.S., 2013. Microplastic Ingestion by Zooplankton. *Environmental Science & Technology* 47, 6646–6655. <https://doi.org/10.1021/es400663f>
- Cole, M., Webb, H., Lindeque, P.K., Fileman, E.S., Halsband, C., Galloway, T.S., 2014. Isolation of microplastics in biota-rich seawater samples and marine organisms. *Scientific Reports* 4. <https://doi.org/10.1038/srep04528>
- Collard, F., Gilbert, B., Eppe, G., Parmentier, E., Das, K., 2015. Isolation and identification of anthropogenic particles in fish stomachs by Raman spectroscopy: a new method. *Organohalogen Compounds*.
- Dehaut, A., Cassone, A.-L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Rivière, G., Lambert, C., Soudant, P., Huvet, A., Duflos, G., Paul-Pont, I., 2016. Microplastics in seafood: Benchmark protocol for their extraction and characterization. *Environmental Pollution* 215, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.018>
- Devreker, D., Souissi, S., Winkler, G., Forget-Leray, J., Leboulenger, F., 2009. Effects of salinity, temperature and individual variability on the reproduction of *Eurytemora affinis* (Copepoda; Calanoida) from the Seine estuary: A laboratory study. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 368, 113–123. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.10.015>
- Drach, P., Tchernigovtzeff, C., 1967. Sur la méthode de détermination des stades d'intermue et son application générale aux Crustacés. *Vie et Milieu, série A, Biologie marine* 18(3), 595–610.
- Fan, Y., Zheng, K., Zhu, Z., Chen, G., Peng, X., 2019. Distribution, sedimentary record, and persistence of microplastics in the Pearl River catchment, China. *Environmental Pollution* 251, 862–870. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.05.056>
- Ferreira, P., Fonte, E., Soares, M.E., Carvalho, F., Guilhermino, L., 2016. Effects of multi-stressors on juveniles of the marine fish *Pomatoschistus microps*: Gold nanoparticles, microplastics and temperature. *Aquatic Toxicology* 170, 89–103. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.11.011>
- Fisner, M., Taniguchi, S., Majer, A.P., Bicego, M.C., Turra, A., 2013. Concentration and composition of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in plastic pellets: Implications for small-scale diagnostic

and environmental monitoring. *Marine Pollution Bulletin* 76, 349–354. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.09.045>

Frere, L., Paul-Pont, I., Moreau, J., Soudant, P., Lambert, C., Huvet, A., Rinnert, E., 2016. A semi-automated Raman micro-spectroscopy method for morphological and chemical characterizations of microplastic litter. *Mar. Pollut. Bull.* 113, 461–468. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.10.051>

Frère, L., Paul-Pont, I., Rinnert, E., Petton, S., Jaffré, J., Bihannic, I., Soudant, P., Lambert, C., Huvet, A., 2017. Influence of environmental and anthropogenic factors on the composition, concentration and spatial distribution of microplastics: A case study of the Bay of Brest (Brittany, France). *Environmental Pollution* 225, 211–222. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.03.023>

Gasperi, J., Alligant, S., Dris, R., Gangnery, A., Halm-Lemeille, M.-P., Tassin, B., 2020. Rapport spécifique tâche 1 Etat des lieux de la contamination des compartiments abiotiques sur le continuum Seine (No. Rapport spécifique Tâche 1 du projet Plastic-Seine), Rapport GIP Seine Aval.

GIP Seine Aval, 2012. La marée dans l'estuaire de la Seine. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution. 6p.

GIP Seine-Aval, 2015. Les macrodéchets. Fiche thématique du système d'observation de l'état de santé de l'estuaire de la Seine et de son évolution.

Goldstein, M. C., Rosenberg, M., Cheng, L., 2012. Increased oceanic microplastic debris enhances oviposition in an endemic pelagic insect. *Biol. Lett.* 8, 817–820.

Gove, J.M., Whitney, J.L., McManus, M.A., Lecky, J., Carvalho, F.C., Lynch, J.M., Li, J., Neubauer, P., Smith, K.A., Phipps, J.E., Kobayashi, D.R., Balagso, K.B., Contreras, E.A., Manuel, M.E., Merrifield, M.A., Polovina, J.J., Asner, G.P., Maynard, J.A., Williams, G.J., 2019. Prey-size plastics are invading larval fish nurseries. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 116, 24143–24149. <https://doi.org/10.1073/pnas.1907496116>

Hermesen, E., Mintenig, S.M., Besseling, E., Koelmans, A.A., 2018. Quality Criteria for the Analysis of Microplastic in Biota Samples: A Critical Review. *Environ. Sci. Technol.* 52, 10230–10240. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01611>

Hitchcock, J.N., Mitrovic, S.M., 2019. Microplastic pollution in estuaries across a gradient of human impact. *Environmental Pollution* 247, 457–466. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.01.069>

Jeong, C.-B., Kang, H.-M., Lee, M.-C., Kim, D.-H., Han, J., Hwang, D.-S., Souissi, S., Lee, S.-J., Shin, K.-H., Park, H.G., Lee, J.-S., 2017. Adverse effects of microplastics and oxidative stress-induced MAPK/Nrf2 pathway-mediated defense mechanisms in the marine copepod *Paracyclopsina nana*. *Scientific Reports* 7. <https://doi.org/10.1038/srep41323>

Kazour, M., Jemaa, S., El Rakwe, M., Duflos, G., Hermabassiere, L., Dehaut, A., Le Bihanic, F., Cachot, J., Cornille, V., Rabhi, K., Khalaf, G., Amara, R., 2020. Juvenile fish caging as a tool for assessing microplastics contamination in estuarine fish nursery grounds. *Environmental Science and Pollution Research* 27, 3548–3559. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3345-8>

Lemoine, J.P., Verney, R., 2015. Fonctionnement hydro-sédimentaire de l'estuaire de la Seine. GIP Seine-Aval, Rouen.

Leslie, H.A., Brandsma, S.H., van Velzen, M.J.M., Vethaak, A.D., 2017. Microplastics en route: Field measurements in the Dutch river delta and Amsterdam canals, wastewater treatment plants, North



Sea sediments and biota. *Environment International* 101, 133–142.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.01.018>

- Lima, A.R.A., Barletta, M., Costa, M.F., Ramos, J. a. A., Dantas, D.V., Melo, P. a. M.C., Justino, A.K.S., Ferreira, G.V.B., 2016. Changes in the composition of ichthyoplankton assemblage and plastic debris in mangrove creeks relative to moon phases. *J. Fish Biol.* 89, 619–640.
<https://doi.org/10.1111/jfb.12838>
- Luo, H., Zhao, Y., Li, Y., Xiang, Y., He, D., Pan, X., 2020. Aging of microplastics affects their surface properties, thermal decomposition, additives leaching and interactions in simulated fluids. *Science of the Total Environment* 714. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136862>
- Mani, T., Hauk, A., Walter, U., Burkhardt-Holm, P., 2015. Microplastics profile along the Rhine River. *Scientific Reports* 5, 17988. <https://doi.org/10.1038/srep17988>
- Naidoo, T., Glassom, D., Smit, A.J., 2015. Plastic pollution in five urban estuaries of KwaZulu-Natal, South Africa. *Marine Pollution Bulletin* 101, 473–480. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.09.044>
- Pazos, R.S., Bauer, D.E., Gómez, N., 2018. Microplastics integrating the coastal planktonic community in the inner zone of the Río de la Plata estuary (South America). *Environ. Pollut.* 243, 134–142.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.064>
- Phuong, N.N., Poirier, L., Lagarde, F., Kamari, A., Zalouk-Vergnoux, A., 2018. Microplastic abundance and characteristics in French Atlantic coastal sediments using a new extraction method. *Environmental Pollution* 243, 228–237. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.08.032>
- Revel, M., Yakovenko, N., Caley, T., Guillet, C., Châtel, A., Mouneyrac, C., 2020. Accumulation and immunotoxicity of microplastics in the estuarine worm *Hediste diversicolor* in environmentally relevant conditions of exposure. *Environmental Science and Pollution Research* 27, 3574–3583.
<https://doi.org/10.1007/s11356-018-3497-6>
- Rodrigues, A., Oliver, D.M., McCarron, A., Quilliam, R.S., 2019. Colonisation of plastic pellets (nurdles) by *E. coli* at public bathing beaches. *Marine Pollution Bulletin* 139, 376–380.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.011>
- Rodrigues, M.O., Abrantes, N., Gonçalves, F.J.M., Nogueira, H., Marques, J.C., Gonçalves, A.M.M., 2018. Spatial and temporal distribution of microplastics in water and sediments of a freshwater system (Antuã River, Portugal). *Science of The Total Environment* 633, 1549–1559.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.233>
- Sadri, S.S., Thompson, R.C., 2014. On the quantity and composition of floating plastic debris entering and leaving the Tamar Estuary, Southwest England. *Marine Pollution Bulletin* 81, 55–60.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.02.020>
- Simon-Sánchez, L., Grelaud, M., Garcia-Orellana, J., Ziveri, P., 2019. River Deltas as hotspots of microplastic accumulation: The case study of the Ebro River (NW Mediterranean). *Science of The Total Environment* 687, 1186–1196. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.168>
- Souissi, A., Sami Souissi, Hwang, J., 2016. Evaluation of the copepod *Eurytemora affinis* life history response to temperature and salinity increases. *Zoological studies, Zoological Studies* 55.
- Souissi, A., Souissi, S., Devreker, D., Hwang, J.-S., 2010. Occurrence of intersexuality in a laboratory culture of the copepod *Eurytemora affinis* from the Seine estuary (France). *Marine Biology* 157, 851–861.
<https://doi.org/10.1007/s00227-009-1368-x>



- Souissi, A., Souissi, S., Hansen, B.W., 2016. Physiological improvement in the copepod *Eurytemora affinis* through thermal and multi-generational selection. *Aquaculture Research* 47, 2227–2242. <https://doi.org/10.1111/are.12675>
- Tramoy, R., Gasperi, J., Tassin, B., Rognard, F., 2019. Projet MACROPLAST : Estimation des flux de macrodéchets sur le bassin de la Seine. Projet financé par le Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire, 96p.
- Treilles, R., Gasperi, J., Tramoy, R., Rocher, V., Tassin, B., 2019. Evolution de la concentration en microplastiques dans le bassin de la Seine lors de la crue de janvier 2018 (Rapport PIREN-seine, synthèse phase 7).
- Verney, R., 2006. Processus de contrôle de la dynamique des sédiments cohésifs, mesures in-situ, mesures expérimentales et modélisation, application à l'estuaire de Seine. Université de Rouen.
- Verney, R., Lafite, R., Claquin, P., 2012. Projet FLUMES : Flux de matières en estuaire de Seine (Rapport scientifique GIP Seine Aval 4).
- Wang, J., Peng, J., Tan, Z., Gao, Y., Zhan, Z., Chen, Q., Cai, L., 2017. Microplastics in the surface sediments from the Beijiang River littoral zone: Composition, abundance, surface textures and interaction with heavy metals. *Chemosphere* 171, 248–258. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.074>
- Wu, N., Zhang, Y., Zhang, X., Zhao, Z., He, J., Li, W., Ma, Y., Niu, Z., 2019. Occurrence and distribution of microplastics in the surface water and sediment of two typical estuaries in Bohai Bay, China. *Environ. Sci.: Processes Impacts* 21, 1143–1152. <https://doi.org/10.1039/C9EM00148D>
- Zhang, C., Jeong, C.-B., Lee, J.-S., Wang, D., Wang, M., 2019. Transgenerational Proteome Plasticity in Resilience of a Marine Copepod in Response to Environmentally Relevant Concentrations of Microplastics. *Environ. Sci. Technol.* 53, 8426–8436. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02525>
- Zhao, S., Zhu, L., Li, D., 2015. Microplastic in three urban estuaries, China. *Environmental Pollution* 206, 597–604. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.08.027>

Annexe 1. Etat de l'art sur la contamination en microplastiques au sein des estuaires – Extrait d'un rapport spécifique à la tâche 1 du projet Plastic-Seine

Auteurs : J. Gasperi, S. Alligant, R. Dris, A. Gangnery, MP. Halm-Lemeille, B. Tassin.

L'objectif de cette première partie est de faire un état de l'art de la contamination microplastiques dans les estuaires. La présente étude donne un aperçu systématique des recherches menées dans les eaux estuariennes et met en lumière les principales lacunes en matière de connaissances. Alors que des synthèses sur les MP dans les environnements fluviaux existent, aucune n'illustre les particularités et le rôle des estuaires. Ce document examine à la fois les difficultés liées à l'analyse des MP et la complexité de l'analyse de leur comportement dans les environnements estuariens. En utilisant les mots clés "microplastiques" et "estuaires" dans la base de données Elsevier "Scopus" et en effectuant un tri pour les publications pertinentes, nous avons compilé 18 études qui serviront de base à la présente revue (Tableau 24). Ces études traitent au moins partiellement de la contamination des MP dans les eaux estuariennes.

Stratégies d'échantillonnage et analyse au sein des estuaires

Les investigations MP dans les estuaires sont effectuées selon des méthodes différentes selon les études, ce qui empêche de les comparer. Ce constat a déjà été fait sur les eaux continentales et marines et est lié au caractère non stabilisé de la recherche sur les MP. Ces divergences méthodologiques affectent toutes les étapes (échantillonnage, traitement des échantillons et quantification) et renforcent le manque d'informations concluantes sur le rôle joué par les estuaires dans la répartition environnementale des MP. Elles sont synthétisées dans la Figure 52.

Échantillonnage

Les études utilisent plusieurs méthodes pour échantillonner les eaux estuariennes. Parmi les articles examinés, 39 % utilisent, assez classiquement par rapport à la littérature sur les MP, des filets Manta ou à plancton avec un maillage de 300 µm (Cheung et al., 2018; Frère et al., 2017; Gallagher et al., 2016; Lima et al., 2014; Naidoo et al., 2015; Sadri and Thompson, 2014a; Yonkos et al., 2014). Cette méthode est également la plus couramment utilisée dans les environnements marins et fluviaux (Dris et al., 2015b). Elle présente l'avantage d'intégrer de volumes importants et d'assurer une comparabilité possible avec les études réalisées précédemment dans différents environnements. L'inconvénient de l'utilisation de filets et de la maille ainsi sélectionnée est qu'elle ne permet pas de collecter de manière exhaustive les particules plus petites (< 300 µm). Toutefois, en fonction de la taille ciblée, des filets de différentes mailles sont parfois utilisés. Une étude a utilisé un maillage plus grand (500 µm) (Rodrigues et al., 2019) tandis que deux autres ont utilisé des maillages plus petits (40 µm) (Hitchcock and Mitrovic, 2019; Pazos et al., 2018). La multiplication des maillages entraîne davantage de problèmes de comparabilité, mais peut être nécessaire en raison du besoin d'informations différentes, des objectifs de représentativité



visés (particules de tailles inférieures vs. volumes plus importants) et du potentiel colmatage de ces filets selon les niveaux de matières en suspension (MES).

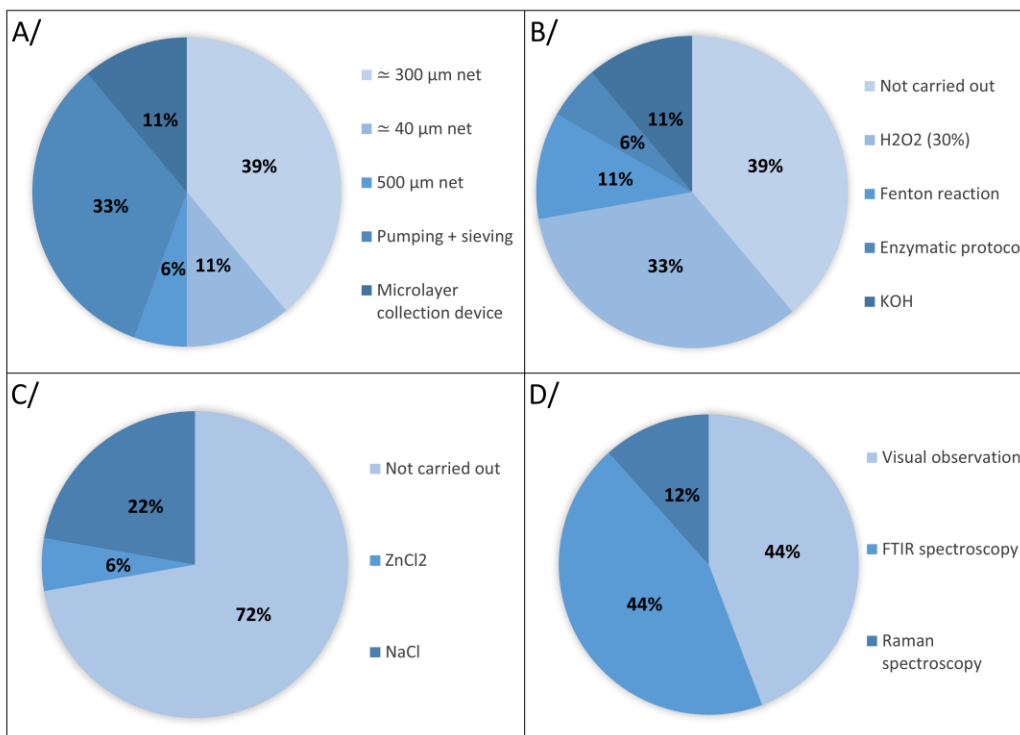


Figure 52 : Méthodes utilisées dans la littérature pour l'échantillonnage (a), l'élimination des matières organiques (b), l'élimination de la fraction minérale (c) et la quantification des MP (d)

La deuxième méthode la plus utilisée (33 %) pour l'échantillonnage est l'utilisation de pompes, suivie du tamisage (entre 20 et 70 μm selon les études) (Luo et al., 2019; Wu et al., 2017; Xu et al., 2018; Zhao et al., 2019, 2015, 2014). Cette méthode permet de collecter des particules plus petites mais a surtout l'avantage de ne pas limiter l'échantillonnage à la surface de l'eau (microcouche + quelques centimètres en dessous) et permettre un ciblage précis de la profondeur d'échantillonnage. Cependant, si le pompage de l'eau est une approche intéressante, la question de sa représentativité sur la distribution des particules aspirées se pose. La vitesse de pompage, si elle n'est pas suffisante, pourrait entraîner une ségrégation des particules et un échantillonnage non représentatif, les particules de plus faible taille et de plus faible densité étant plus représentées que les particules plus denses et/ou de plus grande taille.

Ces méthodes ne permettent pas de faire la distinction entre la microcouche de surface très fine et l'échantillonnage sous la surface. Cette microcouche est considérée dans la littérature comme une couche d'environ 1 mm. Deux études visant à quantifier les MP dans la microcouche ont utilisé des appareils d'échantillonnage spécifiques. La première étude disposait d'un dispositif constitué d'un cadre en aluminium avec une maille en acier inoxydable de 2 mm (Gray et al., 2018). Il a été plongé dans la surface de l'eau et drainé dans un entonnoir en acier inoxydable récupérant 4 litres. La deuxième étude a utilisé une plaque de verre de 0,4 cm d'épaisseur qui a été immergée en retenant l'eau sur la couche supérieure de 2,5 cm. La plaque a ensuite été égouttée des deux côtés dans une bouteille de 500 ml (Anderson et al., 2018). Dans les deux



études, les échantillons ont été prélevés en conditions calmes, lorsque la microcouche de surface n'était pas perturbée.

Traitement des échantillons

L'élimination des matières naturelles organiques et des matières minérales peut s'avérer nécessaire. Pour les eaux estuariennes, 39 % des études n'ont pas mis en œuvre de traitement spécifique pour l'élimination de la matière organique (Anderson et al., 2018; Frère et al., 2017; Gallagher et al., 2016; Gray et al., 2018; Lima et al., 2014; Sadri and Thompson, 2014a). L'utilisation de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est la plus fréquente, soit pour opérer une oxydation classique (33 %) (Cheung et al., 2018; Rodrigues et al., 2019; Wu et al., 2017; Xu et al., 2018; Zhao et al., 2019, 2014), soit pour établir une oxydation par réaction de Fenton (11 %) (Pazos et al., 2018; Yonkos et al., 2014). Cependant, certaines études ont mis en évidence un impact potentiel du protocole sur l'intégrité des MP, comme une dissolution complète du polyamide (Hurley et al., 2018) ou une réduction de la taille du polyéthylène et du polypropylène (Nuelle et al., 2014). La réaction de Fenton, récemment proposée, conserve, selon les auteurs, l'intégrité des polymères (Hinata et al., 2017; Hurley et al., 2018). KOH (Luo et al., 2019) seul ou suivi de NaClO (Hitchcock et Mitrovic, 2019) est également utilisé. Cet oxydant est généralement utilisé sur des échantillons de biote comme les poissons et son efficacité est reconnue. Il présente l'inconvénient d'infliger parfois des changements de forme aux fibres de polyester (Dehaut et al., 2016). C'est l'une des méthodes les plus utilisées en raison de l'efficacité du traitement, de son coût relativement faible et du risque limité pour l'intégrité des particules plastique.

Les protocoles de digestion enzymatique ont l'avantage de garantir l'intégrité de la matière plastique, mais présentent l'inconvénient d'être potentiellement coûteux (selon les enzymes) et particulièrement longs et chronophages. Une seule étude a eu recours à la digestion enzymatique (Cole et al., 2014), mais seulement pour certains échantillons présentant un niveau élevé de matériaux biogènes. Une digestion enzymatique au moyen de la protéinase-K s'est avérée efficace mais coûteuse.

Pour séparer particules minérales et organiques une séparation densimétrique peut être pratiquée. Parmi les articles examinés, 28% seulement l'on fait. L'un des articles qui nécessitait l'élimination des particules minérales utilisait une solution de chlorure de zinc ($ZnCl_2$) ayant une densité comprise entre 1,6 et 1,8 $g.cm^{-3}$ (Zhao et al., 2014). Les quatre autres études concernées utilisaient une solution de chlorure de sodium (NaCl) d'une densité entre 1,2 et 1,4 $g.cm^{-3}$ (Hitchcock et Mitrovic, 2019; Pazos et al., 2018; Rodrigues et al., 2019; Yonkos et al., 2014). Comme certains polymères avec leurs additifs, comme le polyester ou le chlorure de polyvinyle, sont plus denses que la solution de chlorure de sodium, son utilisation conduit à une sous-estimation de la concentration en plastique. De plus, il est impossible de comparer les résultats avec des études utilisant une solution plus dense, car les polymères considérés sont différents.

Il est essentiel de garder à l'esprit que s'il est nécessaire d'assurer la comparabilité entre les études, il n'est pas préconisé d'utiliser exactement les mêmes méthodes. Par exemple, la nécessité d'une élimination des matières organiques ou d'une séparation par densité dépend des échantillons. Toute étape inutile dans le traitement des échantillons doit être évitée afin de limiter, outre les raisons de coût et de temps, le risque de perdre des particules au cours des manipulations (fixation sur les parois des ustensiles en verre par exemple) mais également de

contaminer les échantillons par dépôt de MP atmosphériques. Cependant, toutes les études doivent s'assurer que tous les polymères potentiellement présents peuvent être inclus dans l'utilisation de leur protocole. L'utilisation de réactions qui dégradent certains polymères ou de solutions de faible densité pour l'élimination des minéraux doit être évitée.

Quantification et qualification des microplastiques

Il est maintenant admis dans la communauté scientifique que le fait de procéder au comptage des MP en utilisant des observations visuelles strictes sans confirmation spectroscopique entraîne un biais significatif (Löder and Gerdts, 2015; Song et al., 2015). Les appareils permettant la mise en œuvre de méthodes spectroscopiques ne sont pas toujours accessibles, et dans les études examinées, 45 % ne procèdent qu'au comptage visuel des particules sous microscope. A ce stade, il est question de MP suspectés. Outre la mauvaise identification des particules, l'observation visuelle entraîne une influence humaine importante sur les résultats rapportés, ce qui conduit à une comparaison difficile entre les études.

Les autres études ont procédé à des analyses spectroscopiques sur des particules présélectionnées, soit en utilisant l'infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) (Cheung et al., 2018; Gallagher et al., 2016; Luo et al., 2019; Naidoo et al., 2015; Sadri et Thompson, 2014; Wu et al., 2019; Xu et al., 2018; Zhao et al., 2019) soit par spectroscopie Raman (Frère et al., 2017; Hitchcock et Mitrovic, 2019). Les deux méthodes spectroscopiques fournissent les mêmes informations, la seule différence étant la limite inférieure de taille d'environ 20 μm pour l'infrarouge et de 5 à 10 μm pour le Raman, voire 1 μm pour quelques équipes avec des équipements de pointe. Comme les particules < 20 μm passent à travers les filets utilisés dans les études examinées – généralement 300 μm -, cette différence ne pose pas de problèmes de comparaison.

Concentrations des microplastiques dans la colonne d'eau

La plupart des études font état de concentrations de MP en nombre par volume. Une étude a rapporté un nombre par surface (Yonkos et al., 2014), et une autre a présenté uniquement le nombre total de MP collectés sans aucune concentration (Gallagher et al., 2016). Nous avons donc retiré les deux de la comparaison suivante. La valeur moyenne rapportée pour chacun des estuaires étudiés est présentée Figure 53. Comme certaines des études ont porté sur plusieurs estuaires, 29 valeurs sont considérées.

Une variabilité considérable est observée parmi les études avec une valeur moyenne de $2\,773 \pm 6\,822 \text{ mp.m}^{-3}$. Outre les différentes méthodes utilisées, les différentes dynamiques estuariennes et les différentes conditions d'échantillonnage, cette grande variabilité est également attribuée à la spécificité des estuaires et des bassins versants (superficie, débit des rivières, densité de population, hydromorphologie des estuaires, etc.). Le niveau de concentration observé le plus faible est de 0,01 mp.m^{-3} et a été rencontré dans l'estuaire de la Mignonne, qui se jette dans la baie de Brest (France) (Frère et al., 2017). Cette concentration ne prend en compte que les fragments car l'étude a exclu les fibres des estimations de concentration en raison de la contamination des échantillons par l'air. Cette rivière est petite, avec une longueur de seulement 21 km et drainant un bassin de 111 km^2 . Les deux valeurs les plus élevées sont retrouvées pour la microcouche, avec des valeurs respectivement égales à 30 800 mp.m^{-3} dans les Charleston

Harbor et Winyah Bay, Caroline du Sud, U.S.A., (Gray et al., 2018) et 43 000 mp.m⁻³ dans les estuaires de la Hamble et la Beaulieu, dans le sud du Royaume Uni (Anderson et al., 2018). Ces deux études indiquent que les MP sont concentrés dans la fine microcouche comparativement aux quelques centimètres sous la surface.

Si l'on ne tient pas compte des études sur la microcouche de surface, on obtient une moyenne de seulement 643 ± 1 124 mp.m⁻³. La valeur la plus élevée de 4 137 mp.m⁻³ a été enregistrée dans l'estuaire du Yangtse (Chine) (Zhao et al., 2014). La superficie du bassin du Yangtse est de 1,8 million de km², et concentre 40 % de la population chinoise. Les deuxième, troisième et quatrième valeurs les plus élevées ont également été relevées dans d'autres estuaires chinois (Cheung et al., 2018; Wu et al., 2019; Zhao et al., 2015). Plus généralement, tous les estuaires chinois présentent des valeurs supérieures à la valeur médiane calculées sur l'ensemble des moyennes, i.e. 139 mp.m⁻³. Les cinq valeurs inférieures (de 0,01 à 0,17 mp.m⁻³) correspondent à des estuaires européens.

Alors que la différence entre la valeur inférieure et supérieure dans les estuaires est de cinq ordres de grandeur, elle n'est que de quatre ordres de grandeur pour les rivières (Dris et al., 2018). Une revue des études sur l'eau douce fait état d'une médiane de 2,6 mp.m⁻³ dans les échantillons d'eau de rivière, ce qui est d'un ordre de grandeur inférieur à la médiane dans les estuaires (Dris et al., 2018).

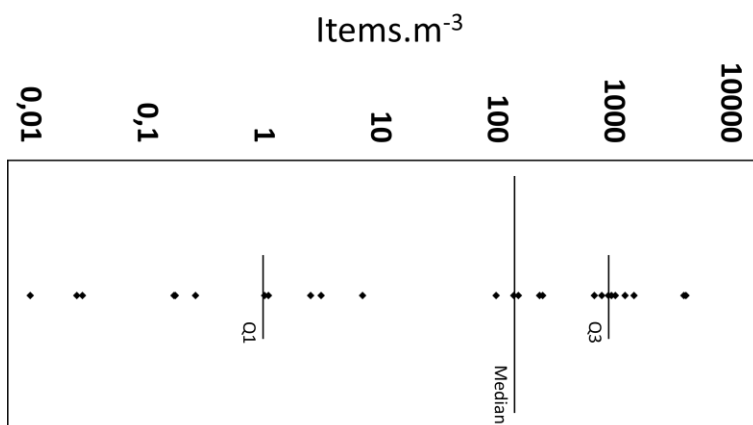


Figure 53 : Concentrations de MP dans divers estuaires. La valeur moyenne a été prise en compte pour chaque estuaire. Les Q1 et Q3 correspondent aux premiers et troisièmes quartiles

Variabilité temporelle au sein des estuaires

- Cycle de marées semi-diurnes

Les échanges d'eau entre les estuaires et les milieux marins sont soumis au régime des marées. Les cycles de marée sont donc censés jouer un rôle essentiel dans la dynamique et la répartition des MP. A l'échelle du jour, la marée alterne entre deux phases, le flux et le reflux, les marées de basse et de pleine mer les séparant. Dans les régions du nord de l'Europe, les marées sont de type semi-diurne, c'est-à-dire qu'elles effectuent un cycle entier (marée haute, marée basse, marée haute) en 12 heures et 25 minutes. Certaines zones géographiques ne sont caractérisées que par une seule marée haute et basse par jour.

Parmi les 18 études examinées pour la colonne d'eau, sept n'ont donné aucune indication sur la phase de la marée pendant l'échantillonnage. Dix des études qui ont précisé cette information ont effectué tous les échantillonnages sur la même phase de marée. Lorsque l'objectif n'est pas de comprendre l'impact du cycle des marées, il est conseillé de s'assurer que les échantillons sont prélevés dans la même phase afin de permettre la comparaison des échantillons au sein de l'étude. La plupart des études ont effectué des prélèvements en basse mer (Gray et al., 2018; Naidoo et al., 2015; Pazos et al., 2018; Zhao et al., 2014), mais aucune étude ne s'est concentrée uniquement sur la marée haute. L'échantillonnage à marée basse, en dehors du gradient salin, est censé donner une indication des apports amont. La dynamique dans un estuaire est compliquée et des études supplémentaires sont nécessaires pour émettre des hypothèses quant au devenir des MP le long du gradient salin ou au cours d'un cycle de marée. Une comparaison entre la marée haute et la marée basse peut s'avérer pertinente, car les deux présentent des conditions d'échantillonnage similaires avec des conditions calmes mais une dynamique juste avant différentes. L'échantillonnage sans perturbation de l'eau peut également s'avérer nécessaire lors de l'étude de la microcouche de surface (Gray et al., 2018).

Certaines études ont choisi d'échantillonner soit pendant le flot (Anderson et al., 2018; Gallagher et al., 2016; Rodrigues et al., 2019) soit pendant le jusant (Hitchcock et Mitrovic, 2019; Zhao et al., 2019, 2015). Le flot représente un transport en amont de l'eau, des particules et des contaminants. Les MP étant des particules sont très probablement régis par le même phénomène. Le transport de débris flottants d'aval en amont pendant la marée montante a été observé pour les macroplastiques (Brown et al., 1991). Cependant, l'ampleur d'un tel phénomène restent à déterminer pour les particules plus petites comme les MP. La connaissance du nombre de plastiques transportés pendant le flot par rapport au jusant pourrait permettre d'estimer la quantité de plastique bloquée dans l'estuaire et de déterminer si celui-ci doit être principalement considéré comme un puits ou une source de plastique. Une étude a utilisé une analyse de la forme des MP pour émettre des hypothèses sur leur origine (Gallagher et al., 2016). Les auteurs ont indiqué que le faible nombre de formes irrégulières parmi les plastiques rencontrés sous-entend qu'ils sont principalement générés localement et ne sont pas apportés par la marée. Cette hypothèse est renforcée par le fait que l'estuaire étudié (Estuaire du Solent - UK) est dominé par le reflux, avec plus d'eau et de sédiments exportés qu'importés.

Dans une étude, la morphologie des fibres, l'adhérence des sédiments à ces fibres et le bio-encrassement sur celles-ci suggèrent un possible temps de résidence élevé à l'intérieur des estuaires (Anderson et al., 2018). Au contraire, une autre étude sur l'estuaire du Changjiang a supposé que la vitesse du courant du fleuve entraîne un important transport de déchets vers la mer de Chine orientale (Xu et al., 2018). Dans l'ensemble, une bonne compréhension du cycle des marées et des flux entrants et sortants d'eau dans un estuaire, en plus de stratégies d'échantillonnage appropriées, est nécessaire pour une meilleure appréhension des résultats.

À notre connaissance, une seule étude s'est intéressée aux variabilités de concentrations en MP le long d'un cycle de marée complet sur l'estuaire de la Tamar, Royaume-Uni (Sadri et Thompson, 2014). Le flux et le reflux du même cycle ont été pris en compte. De plus, deux cycles différents ont été échantillonnés, un cycle de mortes eaux et un cycle de vives eaux. Les échantillons ont été prélevés pendant les périodes de flux entrant et de flux sortant maximum (environ 2,5 h après la marée haute et la marée basse). Pendant la marée de vives eaux, les marées de flux et de reflux présentaient des concentrations similaires. Les auteurs ont attribué

ce phénomène aux particules qui quittent l'estuaire au cours du jusant mais qui rentrent de nouveau dans l'estuaire pendant le flot (et *vice-versa*). À la marée de mortes eaux, les concentrations étaient plus faibles que pendant la marée descendante, mais les auteurs précisent que cette différence n'est pas statistiquement significative.

L'indication de la phase de marée échantillonnée est de la plus haute importance pour une meilleure compréhension du transport et du devenir des microplastiques dans les environnements estuariens. Des études conçues spécifiquement pour étudier l'impact des cycles de marée quotidiens sur l'occurrence des MP sont nécessaires. De plus, même lorsque les études ne sont pas destinées à comprendre la dynamique, elles doivent considérer la phase de marée pour favoriser l'intercomparaison des données.

- **Cycles de marée de mortes eaux et vives eaux**

Les marées dépendent du cycle lunaire. Pendant les pleines lunes ou les nouvelles lunes, les niveaux des marées hautes sont plus élevés que le niveau moyen des marées hautes, tandis que les marées basses sont plus basses que le niveau moyen des marées basses. Cette amplitude plus élevée est appelée marée de vives eaux. À l'opposé, les marées de mortes eaux représentent la plus petite différence de niveau entre la marée haute et la marée basse et se produisent pendant le premier et le troisième quartier de la lune.

Les cycles de marée lunaire sont encore moins bien documentés que les cycles de marée semi-diurnes. Parmi les 18 études examinées, 14 n'indiquaient pas à quel moment du cycle lunaire les campagnes étaient effectuées. Deux études ont échantillonné pendant une marée de vives eaux (Naidoo et al., 2015; Rodrigues et al., 2019) tandis qu'une autre a échantillonné pendant une marée de mortes eaux (Lima et al., 2014). La compréhension de l'influence des marées passe par un échantillonnage de ces situations extrêmes. En ce qui concerne les cycles quotidiens, une seule étude a effectué un échantillonnage à la fois lors des marées de mortes et de vives eaux et a procédé à une comparaison des échantillons (Sadri et Thompson, 2014). Les auteurs ont observé des dissimilitudes dans la distribution des tailles avec des MP plus grands pendant les marées de vives eaux.

Bien que le cycle lunaire des marées modifie l'intensité de l'échange d'eau dans un estuaire et pourrait représenter un facteur supplémentaire à prendre en compte, son influence est probablement moins prononcée que celle des cycles quotidiens des marées. A ce jour, il n'y a pas assez de résultats scientifiques pour préciser le rôle du cycle lunaire en ce qui concerne la dynamique des MP dans un estuaire. Une étude, bien qu'elle n'ait pas été réalisée dans un environnement estuarien, a montré une absence de corrélation entre les concentrations de MP sur la plage de Playa Grande (Tenerife, îles Canaries, Espagne) et les phases du cycle lunaire (González-Hernández et al., 2020). La direction et la vitesse du vent ainsi que la hauteur des vagues expliquaient beaucoup mieux les concentrations de MP rencontrées. Les différences de conditions environnementales entre les cycles lunaires de marée doivent également être prises en compte de manière plus générale, notamment lors des longues surveillances qui peuvent être effectuées sur plusieurs cycles et plusieurs phases du même cycle.

- **Autres facteurs affectant la variation temporelle**

Si les cycles de marée sont de la plus haute importance, d'autres facteurs peuvent influencer considérablement la variabilité des concentrations et les distributions en MP dans un estuaire. Les paramètres saisonniers et météorologiques, ainsi que les flux fluviaux entrants, semblent être les principaux paramètres à prendre en compte. Dans les études examinées, les paramètres météorologiques (précipitations, période de temps sec, vents dominants, etc.) ont été examinés et pris en compte plus souvent que les cycles des marées.

Sur l'estuaire de la Tamar (Sadri et Thompson, 2014), le cycle des marées n'a pas montré d'impact sur la variabilité des MP alors que des pics de concentrations ont été constatés dans les échantillons prélevés sous forte influence de vents nord-ouest. Cela suggère un rôle important du vent sur la distribution des MP. Une autre étude dans l'estuaire du Rio de la Plata n'a pas trouvé de corrélation entre la concentration de MP et les variables environnementales, y compris la direction et l'intensité du vent (Pazos et al., 2018). Avec ces résultats opposés, il est essentiel de garder à l'esprit le fait que la distribution des MP dans chaque estuaire sont uniques, très dépendante de ses caractéristiques propres et pour lequel les paramètres météorologiques ne joueront pas la même importance. Ces résultats non concordants ont également été observés pour les événements extrêmes. Une première étude a présenté de fortes abondances de MP peu après deux événements hydrométéorologiques majeurs rapprochés dans trois estuaires sur quatre de la baie de Chesapeake (Yonkos et al., 2014). Le seul site qui n'a pas été touché par les tempêtes était également le seul situé dans une zone rurale avec des surfaces imperméabilisées minimales. Le facteur le plus impactant est ici davantage le ruissellement urbain que les précipitations. Selon une autre étude (Zhao et al., 2015), un typhon n'a pas eu d'impact sur les concentrations de MP dans les estuaires chinois.

Le rôle du débit des rivières et de son augmentation est pointé dans plusieurs études. Dans l'estuaire de la Goiana au Brésil, une quantité plus importante de MP a été observée à la fin de la saison des pluies dans la partie inférieure d'un estuaire, ce que les auteurs ont attribué à la plus forte pluviométrie entraînant une augmentation du débit des rivières (Lima et al., 2014). Les travaux menés dans l'estuaire du Douro ont également mis en évidence une corrélation positive significative entre les concentrations de MP et le débit du fleuve (Rodrigues et al., 2019). Les deux niveaux de contamination les plus élevés concordent avec les périodes de débit plus élevé des rivières, ce qui indique que la plupart des MP provenait des zones en amont. Une autre étude portant sur trois estuaires australiens (Hunter, Clyde et Bega) a montré que deux des estuaires ne présentaient pas de corrélation significative avec le débit des rivières (Hitchcock et Mitrovic, 2019). Le suivi sur 12 mois dans le troisième estuaire, l'estuaire de la Bega, a montré une corrélation positive évidente avec l'apport d'eau douce. Une autre étude a effectué une comparaison entre une saison humide et une saison sèche dans l'estuaire de la Pearl river (Cheung et al., 2018). Elle a montré une différence significative entre la saison des pluies et la saison sèche, attribuée principalement à un rôle plus important du système fluvial transportant les déchets plastiques en saison des pluies. La saisonnalité de l'abondance des MP a également été observée dans l'estuaire du Changjiang (Zhao et al., 2019). Elle a été attribuée à des concentrations plus élevées pendant les saisons humides. Les auteurs soulignent l'importance de prendre en compte ce paramètre lors de la surveillance des MP, en particulier dans les régions qui présentent de fortes variations saisonnières des précipitations.

Sur la base de cette synthèse bibliographique, les conditions météorologiques, quand ces dernières sont regardées, semblent affecter davantage les concentrations de MP que la dynamique des estuaires. De plus, il semble que les changements dans le débit entrant des rivières soient la principale explication de l'abondance et du transfert des MP dans un estuaire. Cette observation doit être aujourd'hui confronté à une meilleure considération du fonctionnement d'un estuaire à travers d'autres études.

Estuaires ouverts ou semi-ouverts

Outre les différents éléments évoqués, la comparaison est encore entravée par le fait que les différents estuaires se comportent différemment. Il est de la plus haute importance d'identifier et de comprendre le fonctionnement d'un estuaire lorsqu'une étude est publiée. Le type d'estuaire, le cycle des marées, le temps de séjour et le flux d'eaux entrantes et sortantes ou le marnage sont autant d'informations utiles pour aider à appréhender et à interpréter les résultats. La plupart des études examinées ne mentionnent pas ces informations. Seules sept des études examinées ont fourni plus ou moins d'informations sur les estuaires échantillonnés (Anderson et al., 2018; Frère et al., 2017; Gallagher et al., 2016; Gray et al., 2018; Hitchcock et Mitrovic, 2019; Pazos et al., 2018; Rodrigues et al., 2019). Le fonctionnement des marées est principalement décrit dans ces études. Seules deux d'entre elles ont précisé le type d'estuaire (des estuaires microtidaux aux estuaires mégatidaux), tandis que les autres ne le précisent pas (Anderson et al., 2018; Gray et al., 2018).

Un article a présenté un modèle conceptuel pour le comportement des MP dans un estuaire (Vermeiren et al., 2016). Il décrit les différents processus liés au mélange eau douce / eau saline. Il est connu que le transport de matériaux (principalement des sédiments) dépend du type d'estuaire. Certains estuaires présentent une intrusion saline limitée, permettant l'établissement d'une stratification, tandis que d'autres sont classés comme des estuaires bien mélangés ou partiellement mélangés. Dans le cas où les estuaires sont très stratifiés, les eaux douces auront tendance à s'écouler sur les eaux marines; le mouvement résultant des masses d'eau, si l'on fait abstraction du va et vient de la marée, sera alors dirigé vers l'aval en surface et vers l'amont au fond, dans la zone de l'intrusion saline; plus en amont au niveau du fleuve, les courants résiduels sont dirigés vers l'aval sur toute la tranche d'eau et il y aura donc création d'une zone de convergence des courants résiduels près du fond (point nodal); ce processus peut jouer un rôle important dans l'accumulation des matières en suspension en période de forte stratification c'est-à-dire en crue et au cours des marées de mortes eaux. Il est suggéré dans la présentation conceptuelle de Vermeiren et al. (2016) que dans ce type d'estuaire, il y a un apport limité de plastique marin en raison des marées limitées.

En revanche, les débris plastiques d'eau douce s'accumulent autour du front salin. Ce comportement a été observé pour les débris anthropiques macroscopiques, y compris les plastiques dans l'estuaire du Rio de la Plata (Acha et al., 2003). L'étude plus récente sur les MP dans le même estuaire (Pazos et al., 2018) suggère un comportement similaire avec des concentrations plus élevées de MP autour du front de turbidité maximum.

En général, les estuaires partiellement et bien mélangés sont le siège d'échanges importants en fonction du sens de la marée entre la zone estuarienne et la zone littorale, ce qui conduit au

transfert des MP avec les masses d'eau. Cependant, les travaux scientifiques pour affirmer cette hypothèse sont inexistant. Vermeiren et al. (2016) indiquent également que ce type d'estuaire pourrait recevoir du plastique introduit du milieu marin par la marée de vives eaux. Le mélange d'eau marine et d'eau douce dans les estuaires partiellement mélangés créent une zone de turbidité maximale ou bouchon vaseux au sein de laquelle les sédiments sont piégés. Il a été observé que les sédiments grossiers s'accumulent aux limites de cette zone tandis que les sédiments fins s'accumulent à l'intérieur de la zone elle-même. Une séparation des particules plastiques entre les macroplastiques et MP pourrait en être la conséquence, mais encore une fois, on ne dispose pas d'éléments scientifiques allant dans ce sens. Une des deux études menées dans un estuaire identifié comme un estuaire partiellement mélangé a recueilli tous les échantillons en aval de la zone de mélange principale et n'a pas permis de vérifier l'hypothèse précédemment énoncée (Anderson et al., 2018). La seconde étude a procédé à un échantillonnage de l'amont vers l'aval, mais aucune évolution n'a été observée (Gray et al., 2018). Dans cette dernière étude, il n'est cependant pas clair si les échantillons prélevés l'étaient dans la zone de turbidité maximale.

Tableau 24 : Etudes portant sur les estuaires et les informations relatives aux caractéristiques des estuaires et des marées

	Estuaire	Phase marée	Cycle lunaire	Gradient salinité	Front de turbidité
Sadri and Thompson, 2014	-	Flot et jusant	Vives et mortes eaux	-	-
Zhao et al., 2014	-	Jusant	-	-	-
Yonkos et al., 2014	-	-	-	-	-
Lima et al., 2014	-	-	Mortes eaux	Considéré	-
Zhao et al., 2015	-	Jusant	-	-	-
Naidoo et al., 2015	-	Jusant	Vives eaux	-	-
Gallagher et al., 2016	-	Flot	-	-	-
Frère et al., 2017	-	-	-	-	-
Gray et al., 2018	Semi-ouvert	Jusant	-	-	-
Anderson et al., 2018	Semi-ouvert	Flot	-	-	-
Pazos et al., 2018	-	Jusant	-	-	Considéré
Rodrigues et al., 2019	-	Flot	Vives eaux	Considéré	-
Xu et al., 2018	-	-	-	-	-
Cheung et al., 2018	-	-	-	-	-
Luo et al., 2019	-	-	-	-	-
Wu et al., 2019	-	Jusant	-	-	-
Hitchcock and Mitrovic, 2019	-	Jusant	-	-	-
Zhao et al., 2019	-	-	-	-	-

Contamination en MP des sédiments fluviaux et estuariens

Dans leur étude, Phuong et al. (2018) ont effectué une synthèse bibliographique des études portant sur la contamination des sédiments par les MP. Cette synthèse est reportée dans le Tableau 25. De manière générale, très peu d'études concernent le milieu estuarien et il est très difficile de faire ressortir les spécificités du milieu estuarien comparativement à celles des milieux fluviaux. Cet état de l'art, bien que non exhaustif, permet d'appréhender les ordres de grandeur des niveaux de concentrations en MP dans différents types de sédiments et de leur forte variabilité. Ces niveaux, à l'instar de ceux retrouvés pour la colonne d'eau, sont extrêmement fluctuants d'une étude à l'autre, selon la nature et le type de sédiment considéré, la limite d'observation des MP et les méthodologies déployées. Ils fluctuent typiquement entre quelques particules à plusieurs milliers de particules par kg de sédiment. Pour comparaison, les concentrations en MP fluctuent entre 0,1 et 1 000 particules par mètre cube d'eau. Un état de l'art récent sur les débris plastiques dans les environnements aquatiques (Schwarz et al., 2019) a examiné les sources, le transport et l'accumulation de différents types de déchets plastiques dans le but d'obtenir une conceptualisation du transport et de l'accumulation des déchets plastiques nécessaire aux stratégies d'atténuation de la pollution plastique dans les environnements aquatiques. Ces auteurs ont conclu que le transport des déchets plastiques était affecté par la densité, la surface et la taille des particules, et que les polymères prédominants étaient le polyéthylène et le polypropylène. Ils indiquent également que la plus grande partie des déchets plastiques est probablement retenue dans les sédiments. Une autre étude qui a conduit une méta-analyse pour déterminer la distribution des types de polymères plastiques dans l'environnement marin a révélé que le polymère le plus abondant était le polyéthylène, suivi par le polyester, le polyamide, et différents types d'acryliques et ensuite le polypropylène. Ils ont également constaté que les sédiments intertidaux présentaient des niveaux de contaminations bien supérieures aux eaux de surface, d'un facteur 4 à 5 (Erni-Cassola et al., 2019).

Le transport des plastiques dans les systèmes d'eau douce est fortement influencé par les conditions hydrodynamiques des cours d'eau. Celles-ci comprennent les propriétés physiques d'une masse d'eau telles que la vitesse d'écoulement de l'eau, la profondeur de l'eau, la topographie du fond et la variation saisonnière du débit d'eau (Wang et al., 2017). Les conditions de faible débit et la variation de la profondeur ou de la vitesse de l'eau peuvent entraîner une augmentation des dépôts de particules. Inversement, des facteurs hydrodynamiques plus forts, tels que des conditions de vitesse élevée, peuvent entraîner la mobilisation de particules précédemment. Les variations saisonnières peuvent également avoir un impact sur le transport des MP. Une étude sur la rivière Bloukrans montre des densités moyennes de MP sédimentaires plus élevées en hiver ($160,1 \text{ particules.kg}^{-1}$) qu'en été ($6,3 \text{ particules.kg}^{-1}$) (Nel et al., 2018). En conséquence, le cycle des marées, les tempêtes, les inondations et l'activité anthropique (par exemple, la construction de barrages) peuvent avoir un effet temporel important sur le transport des MP et les niveaux observés dans les sédiments intertidaux.

Les conditions météorologiques tels que les précipitations et le vent peut également provoquer la remise en suspension et la redistribution des MP. Par exemple, une étude réalisée sur le lac de Garde en Italie a montré des concentrations plus élevées de MP sur la rive nord plus exposée au vent que sur la rive sud (Imhof et al., 2013).

Tableau 25 : Etudes portant sur contaminations des sédiments par les MP – (Phuong et al., 2018)

Continent	Sampling area	MPs		References
		Quantity in sediments (number of particles/kg dw)	Characteristics	
America	USA	79–165	Fragments	Graham and Thompson, 2009. ^a
	Canada	83–161.8	Fibers (77%)	Crichton et al., 2017
	Canada	760	PE, PS	Ballent et al., 2016
	Canada	2000–8000	Fibers	Mathalon and Hill, 2014
Africa	South Africa	400–1750	PE, copolymer	Matsuguma et al., 2017
	South Africa	161–759	Blue/black fibers	Nel and Froneman, 2015 ^a
Antarctica	Arctic Ocean	42–6595	<25 µm (80%)	Bergmann et al., 2017
Asia	China	121 ± 9	Fibers	Peng et al., 2017
	Hong Kong	47–279	PE, PP	Tsang et al., 2017
	Singapore	36.8 ± 23.6	PE, PP, PVC	Nor and Obbard, 2014
	Eastern Asia	100–1900	PE, PP (fragments)	Matsuguma et al., 2017
	Singapore	0–16	PE, PS	Ng and Obbard, 2006
Europe	Baltic Sea	25–53	Polyester, fibers	Graca et al., 2017
	North Sea	100–3600	Spheres	Leslie et al., 2017
	Germany	1.3–2.3	PE, PP	Dekiff et al., 2014
	Western Europe	6.0 ± 5.7	PE, PS	Van Cauwenberghe et al., 2015a, 2015b
	France	0.97 ± 2.08	PE, PP	Frere et al., 2017
	Belgium	7.2–20.4	Fibers, granules	Van Cauwenberghe et al., 2013
	Germany	0–7	Fibers	Stolte et al., 2015
	England	3030	Fibers, blue, PTFE	Blumenroder et al., 2017
	England	67.4 ± 13.2	PE and PE copolymer	Coppock et al., 2017
	North Sea	210–461	Granule, fibers	Liebezeit and Dubaish, 2012
	England	322	PVC, polyester	Browne et al., 2010. ^a
	England	86	Fibers, 9 natures	Thompson et al., 2004
	Atlantic Ocean	200	Polyester (fibers)	Woodall et al., 2014 ^a
	Belgium	97.2 ± 18.6	Fibers	Claessens et al., 2011
	Italy	672 ± 2175	PE, PP	Vianello et al., 2013
	Spain	900 ± 100	Black, blue	Alomar et al., 2016 ^a
	Italy	45–1069	Filament	Guerranti et al., 2017
Italy	62–1069	Black, blue	Cannas et al., 2017	
France	38–102	PP, PE (fragment)	This study	

L'étude de Naidoo et al. (2015) permet de comparer les sédiments de plage et les sédiments d'estuaire pour différents estuaires (Figure 54). Contrairement à d'autres études, cette dernière considère les fragments et les fibres. De manière générale, on observe une proportion plus importante de fibres dans les sédiments de plage que dans ceux de l'estuaire. Au contraire, les fragments plastiques semblent plus nombreux, en proportion, dans les sédiments de l'estuaire (Naidoo et al., 2015). Les auteurs n'étaient pas d'hypothèse pour expliquer pas ces différences.

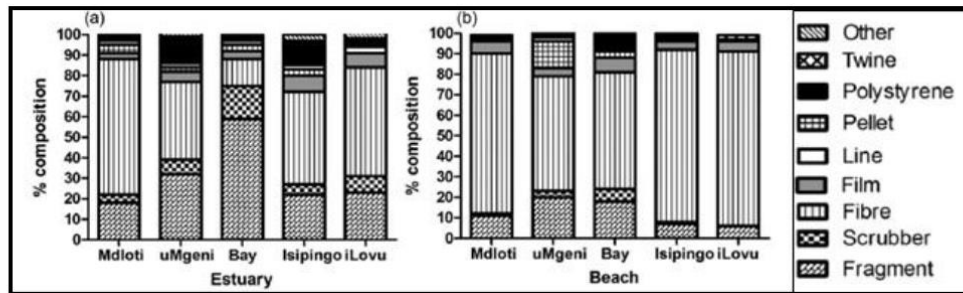


Figure 54 : Contaminations en MP des sédiments d'estuaire et de plage (Naidoo et al., 2015)

L'étude de Phung et al. (2017) qui s'est intéressée aux sédiments intertidaux et aux vasières en Loire révèle qu'aucun objet en plastique > 1 mm dans ces sédiments n'est détecté. Ceci suggère que l'accumulation des plus grands MP (>1 mm) dans les sédiments superficiels est limitée. Dans les échantillons de sédiments tamisés (< 1 mm), la concentration moyenne \pm écart-type était de 67 ± 76 mp par kg de sédiments secs (n=60).

Lacunes dans les connaissances au sein des estuaires

Les estuaires sont complexes et présentent une dynamique très variable et mal considérée dans les études sur les MP, qu'il s'agisse de la dynamique de la colonne d'eau elle-même avec l'influence des cycles de marée, des débits des apports amonts, du gradient de salinité ou de l'intrusion marine ou de la dynamique sédimentaires au sein des estuaires. Ces particularités s'ajoutent aux autres facteurs susceptibles d'influencer les concentrations de MP, tels que les paramètres météorologiques et les facteurs anthropiques (zones urbaines, rejets de station d'épuration, ports et activités industrielles, etc.). L'examen approfondi de la littérature montre qu'il est difficile d'attribuer les variations MP à un paramètre ou une série de paramètres en particulier dans un estuaire tant le fonctionnement de l'estuaire n'est pas appréhendé conjointement. Les niveaux d'urbanisation, l'activité humaine et le débit des rivières soient le plus souvent les facteurs évoqués dans les études pour expliquer les concentrations de MP.

Pour la colonne d'eau, sur la base de cette recherche bibliographique, les lacunes apparaissent très clairement sur la connaissance de la dynamique et de la distribution des MP au cours d'un cycle de marée localement ou au sein du gradient salin. Pour y répondre, dans le cadre de la tâche 1 du projet Plastic-Seine, les questions suivantes ont été formulées :

- **Existe-t-il un gradient de concentration en MP le long de l'estuaire de Seine ?**
- **Y a-t-il une influence du gradient salin sur la distribution verticale des MP dans la colonne d'eau ?**
- **Observe-t-on des concentrations en MP plus élevées en période de hautes eaux ou de forts débits comparativement aux périodes de basses eaux ou de faibles débits mais aussi des évolutions de ces concentrations au cours du cycle de marée ?**

Pour les sédiments, la revue bibliographique pointe des niveaux de concentrations très fluctuants selon leur nature. Les facteurs de cette variabilité de la contamination ne sont pas à ce jour explicités. Dans le cadre du projet Plastic-Seine, en prélevant du sédiment le long du gradient salin, **la question de leur évolution le long du continuum de l'estuaire de Seine est formulée.**

Cette synthèse bibliographique met en lumière les besoins importants d'études pour accroître notre connaissance et notre compréhension des MP dans les estuaires. Elle pointe aussi la nécessité de disposer sur chaque cas d'outils de modélisation performants pour pouvoir intégrer tous les facteurs de forçages susceptibles d'influencer la dynamique des plastiques. Le devenir des MP est fortement lié à leur temps de séjour dans un estuaire. Ce temps de séjour dépend probablement du type d'estuaire, du cycle des marées et des flux d'eaux importés et exportés dans l'estuaire. Les MP peuvent potentiellement être piégés dans un estuaire pendant une période plus ou moins longue et subir divers processus comme des processus de dégradation, de sédimentation, de bio-encrassement et de défécation. Ces derniers affecteront la densité des plastiques en influant sur leur devenir, compte tenu du spectre des salinités dans un estuaire et du spectre des densités de particules potentielles dues aux différents niveaux de bio-encrassement.

L'une des questions qui découle directement de cette période de résidence est de savoir comment les estuaires piègent ou remobilisent les débris plastiques. Les niveaux de MP libérés dans les environnements marins sont souvent calculés en fonction des débits des rivières d'eau douce. La proportion qui pourrait être piégée dans les sédiments estuariens ou autour du front de turbidité maximum est inconnue et n'est jamais entièrement prise en compte. Les divers estuaires pourraient agir différemment, comme une voie rapide ou lente pour les MP, ou même comme un puits. Les estimations mondiales des quantités de plastiques rejetées

dans les océans étant une préoccupation majeure, des efforts de la part de la communauté scientifique pour améliorer notre compréhension du comportement des MP dans les estuaires sont indéniablement nécessaires.

Annexe 2. Publications et communications en congrès

Publications

Kazour M, Jemaa S., El Rakwe M., Duflos G., Hermabassiere L., Dehaut A., Le Bihanic F., Cachot J., Cornille V., Rabhi K., Khalaf G., Amara R., **2018**. Juvenile fish caging as a tool for assessing microplastics contamination in estuarine fish nursery grounds. *Environmental Science and Pollution Research* 27: 3548-3559. doi:10.1007/s11356-018-3345-8.

Messika Revel, Nadiia Yakovenko, Timothy Caley, Catherine Guillet, Amélie Châtel, Catherine Mouneyrac. **2018**. Accumulation and immunotoxicity of microplastics in the estuarine worm *Hediste diversicolor* in environmentally relevant conditions of exposure. *Environmental science and pollution research*, 27: 3574–3583. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3497-6>

Congrès

Mouneyrac C., Cachot J., Gasperi J., 2018. PLASTIC-Seine 2017-2020. Microplastic Flux and Impact on biota in the Seine estuary. Ocean Microplastics Issue and the bio-based plastics solution, Bruxelles, June 27, 2018 (guest speaker).

Alligant S., Tassin B., Gangnery A., Maheux F., Simon B., Halm-Lemeille M-P., Cachot J., Gasperi J., 2018 Microplastic contamination in the Seine estuary. Conférence Internationale Conference on Estuaries and Coasts 2018 (ICEC), Caen August 2018 (com oral)

Alligant S., Gasperi J., Gangnery A., Maheux F., Simon B., Halm-Lemeille M-P., Cachot J., Tassin B., 2018. Concentrations and morphology of microplastic in the Seine River estuary. MICRO2018: Fate and Impacts of Microplastics: knowledge, actions and solutions. Lanzarote 19-23 November 2018 (com oral)

Cachot J., Clérandeau C., Le Bihanic L., Vignet C., Morin B., Revel M., Mouneyrac C., Halm M.P, Gangnery A., Galgani F., Bégout M.-L., Cousin X., They J., Bialais C., Souissi S., Kazour M., Amara R., Dutertre M.A., Coulaud R., Tiphaine M., Xuereb B., Alligant S., Tassin B., Gaspéri J., 2018. The Plastic-Seine research program: integrated approach of microplastic fate and effects in the Seine Estuary. MICRO 2018: Fate and Impacts of Microplastics: knowledge, actions and solutions. Lanzarote 19-23 Novembre 2018 (poster)

Vignet C., Bégout M-L., Cachot J., Cousin X., 2018. Exposure to microplastic: ingestion/egestion rates and behavioural impact on *Solea solea*. MICRO2018: Fate and Impacts of Microplastics: knowledge, actions and solutions. Lanzarote 19-23 November 2018 (poster).

Messika Revel, Nadiia Yakovenko, Timothy Caley, Catherine Guillet, Amélie Châtel, Catherine Mouneyrac, 2018. Accumulation et immunotoxicité des microplastiques chez le ver estuarien *Hediste diversicolor* exposé en conditions environnementales. ECOBIM-Congrès du réseau international en écotoxicologie aquatique, 14ème colloque, Bordeaux (France), 22 au 25 mai 2018 (com. oral).

Messika Revel, Nadiia Yakovenko, Timothy Caley, Catherine Guillet, Amélie Châtel, Catherine Mouneyrac, 2018. Présence et immunotoxicité des microplastiques chez le ver estuarien *Hediste diversicolor* : approches in situ et expérimentales. Rencontre GDR écotoxicologie aquatique animale, Paris (France), 4 décembre 2018.

Cachot J., Clérandeau C., Le Bihanic F., Vignet C., Pannetier P., Misurale F., Pedriat Q., Morin B., Revel M., Mouneyrac C., Mouloud M., Châtel A., Perrein-Ettajani H., Bruneau M., Halm MP., Gangnery A., Galgani F., Bégout ML., Cousin X., Dreanno C., El Rakwe, Monsinjon T., Xuereb B., Alligant S., Tassin B., Gasperi J., 2019. PLASTIC-Seine : une première évaluation de la contamination et de l'impact des

microplastiques en estuaire de Seine. 15ème congrès international francophone en écotoxicologie aquatique, Sousse, 1 au 3 mai 2019 (com. oral)

Gasperi J., Alligant S., Tassin B., Revel M., Mouneyrac C., Halm MP., Gangnery A., Galgani F., Bégout M-L., Cousin X., Dreanno C., Rakwe M., Thery J., Bialais C., Souissi S., Kazour M., Amara R., Dutertre MA., Coulaud R., Monsinjon T., Xuereb B., Clérandeau C., Le Bihanic F., Vignet C., Pannetier P., Morin B., Cachot J., 2019. PLASTIC-Seine research project: Microplastic Flux and Impact on biota in the Seine estuary. SETAC Europe, 29th annual meeting, Helsinki, May 26-30, 2019 (com. oral)

Alligant S., Gasperi J., Tassin B., Gangnery A., Maheux F., Simon B., Halm-Lemille M-P., El Rakwe M., Dreanno C., Cachot J., 2019. Microplastic Contamination of Sediment and Water Column in the Seine River Estuary. μ MED, 2nd International Conference on Microplastic Pollution in the Mediterranean Sea. Capri, 15 - 18 September 2019 (com oral)

Cachot J., 2019. Impregnation and effects of microplastics on several representative species of the food web of the Seine estuary. French-American Workshop Responding to Plastic Pollution through Science: from research to action. Le Mans, December 12-13, 2019 (guest speaker).

Cachot J., C. Clérandeau, F. Le Bihanic, C. Vignet, P. Pannetier, F. Misurale, Q. Pedriat, B. Morin, M. Revel, C. Mouneyrac, M. Mouloud, A. Châtel, H. Perrein-Ettajani, M. Bruneau, M.P. Halm, A. Gangnery, M.L. Bégout, X. Cousin, C. Dreanno, M. El Rakwe, J. Thery, C. Bialais, S. Souissi, M. Kazour, R. Amara, M.A. Dutertre, R. Coulaud, T. Monsinjon, B. Xuereb, L. Boudahmane, C. Partibane, B. Grassl, S. Lecomte, J. Gasperi, 2020. Contamination and effects of microplastics in the Seine estuary's food web. First results from the Plastic-Seine research project. Micro2020, Lanzarote, 23-27 Novembre 2020 (poster)

Gasperi J., Dris R., Alligant S., Tramoy R., Halm-Lemille M.-P., Gangnery A., Cachot J., Tassin B., 2020. The fate of microplastics along salinity gradient and tidal cycles in a well-mixed estuary: a case study of the Seine estuary. Micro2020, Lanzarote, 23-27 Novembre 2020 (com. oral)

POUR PLUS D'INFORMATIONS SUR LE GIP SEINE-AVAL

www.seine-aval.fr

CONTACT

GIP Seine-Aval
Hangar C - Espace des Marégraphes
CS 41174
76176 ROUEN Cedex 1
Tél : 02 35 08 37 64
gipsa@seine-aval.fr

En cas d'utilisation de données ou d'éléments de ce rapport, il devra être cité sous la forme suivante :

Gaspéri J. & Cachot J. (coordinateurs), 2021. Projet Plastic-Seine : Flux et impacts des microplastiques dans l'estuaire de la Seine. Rapport de recherche du programme Seine-Aval 6, 118 p.

Le GIP Seine-Aval ne saurait être tenu responsable d'évènements pouvant résulter de l'utilisation et de l'interprétation des informations mises à disposition.

Pour tout renseignement, veuillez contacter le GIP Seine-Aval.

Les membres financeurs du GIP Seine-Aval sont :

