

## Mémoire

**Auteur** : Dogniez, Martin

**Promoteur(s)** : Gobert, Sylvie; 6680

**Faculté** : Faculté des Sciences

**Diplôme** : Master en océanographie, à finalité approfondie

**Année académique** : 2020-2021

**URI/URL** : <http://hdl.handle.net/2268.2/12870>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

Evaluation du potentiel bioindicateur de deux espèces d'holothuries, *Holothuria polii* et *Holothuria tubulosa*, en Méditerranée nord-occidentale : cas des éléments traces et des particules plastiques



---

Mémoire de fin d'études présenté en vue de l'obtention du grade de  
MASTER en Océanographie, à finalité approfondie

---

Année académique 2020-2021

Présenté par :

**DOGNIEZ Martin**

Sous la direction de :

**Dr. GOBERT Sylvie** (Promotrice)

**Dr. MARENGO Michel** (Co-promoteur)

*"Conformément aux règles imposées à la rédaction, ce mémoire ne doit pas dépasser 50 pages, rédigées en Times 12 ou équivalent"*

## Table des Matières

Table des Matières .....	i
Résumé.....	iii
Abstract .....	iv
I. Introduction .....	1
1. Avant-propos.....	1
2. Contaminants présents dans les écosystèmes benthiques méditerranéens .....	1
2.1. Les éléments traces .....	1
2.1.1. Origine des éléments traces présents dans les sédiments .....	1
2.1.2. Impact de la pollution par les éléments traces sur les organismes benthiques.....	3
2.2. Les déchets plastiques.....	4
2.2.1. Le problème global de la pollution plastique des océans.....	4
2.2.2. Interaction entre microplastiques et éléments traces.....	5
3. Les Holothuries.....	5
3.1. Description générale .....	5
3.1.1. Diversité et phylogénie .....	5
3.1.2. Morphologie générale .....	6
3.1.3. Cycle reproducteur .....	8
3.2 Ecologie .....	9
3.2.1 Place des holothuries dans les écosystèmes benthiques.....	9
3.2.2 <i>Holothuria tubulosa</i> et <i>Holothuria polii</i> , espèces méditerranéennes caractéristiques .....	10
4. Les holothuries comme témoins de la qualité des eaux corses .....	10
4.1 Propriétés des holothuries en tant qu'organismes bioindicateurs .....	10
4.2 Variabilité de l'accumulation des éléments traces par les holothuries.....	12
5. Buts de cette étude et hypothèses de départ.....	13
II. Matériel et méthode.....	13
1. Stratégie d'échantillonnage et zone d'étude .....	13
2. Dissection des holothuries .....	14
3. Identification des espèces en présence.....	15
4. Préparation des échantillons et analyse de leur teneur en éléments traces.....	16
5. Extraction et identification des microplastiques ingérés par les holothuries .....	17
6. Analyse des données .....	19
6.1. Eléments traces .....	19
6.2. Microplastiques.....	20
III. Résultats.....	21
1. Identification des espèces en présence.....	21
2. Accumulation des éléments traces au sein des holothuries.....	22

2.1	Tendance générale et identification du facteur à l'influence dominante.....	22
2.2	Variabilité de l'accumulation des éléments traces propre à chaque organe.....	25
2.2.1	Arbres respiratoires .....	25
2.2.2	Paroi du corps .....	26
2.2.3	Muscles mêlés au système ambulacraire.....	26
2.2.4	Système hémal .....	27
2.3	Evaluation de la charge en éléments traces des différents sites étudiés par le biais de l'indice TEPI ....	29
2.3.1	Variation spatiale de la charge en éléments traces en baie de Calvi .....	29
2.3.2	Variation temporelle de la charge en éléments traces en baie de Calvi .....	30
3.	Ingestion de plastique par les holothuries en baie de Calvi .....	30
3.1	Nombre de microplastiques ingérés par les holothuries sur les différents sites .....	30
3.2	Taille des microplastiques ingérés par les holothuries sur les différents sites .....	31
3.3	Types de microplastiques ingérés par les holothuries sur les différents sites .....	32
IV.	Discussion.....	34
1.	Identification des espèces d'holothuries en laboratoire .....	34
2.	Accumulation des éléments traces au sein des holothuries.....	34
2.1	Comparaison des teneurs en éléments traces des holothuries corses par rapport à d'autres populations méditerranéennes et évolution temporelle .....	34
2.2	Variabilité de l'accumulation des éléments traces au sein d' <i>Holothuria tubulosa</i> et <i>Holothuria polii</i> ..	37
2.2.1	Différences de concentrations en éléments traces entre les organes .....	37
2.2.2.	Variabilité interspécifique, spatiale et temporelle des concentrations en éléments traces au sein des différents organes.....	39
2.3	Utilisation de différents organes d'holothuries pour le calcul d'indices TEPI .....	43
3.	Les holothuries, indicateurs de la pollution plastique des sédiments.....	45
3.1	Contenu du tube digestif des holothuries en termes de débris plastiques .....	45
3.2	Différence de contenu du tube digestif des individus en fonction du site étudié.....	48
V.	Conclusion .....	50
	Remerciements.....	v
	Références bibliographiques.....	ix
	Liste des abréviations.....	xxvi
	Annexes .....	xxvii

## Résumé

Mer semi-fermée aux côtes affectées par une urbanisation grandissante, la Méditerranée est le réceptacle de nombreux polluants anthropiques. Parmi ceux-ci figurent les éléments traces (ET) et les microplastiques (MP), deux types de contaminants dont les sédiments représentent le compartiment d'accumulation privilégié. Tous deux peuvent pénétrer dans le corps des organismes marins et s'y accumuler, engendrant de nombreux désordres en leur sein lorsqu'ils sont présents en surabondance.

L'impact potentiel de ces contaminants et leur affinité pour les sédiments illustrent l'importance du développement d'outils de surveillance de la qualité de ces derniers, tels que les organismes bioindicateurs. De par leur association avec les sédiments et leur régime détritivore, les holothuries suscitent l'intérêt des chercheurs pour le monitoring de ce compartiment de l'environnement. Cependant, avant de les utiliser à cette fin, il reste nécessaire de mieux cerner la relation qu'elles entretiennent avec ces contaminants, afin de déterminer si elles peuvent refléter fidèlement l'état de leur écosystème.

Plusieurs spécimens d'*Holothuria tubulosa* et *Holothuria polii* ont donc été collectés lors de trois périodes distinctes sur trois sites de la Baie de Calvi afin de mesurer la concentration en ET de leurs organes dans le but d'étudier les facteurs influant sur ces concentrations. En parallèle, le contenu en MP du tube digestif des holothuries présentes sur chaque site a été comparé.

Les mesures effectuées confirment que l'organe est le facteur influant le plus sur les concentrations en ET. De plus, chaque organe se caractérise par une sensibilité différente aux sources de variabilité étudiées. Ainsi, la paroi du corps présente des concentrations minimales et homogènes en ET dans les deux espèces tout au long de l'année et ne reflète aucune différence entre les sites de collecte. A l'inverse, le système hémal enregistre les concentrations les plus élevées, supérieures au sein d'*H. polii*, avec une accumulation plus forte au niveau de la ferme aquacole de la baie de Calvi qu'à l'émissaire des eaux usées ou à proximité de STARESO, deux sites aux concentrations semblables. Les muscles mêlés au système ambulacraire enregistrent eux des variations périodiques de concentrations, maximales en période estivale. Enfin, la teneur en ET dans les arbres respiratoires ne varie qu'en fonction de l'espèce, avec des valeurs maximales pour *H. polii*. Ces observations montrent qu'en cas d'utilisation de ces organismes comme bioindicateurs, il sera crucial de choisir l'organe dont la sensibilité reflète au mieux les différences de contamination à mettre en évidence, que ce soit d'un point de vue spatial ou temporel.

La majorité des nombreux déchets plastiques extraits du tube digestif des holothuries appartient à la catégorie des MP, avec une large dominance de fibres et de filaments. Les holothuries collectées au niveau de la ferme aquacole ingèrent plus d'items, tandis que celles résidant à l'émissaire se démarquent par l'ingestion de gommes et de fragments de plastiques, ainsi que par une taille des déchets ingérés supérieure. Ces résultats confirment la propension des holothuries à ingérer de nombreux débris plastiques d'une manière qui reflète le degré d'anthropisation de leur habitat, mais aussi leur potentiel comme bioindicateurs de la pollution plastique des sédiments.

## Abstract

As a semi-enclosed sea affected by a growing coastal urbanization, the Mediterranean is the recipient of numerous anthropic pollutants. These include trace elements (TE) and microplastics (MP), two different types of contaminants who share a common affinity for sediments. Both of them can enter and accumulate in marine organisms, causing metabolic disorders when present in excessive amounts.

The potential impact of these two types of contaminants combined with their association with sediments highlight the importance of developing accurate tools of surveillance for this compartment of the marine environment, such as bioindicator species. Due to their proximity with sediments and to their feeding mode relying on detritus, sea cucumbers have been raising the interest of scientists for the monitoring of marine sediments. However, to be able to make use of the bioindicator qualities of these animal, it is crucial to better understand their relationship with the two contaminants mentioned, in order to ascertain that they reflect accurately the contamination status of their habitat.

Therefore, several specimens of *Holothuria tubulosa* and *Holothuria polii* were collected during three periods of the year at three locations in the Bay of Calvi to measure the concentration in TE of their organs, with the aim of identifying the factors influencing these concentrations. In the meantime, the microplastic stomachal content of the sea cucumbers collected on the different sites was compared.

This work confirms that the organ chosen for the TE analysis is the main factor influencing their concentrations. Moreover, every organ displays a different sensitivity to the sources of variability considered. Thus, the bodywall of sea cucumbers displays the lowest TE concentrations, which are homogenous between species at any time of the year and for each sampling site. On the opposite, these concentrations are the highest in the haemal system, especially in *H. polii*, particularly at the fish farm compared to the sewage system exit or to the STARESO station. Muscles mixed with the water vascular system record periodic variations in TE concentrations, with the highest values in summer. Finally, the concentrations measured in the respiratory trees only differ according to species, with the highest values in *H. polii*. In future studies using these animals as bioindicators, it will be crucial to select the organ whose sensitivity reflects best the difference in contamination that has to be highlighted, either from a temporal or from a spatial perspective.

The majority of the numerous plastic debris extracted from sea cucumbers guts belonged to the class of MP, with a large dominance of fibers and filaments. Individuals collected near the fish farm ingest more plastic items, whereas those living near the exit of the sewage systems stand out from the ingestion of rubbers and fragments, as well as from a higher mean length of the ingested items. These results confirm the tendency of sea cucumbers to ingest numerous plastic debris in a way that reflects the degree of human pressure on their habitat as well as the potential of sea cucumbers as bioindicators of plastic pollution in sediments.

# I. Introduction

## 1. Avant-propos

Mer semi-fermée affectée par une urbanisation grandissante de ses côtes, la Méditerranée est le réceptacle de très nombreux polluants d'origine anthropique. Parmi ces derniers figurent une grande quantité de déchets plastiques (730 t de rejets par jour) qui représentent 95 à 100 % des déchets marins flottants et 50 % des déchets qui jonchent le fond de cette mer, ainsi que des quantités importantes d'éléments traces, avec un impact important sur les sédiments côtiers (PNUE/PAM et Plan Bleu, 2020).

## 2. Contaminants présents dans les écosystèmes benthiques méditerranéens

### 2.1. Les éléments traces

#### 2.1.1. Origine des éléments traces présents dans les sédiments

Les sources d'éléments traces (ET), métalliques ou non, présents dans les écosystèmes marins et terrestres, appartiennent à deux grandes catégories : les sources naturelles et les rejets d'origine anthropique (Callender, 2003; Nriagu, 1990).

Une grande partie des ET naturellement présents dans l'environnement sont issus des roches de la croûte terrestre. Ces éléments peuvent être expulsés dans l'atmosphère à travers l'activité volcanique ou être mobilisés via météorisation ou érosion des roches (Callender, 2003; Webb et al., 2020) et s'adjoindre à ceux présents dans les aérosols marins ou rejetés lors de feux de forêts (Nriagu, 1990). Par ailleurs, les sources biogéniques présenteraient une contribution majeure dans l'émission de certains ET (Cd, Pb et Hg), notamment à travers l'intervention de certaines bactéries dans la production de formes méthylées de ces éléments ou dans celle de minerais riches en éléments traces métalliques (ETM) (Nriagu, 1990; Polgári et al., 2019; Pongratz & Heumann, 1999). Les ET relâchés dans l'environnement via ces différentes voies peuvent ensuite parvenir jusqu'au milieu marin, soit depuis l'atmosphère via transport éolien, soit par ruissellement direct, soit indirectement via les rivières et fleuves (Callender, 2003). Bien entendu, lors de ce processus de transport, les ET issus d'activités humaines détaillées ci-après peuvent venir s'adjoindre à ceux résultant de la mobilisation naturelle des ET (Salomons & Forstner, 1984).

Il est désormais établi que les émissions anthropiques de certains ET peuvent surpasser les émissions naturelles, et ce avec des rapports variant de trois à vingt-huit entre ces deux origines en fonction des éléments (Nriagu, 1990). Depuis plusieurs dizaines d'années, les observations de concentrations anormalement élevées d'ET en milieu aquatique se multiplient. Beaucoup d'entre elles partagent une proximité avec des sites fortement anthropisés soumis à l'influence de rejets urbains, industriels, miniers ou pétroliers (Breuer et al., 2004; Celis-Hernandez et al., 2020; Gaiero et al., 2002; Gaudry et al., 2007; González-Wangüemert et al., 2018; Panseriya et al., 2020; Rastegari Mehr et al., 2020), dont les



émissions sont capables d'impacter des écosystèmes distants de plusieurs centaines de kilomètres, principalement via transport atmosphérique (Mihajlidi-Zelić et al., 2006; Strzelec et al., 2020).

Trois catégories d'activités sont responsables de la majorité des émissions anthropiques d'ET vers l'environnement :

- L'industrie métallifère, aussi bien au niveau de l'extraction que de la fusion et du raffinage (Nriagu, 1990), qui rejette dans l'atmosphère des poussières et des gaz chargés en ET se déposant ensuite sur le sol, mais aussi des eaux usées qui parviennent dans les cours d'eau par ruissellement (Callender, 2003).

- L'utilisation et la production de combustibles fossiles, tels que le charbon et le pétrole, contenant de nombreux éléments traces métalliques (ETM) (Nriagu, 1990), qui entraînent d'importants rejets à travers leur combustion (Mudiaga et al., 2011; Schaule & Patterson, 1981; Szyrkowska et al., 2018), leur extraction à partir des mines de charbon et des forages offshore, leur traitement dans les raffineries implantées en bord de mer mais aussi à travers les nombreux dégazages intempestifs des navires (Breuer et al., 2004; Sharifuzzaman et al., 2016).

- La manufacture d'objets métalliques, et plus particulièrement dans le cas des écosystèmes marins, celle des navires qui sillonnent les océans (Nriagu, 1990; Sharifuzzaman et al., 2016). Le contact permanent de leur coque, riche en ETM, avec l'eau de mer entraîne un transfert lent et inévitable de ces ET vers l'environnement aquatique (Carić et al., 2016; Richir et al., 2021; Whitfield, 2014). Richir et al. (2021) estiment que les peintures antifouling seules étaient responsables en 2020 du rejet de  $94 \text{ t.an}^{-1}$  de Cu dans le bras de mer du Solent, soit le double des apports directs et fluviaux pour la Manche sur la même période, ou encore le tiers des mêmes apports vers l'ensemble des eaux côtières anglaises. Ces peintures étaient aussi la source du rejet de  $27 \text{ t.an}^{-1}$  de Zn, ce qui représente 10% de la quantité totale de cet élément entrant annuellement dans la Manche. Selon ces mêmes chercheurs, les rejets de Zn lors de la dégradation des anodes sacrificielles des navires de la flotte récréative anglaise seraient d'un ordre de grandeur supérieur à ceux issus des peintures antifouling, avec environ  $908 \text{ t.an}^{-1}$ . Enfin, une fois arrivés en fin de vie, les navires sont la source de nombreux rejets d'ETM et autres produits toxiques lors de leur démantèlement dans les chantiers de démolition souvent situés dans des pays émergents aux normes antipollution rudimentaires (Khan & Khan, 2003; Neşer et al., 2008; Tewari et al., 2001).

Enfin, mais dans une moindre mesure, le traitement et le rejet des eaux usées fortement contaminées par les ET (González-Fernández et al., 2011; Karvelas et al., 2003; Panseriya et al., 2020; Rastegari Mehr et al., 2020) et l'utilisation d'intrants (insecticides, fongicides, fertilisants ou boues de stations d'épuration) riches en ET dans le milieu de l'agriculture intensive (Diamantopoulou et al., 2019; He et al., 2005; Nriagu & Pacyna, 1988), sont également des sources non-négligeables d'ET pour les écosystèmes aquatiques, soit par rejet direct, soit par lessivage et ruissellement depuis les zones traitées.

### 2.1.2. Impact de la pollution par les éléments traces sur les organismes benthiques

La plupart des ET, essentiels ou non-essentiels, acquièrent un caractère toxique lorsqu'ils sont présents en concentrations trop importantes dans l'organisme (National Research Council (US) Committee on Diet and Health, 1989; Nordberg et al., 2007; Wada, 2004). Or, de nombreuses études font état de la présence excessive d'ET dans le milieu marin, aussi bien dans la colonne d'eau (Mirzoeva et al., 2020; Tzempelikou et al., 2021) que dans les sédiments (Ra et al., 2014; Sadiq, 2002; Sany et al., 2013), avec des concentrations dépassant les limites recommandées par les agences environnementales locales ou l'OMS. Contrairement aux polluants organiques, les ET sont non dégradables, ce qui accentue le problème de leur surabondance puisque les seuls processus permettant la séquestration, au moins temporairement, des ET depuis la colonne d'eau sont l'absorption par les organismes vivant dans le milieu ou l'adsorption sur la matière particulaire, vivante ou non, qui finit par sédimenter. Aucune de ces formes de stockage n'est éternelle et les ET sont *in fine* susceptibles d'être relâchés à nouveau dans l'environnement (Richir, 2016). En milieu marin, les sédiments représentent le compartiment privilégié d'accumulation des ET, avec des concentrations pouvant excéder celles présentes dans la colonne d'eau de plusieurs ordres de grandeur (Bryan & Langston, 1992), et ce même plusieurs dizaines d'années après que la source à l'origine de la contamination ait disparu (Temara et al., 1997). Ces quantités importantes d'ET stockés dans les sédiments peuvent être remobilisées et libérées dans la colonne d'eau à la suite de changements dans la chimie de l'environnement marin (Förstner, 1979). Dès lors, certains organismes risquent d'absorber directement de grandes quantités d'ET chargés positivement par diffusion passive depuis la colonne d'eau (Davies, 1978; Sfakianakis et al., 2015; Szyrkowska et al., 2018). Cette voie de contamination vient s'ajouter à l'absorption d'ET par les organismes via leur alimentation, que ce soit par la capture de particules riches en ET dans le cas d'organismes suspensivores résidant à proximité de la surface du sédiment (e Silva et al., 2006) ou par ingestion directe du sédiment dans le cas d'organismes détritivores vivant dans ou à la surface du sédiment (Tan et al., 2013; Temara et al., 1997).

Dix ET sont référencés comme particulièrement délétères pour la vie marine lorsque présents en surabondance dans l'environnement marin : le Hg, le Cd, l'Ag, le Ni, le Se, le Pb, le Cu, le Cr, l'As et enfin le Zn (Ketchum et al., 1975). De très nombreuses études ont constaté différents troubles induits chez les animaux ou végétaux marins exposés à des quantités excessives de ces ET (Akpiri et al., 2017; Davies, 1978; Gharred et al., 2016; Gillmore et al., 2020; Johnson et al., 2007; Ki et al., 2009; Llagostera et al., 2016; Novelli et al., 2003; Radenac et al., 2001; Roccheri et al., 2004; Sfakianakis et al., 2015; Silva et al., 2017; Yu et al., 2016). Les holothuries ne sont pas épargnées par ces troubles. Ceux-ci peuvent prendre la forme d'altérations de l'état oxydatif des concombres de mer exposés de manière chronique à toute une série d'ET (JunFeng et al., 2014; Z. Li et al., 2018; Telahigue et al., 2019; Wang et al., 2015, 2016), de désordres du métabolisme énergétique (L. Li et al., 2016) ou encore d'une diminution du taux de croissance et de survie des concombres de mers exposés chroniquement à de

hautes doses d'ET (JunFeng et al., 2014; L. Li et al., 2016; Z. Li et al., 2018). Enfin, certaines études expérimentales ont révélé la tendance de ces animaux à accumuler les ET dans leurs tissus lorsqu'ils sont présents en quantités anormales dans le milieu (Z. Li et al., 2018; Montgomery & Price, 1979; Wang et al., 2015, 2016).

## 2.2. Les déchets plastiques

### 2.2.1. Le problème global de la pollution plastique des océans

Depuis le début de sa production de masse dans les années 1950, la quantité de plastique fabriquée annuellement a augmenté de façon exponentielle, passant d'environ  $2.10^6$  t à  $359.10^6$  t en 2019 (PlasticsEurope, 2020; Ritchie & Roser, 2018). Cette production effrénée est la source de nombreux déchets dont une proportion considérable finit chaque année dans les océans (Andrady, 2011; Thompson, 2006). Le faible poids et la durabilité du plastique rendent ces déchets extrêmement problématiques (Ryan et al., 2009; Wright et al., 2013). Ces caractéristiques permettent leur dispersion sur de grandes distances et leur accumulation prolongée dans l'environnement (Andrady, 2015; Galgani et al., 2006). Malgré leur durabilité, ces déchets plastiques sont soumis à des processus de dégradation qui conduisent à leur morcellement (Andrady, 2011). Les débris plastiques peuvent être classés en quatre catégories selon leur taille : méga-débris (> 100 mm), macro-débris (20-100 mm), méso-débris (5-20 mm) et micro-débris (< 5 mm) (Barnes et al., 2009). Les microplastiques (MP) secondaires issus de la dégradation de plastiques de taille plus importante côtoient des MP primaires qui sont produits directement afin de servir à la fabrication d'éléments plastiques plus imposants (Cole et al., 2011).

Les MP sont sans doute les débris plastiques les plus préoccupants. En effet, en plus d'être présents flottant à la surface de nombreux océans avec d'autres débris de taille plus importante (Cozar et al., 2014; Law et al., 2010), ils sont aussi observés dans des zones de l'océan plus reculées telles que les pôles ou l'océan profond (Bergmann et al., 2017; Collard et al., 2021; Courtene-Jones et al., 2020; Thompson, 2004; Woodall et al., 2014), et notamment dans les sédiments qui semblent représenter l'un des plus grands réservoirs d'accumulation des MP dans l'océan.

La préoccupation actuelle envers la présence de MP dans les océans, et en particulier dans les sédiments, s'explique notamment par ses nombreux effets délétères sur la faune marine. En effet, de par leur abondance et leur taille réduite, de nombreux organismes marins, aussi bien détritivores associés au sédiment que suspensivores dépendant des particules de la colonne d'eau, sont susceptibles de les ingérer (Lusher, 2015), ce qui engendre de nombreux désordres métaboliques (Wang et al., 2020; Zhang et al., 2020). De plus, la taille très réduite de certaines particules permet leur translocation depuis le tube digestif des animaux affectés vers d'autres organes (Brennecke et al., 2015; Browne et al., 2008). Il est maintenant établi que ces MP peuvent s'accumuler dans le corps des animaux soumis à cette pollution et entraîner un phénomène de biomagnification le long de nombreuses chaînes alimentaires (Farrell &

Nelson, 2013; Nelms et al., 2018). C'est pourquoi il n'est pas rare de retrouver d'importantes quantités de plastique dans l'organisme de top prédateurs, ce qui peut entraîner une exposition des populations consommant ces animaux à des doses de plastique potentiellement dangereuse pour la santé (Prata et al., 2020; Thompson et al., 2009).

### 2.2.2. Interaction entre microplastiques et éléments traces

Le plastique est capable d'accumuler de nombreux contaminants à sa surface, ce qui explique une partie de effets délétères observés chez les animaux marins qui l'ingèrent (Bowmer & Kershaw, 2010). Ces polluants peuvent être aussi bien des additifs utilisés dans la fabrication du plastique lui-même, présents à la surface des débris plastiques (Andrady, 2011; Wang et al., 2017), que des polluants rejetés dans l'environnement marin (Rochman, 2015).

L'analyse de MP collectés en milieu marin montre des niveaux d'accumulation en ET à leur surface similaires voire supérieurs aux concentrations environnementales (Munier & Bendell, 2018; Rochman et al., 2014; Wang et al., 2017), un phénomène confirmé par plusieurs études expérimentales (Brennecke et al., 2016; L. A. Holmes et al., 2014). Pourtant, les ET en milieu marin ont un caractère résolument hydrophile, ce qui suggère une faible affinité pour les MP et leur surface hydrophobe (Ashton et al., 2010; Fotopoulou & Karapanagioti, 2012; L. A. Holmes et al., 2014). Cette association s'explique par les nombreuses modifications de la polarité de la surface des MP pouvant intervenir en milieu marin. En effet, tout au long de leur séjour dans l'océan, les plastiques se couvrent peu à peu d'un biofilm qui confère à leur surface une charge nette négative. Cette charge négative va alors permettre l'adsorption de particules chargées positivement telles que les ETM (Ashton et al., 2010; Bradney et al., 2019; L. A. Holmes et al., 2014). Finalement, les MP ayant accumulés ces ET vont permettre leur dispersion sur de longues distances ou exposer les organismes qui les ingèrent à une contamination (Brennecke et al., 2016). Cependant, si certaines études montrent une bonne corrélation entre la présence de MP contaminés et la concentration en ET au sein des organismes, d'autres pointent une relation minime voire même inverse entre ces concentrations et l'ingestion de plastique (Bradney et al., 2019). Pareillement, la présence d'ET en association avec des particules de plastique a parfois montré des signes de moindre toxicité par rapport à la présence seule d'ET dans l'environnement (Davarpanah & Guilhermino, 2015). De plus amples recherches sont nécessaires pour mieux cerner les interactions entre la pollution plastique et celle liée aux ET ainsi que les conséquences potentielles sur l'environnement.

## 3. Les Holothuries

### 3.1. Description générale

#### 3.1.1. Diversité et phylogénie

Les holothuries, aussi appelées concombres de mer, sont des animaux appartenant à l'embranchement des échinodermes qui regroupe cinq classes distinctes : les Crinoidea, les Ophiuroidea, les Asteroidea,

les Echinoidea et enfin les Holothuroidea ou concombres de mer (Janies, 2001). Tous les organismes de ces cinq ordres partagent plusieurs caractéristiques. Premièrement, leur corps est organisé selon une symétrie pentaradiaire. Deuxièmement, ils sont pourvus de plaques ou de spicules calcaires situés au sein de leur derme. Troisièmement, ils possèdent un appareil aquifère aussi appelé système ambulacraire, constitué de canaux renfermant un liquide à la composition proche de l'eau de mer et qui remplit des fonctions de locomotion, de nutrition et de défense immunitaire. Enfin, la paroi de leur corps renferme un type de tissus conjonctifs très particulier, appelé « conjonctif variable », dont le caractère extrêmement flexible permet à ces animaux de modifier rapidement leur forme et leur rigidité (Samyn et al., 2006). La classe des Holothuroidea est elle-même subdivisée en sept ordres reprenant 31 familles et 238 genres différents. Au total, plus de 1700 espèces appartenant à cette classe ont été décrites aujourd'hui (WoRMS, 2021). Les espèces qui feront l'objet de ce mémoire, *Holothuria tubulosa* et *Holothuria polii* sont, quant à elles, reprises dans le genre *Holothuria* (Holothuriida : Holothuriidae).

### 3.1.2. Morphologie générale

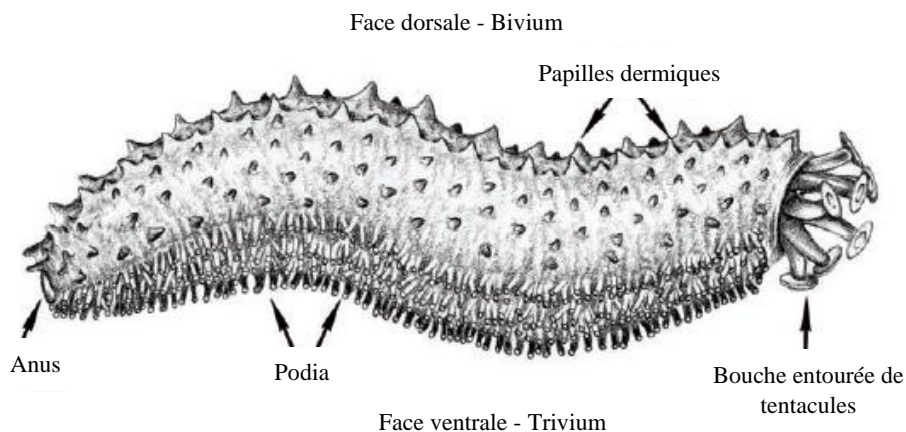


Fig. 1 : Anatomie externe d'une holothurie aspidochirote (Samyn et al., 2006).

Les holothuries sont des échinodermes caractérisés par un corps cylindrique à la symétrie bilatérale marquée venant se superposer à la symétrie pentaradiaire (Fig. 1). La taille des holothuries varie énormément, de quelques millimètres à plus d'un mètre pour certaines espèces (Samyn et al., 2006). La paroi de leur corps comprend, de l'extérieur vers l'intérieur, une fine cuticule entourant un épiderme apposé sur un derme très épais composé de ce « conjonctif variable » caractéristique renfermant de nombreux spicules calcaires (Purcell et al., 2012). La morphologie des spicules varie d'une espèce à l'autre et est un critère important pour l'identification des espèces (Samyn et al., 2006). Enfin, la paroi du corps est bordée intérieurement par une couche de muscles cylindriques (Tortonese & Vadon, 1987).

Le système ambulacraire des holothuries est constitué de cinq canaux radiaires parcourant l'animal sur toute sa longueur. Ces canaux sont reliés à un anneau aquifère périoesophagien proche de la bouche (Tortonese & Vadon, 1987). Cet anneau est connecté à une ou plusieurs vésicules de Poli (Fig. 2) ainsi qu'à une plaque madréporique via le canal du sable. Contrairement à d'autres échinodermes, cette plaque

madréporique débouche directement dans la cavité cœlomique de l'animal (Samyn et al., 2006). Ce système ambulacraire est également constitué de très nombreux diverticules des canaux radiaires terminés par de petites ventouses appelées podia permettant à l'animal de se mouvoir. Au niveau de la bouche, on retrouve une série de podia modifiés constituant des tentacules de forme variable selon les espèces et servant à la nutrition. Chaque tentacule, qui communique avec l'anneau aquifère via les canaux tentaculaires, est relié à une ampoule de stockage du liquide ambulacraire (Fig. 2) (Tortonese & Vadon, 1987). Chaque canal radiaire est entouré de muscles longitudinaux reliés antérieurement à un anneau calcaire périoesophagien et postérieurement au cloaque. Les ensembles formés par chaque canal radiaire portant les podia et par les muscles longitudinaux adjacents délimitent cinq zones ambulacraires séparées par autant de zones interambulacraires. La partie ventrale des holothuries comprend trois zones ambulacraires formant le trivium qui peut être légèrement aplati pour constituer une sole de reptation. Les deux zones ambulacraires dorsales forment quant à elles le bivium, dont les podia dépourvus de ventouses constituent de petites structures coniques nommées papilles (Fig.1) (Samyn et al., 2006).

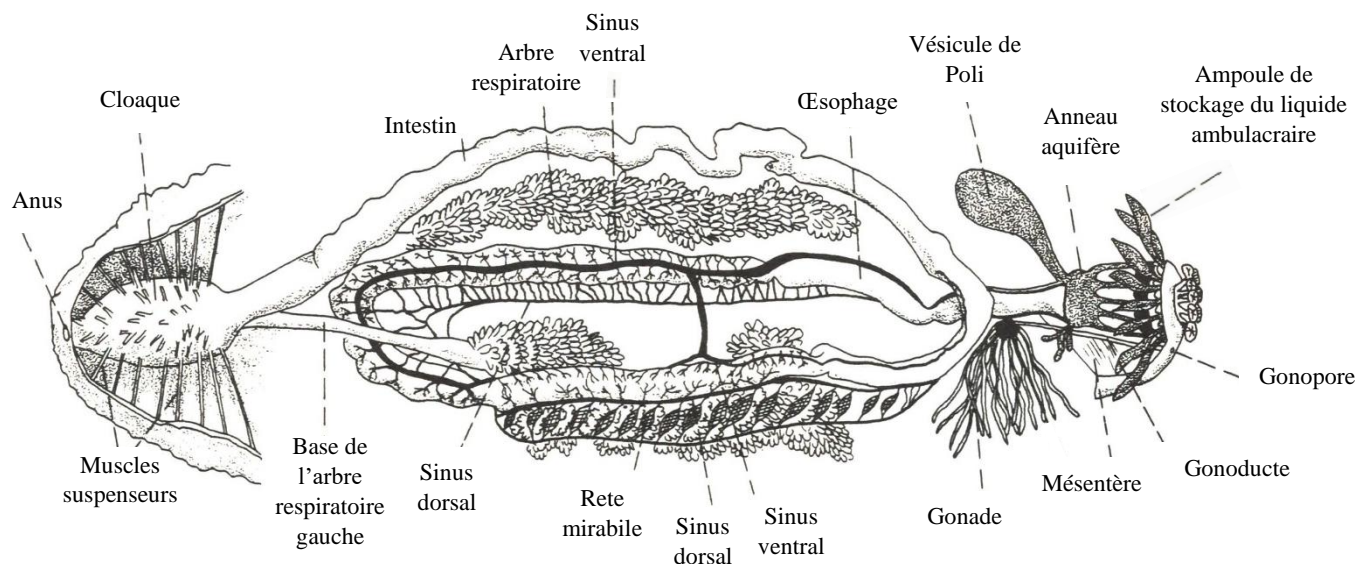


Fig. 2 : Anatomie interne d'*Holothuria tubulosa* (Cuénot, 1948).

A l'intérieur du corps des holothuries se situe une vaste cavité cœlomique remplie de liquide à la composition proche de l'eau mer contenant des cellules spécialisées nommées cœlomocytes. C'est dans cette cavité que baignent la majorité des organes de l'animal, à commencer par son tube digestif. Ce dernier, volumineux et contourné, est suspendu à la paroi du corps par de nombreux mésentères. Ce tube digestif se termine par un cloaque intervenant dans l'élimination des déchets de la digestion mais aussi dans la respiration de l'animal via deux structures appelées arbres respiratoires qui y sont reliées (Fig. 2). Ces deux organes ramifiés et gorgés d'eau et permettent l'oxygénation de l'animal grâce à l'interaction avec le système circulatoire nommé système hémal (Tortonese & Vadon, 1987). Ce dernier est notamment constitué de deux sinus principaux, l'un ventral et l'autre dorsal, qui courent le long du tube digestif. Le sinus dorsal forme un fin réseau de capillaires ramifiés, le « rete mirabile », étroitement associé avec l'arbre respiratoire gauche (Fig. 2) (Herreid et al., 1976). Ce système hémal va, entre autres,

participer à l'absorption des nutriments, à l'excrétion des déchets métaboliques et à l'oxygénation de l'organisme (Ferguson, 1982). Certaines espèces du genre *Holothuria* sont caractérisées par la présence de « tubes de Cuvier » reliés à la partie terminale des arbres respiratoires. Ces organes collants riches en molécules cytolytiques nommées « saponines », également présentes en plus faibles concentrations sur la peau de l'animal, peuvent être expulsés par le cloaque de l'holothurie en cas d'agression (Bakus, 1968; Van Dyck et al., 2011). La présence ou l'absence de ces tubes, comme c'est le cas chez *H. tubulosa* et *H. polii*, représente un critère d'identification important pour les holothuries du genre *Holothuria* (Tortonese & Vadon, 1987).

La cavité cœlomique renferme également les gonades de l'animal. Chez les holothuries, les sexes sont généralement séparés. Les gonades sont présentes sous la forme d'une ou deux touffes ramifiées de tubules de couleur variable. Elles se situent au niveau de la zone interambulacraire dorsale et débouchent sur l'extérieur via un ou deux gonopores situés dorsalement juste en arrière des tentacules buccaux (Fig. 2) (Tortonese & Vadon, 1987). La taille des gonades varie fortement en fonction de l'état de maturité sexuelle de l'animal et du moment de l'année (Bulteel et al., 1992). Par ailleurs, les holothuries ne présentent habituellement pas de dimorphisme sexuel, que ce soit extérieurement ou, en dehors de leur période de maturité maximale, au niveau de l'aspect de leurs gonades. Dès lors, seul l'examen des gonades à l'aide d'un microscope permet d'identifier avec certitude le sexe des individus (Purcell et al., 2012; Samyn et al., 2006; Tahri et al., 2019).

### 3.1.3. Cycle reproducteur

*Holothuria tubulosa* et *Holothuria polii* sont des animaux gonochoriques (Bardanis & Batjakas, 2018; Despalatović et al., 2004; Slimane-Tamacha et al., 2019). La fécondation est externe et a lieu après que les individus mâles et femelles aient relâché simultanément leurs gamètes dans la colonne d'eau via leurs gonopores (Samyn et al., 2006). Leur cycle reproducteur est annuel et peut être subdivisé en cinq phases distinctes qui se succèdent de manière relativement synchrone entre les deux espèces (Despalatović et al., 2004; Gaudron et al., 2008; Slimane-Tamacha et al., 2019; Tahri et al., 2019). Ainsi, leurs gonades arrivent à pleine maturité au début de l'été, un statut qui se traduit par un index gonadique très élevé. La ponte prend place à la fin de cette saison, pour aboutir au début de l'automne à des individus aux gonades atrophiées. La croissance de celles-ci reprend ensuite petit à petit au cours de l'automne et de l'hiver, avant de s'accélérer brusquement au printemps, comme en témoigne l'augmentation rapide de leur indice gonadique à cette période (Bardanis & Batjakas, 2018; Kazanidis et al., 2014; Tahri, 2015; Tahri et al., 2019).

De nombreux facteurs régulent le déroulement du cycle reproducteur des holothuries, notamment: la température, l'intensité lumineuse, la photopériode, le cycle lunaire, le cycle des marées, la disponibilité en nourriture ainsi que la modification des caractéristiques de celle-ci (Conand, 1993; Gianasi et al., 2019; Hamel & Mercier, 1996; Mercier & Hamel, 2009a; Ramofafia et al., 2000). Les études menées

sur le lien entre les facteurs environnementaux et le cycle reproducteur d'*H. tubulosa* indiquent une corrélation claire entre l'augmentation de la température de l'eau et l'augmentation de l'index gonadique chez ces espèces, suggérant la prépondérance de ce facteur sur le contrôle de leur cycle reproducteur (Despalatović et al., 2004; Kazanidis et al., 2014; Tahri et al., 2019).

## 3.2 Ecologie

### 3.2.1 Place des holothuries dans les écosystèmes benthiques

Les holothuries appartenant à l'ancien ordre des Aspidochirotés (qui regroupait des espèces appartenant aujourd'hui aux ordres des Holothuriida, des Synallactida ainsi qu'à celui des Persiculida) sont des organismes détritivores qui ingèrent la partie superficielle du sédiment afin de se nourrir de la matière organique morte qu'il contient mais aussi des microorganismes associés (Massin & Jangoux, 1976). Beaucoup de ces animaux ingèrent indifféremment les sédiments de toutes granulométries mais sont capables de sélectionner ceux dont la richesse en matière nutritive est maximale (Slater et al., 2011). Cela se manifeste notamment par une migration des holothuries vers les zones où le sédiment est le plus riche en matière organique ou par une ingestion préférentielle au sein d'une même zone des particules au contenu en carbone et en azote le plus élevé (Zamora & Jeffs, 2011). Cette sélection pourrait s'effectuer grâce à la présence de chémorécepteurs au sommet des tentacules des holothuries, sous la forme de bourgeons sensoriels regroupés dans des papilles dermiques (Bouland et al., 1982; Costelloe & Keegan, 1984). De plus, en l'absence de quantité suffisante de sable, certaines holothuries peuvent se nourrir de débris de macrophytes marines tels *P. oceanica* (Massin & Jangoux, 1976).

Cette activité de détritivore généraliste confère aux holothuries une importance cruciale dans les écosystèmes sédimentaires benthiques et va influencer plusieurs caractéristiques des sédiments, comme la taille moyenne des particules sédimentaires (Coulon & Jangoux, 1993). Par ailleurs, l'alimentation des holothuries dépositives est la source d'une bioturbation intense. Les concombres de mer vivant à la surface du sédiment peuvent modifier la stabilité des environnements sédimentaires en participant à la mise en suspension de particules potentiellement riches en éléments nutritifs dans la colonne d'eau, contribuant ainsi au développement de communautés d'organismes filtreurs adaptés aux conditions turbides présentes dans les environnements sédimentaires remaniés par les holothuries (Rhoads & Young, 1971). L'export de matière organique depuis les profondeurs des sédiments vers leur surface par les holothuries fouisseuses ainsi que l'oxygénation accrue du sédiment induite par la bioturbation liée à leur activité vont également augmenter les taux de reminéralisation de la matière organique enfouie. La digestion de la matière organique morte riche en protéines par les holothuries va participer directement au recyclage de l'azote organique en azote minéral, notamment via l'excrétion d'ammonium exploitable par les producteurs primaires (Hughes et al., 2016). Enfin, l'ingestion des sédiments par les holothuries semble promouvoir le développement des bactéries dans les sédiments ayant transité par leur tube



digestif (Amon & Herndl, 1991). L'ensemble de ces activités explique sans doute pourquoi ces animaux sont souvent qualifiés de « vers de terre de la mer ».

### 3.2.2 *Holothuria tubulosa* et *Holothuria polii*, espèces méditerranéennes caractéristiques

*H. tubulosa* et *H. polii*, sont, comme la majorité des Aspidochirotés, deux espèces détritivores. Elles sont extrêmement communes le long des côtes méditerranéennes, en plus d'être présentes le long de la côte atlantique nord-est et dans la Manche (Francour, 1989; Koehler, 1921). Avec *Parastichopus regalis* et *H. mamata*, elles font partie des quelques espèces commercialement exploitées en Méditerranée (González-Wangüemert et al., 2018), principalement le long des côtes turques, et ce depuis la fin des années 1990 (Aydin, 2008). Cette pratique n'est pas sans conséquence pour les populations turques de ces deux espèces, qui sont caractérisées par une perte des individus les plus imposants ainsi que par une diversité génétique réduite par rapport aux populations résidant dans des zones où cette pêche n'est pas pratiquée (González-Wangüemert et al., 2018). Malgré ces quelques signaux localement inquiétants, les populations de *H. tubulosa* et *H. polii* ailleurs en Méditerranée semblent dans un état suffisamment bon pour que l'IUCN les classe dans la catégorie « Least Concern » (Mercier, 2013; Samyn, 2013).

Ces deux espèces sont observées dès un ou deux mètres jusqu'à plus d'une centaine de mètres de profondeur. En Méditerranée, elles affectionnent les fonds sableux à proximité des herbiers de *Posidonia oceanica* auxquels elles se mêlent volontiers. Elles peuvent également être trouvées sur des substrats rocheux ou encore à découvert sur les grandes étendues de sable, pour autant que le régime hydrodynamique ne soit pas trop agité (Massin & Jangoux, 1976). *H. tubulosa* est ainsi considérée comme le plus gros invertébré détritivore associé aux herbiers de posidonies. La taille des individus de cette espèce tend à augmenter avec la profondeur. Les individus plus imposants résident souvent dans des endroits « ouverts », tandis que les plus petits, résidant à des profondeurs moindres, préfèrent généralement s'abriter au sein des herbiers (Bulteel et al., 1992).

Ce mode de vie détritivore, en contact permanent avec le sédiment, expose ces holothuries aux nombreux contaminants d'origine humaine présents ce compartiment de l'environnement marin (León et al., 2021). Parmi ces derniers, les ET et les MP figurent en bonne place.

## 4. Les holothuries comme témoins de la qualité des eaux corses

### 4.1 Propriétés des holothuries en tant qu'organismes bioindicateurs

Les holothuries possèdent de nombreuses caractéristiques les désignant comme potentiels organismes bioindicateurs. Ainsi, leur capacité à accumuler d'importantes quantités d'ET depuis leur environnement sans que cela n'entraîne leur mort mais également leur statut de détritivore sédentaire et leur abondance dans les écosystèmes benthiques méditerranéens suggèrent une potentielle utilisation de leur caractère bioaccumulateur en tant qu'indicateur d'une éventuelle pollution des sédiments par les ET (Parra-Luna et al., 2020; Zhou et al., 2008). La longévité des holothuries, allant de cinq à dix ans (Kelly, 2005; Sloan,

1984), permettrait d'évaluer l'état de contamination du système au long terme, puisque les analyses conduites sur ces organismes vont refléter leur exposition aux contaminants sur toute leur durée de vie. A l'inverse, la mesure directe des concentrations en ET dans la colonne d'eau, qui sont en plus caractérisées par des variations importantes à court terme, représente une image ponctuelle de la situation (Rainbow, 1995; Richir, 2016). La situation est un peu différente dans les sédiments où les concentrations en ET sont souvent bien supérieures et moins variables que dans la colonne d'eau (Rainbow, 1995). Cependant, un problème subsiste puisqu'une mesure directe de la concentration en ET dans les sédiments ne tiendra pas compte de la différence de biodisponibilité entre les nombreuses formes sous lesquelles ils sont présents (Richir, 2016). L'utilisation de ces organismes bioindicateurs aurait l'avantage de permettre l'évaluation directe de la quantité d'ET affectant les organismes dans l'écosystème en prenant en compte cette différence de biodisponibilité, tout en étant certain que le niveau de contamination des organismes reflète bien celui de l'environnement local. Ce recours aux holothuries comme bioindicateurs permettrait aussi d'identifier les effets délétères potentiels de ces éléments sur les organismes marins, et ce même pour une exposition chronique à de très faibles doses (Richir, 2016).

D'un point de vue plus pratique, la collecte régulière d'organismes bioindicateurs sédentaires tels les holothuries (qui ont une vitesse de déplacement moyenne d'environ 1 m/h) est souvent plus simple à mettre en place qu'un protocole de mesures régulières de la contamination (Navarro et al., 2013; Zhou et al., 2008). De plus, la taille maximale importante d'*H. tubulosa* et *H. polii* (respectivement 30 et 22 cm) permet de disposer de suffisamment de matériel biologique pour réaliser les mesures de contaminants nécessaires (Koehler, 1921; Zhou et al., 2008). Enfin, il est plus économique d'avoir recours à ces animaux comme bioindicateurs pour surveiller la contamination par les ET que d'utiliser des techniques d'analyse *in situ*. En effet, les concentrations environnementales de ces ET sont souvent si faibles qu'elles nécessitent des outils de mesure coûteux ou la réalisation d'une étape de préconcentration lors d'analyses en laboratoire, étape pouvant induire certaines contaminations des échantillons (Parra-Luna et al., 2020; Rainbow, 1995; Zhou et al., 2008).

Tout comme l'accumulation des ET dans le corps des holothuries suggère leur potentielle exploitation comme bioindicateurs de la pollution des sédiments par les ET, l'ingestion de plastiques par ces animaux pourrait également être mise à profit afin d'évaluer le degré de contamination de leur environnement par cette matière (Bulleri et al., 2021; Graham & Thompson, 2009; Mohsen et al., 2021). L'ingestion de grandes quantités de MP a été mise en évidence aussi bien pour les holothuries détritivores que suspensivores (Graham & Thompson, 2009), avec à la clef une possible accumulation de ces particules dans leur intestin en nombre proportionnellement plus important que dans les sédiments alentours (Bulleri et al., 2021; Graham & Thompson, 2009; Renzi & Blašković, 2020). Par ailleurs, ces MP semblent affectés par le phénomène de translocation, et plus particulièrement vers la cavité coelomique (Mohsen et al., 2019, 2020), avec un impact négatif sur le système immunitaire et le métabolisme

oxydatif de ces animaux (Mohsen et al., 2021). Les espèces occupant les herbiers de Posidonie méditerranéens sont bien sûr concernées, d'autant plus que ces habitats ont le potentiel de retenir et d'accumuler des quantités importantes de MP dans leur matre, exposant ainsi les holothuries fourrageant en leur sein à ces plastiques (Sanchez-Vidal et al., 2021).

#### 4.2 Variabilité de l'accumulation des éléments traces par les holothuries

Les études relatives à l'accumulation des ET par plusieurs espèces d'holothuries ont mis en évidence une série de tendances dans ce phénomène d'accumulation et identifié plusieurs points clefs influençant celle-ci, tels que : l'espèce considérée, l'organe analysé, la période de l'année ou encore la profondeur d'échantillonnage (Denton et al., 2009; Hamed et al., 2020; Jiang et al., 2015; Jinadasa et al., 2014; Laboy-Nieves & Conde, 2001; Marrugo-Negrete et al., 2021; Mohammadizadeh et al., 2016; Mohsen et al., 2019b; Noël et al., 2011; Quratulan et al., 2017; Warnau et al., 2006; Xing & Chia, 1997).

Les niveaux de contamination des holothuries varient fortement en fonction de leur localisation (Jiang et al., 2015; Marrugo-Negrete et al., 2021; Mohammadizadeh et al., 2016; Mohsen et al., 2019). En plus d'être soumis à des conditions environnementales différentes, les individus résidant dans des localités différentes sont soumis à des niveaux de pollution variables. Or, il paraîtrait logique que les holothuries évoluant sur les fonds les plus contaminés accumulent de manière générale plus d'ET. Pourtant, peu d'études ont permis de mesurer le degré de corrélation entre le niveau de contamination des sédiments et celui des holothuries (Marrugo-Negrete et al., 2021; Mohsen et al., 2019a; Quratulan et al., 2017; Turk Culha et al., 2016; Xing & Chia, 1997). Parmi celles-ci, les conclusions quant à la qualité de bioindicateurs des holothuries diffèrent fortement. En effet, si certaines constatent une nette tendance des holothuries à l'accumulation de certains ET depuis les sédiments, aucune espèce d'holothurie n'a révélé une telle tendance pour tous les ET étudiés (Mohsen et al., 2019; Quratulan et al., 2017; Turk Culha et al., 2016). Plus problématique encore, dans certaines des stations étudiées plusieurs espèces s'avèrent être des « déconcentrateurs » par rapport aux sédiments pour beaucoup d'ET, et ce alors même qu'elles étaient caractérisées par une bioconcentration nette des mêmes éléments dans d'autres stations (Quratulan et al., 2017; Turk Culha et al., 2016). De plus, si certaines études montrent des concentrations relatives semblables dans les holothuries et dans les sédiments pour les ET considérés (Marrugo-Negrete et al., 2021), d'autres indiquent que des individus collectés sur deux sites différents sont caractérisés par des concentrations semblables en ET dans leurs organes, et ce alors que les niveaux de contamination des deux sites étudiés différaient significativement (Xing & Chia, 1997).

Cette difficulté à établir des relations de doses-effets entre les concentrations environnementales en ET et celles mesurées dans l'organisme des holothuries, préalable indispensable pour valider le caractère bioindicateur de ces animaux (Zhou et al., 2008), montre que l'influence de nombreux paramètres sur l'accumulation des ET par les holothuries doit encore être élucidée avant d'envisager leur utilisation comme bioindicateurs de la pollution des sédiments par les ET.

## 5. Buts de cette étude et hypothèses de départ

Pratiquement, ce travail portera sur l'étude de l'interaction entre deux espèces d'holothuries corses, *Holothuria tubulosa* et *Holothuria polii*, et deux types de contaminants pouvant être trouvés dans leur environnement, à savoir les ET et les MP.

Pour le premier type de contaminant, la teneur en ET sera mesurée à différents moments de l'année dans cinq organes de ces animaux (le système hémal, les arbres respiratoires, la paroi de leur corps, les gonades et les muscles mêlés au système ambulacraire) échantillonnés sur trois sites distincts. Ces mesures permettront d'étudier l'influence de différents facteurs (organe étudié, espèce d'holothurie, période de l'année et site d'échantillonnage) sur la teneur en ET au sein des spécimens collectés. Ces mesures devraient permettre de corroborer les tendances à l'accumulation des ET de chaque organe, déjà caractérisées en Méditerranée pour *H. tubulosa*, et d'évaluer si les organes d'*H. polii* présentent une réponse différente. En d'autres termes, ce travail devrait permettre de vérifier l'influence prédominante de l'organe sur les différences de concentrations en ET ainsi que la présence de variations spatio-temporelles de ces concentrations au sein de chaque partie du corps des holothuries. Enfin, la charge en ET des différents sites échantillonnés ainsi que l'évolution périodique de cette charge en baie de Calvi seront comparées sur base du calcul d'indices de qualité déjà appliqués aux ET en Méditerranée.

Pour ce qui est des MP, leur quantification et leur caractérisation dans le tube digestif des holothuries permettront d'estimer indirectement les quantités de MP auxquelles ces animaux sont exposés sur les sites étudiés et d'identifier une éventuelle ingestion accrue de certains types de plastiques par les concombres de mer. Cela devrait confirmer la différence de pression anthropique s'exerçant sur les différentes parties de la baie de Calvi en termes de contamination par le plastique ainsi que le potentiel des holothuries comme bioindicateur de cette contamination dans les sédiments.

## II. Matériel et méthode

### 1. Stratégie d'échantillonnage et zone d'étude

Les spécimens d'holothuries utilisés dans ce mémoire ont été collectés manuellement en plongée sous-marine par l'équipe de plongeurs scientifiques de la station STARESO. Cette collecte a été effectuée à trois périodes principales : août 2020 (« période estivale »), novembre 2020 (« période automnale ») et février 2021 (« période hivernale »). A chacune de ces périodes, trois individus ont été collectés au niveau de l'émissaire des eaux usées de la ville de Calvi à 35m de profondeur (Fig. 3). Lors de ces mêmes périodes, six individus ont été prélevés le long d'un transect effectué au large de la station STARESO entre 10 m et 40 m de profondeur (Fig. 3). Parallèlement à cet échantillonnage principal, d'autres spécimens ont été récoltés de manière secondaire à proximité de la ferme aquacole (22m) à la fin du mois de janvier 2021 (n=1) et au début du mois de mars 2021 (n=4) (Fig. 3), moments qui seront également considérés comme faisant partie de la période hivernale. Enfin, plusieurs holothuries ont été

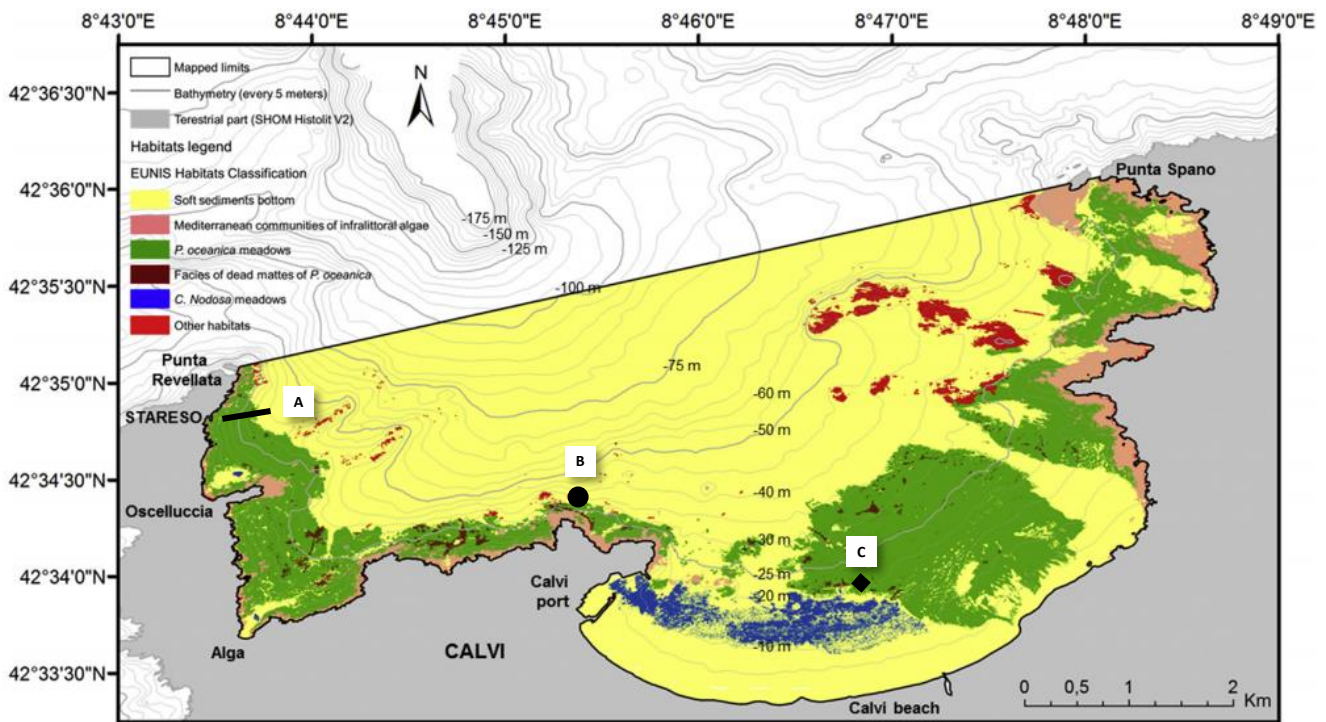


Figure 3 : Carte de la baie de Calvi reprenant les habitats sous-marins qu'elle abrite ainsi que les sites d'échantillonnage principaux (— A = transect depuis STARESO, ● B = Emissaire) et secondaire (◆ C = Ferme aquacole) de ce travail (modifiée d'après Velimirov et al. (2016)).

prélevées à des profondeurs variables sur différents sites dans la baie (port de STARESO, pointe de la Revellata, pointe de St-François, pointe de Spano) entre fin janvier et fin mars 2021. Ces prélèvements ponctuels étant aléatoires, ils ne pourront pas être mis à profit dans le cadre de ce travail pour l'analyse de la variabilité de l'accumulation des ET au sein des holothuries. Cependant, certains de ces spécimens ont pu être utilisés à des fins de rodage de différentes procédures expérimentales (dissection, digestion des tissus, isolement des MP, ...)<sup>1</sup>. Un résumé du nombre d'holothuries de chaque espèce collectées à chaque période sur les différents sites d'échantillonnage est disponible dans l'Annexe 1.

Après collecte, les spécimens prélevés aux différentes périodes sur chaque station ont été systématiquement placés dans un sac de congélation et étiquetés pour stockage réfrigéré dans les réserves de la station STARESO. Les échantillons ont ensuite été acheminés à l'Université de Liège où ils ont été stockés en attente de dissection.

## 2. Dissection des holothuries

Afin de vérifier les effets de la congélation sur les holothuries et leurs organes, une dissection comparée d'un spécimen frais d'*Holothuria scabra* issu des aquariums du laboratoire de Biologie des Organismes Marins et Biomimétisme de l'UMons et de deux spécimens d'*H. polii* prélevés en Corse sur le site de « Spano » a été effectuée avec l'aide de Mr Guillaume Caulier, 1<sup>er</sup> assistant à l'Université de Mons. Ces

<sup>1</sup> La stratégie d'échantillonnage a dû être adaptée en raison de la pandémie ; en effet, deux campagnes de terrain ont dû être annulées. STARESO a néanmoins accepté d'assurer les prélèvements mais ceci également en tenant compte des programmes de recherches et de plongées prioritaires de la période.

dissections ont permis d'identifier avec certitude les organes caractéristiques de la famille des Holothuriidae lors des dissections suivantes (Fig. 4 et 5) et d'établir le protocole de dissection qui suit.

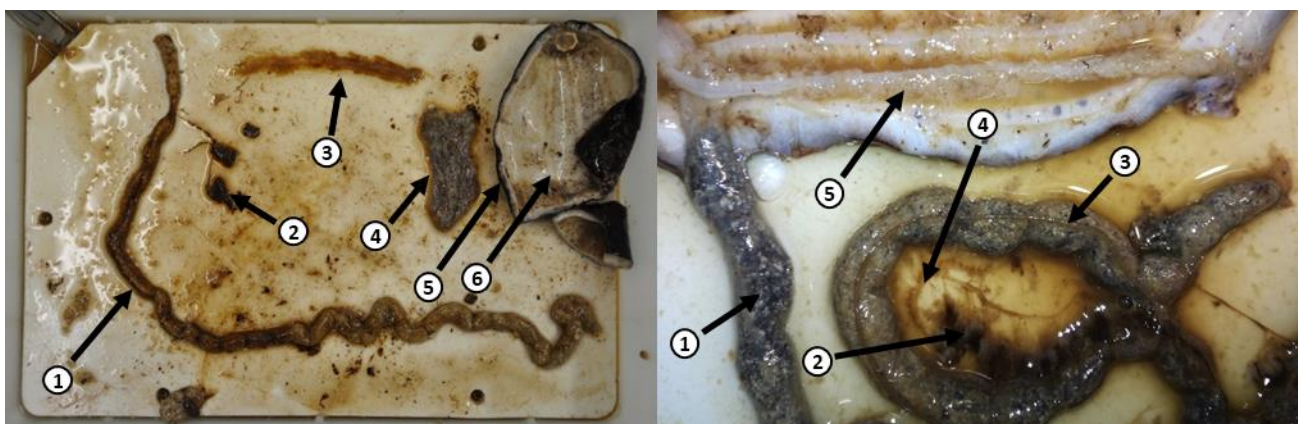


Figure 4 : Organes d'intérêts mis en évidence lors de la dissection préliminaire d'un spécimen d'*H. polii* 1) Tube digestif 2) Système hémal 3) Arbre respiratoire 4) Ensemble muscles/système ambulacraire 5) Epiderme 6) Derme.

Figure 5 : Vue rapprochée du système hémal et respiratoire sur un spécimen d'*H. tubulosa* en cours de dissection avec 1) Tube digestif 2) Rete mirabile 3) Sinus ventral 4) Sinus dorsal 5) Arbre respiratoire droit.

Les différents spécimens ont été ouverts longitudinalement le long du bivium (Fig. 1) depuis leur anus jusqu'à leur bouche à l'aide d'un couteau en céramique. Pour les rares individus présentant des gonades développées, elles ont été retirées pour dégager les autres organes d'intérêt. Le tube digestif a été extrait du corps de l'animal après sectionnement de ses parties antérieures (en aval de l'anneau aquifère périoesophagien) et postérieures (en amont du cloaque où s'insèrent les arbres respiratoires). Une fois le tube digestif extrait, le rete mirabile ainsi que les sinus dorsaux et ventraux appartenant au système hémal (Fig. 2) ont été retirés et conservés séparément au congélateur (-20°C). Le tube digestif débarrassé du système hémal a également été stocké selon les mêmes modalités. Les arbres respiratoires ont ensuite été ôtés en incisant leur connexion avec le cloaque et conservés à part. Une fois tous les viscères retirés, la paroi du corps des animaux a été sectionnée en arrière de la tête et en avant du cloaque pour donner accès au mince espace situé entre l'ensemble formé par les muscles longitudinaux et le système ambulacraire et celui formé par le derme et l'épiderme. Ces deux ensembles ont ensuite été séparés en insérant le pouce au niveau de cette jonction pour les décoller tout le long de l'animal. Enfin, l'ensemble muscles/système ambulacraire a été stocké à part selon les mêmes modalités que les viscères, tandis que deux morceaux de la paroi du corps (comprenant le derme et l'épiderme) ont été découpés pour chaque individu avant stockage, l'un pour l'analyse du contenu en ET et l'autre pour l'isolement ultérieur des spicules calcaires. En parallèle, chaque organe cible a été pesé.

### 3. Identification des espèces en présence

L'identification des spécimens d'holothuries échantillonnées a été effectuée à l'aide de deux clefs de détermination distinctes (Koehler, 1921; Tortonese & Vadon, 1987). Ces dernières se basent sur différents critères morphologiques ainsi que sur l'observation des spicules calcaires présents dans le

tégument des animaux. Afin d'effectuer cette dernière, les spicules ont été extraits selon la méthodologie décrite par Toral-Granda (2005) et Uthicke et al. (2004). Pour chaque holothurie, une pièce de tégument d'environ 1 cm x 1 cm a été placée dans un tube à essais et plongée dans 20 ml d'eau de Javel commerciale (NaOCl) pendant une dizaine de minutes. Après enlèvement de tout morceau de chair non digéré, le surnageant a été éliminé à l'aide d'une pipette, en prenant garde de ne pas prélever de spicules ayant sédimentés au fond du tube. Chaque échantillon a ensuite été rincé à trois reprises à l'aide d'eau Milli-Q, en prenant soin de laisser les spicules resédimer entre chaque rinçage. Les différents tubes à essais ont ensuite été remplis d'éthanol 99% et stockés à 4°C pour conservation avant observation des spicules au microscope électronique à balayage. Pour cela, les différents échantillons ont été étalés sur une lame porte-objet recouverte d'adhésif carbone double-face et de bandelettes d'aluminium avant d'être recouverts d'une fine couche d'or (métaliseur par pulvérisation cathodique SCD 030®, Balzers Union FL 9496 Balzers). Ils ont ensuite été photographiés en haut-vide sous un voltage de 20kV à l'aide du détecteur d'électrons secondaires Everhart-Thornley d'un ESEM Quanta 600 (FEI/Philips, Netherlands) mis à disposition par la plateforme CAREM.

#### 4. Préparation des échantillons et analyse de leur teneur en éléments traces

Les organes de chaque individu ont été placés au lyophilisateur (Christ Alpha 1-4 LD Plus) pendant 24 à 72h puis pesés à l'aide d'une balance analytique Mettler Toledo A305 DR afin de connaître leur teneur en eau. Ensuite, les organes ont été broyés à l'aide d'un mortier et d'un pilon en agate, en prenant soin de laver ces deux instruments à l'aide d'eau Milli-Q et d'HCl 5% entre chaque échantillon pour éviter toute contamination croisée. Vu la consistance particulière de la paroi du corps une fois séchée, un broyeur manuel en plastique équipé d'une meule en céramique a dû être utilisé. Ce dernier était nettoyé entre chaque échantillon à l'aide d'un pinceau et d'air comprimé pour éliminer toute poussière résiduelle et éviter un maximum de contamination entre les individus.

Les poudres obtenues ont ensuite été placées dans des bombes en Téflon pour subir une digestion par minéralisation acide (HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> grades suprapurs, Merck) effectuée dans une station fermée de digestion par micro-ondes (Ethos D, Milestone Inc.) selon la méthode décrite par Richir & Gobert (2014). En parallèle, dix blancs analytiques ont été préparés afin de déterminer les valeurs respectives de la Limite de Détection (L<sub>D</sub>) et de la Limite de Quantification (L<sub>Q</sub>) associées. Étant donné les différences de taille entre les organes de chaque individu, entre 7 et 130 mg de matière ont été placés dans les différentes bombes. Il a donc été nécessaire d'adapter la composition des solutions de minéralisation et le volume de dilution final en fonction de la quantité de matière disponible pour chaque échantillon (Annexe 2).

Les concentrations en vingt-quatre ET (Li, Be, Al, V, Cr, Fe, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, Pb, Bi et U) des différents échantillons ont été déterminées par Spectrométrie de Masse à Plasma à Couplage Inductif utilisant la technique des Cellules de Réaction Dynamique (ICP-

MS ELAN DRC II, Perkin Elmer) selon la méthode décrite par Richir & Gobert (2014). Des échantillons de Matériaux Certifiés de Références (tissu d'huitre NIST 1566B, foie de chien-de-mer DOLT3 et muscle de chien-de-mer DORM2) ont également été analysés afin de s'assurer de la qualité des analyses. Les  $L_D$  et de  $L_Q$  ont été calculées pour chaque ET sur base de la distribution des mesures sur leur blanc selon les recommandations de Currie (1999). Les ET dont la concentration mesurée se situait régulièrement sous la  $L_D$  ont été omis dans la base de données, tandis que les valeurs manquantes ponctuelles ont été remplacées par la moitié de la  $L_D$  (Gobert et al., 2017). L'ensemble des résultats est exprimé en milligramme d'élément par kilogramme de poids sec ( $\text{mg.kg}^{-1}$  dw).

## 5. Extraction et identification des microplastiques ingérés par les holothuries

Trois types de solutions (Annexe 3) ont été expérimentées afin de dégrader le tube digestif des holothuries ainsi que la matière organique des sédiments qu'il renfermait. Au regard des résultats préliminaires obtenus (Annexe 3), c'est la digestion alcaline/oxydante qui a été retenue et appliquée au tube digestif d'une partie des holothuries prélevées sur le site de la ferme aquacole ( $n=4$ ), de l'émissaire ( $n=5$ ) et de STARESO ( $n=12$ ).

Chaque tube digestif a été placé dans un bécher contenant 50 ml d'une solution de KOH 10% (poids/volume) plongé dans un bain-marie à 50°C pendant 6 h. Le surnageant, contenant du KOH mélangé à d'éventuels débris plastiques et particules de sédiment, a été prélevé puis filtré à l'aide d'un filtre GF/C 1,2  $\mu\text{m}$  (Whatman) sur une rampe de filtration connectée à une pompe à vide KNF Neuberger LABOPORT (Fig. 6). Le filtre obtenu a ensuite été placé dans une boîte de Pétri et séché pendant 24 h à 60°C dans une étuve pour observation ultérieure. Une fois le surnageant prélevé, 15 ml d' $\text{H}_2\text{O}_2$  ont été ajoutés afin de digérer la matière organique réfractaire, et ce avant de replacer le berlin au bain-marie pour 12 h. A la fin de ce délai, le sédiment débarrassé de sa matière organique a été rincé à l'eau Mili-Q sur une triple série de filtres constituée d'un filtre GF/C et de deux filtres métalliques Retsch® d'une taille de maille respective de 63  $\mu\text{m}$  et 500  $\mu\text{m}$  (Fig. 6). Le filtre GF/C obtenu a également été placé à l'étuve pendant 24 h, dans une boîte de Pétri, pour observation ultérieure. Les fractions retenues par les filtres métalliques ont ensuite été retransférées dans un berlin afin de réaliser la séparation des plastiques par différence de

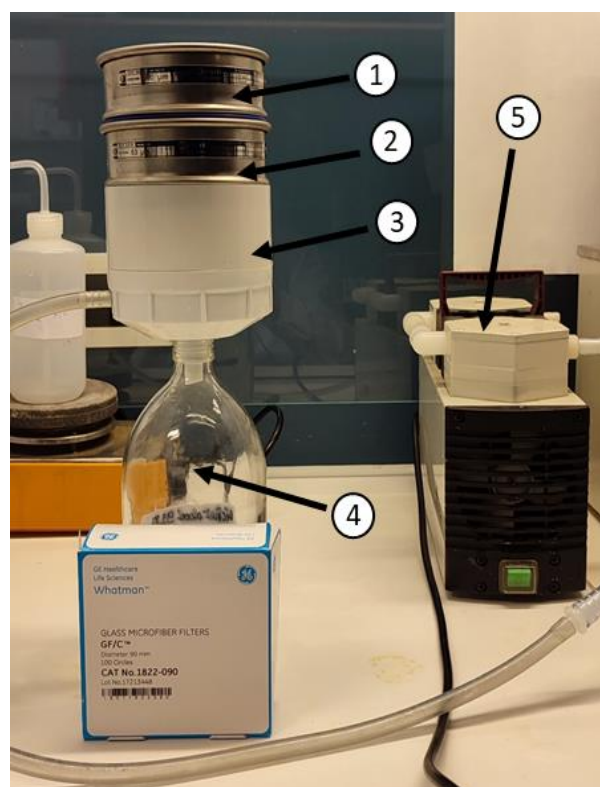


Figure 6 : Rampe de filtration utilisée pour l'extraction des MP de l'intestin des holothuries 1) Filtre métallique 500  $\mu\text{m}$  2) Filtre métallique 63  $\mu\text{m}$  3) Support de filtration pour le filtre GF/C 4) Réceptacle des solutions filtrées 5) Pompe à vide.

de 63  $\mu\text{m}$  et 500  $\mu\text{m}$  (Fig. 6). Le filtre GF/C obtenu a également été placé à l'étuve pendant 24 h, dans une boîte de Pétri, pour observation ultérieure. Les fractions retenues par les filtres métalliques ont ensuite été retransférées dans un berlin afin de réaliser la séparation des plastiques par différence de



densité. Pour cela, une solution de séparation (1kg  $ZnCl_2$ /1L  $H_2O$ , densité = 1,6) a été ajoutée au mélange de sédiments et de plastiques pour mettre ceux-ci en suspension selon les recommandations de Frias et al. (2018). La solution a été mélangée pendant 1 min à l'aide d'une spatule métallique puis laissée reposer pendant 5 min afin de permettre au sédiment de se déposer. Le surnageant, constitué de  $ZnCl_2$  et de MP en suspension, a été transvasé sur la rampe de filtration pour récupération des MP à l'aide d'un filtre GF/C. La solution de séparation ainsi filtrée une première fois a été récupérée pour répéter cette étape de mise en suspension à deux reprises afin de maximiser la récupération des MP à partir du sédiment. Les sédiments a priori débarrassés de tout plastique ont été à nouveau filtrés sur la triple série de filtres mentionnée plus haut. Les sédiments retenus par les filtres métalliques ont finalement été transvasés dans des boîtes de Pétri séparées et placées avec le dernier filtre GF/C à l'étuve pendant 24 h afin de récupérer et observer tout plastique ayant échappé à l'étape de séparation par différence de densité.

Pour éviter toute contamination des échantillons, l'ensemble des extractions a été réalisé sous une hotte à flux laminaire en prenant soin de porter un tablier en coton et des gants en nitrile. De plus, chaque boîte de Petri a été recouverte d'une feuille d'aluminium lors de son séchage à l'étuve.

Une fois l'ensemble des tubes digestifs traités, les MP isolés sur les filtres ainsi que dans les sédiments restants ont été photographiés à l'aide d'un binoculaire LEICA M10 équipé d'une caméra LEICA MC170 HD mis à disposition par le Laboratoire de Morphologie Evolutive et Fonctionnelle. Les images obtenues ont été traitées et enregistrées grâce au logiciel dédié Leica Application Suite (Version 3.3.0). Les débris plastiques ont ensuite été identifiés visuellement sur base de leur forme et de leur couleur selon les recommandations émises par le Marine & Environmental Research Institute (MERI, 2015), puis classés en trois catégories inspirées de Frias et al. (2018) : « fragments », « fibres et filaments » et « films ». Une quatrième catégorie, rarement observée dans les échantillons de sédiments, a dû être ajoutée, celle des « gommes ». Cette dernière inclut les éléments tels que les bouts de caoutchouc qui sont caractérisés par leur capacité à se déformer sous la contrainte mécanique tout en conservant leur intégrité. À défaut de pouvoir utiliser la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, la nature plastique des fibres dont l'aspect ne permettait pas une identification certaine a été vérifiée à l'aide du « test de l'aiguille chaude » (De Witte et al., 2014). Les clichés obtenus ont été traités via le logiciel ImageJ (Version 1.53e) afin de caractériser la taille des différents débris plastiques via mesure de la longueur totale des « fibres et filaments » ou du plus grand axe des débris appartenant aux autres catégories.

## 6. Analyse des données

### 6.1. Eléments traces

Avant toute analyse statistique, une transformation log-naturelle a été appliquée aux concentrations en ET mesurées. Cette transformation permet de mieux satisfaire aux critères préalables aux différents tests paramétriques, mais aussi de réduire l'effet des valeurs extrêmes et de ramener l'ensemble des concentrations environnementales dans la même gamme de valeurs (Gobert et al., 2017). L'ensemble des analyses statistiques qui suivent ont été effectuées à l'aide du logiciel R Studio (Version 1.2.5019) en complément du logiciel R (Version 4.1.0). La normalité et l'homoscédasticité des valeurs transformées ont ainsi été vérifiées respectivement à l'aide d'un test de Shapiro-Wilk et de Levene. En tenant compte du résultat de ces tests, une analyse de corrélation de Kendall a été menée pour identifier les corrélations possibles entre les teneurs des différents ET dans l'ensemble des échantillons. Une analyse de variance multivariée (MANOVA, R package « car » (Fox et al., 2021)) à quatre facteurs a ensuite été utilisée pour identifier quelle variable explicative, parmi le site, la période d'échantillonnage, l'organe analysé ou l'espèce d'holothurie, avait le plus d'influence sur l'accumulation en ET dans les spécimens collectés. Pour cela, le pourcentage de la variabilité de la concentration en chaque ET attribuable à chacune des variables a été estimé à partir des valeurs de la somme des carrés des erreurs obtenues à l'aide de l'analyse MANOVA. Cette première analyse MANOVA a été suivie d'une série d'analyses post-hoc de variances univariées (ANOVA) afin de mettre en évidence un éventuel effet séparé de la variable explicative dominante sur l'accumulation de chaque ET. Une correction de Holm-Bonferroni a été appliquée pour tenir compte du caractère répété des tests. Enfin, une série de tests post-hoc de différence significative honnête (DSH) de Tukey (R package « agricolae » (de Mendiburu, 2021)) a été appliquée, si nécessaire, aux différents ET à la suite du résultat de ces ANOVA. Par ailleurs, une Analyse en Composantes Principales (ACP) a été effectuée pour l'étude simultanée de l'accumulation des différents ET dans un espace à deux dimensions, afin d'identifier d'éventuelles similitudes entre les échantillons en fonction des différentes variables explicatives considérées.

Une nouvelle série d'analyses MANOVA à trois facteurs a ensuite été conduite afin d'étudier l'influence particulière des trois variables restantes lorsque la variable principale était fixée selon chacune de ses modalités propres. De la même manière, chacune de ces analyses MANOVA a été suivie d'une série de tests ANOVA post-hoc afin de mettre en évidence un éventuel effet séparé de chacune des trois variables explicatives restantes sur l'accumulation de chaque ET, puis par une série de tests post-hoc DSH lors des résultats significatifs des tests ANOVA post-hoc. Etant donné le faible nombre d'échantillons disponibles au regard de la quantité de variables explicatives et dépendantes prises en compte, le seuil de significativité a été fixé à  $p$ -valeur = 0,1 pour l'ensemble des tests cités.

Pour comparer les niveaux de contamination par les ET des différentes stations étudiées, les différents indices TEPI (« Trace Element Pollution Index ») ont été calculés. Contrairement au Metal Pollution

Index dont il est une version adaptée, l'indice TEPI développé par Richir & Gobert (2014) a l'avantage de prendre en compte les ET non-métalliques et de permettre une comparaison fiable des sites étudiés indépendamment du nombre d'ET considérés ou du modèle biologique utilisé (El Idrissi et al., 2020; Richir & Gobert, 2014a). La formule de l'indice TEPI est la suivante :  $TEPI = (Cf_1 * Cf_2 \dots Cf_n)^{1/n}$  avec n le nombre d'ET considérés et Cf1, Cf2,... Cfn la concentration moyenne normalisée des n éléments pour chaque site. En pratique, la concentration moyenne normalisée d'un élément pour un site est obtenue en divisant la concentration moyenne de cet élément sur ce site par la concentration moyenne de cet élément calculée pour l'ensemble des sites.

## 6.2. Microplastiques

Le contenu intestinal en MP des holothuries sélectionnées a été analysé afin d'identifier d'éventuelles différences entre les sites (STARESO, émissaire et ferme aquacole) du point de vue du nombre d'items ingérés, de la longueur de ceux-ci ou encore de la composition de la communauté de débris plastiques trouvés dans le tube digestif des holothuries. Dans un premier temps, la normalité et l'homoscédasticité du nombre d'items (exprimé en nombre de débris pour 10g de poids frais d'intestin) et de leur longueur en fonction du site ont été vérifiées à l'aide d'un test de Shapiro-Wilk et de Levene. L'influence du site sur chacun de ces deux paramètres a ensuite été évaluée à l'aide d'un test ANOVA ou, en cas de non-homoscédasticité, de Kruskal-Wallis. Enfin, ces deux tests ont été suivis respectivement d'un test post-hoc DSH de Tukey et d'un test de comparaison multiple de Dunn (R package « rstatix » (Kassambara, 2021)) afin d'identifier d'éventuelles similitudes ou différences entre les sites du point de vue du nombre d'items ingérés ou de leur longueur. Par ailleurs, la densité de répartition des différentes tailles de plastiques a été modélisée sous forme de courbes lissées obtenues à l'aide d'estimations par noyaux (R package « kdensity » (Jonas & Tveten, 2020)). L'influence du site sur la composition de la communauté de MP trouvée dans le tube digestif des holothuries a, dans un premier temps, été évaluée à l'aide d'une analyse MANOVA à un facteur comprenant le site comme variable explicative et le nombre de « fragments », de « fibres et filaments », de « films » et de « gommes » comme variables dépendantes. La normalité et l'homoscédasticité de l'ensemble de ces variables en fonction du site ont préalablement été vérifiées à l'aide de tests de Shapiro-Wilk et de Levene. Cette analyse MANOVA a été suivie d'une série d'analyses post-hoc de variances univariées (ANOVA), puis de tests post-hoc de différence significative honnête (DSH) de Tukey. Le seuil de significativité pour l'ensemble de ces tests a également été fixé à p-valeur = 0,1.

### III. Résultats

#### 1. Identification des espèces en présence

La présence de podia et de papilles à la surface du tégument des individus collectés ainsi que l'absence de tentacules arborescents a rapidement permis de déterminer l'appartenance de nos spécimens à l'ancien ordre des Aspidochirotés. Une fois la dissection commencée, la présence d'ampoules de stockage du liquide ambulacraire au niveau des tentacules et de gonades, ayant la forme d'une seule touffe ramifiée pour les individus sexuellement matures, ont conduit à l'élimination de la famille des Synallactidae au profit de celle des Holothuriidae. L'absence de tubes de Cuvier a ensuite permis d'éliminer l'espèce *Holothuria forskali*, qui présente une forte ressemblance extérieure avec *Holothuria polii*, ainsi que *Holothuria mammata*, choix renforcé par l'absence de protubérances mamelonnées à la surface du tégument des individus échantillonnés. A ce stade de l'identification, seules deux possibilités subsistaient parmi les holothuries méditerranéennes : *Holothuria polii* et *Holothuria tubulosa*. Dans le milieu naturel, elles se distinguent par la présence de podia terminés par un extrémité blanche chez *H. polii* et d'une coloration plus claire du trivium d'*H. tubulosa* par rapport à son bivium (Fig. 1). Cependant, ces critères externes sont souvent équivoques dans le milieu naturel avec des individus vivants, et sont encore moins clairs une fois les individus décongelés après plusieurs mois de conservation. Il a dès lors été nécessaire d'étudier la morphologie des spicules calcaires des différents individus afin de déterminer avec certitude leur appartenance à l'une des deux espèces.

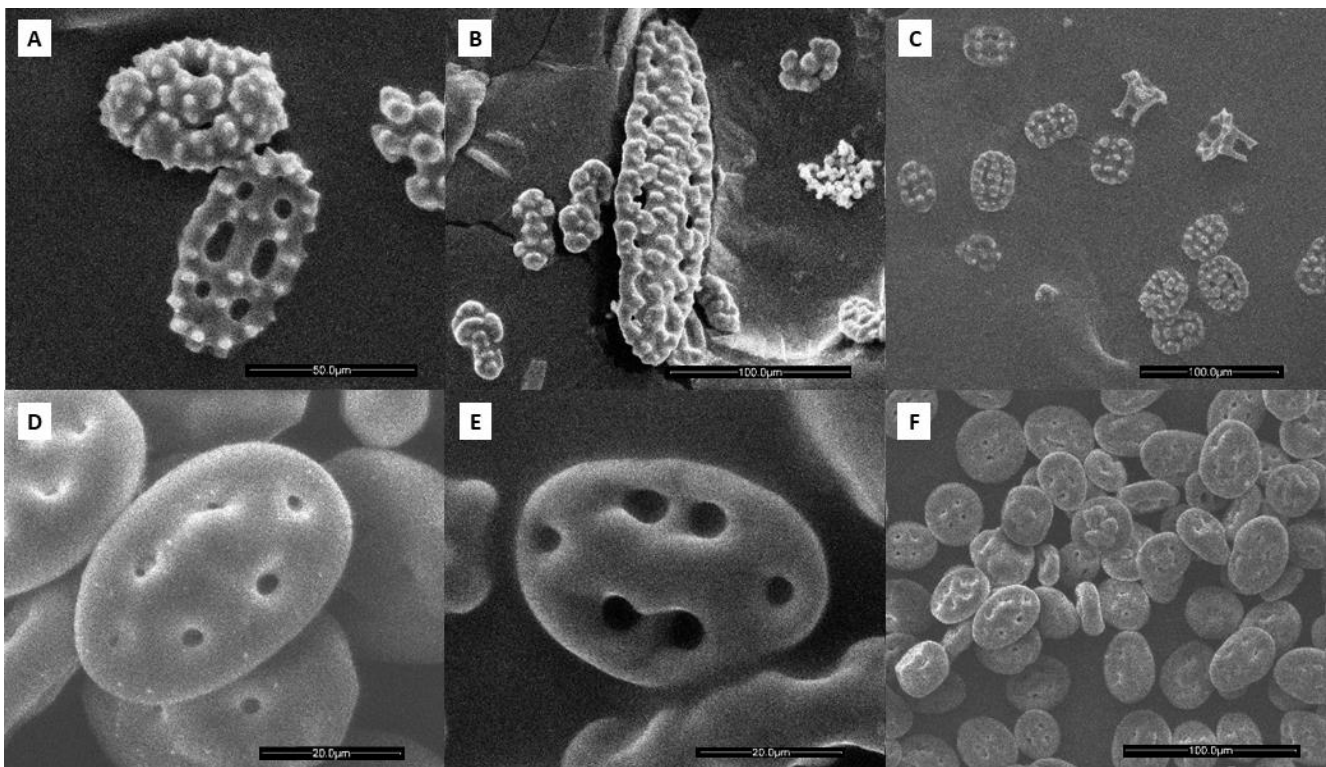


Figure 7 : Spicules calcaires caractéristiques d'*H. tubulosa* (A-C) et d'*H. polii* (D-F) observés en haut-vide sous un voltage de 20kV à l'aide du détecteur d'électrons secondaires Everhart-Thornley d'un ESEM Quanta 600 (FEI/Philips, Netherlands).

Les spicules d'*H. polii* possèdent des bords presque entièrement lisses, alors que ceux d'*H. tubulosa* se distinguent par leurs bords rugueux et crénelés (Fig. 7), aussi bien pour les boucles (Fig. 7 A et C) que pour les grandes plaques (Fig. 7 B). De plus, parmi les spicules en forme de boucles présents chez *H. polii*, certains sont caractérisés par deux paires de perforations symétriques successives encadrées par une perforation plus petite à chaque extrémité de la boucle (Fig 7 C et D). Ce type de spicule est par contre absent chez *H. tubulosa*. Enfin, la plupart des boucles d'*H. polii* ne dépassent pas 50 µm de longueur, alors que ceux d'*H. tubulosa* ont une taille tournant autour de 60 µm. L'observation de ces caractéristiques à l'aide de l'ESEM Quanta 600 a ainsi permis de confirmer la présence de dix-huit spécimens d'*H. tubulosa* dans notre pool d'échantillons, pour quatorze d'*H. polii*.

## 2. Accumulation des éléments traces au sein des holothuries

### 2.1 Tendances générales et identification du facteur à l'influence dominante

L'ensemble des mesures de concentrations en ET au sein des Matériaux Certifiés de Référence et des échantillons d'holothuries est disponible dans les Annexes 4 à 9. Le faible nombre d'échantillons de gonades disponible n'a pas permis de pousser plus loin les investigations à propos de cet organe, les valeurs d'ET qui lui sont associées n'ont en conséquence pas été incluses dans les tests et graphes qui vont suivre. L'analyse statistique de l'ensemble des concentrations en ET restantes montre une différence significative de celles-ci en fonction de l'organe considéré (p-valeur < 10<sup>-15</sup>), du site d'échantillonnage (p-valeur < 0,001), de la période de l'année (p-valeur < 0,0001) ou encore de l'espèce d'holothurie étudiée (p-valeur < 0,05).

Le degré de variabilité de l'accumulation des différents ET attribuable à chacune de ces variables est présenté sous forme de pourcentage dans le Tableau 1. Ce dernier montre que pour l'ensemble des ET, l'organe prélevé représente la source de variabilité la plus importante, avec des valeurs allant de 24,33% pour le Li à 83,91% pour le Fe. Seul le premier élément cité voit une autre variable, à savoir la station, expliquer plus de 10% de sa variabilité.

En partant de ce résultat, l'ordre d'accumulation des ET dans les différents organes considérés est présenté dans le Tableau 2. Ce dernier montre que le Cd, le Sn et l'Ag, trois ET non-essentiels, représentent les éléments le plus faiblement accumulés dans l'ensemble des organes. Il permet également de constater que parmi les neuf ET de tête, les deux tiers consistent en ET essentiels ou présumés essentiels au métabolisme des organismes vivants et des échinodermes en particulier. Cependant, de façon surprenante, l'Al est l'élément le plus présent dans quatre des cinq organes, et ce alors qu'il est classé non-essentiel. La paroi du corps des holothuries se distingue par la présence proportionnellement plus importante de Sr par rapport aux autres éléments. Il est également à noter l'U et l'As figurent à chaque fois parmi les neuf ET de tête, et ce malgré leur caractère toxique. Enfin, le système hémal

semble accumuler une proportion plus importante de Cr par rapport aux autres organes, dans lesquels il se classe généralement en quatorzième ou quinzième position.

Élément	Variabilité liée à l'organe	Variabilité liée à la station	Variabilité liée à la période	Variabilité liée à l'espèce
Li	24,33%	12,01%	0,77%	0.10%
Al	56,53%	3,42%	0,94%	0,49%
V	82,72%	0,66%	0,48%	0,01%
Cr	83,15%	0,09%	0,79%	0,01%
Fe	83,91%	1,03%	1,17%	0,08%
Mn	61,72%	2,24%	1,42%	0,11%
Cu	75,74%	1,86%	0,22%	0,09%
Zn	40,82%	4,55%	0,52%	0,11%
As	72,06%	2,17%	0,15%	0,09%
Se	68,37%	2,76%	0,17%	0,35%
Rb	50,88%	6,28%	1,92%	1,55%
Sr	53,28%	4,78%	2,37%	1,56%
Mo	53,22%	5,06%	2,11%	1,41%
Ag	49,48%	5,63%	1,36%	0,68%
Cd	52,56%	4,20%	1,72%	0,95%
Sn	49,80%	1,25%	1,81%	0,31%
Ba	48,44%	1,13%	2,13%	0,13%
Pb	41,16%	1,19%	2,84%	0,11%
U	39,71%	1,26%	3,38%	0.25%

Tableau 1 : Pourcentage de la variabilité de la concentration des différents ET attribuable à chacune des variables considérées, la proportion restante correspond à celle non-expliquée par le modèle.

Arbres respiratoires	Al > Fe > Sr > Zn > As > U > Mo > Se > Cu > Mn > Ba > Pb > Rb > Cr > Li > V > Cd > Sn > Ag
Paroi du corps	Sr > Al > Fe > Zn > As > U > Se > Ba > Mo > Pb > Li > Rb > Mn > Cu > Cr > V > Sn > Cd > Ag
Muscles et ambulacraire	Al > Fe > Sr > Zn > As > Mo > U > Se > Cu > Mn > Rb > Ba > Pb > Li > Cr > V > Cd > Sn > Ag
Système hémal	Al > Fe > Sr > Zn > U > As > Mo > Cr > Se > Ba > Cu > Mn > Pb > Rb > V > Li > Sn > Cd > Ag

Tableau 2 : Ordre d'accumulation (en termes de mg.kg<sup>-1</sup> de poids sec) des ET essentiels (en vert), présumés essentiels (en jaune) ou non-essentiels (en rouge) au sein des différents organes échantillonnés (toutes espèces, périodes et sites confondus).

La Figure 8 présente, quant à elle, le niveau d'accumulation de chaque ET par organe, niveau qui, pour chaque élément, a montré être significativement différent en fonction de l'organe considéré (p-valeur comprise entre 10<sup>-50</sup> et 10<sup>-10</sup>). Dans cette figure, le système hémal enregistre systématiquement les concentrations les plus élevées en ET, à l'opposé de la paroi du corps qui est caractérisée par les

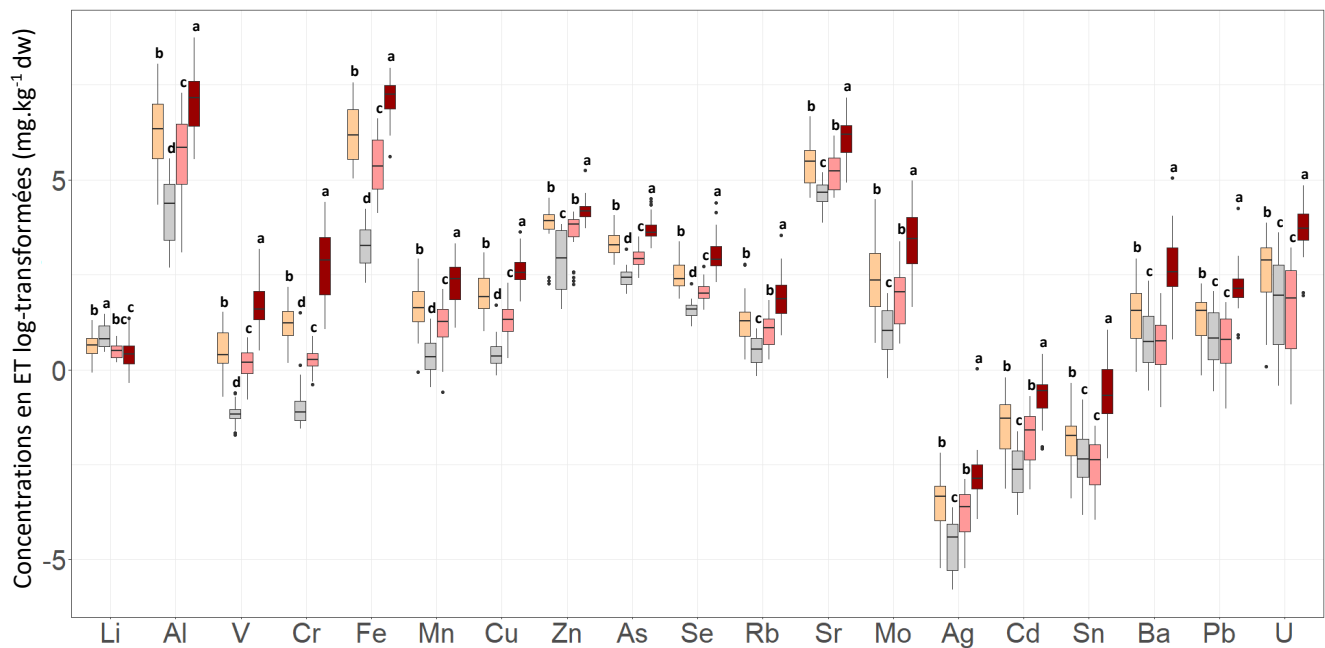


Figure 8 : Concentrations en ET log-transformées ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) présentes dans les différents organes des holothuries étudiées (■ = Arbres respiratoires | ■ = Paroi du corps | ■ = Muscles mêlés au système ambulacraire | ■ = Système hémal) ; les lettres minuscules représentent les résultats des tests post-hoc DSH de Tukey ( $p$ -valeur  $< 0,1$ ).

concentrations les plus faibles. La seule exception à cette tendance s'observe au niveau du Li, dont l'accumulation est maximale dans la paroi du corps et minimale dans le système hémal. Cette opposition est également bien visible dans l'ACP présentée dans l'Annexe 10.

Il est possible de diviser l'ensemble des ET en quatre groupes distincts en fonction des différences d'accumulation entre les organes considérés. Le premier, qui comprend l'Al, le V, le Cr, le Fe, le Mn, le Cu, l'As et le Se, se caractérise par une différence nette d'accumulation entre tous les organes, avec le système hémal accumulant le plus d'ET, suivi par les arbres respiratoires, puis par les muscles mêlés au système ambulacraire et enfin par la paroi du corps qui a un niveau d'accumulation nettement plus faible.

Le second groupe, constitué du Zn, du Rb, du Sr, du Mo, de l'Ag et du Cd, voit cette fois les arbres respiratoires et les muscles mêlés au système ambulacraire occuper ensemble la seconde position, derrière le système hémal, mais toujours devant la paroi du corps.

Le troisième et avant dernier groupe, qui reprend le Sn, le Ba, le Pb et l'U, est caractérisé par des niveaux comparables d'accumulation entre les muscles mêlés au système ambulacraire et la paroi du corps, en troisième position derrière le système hémal et les arbres respiratoires.

Enfin, le quatrième groupe correspond à un ET au comportement très particulier, le Li. Pour ce dernier, la paroi du corps constitue le compartiment d'accumulation privilégié. Les muscles mêlés au système ambulacraire affichent quant à eux une tendance à mi-chemin entre le système hémal, caractérisé par l'accumulation la plus faible, et les arbres respiratoires.

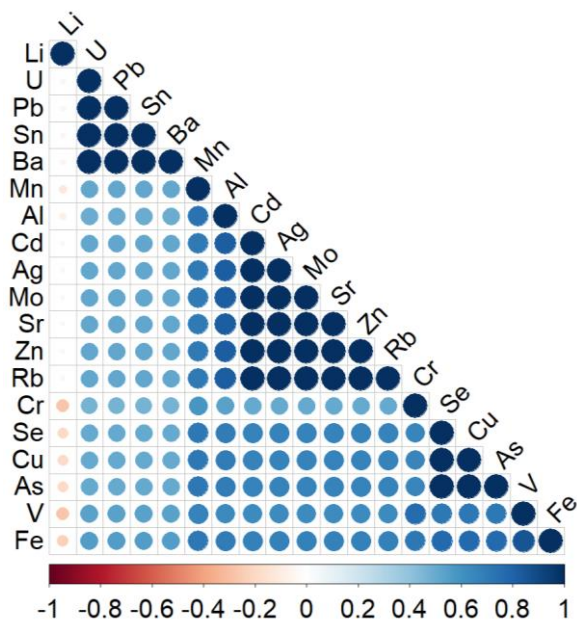


Fig. 9 : Corrélation de Kendall inter-élémentaire calculée pour l'ensemble des échantillons analysés.

Ce comportement particulier du Li s'observe aussi dans la Figure 9, qui illustre la corrélation entre l'accumulation des différents ET, et dans les ACP présentes dans les Annexes 10 à 14. En effet, le degré d'accumulation du Li se distingue par une corrélation presque nulle avec celui de beaucoup d'autres éléments, voire par une corrélation négative pour le Cr, le Se, le Cu, l'As, le V et le Fe. A l'inverse, l'accumulation des autres éléments apparaît plus ou moins fortement corrélée positivement. Cette figure confirme également le lien entre les éléments des trois premiers groupes cités plus haut, avec une corrélation positive très forte entre les éléments des second et troisième groupe, ainsi qu'entre une partie des éléments du premier groupe.

## 2.2 Variabilité de l'accumulation des éléments traces propre à chaque organe

### 2.2.1 Arbres respiratoires

L'analyse MANOVA, centrée sur les concentrations en ET mesurées dans les arbres respiratoires des spécimens d'*H. tubulosa* et *H. polii* collectés au large de STARESO ainsi qu'au niveau de l'émissaire et de la ferme aquacole aux différentes périodes de l'année, pointe une différence significative de ces concentrations entre les deux espèces considérées (p-valeur = 0,057). A l'inverse, la station de collecte ainsi que la période de l'année n'ont pas d'influence significative sur l'accumulation des différents ET (p-valeurs respectivement égales à 0,103 et 0,140).

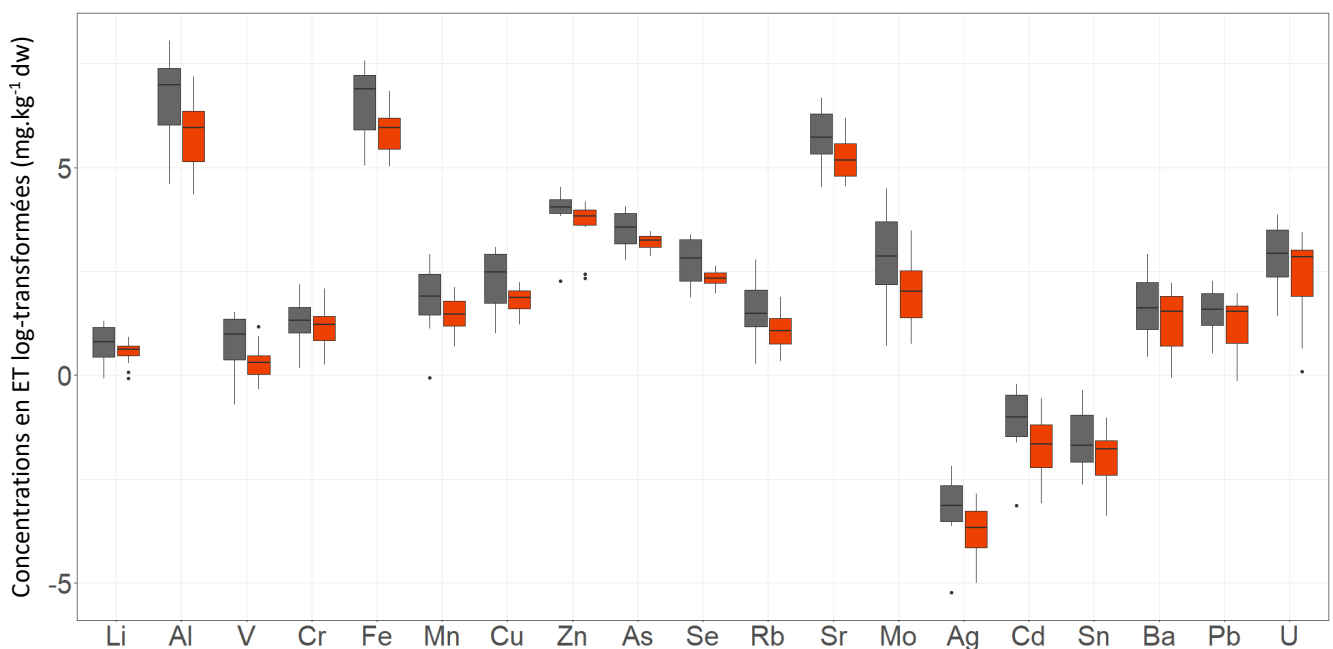


Figure 10 : Concentrations en ET log-transformées ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ dw}$ ) présentes dans les arbres respiratoires des deux espèces d'holothuries étudiées (■ = *H. polii* / ■ = *H. tubulosa*).



La Figure 10 présente la différence d'accumulation des différents ET dans les arbres respiratoires en fonction de l'espèce. Elle met en évidence une plus grande tendance à l'accumulation de l'ensemble des ET au sein des spécimens de l'espèce *H. polii*. Cette différence apparaît également lorsqu'on compare entre les deux espèces les valeurs moyennes de chaque ET (disponibles dans l'Annexe 6) au niveau de la station STARESO, à la fois en période estivale et automnale. En effet, à ces périodes *H. polii* enregistre des valeurs systématiquement plus élevées pour l'ensemble des ET à l'exception du Li. En période hivernale, seuls douze des dix-neuf ET suivent cette tendance. Par ailleurs, dans la Figure 10, la variabilité de la concentration en certains ET semble nettement inférieure au sein d'*H. polii* par rapport à *H. tubulosa*. C'est notamment le cas pour l'Al, le V, le Cu, l'As, ou encore le Se.

Cependant, malgré cette tendance illustrée par la Figure 10, aucune différence significative entre les deux espèces ne peut être mise en évidence via les tests ANOVA post-hoc réalisés sur les différents ET considérés (p-valeur = 1,000 pour l'ensemble des éléments).

### 2.2.2 Paroi du corps

L'analyse MANOVA, centrée sur les concentrations en ET mesurées dans la paroi du corps de l'ensemble des spécimens collectés, indique qu'il n'existe aucune différence significative entre ces concentrations en fonction de la station échantillonnée (p-valeur = 0,855), de la période de l'année considérée (p-valeur = 0,540) ou encore de l'espèce à laquelle appartient chaque holothurie (p-valeur = 0,172). Une représentation graphique des teneurs en ET de cet organe au sein de chacune des deux espèces sur chacun des sites aux différentes périodes est toutefois disponible via les Annexes 14 et 15.

### 2.2.3 Muscles mêlés au système ambulacraire

L'analyse MANOVA centrée sur les concentrations en ET mesurées dans les muscles mêlés au système ambulacraire de l'ensemble des spécimens collectés, indique qu'il existe une différence significative entre les concentrations en ET mesurées aux différentes périodes d'échantillonnages (p-valeur = 0,003). En revanche, aucune influence significative de la station échantillonnée ou encore de l'espèce à laquelle appartient chaque holothurie n'a été mise en évidence (p-valeurs respectivement égales à 0,169 et 0,123). Une première observation de la Figure 11, qui présente les teneurs en chaque ET dans les muscles mêlés au système ambulacraire des holothuries en période estivale, automnale et hivernale, fait ressortir des teneurs en ET supérieures en période estivale par rapport aux deux autres périodes. L'analyse détaillée des paramètres de dispersion des concentrations de l'ensemble des éléments confirme cette tendance. En effet, à l'exception du Li, de l'Al et du Mn, la concentration médiane de tous les éléments est supérieure en période estivale à la valeur du troisième quartile des deux autres périodes. En dehors de la période estivale, les concentrations des différents ET semblent relativement homogènes, à l'exception peut-être du Cr qui semble présent en plus grandes concentrations dans les muscles en période hivernale par rapport à la période automnale.

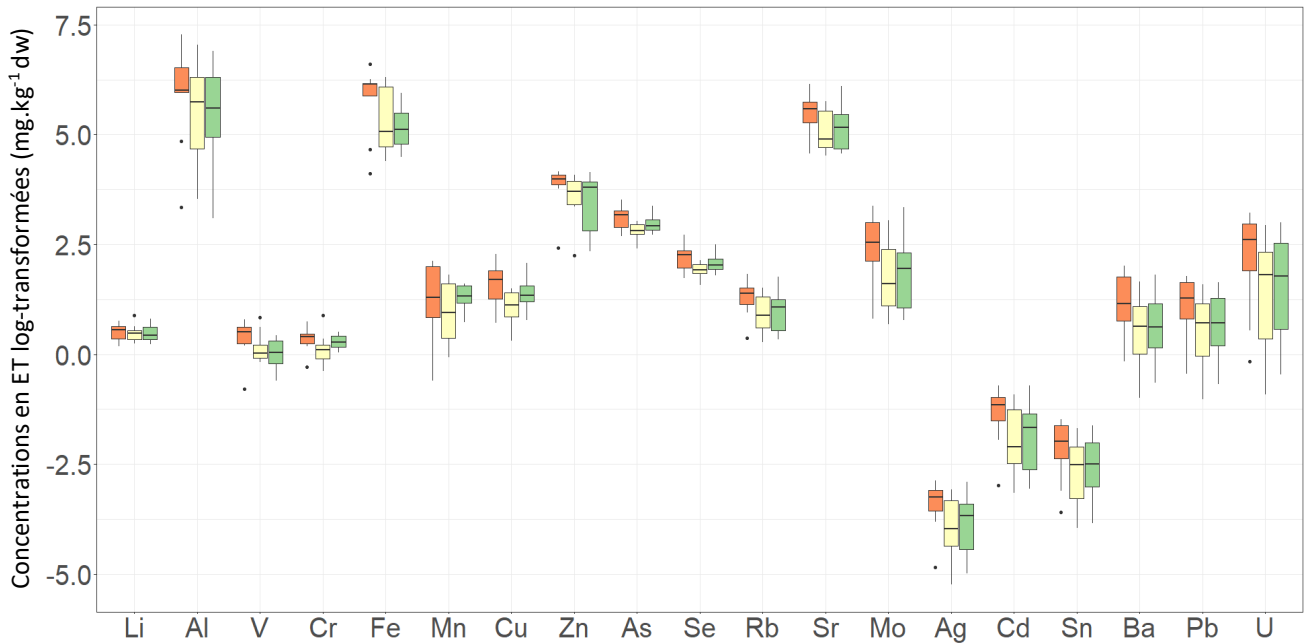


Fig. 11 : Concentrations en ET log-transformées ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ dw}$ ) présentes dans les muscles mêlés au système ambulacraire des holothuries aux différentes périodes étudiées ( ■ = Période estivale | ■ = Période automnale | ■ = Période hivernale).

Quoiqu'il en soit, les tests ANOVA post-hoc réalisés sur les différents ET n'ont pas révélé de différence significative entre les concentrations en ET aux trois périodes étudiées. En effet, leur p-valeur varie de 0,119 à 0,749.

#### 2.2.4 Système hémal

L'analyse MANOVA centrée sur les concentrations en ET mesurées dans le système hémal de l'ensemble des spécimens collectés indique une double influence de la station d'échantillonnage (p-valeur = 0,079) et de l'espèce à laquelle appartient chaque holothurie (p-valeur = 0,024). La période d'échantillonnage n'aurait, quant à elle, pas d'influence significative sur les concentrations en ET dans cet organe (p-valeur = 0,502).

Les Figures 12 et 13 présentent respectivement les teneurs en ET mesurées dans le système hémal des spécimens d'*H. polii* et *H. tubulosa* collectés sur les différents sites d'intérêt. Une première observation de la Figure 12 fait ressortir des concentrations en ET plus élevées pour cet organe au sein d'*H. polii* sur le site de l'aquaculture par rapport aux autres sites, à l'exception du Cr et du Fe qui se caractérisent par des concentrations supérieures au niveau de l'émissaire. Cependant, cette figure ne permet pas d'avoir une idée de la variabilité des concentrations dans cette espèce sur ce site au vu du peu d'individus d'*H. polii* qui y ont été collectés.

La Figure 13, qui concerne *H. tubulosa*, permet de constater des concentrations en ET dans le système hémal très proches entre le site de l'émissaire et de STARESO. De plus, contrairement à ce qui est présenté dans la Figure 12, le site de la ferme aquacole n'apparaît plus comme celui enregistrant les concentrations en ET les plus élevées. En effet, ce site est caractérisé par des concentrations en Sn, Ba, Pb et U plus faibles par rapport aux deux autres sites. Cependant, le peu d'individus d'*H. tubulosa*

collectés autour de la ferme aquacole rend cette comparaison difficile vu l'absence d'estimation de la variabilité des concentrations en ET dans le système hémal de cette espèce à cet endroit.

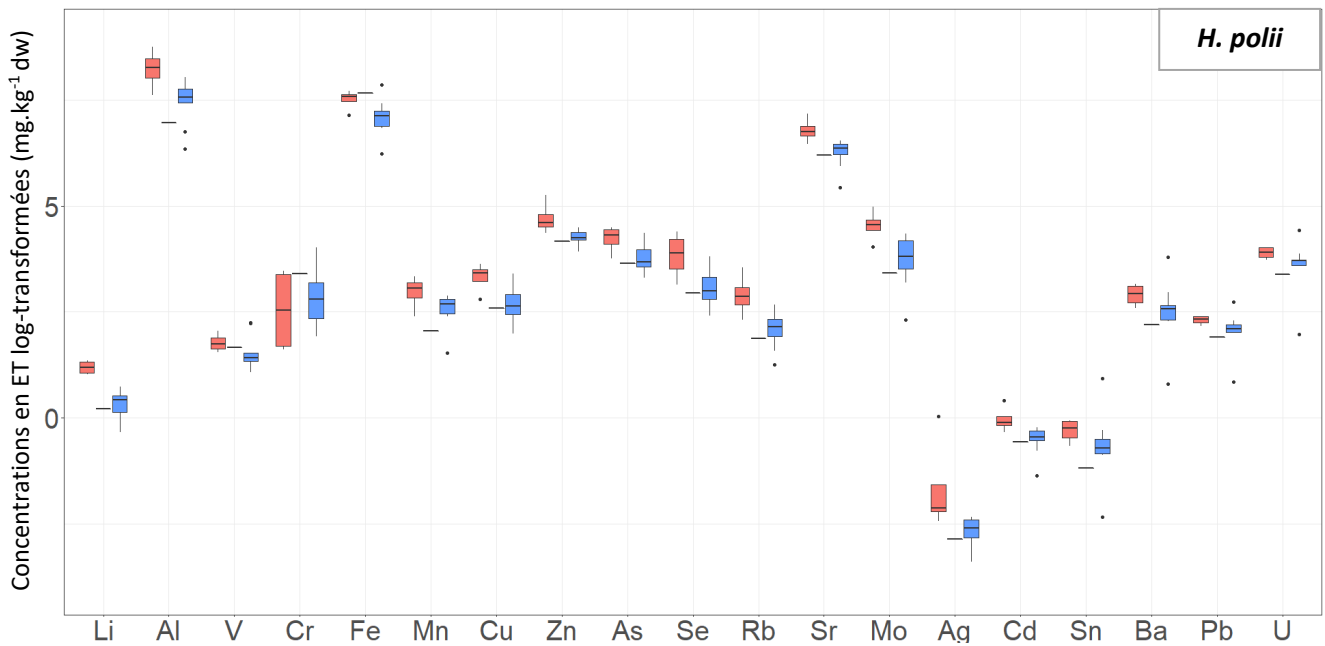


Figure 12 : Concentrations en ET log-transformées ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ dw}$ ) présentes dans le système hémal des spécimens d'*H. polii* collectés sur les différentes stations d'intérêt (■ = Aquaculture | — = Emissaire | ■ = STARESO).

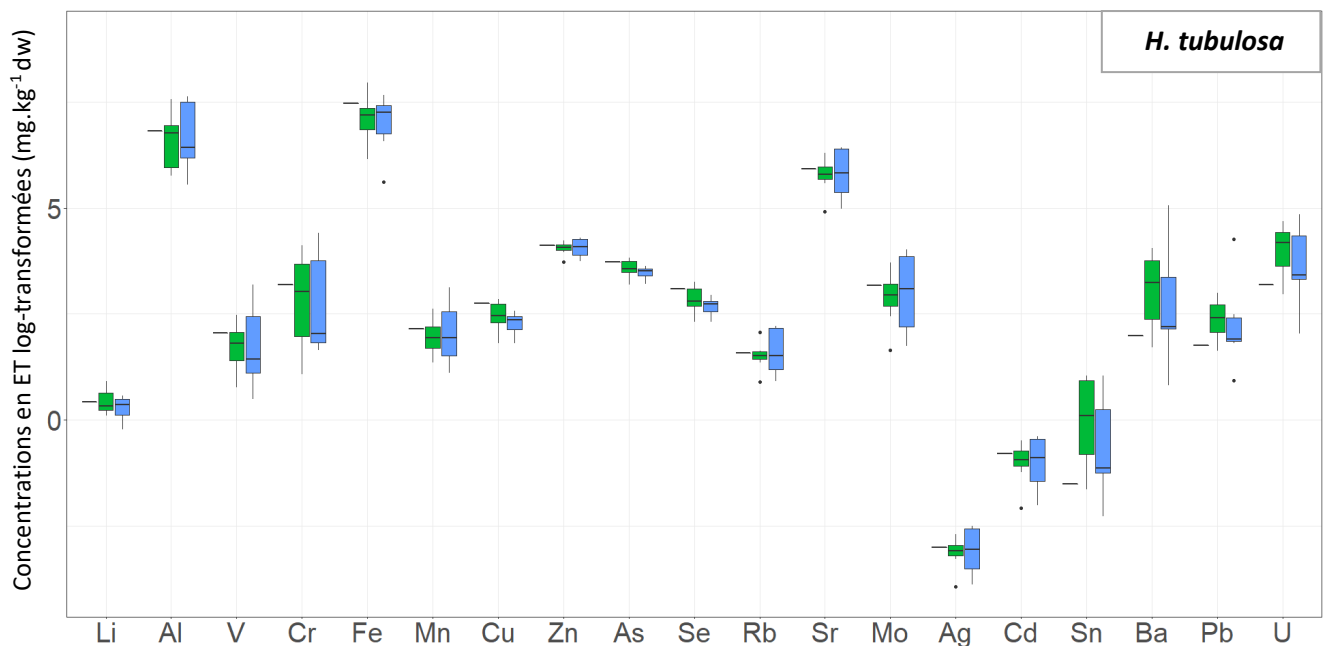


Figure 13 : Concentrations en ET log-transformées ( $\text{mg.kg}^{-1} \text{ dw}$ ) présentes dans le système hémal des spécimens d'*H. tubulosa* collectés sur les différentes stations d'intérêt (— = Aquaculture | ■ = Emissaire | ■ = STARESO).

Enfin, une comparaison attentive des Figures 12 et 13 montre que, pour de nombreux éléments, les concentrations moyennes en ET au sein d'*H. polii* sont plus élevées par rapport à *H. tubulosa*. Ce phénomène est confirmé par l'examen des valeurs moyennes de concentrations en ET mesurées dans le système hémal de l'ensemble des échantillons, disponibles dans l'Annexe 9. En effet, pour le site de STARESO (seul site où des individus appartenant aux deux espèces ont pu être collectés à chaque

période), les concentrations en Al, Mn, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Ag et Cd sont systématiquement supérieures dans le système hémal d'*H. polii*, et ce à chaque période. Cette liste s'allonge encore avec l'ajout du Li et du Fe en période estivale, auxquels viennent s'adjoindre le V, le Cr, l'Sn et l'U en période hivernale. Ainsi à cette dernière période, dix-huit des dix-neuf ET considérés enregistrent des concentrations supérieures au sein d'*H. polii* sur cette station.

Malgré l'ensemble de ces observations, les tests ANOVA post-hoc réalisés sur les différents ET d'intérêts n'ont pas permis de mettre en évidence des différences significatives entre les concentrations en ET, que ce soit entre les deux espèces d'intérêts (p-valeur comprise entre 0,193 et 1,000) ou entre les sites étudiés (p-valeur comprise entre 0,139 et 1,000). Pour la variable « espèce », seul le Cu se rapproche du seuil de significativité avec cette p-valeur de 0,193, tandis que seul le Li témoigne d'une influence presque significative de la station sur ses concentrations avec cette p-valeur associée de 0,139.

### 2.3 Evaluation de la charge en éléments traces des différents sites étudiés par le biais de l'indice TEPI

#### 2.3.1 Variation spatiale de la charge en éléments traces en baie de Calvi

Parmi les valeurs de concentrations en ET disponibles pour le calcul des indices TEPI, ce sont celles mesurées dans le système hémal qui ont été choisies afin de comparer le niveau de contamination entre les différentes stations. En effet, les résultats évoqués plus haut montrent que seules les concentrations en ET mesurées dans cet organe sont potentiellement différentes en fonction du site, et permettraient donc de déceler une différence spatiale entre les quantités d'ET présentes. De plus, au vu des différences interspécifiques de concentrations mesurées dans le système hémal, les indices TEPI ont été calculés séparément pour les deux espèces. Le faible nombre de spécimens d'*H. tubulosa* sur le site de l'aquaculture n'a pas permis de calculer d'indice TEPI à partir de cette espèce sur ce site, idem pour *H. polii* sur le site de l'émissaire.

Site	Espèce	TEPI
Aquaculture	<i>H. polii</i>	1,372
STARESO	<i>H. polii</i>	0,842
Emissaire	<i>H. tubulosa</i>	0,989
STARESO	<i>H. tubulosa</i>	1,008

*Tableau 3 : Indices TEPI calculés sur base des teneurs en ET du système hémal des spécimens d'*H. polii* et *H. tubulosa* collectés sur les stations étudiées.*

Le Tableau 3 présente les valeurs TEPI calculées pour les différents sites à l'aide des deux espèces d'holothuries considérées. Ce dernier montre une différence de charge en ET plus importante entre la ferme aquacole et la station STARESO qu'entre l'émissaire et cette même station. En effet, dans le premier cas, l'indice TEPI calculé à l'aide d'*H. polii* pour la ferme aquacole est 63% plus élevé que celui

associé au site de STARESO, qui apparaît comme moins chargé en ET selon cet indice. A l'inverse, l'indice TEPI calculé à l'aide d'*H. tubulosa* montre une différence de 2% entre le site de STARESO et celui de l'émissaire, ce qui suggère une différence négligeable entre ces deux sites.

### 2.3.2 Variation temporelle de la charge en éléments traces en baie de Calvi

Pour l'étude de la variation temporelle de la charge en ET des différentes stations, ce sont les teneurs en ET mesurées au sein des muscles des spécimens collectés qui ont été sélectionnées. En effet, seules les concentrations en ET mesurées dans cet organe sont potentiellement différentes en fonction de la période, permettant ainsi de détecter une éventuelle évolution périodique de la charge en ET des sites. Par ailleurs, l'absence d'influence de l'espèce sur l'accumulation des ET dans cet organe permet d'exploiter indifféremment les spécimens des deux espèces collectées pour le calcul de l'indice TEPI. Cependant, l'absence d'influence de la station sur les teneurs en ET au sein des muscles ne permet pas de faire une distinction entre l'évolution périodique de la charge en ET des différentes stations.

Période	TEPI
Estivale	1,321
Automnale	0,894
Hivernale	0,759

*Tableau 4 : Evolution périodique de l'indice TEPI calculé en baie de Calvi sur base des spécimens collectés sur les sites de l'Emissaire et de STARESO.*

Le tableau 4 présente l'évolution temporelle de l'indice TEPI calculé en baie de Calvi sur base des spécimens collectés sur les sites de l'émissaire et de STARESO, seules stations permettant de disposer d'individus à chaque période. Ce tableau montre une décroissance progressive de l'indice TEPI à partir de l'été jusqu'à atteindre une valeur minimale en période hivernale. C'est ainsi que l'indice TEPI automnal chute de 32% par rapport à l'indice estival, tandis que l'indice correspondant à la période hivernale est quant à lui 43% inférieur à l'indice estival. Selon cet indice TEPI, il semblerait donc que la charge en ET en baie de Calvi enregistre une forte diminution entre la période estivale et automnale qui se poursuit ensuite avec une amplitude plus faible.

## 3. Ingestion de plastique par les holothuries en baie de Calvi

### 3.1 Nombre de microplastiques ingérés par les holothuries sur les différents sites

Au total, 349 items identifiés comme potentiellement constitués de plastique ont été extraits des 19 spécimens sélectionnés. Cela correspond à un contenu moyen de  $16 \pm 6$  (moyenne  $\pm$  écart-type) items par tube digestif, avec un minimum de 7 et un maximum de 27 par organe. Cependant, cette valeur moyenne ne tient pas compte de la forte différence de taille pouvant exister entre les individus, qui se reflète inévitablement dans la capacité de leur tube digestif. Ainsi, la quantité moyenne d'items ingérés normalisée par rapport au poids du tube digestif (ç.à.d. pour 10g de poids frais) s'élève à  $12 \pm 11$ , pour un minimum de 3 items et un maximum de 34 items.

La Figure 14 présente ce nombre d'items normalisé trouvé dans le tube digestif des spécimens échantillonnés sur les trois sites étudiés. Elle montre clairement que le tube digestif des individus collectés au niveau de la ferme aquacole renferme une quantité supérieure de plastique par rapport à celui de leurs congénères des autres stations. Le contenu du tube digestif des individus résidant au niveau de l'émissaire et de STARESO semble quant à lui comparable, avec un niveau légèrement plus élevé au niveau de STARESO.

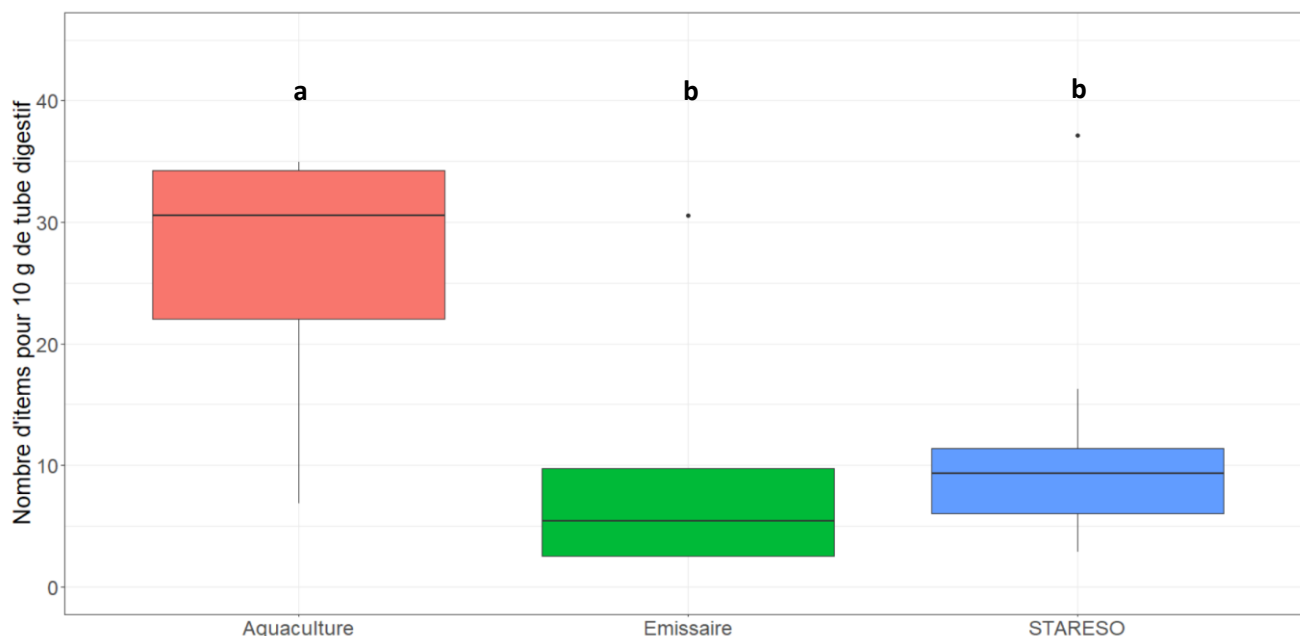


Figure 14 : Quantité d'items en plastique trouvée dans le tube digestif des holothuries collectées sur les différents sites étudiés, exprimée en nombre d'items pour 10 g de tube digestif (poids frais); les lettres minuscules représentent le résultat du test post-hoc DSH de Tukey ( $p$ -valeur  $< 0,1$ ).

Ces observations sont confirmées par l'analyse statistique qui identifie une différence significative entre les quantités d'items ingérées sur les différents sites ( $p$ -valeur = 0,058). Elle permet également d'affirmer que les holothuries résidant au niveau de la ferme aquacole se distinguent de celles présentes sur les sites de STARESO et de l'émissaire qui contiennent des quantités similaires de plastique (Fig.14).

### 3.2 Taille des microplastiques ingérés par les holothuries sur les différents sites

Les items en plastique extraits du tube digestif des holothuries collectées ont une taille moyenne de  $1,635 \pm 2,005$  mm, pour une taille minimale de 55  $\mu$ m et une taille maximale de 21,214 mm.

La Figure 15 présente la distribution de la taille des items en fonction du site étudié. La prédominance d'items ayant une taille inférieure à 5 mm dans les trois stations y est clairement visible, ce qui correspond à la limite supérieure de la classe des MP. De plus, la distribution de la taille des items collectés au niveau de l'émissaire est beaucoup plus étalée, avec des débris pouvant atteindre une taille plus importante par rapport aux deux autres stations où ils ne dépassent jamais 8mm. Ainsi, la taille moyenne des items à l'émissaire (2,606 mm) est bien supérieure à celle des items collectés sur les sites de l'aquaculture et de STARESO, avec respectivement 1,393 mm et 1,315 mm.

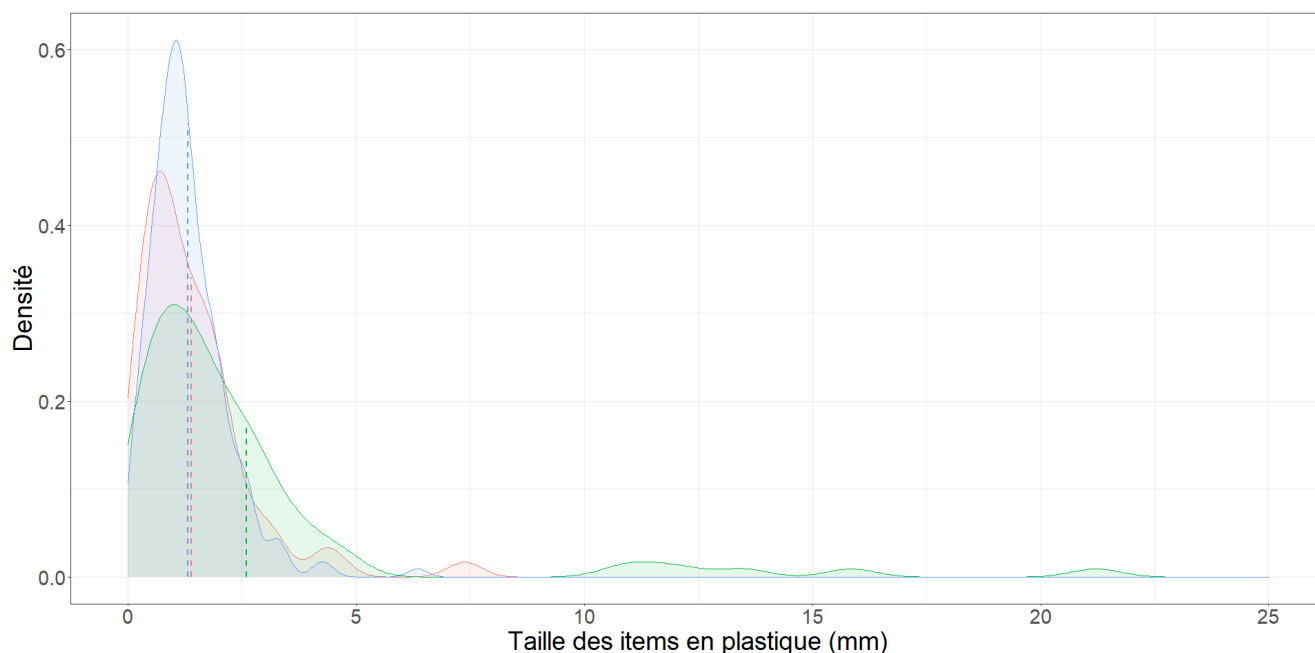


Figure 15 : Distribution de la taille des items en plastique (mm) extraits du tube digestif des holothuries sélectionnées sur les différents sites étudiés ( ■ = Aquaculture | ■ = Emissaire | ■ = STARESO ) reconstituée à l'aide d'une estimation par noyau (KDE) ; les lignes pointillées représentent la taille moyenne des items de chaque station.

Concrètement, 98,4% des débris trouvés sur le site de la ferme aquacole appartiennent à la catégorie des MP, pourcentage qui monte à 99,5% au niveau de STARESO. Le reste des items appartient quant à lui à classe des méso-débris plastiques. En comparaison, la proportion de MP sur le site de l'émissaire tombe à 92,6%. Le reste des items présents sur ce site est majoritairement constitué de méso-débris plastiques. Il faut cependant noter la présence d'un item appartenant à la classe des macro-débris plastiques, avec 21,214 mm de long.

Les tests statistiques effectués confirment cette différence de taille entre les sites ( $p$ -valeur = 0,008) et vont même jusqu'à révéler une différence significative entre l'émissaire et l'aquaculture ( $p$ -valeur = 0,028) ainsi qu'entre l'émissaire et STARESO ( $p$ -valeur = 0,014). Par contre, aucune différence n'est mise en évidence entre la ferme aquacole et STARESO ( $p$ -valeur = 1,000).

### 3.3 Types de microplastiques ingérés par les holothuries sur les différents sites

Les différents items en plastique extraits du tube digestif des holothuries peuvent être répartis en quatre grandes catégories : les fibres et filaments, les fragments, les films et enfin les gommés. Un exemple de chacun de ces types d'item est présenté dans la Figure 16.

La Figure 17 illustre pour chaque site la proportion d'items appartenant à chacune de ces catégories dans le tube digestif des holothuries collectées. Dans cette figure, il apparaît immédiatement que les fibres et filaments représentent la catégorie la plus abondante sur l'ensemble des sites. Par ailleurs, l'émissaire semble se démarquer des deux autres stations par la présence de fragments et de gommés, deux catégories absentes sur les sites de l'aquaculture et de STARESO. L'émissaire se distingue également par l'absence de films, présents sur les deux autres sites. Enfin, les fibres et filaments représentent une

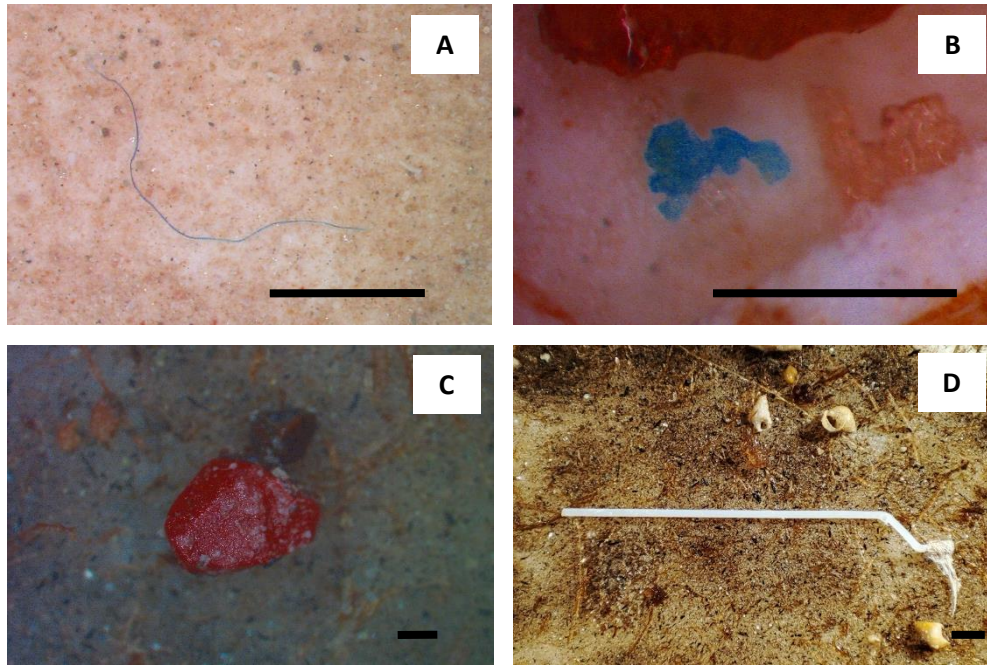


Figure 16 : Exemple d'items en plastique appartenant aux quatre catégories définies (A = fibres et filaments, B = films, C = gomme et D = fragment) trouvés dans le tube digestif des holothuries collectées en baie de Calvi ( — = 1 mm).

proportion nettement moindre des plastiques au niveau de l'émissaire par rapport ceux trouvés autour de STARESO et de la ferme aquacole. Les résultats des tests statistiques effectués confirment une différence significative du nombre d'items en plastique des différentes catégories entre les trois sites considérés (p-valeur = 0.007). Les tests ANOVA post-hoc confirment quant à eux l'influence de la station d'échantillonnage sur le nombre de gommes (p-valeur <  $10^{-7}$ ) et de fragments (p-valeur < 0.001) présents dans le tube digestif des holothuries, tandis que les tests de DSH de Tukey indiquent clairement la spécificité de l'émissaire en ce qui concerne la présence de ces deux types d'items plastiques. Ces résultats viennent confirmer l'observation relativement évidente ressortant des graphes selon laquelle les types de plastiques présents à l'émissaire diffèrent de ceux des deux autres stations. Enfin, et même si cela sort du cadre de la pollution du sédiment par les plastiques, il est intéressant de constater la présence de plusieurs bandelettes métalliques de taille non-négligeable dans le tube digestif de plusieurs holothuries collectées autour de l'émissaire (Annexe 16).

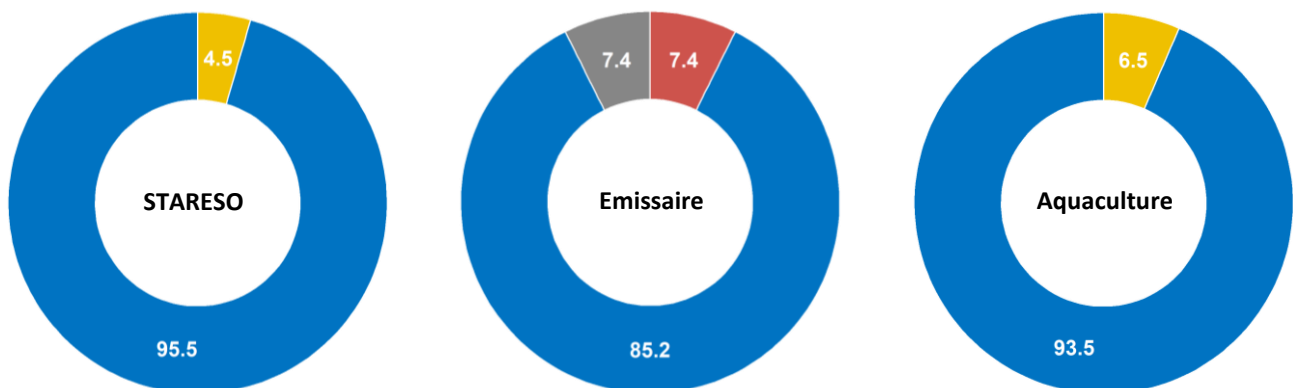


Figure 17 : Pourcentage d'items en plastique appartenant aux différentes catégories définies (■ = fibres et filaments, ■ = films, ■ = caoutchoucs et ■ = fragments) dans les holothuries collectées sur chacun des sites étudiés.



## IV. Discussion

### 1. Identification des espèces d'holothuries en laboratoire

De nombreux auteurs soulignent l'importance des spicules calcaires pour l'identification précise de la plupart des espèces d'holothuries (Koehler, 1921; Samyn et al., 2006; Toral-Granda, 2005; Tortonese & Vadon, 1987; Uthicke et al., 2004). Dans le cas des spécimens d'*Holothuria tubulosa* et d'*Holothuria polii* collectés pour ce travail, l'observation des spicules présents dans leur derme a permis de confirmer l'exactitude de l'ensemble des identifications préliminaires effectuées sur base des critères morphologique externes et internes présentés dans les deux clefs d'identification utilisées (Koehler, 1921; Tortonese & Vadon, 1987). Cela confirme que l'identification de ces espèces est possible grâce à ces seuls critères morphologiques, sans qu'il ne soit nécessaire de recourir à la microscopie pour l'identification des spicules. Il est cependant intéressant de préciser la présence d'un critère supplémentaire non mentionné dans ces clefs d'identification et qui est sans doute propre au contexte de l'identification d'individus décongelés. En effet, lors des dissections, il est apparu que la paroi du corps des spécimens d'*H. tubulosa* avait une forte tendance à se liquéfier lors de la manipulation des individus décongelés. Cela n'a pas été observé pour *H. polii*, dont la paroi du corps restait ferme en toutes circonstances. Ce phénomène est peut-être lié à une plus grande densité de spicules au sein de la paroi du corps de cette dernière espèce. En effet, lors de l'isolement des spicules, les échantillons de la paroi du corps d'*H. polii* ont semblé permettre l'extraction d'une beaucoup plus grande quantité de spicules que pour *H. tubulosa*, une impression due à un dépôt beaucoup plus épais de poudre blanche calcaire au fond des tubes à essais utilisés pour l'extraction des spicules d'*H. polii*. Cependant ceci n'a pu être quantifié précisément. Malgré tout, au vu de la différence frappante entre les spicules calcaires des deux espèces, leur observation au microscope optique ou, mieux, électronique, reste utile en cas de doute à propos de l'identification sur base des critères morphologiques seuls.

### 2. Accumulation des éléments traces au sein des holothuries

#### 2.1 Comparaison des teneurs en éléments traces des holothuries corses par rapport à d'autres populations méditerranéennes et évolution temporelle

Avant ce travail, jamais les concentrations en dix-neuf ET (Li, Al, V, Cr, Fe, Mn, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sr, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba, Pb et U) n'avaient été rapportées au sein de spécimens d'*H. tubulosa* et *H. polii* vivant en Mer Méditerranée. La plupart des auteurs se sont en effet limités aux ETM les plus étudiés et connus pour leur toxicité potentielle à haute dose, à savoir le Zn, le Pb, le Cd, le Fe et le Cu. De plus, seules deux autres études se sont intéressées aux variations saisonnières de ces concentrations au sein de cette mer, et ce uniquement pour l'espèce *H. tubulosa*. Le Tableau 5 présente une comparaison entre

les concentrations moyennes en ces cinq ETM mesurées en périodes estivale, automnale et hivernale dans plusieurs organes d'*H. tubulosa* en différents endroits de la Méditerranée

Etude de référence	Zone d'étude	Organe	Période	Zn	Pb	Cd	Fe	Cu
Warnau et al. (2006)	Baie de Calvi (1991 - 1992)	Paroi du corps	Estivale	13,9 - 15,4	1,62 - 5,70	0,38 - 0,67	15 - 47	1,16 - 1,33
			Automnale	10,1 - 15,4	7,20 - 18	0,81 - 1,49	12,5 - 216	1,20 - 1,42
			Hivernale	11,4 - 15,5	7,16 - 10,0	2,40 - 2,84	22 - 72	1,21 - 1,48
		Système hémal	Estivale	347 - 424	4,23 - 6,77	1,83 - 2,78	516 - 1008	1,32 - 4,26
			Automnale	255 - 318	4,94 - 18,8	9,27 - 22,0	352 - 2617	5,42 - 7,14
			Hivernale	238 - 371	4,17 - 18,1	1,57 - 5,51	419 - 2042	3,37 - 5,27
	Calanque de Cortiou à Marseille (1991 - 1992)	Paroi du corps	Estivale	17,3 - 18,1	2,16 - 2,58	1,38 - 1,85	18 - 33	1,20 - 1,26
			Automnale	14,9 - 16,1	1,23 - 2,07	1,38 - 1,85	18 - 33	1,20 - 1,26
			Hivernale	16,5 - 21	3,69 - 4,69	1,62 - 1,80	66 - 106	1,42 - 2,28
		Système hémal	Estivale	312 - 473	1,49 - 4,65	5,60 - 6,91	286 - 458	6,79 - 8,76
			Automnale	297 - 346	3,67 - 5,31	4,88 - 6,67	243 - 386	4,77 - 5,83
			Hivernale	291 - 334	2,67 - 5,80	1,47 - 1,57	254 - 506	4,68 - 6,02
	Île d'Ischia en baie de Naples (1991 - 1992)	Paroi du corps	Estivale	15,2 - 26,0	1,94 - 2,28	0,50 - 2,28	30 - 56	1,06 - 1,13
			Automnale	8,87 - 15,1	7,20 - 18	0,51 - 1,38	18,5 - 191	1,09 - 1,48
			Hivernale	11,5 - 17,8	4,62 - 6,71	2,17 - 1,52	47 - 61	1,19 - 1,55
Système hémal		Estivale	151 - 220	2,96 - 20	1,36 - 2,62	272 - 699	1,66 - 3,36	
		Automnale	191 - 269	8,43 - 104	11,6 - 21	440 - 1950	7,89 - 9,34	
		Hivernale	150 - 288	7,65 - 27,0	2,12 - 2,41	705 - 800	5,45 - 8,27	
Turk Culha et al. (2016)	Détroit des Dardanelles (2013)	Muscles	Estivale	13,43 - 16,86	0,71 - 5,34	0,09 - 0,15	50,86 - 102,93	0,02 - 0,52
			Automnale	12,40 - 15,03	0,74 - 3,82	0,09 - 0,15	50,86 - 78,46	< L <sub>D</sub> - 1,51
			Hivernale	17,02 - 21,27	1,50 - 1,83	0,14 - 0,17	56,07 - 99,71	< L <sub>D</sub> - 6,60
Ce mémoire	Baie de Calvi (2020 - 2021)	Paroi du corps	Estivale	12,09 - 31,40	0,93 - 4,64	0,06 - 0,09	13,04 - 30,16	1,28 - 1,45
			Automnale	4,95 - 32,40	0,76 - 2,12	0,02 - 0,09	15,19 - 19,76	1,19 - 2,30
			Hivernale	36,05 - 41,82	0,56 - 1,99	0,11 - 0,13	16,82 - 50,82	1,33 - 1,50
		Système hémal	Estivale	48,9 - 72,4	6,61 - 11,11	0,23 - 0,67	886 - 1895	8,18 - 13,03
			Automnale	46,6 - 65,9	6,43 - 12,00	0,20 - 0,67	717 - 1430	8,35 - 11,48
			Hivernale	42,0 - 70,9	2,51 - 70,38	0,13 - 0,64	272 - 2132	6,08 - 12,78
		Muscles	Estivale	43,5 - 62,9	1,17 - 5,40	0,14 - 0,49	105 - 522	2,46 - 7,33
			Automnale	9,5 - 49,9	0,58 - 3,53	0,04 - 0,25	81 - 545	1,36 - 4,34
			Hivernale	12,9 - 49,7	1,04 - 3,82	0,06 - 0,23	117 - 271	2,38 - 4,82

Tableau 5 : Comparaison entre les concentrations (minimales-maximales) en ETM (mg.kg<sup>-1</sup> dw) mesurées en baie de Calvi au sein de différents organes d'*Holothuria tubulosa* lors de ce mémoire et celles mesurées via deux autres études réalisées en Mer Méditerranée sur cette même espèce.

Les valeurs mesurées dans les années 1990 en baie de Calvi (à la pointe de la Revellata plus précisément, très proche de la station STARESO) par Warnau et al. (2006) au sein du système hémal des holothuries révèlent plusieurs différences. Ainsi, les concentrations en Zn à chaque saison ont fortement diminué par rapport à il y a 30 ans, puisqu'elles se mesurent maintenant en dizaines de mg. kg<sup>-1</sup>, là où elles s'exprimaient auparavant en centaines de mg. kg<sup>-1</sup>. Une tendance similaire est observée pour le Cd qui voit également sa concentration chuter fortement dans cet organe à cet endroit. Les concentrations en

Zn et en Cd en baie de Naples et en rade de Marseille dans les années 1990 étant du même ordre de grandeur que celles mesurées en baie de Calvi, cela suggère une présence plus importante de ces éléments à l'échelle de la Méditerranée à cette époque par rapport à la période actuelle. Cependant, les concentrations en Pb et en Fe ont, quant à elles, peu évolué, avec néanmoins une différence dans la variation saisonnière. De fait, l'accumulation maximale de ces éléments était, dans l'étude de Warnau et al. (2006), mesurée en période automnale pour l'ensemble des stations, alors que dans ce travail elle s'observe plutôt en période hivernale. Enfin, les concentrations en Cu en baie de Calvi enregistrent une tendance à la hausse par rapport aux valeurs mesurées il y a 30 ans.

Il faut cependant noter que l'évolution des concentrations en ET est relativement différente dans la paroi du corps des holothuries. En effet, les concentrations en Zn sont supérieures en 2020 par rapport à 1991. A l'inverse, les concentrations en Pb dans cet organe sont plus faibles, tout comme le Cd qui enregistre une baisse encore plus importante que dans le système hémal. Ces différences s'expliquent probablement par les mécanismes d'absorption des ET très différents entre le système hémal et la paroi du corps, qui seront détaillées plus loin dans la suite de cette discussion. Ainsi, la paroi du corps est plus susceptible d'absorber les nutriments et les ET depuis la colonne d'eau, alors que le système hémal sera principalement le réceptacle des nutriments et ET absorbés depuis les sédiments via le tube digestif.

Dès lors, les différences observées entre l'étude de Warnau et al. (2006) et ce travail au niveau des concentrations dans la paroi du corps sont davantage susceptibles de refléter l'évolution des ET dans la colonne d'eau, alors que le système hémal reflètera probablement davantage l'évolution de la charge en ET des sédiments. Au vu de la variation rapide des concentrations en ET dans la colonne d'eau (Ebling & Landing, 2017; Rainbow, 1995), il est probable que la concentration en Zn plus élevée dans la paroi du corps mesurée dans cette étude ne reflète qu'une augmentation épisodique de la quantité de cet élément à cet endroit. Il en va de même pour la baisse des concentrations en Pb et en Cd. A l'inverse, les plus faibles concentrations en Cd et en Zn observées dans le système hémal seraient le reflet d'une diminution sur le long terme de la présence de ces éléments dans les sédiments en baie de Calvi.

Vu les nombreuses origines anthropiques du Zn et du Cd (décharge depuis les raffineries de métaux, déchets domestiques et industriels, émissions à partir de sites miniers, lixiviation à partir de conduites d'eaux usées et d'approvisionnement en eaux, ...), cette diminution pourrait être le résultat des mesures imposées par la « Directive-Cadre sur l'Eau » européenne pour réduire et prévenir la pollution de l'eau (Commission Européenne, 2000). Cette directive impose aux Etats Membres la mise en application des mesures indiquées dans les directives 96/61/CEE et 91/271/CEE ayant pour buts respectifs de prévenir et réduire les pollutions chroniques en provenance de certaines activités industrielles particulièrement polluantes et de protéger l'environnement des effets néfastes des eaux résiduaires urbaines et industrielles (Conseil de l'Union Européenne, 1996; Conseil des Communautés Européennes, 1991), qui sont autant de sources importantes d'ETM tels que le Zn et le Cd. Cependant, de plus amples

investigations seraient nécessaires pour expliquer l'augmentation des concentrations en Cu, élément aux nombreuses sources anthropiques, dans l'environnement des holothuries, qui cadre mal avec la réduction observée pour le Zn et le Cd.

L'étude menée par Turk Culha et al. (2016), qui repose sur un échantillonnage mené en 2014 dans le Déroit des Dardanelles, permet, quant à elle, de comparer les concentrations mesurées dans les muscles des holothuries vivant dans cette zone fortement impactée par les activités humaines et celles mesurées récemment en baie de Calvi. Cette comparaison fait ressortir des concentrations en Fe bien supérieures en baie de Calvi par rapport au déroit des Dardanelles, et ce pour chaque saison considérée. Cette forte différence pourrait trouver son origine dans les différences géologiques entre la région de Calvi et celle du déroit des Dardanelles. En effet, si Calvi repose sur un socle basaltique, le déroit des Dardanelles se caractérise lui par une dominance de roches sédimentaires, notamment des grès, shales, calcaires, marnes ou encore des conglomérats (Gökaşan et al., 2008; Lin et al., 2018). Cependant, certaines études ont démontré que le contenu moyen en fer de ces deux types de roches était du même ordre, soit entre 1 et 9 % (Schwab, 2003; Torstenfelt et al., 1983). Plus probablement, la quantité supérieure de Fe à Calvi se justifie par le dépôt atmosphérique de poussières venues du Sahara enrichies en cet ET, un phénomène très régulier et propre à l'ouest méditerranéen (Guieu et al., 2002; Ridame et al., 1999).

## 2.2 Variabilité de l'accumulation des éléments traces au sein d'*Holothuria tubulosa* et *Holothuria polii*

La première série d'analyses effectuées confirme que l'organe choisi est le facteur influant le plus sur les mesures de concentrations en ET, un constat qui cadre avec les conclusions de Warnau et al. (2006).

### 2.2.1 Différences de concentrations en éléments traces entre les organes

Les différences en termes de quantités brutes d'ET présents au sein de chaque organe trouvent sans aucun doute leur origine dans leurs fonctions propres et par conséquent, dans les différences physiologiques leur permettant de les remplir. Ainsi, **le système hémal** est impliqué dans une grande diversité d'activités métaboliques, allant de la translocation des nutriments absorbés par le tube digestif à l'excrétion des déchets en passant par la respiration (Ferguson, 1982). Dans le cadre de la nutrition des holothuries, le système hémal est également impliqué dans la sécrétion de substances nutritives mucoïdes telles que certains mucopolysaccharides (Ferguson, 1982), substances pour lesquelles les ETM ont une forte affinité (Miramand et al., 1980, 1981). De plus, le système hémal participe à la défense immunitaire des holothuries via la présence de cœlomocytes circulant en son sein (Ferguson, 1982). Ces cellules, caractéristiques des échinodermes, sont notamment impliquées dans la détoxification et la séquestration de nombreux agents pathogènes et pourraient potentiellement jouer un rôle dans celles des ET (Warnau et al., 2006). Dans le cadre de ces fonctions, le système hémal est donc susceptible de recevoir par l'intermédiaire du tube digestif de nombreux micronutriments, tels certains

ET essentiels ou supposés essentiels, ainsi que de nombreux ET non-essentiels parvenant à franchir la barrière intestinale. Il est également le réceptacle des ET présents en surabondance dans les différentes parties de l'organisme avant leur élimination. Il n'est dès lors pas surprenant que ce compartiment enregistre les concentrations les plus élevées pour presque l'ensemble des ET considérés.

Les fortes concentrations en ET présentes au sein des **arbres respiratoires** sont, quant à elles, probablement liées à leur fonction excrétrice. En effet, ces organes vont permettre l'élimination des déchets métaboliques des concombres de mer, à la fois ceux présents dans le liquide cœlomique et ceux acheminés vers les arbres respiratoires par le système hémal (Jangoux, 1982). Parmi ces déchets figurent une quantité importante de cœlomocytes qui, comme mentionné plus haut, sont susceptibles de participer à la séquestration et l'élimination des ET en surabondance. En effet, les cœlomocytes peuvent former des agrégats, appelés « corps bruns », impliqués dans l'élimination de matériel végétal ingéré non-assimilable. Ce dernier est susceptible de contenir de nombreux ET, tels que le Fe qui est impliqué dans la synthèse de la chlorophylle (Rout & Sahoo, 2015) mais aussi du Mn qui est un cofacteur essentiel du complexe d'oxydation de l'eau présent dans le photosystème II (Alejandro et al., 2020).

A l'inverse, **la paroi du corps** des holothuries se caractérise par une moins grande diversité de fonctions métaboliques. Ainsi, les nutriments sont transférés de manière passive vers le derme depuis le liquide cœlomique avant de se distribuer naturellement au sein de ce tissu. Par ailleurs, le derme et l'épiderme sont séparés par une membrane basale imperméable. Dès lors, la plupart des besoins en nutriments de l'épiderme seraient comblés par l'absorption directe de nutriments depuis l'eau de mer (Bamford, 1982; Ferguson, 1982). C'est pourquoi les variations de concentrations en ET dans la paroi du corps sont davantage susceptibles de refléter la dynamique des ET dans la colonne d'eau, ce qui suggère un intérêt limité de cet organe dans le monitoring des sédiments. Cette intuition est soutenue par le faible degré de concentration des ET dans cette partie du corps, probablement due à l'absence de mécanisme de translocation et de concentration active des nutriments vers cet organe.

Enfin, l'ensemble formé par **les muscles mêlés au système ambulacraire** est également susceptible de contenir une quantité non-négligeable d'ET de par la relation existant entre ce système ambulacraire et le système hémal. En effet, ce dernier permet l'acheminement des substances mucoïdes nécessaires à la production, au niveau de l'ampoule des podia, du mucus assurant l'adhésion de ces derniers au substrat (Ferguson, 1982). Les muscles requièrent de nombreux ET pour assurer leur fonctionnement, comme c'est notamment le cas du Se dont les propriétés antioxydantes permettent de limiter l'impact des dérivés réactifs de l'oxygène produits lors d'efforts intenses, mais aussi de réguler la concentration en Ca, essentiel à la contraction des fibres musculaires, au sein des cellules (Lescure & Briens, 2013).

Les spécificités des différents organes en termes de structure et de fonction permettent également de comprendre certaines variations dans l'ordre d'accumulation des ET au sein des compartiments du corps des holothuries. Ainsi, il est logique que la paroi du corps accumule des quantités proportionnellement

plus importantes de Sr et de Pb par rapport aux autres organes. En effet, le Pb est un élément dont l'affinité avec le squelette calcique des échinodermes a déjà été démontrée (Beeby, 1991; Stuesson, 1976). Il en va de même pour le Sr, un élément qui, comme le Mg, peut se substituer en faibles proportions au Ca dans les processus de calcification permettant la production du squelette calcaire de nombreux organismes marins (Dodd, 1967; Pors Nielsen, 2004). La plus grande proportion de Cr dans le système hémal peut, quant à elle, s'expliquer par la participation de ce compartiment, conjointement avec le tube digestif auquel il est étroitement associé, dans l'élaboration et le transport de substances nutritives complexes. En effet, le Cr joue un rôle indispensable dans le métabolisme des carbohydrates et plus particulièrement dans leur stockage sous forme de glycogène (Anderson, 1981). Le comportement très particulier du Li, illustré dans les Figures 8 et 9, pourrait être lié à la tendance de cet élément à interférer avec l'absorption de plusieurs cations essentiels tels le Na, le K, le Ca et le Mg (Chmielnicka & Nasiadek, 2003). De manière similaire, le Li pourrait entrer en compétition avec certains ET aux configurations électroniques proches de ces cations essentiels au moment de leur absorption. Cette compétition entre le Li et le Ca en particulier pourrait expliquer les concentrations très élevées de Li par rapport aux autres ET au sein de la paroi du corps des holothuries.

La dominance de corrélations positives entre l'ensemble des ET (excepté le Li) observée dans la Figure 8 reflète une situation assez différente de celle dépeinte par les observations de Marengo et al. (2020) au sein de nombreux téléostéens corses. En effet, cette dernière étude a montré la présence de corrélations négatives entre plusieurs couples d'ET (Pb-Co, Li-As, U-Co, Ba-As) ainsi que des corrélations positives généralement plus faibles que celles de ce travail. Les auteurs avancent deux raisons principales pouvant justifier ces corrélations positives à savoir d'une part, des voies d'assimilation ou des mécanismes de régulations biochimiques similaires entre les ET (Ghribi et al., 2020) et d'autre part, une source commune des ET (Yilmaz et al., 2007). Dès lors, la présence généralisée de corrélations positives entre les concentrations en ET dans les organes d'*H. tubulosa* et *H. polii* pourrait refléter l'origine commune de tous ces éléments, ce qui serait cohérent au vu de la petite échelle de la baie de Calvi, qui limite le nombre de sources potentiellement présentes sur son pourtour. Cela pourrait également signifier que lorsque les concentrations environnementales en ET augmentent, leur teneur augmente également dans l'ensemble des organes, avec toutefois des différences d'augmentation entre chacun d'eux.

### 2.2.2. Variabilité interspécifique, spatiale et temporelle des concentrations en éléments traces au sein des différents organes

Si les premières analyses effectuées sur les concentrations en ET au sein de chaque organe ont indiqué une influence de certaines variables sur celles-ci (période de l'année dans les muscles mêlés au système ambulacraire, espèce considérée dans les arbres respiratoires, espèce et site d'échantillonnage pour le système hémal), aucunes des analyses post-hoc qui ont suivi n'ont permis de confirmer ces différentes influences, et ce pour aucun des dix-neuf ET considérés. A l'inverse, Warnau et al. (2006) ont démontré

d'importantes différences d'accumulation du Zn, du Pb, du Cd, du Fe, du Ni et du Cu au sein de la paroi du corps et du système hémal d'*H. tubulosa* en fonction de la période échantillonnée et de la station considérée. La raison de l'absence de résultats significatifs dans le cadre de ce travail s'explique probablement par les conditions d'échantillonnage. En effet, le petit nombre d'individus de chaque espèce disponible sur chaque station ainsi que leur nombre variable en fonction de la période de l'année, combiné à la multiplication du nombre d'ET analysés par rapport à l'étude de Warnau et al. (2006) a sans doute diminué la puissance des tests statistiques, empêchant la détection d'une tendance claire.

Un autre facteur pouvant expliquer cette absence de différences entre les modalités étudiées est l'échelle plus réduite de cette étude. En effet, les travaux menés par Warnau et al. (2006) concernaient un cycle annuel complet, alors que ce travail ne prend pas en compte la période printanière qui constitue la période de croissance et de maturation des gonades (Slimane-Tamacha et al., 2019). Or, plusieurs études menées sur l'accumulation d'ET au sein d'échinodermes ont mis en lumière l'importance de cette période du cycle reproducteur dans ce phénomène d'accumulation. En effet, la production de gamètes est un phénomène requérant de nombreux ET essentiels, tels le Zn (El Idrissi et al., 2020), qui doivent donc être assimilés par l'organisme et être acheminés vers les gonades pour mener à bien cette synthèse (Walker, 1982). Par ailleurs, ce travail s'est concentré sur trois sites situés au sein de la baie de Calvi, alors que l'étude menée par Warnau et al. (2006) s'est intéressée à trois sites méditerranéens situés respectivement en Corse, à proximité de l'un des émissaires de Marseille et sur le littoral d'une île de la baie de Naples. Par conséquent, l'amplitude de la contamination par les ET entre les différents sites était potentiellement plus élevée dans cette étude, d'autant plus que l'émissaire de Marseille recueillait les eaux usées d'une population considérablement plus importante que celle de Calvi (PAM/PNUE, 2011).

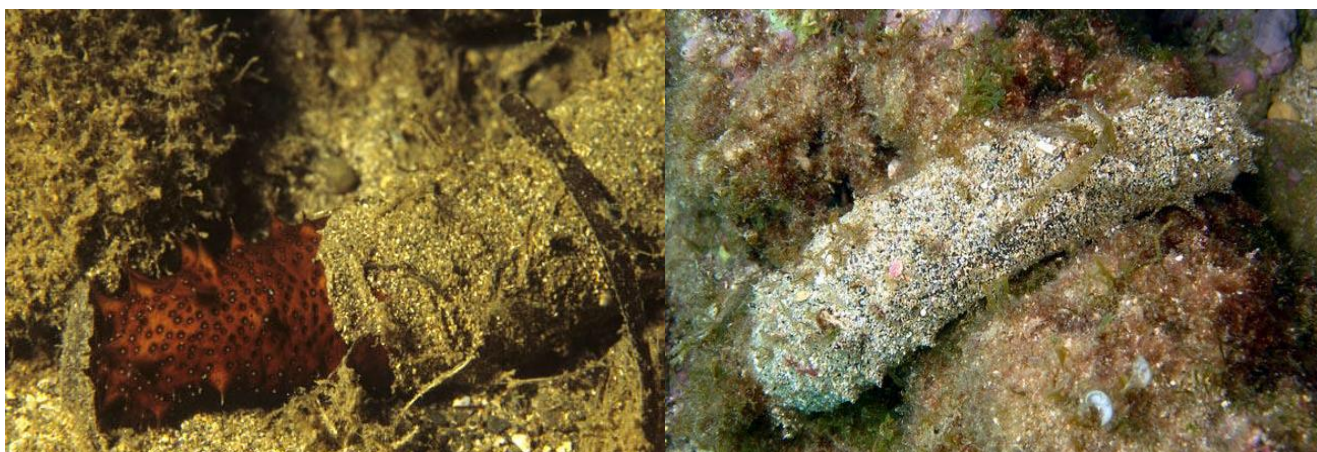


Fig. 18 : Exemples d'individu d'*H. polii*, à gauche partiellement dégagé et à droite entièrement entouré par la gangue de sable qui lui confère son surnom « d'holothurie ensablée » (crédits : Patrick Heurtaux et Frédéric André).

Malgré l'absence de significativité d'un point de vue statistique, les Figures 10 à 13 laissent apercevoir certaines tendances propres à trois des quatre organes étudiés qu'un échantillonnage plus fourni et régulier permettrait sans doute de confirmer. C'est par exemple le cas pour **les arbres respiratoires** qui indiquent une différence globale de leur teneur en ET en fonction de l'espèce, avec *H. polii* enregistrant

les concentrations les plus élevées. Cette différence est peut-être en lien avec le mode de vie de cette dernière espèce qui a la particularité de vivre presque enfouie sous une couche de sable, d'où son surnom « d'holothurie ensablée » (Fig. 18) (Massin & Jangoux, 1976). De ce fait, il est probable que les arbres respiratoires soient irrigués via le cloaque de l'animal par une eau plus chargée en fines particules sédimentaires que dans le cas d'*H. tubulosa*. Au vu de l'affinité de nombreux ET pour les sédiments (Bryan & Langston, 1992), la possible circulation accrue de particules sédimentaires au sein des arbres respiratoires d'*H. polii* pourrait accroître la quantité d'ET absorbés.

En ce qui concerne **les muscles** des holothuries, l'augmentation estivale de leur teneur en ET pourrait avoir deux origines. Premièrement, il est possible que cette teneur, supérieure à cette période, soit le reflet de l'émission accrue de polluants vers l'environnement marin due à l'afflux de touristes pendant la période estivale (Dosse, 2020; PNUE/PAM et Plan Bleu, 2020). Deuxièmement, elle pourrait être liée à l'augmentation de l'activité des holothuries méditerranéennes telles que *H. tubulosa* à cette période, qui se traduit par une consommation de sédiments pouvant être multipliée par cinq par rapport à la période hivernale (Coulon & Jangoux, 1993). Cette ingestion accrue de nourriture pourrait nécessiter plus de déplacements des holothuries afin de ne pas ingérer les mêmes sédiments à répétition, ce qui se traduirait par une augmentation de l'activité métabolique de leurs muscles et donc de la quantité de micronutriments (tels que certains ET) à assimiler pour soutenir cette activité.

Cette ingestion accrue de nourriture en période estivale devrait se traduire par une différence d'accumulation en ET au sein du **système hémal** entre les différentes périodes de l'année, et ce compte tenu de l'importance de cet organe pour l'absorption et la translocation des nutriments (Ferguson, 1982). Pourtant, il semblerait que les variations de l'accumulation des ET dans le système hémal résultent surtout de différences interspécifiques, mais également des différences entre les trois stations échantillonnées. L'occupation respective de l'environnement par les deux espèces étudiées pourrait constituer une piste d'explication pour les différences interspécifiques observées au niveau des teneurs en ET dans chaque espèce présente sur le site de STARESO. En effet, certains auteurs ont rapporté une présence plus importante d'*H. tubulosa* dans les parties les plus denses des herbiers de *Posidonia oceanica*, alors que sur un même site les individus d'*H. polii* avaient quant à eux tendance à préférer les parties de l'herbier plus clairsemées, voire les mattes mortes (Francour, 1989). Or, *P. oceanica* est capable d'absorber les ET en quantités proportionnelles à celles présentes dans son environnement, et ce principalement via ses feuilles où ils sont stockés, avant d'être transférés vers ses rhizomes (Richir et al., 2013). Il serait dès lors possible qu'une partie plus ou moins importante des ET présents dans l'environnement direct d'*H. tubulosa* soit captée par les plants de *P. oceanica*, diminuant la quantité d'ET venant s'associer aux sédiments ensuite ingérés par les holothuries. D'autres études plus récentes suggèrent également une possible absorption de certains ET depuis les sédiments via les rhizomes de cette plante (Malea et al., 2019), ce qui contribuerait encore à diminuer la concentration de



ces éléments dans les sédiments dont se nourrissent les holothuries. A l'inverse, les sédiments ingérés par *H. polii* ne bénéficieraient pas de cet « effet tampon » des herbiers de *P. oceanica*. Ils pourraient alors contenir des teneurs en ET plus importantes, qui seraient susceptibles d'être transmises aux individus d'*H. polii*. Par ailleurs, la présence de cette espèce au sein de mattes mortes de *P. oceanica* suggère une ingestion accrue des feuilles mortes les constituant, un phénomène déjà observé en Méditerranée (Massin & Jangoux, 1976). Or, la matière végétale réfractaire qui constitue les débris de ces mattes peut également contenir de nombreux ET accumulés par les plants de *P. oceanica* de leur vivant (Di Leonardo et al., 2017).

Concernant les différences entre stations, la présence de concentrations plus élevées en ET au sein des spécimens d'*H. polii* résidant au niveau de la ferme aquacole était attendue. En effet, les composants utilisés pour la construction des fermes aquacoles sont susceptibles d'émettre de nombreux contaminants chimiques dans l'environnement marin. C'est par exemple le cas du PA qui compose les filets des enclos, auquel sont incorporés certains stabilisants le protégeant des UV pour éviter sa photodégradation rapide, stabilisants composés notamment d'ETM (Lusher et al., 2017). Ces additifs pourraient ensuite être absorbés par les animaux ingérant des débris plastiques recouverts de ces composés issus de ces filets. Par ailleurs, les composés antifouling utilisés pour la protection des infrastructures aquacoles contiennent également de nombreux ETM tels le Cu, qui sont susceptibles de se disperser dans l'environnement après solubilisation dans l'eau de mer (Guardiola et al., 2012; Solberg et al., 2002). De plus, les fèces produites par les poissons d'élevage comportent d'avantage d'ETM métalliques que les déjections d'animaux d'élevages terrestres (Naylor et al., 1999), et ce en partie à cause d'un enrichissement artificiel de leur nourriture destiné à améliorer sa qualité nutritionnelle de celle-ci (Burrige et al., 2010). Le dépôt de ces fèces au pied des exploitations aquacoles va donc venir enrichir le sédiment en ET (Sutherland et al., 2001), au détriment des espèces détritivores qui l'ingèrent. A l'inverse, la faible différence existant entre les teneurs en ET mesurées dans le système hémal des spécimens d'*H. tubulosa* collectés autour de l'émissaire et à proximité de STARESO est plus surprenante vu l'importance des rejets d'ET par les infrastructures de traitement des eaux usées (González-Fernández et al., 2011; Karvelas et al., 2003; Panseriya et al., 2020; Rastegari Mehr et al., 2020). Cependant, l'extraction des sédiments du tube digestif de l'ensemble des holothuries collectées a permis de constater une différence importante entre les sédiments collectés au niveau de l'émissaire et ceux collectés dans les deux autres stations. En effet, ces sédiments étaient caractérisés par la présence importante de gravier et de gravillons, d'une granulométrie apparemment plus grossière par rapport à celle des autres sites. Cette différence, qui devra être vérifiée formellement *in situ*, pourrait indiquer une moindre affinité des ET pour ces sédiments particuliers. En effet, de nombreuses études ont mis en évidence l'affinité des ET et de la matière organique pour les sédiments à la granulométrie plus fine, et ce en raison de leur ratio surface/volume et de leur capacité d'adsorption plus élevée (Cauwet, 1987;

Horowitz & Elrick, 1987; Zaaboub et al., 2014). Ainsi, plus la taille des particules sédimentaires diminue, plus les concentrations en ET dans ces sédiments augmentent (Horowitz, 1985). Cette tendance supporte l'hypothèse selon laquelle les sédiments plus grossiers trouvés sur l'émissaire accumulent une quantité relativement faible d'ET par rapport à la source de contamination potentielle présente à cet endroit, exposant donc les holothuries ingérant ces particules à des doses moins élevées d'ET.

Enfin, l'impossibilité d'identifier des variations interspécifiques ou spatio-temporelles significatives de la teneur en ET au sein de **la paroi du corps** des holothuries via l'analyse MANOVA cadre bien avec l'absorption passive des nutriments nécessaires au fonctionnement de leurs cellules, ainsi qu'avec les faibles concentrations mesurées en leur sein. Cependant, ce constat est à contre-courant des études déjà menées sur l'accumulation des ET au sein de cet organe, à la fois pour *H. tubulosa* en Méditerranée (Warnau et al., 2006) et pour d'autres espèces à travers le monde ayant également mis en évidence des variations spatiales (Mohammadizadeh et al., 2016; Xing & Chia, 1997) ou spatio-temporelles (Quratulan et al., 2017). Néanmoins, comme mentionné plus haut, ces travaux se sont intéressés à des zones d'études plus larges, mais aussi à des variations saisonnières sous des climats très différents de celui de la Mer Méditerranée (climat de mousson, climat chinois/cantonnais ou encore climat désertique), deux facteurs pouvant justifier des différences spatiales et saisonnières plus marquées.

### 2.3 Utilisation de différents organes d'holothuries pour le calcul d'indices TEPI

Les nombreux travaux menés sur le TEPI ont prouvé son utilité et ses avantages pour l'évaluation de la contamination du littoral méditerranéen par les ET à l'aide d'organismes bioindicateurs très différents, aussi bien animaux que végétaux (El Idrissi et al., 2020; Marengo et al., 2020; Richir et al., 2015; Richir & Gobert, 2014a; Ternengo et al., 2018). Avant d'utiliser ces indices TEPI pour comparer les niveaux de contamination en différents endroits et à différentes saisons, il est crucial de choisir le compartiment de chaque organisme le plus adapté à la mesure de la concentration en ET. Cependant, il est parfois difficile de distinguer la part de variabilité de l'accumulation des ET dans les organes des organismes utilisés qui est imputable aux variations environnementales de ces contaminants, de celle liée aux processus physiologiques du bioindicateur. De plus, les différences d'accumulation entre les compartiments des organismes sont telles qu'aucun d'entre eux ne peut parfaitement refléter les variations environnementales des teneurs en ET. C'est pourquoi certains auteurs préconisent, lorsque c'est possible, d'utiliser des organismes entiers pour le biomonitoring de cette pollution (Richir & Gobert, 2014a).

Dans le cas des holothuries, il serait compliqué d'utiliser l'entièreté du corps de l'animal. En effet, sa taille souvent conséquente, les différences de texture entre ses différents organes (particulièrement la paroi du corps, à la fois coriace de par la présence de spicules calcaires et visqueuse à cause du conjonctif mutable) mais aussi la présence importante de sédiments dans son tube digestif rendent difficile l'obtention d'un échantillon homogène et représentatif de l'entièreté de l'animal. Dès lors, l'utilisation

d'organes isolés s'impose. Pour cela, il est nécessaire d'identifier, pour chaque problématique, l'organe qui permettra le mieux d'y répondre. C'est ainsi que pour évaluer les différences de charge en ET entre les sites étudiés, il sera nécessaire d'utiliser l'organe ayant la plus grande sensibilité aux différences de concentrations en ET dans ces endroits. Dans ce travail, le système hémal s'est avéré l'organe le plus sensible de ce point de vue. De la même manière, pour étudier les variations de charge en ET dans l'environnement tout au long de l'année, seul l'organe enregistrant des variations périodiques de teneur en ET pourra être utilisé, soit en l'occurrence les muscles. Cependant, il reste nécessaire de déterminer dans quelle mesure ces variations correspondent aux fluctuations saisonnières de la teneur en ET dans les sédiments déjà mises en évidence à plusieurs reprises dans différentes régions du globe (C. W. Holmes, 1986; Quratulan et al., 2017; Turk Culha et al., 2016). A l'inverse, pour le monitoring de la charge en ET des sédiments marins sur des périodes plus longues, l'utilisation d'organes présentant des fluctuations saisonnières de teneur en ET nécessitera la mesure systématique de celle-ci au même moment de l'année pour éviter toute interférence de la physiologie de l'organe utilisé. Alternativement, il pourrait également être envisageable d'utiliser des organes pour lesquels la teneur en ET affiche un comportement conservatif tout au long de l'année, comme c'est le cas de l'hépatopancréas du bivalve *Mytilus galloprovincialis* (Richir & Gobert, 2014b), ce qui permettrait le calcul d'un indice TEPI annuel à partir d'individus prélevés à n'importe quel moment.

Les indices TEPI calculés à partir des concentrations en ET présentes dans le système hémal des animaux transcrivent parfaitement la différence globale de teneur en ET entre les individus d'*H. polii* collectés sur le site de STARESO (0,842) et de la ferme aquacole (1,372) visibles dans la Figure 12 sous forme de concentrations log-transformées, ainsi que les similitudes entre les concentrations en ET des individus d'*H. tubulosa* collectés sur le site de STARESO (0,989) et de l'émissaire (1,008) visibles dans la Figure 13. L'indice TEPI supérieur pour la ferme aquacole par rapport à STARESO cadre bien avec les mesures effectuées par Richir & Gobert, (2014b) via *P. oceanica*. A l'inverse, l'étude mentionne un indice TEPI plus élevé pour l'émissaire que pour STARESO, ce qui n'est pas le cas dans ce travail. Cette divergence reflète bien la différence de méthode d'assimilation des ET entre ces deux espèces, à savoir en grande partie depuis la colonne d'eau via les feuilles pour *P. oceanica* et depuis les sédiments pour le système hémal des holothuries. Il se pourrait donc qu'en raison de la granulométrie particulière du site de l'émissaire évoquée plus haut, la contamination des sédiments par les ET soit inférieure à celle de la colonne d'eau à cet endroit, d'où cette différence lors de la comparaison entre STARESO et l'émissaire. Les indices TEPI mesurés à chaque période dans les muscles des deux espèces (1,321 en période estivale ; 0,894 en période automnale et 0,759 en période hivernale) reflètent également bien les observations faites à partir de la Figure 11. Cet indice TEPI maximal en période estivale diffère encore une fois des observations mentionnées dans d'autres études, en particulier celles se basant sur l'oursin *P. lividus* qui mentionnent un indice TEPI maximal en période automnale et en période hivernale pour

la baie de Calvi (El Idrissi et al., 2020). Cependant, les auteurs de cette étude mettent en avant le rôle du cycle reproducteur de l'oursin dans ce résultat, plutôt que celui des variations des teneurs en ET dans le milieu. Les résultats obtenus à l'aide des muscles des holothuries cadrent donc mieux avec l'augmentation des rejets de contaminants entraînée en période estivale par l'afflux de touristes, même si le rôle de l'augmentation de l'activité des holothuries mentionnée plus haut n'est pas à exclure.

Quoiqu'il en soit, ces indices ont l'avantage de permettre l'évaluation rapide des différences relatives entre la charge en ET sur les différents sites ou aux différentes périodes, sans qu'il soit nécessaire d'analyser un graphique contenant une multitude d'informations. Ils remplissent donc bien l'objectif principal d'un indice de pollution marine, à savoir montrer de manière synthétique et rapide, l'état des écosystèmes benthiques et pélagiques (Gobert & Richir, 2019).

### 3. Les holothuries, indicateurs de la pollution plastique des sédiments

#### 3.1 Contenu du tube digestif des holothuries en termes de débris plastiques

Lors de ce travail, des débris plastiques ont été trouvés dans le tube digestif de l'ensemble des spécimens échantillonnés en baie de Calvi. Le nombre d'items trouvés dans chaque individu, qui varie de 7 à 27, correspond bien aux quantités déjà observées dans certaines holothuries appartenant à l'espèce *Apostichopus japonicus* en Mer Jaune et en Mer de Bohai (Mohsen et al., 2019b). A l'inverse, ces quantités s'avèrent bien supérieures à celles déjà enregistrées pour *H. tubulosa* en Méditerranée, à la fois pour la vaste majorité des échantillonnages effectués au niveau des îles Eoliennes en Mer Tyrrhénienne et pour tous ceux s'intéressant à certaines îles Dalmates situées en Mer Adriatique (Renzi et al., 2018, 2020; Renzi & Blašković, 2020). Cette similitude entre la baie de Calvi et une zone fortement anthropisée du littoral chinois en termes de quantité de plastiques laisse entendre que cette zone du littoral corse pourrait être fortement impactée par les nombreuses activités touristiques qu'elle accueille, du moins en ce qui concerne le rejet de déchets plastiques.

Lors de leur recherche de nourriture, les holothuries sont amenées à ingérer d'importantes quantités de sédiments tout au long de l'année. Ainsi, Coulon & Jangoux (1993) estiment entre 5,9 et 12,9 kg par m<sup>2</sup>, par individu et par an la quantité de sédiments superficiels ingérés par un individu d'*H. tubulosa* dans les écosystèmes méditerranéens. Cette activité conduit à un remaniement important des premiers centimètres du sédiment dans l'environnement des holothuries, qui vont donc être amenées à ingérer des sédiments initialement enfouis en profondeur (Massin, 1982). Or parmi ceux-ci figurent de nombreux déchets plastiques enfouis au cours du temps, qui contrairement aux plastiques trouvés dans la partie superficielle du sédiment, reflètent la contamination chronique de l'environnement (Bringer et al., 2021). Dès lors, le nombre de MP ingérés par les holothuries pourrait refléter à la fois la magnitude de la contamination récente du sédiment par les plastiques et celle de la contamination sur un temps plus long.

Cependant, l'estimation du nombre de débris plastiques présents dans une matrice telle que les sédiments reste un exercice délicat. Par exemple, les fibres et filaments peuvent avoir tendance à former des pelotes où les différents items se mélangent de façon inextricable (Fig. 19 A), ce qui empêche le comptage précis du nombre de débris ingérés. Par ailleurs, lors de l'étape d'observation des échantillons de sédiment au binoculaire, certains items peuvent échapper à l'œil de l'observateur, que ce soit à cause d'une couche de sédiment trop épaisse qui cacherait certains débris en son sein ou que ce soit à cause d'une confusion entre ces débris et certains restes de matière organique non digérée (Fig. 19 B). Si ces difficultés peuvent amener à sous-estimer le contenu réel en plastique du tube digestif des individus, l'impossibilité d'avoir recours à la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier peut, quant à elle, mener à une surestimation du nombre de débris plastiques. En effet, sous une certaine taille, il devient extrêmement difficile de faire la différence entre matériaux naturels et polymères artificiels. Ce problème est particulièrement évident pour les fibres de cellulose, présentes en grand nombre dans l'environnement (Renzi et al., 2019). C'est ainsi que plusieurs études ont enregistré entre 20% et 70% de débris identifiés à tort comme étant constitués de plastique (Eriksen et al., 2013; Hidalgo-Ruz et al., 2012). Au vu de ces limitations, les chiffres indiqués ici ne représentent qu'une estimation de la quantité de plastique pouvant être trouvée dans le tube digestif des holothuries corses. A l'avenir, toute tentative de quantification de cette contamination devrait faire appel à une technique d'identification validée des différents types de polymères utilisés dans la production de plastique.

La présence majoritaire de fibres et de filaments au sein du système digestif des holothuries coïncide avec les études déjà menées sur ces animaux dans différentes parties du monde (Plee & Pomory, 2020; Renzi et al., 2018, 2020; Renzi & Blašković, 2020) ainsi qu'avec les observations de Neves et al. (2015) selon lesquelles les organismes benthiques sont susceptibles d'ingérer des quantités de fibres supérieures par rapport aux organismes pélagiques. La présence majoritaire de fibres dans le tube digestif des holothuries pourrait s'expliquer par la prédominance de ce type de débris plastiques dans de nombreux sédiments marins. A l'inverse, les fragments et films plastiques semblent nettement moins abondants au fond des mers, ainsi que dans l'organisme des holothuries (Fastelli et al., 2016; Mohsen et al., 2019; Renzi et al., 2018). Cependant, la quantité et la composition de la communauté de plastiques présente



Fig. 19 : Illustration **A)** d'une pelote de fibres et filaments plastiques et **B)** de matière organique non digérée compliquant le comptage et l'identification des déchets plastiques présents dans les échantillons de sédiments extraits du tube digestif des holothuries.

dans les holothuries pourraient ne pas parfaitement refléter l'abondance réelle des différents types de plastiques présents dans leur environnement. En effet, les expériences menées par Graham & Thompson (2009) ont démontré que certaines espèces d'holothuries avaient tendance à ingérer préférentiellement les débris plastiques présents dans les sédiments, au détriment des particules d'origine naturelle. Cette préférence se manifestait par des quantités de plastiques dans leur tube digestif supérieures à celles attendues au regard de la concentration en plastiques des sédiments fournis aux holothuries. Par ailleurs, les observations *in situ* effectuées dans les îles Eoliennes montrent une prédominance constante des fibres au sein de tous les individus, et ce même lorsqu'ils étaient collectés sur l'un des rares sites dont les sédiments étaient principalement contaminés par des films plastiques (Renzi et al., 2018). Cette différence pourrait être le résultat d'une ingestion sélective des fibres par rapport aux autres types de plastiques présents dans l'environnement. Cependant, la faible quantité de fibres trouvées dans les pseudofèces de certaines holothuries par rapport aux concentrations environnementales de ces débris pointe plutôt vers une rétention des fibres au sein du tube digestif des holothuries, liée à une expulsion plus difficile de ces débris du tube digestif par rapport aux fragments et aux films. (Bulleri et al., 2021). Enfin, la présence d'items appartenant à la catégorie des « gommes » dans les échantillons corses apparaît comme très inhabituelle puisqu'aucun débris de ce type n'a encore été mentionné dans les études s'intéressant à l'ingestion de plastiques par les holothuries. Ces gommes ainsi que les bandelettes métalliques ingérées par certains des spécimens collectés confirment le statut de détritivores extrêmement généralistes des holothuries et suggèrent leur possible exploitation dans la détection de diverses pollutions du sédiment, et ce même par des contaminants atypiques.

Enfin, la taille des débris plastiques suit elle aussi une tendance semblable à celle observée dans les autres études portant sur l'ingestion de plastiques par les holothuries. Ces dernières montrent que les concombres de mer ingèrent en majorité des débris appartenant à la classe des MP, suivis par de faibles quantités de méso-débris (Mohsen et al., 2019b; Renzi et al., 2018, 2020; Renzi & Blašković, 2020). L'échantillonnage en baie de Calvi se distingue par la présence d'un item appartenant à la classe des macro-débris plastiques, classe de taille encore jamais extraite du tube digestif d'holothuries. Par ailleurs, le phénomène bien documenté de réduction de la taille des particules de sédiment passant dans le tube digestif des holothuries, induit par leur broyage dans le bulbe pharyngien et l'estomac compris dans ce tube digestif (Massin, 1982), suggérerait a priori une possible altération des particules de plastiques ingérées. Pourtant, il a été démontré récemment que le passage des débris plastiques à travers le tube digestif des holothuries n'entraînait aucune modification de leur forme ou de leur taille (Bulleri et al., 2021). De fait, la plupart des études constatent une similitude entre la taille des débris plastiques présents au sein des holothuries et celle de ceux présents dans les sédiments alentours (Mohsen et al., 2019b; Renzi et al., 2018, 2020; Renzi & Blašković, 2020). Cela suggérerait également qu'au sein d'une même catégorie de plastiques, la taille des items ne joue pas un rôle significatif dans l'ingestion des

débris, du moins tant que cette taille reste dans les limites permises par celle de la bouche des individus, qui conditionne la taille maximale des particules qu'ils peuvent ingérer (Graham & Thompson, 2009).

### 3.2 Différence de contenu du tube digestif des individus en fonction du site étudié

Les résultats enregistrés à propos du contenu du tube digestif des holothuries mettent en lumière plusieurs différences importantes entre les trois stations échantillonnées. Ainsi, les holothuries résidant au niveau de la ferme aquacole sont caractérisées par un plus grand nombre d'items en plastique ingérés par rapport au poids de leur tube digestif. Cette plus grande quantité ingérée suggère la présence d'un plus grand nombre de débris plastiques dans les sédiments de cette station par rapport aux deux autres sites. Cette tendance ne serait pas surprenante au vu de la quantité de plastiques utilisée par l'industrie aquacole, qu'elle concerne la culture de bivalves (Baluyut, 1989; Bringer et al., 2021), de poissons (Kumar & Karnatak, 2014) ou de crustacés (Park & Kim, 2013). Ces plastiques entrent, en effet, dans la composition des cordes et filets qui délimitent les enclos où sont élevés les poissons (ex. : PA, PP, PE et PET), dans celle des tuyaux servant de supports aux enclos (ex. : PVC et HDPE), et aussi dans celle des flotteurs qui permettent aux enclos de se maintenir en surface ou à une profondeur constante (PS principalement) (Lusher et al., 2017). Toutes ces structures sont susceptibles de générer d'importantes quantités de débris par leur usure naturelle dans les conditions hostiles du milieu marin ou lorsqu'elles sont endommagées par des événements climatiques violents (Lee et al., 2015). De plus, l'élimination régulière d'organismes responsables du biofouling des installations aquacoles telles que les filets et cordes d'amarrage peut générer d'importantes quantités de MP sous forme de fibres et de filaments (Floerl et al., 2016). Il n'est donc pas étonnant qu'à proximité de certaines fermes aquacoles, 70% des débris plastiques collectés sur les plages adjacentes proviennent de ces structures (Bringer et al., 2021).

A contrario, il pourrait sembler étonnant que les holothuries vivant à proximité de l'émissaire des eaux usées n'ingèrent pas plus de débris plastiques que les spécimens vivant à proximité de la station STARESO, pourtant relativement éloignée des sources de pollution anthropique présentes dans la baie. En effet, les infrastructures de traitement des eaux usées domestiques et industrielles sont reconnues comme étant d'importantes sources de déchets plastiques

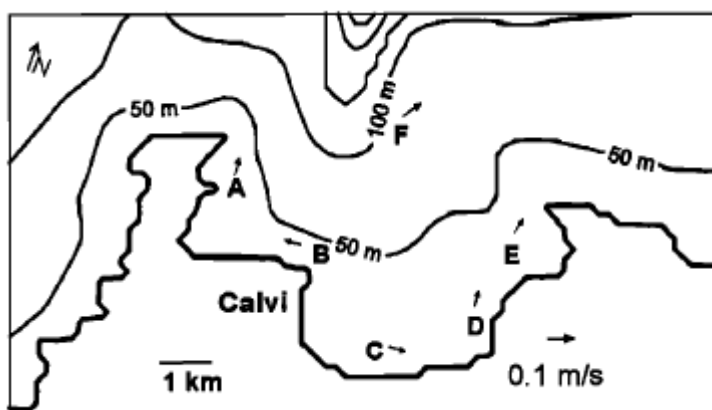


Fig. 20 : Carte des courants de surface ( → ) mesurés en baie de Calvi au niveau de différents lieux de mouillage de courantomètres (A, B, C D et E) lors de périodes de vent modéré (Skloris et al., 2001).

à destination de l'environnement (Gatidou et al., 2019; Ziajahromi et al., 2016). Ces déchets sont en grande partie constitués de MP primaires contenus dans de nombreux produits cosmétiques tels que les crèmes de gommage et les dentifrices (Kalčíková et al., 2017), mais aussi de fibres issues de la

dégradation entraînée par le lavage répété des nombreux vêtements constitués en partie ou totalement de fibres synthétiques (Claessens et al., 2011). Il semble donc étonnant que le tube digestif des holothuries résidant à proximité de l'émissaire contienne moins de débris plastiques que celui des spécimens collectés à proximité de STARESO. La raison de ce phénomène réside peut-être dans la circulation de l'eau en baie de Calvi. En effet, en dehors des périodes de forts vents venus du sud-ouest ou du nord-est, l'ouest de la baie de Calvi se caractérise par une circulation anticyclonique des courants de surface (Fig. 20) (Skloris et al., 2001). Il est possible que ces courants récurrents participent à disperser les fibres et films expulsés de l'émissaire (proche du mouillage B mentionné dans la Fig. 20), dont la forme leur confère une densité moindre par rapport à celle des fragments et gommages, en direction de l'extrémité ouest de la baie occupée par la station STARESO. Une fois parvenus à cet endroit, les fibres et films ayant séjourné un certain temps dans l'eau pourraient avoir subi un biofouling suffisant pour amener leur densité à un niveau proche de celui de l'eau de mer et entraîner leur dépôt au fond de la baie (Van Cauwenberghe et al., 2015). Cette hypothèse concorde également avec l'absence de fragments et gommages dans le tube digestif des holothuries collectées ailleurs que sur l'émissaire. En effet, ces débris plus denses pourraient avoir une moindre tendance à la dispersion que les autres types de plastiques, ce qui les confinerait à la sortie de l'émissaire. Un autre facteur pouvant expliquer la présence d'un nombre équivalent de MP au niveau de la station STARESO et au niveau de l'émissaire serait la présence de nombreux herbiers de *P. oceanica* à proximité de STARESO. Ceux-ci pourraient avoir contribué à retenir les MP dérivant depuis l'émissaire à proximité des taches de sable où ont été collectées les holothuries. En effet, ces herbiers prouvent agir comme pièges à MP, à la fois grâce à la barrière physique naturelle formée par leurs feuilles et rhizomes et grâce au régime hydrodynamique plus calme généré à leur proximité, plus propice à la sédimentation des MP (Sanchez-Vidal et al., 2021). Vu leur forte présence au niveau de la ferme aquacole, cette rétention des plastiques par les herbiers de *P. oceanica* pourrait également être la raison pour laquelle l'ensemble des débris plastiques issus de cette exploitation ne se dispersent pas vers l'est de la baie, comme le voudraient les courants cycloniques présents à cet endroit en période de vents faibles.

La plus grande taille moyenne des débris extraits du tube digestif des holothuries au niveau de l'émissaire pourrait, quant à elle, être le signe de la présence sur ce site de débris plus gros et plus lourds, à la dispersion moindre, comme c'est le cas pour les fragments et les gommages. Cependant, elle pourrait aussi s'expliquer par la présence plus importante à cet endroit d'*H. tubulosa* par rapport aux *H. polii*. En effet, *H. tubulosa* est caractérisée par une taille maximale supérieure à celle d'*H. polii* (Koehler, 1921). Cette plus grande taille s'accompagne probablement d'une bouche plus large, qui permettrait sans doute aux individus de cette espèce d'ingérer des débris de taille supérieure.



## V. Conclusion

Ce travail met en évidence l'extrême variabilité des concentrations en ET au sein des holothuries corses, qui fluctuent de plus d'un ordre de grandeur en fonction de l'organe considéré. Ainsi, la paroi du corps se caractérise par les concentrations les plus faibles tandis que le système hémal affiche les concentrations les plus élevées. Ces différences s'expliquent par les spécificités physiologiques des différents organes et confirment l'hypothèse de leur influence prédominante sur l'accumulation des ET au sein des holothuries. Cependant, seuls certains organes affichent des variations de concentrations en fonction de l'espèce, de la période ou de la station échantillonnée. Ces différences de sensibilité sont également en lien avec le fonctionnement propre à chaque organe, mais aussi avec certaines particularités liées à l'écologie des deux espèces. Ce constat est à contre-courant des études déjà menées sur l'accumulation des ET au sein de la paroi du corps, des muscles et du système hémal des holothuries, habituellement caractérisées par des variations aussi bien spatiales que temporelles. Il peut s'expliquer par la plus petite échelle de ce travail ainsi que par l'échantillonnage limité et peu homogène.

Malgré l'utilisation de la paroi du corps des holothuries dans plusieurs études, ce travail suggère l'inadéquation de cet organe pour le monitoring de la contamination des sédiments par les ET. En effet, il accumule les ET en très faibles quantités et ne semble pas assez sensible pour détecter des différences de contamination entre plusieurs sites, en tout cas lorsque ceux-ci sont faiblement anthropisés. De plus, la possible absorption directe des ET par cet organe depuis la colonne d'eau diminue encore son intérêt pour le monitoring des sédiments. A l'avenir, il serait intéressant d'étudier la concordance entre les variations de concentration en ET au sein de chacun des organes restants et celles observées dans le sédiment à surveiller afin de déterminer l'organe le plus adapté pour leur monitoring.

Par ailleurs, il est apparu que les holothuries corses ingèrent de nombreux débris plastiques. Jusqu'à présent, aucune étude en Méditerranée n'avait rapporté la présence d'autant de MP au sein du tube digestif d'holothuries. Le plus grand nombre de débris ingérés au niveau de la ferme aquacole confirme l'importance de ces infrastructures comme sources de déchets plastiques. En parallèle, la taille plus importante des items ingérés à l'embouchure de l'émissaire ainsi que la présence de certains types de MP limitée au tube digestif d'holothuries collectées sur ce site démontrent le statut particulier de ces installations en matière de pollution plastique. Il semblerait donc que les holothuries soient capables de refléter fidèlement le statut de contamination des sédiments par les MP. Toutefois, d'autres études sont encore nécessaires pour déterminer si la grande quantité de fibres et de filaments dans le tube digestif de ces animaux est le reflet de l'abondance de ce type de MP dans les sédiments, ou s'ils sont ingérés préférentiellement ou encore s'ils font l'objet d'une rétention dans cet organe.

## Remerciements

En tout premier lieu, et même si cela manque un peu d'originalité, je me dois d'adresser un immense merci à ma promotrice, la Professeure Sylvie Gobert. Tout au long de ce travail, elle m'a permis de maintenir le cap malgré les imprévus et les galères (et ils ont été nombreux...), toujours avec ce calme, cet optimisme et ce recul qui m'ont souvent manqué. Elle a toujours été là pour répondre à mes interrogations et réorienter mon travail dans la bonne direction. Elle est et restera encore longtemps la « maman des océanos », un rôle qui a été des plus crucial en cette période de pandémie. Je remercie également mon co-promoteur, Michel Marengo, dont le regard alternatif et les avis éclairés en matière de statistiques m'ont beaucoup aidé à prendre à bras-le-corps les résultats obtenus, mais également à peaufiner ma rédaction.

Il est une autre personne pour laquelle le mot « remerciements » est un euphémisme, et je parle évidemment de Cédric, celui sans qui rien ne tournerait rond au Laboratoire d'Océanologie Biologique ! C'est bien simple, sans lui, il n'y aurait pas eu de mémoire. Je le remercie pour avoir rapatrié mes chers concombres de mer depuis la Corse dans un road-trip épique à travers la France en compagnie de Maud (copilote de choc durant ce périple et avec qui j'aurais souhaité passer plus de temps au labo ou à STARESO si ce maudit virus ne s'en était pas mêlé) ; je le remercie pour ses conseils et son expérience qui ont permis de mettre sur pied une nouvelle méthode d'extraction des microplastiques des holothuries ; je le remercie pour son acharnement à réanimer ce pauvre ICP-MS et pour avoir reporté ses vacances afin de pouvoir mener à bien l'analyse de mes échantillons, un geste que je n'oublierai jamais et que peu de gens auraient posé. Mais plus que tout, merci à toi Cédric pour ton humour et ta bonne humeur qui faisaient vivre ce labo dans ces temps parfois peu joyeux, et merci aussi et surtout pour ta patience, que ma distraction et ma maladresse ont mise à rude épreuve (repose en paix petit bouchon de bombe en Téflon au prix astronomique, tu hantes encore mes cauchemars !).

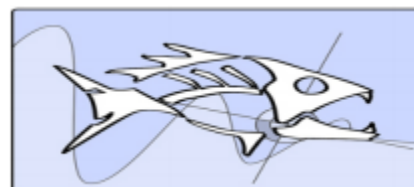
Toujours au sein du Laboratoire d'Océanologie, je ne peux oublier les doctorantes de choc qui m'ont accompagné pendant une partie de mon mémoire ! Merci pour toutes ces petites parlottes avec toi Ouafa, tu m'as appris tellement de choses et ton avis précieux m'a permis d'avancer plus d'une fois alors que j'étais bloqué ; j'aurais aimé t'avoir comme « voisine de paillasse » plus longtemps que le petit mois que tu as passé parmi nous ! J'espère te croiser un jour à STARESO ou, qui sait, sur ta magnifique île. Un immense merci également à toi Laurence, je ne compte même plus tous les conseils et les avis que tu as pu me donner, que ce soit à propos de l'anatomie des concombres de mer, des statistiques, de la microscopie, des techniques d'échantillonnage, de l'isolement des plastiques, de la rédaction d'un mémoire... La liste est infinie ! Si Sylvie est la « maman des océanos », toi tu es sans aucun doute la « marraine des mémorants » du Laboratoire d'Océanologie. Merci également à toi Mariana pour tes conseils et tes avis, je te souhaite bon courage pour la fin de ta thèse et plein de réussite pour la suite !

Parmi les mémorants, je salue évidemment Johnny et Auguste, les « boys » du labo ! Merci pour ces petites pauses décompression sur le temps de midi et pour ces cafés bien nécessaires en compagnie de Laurence. Je vous souhaite bon vent et, qui sait, un jour on se retrouvera peut-être au bord d'une mer à l'autre bout du monde !

Ce mémoire n'aurait également jamais pu débuter sans l'aide de Guillaume Caulier, premier assistant au laboratoire de Biologie des Organismes Marins et Biomimétisme de l'Université de Mons. Ses immenses connaissances en matière d'holothuries, qu'il a pu me transmettre avec passion, m'ont permis de comprendre l'anatomie de ces animaux, qui m'était totalement inconnue jusqu'alors, et d'effectuer la dissection propre et sans bavure (enfin, autant que possible avec des limaces de mer gluantes décongelées) de mes spécimens corses. C'est également grâce à lui que j'ai pu isoler les spicules calcaires de mes animaux. De plus, il m'a convaincu que les holothuries étaient bien plus sexy qu'elles n'en ont l'air ! Je regrette profondément les circonstances qui ont empêché notre collaboration sur l'observation des spicules au MEB, je suis à fond avec toi et te souhaites énormément de réussite future, mais je pense que tu n'as pas besoin de mes encouragements vu ton talent et ton énergie !



Je remercie également les membres du Laboratoire de Morphologie Evolutive et Fonctionnelle de l'Université de Liège pour leur accueil, et tout particulièrement, le Professeur Eric Parmentier pour m'avoir permis d'utiliser son magnifique binoculaire, et son logiciel dédié, pour la recherche des débris plastiques extraits de mes concombres de mer. Merci également à lui pour ses conseils à propos de l'anatomie et de l'écologie des concombres de mer. Je remercie aussi bien sûr infiniment le Professeur Philippe Compère pour m'avoir donné accès et appris à utiliser le MEB Quanta-600 pour obtenir les magnifiques clichés des spicules de mes animaux, ainsi que pour ses connaissances approfondies en matière de biochimie, qui m'ont bien éclairé lors de l'élaboration de la « solution de digestion idéale ». Merci également à son assistante Sarah qui m'a appris à préparer les échantillons de spicules pour leur observation, j'espère qu'on se croiera pour une plongée au détour d'une carrière belge !



## Marine Biology Lab

Un grand merci au professeur Bruno Danis du Laboratoire de Biologie Marine de l'Université Libre de Bruxelles qui a inspiré la partie de ce travail liée aux plastiques ingérés par les holothuries, ainsi que pour les précieux documents qu'il m'a fournis afin de mettre sur pied le protocole d'extraction et d'identification des plastiques.

Merci également au Professeur Gilles Lepoint pour ses conseils ainsi que son aide dans l'utilisation des balances analytiques, ainsi que dans celle du binoculaire, mais aussi à la Professeure Krishna Das pour ses conseils et précisions à propos des microplastiques et de l'écotoxicologie des animaux marins.

Je remercie aussi vivement Jonathan Richir, dont l'avis éclairé à propos du traitement statistique et du regroupement de mes échantillons m'a permis de commencer sereinement le traitement de mes résultats.

J'adresse aussi tous mes remerciements à l'équipe de plongeurs scientifiques de la station STARESO qui ont assuré la collecte des holothuries utilisées dans ce travail et ce, malgré toutes les difficultés liées à la pandémie de Covid 19. Sans eux, ce travail n'aurait pu être mené à bien.

Cette étude fait également partie du projet STARECAPMED (Station de référence et de recherche sur le changement des pressions anthropiques locales et mondiales sur les dérives des écosystèmes méditerranéens) financé par la Collectivité territoriale de Corse et par l'Agence française de l'eau (PACA Corse), sans qui ce genre de projet ne pourrait voir le jour.

De plus, ce travail s'inscrit dans la droite ligne du projet QUAMPO, développé par l'UMR « Littoral Environnement et Sociétés (LIENSs) » de l'Université de la Rochelle en partenariat avec la « STAtion de REcherches Sous-marines et Océanographiques (STARESO) ». Ce projet a pour but d'évaluer pendant trois ans la qualité des milieux portuaires du nord de la Corse à partir de trois modèles biologiques (moules, patelles et concombres de mer) en conjonction avec un suivi des paramètres physicochimiques de l'eau. Cette évaluation se fonde sur une approche interdisciplinaire combinant la biochimie, la chimie analytique et l'écotoxicogénomique pour identifier différents biomarqueurs d'exposition ou d'effets liés aux ET et aux polluants organiques. Ce suivi devrait permettre de s'assurer du bon état écologique de ces milieux tel que défini par la « Directive Européenne Cadre Stratégie pour le Milieu Marin (DCSMM) » mais aussi d'établir des recommandations à destination des gestionnaires des zones portuaires de Calvi, de l'Ile Rousse et de Saint-Florent pour maintenir ce bon état écologique. Ainsi, les axes de recherche développés dans ce mémoire devraient contribuer à évaluer la possibilité d'utiliser *H. tubulosa* et *H. polii* comme indicateurs de la qualité des eaux côtières corses, avec un focus particulier sur les éléments traces et les microplastiques.

Sur un registre plus personnel, je remercie tous les potos qui m'ont soutenu et permis de changer d'air quand j'en avais besoin pendant ce quadri. Merci à vous tous Kiki, Nico, Caro, Floppi, Tuttur, Megouille, Emma, Louisane et j'en passe, pour vos conneries, mais aussi à mes fellows océanos pour les trop rares soirées qu'on a pu partager. Plus particulièrement, gros bisous à Sebichou et Cowalie, qui étaient toujours là pour me remonter le moral quand j'en avais besoin, et pour les sessions de râleries thérapeutiques qu'on a pu avoir ensemble sur nos mémoires respectifs ! Vous êtes les bests !

Un immense merci également à mes parents qui ont supporté, encore plus que d'habitude, ma mauvaise humeur et mon pessimisme pendant les mois d'élaboration de ce mémoire. Merci également à eux pour leurs nombreuses relectures, qui font que les holothuries n'ont plus de secrets pour eux ! Merci particulièrement à ma maman d'avoir accepté que notre frigo serve parfois de lieu de stockage temporaire de concombres congelés, c'est vrai que ce n'était pas beau à voir !

Enfin, une pensée spéciale pour ma louloute, ma p'tite Mau qui m'a également supporté pendant tout ce mémoire, qui m'a donné son avis précieux d'océano confirmée (si si si) et qui a su me rassurer quand j'étais au plus bas. Mille mercis à toi, je n'y serais jamais arrivé si tu n'avais pas été à mes côtés !

## Références bibliographiques

- Akpiri, R. U., Konya, R. S., & Hodges, N. J. (2017). Development of cultures of the marine sponge *Hymeniacidon perleve* for genotoxicity assessment using the alkaline comet assay. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(12), 3314-3323. Scopus. <https://doi.org/10.1002/etc.3907>
- Alejandro, S., Höller, S., Meier, B., & Peiter, E. (2020). Manganese in Plants : From Acquisition to Subcellular Allocation. *Frontiers in Plant Science*, 11, 300. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00300>
- Amon, R. M. W., & Herndl, G. J. (1991). Deposit Feeding and Sediment : I. Interrelationship Between *Holothuria tubulosa* (Holothurioida, Echinodermata) and the Sediment Microbial Community. *Marine Ecology*, 12(2), 163-174. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.1991.tb00250.x>
- Anderson, R. A. (1981). Nutritional role of chromium. *Science of The Total Environment*, 17(1), 13-29. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(81\)90104-2](https://doi.org/10.1016/0048-9697(81)90104-2)
- Andrady, A. L. (2011). Microplastics in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 62(8), 1596-1605. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
- Andrady, A. L. (2015). Persistence of Plastic Litter in the Oceans. In M. Bergmann, L. Gutow, & M. Klages (Éds.), *Marine Anthropogenic Litter* (p. 57-72). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_3)
- Ashton, K., Holmes, L., & Turner, A. (2010). Association of metals with plastic production pellets in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 60(11), 2050-2055. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.07.014>
- Aydin, M. (2008). The commercial sea cucumber fishery in Turkey. *SPC Beche de Mer Information Bulletin*, 28, 40-41.
- Bakus, G. J. (1968). Defensive mechanisms and ecology of some tropical holothurians. *Marine Biology*, 2(1), 23-32. <https://doi.org/10.1007/BF00351634>
- Baluyut, E. A. auteur. (1989). *Aquaculture systems and practices : A selected review*. FAO,.
- Bamford, D. (1982). Epithelial absorption. In *Echinoderm Nutrition* (p. 317-328). Balkema.
- Bardanis, E., & Batjakas, I. (2018). *Reproductive cycle of Holothuria poli in Gera Gulf, Lesvos Island, Greece*. 3rd International Congress on Applied Ichthyology & Aquatic Environment, Volos, Greece.
- Barnes, D. K. A., Galgani, F., Thompson, R. C., & Barlaz, M. (2009). Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 1985-1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Beeby, A. (1991). Toxic Metal Uptake and Essential Metal Regulation in Terrestrial Invertebrates : A Review. In Newman M.C. & McIntosh A.W. (Éds.), *Ecotoxicology of Metals : Current Concepts and Applications* (p. 65-89). Lewis Publ, USA. <https://doi.org/10.1201/9781003069973-3>
- Bergmann, M., Wirzberger, V., Krumpfen, T., Lorenz, C., Primpke, S., Tekman, M. B., & Gerdts, G. (2017). High Quantities of Microplastic in Arctic Deep-Sea Sediments from the HAUSGARTEN Observatory. *Environmental Science & Technology*, 51(19), 11000-11010. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b03331>
- Bouland, C., Massin, C., & Jangoux, M. (1982). The fine structure of the buccal tentacles of *Holothuria forskali* (Echinodermata, Holothuroidea). *Zoomorphology*, 101(2), 133-149. <https://doi.org/10.1007/BF00312019>

- Bowmer, T., & Kershaw, P. (Éds.). (2010). *Proceedings of the GESAMP International Workshop on microplastic particles as a vector in transporting persistent, bioaccumulating and toxic substances in the oceans*. UNESCO-IOC.
- Bradney, L., Wijesekara, H., Palansooriya, K. N., Obadamudalige, N., Bolan, N. S., Ok, Y. S., Rinklebe, J., Kim, K.-H., & Kirkham, M. B. (2019). Particulate plastics as a vector for toxic trace-element uptake by aquatic and terrestrial organisms and human health risk. *Environment International*, *131*, 104937. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.104937>
- Brennecke, D., Duarte, B., Paiva, F., Caçador, I., & Canning-Clode, J. (2016). Microplastics as vector for heavy metal contamination from the marine environment. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *178*, 189-195. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.12.003>
- Brennecke, D., Ferreira, E. C., Costa, T. M. M., Appel, D., da Gama, B. A. P., & Lenz, M. (2015). Ingested microplastics (>100µm) are translocated to organs of the tropical fiddler crab *Uca rapax*. *Marine Pollution Bulletin*, *96*(1-2), 491-495. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.05.001>
- Breuer, E., Stevenson, A. G., Howe, J. A., Carroll, J., & Shimmield, G. B. (2004). Drill cutting accumulations in the Northern and Central North Sea : A review of environmental interactions and chemical fate. *Marine Pollution Bulletin*, *14*.
- Bringer, A., Le Floch, S., Kerstan, A., & Thomas, H. (2021). Coastal ecosystem inventory with characterization and identification of plastic contamination and additives from aquaculture materials. *Marine Pollution Bulletin*, *167*, 112286. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112286>
- Browne, M. A., Dissanayake, A., Galloway, T. S., Lowe, D. M., & Thompson, R. C. (2008). Ingested Microscopic Plastic Translocates to the Circulatory System of the Mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science & Technology*, *42*(13), 5026-5031. <https://doi.org/10.1021/es800249a>
- Bryan, G. W., & Langston, W. J. (1992). Bioavailability, accumulation and effects of heavy metals in sediments with special reference to United Kingdom estuaries : A review. *Environmental Pollution*, *76*(2), 89-131. [https://doi.org/10.1016/0269-7491\(92\)90099-V](https://doi.org/10.1016/0269-7491(92)90099-V)
- Bulleri, F., Ravaglioli, C., Anselmi, S., & Renzi, M. (2021). The sea cucumber *Holothuria tubulosa* does not reduce the size of microplastics but enhances their resuspension in the water column. *Science of The Total Environment*, *781*, 146650. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146650>
- Bulteel, P., Jangoux, M., & Coulon, P. (1992). Biometry, Bathymetric Distribution, and Reproductive Cycle of the Holothuroid *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) from Mediterranean Sea grass Beds. *Marine Ecology*, *13*(1), 53-62. Scopus. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.1992.tb00339.x>
- Burridge, L., Weis, J. S., Cabello, F., Pizarro, J., & Bostick, K. (2010). Chemical use in salmon aquaculture : A review of current practices and possible environmental effects. *Aquaculture*, *306*(1), 7-23. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.05.020>
- Callender, E. (2003). Heavy Metals in the Environment-Historical Trends. In Heinrich D. Holland & Karl K. Turekian (Éds.), *Treatise on Geochemistry* (Vol. 9, p. 67-100).
- Carić, H., Klobučar, G., & Štambuk, A. (2016). Ecotoxicological risk assessment of antifouling emissions in a cruise ship port. *Journal of Cleaner Production*, *121*, 159-168. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.08.072>
- Cauwet, G. (1987). Influence of sedimentological features on the distribution of trace metals in marine sediments. *IX International Symposium on the Chemistry of the Mediterranean*, *22*(2), 221-234. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(87\)90010-7](https://doi.org/10.1016/0304-4203(87)90010-7)

- Celis-Hernandez, O., Giron-Garcia, M. P., Ontiveros-Cuadras, J. F., Canales-Delgadillo, J. C., Pérez-Ceballos, R. Y., Ward, R. D., Acevedo-Gonzales, O., Armstrong-Altrin, J. S., & Merino-Ibarra, M. (2020). Environmental risk of trace elements in mangrove ecosystems : An assessment of natural vs oil and urban inputs. *Science of The Total Environment*, 730, 138643. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138643>
- Chmielnicka, J., & Nasiadek, M. (2003). The trace elements in response to lithium intoxication in renal failure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55(2), 178-183. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(02\)00125-2](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00125-2)
- Claessens, M., Meester, S. D., Landuyt, L. V., Clerck, K. D., & Janssen, C. R. (2011). Occurrence and distribution of microplastics in marine sediments along the Belgian coast. *Marine Pollution Bulletin*, 62(10), 2199-2204. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.030>
- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., & Galloway, T. S. (2011). Microplastics as contaminants in the marine environment : A review. *Marine Pollution Bulletin*, 62(12), 2588-2597. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.09.025>
- Collard, F., Husum, K., Eppe, G., Malherbe, C., Hallanger, I. G., Divine, D. V., & Gabrielsen, G. W. (2021). Anthropogenic particles in sediment from an Arctic fjord. *Science of The Total Environment*, 772, 145575. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145575>
- Commission Européenne. (2000, décembre 22). Directive 2000/60/CE du Parlement et du Conseil établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau. *Journal officiel n° L 327*, 1-73.
- Conand, C. (1993). Reproductive biology of the holothurians from the major communities of the New Caledonian Lagoon. *Marine Biology*, 116(3), 439-450. <https://doi.org/10.1007/BF00350061>
- Conseil de l'Union Européenne. (1996, octobre 10). Directive 96/61/CE du Conseil du 24 septembre 1996 relative à la prévention et à la réduction intégrées de la pollution. *Journal officiel n° L 257*, 26-40.
- Conseil des Communautés Européennes. (1991, mai 30). Directive 91/271/CEE du Conseil, du 21 mai 1991, relative au traitement des eaux urbaines résiduaires. *Journal officiel n° L 135*, 40-52.
- Costelloe, J., & Keegan, B. F. (1984). Feeding and related morphological structures in the dendrochirote *Aslia lefevrei* (Holothuroidea : Echinodermata). *Marine Biology*, 84(2), 135-142. <https://doi.org/10.1007/BF00392998>
- Coulon, P., & Jangoux, M. (1993). Feeding rate and sediment reworking by the holothuroid *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) in a Mediterranean seagrass bed off Ischia Island, Italy. *Marine Ecology Progress Series*, 92(1-2), 201-204. Scopus. <https://doi.org/10.3354/meps092201>
- Courtene-Jones, W., Quinn, B., Ewins, C., Gary, S. F., & Narayanaswamy, B. E. (2020). Microplastic accumulation in deep-sea sediments from the Rockall Trough. *Marine Pollution Bulletin*, 154, 111092. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111092>
- Cozar, A., Echevarria, F., Gonzalez-Gordillo, J. I., Irigoien, X., Ubeda, B., Hernandez-Leon, S., Palma, A. T., Navarro, S., Garcia-de-Lomas, J., Ruiz, A., Fernandez-de-Puelles, M. L., & Duarte, C. M. (2014). Plastic debris in the open ocean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(28), 10239-10244. <https://doi.org/10.1073/pnas.1314705111>
- Currie, L. A. (1999). Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quanti<sup>®</sup>cation capabilities1 (IUPAC Recommendations 1995). *Analytica Chimica Acta*, 22.
- Davarpanah, E., & Guilhermino, L. (2015). Single and combined effects of microplastics and copper on the population growth of the marine microalgae *Tetraselmis chuii*. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 167, 269-275. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2015.07.023>
- Davies, A. G. (1978). Pollution studies with marine plankton ; Part II, Heavy metals. In *Advances in Marine Biology* (Vol. 15, p. 381-508).



- De Witte, B., Devriese, L., Bekaert, K., Hoffman, S., Vandermeersch, G., Cooreman, K., & Robbens, J. (2014). Quality assessment of the blue mussel (*Mytilus edulis*) : Comparison between commercial and wild types. *Marine Pollution Bulletin*, 85(1), 146-155. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.006>
- de Mendiburu, F. (2021). *Statistical Procedures for Agricultural Research*. R Package version 1.3-5. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>
- Denton, G. R. W., Morrison, R. J., Bearden, B. G., Houk, P., Starmer, J. A., & Wood, H. R. (2009). Impact of a coastal dump in a tropical lagoon on trace metal concentrations in surrounding marine biota : A case study from Saipan, Commonwealth of the Northern Mariana Islands (CNMI). *Marine Pollution Bulletin*, 58(3), 424-431. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.11.029>
- Despalatović, M., Grubelić, I., Šimunović, A., Antolić, B., & Žuljević, A. (2004). Reproductive biology of the holothurian *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) in the Adriatic Sea. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 84(2), 409-414. <https://doi.org/10.1017/S0025315404009361h>
- Di Leonardo, R., Mazzola, A., Cundy, A. B., Tramati, C. D., & Vizzini, S. (2017). Trace element storage capacity of sediments in dead *Posidonia oceanica* mat from a chronically contaminated marine ecosystem. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36(1), 49-58. Scopus. <https://doi.org/10.1002/etc.3539>
- Diamantopoulou, A., Kalavrouziotis, I. K., & Varnavas, S. P. (2019). Geochemical investigations regarding the variability of metal pollution in the Amvrakikos Bay, Greece. *Global Nest Journal*, 21(1), 7-13. Scopus. <https://doi.org/10.30955/gnj.002733>
- Dodd, J. R. (1967). Magnesium and Strontium in Calcareous Skeletons : A Review. *Journal of Paleontology*, 41(6), 18.
- Dosse, A. (2020). Repli de la fréquentation touristique. *Insee Conjoncture Corse*, 29, 24-25.
- Ebling, A. M., & Landing, W. M. (2017). Trace elements in the sea surface microlayer : Rapid responses to changes in aerosol deposition. *Elementa: Science of the Anthropocene*, 5, 42. <https://doi.org/10.1525/elementa.237>
- El Idrissi, O., Marengo, M., Aiello, A., Gobert, S., Pasqualini, V., & Ternengo, S. (2020). Seasonal change in trace element concentrations of *Paracentrotus lividus* : Its use as a bioindicator. *Ecological Indicators*, 112, 106063. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.106063>
- Eriksen, M., Mason, S., Wilson, S., Box, C., Zellers, A., Edwards, W., Farley, H., & Amato, S. (2013). Microplastic pollution in the surface waters of the Laurentian Great Lakes. *Marine Pollution Bulletin*, 77(1-2), 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.10.007>
- e Silva, C. A. R., Smith, B. D., & Rainbow, P. S. (2006). Comparative biomonitoring of coastal trace metal contamination in tropical South America (N. Brazil). *Marine Environmental Research*, 61(4), 439-455. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2006.02.001>
- Farrell, P., & Nelson, K. (2013). Trophic level transfer of microplastic : *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environmental Pollution*, 177, 1-3. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.01.046>
- Fastelli, P., Blašković, A., Bernardi, G., Romeo, T., Čižmek, H., Andaloro, F., Russo, G. F., Guerranti, C., & Renzi, M. (2016). Plastic litter in sediments from a marine area likely to become protected (Aeolian Archipelago's islands, Tyrrhenian sea). *Marine Pollution Bulletin*, 113(1-2), 526-529. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.054>
- Ferguson, J. C. (1982). Nutrient translocation. In M. Jangoux & J. M. Lawrence (Éds.), *Echinoderm nutrition* (p. 373-394). Balkema.
- Floerl, O., Sunde, L., & Bloecher, N. (2016). Potential environmental risks associated with biofouling management in salmon aquaculture. *Aquaculture Environment Interactions*, 8, 407-417.

- Förstner, U. (1979). Sources and sediment associations of heavy metals in polluted coastal regions. *Physics and Chemistry of the Earth*, 11(C), 849-866. Scopus. [https://doi.org/10.1016/0079-1946\(79\)90078-8](https://doi.org/10.1016/0079-1946(79)90078-8)
- Fotopoulou, K. N., & Karapanagioti, H. K. (2012). Surface properties of beached plastic pellets. *Marine Environmental Research*, 81, 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2012.08.010>
- Fox, J., Weisberg, S., & Price, B. (2021). *Companion to Applied Regression*. R Package version 3.0-11. <https://CRAN.R-project.org/package=car>
- Francour, P. (1989). *Repartition and abundance of holothurians (Holothuria tubulosa and H. polii) from a Posidonia oceanica bed of Port-Cros (Var, France)* (C. F. Boudouresque, A. Meinesz, E. Fresl, & V. Gravez, Éd.; Vol. 2, p. 231-234). GIS Posidonie publ.
- Frias, J., Elena Pagter, Róisín Nash, Ian O'Connor, Olga Carretero, & Ana Filgueiras. (2018). *Standardised protocol for monitoring microplastics in sediments* (JPI-Oceans BASEMAN Project, p. 32).
- Gaiero, D. M., Probst, J. L., Depetris, P. J., Lelyter, L., & Kempe, S. (2002). Riverine transfer of heavy metals from Patagonia to the southwestern Atlantic Ocean. *Regional Environmental Change*, 3, 51-64.
- Galgani, F., Chiffoleau, J. F., Orsoni, V., Costantini, L., Boissery, P., Calendini, S., & Andral, B. (2006). Chemical contamination and sediment toxicity along the coast of Corsica. *Chemistry and Ecology*, 22(4), 299-312. Scopus. <https://doi.org/10.1080/02757540600812156>
- Gatidou, G., Arvaniti, O. S., & Stasinakis, A. S. (2019). Review on the occurrence and fate of microplastics in Sewage Treatment Plants. *Journal of Hazardous Materials*, 367, 504-512. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.12.081>
- Gaudron, S. M., Kohler, S. A., & Conand, C. (2008). Reproduction of the sea cucumber *Holothuria leucospilota* in the Western Indian Ocean : Biological and ecological aspects. *Invertebrate Reproduction & Development*, 51(1), 19-31. <https://doi.org/10.1080/07924259.2008.9652253>
- Gaudry, A., Zeroual, S., Gaie-Levrel, F., Moskura, M., Boujrhel, F.-Z., El Moursli, R. C., Guessous, A., Mouradi, A., Givernaud, T., & Delmas, R. (2007). Heavy metals pollution of the atlantic marine environment by the Moroccan phosphate industry, as observed through their bioaccumulation in *Ulva lactuca*. *Water, Air, and Soil Pollution*, 178(1-4), 267-285. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s11270-006-9196-9>
- Gharred, T., Jebali, J., Belgacem, M., Mannai, R., & Achour, S. (2016). Assessment of the individual and mixture toxicity of cadmium, copper and oxytetracycline, on the embryo-larval development of the sea urchin *Paracentrotus lividus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(18), 18064-18072. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6988-3>
- Ghribi, F., Richir, J., Bejaoui, S., Boussoufa, D., Marengo, M., El Cafsi, M., & Gobert, S. (2020). Trace elements and oxidative stress in the Ark shell *Arca noae* from a Mediterranean coastal lagoon (Bizerte lagoon, Tunisia) : Are there health risks associated with their consumption? *Environmental Science and Pollution Research*, 27(13), 15607-15623. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07967-2>
- Gianasi, B. L., Hamel, J.-F., & Mercier, A. (2019). Influence of environmental parameters on gametogenesis, spawning and embryo survival in the holothuroid *Cucumaria frondosa*. *Aquaculture*, 506, 308-319. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.03.056>
- Gillmore, M. L., Gissi, F., Golding, L. A., Stauber, J. L., Reichelt-Brushett, A. J., Severati, A., Humphrey, C. A., & Jolley, D. F. (2020). Effects of dissolved nickel and nickel-contaminated suspended sediment on the scleractinian coral, *Acropora muricata*. *Marine Pollution Bulletin*, 152. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110886>

- Gobert, S., Pasqualini, V., Dijoux, J., Lejeune, P., Durieux, E. D. H., & Marengo, M. (2017). Trace element concentrations in the apex predator swordfish (*Xiphias gladius*) from a Mediterranean fishery and risk assessment for consumers. *Marine Pollution Bulletin*, 120(1-2), 364-369. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.05.029>
- Gobert, S., & Richir, J. (2019). Des indices pour la définition de l'état des masses d'eau en milieu marin : Mises au point, applications et aide à la gestion. *International journal of tropical geology, geography and ecology*, 43(3), 353-364.
- Gökaşan, E., Ergin, M., Özyalvaç, M., Sur, H. İ., Tur, H., Görüm, T., Ustaömer, T., Batuk, F. G., Alp, H., Birkan, H., Türker, A., Gezgin, E., & Özturan, M. (2008). Factors controlling the morphological evolution of the Çanakkale Strait (Dardanelles, Turkey). *Geo-Marine Letters*, 28(2), 107-129. <https://doi.org/10.1007/s00367-007-0094-y>
- González-Fernández, D., Garrido-Pérez, M. C., Nebot-Sanz, E., & Sales-Márquez, D. (2011). Source and fate of heavy metals in marine sediments from a semi-enclosed deep embayment subjected to severe anthropogenic activities. *Water, Air, and Soil Pollution*, 221(1-4), 191-202. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s11270-011-0782-0>
- González-Wangüemert, M., Domínguez-Godino, J. A., & Cánovas, F. (2018). The fast development of sea cucumber fisheries in the Mediterranean and NE Atlantic waters : From a new marine resource to its over-exploitation. *Ocean & Coastal Management*, 151, 165-177. <https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2017.10.002>
- Graham, E. R., & Thompson, J. T. (2009). Deposit- and suspension-feeding sea cucumbers (Echinodermata) ingest plastic fragments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 368(1), 22-29. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.09.007>
- Guardiola, F. A., Cuesta, A., Meseguer, J., & Esteban, M. A. (2012). Risks of using antifouling biocides in aquaculture. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(2), 1541-1560. <https://doi.org/10.3390/ijms13021541>
- Guieu, C., Bozec, Y., Blain, S., Ridame, C., Sarthou, G., & Leblond, N. (2002). Impact of high Saharan dust inputs on dissolved iron concentrations in the Mediterranean Sea. *Geophysical Research Letters*, 29(19), 17-1-17-4. <https://doi.org/10.1029/2001GL014454>
- Hamed, E. S. A. E., Khaled, A., Ahdy, H., Omar Ahmed, H., & Aly Abdelrazek, F. (2020). Health risk assessment of heavy metals in three invertebrate species collected along Alexandria Coast, Egypt. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46(4), 389-395. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2020.11.001>
- Hamel, J.-F., & Mercier, A. (1996). *Gonad morphology and gametogenesis of the sea cucumber Cucumaria frondosa*. 12.
- He, Z. L., Yang, X. E., & Stoffella, P. J. (2005). Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19(2-3), 125-140. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.010>
- Herreid, C. F., LaRussa, V. F., & DeFesi, C. R. (1976). Blood vascular system of the sea cucumber, *Stichopus moebii*. *Journal of Morphology*, 150(2), 423-451. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051500211>
- Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C., & Thiel, M. (2012). Microplastics in the Marine Environment : A Review of the Methods Used for Identification and Quantification. *Environmental Science & Technology*, 46(6), 3060-3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>
- Holmes, C. W. (1986). Trace metal seasonal variations in Texas marine sediments. *Marine Chemistry*, 20(1), 13-27. [https://doi.org/10.1016/0304-4203\(86\)90063-0](https://doi.org/10.1016/0304-4203(86)90063-0)

- Holmes, L. A., Turner, A., & Thompson, R. C. (2014). Interactions between trace metals and plastic production pellets under estuarine conditions. *Marine Chemistry*, *167*, 25-32. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2014.06.001>
- Horowitz, A. J. (1985). *A primer on trace metal-sediment chemistry* (Report N° 2277; Water Supply Paper). USGS Publications Warehouse. <https://doi.org/10.3133/wsp2277>
- Horowitz, A. J., & Elrick, K. A. (1987). The relation of stream sediment surface area, grain size and composition to trace element chemistry. *Applied Geochemistry*, *2*(4), 437-451. [https://doi.org/10.1016/0883-2927\(87\)90027-8](https://doi.org/10.1016/0883-2927(87)90027-8)
- Hughes, R., Hughes, D., Smith, I., & Dale, A. (Éds.). (2016). Ecological Roles of Exploited Sea Cucumbers. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, *54*, 367-386. <https://doi.org/10.1201/9781315368597>
- Jangoux, M. (1982). Excretion. In *Echinoderm Nutrition* (p. 437-445). Balkema.
- Janies, D. (2001). Phylogenetic relationships of extant echinoderm classes. *Canadian Journal of Zoology*, *79*(7), 1232-1250. Scopus. <https://doi.org/10.1139/z00-215>
- Jiang, H., Tang, S., Qin, D., Chen, Z., Wang, J., Bai, S., & Mou, Z. (2015). Heavy Metals in Sea Cucumber Juveniles from Coastal Areas of Bohai and Yellow Seas, North China. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *94*(5), 577-582. <https://doi.org/10.1007/s00128-014-1432-1>
- Jinadasa, B. K. K., Samanthi, R. I., & Wicramasinghe, I. (2014). Trace Metal Accumulation in Tissue of Sea Cucumber Species; North-Western Sea of Sri Lanka. *American Journal of Public Health Research*, *2*(5A), 1-5. <https://doi.org/10.12691/ajphr-2-5A-1>
- Johnson, A., Carew, E., & Sloman, K. (2007). The effects of copper on the morphological and functional development of zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, *84*(4), 431-438. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.07.003>
- Jonas, M., & Tveten, M. (2020). *Kernel Density Estimation with Parametric Starts and Asymmetric Kernels*. R Package version 1.1.0. <https://github.com/JonasMoss/kdensity>
- JunFeng, L., Wei, W., Saisai, Z., Hua, W., Huan, X., Shuangye, S., Xuying, H., & Bing, W. (2014). Effects of chronic exposure to Cu<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> on growth and survival of juvenile *Apostichopus japonicus*. *Chemical Speciation & Bioavailability*, *26*(2), 106-110. <https://doi.org/10.3184/095422914X13953450663379>
- Kalčíková, G., Alič, B., Skalar, T., Bundschuh, M., & Gotvajn, A. Ž. (2017). Wastewater treatment plant effluents as source of cosmetic polyethylene microbeads to freshwater. *Chemosphere*, *188*, 25-31. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.131>
- Karami, A., Golieskardi, A., Choo, C. K., Romano, N., Ho, Y. B., & Salamatinia, B. (2017). A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Science of The Total Environment*, *578*, 485-494. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.213>
- Karvelas, M., Katsoyiannis, A., & Samara, C. (2003). Occurrence and fate of heavy metals in the wastewater treatment process. *Chemosphere*, *53*(10), 1201-1210. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00591-5](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00591-5)
- Kassambara, A. (2021). *Pipe-Friendly Framework for Basic Statistical Tests*. R Package version 0.7.0. <https://rpkgs.datanovia.com/rstatis/>
- Kazanidis, G., Lolas, A., & Vafidis, D. (2014). Reproductive cycle of the traditionally exploited sea cucumber *Holothuria tubulosa* (Holothuroidea : Aspidochirotida) in Pagasitikos Gulf, western Aegean Sea, Greece. *Turkish Journal of Zoology*, *38*(306-315), 11.

- Kelly, M. S. (2005). Echinoderms : Their culture and bioactive compounds. *Progress in molecular and subcellular biology*, 39, 139-165. Scopus.
- Ketchum, B. H., Zitko, V., & Saward, D. (1975). Aspects of Heavy Metal and Organohalogen Pollution in Aquatic Ecosystems. In A. D. McIntyre & C. F. Mills (Éds.), *Ecological Toxicology Research : Effects of Heavy Metal and Organohalogen Compounds* (p. 75-90). Springer US. [https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8945-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4615-8945-7_3)
- Khan, M. A. A., & Khan, Y. S. A. (2003). Trace metals in littoral sediments from the north east coast of the Bay of Bengal along the ship-breaking area, Chittagong, Bangladesh. *Journal of Biological Sciences*, 3(11), 1050-1057.
- Ki, J.-S., Raisuddin, S., Lee, K.-W., Hwang, D.-S., Han, J., Rhee, J.-S., Kim, I.-C., Park, H. G., Ryu, J.-C., & Lee, J.-S. (2009). Gene expression profiling of copper-induced responses in the intertidal copepod *Tigriopus japonicus* using a 6K oligochip microarray. *Aquatic Toxicology*, 93(4), 177-187. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2009.04.004>
- Koehler, R. (1921). *Faune de France : Echinodermes*. P. Lechevalier, 1-210.
- Kumar, V., & Karnatak, G. (2014). Engineering consideration for cage aquaculture. *IOSR Journal of Engineering*, 4(6), 11-18. <https://doi.org/10.9790/3021-04661118>
- Laboy-Nieves, E. N., & Conde, J. E. (2001). Metal levels in eviscerated tissue of shallow-water deposit-feeding holothurians. *Hydrobiologia*, 459, 19-26. Scopus. <https://doi.org/10.1023/A:1012589009243>
- Law, K. L., Moret-Ferguson, S., Maximenko, N. A., Proskurowski, G., Peacock, E. E., Hafner, J., & Reddy, C. M. (2010). Plastic Accumulation in the North Atlantic Subtropical Gyre. *Science*, 329(5996), 1185-1188. <https://doi.org/10.1126/science.1192321>
- Lee, J., Lee, J. S., Jang, Y. C., Hong, S. Y., Shim, W. J., Song, Y. K., Hong, S. H., Jang, M., Han, G. M., Kang, D., & Hong, S. (2015). Distribution and Size Relationships of Plastic Marine Debris on Beaches in South Korea. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 69(3), 288-298. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0208-x>
- León, V. M., Moreno-González, R., Besada, V., Martínez, F., Ceruso, C., García, V., Schultze, F., & Campillo, J. A. (2021). Sea snail (*Hexaplex trunculus*) and sea cucumber (*Holothuria polii*) as potential sentinel species for organic pollutants and trace metals in coastal ecosystems. *Marine Pollution Bulletin*, 168, 112407. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112407>
- Lescure, A., & Briens, M. (2013). Selenium and Muscle Function. In R. H. Kretsinger, V. N. Uversky, & E. A. Permyakov (Éds.), *Encyclopedia of Metalloproteins* (p. 1904-1908). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1533-6\\_452](https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1533-6_452)
- Li, L., Tian, X., Yu, X., & Dong, S. (2016). Effects of Acute and Chronic Heavy Metal (Cu, Cd, and Zn) Exposure on Sea Cucumbers (*Apostichopus japonicus*). *BioMed Research International*, 2016, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2016/4532697>
- Li, Z., Ren, T., Han, Y., Jiang, Z., Hu, Y., Bai, Z., Wang, L., & Ding, J. (2018). The Effects of Sub-lethal Dietary Mercury on Growth Performance, Bioaccumulation, and Activities of Antioxidant Enzymes in Sea Cucumber, *Apostichopus japonicus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100(5), 683-689. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2321-9>
- Lin, W., Rossi, P., Faure, M., Li, X.-H., Ji, W., & Chu, Y. (2018). Detrital zircon age patterns from turbidites of the Balagne and Piedmont nappes of Alpine Corsica (France) : Evidence for an European margin source. *Tectonophysics*, 722, 69-105. <https://doi.org/10.1016/j.tecto.2017.09.015>

- Llagostera, I., Cervantes, D., Sanmartí, N., Romero, J., & Pérez, M. (2016). Effects of Copper Exposure on Photosynthesis and Growth of the Seagrass *Cymodocea nodosa* : An Experimental Assessment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 97(3), 374-379. <https://doi.org/10.1007/s00128-016-1863-y>
- Lusher, A., Hollman, P. C. H., & Mendoza-Hill, J. (2017). *Microplastics in fisheries and aquaculture : Status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Malea, P., Mylona, Z., & Kevrekidis, T. (2019). Improving the utility of the seagrass *Posidonia oceanica* as a biological indicator of past trace element contamination. *Ecological Indicators*, 107. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105596>
- Marengo, M., Fullgrabe, L., Fontaine, Q., Lejeune, P., & Gobert, S. (2020). *Suivi des risques environnementaux et sanitaires de l'ancienne mine d'amiante de Canari (Cap Corse)* (p. 1-54). Contrat R&D PNMCCA-STARESO.
- Marrugo-Negrete, J., Pinedo-Hernández, J., Marrugo-Madrid, S., Navarro-Frómata, E., & Díez, S. (2021). Sea Cucumber as Bioindicator of Trace Metal Pollution in Coastal Sediments. *Biological Trace Element Research*, 199(5), 2022-2030. <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02308-3>
- Massin, C. (1982). Effects of feeding on the environment : Holothuroidea. In M. Jangoux & J. M. Lawrence (Éds.), *Echinoderm nutrition* (p. 493-498). Balkema.
- Massin, C., & Jangoux, M. (1976). Observations écologiques sur *Holothuria tubulosa*, *H. poli* et *H. forskali* (Echinodermata-Holothuroidea) et comportement alimentaire de *H. tubulosa*. *Cahiers De Biologie Marine*, 17, 45-59.
- Mercier, A. (2013). *Holothuria polii*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013.
- Mercier, A., & Hamel, J.-F. (2009). Chapter 2 : Gametogenesis. In *Endogenous and Exogenous Control of Gametogenesis and Spawning in Echinoderms* (Vol. 55, p. 7-72). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(09\)55002-X](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(09)55002-X)
- MERI. (2015). *Guide to Microplastic Identification*. Marine & Environmental Research Institute. [https://www.ccb.se/documents/Postkod2017/Mtg050317/Guide%20to%20Microplastic%20Identification\\_MERI.pdf](https://www.ccb.se/documents/Postkod2017/Mtg050317/Guide%20to%20Microplastic%20Identification_MERI.pdf)
- Mihajlidi-Zelić, A., Deršek-Timotić, I., Relić, D., Popović, A., & Dordević, D. (2006). Contribution of marine and continental aerosols to the content of major ions in the precipitation of the central Mediterranean. *Science of the Total Environment*, 370(2-3), 441-451. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.07.017>
- Miramand, P., Guary, J. C., & Fowler, S. W. (1980). Vanadium transfer in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Biology*, 56(4), 281-293. <https://doi.org/10.1007/BF00386866>
- Miramand, P., Guary, J. C., & Fowler, S. W. (1981). Uptake, assimilation, and excretion of vanadium in the shrimp, *Lysmata seticaudata* (Risso), and the crab, *Carcinus maenas* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 49(2), 267-287. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(81\)90076-9](https://doi.org/10.1016/0022-0981(81)90076-9)
- Mirzoeva, N. Yu., Tereshchenko, N. N., Paraskiv, A. A., Proskurnin, V. Yu., & Morozov, E. G. (2020). Heavy metals in surface water of the Atlantic sector of the Antarctic during the 79th cruise of the research vessel "Akademik Mstislav Keldysh". *Marine Biological Journal*, 5(4), 56-68. Scopus. <https://doi.org/10.21072/MBJ.2020.05.4.05>

- Mohammadzadeh, M., Bastami, K. D., Ehsanpour, M., Afkhami, M., Mohammadzadeh, F., & Esmaeilzadeh, M. (2016). Heavy metal accumulation in tissues of two sea cucumbers, *Holothuria leucospilota* and *Holothuria scabra* in the northern part of Qeshm Island, Persian Gulf. *Marine Pollution Bulletin*, *103*(1-2), 354-359. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.12.033>
- Mohsen, M., Wang, Q., Zhang, L., Sun, L., Lin, C., & Yang, H. (2019a). Heavy metals in sediment, microplastic and sea cucumber *Apostichopus japonicus* from farms in China. *Marine Pollution Bulletin*, *143*, 42-49. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.04.025>
- Mohsen, M., Wang, Q., Zhang, L., Sun, L., Lin, C., & Yang, H. (2019b). Microplastic ingestion by the farmed sea cucumber *Apostichopus japonicus* in China. *Environmental Pollution*, *245*, 1071-1078. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.083>
- Mohsen, M., Zhang, L., Sun, L., Lin, C., Wang, Q., Liu, S., Sun, J., & Yang, H. (2021). Effect of chronic exposure to microplastic fibre ingestion in the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *209*, 111794. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111794>
- Montgomery, J. R., & Price, M. T. (1979). Release of trace metals by sewage sludge and the subsequent uptake by members of a turtle grass mangrove ecosystem. *Environmental Science & Technology*, *13*(5), 546-549. <https://doi.org/10.1021/es60153a016>
- Mudiaga C., O., Nicolas C., O., & Leo C., O. (2011). Trace Metals Geochemistry of Crude Oils from Umutu/Bomu Fields in South West Niger Delta Nigeria. *Energy and Environment Research*, *1*(1), p139. <https://doi.org/10.5539/eer.v1n1p139>
- Munier, B., & Bendell, L. I. (2018). Macro and micro plastics sorb and desorb metals and act as a point source of trace metals to coastal ecosystems. *PLOS ONE*, *13*(2), e0191759. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191759>
- National Research Council (US) Committee on Diet and Health. (1989). *Diet and Health : Implications for Reducing Chronic Disease Risk*. National Academies Press (US). <https://doi.org/10.17226/1222>
- Navarro, P. G., García-Sanz, S., Barrio, J. M., & Tuya, F. (2013). Feeding and movement patterns of the sea cucumber *Holothuria sanctori*. *Marine Biology*, *160*(11), 2957-2966. <https://doi.org/10.1007/s00227-013-2286-5>
- Naylor, S. J., Moccia, R. D., & Durant, G. M. (1999). The chemical composition of settleable solid fish waste (Manure) from commercial rainbow trout farms in Ontario, Canada. *North American Journal of Aquaculture*, *61*(1), 21-26. [https://doi.org/10.1577/1548-8454\(1999\)061<0021:TCCOSS>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8454(1999)061<0021:TCCOSS>2.0.CO;2)
- Nelms, S. E., Galloway, T. S., Godley, B. J., Jarvis, D. S., & Lindeque, P. K. (2018). Investigating microplastic trophic transfer in marine top predators. *Environmental Pollution*, *238*, 999-1007. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.016>
- Neşer, G., Ünsalan, D., Tekoğul, N., & Stuer-Lauridsen, F. (2008). The shipbreaking industry in Turkey : Environmental, safety and health issues. *Journal of Cleaner Production*, *16*(3), 350-358. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2006.08.018>
- Neves, D., Sobral, P., Ferreira, J. L., & Pereira, T. (2015). Ingestion of microplastics by commercial fish off the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin*, *101*(1), 119-126. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.008>
- Noël, L., Testu, C., Chafey, C., Velge, P., & Guérin, T. (2011). Contamination levels for lead, cadmium and mercury in marine gastropods, echinoderms and tunicates. *Food Control*, *22*(3-4), 433-437. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.09.021>

- Nordberg, G. F., Fowler, B. A., Nordberg, M., & Friberg, L. T. (Éds.). (2007). *Handbook on the Toxicology of Metals (Third Edition)* (Third Edition). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012369413-3/50055-0>
- Novelli, A. A., Losso, C., Ghetti, P. F., & Ghirardini, A. V. (2003). Toxicity of heavy metals using sperm cell and embryo toxicity bioassays with *Paracentrotus lividus* (Echinodermata : Echinoidea): Comparisons with exposure concentrations in the Lagoon of Venice, Italy. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22(6), 1295-1301. <https://doi.org/10.1002/etc.5620220616>
- Nriagu, J. O. (1990). Global Metal Pollution : Poisoning the Biosphere? *Environment: Science and Policy for Sustainable Development*, 32(7), 7-33. <https://doi.org/10.1080/00139157.1990.9929037>
- Nriagu, J. O., & Pacyna, J. M. (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, 333(6169), 134-139. <https://doi.org/10.1038/333134a0>
- PAM/PNUE. (2011). Inventaire des stations d'épuration des eaux usées dans les agglomérations côtières de plus de 2000 habitants (2010). *UNEP(DEPI)/MED WG.357/Inf.7*, 1-225.
- Panseriya, H. Z., Gosai, H. B., Sankhwal, A. O., Sachaniya, B. K., Gavali, D. J., & Dave, B. P. (2020). Distribution, speciation and risk assessment of heavy metals : Geochemical exploration of Gulf of Kachchh, Gujarat, India. *Environmental Earth Sciences*, 79(10). Scopus. <https://doi.org/10.1007/s12665-020-08972-x>
- Park, C.-J., & Kim, S.-Y. (2013). Abalone Aquaculture in Korea. *Journal of Shellfish Research*, 32, 17-19. <https://doi.org/10.2983/035.032.0104>
- Parra-Luna, M., Martín-Pozo, L., Hidalgo, F., & Zafra-Gómez, A. (2020). Common sea urchin (*Paracentrotus lividus*) and sea cucumber of the genus *Holothuria* as bioindicators of pollution in the study of chemical contaminants in aquatic media. A revision. *Ecological Indicators*, 113, 106185. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106185>
- PlasticsEurope. (2020). *Plastics – the Facts 2020 : An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data* (p. 64). PlasticsEurope.
- Plee, T. A., & Pomory, C. M. (2020). Microplastics in sandy environments in the Florida Keys and the panhandle of Florida, and the ingestion by sea cucumbers (Echinodermata : Holothuroidea) and sand dollars (Echinodermata: Echinoidea). *Marine Pollution Bulletin*, 158, 111437. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111437>
- PNUE/PAM et Plan Bleu. (2020). *État de l'Environnement et du Développement en Méditerranée* (p. 344). Programme des Nations Unies pour l'environnement.
- Polgári, M., Gyollai, I., Fintor, K., Horváth, H., Pál-Molnár, E., & Biondi, J. C. (2019). Microbially Mediated Ore-Forming Processes and Cell Mineralization. *Frontiers in Microbiology*, 10. Scopus. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02731>
- Pongratz, R., & Heumann, K. G. (1999). Production of methylated mercury, lead, and cadmium by marine bacteria as a significant natural source for atmospheric heavy metals in polar regions. *Chemosphere*, 39(1), 89-102. Scopus. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00591-8](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00591-8)
- Pors Nielsen, S. (2004). The biological role of strontium. *Bone*, 35(3), 583-588. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2004.04.026>
- Prata, J. C., da Costa, J. P., Lopes, I., Duarte, A. C., & Rocha-Santos, T. (2020). Environmental exposure to microplastics : An overview on possible human health effects. *Science of The Total Environment*, 702, 134455. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134455>
- Purcell, S. W., Samyn, Y., & Conand, C. (2012). *Commercially important Sea Cucumbers of the World*. FAO.



- Quratulan, A., Qadeer, M. A., & Levent, B. (2017). Assessment of heavy metals concentration in holothurians, sediments and water samples from coastal areas of Pakistan (Northern Arabian Sea). *Journal of Coastal Life Medicine*, 5(5), 191-201. <https://doi.org/10.12980/jclm.5.2017J7-56>
- Ra, K., Kim, J.-K., Hong, S. H., Yim, U. H., Shim, W. J., Lee, S.-Y., Kim, Y.-O., Lim, J., Kim, E.-S., & Kim, K.-T. (2014). Assessment of pollution and ecological risk of heavy metals in the surface sediments of Ulsan Bay, Korea. *Ocean Science Journal*, 49(3), 279-289. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s12601-014-0028-3>
- Radenac, G., Fichet, D., & Miramand, P. (2001). Bioaccumulation and toxicity of four dissolved metals in *Paracentrotus lividus* sea-urchin embryo. *Marine Environmental Research*, 51(2), 151-166. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(00\)00092-1](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(00)00092-1)
- Rainbow, P. S. (1995). Biomonitoring of Heavy Metal Availability in the Marine Environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31(4-12), 183-192.
- Ramofafia, C., Battaglione, S. C., Bell, J. D., & Byrne, M. (2000). Reproductive biology of the commercial sea cucumber *Holothuria fuscogilva* in the Solomon Islands. *Marine Biology*, 136(6), 1045-1056. <https://doi.org/10.1007/s002270000310>
- Rastegari Mehr, M., Keshavarzi, B., Moore, F., Fooladivanda, S., Sorooshian, A., & Biester, H. (2020). Spatial distribution, environmental risk and sources of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments-northwest of Persian Gulf. *Continental Shelf Research*, 193. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2019.104036>
- Renzi, M., & Blašković, A. (2020). Chemical fingerprint of plastic litter in sediments and holothurians from Croatia : Assessment & relation to different environmental factors. *Marine Pollution Bulletin*, 153, 110994. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110994>
- Renzi, M., Blašković, A., Bernardi, G., & Russo, G. F. (2018). Plastic litter transfer from sediments towards marine trophic webs : A case study on holothurians. *Marine Pollution Bulletin*, 135, 376-385. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.07.038>
- Renzi, M., Blašković, A., Broccoli, A., Bernardi, G., Grazioli, E., & Russo, G. (2020). Chemical composition of microplastic in sediments and protected detritivores from different marine habitats (Salina Island). *Marine Pollution Bulletin*, 152, 110918. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.110918>
- Renzi, M., Grazioli, E., Bertacchini, E., & Blašković, A. (2019). Microparticles in Table Salt : Levels and Chemical Composition of the Smallest Dimensional Fraction. *Journal of Marine Science and Engineering*, 7(9), 310. <https://doi.org/10.3390/jmse7090310>
- Rhoads, D. C., & Young, D. K. (1971). Animal-sediment relations in Cape Cod Bay, Massachusetts II. Reworking by *Molpadia oolitica* (Holothuroidea). *Marine Biology*, 11(3), 255-261. <https://doi.org/10.1007/BF00401273>
- Richir, J. (2016). Trace Elements in Marine Environments : Occurrence, Threats and Monitoring with Special Focus on the Coastal Mediterranean. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 06(01). <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000349>
- Richir, J., Bray, S., McAleese, T., & Watson, G. J. (2021). Three decades of trace element sediment contamination : The mining of governmental databases and the need to address hidden sources for clean and healthy seas. *Environment International*, 149, 106362. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106362>
- Richir, J., & Gobert, S. (2014a). A reassessment of the use of *Posidonia oceanica* and *Mytilus galloprovincialis* to biomonitor the coastal pollution of trace elements : New tools and tips. *Marine Pollution Bulletin*, 89(1-2), 390-406. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.08.030>

- Richir, J., & Gobert, S. (2014b). The effect of size, weight, body compartment, sex and reproductive status on the bioaccumulation of 19 trace elements in rope-grown *Mytilus galloprovincialis*. *Ecological Indicators*, *36*, 33-47. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.06.021>
- Richir, J., Luy, N., Lepoint, G., Rozet, E., Alvera Azcarate, A., & Gobert, S. (2013). Experimental in situ exposure of the seagrass *Posidonia oceanica* (L.) Delile to 15 trace elements. *Aquatic Toxicology*, *140-141*, 157-173. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.05.018>
- Richir, J., Salivas-Decaux, M., Lafabrie, C., Lopez y Royo, C., Gobert, S., Pergent, G., & Pergent-Martini, C. (2015). Bioassessment of trace element contamination of Mediterranean coastal waters using the seagrass *Posidonia oceanica*. *Journal of Environmental Management*, *151*, 486-499. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2014.11.015>
- Ridame, C., Guieu, C., & Loÿe-Pilot, M.-D. (1999). Trend in total atmospheric deposition fluxes of aluminium, iron, and trace metals in the northwestern Mediterranean over the past decade (1985-1997). *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, *104*(D23), 30127-30138. <https://doi.org/10.1029/1999JD900747>
- Ritchie, H., & Roser, M. (2018). *Plastic Pollution*. Our World in Data. <https://ourworldindata.org/plastic-pollution>
- Roccheri, M. C., Agnello, M., Bonaventura, R., & Matranga, V. (2004). Cadmium induces the expression of specific stress proteins in sea urchin embryos. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *321*(1), 80-87. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.06.108>
- Rochman, C. M. (2015). The Complex Mixture, Fate and Toxicity of Chemicals Associated with Plastic Debris in the Marine Environment. In M. Bergmann, L. Gutow, & M. Klages (Éds.), *Marine Anthropogenic Litter* (p. 117-140). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_5)
- Rochman, C. M., Hentschel, B. T., & Teh, S. J. (2014). Long-Term Sorption of Metals Is Similar among Plastic Types : Implications for Plastic Debris in Aquatic Environments. *PLoS ONE*, *9*(1), e85433. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085433>
- Rout, G. R., & Sahoo, S. (2015). Role of iron in plant growth and metabolism. *Reviews in Agricultural Science*, *3*, 1-24. <https://doi.org/10.7831/ras.3.1>
- Ryan, P. G., Moore, C. J., van Franeker, J. A., & Moloney, C. L. (2009). Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *364*(1526), 1999-2012. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0207>
- Sadiq, M. (2002). Metal contamination in sediments from a desalination plant effluent outfall area. *Science of The Total Environment*, *287*(1), 37-44. [https://doi.org/10.1016/S0048-9697\(01\)00994-9](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(01)00994-9)
- Salomons, W., & Forstner, U. (1984). *Metals in the Hydrocycle*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-69325-0>
- Samyn, Y. (2013). *Holothuria tubulosa*. The IUCN Red List of Threatened Species 2013.
- Samyn, Y., Vandenspiegel, D., & Massin, C. (2006). *Taxonomie des holothuries des Comores* (Y. Samyn, D. Vandenspiegel, & J. Degreef, Éds.; Vol. 1).
- Sanchez-Vidal, A., Canals, M., de Haan, W. P., Romero, J., & Veny, M. (2021). Seagrasses provide a novel ecosystem service by trapping marine plastics. *Scientific Reports*, *11*(1), 254. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79370-3>
- Sany, S. B. T., Salleh, A., Sulaiman, A. H., Sasekumar, A., Rezayi, M., & Tehrani, G. M. (2013). Heavy metal contamination in water and sediment of the Port Klang coastal area, Selangor, Malaysia. *Environmental Earth Sciences*, *69*(6), 2013-2025. <https://doi.org/10.1007/s12665-012-2038-8>

- Schaule, B. K., & Patterson, C. C. (1981). Lead concentrations in the northeast Pacific : Evidence for global anthropogenic perturbations. *Earth and Planetary Science Letters*, *54*, 97-116. [https://doi.org/10.1016/0012-821X\(81\)90072-8](https://doi.org/10.1016/0012-821X(81)90072-8)
- Schwab, F. L. (2003). Sedimentary Petrology. In R. A. Meyers (Éd.), *Encyclopedia of Physical Science and Technology (Third Edition)* (Third Edition, p. 495-529). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227410-5/00678-5>
- Sfakianakis, D. G., Renieri, E., Kentouri, M., & Tsatsakis, A. M. (2015). Effect of heavy metals on fish larvae deformities : A review. *Environmental Research*, *137*, 246-255. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.12.014>
- Sharifuzzaman, S. M., Mohammad Mahmudul Islam, Sayedur Rahman Chowdhury, M. Shahadat Hossain, S.M. Ashekuzzaman, & Hafizur Rahman. (2016). Heavy Metals Accumulation in Coastal Sediments. In *Environmental Remediation Technologies for Metal- Contaminated Soils* (p. 21-42). Springer Japan.
- Silva, C. O., Simões, T., Novais, S. C., Pimparel, I., Granada, L., Soares, A. M. V. M., Barata, C., & Lemos, M. F. L. (2017). Fatty acid profile of the sea snail *Gibbula umbilicalis* as a biomarker for coastal metal pollution. *Science of the Total Environment*, *586*, 542-550. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.015>
- Skliris, N., Goffart, A., Hecq, J. H., & Djenidi, S. (2001). Shelf-slope exchanges associated with a steep submarine canyon off Calvi (Corsica, NW Mediterranean Sea) : A modeling approach. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, *106*(C9), 19883-19901. <https://doi.org/10.1029/2000JC000534>
- Slater, M. J., Jeffs, A. G., & Sewell, M. A. (2011). Organically selective movement and deposit-feeding in juvenile sea cucumber, *Australostichopus mollis* determined in situ and in the laboratory. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *409*(1-2), 315-323. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.09.010>
- Slimane-Tamacha, F., Soualili, D. L., & Mezali, K. (2019). Reproductive biology of *Holothuria (Roweothuria) poli* (Holothuroidea : Echinodermata) from Oran Bay, Algeria. *SPC Beche-de-Mer Information Bulletin*, *39*, 47-52.
- Sloan, N. A. (1984). Echinoderm fisheries of the world : A review. *Proceedings of the Fifth International Echinoderm Conference*, 109-124.
- Solberg, C. B., Sæthre, L., & Julshamn, K. (2002). The effect of copper-treated net pens on farmed salmon (*Salmo salar*) and other marine organisms and sediments. *Marine Pollution Bulletin*, *45*(1-12), 126-132. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(01\)00296-X](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00296-X)
- Strzelec, M., Proemse, B. C., Gault-Ringold, M., Boyd, P. W., Perron, M. M. G., Schofield, R., Ryan, R. G., Ristovski, Z. D., Alroe, J., Humphries, R. S., Keywood, M. D., Ward, J., & Bowie, A. R. (2020). Atmospheric Trace Metal Deposition near the Great Barrier Reef, Australia. *Atmosphere*, *11*(390), 24.
- Sturesson, U. (1976). Lead Enrichment in Shells of *Mytilus Edulis*. *Ambio*, *5*(5), 5.
- Sutherland, T. F., Martin, A. J., & Levings, C. D. (2001). Characterization of suspended particulate matter surrounding a salmonid net-pen in the Broughton Archipelago, British Columbia. *ICES Journal of Marine Science*, *58*(2), 404-410. <https://doi.org/10.1006/jmsc.2000.1043>
- Szynkowska, M. I., Pawlaczyk, A., & Maćkiewicz, E. (2018). Bioaccumulation and Biomagnification of Trace Elements in the Environment. In K. Chojnacka & A. Saeid (Éds.), *Recent Advances in Trace Elements* (p. 251-276). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119133780.ch13>
- Tahri. (2015). *Données biométriques et indices physiologiques chez les holothuries Aspidochirotes : Holothuria tubulosa (Gmelin, 1788) de la côte ouest oranaise (Algérie)*. Université d'Oran.

- Tahri, Y., Dermeche, S., Chahrour, F., & Bouderbala, M. (2019). The reproduction cycle of the sea cucumber *Holothuria (Holothuria) tubulosa* Gmelin, 1791 (Echinodermata Holo-thuroidea Holothuriidae) in Oran coast, Algeria. *Biodiversity Journal*, 10(2), 159-172. <https://doi.org/10.31396/Biodiv.Jour.2019.10.2.159.172>
- Tan, Q.-G., Ke, C., & Wang, W.-X. (2013). Rapid Assessments of Metal Bioavailability in Marine Sediments Using Coelomic Fluid of Sipunculan Worms. *Environmental Science & Technology*, 47(13), 7499-7505. <https://doi.org/10.1021/es401112d>
- Telahigue, K., Rabeh, I., Hajji, T., Trabelsi, W., Bejaoui, S., Chouba, L., El Cafsi, M., & Soudani, N. (2019). Effects of acute mercury exposure on fatty acid composition and oxidative stress biomarkers in *Holothuria forskali* body wall. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 169, 516-522. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.051>
- Temara, A., Gillan, D., Warnau, M., Jangoux, M., & Dubois, P. (1997). Validation of the Asteroid *Asterius rubens* (Echinodermata) as a Bioindicator of Spatial and Temporal Trends of Pb, Cd, and 2% Contamination in the Field. *Marine Environmental Research*, 45(4), 16.
- Ternengo, S., Marengo, M., El Idrissi, O., Yepka, J., Pasqualini, V., & Gobert, S. (2018). Spatial variations in trace element concentrations of the sea urchin, *Paracentrotus lividus*, a first reference study in the Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 129(1), 293-298. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.02.049>
- Tewari, A., Joshi, H. V., Trivedi, R. H., Sravankumar, V. G., Raghunathan, C., Khambhaty, Y., Kotiwar, O. S., & Mandal, S. K. (2001). The Effect of Ship Scrapping Industry and its Associated Wastes on the Biomass Production and Biodiversity of Biota in in situ Condition at Alang. *Marine Pollution Bulletin*, 42(6), 461-468. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(00\)00185-5](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00185-5)
- Thompson, R. (2006). Plastic debris in the marine environment : Consequences and solutions. In J. Krause, H. Von Nordheim, & S. Brager (Éds.), *Proceedings of the Symposium held in Stralsund, Germany, 8th—12th May 2006* (p. 107-116).
- Thompson, R. C. (2004). Lost at Sea : Where Is All the Plastic? *Science*, 304(5672), 838-838. <https://doi.org/10.1126/science.1094559>
- Thompson, R. C., Moore, C. J., vom Saal, F. S., & Swan, S. H. (2009). Plastics, the environment and human health : Current consensus and future trends. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2153-2166. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0053>
- Toral-Granda, V. (2005). The use of calcareous spicules for the identification of the Galápagos sea cucumber *Isostichopus fuscus* on the international market. *SPC Beche-de-Mer Information Bulletin*, 22, 3-5.
- Torstenfelt, B., Allard, B., Johansson, W., & Ittner, T. (1983). Iron content and reducing capacity of granites and bentonite. *KBS Technical Reports*, 19.
- Tortonese, E., & Vadon, C. (1987). Oursins et Holothuries (Echinodermes). In *Guide Fao d'Identification des Espèces pour les Besoins de la Pêche : Méditerranée et Mer Noire—Zone de Pêche 37: Vol. 1 : Végétaux et Invertébrés* (p. 715-739). Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
- Turk Culha, S., Dereli, H., Karaduman, F. R., & Culha, M. (2016). Assessment of trace metal contamination in the sea cucumber (*Holothuria tubulosa*) and sediments from the Dardanelles Strait (Turkey). *Environmental Science and Pollution Research*, 23(12), 11584-11597. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6152-0>

- Tzempelikou, E., Zeri, C., Iliakis, S., & Paraskevopoulou, V. (2021). Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Zn in coastal and transitional waters of Greece and assessment of background concentrations : Results from 6 years implementation of the Water Framework Directive. *Science of The Total Environment*, 774, 145177. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145177>
- Uthicke, S., O'Hara, T. D., & Byrne, M. (2004). Species composition and molecular phylogeny of the Indo-Pacific teatfish (Echinodermata:Holothuroidea) bêche-de-mer fishery. *Marine and Freshwater Research*, 55(8), 837. <https://doi.org/10.1071/MF04226>
- Van Cauwenberghe, L., Devriese, L., Galgani, F., Robbins, J., & Janssen, C. R. (2015). Microplastics in sediments : A review of techniques, occurrence and effects. *Marine Environmental Research*, 111, 5-17. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.007>
- Van Dyck, S., Caulier, G., Todesco, M., Gerbaux, P., Fournier, I., Wisztorski, M., & Flammang, P. (2011). The triterpene glycosides of *Holothuria forskali* : Usefulness and efficiency as a chemical defense mechanism against predatory fish. *Journal of Experimental Biology*, 214(8), 1347-1356. <https://doi.org/10.1242/jeb.050930>
- Wada, O. (2004). Trace Elements—Their deficiency and excess states—. *Journal of the Japan Medical Association*, 47(8), 351-358.
- Walker, C. W. (1982). Nutrition of gametes. In M. Jangoux & J. M. Lawrence (Éds.), *Echinoderm nutrition* (p. 449-468). Balkema.
- Wang, J., Baskaran, M., Kumar, A., Bilhan, O., & Miller, C. J. (2020). Reconstruction of temporal variations of metal concentrations using radiochronology (<sup>239+240</sup>Pu and <sup>137</sup>Cs) in sediments from Kizilirmak River, Turkey. *Journal of Paleolimnology*. Scopus. <https://doi.org/10.1007/s10933-020-00154-w>
- 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>
- Wang, J., Ren, T., Han, Y., Zhao, Y., Liao, M., Wang, F., & Jiang, Z. (2015). The effects of dietary lead on growth, bioaccumulation and antioxidant capacity in sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(2), 535-540. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.08.012>
- Wang, J., Ren, T., Wang, F., Han, Y., Liao, M., Jiang, Z., & Liu, H. (2016). Effects of dietary cadmium on growth, antioxidants and bioaccumulation of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) and influence of dietary vitamin C supplementation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 129, 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.01.029>
- Warnau, M., Dutrieux, S., Ledent, G., Rodriguez y Baena, A. M., & Dúbois, P. (2006). Heavy Metals in the Sea Cucumber *Holothuria tubulosa* (Echinodermata) from the Mediterranean *Posidonia oceanica* Ecosystem : Body Compartment, Seasonal, Geographical and Bathymetric Variations. *Environmental Bioindicators*, 1(4), 268-285. <https://doi.org/10.1080/15555270601034388>
- Webb, A. L., Hughes, K. A., Grand, M. M., Lohan, M. C., & Peck, L. S. (2020). Sources of elevated heavy metal concentrations in sediments and benthic marine invertebrates of the western Antarctic Peninsula. *Science of the Total Environment*, 698. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134268>
- Whitfield, A. K. (2014). Impacts of recreational motorboats on fishes : A review. *Marine Pollution Bulletin*, 8.
- Woodall, L. C., Sanchez-Vidal, A., Canals, M., Paterson, G. L. J., Coppock, R., Sleight, V., Calafat, A., Rogers, A. D., Narayanaswamy, B. E., & Thompson, R. C. (2014). The deep sea is a major sink for microplastic debris. *Royal Society Open Science*, 1(4), 140317. <https://doi.org/10.1098/rsos.140317>

- WoRMS. (2021). Holothuroidea. *World Register of Marine Species*.  
<http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=123083>
- Wright, S. L., Thompson, R. C., & Galloway, T. S. (2013). The physical impacts of microplastics on marine organisms : A review. *Environmental Pollution*, 178, 483-492.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031>
- Xing, J., & Chia, F.-S. (1997). Heavy metal accumulation in tissue/organs of a sea cucumber, *Holothuria leucospilota*. *Hydrobiologia*, 352(1-3), 17-23. Scopus. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-5234-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-011-5234-1_3)
- Yilmaz, F., Özdemir, N., Demirak, A., & Tuna, A. L. (2007). Heavy metal levels in two fish species *Leuciscus cephalus* and *Lepomis gibbosus*. *Food Chemistry*, 100(2), 830-835.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.020>
- Yu, D., Ji, C., Zhao, J., & Wu, H. (2016). Proteomic and metabolomic analysis on the toxicological effects of As (III) and As (V) in juvenile mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, 150, 194-201.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.01.113>
- Zaaboub, N., Oueslati, W., Amine Helali, M., Abdeljaouad, S., Javier Huertas, F., & Lopez Galindo, A. (2014). Trace elements in different marine sediment fractions of the Gulf of Tunis (Central Mediterranean Sea). *Chemical Speciation & Bioavailability*, 26(1), 1-12. <https://doi.org/10.3184/095422914X13884279095945>
- Zamora, L. N., & Jeffs, A. G. (2011). Feeding, selection, digestion and absorption of the organic matter from mussel waste by juveniles of the deposit-feeding sea cucumber, *Australostichopus mollis*. *Aquaculture*, 317(1-4), 223-228. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.04.011>
- Zhang, H., Pap, S., Taggart, M. A., Boyd, K. G., James, N. A., & Gibb, S. W. (2020). A review of the potential utilisation of plastic waste as adsorbent for removal of hazardous priority contaminants from aqueous environments. *Environmental Pollution*, 258. Scopus. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113698>
- Zhou, Q., Zhang, J., Fu, J., Shi, J., & Jiang, G. (2008). Biomonitoring : An appealing tool for assessment of metal pollution in the aquatic ecosystem. *Analytica Chimica Acta*, 606(2), 135-150.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.11.018>
- Ziajahromi, S., Neale, P. A., & Leusch, F. D. L. (2016). Wastewater treatment plant effluent as a source of microplastics : Review of the fate, chemical interactions and potential risks to aquatic organisms. *Water Science and Technology*, 74(10), 2253-2269. <https://doi.org/10.2166/wst.2016.414>

## Liste des abréviations

- Eléments (traces et autres)

Ag : argent  
Al : aluminium  
As : arsenic  
Ba : baryum  
Be : béryllium  
Bi : bismuth  
Ca : calcium  
Cd : cadmium  
Co : cobalt  
Cr : chrome  
Cu : cuivre  
Fe : fer  
K : potassium  
Li : lithium  
Mg : magnésium  
Mo : molybdène  
Mn : manganèse  
Na : sodium  
Ni : nickel  
P : phosphore  
Pb : plomb  
Rb : rubidium  
Sb : antimoine  
Se : sélénium  
Sn : étain  
Sr : strontium  
U : uranium  
V : vanadium  
Zn : zinc

- Plastique

HDPE : polyéthylène haute densité  
PA : polyamide  
PE : polyéthylène  
PET : polyéthylène téréphtalate  
PP : polypropylène  
PVC : polychlorure de vinyle  
PS : polystyrène

- Autres

ET : élément(s) trace(s)  
ETM : élément(s) trace(s) métallique(s)  
L<sub>D</sub> : limite de détection  
L<sub>Q</sub> : limite de quantification  
MP : microplastiques  
TEPI : Trace Element Pollution Index

## Annexes

Période	Site	<i>H. tubulosa</i>	<i>H. polii</i>
Estivale	STARESO	n = 3	n = 3
	Emissaire	n = 2	n = 1
Automnale	STARESO	n = 3	n = 3
	Emissaire	n = 3	n = 0
Hivernale	STARESO	n = 3	n = 3
	Emissaire	n = 3	n = 0
	Aquaculture	n = 1	n = 4

*Annexe 1 : Résumé du nombre d'holothuries de chaque espèce collectées à chaque période sur les différents sites d'échantillonnages de la Baie de Calvi*

Masse Disponible (dw)	Volume d'H <sub>2</sub> O	Volume d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Volume d'HNO <sub>3</sub>	Volume de dilution final
> 75 mg	4 ml	1 ml	3 ml	50 ml
40 - 75 mg	6 ml	0,5 ml	1,5 ml	25 ml
< 40 mg	6,8 ml	0,3 ml	0,9 ml	15 ml
<b>Blanc</b>	4 ml	1 ml	3 ml	50 ml

*Annexe 2 : Volume de dilution final et composition des solutions de minéralisation utilisées en fonction du poids disponible pour chaque organe des différents spécimens d'holothuries*

Solution	Composition	Efficacité de la digestion après 24H (Observations personnelles)	Altération du plastique (Karami et al. et Lusher et al.)
Alcaline (50°C)	50 ml KOH 10%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Excellente digestion du tube digestif</li> <li>- Digestion de la matière végétale médiocre</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Jaunissement du nylon</li> <li>- Altération du PET/PC/PVC <b>à haute température</b></li> </ul>
Acide/oxydante (40°C)	10 ml HCl 32% + 5 ml HNO <sub>3</sub> 67% + 15 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30%	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Digestion de la matière végétale moyenne</li> <li>- Digestion du tube digestif moyenne</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Destruction du nylon</li> <li>- Fonte du PET</li> <li>- Altération du PA et PU</li> <li>- Jaunissement de nombreux polymères</li> </ul>
Alcaline/oxydante (40°C)	50 ml KOH 10% (étape 1) / 15 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30% (étape 2)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Excellente digestion du tube digestif</li> <li>- Bonne digestion de la matière végétale</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Jaunissement du nylon et du PET</li> <li>- Altération du PA et du PET/PC/PVC <b>à haute température</b></li> </ul>

*Annexe 3 : Résumé des différentes méthodes de digestion testées comprenant la composition des solutions, leur efficacité relative de digestion ainsi que leur effet sur différents polymères mentionnés dans la littérature*



		Al	Cr	Fe	Mn	Cu	Zn	As	Se	Rb	Ag	Cd	Sn	Pb
DORM 2	Mesuré	27,55 ± 21,75	11,106 ± 2,943	78 ± 22	1,73 ± 0,35	2,29 ± 0,27	24,3 ± 2,1	17,6 ± 0,2	1,35 ± 0,13	NA	0,0351 ± 0,0012	0,046 ± 0,003	0,045 ± 0,003	0,08 ± 0,01
	Certifié	10,90	34,700	142	3,66	2,34	25,6	18,0	1,40	NA	0,0410	0,043	0,023	0,07
NIST 1566B	Mesuré	147,94 ± 5,80	NA	206 ± 14	17,93 ± 0,47	72,5 ± 7,2	1325,9 ± 136,0	7,4 ± 0,1	2,13 ± 0,17	3,00 ± 0,06	0,6302 ± 0,0066	2,332 ± 0,021	NA	0,33 ± 0,01
	Certifié	197,20	NA	206	18,50	71,6	1 424,0	7,7	2,06	3,26	0,6660	2,480	NA	0,31
DORM 3	Mesuré	33,47 ± 1,29	4,039 ± 0,352	1537 ± 61	NA	34,8 ± 4,0	93,7 ± 8,2	9,2 ± 0,1	7,1 ± 0,3	NA	1,1738 ± 0,0203	17,843 ± 0,468	0,554 ± 0,021	0,42 ± 0,07
	Certifié	25,00	3,500	1484	NA	31,2	86,6	10,2	7,1	NA	1,2000	19,400	0,400	0,14

Annexe 4 : Comparaison entre les concentrations en ET certifiées et mesurées au sein des Matériaux Certifiés de Référence (tissu d'huitre NIST 1566B, foie de chien-de-mer DOLT 3 et muscle de chien-de-mer DORM2) à l'aide de l'IC-PMS du Laboratoire d'Océanologie de l'Université de Liège, l'ensemble de ces concentrations est exprimé en mg d'élément par kg de poids sec d'organe.

		Li	Al	V	Cr	Fe	Mn	Cu	Zn	As	Se	Rb	Sr	Mo	Ag	Cd	Sn	Ba	Pb	U		
Gonade	Période estivale	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	1,93 ± 0,16	69,5 ± 90,4	0,344 ± 0,082	0,665 ± 0,236	65,4 ± 27,3	2,39 ± 0,75	4,76 ± 0,72	16,5 ± 12,4	21,4 ± 2,2	8,80 ± 0,97	1,50 ± 0,36	96,6 ± 12,8	2,31 ± 0,72	0,0083 ± 0,0043	0,057 ± 0,025	0,032 ± 0,010	0,83 ± 0,34	0,78 ± 0,32	1,07 ± 0,53
			<i>H. polii</i>	1,34 ± 0,44	170,5 ± 86,5	0,574 ± 0,082	1,173 ± 0,477	211,3 ± 106,0	2,38 ± 1,10	5,01 ± 0,98	38,7 ± 7,5	22,0 ± 2,6	8,98 ± 0,93	2,38 ± 0,53	139,7 ± 31,6	4,98 ± 1,95	0,0190 ± 0,0062	0,129 ± 0,051	0,059 ± 0,019	1,35 ± 0,32	1,48 ± 0,47	3,07 ± 2,00
	Émissaire	<i>H. tubulosa</i>	1,63 ± 0,39	177,4 ± 204,9	0,424 ± 0,19	0,631 ± 0,067	140,4 ± 90	2,67 ± 0,46	6,72 ± 0,45	40,5 ± 5,3	26,1 ± 0,9	10,68 ± 0,57	2,44 ± 0,46	140,2 ± 25,7	5,38 ± 1,69	0,0193 ± 0,0051	0,140 ± 0,045	0,086 ± 0,036	1,85 ± 0,86	1,97 ± 0,89	5,30 ± 4,65	
		<i>H. polii</i>	<b>0,47</b>	<b>118,6</b>	<b>0,440</b>	<b>1,090</b>	<b>85,8</b>	<b>1,36</b>	<b>6,73</b>	<b>63,1</b>	<b>26,4</b>	<b>10,66</b>	<b>5,25</b>	<b>444,8</b>	<b>26,75</b>	<b>0,0500</b>	<b>0,490</b>	<b>0,120</b>	<b>2,76</b>	<b>3,08</b>	<b>9,66</b>	

Annexe 5 : Concentrations en ET mesurées dans les gonades des spécimens d'*H. polii* et *H. tubulosa* collectés au niveau de l'émissaire et de STARESO en été, l'ensemble de ces concentrations est exprimé en mg d'élément par kg de poids sec d'organe avec en **gras et italique** les concentrations relatives aux mesures effectuées sur un individu isolé

			Li	Al	V	Cr	Fe	Mn	Cu	Zn	As	Se	Rb	Sr	Mo	Ag	Cd	Sn	Ba	Pb	U		
Arbres respiratoires	Période estivale	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	2,13 ± 0,32	511,5 ± 285,6	1,35 ± 0,473	3,136 ± 1,241	357,0 ± 162,8	4,92 ± 1,90	4,93 ± 1,31	48,1 ± 8,8	21,8 ± 3,6	8,83 ± 1,47	3,38 ± 0,98	219,1 ± 80,3	9,68 ± 4,55	0,0306 ± 0,0124	0,240 ± 0,110	0,120 ± 0,047	2,96 ± 1,50	3,07 ± 1,42	10,44 ± 6,43	
			<i>H. polii</i>	1,57 ± 0,69	1375,9 ± 423,6	3,399 ± 0,738	5,938 ± 2,529	1365,7 ± 501,2	10,83 ± 6,63	15,18 ± 4,12	66,0 ± 3,5	42,0 ± 9,3	21,23 ± 6,31	6,65 ± 1,59	484,6 ± 88,1	34,54 ± 8,30	0,0630 ± 0,0099	0,570 ± 0,076	0,397 ± 0,233	9,72 ± 5,10	7,01 ± 2,21	31,23 ± 12,59	
		Émissaire	<i>H. tubulosa</i>	1,92 ± 0,51	571,3 ± 10,9	1,513 ± 0,157	2,532 ± 0,391	483,1 ± 5,9	4,31 ± 0,39	7,50 ± 0,36	53,7 ± 3,8	28,1 ± 1,1	11,55 ± 0,60	4,05 ± 0,53	277,9 ± 41,8	13,57 ± 4,00	0,0387 ± 0,0049	0,321 ± 0,058	0,180 ± 0,019	5,09 ± 0,70	4,89 ± 0,30	18,11 ± 1,83	
			<i>H. polii</i>	<b>2,60</b>	<b>98,2</b>	<b>0,490</b>	<b>1,180</b>	<b>154,6</b>	<b>0,94</b>	<b>2,74</b>	<b>9,6</b>	<b>15,9</b>	<b>6,45</b>	<b>1,31</b>	<b>92,1</b>	<b>2,01</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,040</b>	<b>0,190</b>	<b>5,30</b>	<b>5,02</b>	<b>19,09</b>	
		Période automne	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	1,64 ± 0,19	723,6 ± 442,6	2,277 ± 1,141	4,529 ± 2,182	653,5 ± 318,8	5,92 ± 3,42	8,11 ± 1,48	52,0 ± 13,8	29,5 ± 3,4	12,43 ± 1,90	3,76 ± 1,49	260,7 ± 123,1	15,84 ± 10,62	0,0365 ± 0,0184	0,307 ± 0,177	0,162 ± 0,067	5,04 ± 2,70	4,21 ± 1,87	15,57 ± 8,07
				<i>H. polii</i>	1,59 ± 0,50	1263,6 ± 305,6	3,065 ± 1,468	4,620 ± 1,923	977,8 ± 451,4	7,10 ± 3,89	12,54 ± 7,86	56,5 ± 1,9	36,8 ± 15,1	18,04 ± 9,68	4,36 ± 0,13	303,2 ± 9,9	16,66 ± 1,96	0,0422 ± 0,0027	0,356 ± 0,020	0,190 ± 0,045	5,54 ± 1,84	5,12 ± 0,84	19,57 ± 5,15
	Émissaire		<i>H. tubulosa</i>	1,93 ± 0,27	312,8 ± 134,1	1,254 ± 0,284	2,457 ± 1,215	333,7 ± 99,3	3,69 ± 0,91	5,50 ± 1,42	42,3 ± 6,3	23,2 ± 3,8	9,32 ± 1,48	2,62 ± 0,56	157,7 ± 41,1	6,24 ± 2,53	0,0221 ± 0,0070	0,163 ± 0,060	0,149 ± 0,097	4,02 ± 3,31	3,68 ± 2,3	13,10 ± 11,73	
			<i>H. polii</i>	1,41 ± 0,39	532,3 ± 692,3	1,157 ± 0,395	2,630 ± 1,519	306,8 ± 203,2	5,67 ± 2,31	5,62 ± 3,05	39,2 ± 27,8	22,9 ± 7,5	9,64 ± 3,59	3,46 ± 2,71	242 ± 215,1	13,36 ± 16,58	0,0279 ± 0,0262	0,249 ± 0,283	0,158 ± 0,108	5,15 ± 3,64	4,05 ± 2,77	15,61 ± 12,68	
	Période hivernale		STARESO	<i>H. tubulosa</i>	2,24 ± 1,12	407,4 ± 146,4	1,571 ± 0,456	3,568 ± 1,501	383,7 ± 162,2	5,27 ± 1,24	7,26 ± 3,57	48,3 ± 1,2	26,4 ± 7,6	11,33 ± 4,09	3,21 ± 0,13	202,7 ± 16,3	8,72 ± 0,48	0,0290 ± 0,0015	0,224 ± 0,014	0,092 ± 0,020	2,14 ± 0,47	2,34 ± 0,55	7,02 ± 1,97
				<i>H. polii</i>	1,66 ± 0,64	352,2 ± 213,1	1,348 ± 0,461	5,475 ± 2,305	351,2 ± 167,2	4,61 ± 1,30	6,22 ± 1,06	41,7 ± 8,0	25,0 ± 2,6	10,34 ± 1,02	2,64 ± 0,81	161,1 ± 67,3	6,22 ± 3,66	0,0222 ± 0,0112	0,165 ± 0,095	0,236 ± 0,109	6,42 ± 2,86	5,46 ± 1,60	22,03 ± 8,73
		Aquaculture	<i>H. tubulosa</i>	<b>1,92</b>	<b>77,0</b>	<b>1,060</b>	<b>3,570</b>	<b>231,0</b>	<b>2,91</b>	<b>8,39</b>	<b>11,4</b>	<b>30,1</b>	<b>12,84</b>	<b>1,48</b>	<b>97,4</b>	<b>2,28</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,050</b>	<b>0,050</b>	<b>1,17</b>	<b>1,28</b>	<b>1,90</b>	
			<i>H. polii</i>	3,31 ± 0,25	1977,2 ± 1312,8	3,030 ± 1,400	3,630 ± 1,406	1174,0 ± 661,0	12,13 ± 6,32	15,10 ± 8,80	74,2 ± 21,2	42,3 ± 19,1	21,34 ± 10,63	10,85 ± 6,32	570,7 ± 275,1	54,02 ± 36,93	0,0805 ± 0,0406	0,609 ± 0,287	0,433 ± 0,273	10,83 ± 7,22	6,79 ± 3,55	31,82 ± 19,37	

Annexe 6 : Concentrations en ET mesurées dans les arbres respiratoires des spécimens d'*H. polii* et *H. tubulosa* collectés sur les trois sites étudiés aux trois périodes de l'année, l'ensemble de ces concentrations est exprimé en mg d'élément par kg de poids sec d'organe avec en **gras et italique** les concentrations relatives aux mesures effectuées sur un individu isolé

				Li	Al	V	Cr	Fe	Mn	Cu	Zn	As	Se	Rb	Sr	Mo	Ag	Cd	Sn	Ba	Pb	U
Paroi du corps	Période estivale	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	2,62 ± 0,50	66,1 ± 42,2	0,327 ± 0,04	0,327 ± 0,102	24,2 ± 9,6	1,23 ± 0,29	1,52 ± 0,28	22,3 ± 9,7	11,7 ± 1,4	5,02 ± 0,43	1,72 ± 0,20	105,6 ± 5,4	2,79 ± 0,36	0,0120 ± 0,0018	0,073 ± 0,015	0,108 ± 0,065	2,84 ± 1,78	2,98 ± 1,89	9,49 ± 7,69
			<i>H. polii</i>	2,62 ± 1,49	90,3 ± 98,0	0,348 ± 0,076	0,479 ± 0,298	34,1 ± 10	1,47 ± 0,37	1,09 ± 0,13	19,3 ± 19,6	8,7 ± 1,1	3,8 ± 0,66	1,58 ± 0,80	103,8 ± 34,8	2,98 ± 2,39	0,0099 ± 0,0094	0,070 ± 0,054	0,241 ± 0,082	6,74 ± 2,65	5,56 ± 1,37	23,17 ± 7,29
		Émissaire	<i>H. tubulosa</i>	2,08 ± 0,53	75,9 ± 35,2	0,428 ± 0,119	0,653 ± 0,401	53,5 ± 27,4	1,37 ± 0,41	2,07 ± 0,62	9,4 ± 8,8	13,6 ± 1,9	5,66 ± 0,67	1,26 ± 0,21	90,1 ± 7,2	1,86 ± 0,43	0,0058 ± 0,0034	0,044 ± 0,018	0,122 ± 0,015	2,92 ± 0,52	3,18 ± 0,66	10,95 ± 2,06
			<i>H. polii</i>	<b>3,28</b>	<b>96,5</b>	<b>0,200</b>	<b>0,260</b>	<b>9,9</b>	<b>0,79</b>	<b>0,86</b>	<b>41,6</b>	<b>7,3</b>	<b>3,11</b>	<b>2,47</b>	<b>142,9</b>	<b>5,56</b>	<b>0,0200</b>	<b>0,130</b>	<b>0,150</b>	<b>3,61</b>	<b>3,98</b>	<b>14,48</b>
	Période automne	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	2,38 ± 0,96	50,3 ± 39,4	0,294 ± 0,06	0,313 ± 0,029	17,5 ± 2,3	1,06 ± 0,06	1,57 ± 0,64	22,9 ± 15,6	11,4 ± 3,3	4,90 ± 1,08	1,56 ± 0,62	89,5 ± 36,4	2,37 ± 1,36	0,0091 ± 0,0079	0,065 ± 0,038	0,059 ± 0,029	1,36 ± 0,54	1,39 ± 0,69	3,15 ± 2,95
			<i>H. polii</i>	2,20 ± 0,68	54,3 ± 65,0	0,269 ± 0,08	0,303 ± 0,073	34,0 ± 17,0	1,34 ± 0,62	1,06 ± 0,14	19,7 ± 20,6	8,8 ± 0,9	3,83 ± 0,63	1,58 ± 0,89	104,4 ± 37,8	3,08 ± 2,80	0,0100 ± 0,0105	0,078 ± 0,068	0,089 ± 0,062	2,15 ± 1,60	2,38 ± 1,80	6,56 ± 7,73
		Émissaire	<i>H. tubulosa</i>	1,81 ± 1,81	27,2 ± 27,2	0,273 ± 0,273	0,259 ± 0,259	17,6 ± 17,6	1,12 ± 1,12	1,78 ± 1,78	7,6 ± 7,6	13,2 ± 13,2	5,40 ± 5,40	1,06 ± 1,06	82,2 ± 82,2	1,45 ± 1,45	0,0040 ± 0,0040	0,037 ± 0,037	0,107 ± 0,107	3,16 ± 3,16	2,67 ± 2,67	9,20 ± 9,20
			<i>H. polii</i>	2,98 ± 0,36	176,4 ± 70,8	0,370 ± 0,145	1,747 ± 2,399	37,6 ± 18,2	1,80 ± 1,43	1,44 ± 0,09	39,2 ± 2,9	11,7 ± 0,6	5,03 ± 0,15	2,30 ± 0,22	131,8 ± 11,5	4,70 ± 0,94	0,0177 ± 0,0025	0,120 ± 0,013	0,058 ± 0,032	1,33 ± 0,67	1,42 ± 0,75	3,62 ± 2,72
	Période hivernale	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	2,62 ± 2,62	91,1 ± 91,1	0,374 ± 0,374	0,410 ± 0,410	29,0 ± 29,0	2,69 ± 2,69	1,45 ± 1,45	23,8 ± 23,8	11,3 ± 11,3	4,78 ± 4,78	1,95 ± 1,95	116,8 ± 116,8	3,67 ± 3,67	0,0142 ± 0,0142	0,089 ± 0,089	0,222 ± 0,222	6,14 ± 6,14	4,93 ± 4,93	20,70 ± 20,70
			<i>H. polii</i>	2,19 ± 0,34	63,9 ± 42,9	0,267 ± 0,067	0,358 ± 0,086	19,5 ± 6,9	1,29 ± 0,29	1,82 ± 0,38	17,5 ± 11,5	13,3 ± 2	5,47 ± 0,56	1,55 ± 0,31	99,8 ± 11,4	2,46 ± 0,62	0,0094 ± 0,0038	0,062 ± 0,021	0,051 ± 0,024	1,14 ± 0,29	1,19 ± 0,55	2,14 ± 1,45
		Émissaire	<i>H. tubulosa</i>	2,24	46,6	0,370	0,450	44,3	2,83	1,95	11,6	14,2	5,59	1,50	99,1	2,35	0,0100	0,050	0,160	3,93	4,15	15,16
			<i>H. polii</i>	3,26 ± 0,18	187,5 ± 43,1	0,323 ± 0,039	0,562 ± 0,379	36,8 ± 11,3	2,43 ± 0,37	2,31 ± 2,15	41,3 ± 3,6	13,4 ± 7,1	5,65 ± 2,75	2,50 ± 0,33	145,9 ± 24,5	5,64 ± 1,34	0,0201 ± 0,0046	0,140 ± 0,039	0,212 ± 0,185	5,34 ± 4,42	4,33 ± 3,23	18,00 ± 16,42

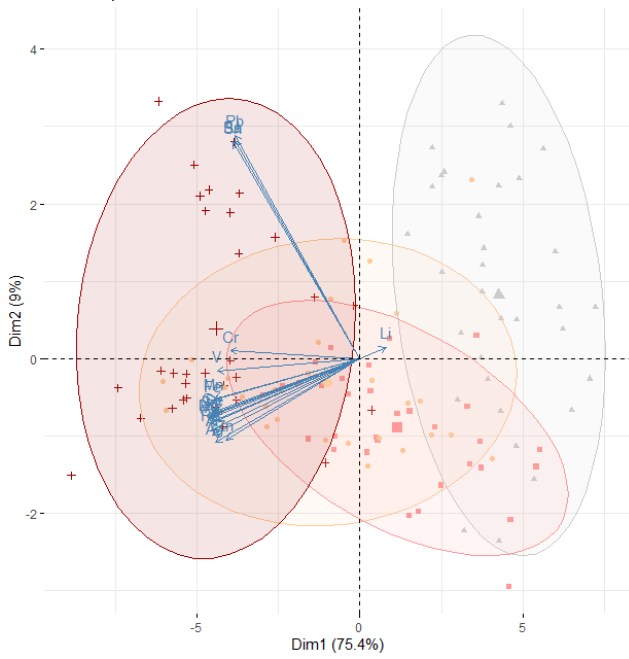
Annexe 7 : Concentrations en ET mesurées dans la paroi du corps des spécimens d'*H. polii* et *H. tubulosa* collectés sur les trois sites étudiés aux trois périodes de l'année, l'ensemble de ces concentrations est exprimé en mg d'élément par kg de poids sec d'organe avec en **gras et italique** les concentrations relatives aux mesures effectuées sur un individu isolé

			Li	Al	V	Cr	Fe	Mn	Cu	Zn	As	Se	Rb	Sr	Mo	Ag	Cd	Sn	Ba	Pb	U	
Muscles mêlés au système ambulacraire	Période estivale	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	2,03 ± 0,13	579,4 ± 425,7	1,573 ± 0,324	1,633 ± 0,462	350,2 ± 217,4	6,27 ± 3,52	5,35 ± 2,56	53,6 ± 9,7	22,9 ± 6,5	9,39 ± 2,68	3,92 ± 1,29	280,4 ± 138,4	15,46 ± 10,36	0,0380 ± 0,0154	0,318 ± 0,174	0,152 ± 0,094	4,61 ± 3,05	3,90 ± 2,36	14,05 ± 10,71
			<i>H. polii</i>	1,40 ± 0,30	397,0 ± 10,3	1,590 ± 0,297	1,423 ± 0,138	434,6 ± 65,3	2,77 ± 0,74	4,19 ± 1,09	52,3 ± 5,9	20,0 ± 3,2	8,01 ± 1,43	3,72 ± 0,72	246,6 ± 60,5	12,89 ± 6,30	0,0357 ± 0,0089	0,284 ± 0,082	0,115 ± 0,023	2,61 ± 0,53	2,86 ± 0,68	9,75 ± 3,46
		Émissaire	<i>H. tubulosa</i>	1,79 ± 0,09	1068,7 ± 540,5	1,960 ± 0,331	1,676 ± 0,246	603,0 ± 195,5	6,36 ± 1,50	8,24 ± 2,19	59,2 ± 7,1	29,9 ± 5	12,86 ± 3,25	5,09 ± 1,55	369,9 ± 143,7	20,94 ± 11,62	0,0475 ± 0,0124	0,404 ± 0,125	0,195 ± 0,046	5,83 ± 2,28	5,22 ± 0,93	20,64 ± 5,96
			<i>H. polii</i>	<b>1,42</b>	<b>28,5</b>	<b>0,450</b>	<b>0,750</b>	<b>61,5</b>	<b>0,55</b>	<b>2,05</b>	<b>11,3</b>	<b>14,7</b>	<b>5,66</b>	<b>1,45</b>	<b>96,8</b>	<b>2,26</b>	<b>0,0100</b>	<b>0,050</b>	<b>0,030</b>	<b>0,85</b>	<b>0,65</b>	<b>0,85</b>
	Période automne	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	1,47 ± 0,23	217,6 ± 287,5	1,215 ± 0,545	1,109 ± 0,386	246,2 ± 259,5	3,08 ± 2,68	2,69 ± 1,53	31,8 ± 20,5	15,3 ± 4,2	6,45 ± 1,64	2,28 ± 1,08	144 ± 67,6	5,17 ± 3,99	0,0172 ± 0,0129	0,132 ± 0,104	0,063 ± 0,056	1,58 ± 1,34	1,69 ± 1,61	4,87 ± 6,55
			<i>H. polii</i>	1,55 ± 0,19	670,4 ± 520,5	1,026 ± 0,200	0,985 ± 0,106	241,6 ± 173,4	3,00 ± 1,80	2,99 ± 1,09	47,2 ± 15,1	16,3 ± 2,9	6,68 ± 1,10	3,37 ± 1,39	229,7 ± 107,3	12,89 ± 6,30	0,0319 ± 0,0172	0,256 ± 0,160	0,078 ± 0,053	1,83 ± 1,33	1,92 ± 1,43	5,82 ± 5,00
		Émissaire	<i>H. tubulosa</i>	1,97 ± 0,43	323,1 ± 196,6	1,498 ± 0,717	1,417 ± 0,879	283,4 ± 197	3,34 ± 1,98	3,66 ± 0,84	40,3 ± 11,1	18,3 ± 2,3	7,50 ± 0,93	2,63 ± 0,97	165,3 ± 76,3	6,26 ± 4,15	0,0224 ± 0,0121	0,162 ± 0,109	0,112 ± 0,065	2,83 ± 2,12	2,83 ± 1,80	9,15 ± 8,49
			<i>H. polii</i>	1,51 ± 0,37	327,4 ± 219,6	1,100 ± 0,208	1,234 ± 0,123	185,3 ± 78,5	4,51 ± 0,61	3,53 ± 1,23	35,2 ± 19,6	18,2 ± 3,2	7,45 ± 1,27	2,51 ± 0,89	156,2 ± 59,2	6,08 ± 3,44	0,0210 ± 0,010	0,147 ± 0,087	0,090 ± 0,050	2,12 ± 1,10	2,34 ± 1,40	7,23 ± 6,07
	Période hivernale	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	1,37 ± 0,12	101,6 ± 70,3	1,087 ± 0,371	1,484 ± 0,144	111,5 ± 27,7	3,38 ± 0,38	3,56 ± 1,18	20,1 ± 12,2	18,1 ± 2,9	7,40 ± 1,27	1,73 ± 0,23	107,3 ± 7,1	12,89 ± 6,30	0,0121 ± 0,0021	0,074 ± 0,019	0,043 ± 0,025	0,97 ± 0,43	1,02 ± 0,56	1,83 ± 1,49
			<i>H. polii</i>	1,63 ± 0,14	300,6 ± 189,5	0,838 ± 0,258	1,512 ± 0,244	174,5 ± 75,8	3,60 ± 1,18	3,85 ± 0,62	33,5 ± 20,0	18,7 ± 1,9	7,65 ± 0,81	2,40 ± 0,87	149,9 ± 47	5,49 ± 2,88	0,0194 ± 0,0109	0,142 ± 0,083	0,096 ± 0,022	2,23 ± 0,60	2,41 ± 0,61	7,21 ± 2,31
		Aquaculture	<i>H. tubulosa</i>	<b>2,23</b>	<b>783,8</b>	<b>0,790</b>	<b>1,040</b>	<b>214,6</b>	<b>4,00</b>	<b>6,89</b>	<b>51,0</b>	<b>26,5</b>	<b>10,93</b>	<b>3,66</b>	<b>239,3</b>	<b>10,68</b>	<b>0,0400</b>	<b>0,280</b>	<b>0,160</b>	<b>3,99</b>	<b>4,28</b>	<b>15,39</b>
			<i>H. polii</i>	1,78 ± 0,22	628,9 ± 419,1	1,297 ± 0,369	1,281 ± 0,150	272,6 ± 125,9	3,79 ± 1,32	4,86 ± 2,45	54,8 ± 8,3	21,6 ± 6,1	8,86 ± 2,69	4,25 ± 1,29	302,5 ± 120,5	16,98 ± 9,92	0,0404 ± 0,0130	0,342 ± 0,138	0,109 ± 0,073	2,92 ± 2,35	2,85 ± 1,96	9,32 ± 9,11

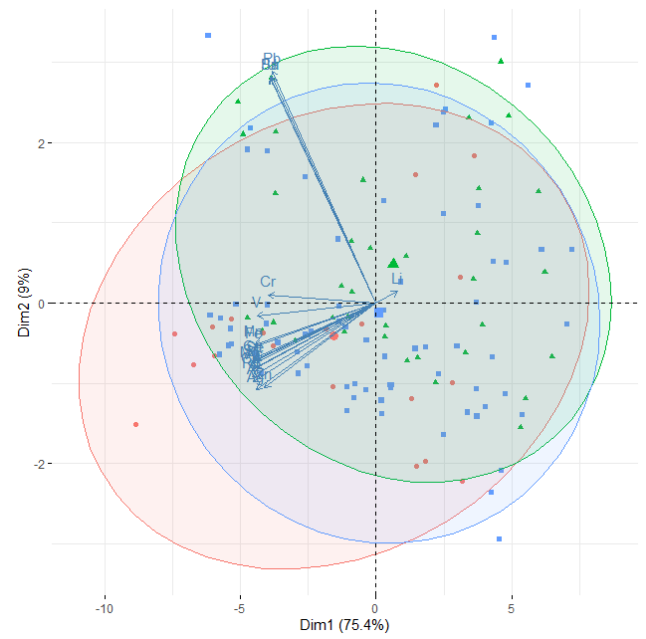
Annexe 8 : Concentrations en ET mesurées dans les muscles mêlés au système ambulacraire des spécimens d'*H. polii* et *H. tubulosa* collectés sur les trois sites étudiés aux trois périodes de l'année, l'ensemble de ces concentrations est exprimé en mg d'élément par kg de poids sec d'organe avec en **gras et italique** les concentrations relatives aux mesures effectuées sur un individu isolé

			Li	Al	V	Cr	Fe	Mn	Cu	Zn	As	Se	Rb	Sr	Mo	Ag	Cd	Sn	Ba	Pb	U	
Système hémal	Période estivale	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	1,23 ± 0,18	890,5 ± 807,8	9,463 ± 5,642	33,593 ± 24,624	1402,9 ± 505,2	6,94 ± 5,10	10,31 ± 2,48	58,9 ± 12,1	33,3 ± 4,1	15,58 ± 3,12	5,50 ± 3,04	373,7 ± 212	25,80 ± 23,86	0,0494 ± 0,025	0,415 ± 0,23	0,739 ± 0,500	17,56 ± 10,36	8,96 ± 2,26	49,64 ± 24,99
			<i>H. polii</i>	1,40 ± 0,42	2460,8 ± 597,0	5,914 ± 2,989	21,211 ± 13,620	1871,0 ± 614,3	16,40 ± 1,55	14,96 ± 1,91	83,0 ± 4,9	43,0 ± 6,4	21,79 ± 4,05	12,14 ± 2,06	675,1 ± 29,7	72,79 ± 6,14	0,0937 ± 0,0033	0,771 ± 0,03	0,607 ± 0,139	14,86 ± 4,27	8,96 ± 0,87	43,24 ± 4,46
		Émissaire	<i>H. tubulosa</i>	1,59 ± 0,47	1430,6 ± 720,5	5,201 ± 0,808	12,878 ± 9,009	1337,1 ± 217,4	8,62 ± 3,03	14,39 ± 3,30	62,0 ± 9,2	40,4 ± 6,9	21,16 ± 6,67	6,04 ± 2,53	422,2 ± 167	28,48 ± 17,77	0,0540 ± 0,0181	0,484 ± 0,184	0,665 ± 0,261	16,33 ± 7,21	9,47 ± 1,80	47,38 ± 9,83
			<i>H. polii</i>	<b>1,24</b>	<b>1055,0</b>	<b>5,230</b>	<b>30,000</b>	<b>2131,5</b>	<b>7,72</b>	<b>13,26</b>	<b>64,5</b>	<b>38,4</b>	<b>19,01</b>	<b>6,48</b>	<b>488,8</b>	<b>30,51</b>	<b>0,0600</b>	<b>0,570</b>	<b>0,310</b>	<b>8,95</b>	<b>6,66</b>	<b>29,65</b>
	Période automne	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	1,14 ± 0,53	938,4 ± 825,7	10,350 ± 11,969	32,094 ± 43,796	1274,1 ± 497,3	7,55 ± 4,87	10,17 ± 1,63	59,9 ± 13,5	33,0 ± 2,7	14,92 ± 1,89	5,58 ± 3,16	380,0 ± 218,4	28,36 ± 24,38	0,0515 ± 0,0272	0,428 ± 0,237	0,756 ± 0,787	17,82 ± 15,71	8,37 ± 3,15	45,61 ± 28,84
			<i>H. polii</i>	1,10 ± 0,44	1688,8 ± 1010,9	3,484 ± 0,477	13,852 ± 9,272	874,3 ± 339,3	9,05 ± 3,89	15,97 ± 12,09	63,6 ± 11,9	46,4 ± 27,4	23,88 ± 18,31	6,70 ± 3,18	450,9 ± 199,8	33,11 ± 22,79	0,0592 ± 0,0262	0,512 ± 0,230	0,338 ± 0,212	8,47 ± 5,64	6,02 ± 3,22	27,90 ± 18,13
		Émissaire	<i>H. tubulosa</i>	1,86 ± 0,65	902,6 ± 571,2	5,561 ± 5,409	10,731 ± 9,889	1436,2 ± 1243,8	8,65 ± 4,91	11,53 ± 5,55	55,3 ± 12,2	35,1 ± 10,9	17,40 ± 8,07	4,16 ± 1,48	312,1 ± 152,8	18,59 ± 11,63	0,0409 ± 0,0187	0,362 ± 0,207	1,118 ± 1,469	23,87 ± 28,75	10,70 ± 8,10	52,61 ± 47,85
			<i>H. polii</i>	1,58 ± 0,13	1228,6 ± 786,9	4,591 ± 3,968	13,794 ± 12,838	1087,6 ± 950,8	14,46 ± 8,36	9,84 ± 3,43	59,6 ± 15,5	31,6 ± 6,1	14,25 ± 3,83	5,91 ± 3,14	414,7 ± 239,5	28,65 ± 21,11	0,0516 ± 0,0283	0,448 ± 0,275	1,064 ± 1,547	55,57 ± 87,87	26,32 ± 38,2	53,22 ± 64,14
	Période hivernale	STARESO	<i>H. tubulosa</i>	1,75 ± 0,28	1428,3 ± 499,7	5,997 ± 2,885	26,876 ± 24,979	1194,7 ± 200,2	15,20 ± 1,47	19,84 ± 9,11	66,2 ± 4,2	54,8 ± 20,5	29,34 ± 13,83	6,76 ± 1,85	496,9 ± 104,3	35,37 ± 10,54	0,0632 ± 0,0120	0,564 ± 0,095	1,147 ± 1,194	22,33 ± 18,80	10,38 ± 4,43	53,48 ± 26,02
			<i>H. polii</i>	1,29 ± 0,20	518,2 ± 260,1	7,505 ± 0,887	51,043 ± 13,820	1341,5 ± 499,2	6,08 ± 1,16	11,16 ± 3,63	56,3 ± 3,8	34,5 ± 6,2	16,05 ± 4,48	4,31 ± 0,4	305,1 ± 39,0	16,65 ± 5,30	0,0428 ± 0,0049	0,356 ± 0,063	2,174 ± 0,654	39,04 ± 7,31	14,85 ± 3,96	82,24 ± 4,00
		Aquaculture	<i>H. tubulosa</i>	<b>1,52</b>	<b>905,4</b>	<b>7,810</b>	<b>24,080</b>	<b>1744,2</b>	<b>8,60</b>	<b>15,56</b>	<b>61,7</b>	<b>41,7</b>	<b>22,10</b>	<b>4,83</b>	<b>373,1</b>	<b>23,86</b>	<b>0,0500</b>	<b>0,450</b>	<b>0,220</b>	<b>7,31</b>	<b>5,80</b>	<b>24,40</b>
			<i>H. polii</i>	3,31 ± 0,55	4048,0 ± 1778,1	5,954 ± 1,320	17,751 ± 14,447	1858,2 ± 419,8	20,42 ± 7,20	28,65 ± 9,04	117 ± 50,6	70,8 ± 20,9	51,39 ± 25,77	19,83 ± 10,41	911,2 ± 276,7	98,50 ± 36,69	0,3395 ± 0,4634	0,999 ± 0,345	0,759 ± 0,208	18,62 ± 4,85	9,99 ± 1,08	49,40 ± 7,30

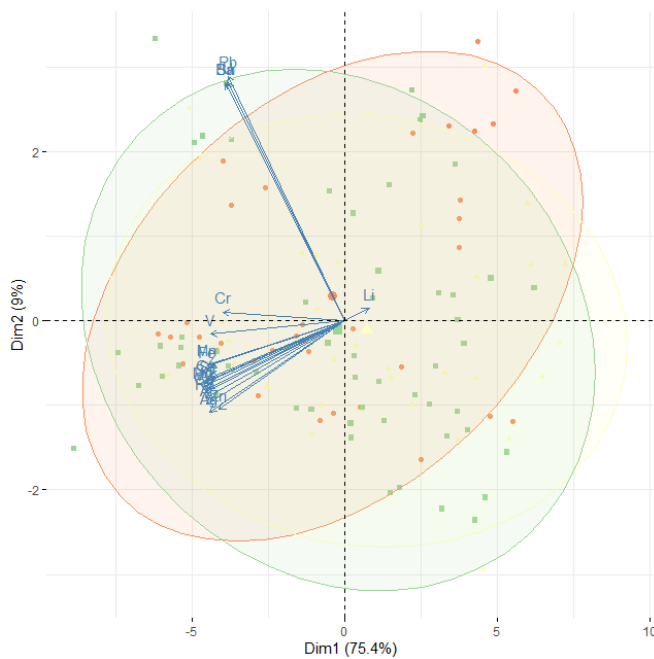
Annexe 9 : Concentrations en ET mesurées dans le système hémal des spécimens d'*H. polii* et *H. tubulosa* collectés sur les trois sites étudiés aux trois périodes de l'année, l'ensemble de ces concentrations est exprimé en mg d'élément par kg de poids sec d'organe avec en **gras et italique** les concentrations relatives aux mesures effectuées sur un individu isolé.



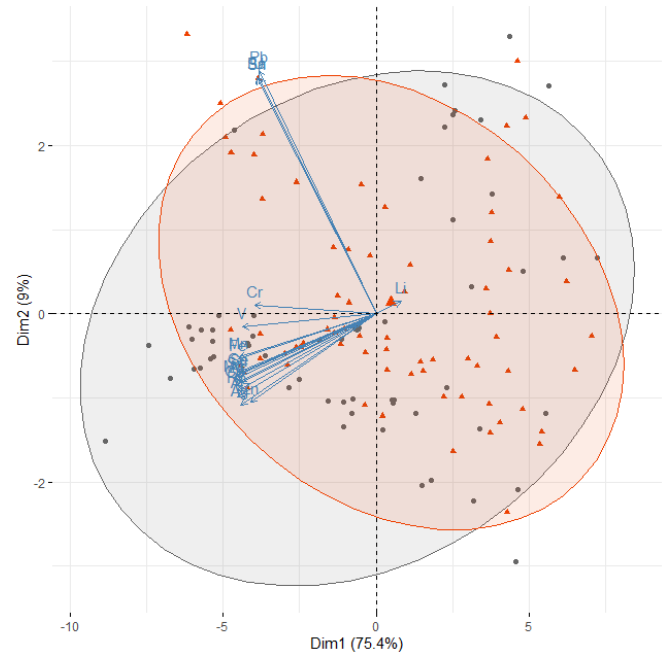
Annexe 10 : Analyse en composante principale (ACP) effectuée afin d'étudier la relation entre les concentrations en ET mesurées et l'organe choisi pour ces mesures (▲ = Paroi du corps, ■ = Muscles mêlés au système ambulacraire, ○ = Arbres respiratoires, + = Système hémal)



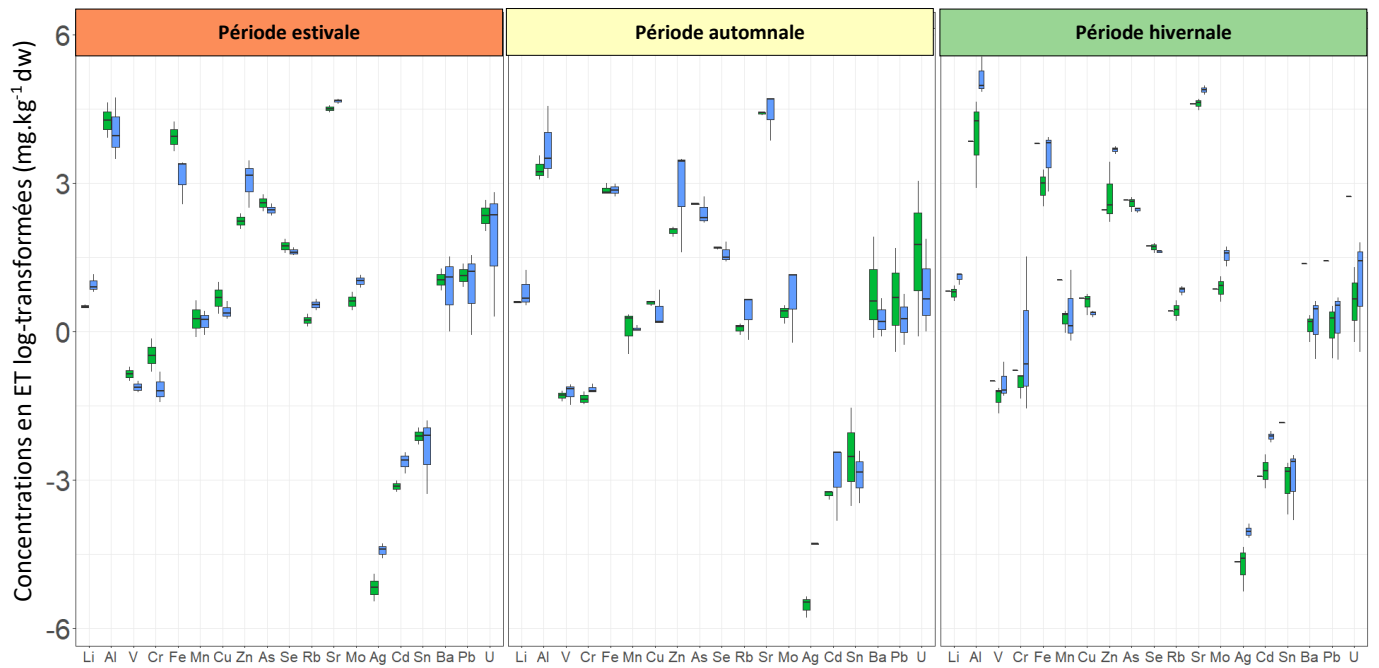
Annexe 11 : Analyse en composante principale (ACP) effectuée afin d'étudier la relation entre les concentrations en ET mesurées dans le corps des holothuries et la station échantillonnée (● = Aquaculture, ▲ = Emissaire, ■ = STARESO)



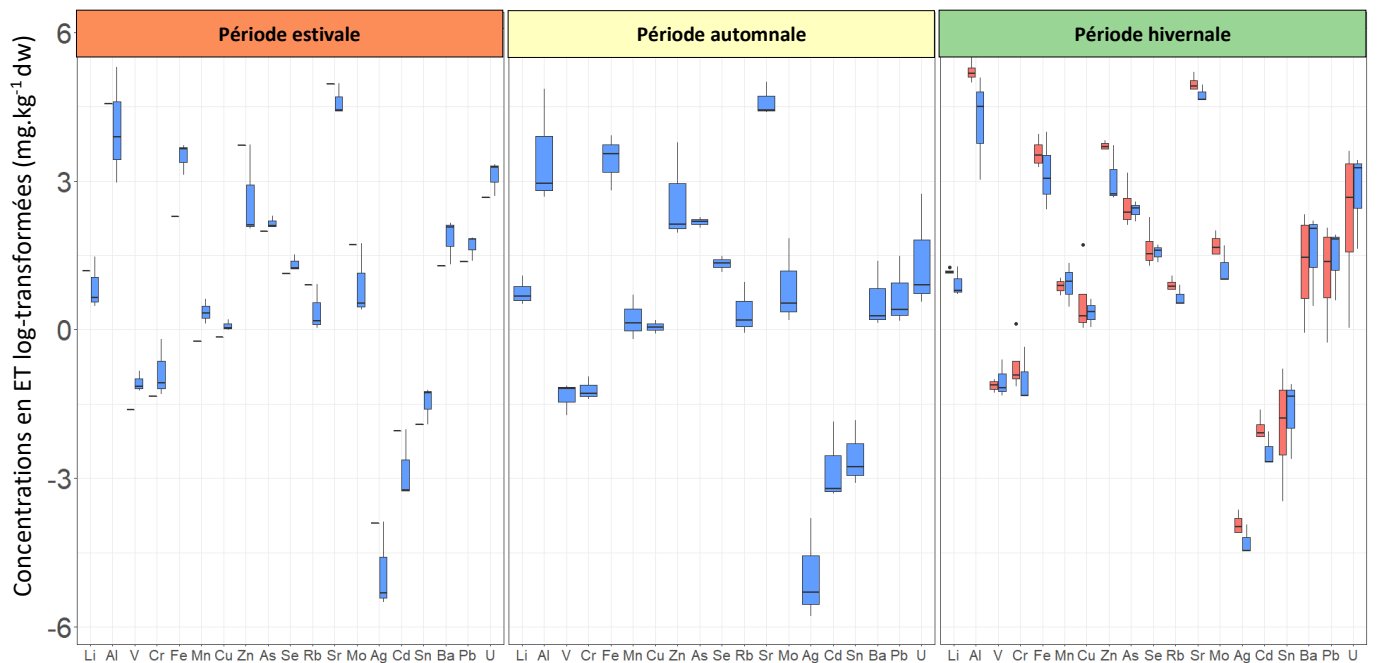
Annexe 12 : Analyse en composante principale (ACP) effectuée afin d'étudier la relation entre les concentrations en ET mesurées dans le corps des holothuries et la période d'échantillonnage (● = Période estivale, ▲ = Période automnale, ■ = Période hivernale)



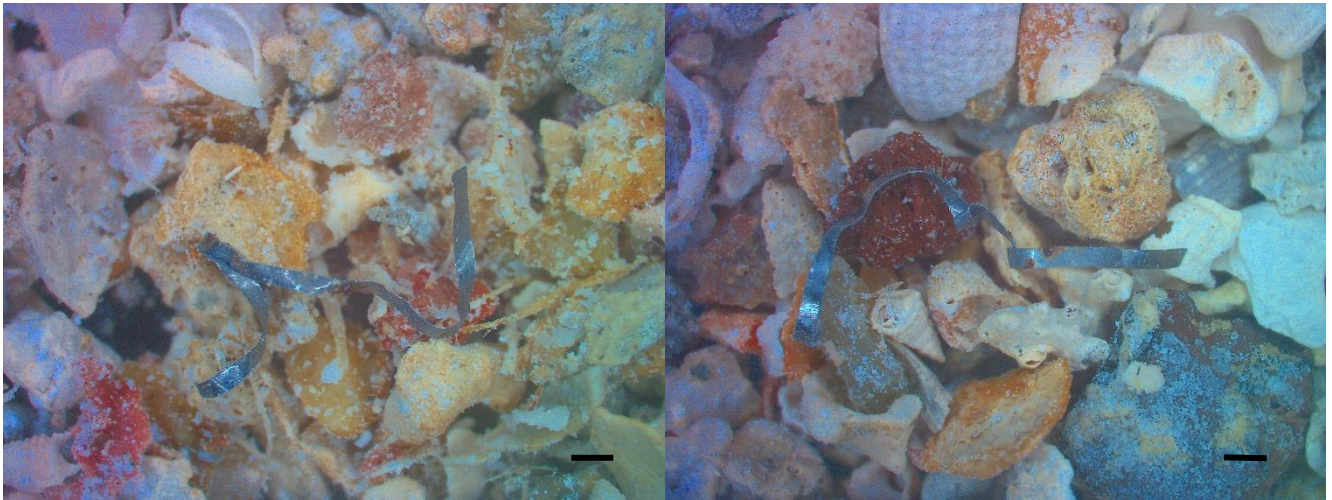
Annexe 13 : Analyse en composante principale (ACP) effectuée afin d'étudier la relation entre les concentrations en ET mesurées dans le corps des holothuries et la station échantillonnée (● = H. polii, ▲ = H. tubulosa)



Annexe 14 : Concentrations en ET log-transformées (mg.kg<sup>-1</sup> dw) présentes dans la paroi du corps des spécimens d'*H. tubulosa* collectés sur les différentes stations d'intérêt ( — = Aquaculture | ■ = Emissaire | ■ = STARESO ) aux différentes périodes



Annexe 15 : Concentrations en ET log-transformées (mg.kg<sup>-1</sup> dw) présentes dans la paroi du corps des spécimens d'*H. polii* collectés sur les différentes stations d'intérêt ( ■ = Aquaculture | — = Emissaire | ■ = STARESO ) aux différentes périodes



*Annexe 16 : Exemples de bandelettes métalliques extraites du tube digestif d'holothuries collectées autour de l'émissaire ( — = 1 mm).*