



Université du Québec
à Rimouski

Cinétique de bioaccumulation des microplastiques de polystyrène et effets sur la condition énergétique du pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) soumis à une exposition long terme

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en océanographie

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences

PAR

© MARIE FARAUT

Septembre 2024

Composition du jury :

Zhe Lu, président du jury, Université du Québec à Rimouski

Youssouf Djibril Soubaneh, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Réjean Tremblay, codirecteur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Patrice Couture, examinateur externe, Institut National de la Recherche Scientifique

Dépôt initial le 28 juin 2024

Dépôt final le 17 septembre 2024

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

REMERCIEMENTS

Ces trois années de maîtrise à l'UQAR-ISMER furent remplies de bonheur, de joie, de passion et surtout de découverte. Ce n'est pas toujours un parcours facile, mais la fin en vaut le détour. Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes remerciements à tous ceux qui m'ont soutenu et encouragé tout au long de la réalisation de ce mémoire.

À ma famille, Papa, Maman, Emilie, merci pour votre soutien et votre patience. Vous avez toujours cru en moi, même dans les moments de doute.

À mes amis, je suis profondément reconnaissante pour votre aide et votre soutien. Merci pour vos nombreux conseils, vos encouragements et votre motivation.

À mon partenaire, Jack, merci pour ta présence, ton soutien et ton aide. Ta présence à mes côtés a été essentielle. Au cours du temps, tu es devenu un pilier important dans ma vie, me permettant de continuer même dans les moments durs.

À mes professeurs, merci pour vos connaissances, vos compétences et votre aide tout au long de ce projet.

À mes financeurs, merci pour votre soutien sans cela, ce projet n'aurait pu voir le jour.

Merci à tous.

RÉSUMÉ

La majorité des plastiques produits dans le monde finissent leurs chemins dans l'environnement marin, suscitant des problèmes potentiels de pollution. Des processus physico-chimiques et biologiques engendrent la dégradation des plastiques en de fines particules, appelées microplastiques (MPs) et nanoplastiques (NPs). Différentes recherches ont été menées sur les conséquences des MPs sur les organismes, mais très peu d'études ont été réalisées sur leurs dynamiques d'ingestion et de dépuraction par l'utilisation de particules marquées. Ce projet met en lumière la préparation de microparticules de polystyrène (PS) radiomarqués au ^{14}C ainsi que l'étude de leur effet et de leur bioaccumulation et biodistribution grâce à l'utilisation de la méthode d'autoradiographie dans le pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) qui présente un intérêt socio-économique dans l'Est du Canada.

Cette étude présente la cinétique de bioaccumulation des MPS- ^{14}CPS d'une taille de $1,3 \pm 0,2 \mu\text{m}$ ainsi que leur potentiel impact sur la condition énergétique des individus exposés. La synthèse des MPS- ^{14}CPS et des MPs non radiomarquées (MPS-PS) a été réalisée afin d'obtenir la taille désirée pour la contamination des organismes. Ensuite, la période d'exposition a été menée durant 3 mois en alimentant les organismes avec un mélange de microalgues et de MPS- ^{14}CPS à des niveaux de concentrations similaires à celle du milieu marin. Durant la période de dépuraction de 3 mois, les organismes ont été nourris avec des microalgues, permettant d'évaluer le taux de dépuraction des MPs par les organismes.

Les résultats montrent une ingestion des MPs dans le système digestif et particulièrement au niveau de l'hépatopancréas, l'intestin et l'anus. Ainsi, une faible bioaccumulation des MPs a été observée durant la période d'exposition. De plus, les organismes ont été capables d'éliminer rapidement les microparticules, 5 jours après la dernière exposition. Nos résultats indiquent que les MPs de polystyrène ne sont pas bioaccumulés dans les autres organes du pétoncle incluant le muscle qui est la partie comestible. Finalement, les microparticules n'ont pas eu d'effet sur la condition énergétique des pétoncles, aucune variation des réserves en glycogène ni des profils lipidiques n'a été observée.

Mots clés : Microplastique, Bioaccumulation, Autoradiographie, Condition énergétique, Pétoncle

ABSTRACT

Most plastics produced worldwide end up in the marine environment, leading to potential pollution problems. Physico-chemical and biological processes degrade plastics into fine particles, known as microplastics (MPs) and nanoplastics (NPs). Several research studies have been carried out on the MPs impacts on organisms, but very few studies have been investigated on their ingestion and depuration dynamics using labelled particles. This project highlights the preparation of ^{14}C -radiolabeled polystyrene microparticles and the study of their effect, bioaccumulation and biodistribution using autoradiography in Atlantic scallops (*Placopecten magellanicus*) of socio-economic interest in Eastern Canada.

This study presents the bioaccumulation kinetics of $1.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$ MPS- ^{14}C PS and their potential impact on the energetic condition of exposed individuals. MPS- ^{14}C PS and non-radiolabeled MPs (MPS-PS) were synthesized to obtain the desired size for organism contamination. The exposure period was then carried out over 3 months, feeding the organisms with a mixture of microalgae and MPS- ^{14}C PS at concentrations similar to those found in the marine environment. During the 3-month depuration period, the organisms were fed microalgae, enabling us to assess the rate of MPs depuration by the organisms.

The results show that MPs are ingested in the digestive system, particularly in the hepatopancreas, intestine, and anus. Thus, little bioaccumulation of MPs was observed during the exposure period. Moreover, the organisms were able to eliminate the microparticles rapidly, 5 days after the last exposure. Our results indicate that polystyrene PMs are not bioaccumulated in the other organs of the scallop, including the muscle, which is the edible part. Finally, the microparticles had no effect on the energy status of the scallops, with no variation in glycogen reserves or lipid profiles observed.

Keywords: Microplastic, Bioaccumulation, Autoradiography, Energy condition, Scallop

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	vii
RÉSUMÉ.....	ix
ABSTRACT.....	xi
TABLE DES MATIÈRES.....	xiii
Liste des tableaux.....	xvi
Liste des figures.....	xviii
Liste des abréviations, des sigles et des acronymes.....	xxi
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1. INTRODUCTION DE BASE DES PLASTIQUES, DES MICROPLASTIQUES ET NANOPLASTIQUES.....	1
1.1 Propriétés des plastiques.....	4
1.2 Dégradation des plastiques.....	6
2. DEVENIR ET TOXICITE DANS LE MILIEU AQUATIQUE.....	10
2.1 Dans l'environnement marin.....	12
2.2 Dans les organismes marins.....	12
3. PREPARATION ET CARACTERISATION DES MPs/NPs.....	13
3.1 Détection des MPs/NPs.....	14
3.2 Caractérisation des MPs/NPs.....	16
3.3 Problèmes d'analyses.....	17
4. EFFETS DES MICROPLASTIQUES SUR LES BIVALVES.....	18
4.1 Effets sur les pétoncles.....	19
5. BIOLOGIE GENERALE DU PETONCLE GEANT.....	20
5.1 Mécanismes de filtration des particules.....	24
5.2 Système digestif.....	25

5.3	Rôles des réserves lipidiques	27
5.4	Rôle du glycogène.....	28
6.	PROBLEMATIQUE.....	30
6.1	Lacunes	31
6.2	Originalité du projet.....	32
7.	OBJECTIF PRINCIPAL.....	32
7.1	Objectifs spécifiques et hypothèse.....	33

CHAPITRE 1 Suivi des microplastiques de polystyrène radiomarqués ingérés par les PÉtoncles géants (*Placopecten magellanicus*) : Évaluation de la bioaccumulation, de la dépuration et de l'impact bioénergétique

1.1	CONTRIBUTION DES AUTEURS.....	35
1.2	RÉSUMÉ EN FRANÇAIS	36
1.3	TRACKING INGESTED RADIOLABELLING POLYSTYRENE MICROPLASTICS IN ATLANTIC SCALLOPS (<i>PLACOPECTEN MAGELLANICUS</i>): BIOACCUMULATION, DEPURATION AND BIOENERGETIC IMPACTS ASSESSMENT	38
1.4	INTRODUCTION	39
1.5	MATERIALS AND METHODS	42
1.5.1	Chemicals and Organisms.....	42
1.5.2	Microplastic synthesis.....	43
1.5.3	Microplastics characterization	43
1.5.4	Long-term exposure and depuration periods	44
1.5.5	Whole-body autoradiography (WBARG).....	45
1.5.6	Accumulation and depuration kinetics.....	45
1.5.7	Determination of lipid concentration	46
1.5.8	Determination of glycogen concentration.....	46
1.5.9	Kinetics of MPS- ¹⁴ CPS particles in water	47
1.5.10	Statistical analysis	47
1.6	RESULTS AND DISCUSSION.....	48
1.6.1	MPs synthesis and characterization	48
1.6.2	Kinetics of MPS- ¹⁴ CPS in water.....	50
1.6.3	Whole body autoradiography (WARG).....	51
1.6.4	MPS- ¹⁴ CPS accumulation kinetics in organs.....	55
1.6.5	Lipids and glycogen concentration	57

1.7 CONCLUSIONS.....	58
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	62
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	68

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Catégories de microplastiques couramment présents dans l'environnement marin (Andrady, 2011)	3
Tableau 2. Distribution spatiale et abondance des microplastiques selon des études scientifiques. Les valeurs sont rapportées au nombre entier le plus proche (Wright et al., 2013).....	11
Table 3: Data from Zetasizer, MEB and cytometer used to characterize the size of MPs/NPs as a function of replicates (Q4, Q5 and Q6).....	49
Table 4. Mean lipid classes composition of the hepatopancreas of exposure and non-exposure scallop MPS-PS-fed and microalgae-fed. Legend: HC: Hydrocarbon, SE-WE: Sterol ester-Wax ester, KET: Ketone, ST: Free sterol, AMPL: Acetone mobile polar lipid and PL: Phospholipid.	57

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Production et décharge de plastiques en millions de tonnes par année (Boucher et al., 2020)	2
Figure 2. Propriétés physiques et chimiques des microparticules de plastique (Lambert et al., 2017).	4
Figure 3. Source de contamination de l'environnement marin des microplastiques primaires et secondaires (Lu et al., 2023).....	9
Figure 4. Dessin général de la coquille du pétoncle géant (A gauche © Marie Faraut) et schéma général des organes internes du pétoncle géant (A droite)..	21
Figure 5. <i>Placopecten magellanicus</i> ciliation du manteau. MEB montrant la ciliation du manteau dans la région postérieure (A). Touffe de longs cils répartis dans la région antérieure du manteau (B). LSC : Longs cils simples. (Beninger et al., 1999).	22
Figure 6. Digramme des palpes labiaux reliés au manteau (M). 1) Courbure dorsale en position d'alimentation normale.....	23
Figure 7. Schéma détaillé du système digestif du pétoncle géant (<i>Placopecten magellanicus</i>) de l'œsophage jusqu'à l'anus.....	26
Figure 8. Samples of polystyrene microspheres analysed by scanning electron microscopy (SEM) with a Hitachi S-4700. Scale bar: 8 µm	48
Figure 9. Samples of polystyrene nano-sphere, scale bar: 1 µm (A) and micro-sphere, scale bar: 5 µm (B) analysed by SEM with a Hitachi S-4700, scale bar: 5 µm.....	49
Figure 10: Sample size (nm) and volume (%) distribution of synthesized MPs/NPs measured with the Zetasizer (Malvern's Nanon ZS). The green lines represent the SD.....	50
Figure 11. Concentration of MP- ¹⁴ CPS (kBq ¹⁴ C.L ⁻¹) in tank water after the first 6-hours of the acute exposure (A) and concentration of MPS- ¹⁴ C (kBq ¹⁴ C.L ⁻¹) after depuration (B). (X SD, n=3).....	51
Figure 12. Autoradiography showing radioactivity concentration (DLU) higher in red and lower in blue during the contamination period.	53

Figure 13. Autoradiography showing radioactivity concentration (DLU) higher in red and lower in blue during the depuration period.	54
Figure 14. MPS- ¹⁴ CPS concentration (kBq.g ⁻¹ ww) in scallop muscle and hepatopancreas as a function of time in weeks. The green line represents the end of the contamination and the beginning of the depuration period.	56
Figure 15. Schéma général des organes internes du pétoncle géant (<i>Placopecten magellanicus</i>) illustrant le trajet des microparticules de plastique	64

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

ALC	Alcools gras libres
AMPL	Acétone mobile dans les lipides polaires
An	Anus
APS	Persulfate d'ammonium
ARG	Autoradiographie
AS	Amyloglucosidase
Br	Branchie
Bq	Becquerel
CCM	Chromatographie sur couche mince
Ch	Charnière
CMC	Carboxyméthylcellulose
CPM	Nombre de coups par minute
DCM	Dichlorométhane
DG	Diglycérides
DLU	Digital light unit
EFSA	European Food Safety Authority
FFA	Acides gras libres

Go	Gonade
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HC	Hydrocarbures
Hp	Hépatopancréas
In	Intestin
KT	Cétones
LP	Palpe labiale
Ma	Manteau
MEB	Microscopie électronique à balayage
MPs	Microplastiques
MPS-PS	Microplastiques de polystyrène non marqué
MPS-¹⁴CPS	Microplastiques de polystyrène marqués au ¹⁴ C
Mt	Tonnes métriques
Mu	Muscle
NPs	Nanoplastiques
Oe	Œsophage
P	Palpes
PBS	Tampon phosphate salin et triton
PCB	Polychlorobiphényles
PE	Polyéthylène

PE-HD	Polyéthylène haute densité
PE-LD	Polyéthylène basse densité
PES	Polyéthylène sulfaté
PET	Polyéthylène téréphtalate
PL	Phospholipides
PP	Polypropylène
PS	Polystyrène
PUR	Polyuréthane
PVC	Polychlorure en vinyle
PVP	Polyvinylpyrrolidone
Re	Rectum
SE-WE	Ester de Stérol et Ester de cire
SPI	Société de l'industrie du plastique
ST	Stérols
St	Styleret cristallin
TAG	Triglycérols
UV	Rayons ultra-violet

INTRODUCTION GÉNÉRALE

L'ingestion des microparticules de plastique est bien connue chez les invertébrés marins, mais la bioaccumulation et la biodistribution à l'intérieur de leurs organes restent peu étudiées. Ce mémoire contribue à améliorer la compréhension de l'impact des microparticules de plastique de polystyrène chez le pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) qui représente une espèce à intérêt socio-économique importante pour l'Est du Canada.

1. INTRODUCTION DE BASE DES PLASTIQUES, DES MICROPLASTIQUES ET NANOPLASTIQUES

Le mot « plastique » dérive du grec ancien « plasticos » (Larson, 2015), qui désigne la capacité d'une matière à être modulée et moulée suite à de fortes températures. C'est en 1950 que l'ère du plastique est initiée avec l'invention de la bakélite (Jain et al., 2023) par Léo Hendrik Baekeland (Rangel-Buitrago et al., 2022). L'association de polymères synthétiques ou naturels à divers additifs permet de créer un gradient de divers matériaux de plastique. La modulation de la chimie et de l'organisation des polymères qui constituent la matière permet une palette considérable de propriétés d'usage qui sont utilisées dans de multiples secteurs tels que l'emballage, la construction, l'automobile, l'électronique ou encore le médical (Galgani et al., 2020).

Depuis l'invention de cette nouvelle matière, la production de plastique ne cesse d'accroître face à une consommation globale toujours plus importante, qui fait en sorte que le plastique est maintenant une matière omniprésente dans l'environnement. En 2010, ce sont 275 millions de tonnes métriques (Mt) de plastiques qui ont été produits dans 192 pays (Jambeck et al. 2015). Au cours des 50 dernières années, la production de polymères de

plastique a plus que doublé (Walker et Fequet, 2023) dans le monde. Elle est actuellement estimée à 415 millions de tonnes métriques par an (Mt/an) (Boucher et al., 2020) (Figure 1). La présence de divers plastiques dans l'environnement aquatique a été considérée depuis deux décennies comme une préoccupation environnementale mondiale du fait de leur capacité à persister dans l'environnement (Barnes et al., 2009). Les plastiques représenteraient entre 4,8 à 12,7 Mt de déchets dans les océans (Jambeck et al. 2015). En 2015, environ 6 300 millions de tonnes de déchets ont été générées, dont environ 9 % ont été recyclés, 12 % ont été incinérés, et 79 % se sont accumulés dans les décharges ou dans l'environnement naturel (Geyer et al. 2017). Finalement, en 2020, la récente étude menée par Boucher et al. (2020) décrit que 3 %, donc 12 Mt/an de tous les plastiques que nous produisons se déchargent chaque année dans les océans (Figure 1).

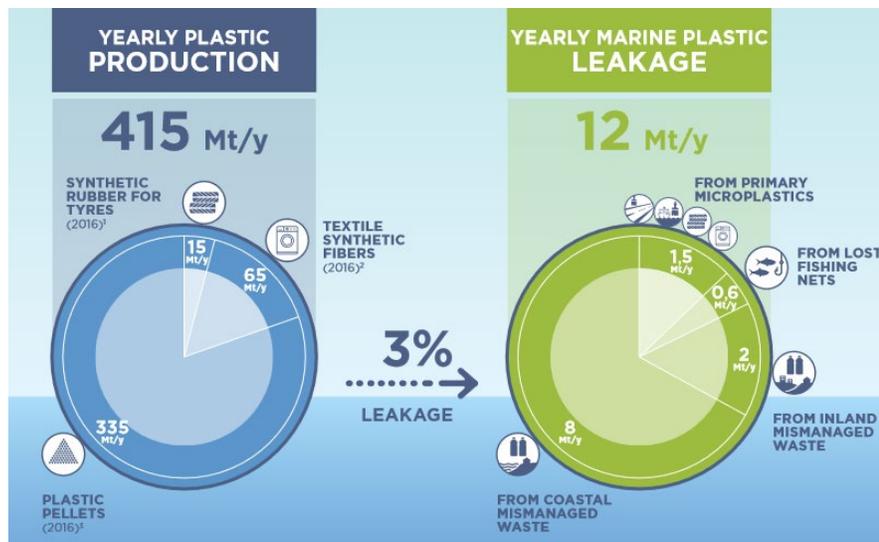


Figure 1. Production et décharge de plastiques en millions de tonnes par année (Boucher et al., 2020)

Les plastiques vont être classés en six catégories en fonction de leur composition chimique et de leur présence dans l'écosystème : le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP), le polystyrène (PS), le polyuréthane (PUR), le polychlorure de vinyle (PVC) et le polyéthylène téréphtalate (PET) (Lu et al., 2023) (Tableau 1). Au total, ces plastiques représentent environ 90 % de la production mondiale totale (Andrady et Neal, 2009) où le PE, le PP et le PS sont les trois polymères les plus fréquemment observés dans

l'environnement marin et les plus utilisés dans la vie quotidienne (contenant en plastique, sac en plastique...) (Hahladakis et Iacovidou, 2018). Le polystyrène est représenté entre 1950 et 2015 par 4,2 milliards de tonnes métriques (MT) (Saïdo et al., 2020).

Tableau 1. Catégories de microplastiques couramment présents dans l'environnement marin (Andrady, 2011)

Plastique	Densité spécifique $\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	Pourcentage de production	Produits
Polyéthylène base densité (PEDB)	0.91 – 0.93	21 %	Sacs en plastique, anneaux en plastique de cannette, bouteilles, filets, pailles
Polyéthylène de haute densité (PEHD)	0.94	17 %	Pots à lait et à jus
Polypropène (PP)	0.85 – 0.83	24 %	Corde, capsules de bouteilles, filets
Polystyrène (PS)	1.05	6 %	Ustensiles en plastique, contenants alimentaires, flotteurs, boîtes à appâts, gobelets en mousse
Nylon		< 3 %	Filets et pièges
Polyester thermoplastique	1.37	7 %	Bouteilles de boissons en plastique
Chlorure de polyvinyle (PVC)	1.38	19 %	Film plastique, gobelets
Polyéthylène téréphtalate	1.30-1.50		Emballages de bouteilles d'eau

En raison de leur extrême durabilité et de leur stabilité, qui découle principalement de leur structure polymère, les plastiques ont su retenir l'attention (Rivard et al., 1995). Des chercheurs du monde entier présentent leurs recherches sur l'ubiquité des microplastiques dans les sols, l'eau et l'atmosphère ainsi que les effets sur les organismes marins et la santé humaine (He et al., 2022). Les investigations menées en laboratoire s'appuient sur une large gamme de microplastiques ou nanoplastiques. Certains laboratoires utilisent des microparticules préalablement produites, tandis que d'autres préparent leurs propres microparticules. Le processus de production de microplastiques est complexe et exigeant, exposant ainsi une diversité de biais potentiels, tels que la concentration des réactifs et des solvants utilisés au cours de la préparation (Pu et al., 2013).

1.1 Propriétés des plastiques

Les plastiques ont des propriétés physiques telles que la taille, la forme et la cristallinité des particules et des propriétés chimiques comme leur composition (surface chimique), le type de polymères et les additifs (Figure 2).

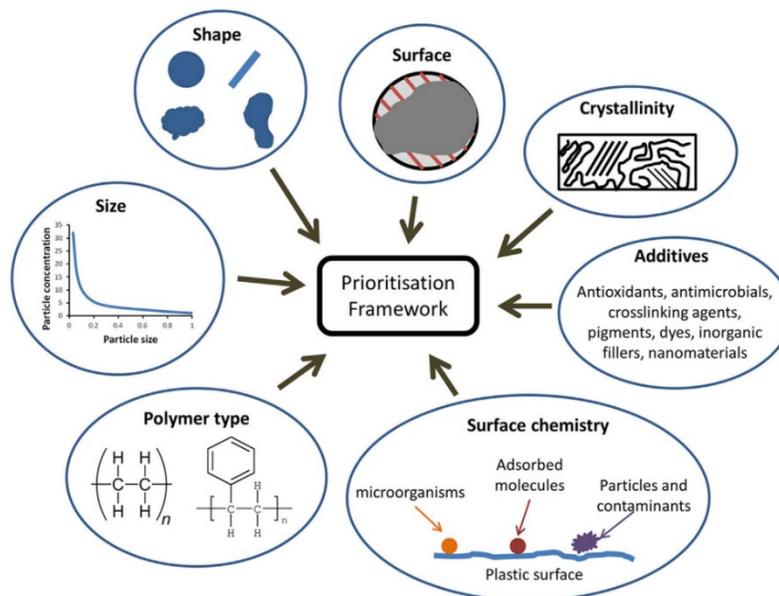


Figure 2. Propriétés physiques et chimiques des microparticules de plastique (Lambert et al., 2017).

1.1.1 Les propriétés physiques

Les propriétés physiques sont la taille, la forme, la surface et la cristallinité des microparticules (Figure 2) qui seront expliquées subséquemment.

Tout d'abord, la taille des particules joue un rôle crucial dans la détermination de l'interaction entre les particules et les organismes (Lambert et al., 2017). En effet, la détérioration et le vieillissement des particules peuvent diminuer leur taille en fragments plus petits, ce qui entraîne une plus grande diversité de tailles biodisponibles. Les microparticules généralement trouvées dans le milieu marin ont des densités allant de 0,8 à 1,4 g·cm⁻³ (Hidalgo-Ruz et al., 2012).

Comme pour la taille des microparticules, la forme va jouer un rôle dans la détermination et la relation des particules avec les organismes dans leur environnement (Wright et al., 2013). Communément, les microplastiques sont souvent classés en différentes catégories de forme appelées fragments, fibres, films, mousse et billes (Burns and Boxall, 2018). Plusieurs études ont étudié la morphologie des polymères pour comprendre leurs toxicités dans l'environnement aquatique. Par exemple, Lambert et al. (2017) observent que la toxicité des polymères peut être différente en fonction de leurs tailles ou de leurs formes. Ensuite, la surface des particules augmente avec la diminution de la taille des particules. En outre, les particules nanométriques devraient induire des effets toxicologiques comme des arrêts de croissance, plus importants que les microplastiques en raison de leur plus grande surface (Van Hoecke et al., 2008). Finalement, la cristallinité des microparticules correspond à l'enchaînement de polymères plus organisés et liés. Les propriétés physiques telles que la densité et la perméabilité vont être influencées par cette caractéristique. La densité et la perméabilité vont respectivement déterminer l'hydratation et le gonflement des particules (Güven et al., 2017).

1.1.2 Les propriétés chimiques

Les propriétés chimiques des particules englobent plusieurs aspects, notamment les additifs qui leur sont incorporés, ainsi que leur structure de surface (Figure 2), qui sera détaillée par la suite.

Dans un premier temps, les types de polymères et additifs vont être associés à la toxicité des plastiques (Muncke, 2009) causée par la lixiviation de produits chimiques (monomère, substance de départ, solvant ou catalyseur) ainsi que des additifs (antioxydant, biocide, et plastifiant). Par exemple, le polystyrène est considéré comme une source cancérigène causée par les oligomères de styrène (monomère) qui vont être lessivés dans l'eau ambiante et dans les sédiments (Kwon et al., 2015).

Finalement, la composition chimique ou la surface chimique des particules sera aussi impactée par le vieillissement dans le milieu dans lequel elles évoluent. En effet, les processus de dégradation (physico-chimique) engendrent des fissurations à la surface des plastiques (Lambert et al., 2013). Ces fissures rendent accessibles les surfaces de plastique aux micro-organismes (Roy et al., 2008). Ce phénomène, aussi nommé biofilm (Van Cauwenberghe et al., 2015) peut également jouer un rôle dans la densité des particules, celles-ci verraient leur densité augmenter, engendrant un transport vers le fond marin avec un éventuel impact sur les organismes benthiques (Kowalski et al., 2016). L'ensemble de ces propriétés physico-chimiques seront modifiées lorsque les microparticules se retrouvent dans l'environnement marin. En effet, ils vont subir différents processus menant à la dégradation/fragmentation changeant alors leurs propriétés.

1.2 Dégradation des plastiques

Les plastiques représentent environ 80 à 85 % des déchets marins (Auta et al., 2017), et leur accumulation et dégradation provient de différentes sources terrestres et océaniques. Les sources terrestres représentent à elles seules 80 à 90 % des contaminations, contrairement

aux sources océaniques qui ne représentent que 10 à 20 % (Osman et al., 2023). Les plastiques non recyclés subissent différents processus de dégradation et de fragmentation liés à leur environnement (Wang et al., 2019). Il existe quatre mécanismes divers permettant la réduction des plastiques : a) La photodégradation, b) La dégradation thermooxydative, c) La dégradation hydrolytique, d) La biodégradation par des micro-organismes. Chacun de ces différents processus va permettre de dégrader et de fragmenter les polymères de plastiques en de plus fines particules de plastiques, réduisant ainsi leur taille, leur forme, leur densité et leur flottabilité (Van Cauwenberghe et Janssen, 2014).

Le processus de photodégradation résulte de la dégradation par absorption de photons issus de la lumière du soleil avec le rayonnement infrarouge, la lumière visible et les ultraviolets (UV) qui engendrent l'oxydation et l'hydrolyse en de fines particules (Auta et al., 2017). Ce processus cause généralement des ruptures irréversibles sur les chaînes de polymères des plastiques. Une étude de Yousif et Haddad (2013) décrit que les rayons UV provoquent aussi une dégradation photooxydative qui entraîne la rupture des chaînes de polymères réduisant ainsi leur poids moléculaire.

La dégradation thermooxydative est définie comme une réaction chimique contrôlée par la pression d'oxygène et la température. La température joue un rôle de scission sur les chaînes de polymères, venant ainsi rompre l'assemblage aléatoire des structures pour réduire les chaînes de polymères en de plus petites molécules (Cameron et Kerr, 1968). L'oxydation causée par l'air provoque de même une scission des chaînes des polymères impactant la masse moléculaire des microparticules, causant une augmentation de la fragilisation entre les atomes (Freymond et al., 2022).

La dégradation hydrolytique utilise l'action de l'eau pour rompre les liaisons chimiques des polymères (Kukut et al., 2013). Ce mécanisme de dégradation peut être long et prendre plusieurs mois, dépendamment du nombre de polymères ou des plastifiants utilisés lors de la fabrication (Renard et al., 2004).

Quant à la biodégradation, c'est un mécanisme de détérioration des déchets plastiques par des micro-organismes tels que les bactéries, les champignons ou les algues (Bonhomme et al., 2003). Une étude de Ho et al. (2018) démontre que le PS est une source de carbone pour les micro-organismes présents dans les océans. Toutefois, il est rapporté que le poids moléculaire élevé du PS limite son utilisation comme substrat pour les réactions enzymatiques.

Dans l'environnement marin, l'eau, l'oxygène, les UV et les micro-organismes sont les principaux agents initiant la dégradation par des réactions d'hydrolyse, d'oxydation, ou via le gonflement du plastique (Galgani et al., 2020). L'ensemble de ces facteurs influencent continuellement la dégradation des polymères (Córdova et al., 1999). À la suite de la dégradation/fragmentation du plastique, de fines particules de polymères sont obtenues. Ces microparticules ou nanoparticules sont nommées microplastiques (MPs, taille entre 1 μm et 5 mm) (Thompson et al., 2004) ou nanoplastiques (NPs, taille $> 1 \mu\text{m}$). Les particules non visibles à l'œil nu, similaires au microplancton, sont caractérisées selon leurs tailles, leurs densités, leurs formes et leurs distributions.

1.2.1 Impacts des MPs

Deux catégories de MPs sont retrouvées dans l'environnement. Les microparticules primaires et les microparticules secondaires. Les microparticules primaires sont produites en laboratoire, principalement pour les domaines des soins personnels, tels que les crèmes et autres produits cosmétiques (Cheung et Fok, 2017). Ces microsphères entrent dans l'environnement directement à échelle microscopique, tandis que les MPs secondaires résultent de la dégradation et fragmentation du plastique (Wang et al., 2019) (Figure 3).

Microplastiques

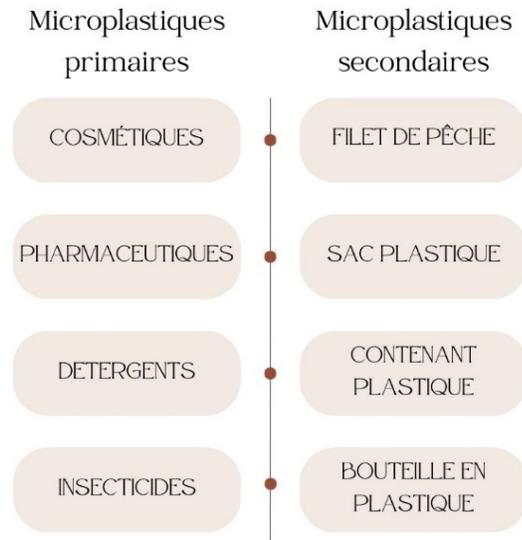


Figure 3. Source de contamination de l'environnement marin des microplastiques primaires et secondaires (Lu et al., 2023).

La biodisponibilité des microparticules dans le fond marin et les sédiments génère un impact potentiel sur les espèces benthiques (Koelmans et al., 2017), tel qu'observé chez les crabes (Piarulli et al., 2019) et les éponges (De Marchi et al., 2022). Cependant, lorsque les microparticules sont en suspension dans la colonne d'eau, elles vont aussi avoir un impact sur différentes espèces marines pélagiques que sont les espèces planctoniques et les poissons, mais également les organismes s'alimentant par filtration comme les bivalves (Shim et Thomposon, 2015). Les bivalves suscitent un intérêt scientifique accru en raison de leur capacité unique à filtrer activement l'eau environnante pour se nourrir. Ce système de nutrition expose les organismes aux microparticules présentes dans leur habitat aquatique (Bringer et al., 2020), offrant ainsi une opportunité d'étude privilégiée sur l'ingestion, la bioaccumulation et l'éjection de ces polluants (Li et al., 2015). Le système de filtration de ces organismes permet une analyse de leurs interactions avec les microparticules, éclairant ainsi notre compréhension des processus de bioaccumulation et de rejet des microparticules

(Shumway et al., 2023). Leur présence dans des habitats diversifiés, depuis les estuaires jusqu'aux eaux côtières, en fait des candidats idéaux pour évaluer la distribution et l'impact des particules de plastique dans différents milieux aquatiques.

1.2.2 Impacts des NPs

Le résultat de la dégradation des microparticules génère une accentuation de la fragmentation des microparticules en des nanoparticules (Andrady, 2011; Koelmans et al., 2015). Ces particules nanométriques nommées nanoplastiques ont une taille inférieure à 1 μm (Hartmann et al., 2019). Leur faible taille suscite un intérêt pour les chercheurs, spécialement dans l'impact toxicologique des particules sur l'environnement (Wang et al., 2021) et les organismes marins (Shi et al., 2024). Ces particules auraient la capacité de traverser les barrières biologiques gastro-intestinales et hématoencéphaliques des moules, des huîtres et des oursins (Peng et al., 2020). Toutefois, ces recherches sont limitées par un manque de connaissances important causé par des limitations technologiques dues à leur faible taille. Des nouvelles méthodologies, telles que le marquage au ^{14}C peuvent aider à combler ces lacunes (Al-Sid-Cheikh et al., 2018; Soubaneh et al., 2023).

2. DEVENIR ET TOXICITE DANS LE MILIEU AQUATIQUE

La large distribution de taille, mais également la diversification de forme, fournit aux microplastiques la capacité d'être biodisponibles dans tous les habitats marins (Hidalgo-Ruz et al., 2012). Allant des plages à la colonne d'eau et aux sédiments (Thompson et al., 2004 ; Lattin et al., 2004 et Claessens et al., 2011), les microplastiques sont partout dans le monde (Wright et al., 2013). Ils ont été observés dans les environnements les plus éloignés, comme certaines îles non anthropisées (do Sul et al., 2009) (Tableau 2).

Tableau 2. Distribution spatiale et abondance des microplastiques selon des études scientifiques. Les valeurs sont rapportées au nombre entier le plus proche (Wright et al., 2013).

Location	Maximum de concentration observé	Références
Plage, Angleterre	8 particules kg ⁻¹	(Thompson et al., 2004)
Sédiment subtidal, Floride	214 particules L ⁻¹	(Graham and Thompson, 2009)
Sédiments portuaires, Suède	50 particules L ⁻¹	(Norén, 2007)
Sédiments du plateau continental, Belgique	1 mg kg ⁻¹	(Claessens et al., 2011)
Îles de la Frise orientale, Allemagne	621 particules 10 g ⁻¹	(Liebezeit and Dubaish, 2012)

Tous les rejets plastiques déversés dans l'environnement marin flottent et sont entraînés sur de grandes distances par les courants marins (Gregory, 2009). En outre, la densité de certains débris de plastique (Tableau 1) joue également un rôle dans le ruissellement et la suspension des microparticules. Avec leurs différentes masses molaires, certaines de ces particules vont rester à la surface alors que d'autres particules plus denses vont couler sur le fond océanique (Xi et al., 2022). L'accumulation de microparticules de toute catégorie de plastiques suscite de vives inquiétudes parmi les scientifiques et le grand public quant aux risques de l'accumulation des polymères dans les habitats et organismes marins (Bellakhal et al., 2023) et au transfert de contaminant dans la chaîne alimentaire. Ces particules dans l'environnement adsorbent à leur surface des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), des polychlorobiphényles (PCB) et des métaux traces, qui peuvent se bioaccumuler dans le système digestif causant des problématiques écotoxicologiques dans l'environnement et sur les organismes (Teuten et al., 2009).

2.1 Dans l'environnement marin

La présence généralisée des microparticules de plastique affecte l'intégralité des compartiments écosystémiques. L'omniprésence des microparticules suscite des préoccupations considérables de pollution et de contamination en raison de leurs implications potentielles sur la survie des écosystèmes. Dans le cadre d'une étude réalisée sur les plages d'Auckland, Bridson et al. (2020) ont déterminé que l'ensemble des sites étudiés (39) étaient contaminés avec une abondance moyenne de $459 \text{ particules} \cdot \text{m}^{-2}$ et un maximum atteint de $2\ 615 \text{ particules} \cdot \text{m}^{-2}$. Une récente étude de Maghsodian et al. (2022) sur la pollution des sédiments et des organismes dans des forêts de mangroves a permis de déterminer que les sédiments des mangroves étaient susceptibles de capturer les microplastiques, comme le polypropylène, le polyéthylène, le polystyrène et le polyéthylène téréphtalate.

2.2 Dans les organismes marins

Les organismes marins, tels que les bivalves (moules, huîtres, pétoncles) ou encore les poissons d'élevage ou ceux pêchés, sont l'un des premiers maillons pouvant interagir avec les microplastiques et nanoplastiques dans l'environnement. En effet, il a été prouvé que les organismes pouvaient ingérer les MPs et NPs et leurs produits de dégradation comme les additifs (Baechler et al., 2020) provoquant des troubles physiologiques (réduction de l'appétit, diminution des réserves énergétiques...). Selon l'étude de Browne et al (2008), les moules auraient la capacité d'ingérer, de bioaccumuler et de transférer les microplastiques (3,0 ou 9,6 microns) dans leurs intestins. Il a été observé que les MPs avaient une forte persistance, durant plus de quarante-huit jours, les particules ont été présentes dans le corps des organismes.

3. PREPARATION ET CARACTERISATION DES MPs/NPs

La présence de MPs et de NPs représente une menace importante, encore mal connue, pour la faune et la flore aquatiques. Ainsi, des études en laboratoire, utilisant des MPs et NPs synthétisés, permettent de reproduire les conditions naturelles et de simuler les réponses physiologiques des organismes marins. La synthèse des MPs/NPs, connue sous le nom de « polymérisation », permet de produire des polymères de plastique de taille nanométrique et micrométrique à partir d'enchaînements de molécules de monomères (Jinhua and Guangyuan, 2014) qui vont subir des réactions d'addition ou de condensation. Cette méthode de polymérisation a été proposée pour la première fois par Barrett (1973) et fut optimisée par Ugelstad et al. (1980), qui ont participé à la création de particules de faible taille. Ober et al. (1985) ont également mis au point la synthèse de polymères monodispersés d'une taille entre 2 à 10 nm permettant de grands progrès dans ce domaine (Lok and Ober, 2017; Paine et al., 1990). Finalement, l'amélioration et la préparation des microparticules et nanoparticules ont permis à la majorité des études de se concentrer sur des microparticules comprises entre 0,3 et 5 μm (Eriksen et al., 2013) car la synthèse et la caractérisation de plus petites particules de faible concentration et de densité, comme les nanoplastiques ($> 1 \mu\text{m}$) restent encore difficiles à mettre en place.

Dans la plupart des cas expérimentaux, selon Ha et al. (2010), les protocoles utilisent une solution composée de 25 ml d'éthanol et de 3 ml d'eau selon un rapport éthanol/eau de 25/3 (v/v). La quantité de styrène (St) est maintenue à 2,2 ml (2 g). La concentration de Polyvinylpyrrolidone (PVP) dans ces expériences est généralement de 0,5 % par rapport au styrène. En ce qui concerne l'initiateur, le Persulfate d'ammonium (APS), sa concentration varie de 1 à 50 mM selon les expériences. La polymérisation en dispersion s'effectue dans un flacon. Dans un premier temps, 25 ml d'éthanol, de méthanol ou de l'i-propanol et 0,01 g de PVP sont placés dans le flacon. Ensuite, 2,2 ml de monomère de styrène (St) sont ajoutés, et le flacon est ensuite placé dans un bain d'huile maintenu à une température constante de 70 °C. Le mélange est agité vigoureusement à l'aide d'une barre magnétique. Une quantité préalablement pesée d'initiateurs doit être dissoute dans 3 ml d'eau et ajoutée au flacon. La

réaction dure entre 18 et 20 heures avec une agitation adéquate. Une fois la polymérisation terminée, le liquide est centrifugé à 3500 tours/minute puis lavé plusieurs fois avec de l'éthanol.

Dans ce mémoire, nous nous sommes consacrés à l'optimisation des particules de PS proposée par Ha et al. (2010). De ce fait, plusieurs expérimentations ont été testées pour moduler la taille des particules et obtenir des MPs compris dans un gradient de 1 à 2 μm comparativement aux expériences de Ha et al. (2010), qui ont obtenu des NPs/MPs de 800 à 2 000 nm. Les proportions d'éthanol et d'eau ont été expérimentées, et du dichlorométhane (DCM) a été ajouté pour augmenter la solubilité du styrène dans le milieu durant le processus de préparation. Le styrène (St), le PVP et l'APS ont été utilisés comme décrits dans la préparation générale des MPs et NPs. De plus, les particules ainsi préparées ont été soumises à un marquage au carbone 14 (^{14}C), le styrène ayant été remplacé par du styrène marqué au ^{14}C . Ce procédé de marquage permet de tracer, via l'utilisation de la technique d'autoradiographie, la biodistribution des microparticules au sein des organismes. La fabrication des MPs/NPs est extrêmement complexe et délicate en raison des nombreuses variables expérimentales qui y sont impliquées, comme la composition chimique, les conditions de synthèse et les paramètres de traitement, qui ont un impact direct sur les caractéristiques finales.

3.1 Détection des MPs/NPs

Des incertitudes persistent quant aux effets réels des micro-nanoparticules sur les organismes marins dans des conditions écologiques pertinentes. Pour combler ces doutes, dans la littérature, deux méthodes de quantification des micro-nanoparticules de plastique sont majoritairement utilisées, la méthode de la coloration à fluorescence et la méthode d'autoradiographie utilisant le marquage au ^{14}C des micro-nanoparticules. La méthode à fluorescence constitue un moyen rapide et peu coûteux pour quantifier les MPs. Elle utilise le colorant rouge du Nil, qui est un colorant fluorescent (Liu et al., 2021). Le colorant est adsorbé sur les surfaces plastiques et les rend fluorescentes lorsqu'elles sont exposées à la

lumière bleue. L'émission de fluorescence est détectée en utilisant une simple photographie avec un filtre orange. L'analyse d'images permet d'identifier et de compter les particules fluorescentes (Maes et al., 2017). L'inconvénient de cette méthodologie, c'est la difficulté de détecter de faibles concentrations de plastiques, souvent de l'ordre du mg L^{-1} (Al-Sid-Cheikh et al., 2018) ne permettant pas de démontrer l'impact à des concentrations réelles de l'environnement. La méthode d'autoradiographie du corps entier (whole body autoradiography) est une technique utilisée pour visualiser la biodistribution d'un composé chimique radiomarké dans les tissus d'un organisme (Rouleau et al., 2003). Elle permet de détecter des particules marquées de différentes tailles, allant des microparticules aux nanoparticules ainsi que de faible concentration dans un corps. La méthode utilisée dans la recherche de ce mémoire est adaptée du récent article de Soubaneh et al. (2023). Les organismes sélectionnés sont délicatement retirés de leurs coquilles et inclus dans un gel de carboxyméthylcellulose (CMC), puis rapidement congelés dans de l'azote liquide. Finalement, une série de coupes de tissus de $50 \mu\text{m}$ d'épaisseur est prélevée tous les $0,75 \text{ mm}$ à l'aide d'un cryomicrotome. Les sections sont alors lyophilisées pendant 36 heures à -25°C et exposées pendant 1 semaine sur des écrans phosphorescents. Les écrans phosphorescents contiennent des cristaux qui libèrent des électrons piégés lorsqu'ils sont exposés à un laser spécifique, et ces électrons libérés sont détectés et transformés en images numériques. Les autoradiogrammes obtenus à l'aide d'un autoradiographe sont ensuite traités avec le logiciel OptiQuant permettant la visualisation des particules radiomarkées (Rouleau et al., 2003). Toutefois, pour mener des travaux impliquant des substances radioactives, il est indispensable de disposer d'équipements et d'installations spécialisés. Cela comprend la mise en œuvre de protocoles rigoureux pour entrer et sortir du laboratoire, ainsi que l'utilisation d'équipements volumineux comme le cryomicrotome, qui nécessitent un espace dédié dans le laboratoire.

La littérature rapporte que les microparticules et nanoparticules de plastique pouvaient interagir avec différents organes chez les pétoncles, comme mis en évidence dans de récents travaux (Al-Sid-Cheikh et al., 2018; Soubaneh et al., 2023) grâce à la méthode d'autoradiographie qui permet de suivre la biodistribution des particules dans le corps des

organismes. Al-Sid-Cheikh et al. (2018) ont exposé des pétoncles (*Pecten maximus*) aux nanoparticules de polystyrène marquées au ^{14}C (contamination proche de l'environnement $< 15 \mu\text{gL}^{-1}$) avec des NPs de 24 à 250 nm qui étaient pulsés durant 6 heures, provoquant une exposition intense. L'ingestion des particules de NPs a été constatée sur les branchies, hépatopancréas, gonade, muscle, rein, intestin et anus des organismes. Ces auteurs suggèrent que la taille ainsi que la forme des particules ont un impact différent lors de l'ingestion et que les particules de faibles tailles pourraient être transloquées à travers les membranes épithéliales des organes, ce qui signifie qu'elles seraient capables de traverser les tissus des organes. L'étude de Soubaneh et al., 2023 menée en laboratoire a permis d'évaluer la translocation, la bioaccumulation, la biodistribution et la dépuration des particules de NPs de polystyrène radiomarqués au ^{14}C de 325 ± 121 nm lors d'une exposition courte de 6 heures et d'une exposition longue de 2 semaines sur le pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*). Les résultats de cette expérience indiquent que les particules de taille nanométrique ne se bioaccumulent pas dans les tissus des pétoncles, même si elles sont ingérées et transportées. Les NPs étaient principalement localisées au niveau du système digestif (hépatopancréas et intestin) et du système de dépuration (rectum et anus). Cependant, aucune particule n'a été détectée dans le muscle adducteur, contrairement aux observations observées dans l'étude d'Al-Sid-Cheikh et al. (2018), ce qui signifie que les particules n'ont pas été capables de transloquer les barrières biologiques des tissus de l'organisme. Finalement, une élimination rapide en 48 heures des NPs a été observée par les organismes, ce qui suggère la présence d'un mécanisme de dépuration actif des particules sans valeur nutritionnelle comme le plastique de polystyrène. La technique de marquage associée à la méthode d'autoradiographie utilisée dans les deux études précédentes montre que le marquage au ^{14}C permet un suivi des très fines particules dans l'ensemble des organes des organismes, rendant ainsi possible de décrire la bioaccumulation, la biodistribution et le transfert des particules.

3.2 Caractérisation des MPs/NPs

Différentes méthodes sont employées pour caractériser les particules, telles que le comptage manuel des microparticules optiques, qui est l'une des méthodes les plus

couramment utilisées, bien qu'elle puisse être biaisée par la subjectivité de l'opérateur (Fu et al., 2020). La caractérisation des particules peut également être effectuée à l'aide de la microscopie électronique à balayage (MEB), la microscopie électronique à transmission (MET) et la microscopie à force atomique (AFM). Ces méthodes, MEB, MET et AFM permettent de fournir des images claires et à haute résolution des MPs et NPs. Mais pour caractériser leur composition chimique, ces méthodes doivent être combinées à des techniques de spectroscopie, telles que la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) et la spectroscopie Raman (Patchaiyappan et al., 2020). L'analyse par la FTIR et la spectroscopie Raman peuvent caractériser les liaisons chimiques spécifiques des MP, mais leur utilisation pour quantifier les MP peut être difficile (Fu et al., 2020). La chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse (GC-MS) offrent une alternative pour mesurer les concentrations de monomères ou d'additifs dans les MP, mais ces méthodes sont destructives (Shim et al., 2017). De plus, l'utilisation du Zetasizer pour la caractérisation permet de mesurer la taille des particules d'un diamètre inférieur au nanomètre à plusieurs micromètres, en utilisant la technique de la diffusion dynamique de la lumière (Anderson et al., 2013). Finalement, le cytomètre à flux est aussi un outil permettant la caractérisation des MPs et NPs. En effet, il est utilisé pour déterminer la concentration des particules dans des échantillons. Pour cela, les microparticules sont mises en suspension dans un liquide (eau Nanopure) et sont traversées par un faisceau laser du cytomètre. Dans cette étude, la caractérisation des microparticules a été faite par Zetasizer, MEB et par cytométrie. L'ensemble de ces trois matériels a permis d'obtenir une caractérisation plus précise et sûre de la distribution et de la taille des microparticules.

3.3 Problèmes d'analyses

Il est important de souligner que la toxicité et la contamination des microparticules chez les organismes restent peu et mal connues (European Commission, 2020). Effectivement, la toxicité via des expositions aux microplastiques est documentée par des recherches en laboratoire dans des conditions peu voire pas représentatives du milieu naturel marin. Ainsi, il est difficile de clairement définir les impacts réels des microparticules sur les

organismes marins (Shumway et al., 2023). En effet, certaines études utilisent des concentrations mille à un million de fois supérieures à celles du milieu marin qui sont de l'ordre de 10 ± 12 ng/L (Burns and Boxall, 2018). De plus, l'identification des microparticules est une tâche difficile qui prend en compte une diversité de facteurs associés aux propriétés intrinsèques des plastiques comme la forme, les additifs utilisés, la taille, les sources (origine d'entrée dans l'environnement), le potentiel de dispersion et la fragmentation en particules de plus en plus petites (Oliveira et Almeida, 2019). Les méthodes usuelles de mesure dans les échantillons aquatiques naturels sont peu sensibles et ne visent souvent pas à identifier les formes de polymères présents, mais seulement leurs concentrations. Ainsi, ces approches scientifiques conduisent à des publications erronées, induisant les lecteurs à penser que les informations divulguées sont exactes et fiables (Shumway et al., 2023).

4. EFFETS DES MICROPLASTIQUES SUR LES BIVALVES

La présence des bivalves dans des habitats diversifiés, depuis les estuaires jusqu'aux eaux côtières, en fait des candidats idéaux pour évaluer la distribution et l'impact des déchets dans différents milieux aquatiques. Les MPs et NPs pourraient être assimilés par les bivalves en les confondant avec les microalgues, l'alimentation habituelle de ces organismes (Brillant et MacDonald, 2000). Ce système de nutrition par filtration expose ces organismes aux microparticules présentes dans leur habitat aquatique (Bringer et al., 2020), offrant ainsi une opportunité d'étude privilégiée sur l'ingestion, l'accumulation et l'éjection de ces microplastiques (Li et al., 2015). Cependant, tel que noté par Shumway et al. (2023), les nombreux travaux en physiologie depuis les années 70 sur la capacité de rétention de particules plastiques par les branchies des bivalves ont suggéré une très faible rétention. Depuis des décennies, les microparticules de plastique sont utilisées pour étudier en laboratoire l'alimentation des bivalves (Ward et al., 2019). Il a été démontré que l'ensemble des particules en suspension ne sont pas capturées par les branchies et que leur capture ne signifie pas nécessairement qu'elles sont ingérées. Les bivalves possèdent des mécanismes bien développés pour distinguer les particules (Ward and Shumway, 2004), et seront décrits dans la section générale du pétoncle géant. Certaines études décrivent que les microplastiques

impactent l'ensemble du cycle biologique des bivalves, de la larve à l'adulte (Bringer et al., 2020; Gardon et al., 2018). Une exposition à court terme (1, 3, 5 et 24 heures) d'embryons et du premier stade larvaire (larves D âgées de 3 jours) d'huîtres creuses (*Crassostrea gigas*) à différentes concentrations de MPs (0,1, 1 et 10 mg MP L⁻¹) ayant une taille entre 1 et 5 µm révèle que les MPs sont principalement localisés dans le tube digestif (Bringer et al., 2020). Ces contaminations aux MPs affecteraient le développement larvaire en se collant sur les cils locomoteurs des larves, diminuant ainsi leur comportement de nage et entraînant des arrêts de développement. Des huîtres perlières adultes (*Pinctada margaritifera*) exposées durant 2 mois à des MPs de 6 à 10 µm ainsi qu'à trois concentrations différentes (0,25, 2,5 et 25 µg L⁻¹) ont démontré une baisse de l'efficacité d'assimilation de la nourriture à forte concentration, résultant en un budget énergétique plus faible estimé par le modèle de potentiel de croissance (scope for growth) (Gardon et al., 2018).

4.1 Effets sur les pétoncles

Les pétoncles sont capables de sélectionner les MPs sur la base de leurs propriétés physiques. De ce fait, Brilliant and MacDonald, (2000), ont exposé des pétoncles (*Placopecten magellanicus*) à trois tailles de microbilles différentes (5, 10 et 20 µm) avec un mélange de billes de différentes densités (1,05 g ml⁻¹ et 2,5 g ml⁻¹). Ils ont démontré que les pétoncles géants étaient capables de distinguer la taille et la densité des particules, avec une meilleure rétention pour des microparticules de 20 µm à une faible densité. Enfin, d'autres études disponibles dans la littérature ne fournissent que peu ou pas d'informations sur la quantité et la qualité du régime distribué aux organismes durant l'acclimatation et l'expérimentation en laboratoire (Al-Sid-Cheikh et al., 2018; Song et al., 2020). Des incertitudes apparaissent lorsque les chercheurs ne précisent pas si les animaux expérimentaux ont été nourris, indiquent un régime alimentaire, mais négligent d'indiquer le volume des réservoirs de stockage ou d'expérimentation, ne précisent pas la biomasse contenue dans chaque réservoir, ou indiquent le régime alimentaire utilisé pour l'acclimatation, mais ne précisent pas le régime alimentaire utilisé pendant l'exposition (Shumway et al., 2023). Compte tenu de l'importance capitale de l'alimentation pour l'état

général des organismes et de son impact potentiel sur les résultats des études toxicologiques, les résultats des études susmentionnées et surestimées doivent être interprétés avec prudence.

5. BIOLOGIE GENERALE DU PETONCLE GEANT

Le pétoncle géant, *Placopecten magellanicus* [Gmelin, 1791], est un bivalve de la famille des Pectinidés [Rafinesque, 1815] et de l'ordre des Ostréoïdes. C'est un organisme vivant dans une gamme de profondeur allant de 2 à 200 mètres (Hardy, 2006). Il est dit « immobile » et vit généralement dans des substrats bien définis offrant un apport alimentaire en particules organiques en suspension suffisante (Stewart and Arnold, 1994). Les individus peuvent vivre jusqu'à 20 ans et atteindre 22 cm (Hart and Chute, 2004). Cette espèce est répartie dans l'Atlantique Nord-Ouest, du nord du golfe du Saint-Laurent jusqu'au cap Hatteras en Caroline du Nord (Niles and al., 2021).

Le pétoncle géant dispose d'une coquille de forme arrondie, avec une valve légèrement plus convexe que l'autre (valve supérieure) (Shumway and Parsons, 2016). Elle est ornée de fines rainures en éventail et de lignes de croissance, montrant la croissance continue des pétoncles (Figure 4). En séparant la valve supérieure de celle postérieure, les organes sont visibles avec le muscle adducteur, également connu sous le nom de chair ou de noix, représentant la partie la plus visible au centre de la coquille. Le muscle ainsi que la gonade sont prélevés et sont destinés à la consommation dans la plupart des régions géographiques, tandis que le reste du mollusque et de ses parties molles sont jetés (Shumway et al., 2023).

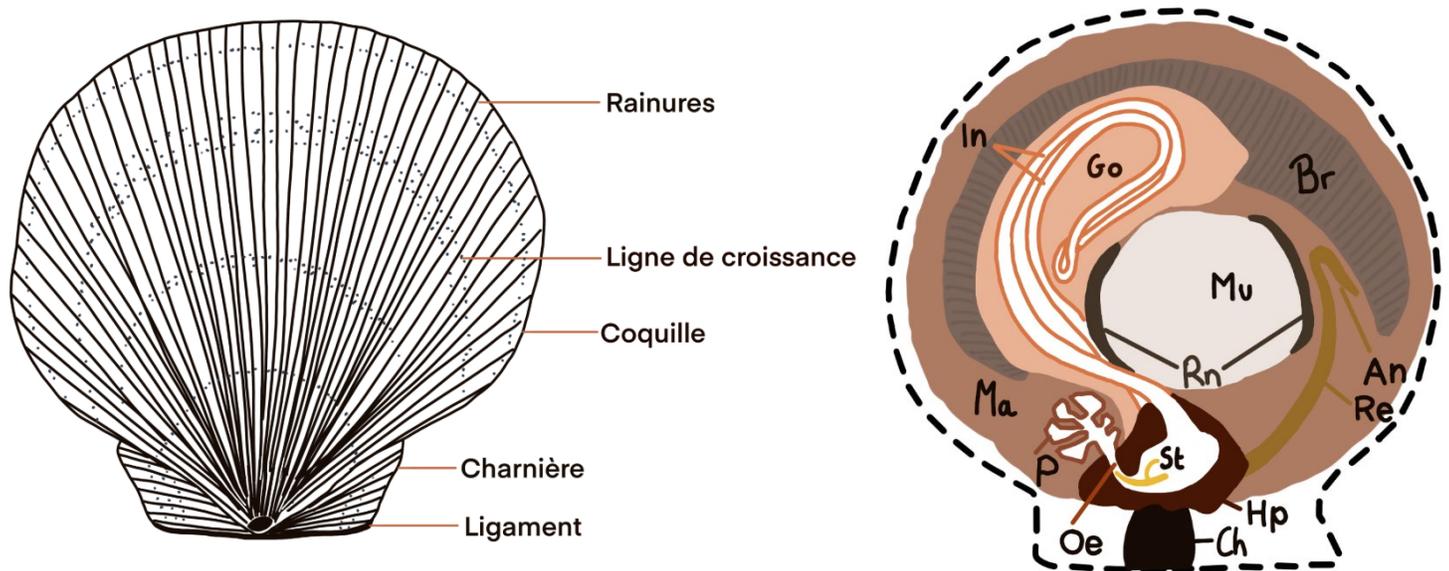


Figure 4. Dessin général de la coquille du pétoncle géant (A gauche © Marie Faraut) et schéma général des organes internes du pétoncle géant (A droite). Légende : Ma : manteau, In : Intestin, Go : Gonade, Br : Branchie, Mu : Muscle, An : Anus, Re : Rectum, St : St : Stylet cristallin, Hp : Hépatopancréas, Oe : Œsophage, Ch : Charnière et P : Palpes (Soubaneh et al., 2023).

Le muscle adducteur de *P. magellanicus* (Figure 4) lui permet également de pouvoir ouvrir et fermer rapidement sa coquille, lui permettant de fuir des prédateurs (Kraffe et al., 2008). Les valves de la coquille sont articulées autour d'une charnière et sont reliées par un ligament caoutchouteux résistant qui, lorsque le muscle est détendu, permet au pétoncle géant d'évacuer l'eau de part et d'autre de sa coquille. L'ouverture de la coquille permet l'alimentation par filtration de l'eau et sa fermeture, protège le corps mou (Stewart et Arnold, 1994). Le muscle permet également le stockage des réserves énergétiques des bivalves, principalement sous forme de glycogène.

Le manteau est une membrane épithéliale à deux faces reliée au muscle adducteur, à la glande digestive et au péricarde par des brins de tissus conjonctifs (Bubel, 1984). Le manteau va être recouvert par des touffes de cils espacés mesurant jusqu'à 15 μm de long (Figure 5). Contrairement à d'autres bivalves, tels que la moule, les cils du manteau des pétoncles ne

sont pas spécialisés et engagés dans l'élimination des particules (Morton, 1979). Le manteau ne possède pas de sillon ventral branchial qui permet l'éjection des particules, mais repose sur l'adduction des valves pour expulser les particules non digérées (Beninger et al., 1999). De plus, la circulation de l'eau est reconnue comme mineure étant donné la distribution inégale des cils à la surface du manteau (Shumway and Parsons, 2016). Les bords du manteau possèdent une multitude d'yeux ayant une vision de 100°, lui permettant de reconnaître les prédateurs et de fuir par fermeture et ouverture rapide des valves (Land, 1965).

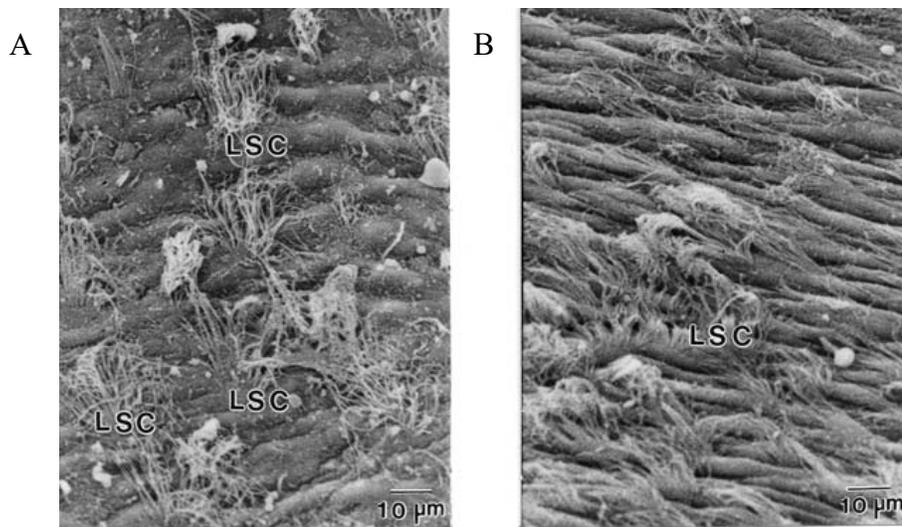


Figure 5. *Placopecten magellanicus* ciliation du manteau. MEB montrant la ciliation du manteau dans la région postérieure (A). Touffe de longs cils répartis dans la région antérieure du manteau (B). LSC : Longs cils simples. (Beninger et al., 1999).

Les palpes labiaux sont constitués en deux parties, une paire à gauche et une paire à droite, dans lesquelles les extrémités des branchies sont insérées (Figure 6). Les deux surfaces sont constituées d'un épithélium cilié organisé en crêtes (Beninger et al., 1992). À la base des palpes labiaux se trouve un sillon oral cilié menant à la bouche (Shumway et al., 2023). Les bords extérieurs des palpes sont soudés à la partie molle et au manteau, ce qui permet le rejet des particules non digérées en pseudo-fèces (Morton, 1996).

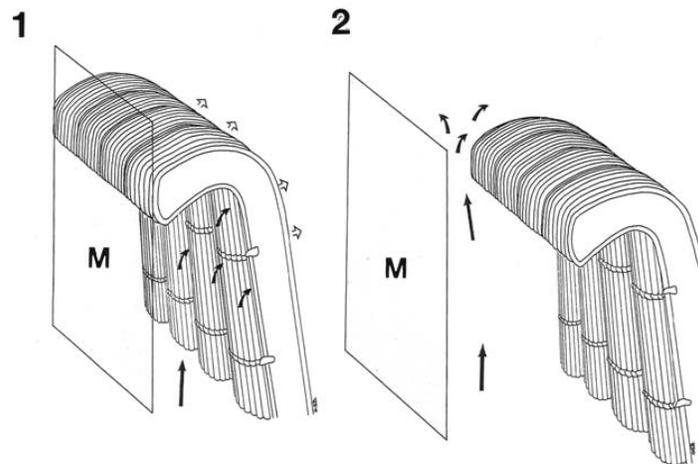


Figure 6. Digramme des palpes labiaux reliés au manteau (M). 1) Courbure dorsale en position d'alimentation normale. Les flèches pleines indiquent la direction des courants d'eau chargés de particules et les flèches ouvertes montrent le passage de l'eau appauvrie en particules. 2) Courbe dorsale détachée de la surface du manteau, ce qui permet à l'eau chargée de particules de sortir directement dans la cavité (Shumway et al., 2023)

Les reins sont des cellules caractérisées par de nombreuses vacuoles au contenu granuleux et sont localisés de chaque côté du muscle. Les reins des bivalves sont capables de bioaccumuler des métaux, provoquant alors des changements morphologiques et protéomiques (kinases de transduction de signal, régulateurs de transcription, protéines associées à la réplication de l'ADN et des protéines associées au métabolisme) (Huang et al., 2011).

La gonade est l'organe reproducteur en forme de croissant entourant une partie du muscle adducteur chez le pétoncle géant. À maturité sexuelle, la gonade des femelles prend une couleur orangée alors que la gonade des mâles va être de couleur crème. La gonade mâle atteint sa maturité avant la gonade femelle.

5.1 Mécanismes de filtration des particules

Les pétoncles sont des organismes suspensivores filtrant de grandes quantités d'eau, jusqu'à 10 L h^{-1} pour se nourrir de matière organique en suspension (Cranford et Gordon, 1992; Prasetya et al., 2020). La nourriture, particulièrement le phytoplancton, est capturée à l'aide de longs cils au niveau des branchies balayant les microparticules jusqu'à la bouche (Hart, 1991). Ce mécanisme est décrit comme un système de manipulation des eaux (Riisgård and Larsen, 2010) permettant l'orientation de la nourriture de la bouche. Les pétoncles contribuent de manière significative aux processus de couplage benthique-pélagique (Dame, 2016) en filtrant de larges quantités de particules organiques en suspension dans la colonne d'eau pour favoriser leur dépôt après digestion sur le benthos. Le processus de filtration et d'ingestion des particules aboutit au rejet, qui se traduit par la formation de pseudo-fèces ou de fèces. Lors de la capture des microalgues par les branchies, les organismes les assimilent via la bouche, où la nourriture est dirigée vers l'hépatopancreas pour triage, puis vers l'intestin pour digestion, et enfin vers l'anus pour la dépuration via pseudo-fèces et fèces.

Au cours de ces trois dernières décennies, plusieurs travaux de recherche se sont orientés sur la compréhension de l'efficacité d'ingestion, le fonctionnement et leur mécanisme de sélection et de rejet des particules des organismes filtreurs (Yen et al., 1991). La plupart des bivalves juvéniles et des adultes se nourrissant sont capables de retenir des particules de plus de $0,8$ à $10 \mu\text{m}$ (Shumway et al., 2023). Les bivalves sont capables de trier les particules en fonction de leurs propriétés nutritionnelles, de leurs tailles et de leur composition biochimique. Mais ces mécanismes associés à l'alimentation et la sélection sont complexes et n'ont pas été complètement élucidés (Evan Ward and Shumway, 2004; Jones et al., 2020). L'étude de Jones et al. (2020) démontre que les bivalves auraient la capacité de sélectionner chimiquement leurs aliments, via les lectines présentes dans le mucus de leurs branchies. Les lectines vont se lier aux glucides (hydrates de carbone) à la surface du phytoplancton, permettant de les retenir et de les orienter vers la bouche. La sélection des particules serait liée au mécanisme de reconnaissance biochimique médiée par les lectines (Espinosa et al., 2009).

Les branchies, qui servent à l'alimentation et à la respiration de l'animal, sont des tissus délicats et mous en forme de croissant constitué de quatre rangées de lamelles disposées en paires de chaque côté de la coquille. Les lamelles sont constituées de longs filaments suspendus à la base et au sommet, séparés par des intervalles appelés ostia. À la surface de ces filaments, un ensemble complexe de cils déplace l'eau à travers les ostias et capture les particules en suspension (Shumway and Parsons, 2016). Grâce à ce système, les bivalves sont les organismes se nourrissant le plus efficacement de microparticules (Setälä et al., 2016).

5.2 Système digestif

Le système digestif des bivalves est composé de la bouche, de l'œsophage, du stylet cristallin, de la glande digestive (hépatopancréas), de l'intestin, du rectum et de l'anus (Purchon, 1977) (Figure 7). L'ingestion de microparticules se fait par la bouche des organismes qui est située à la base des palpes labiaux. La bouche conduit directement les microparticules jusqu'à l'œsophage, où les particules sont alors dirigées vers l'estomac grâce à des cils vibratiles (Beninger and St-Jean, 1997).

Au niveau de l'estomac, le stylet cristallin, équipé de dents, effectue un mouvement rotatif qui brise les grosses particules et les agrégats alimentaires. Certaines de ces particules restent dans l'estomac, où elles subissent une digestion extracellulaire grâce à des enzymes digestives qui les décomposent en molécules plus simples. Ces molécules sont soit absorbées, soit envoyées vers l'hépatopancréas pour la digestion intracellulaire. D'autres particules sont directement dirigées vers la glande digestive, où la digestion intracellulaire se poursuit. Par ailleurs, certaines microparticules plus denses sont transportées vers le sillon intestinal et l'intestin moyen, où elles se mélangent aux matières non digérées et sont incorporées dans des boulettes fécales (Ward et al., 2019).

L'hépatopancréas fait partie de l'appareil digestif des bivalves. Il intervient aussi comme organe immunitaire essentiel (Huan et al., 2011). Il va assurer la synthèse d'enzymes digestives, l'assimilation et le stockage de nutriments ainsi que l'accumulation des réserves énergétiques sous forme de lipides via la digestion intracellulaire. Comme les reins,

l'hépatopancréas est l'un des organes pouvant bioaccumuler les polluants, tels que les métaux et les microplastiques (Soubaneh et al., 2023).

L'intestin est une partie du tube digestif qui est localisée à l'intérieur de la gonade et une partie à l'intérieur de l'hépatopancréas. Il est relié à l'œsophage, qui lui est en contact direct avec la bouche. Il joue un rôle important dans la digestion et l'assimilation des nutriments ainsi que dans le passage des déchets rejetés (Shumway and Parsons, 2016).

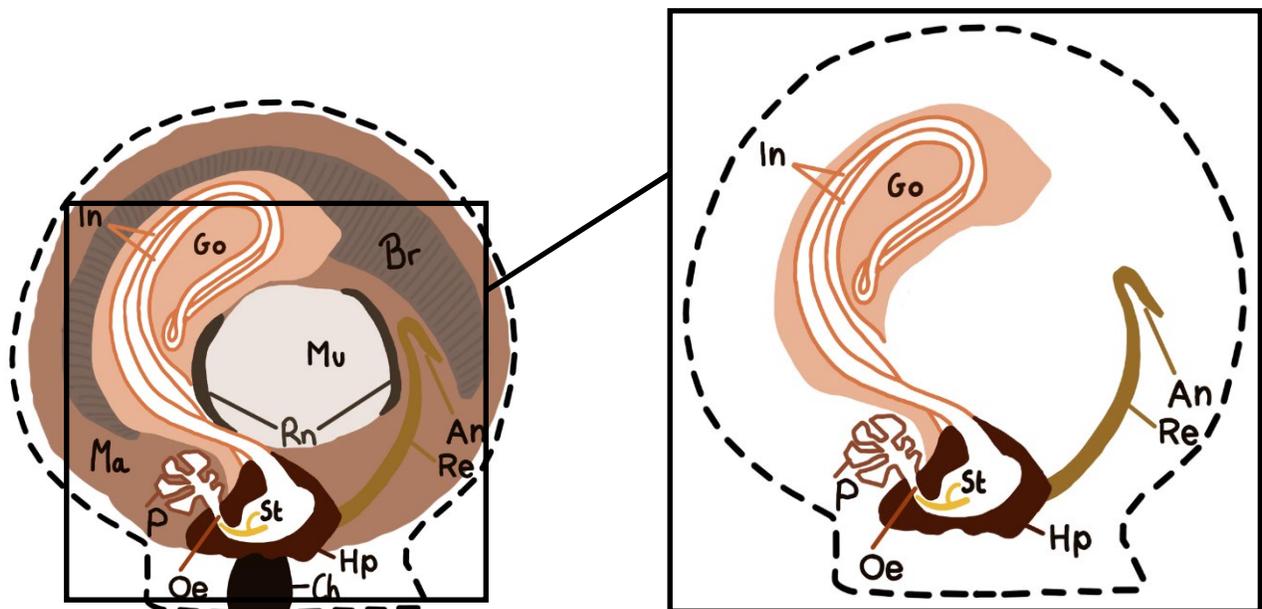


Figure 7. Schéma détaillé du système digestif du pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) de l'œsophage jusqu'à l'anus. In : Intestin, Go : Gonade, An : Anus, Re : Rectum, St : Stylet cristallin, Hp : Hépatopancréas, Oe : Œsophage, Ch : Charnière, P : Palpes. Adapté de Soubaneh et al., 2023.

La capacité des bivalves à sélectionner et trier des particules en fonction de leur valeur énergétique et de leur composition chimique a été étudiée afin de permettre une meilleure compréhension du temps de rétention des particules dans l'intestin ainsi que leurs devenir (boulette fécale ou pseudo-fèces) (Brillant et MacDonald, 2003, 2002, 2000). La sélection des particules peut s'effectuer au niveau des branchies (Ward et al., 1998), des palpes labiaux (Iglesias et al., 1996) et dans l'estomac (Gagnon and Fisher, 1997). Après ingestion des

microparticules, la taille des particules détermine en partie le rejet ou l'ingestion. En effet, les contraintes anatomiques des branchies, des palpes labiaux et de la bouche réduisent la probabilité d'ingestion des particules au-delà de 1000 μm (Ward et al., 2019). Les particules ingérées se déplacent de crête en crête dans le système digestif de la bouche au canal d'acceptation situé dans les palpes labiaux, tandis que celles rejetées se déplacent dans les creux des plis ventralement jusqu'à la voie de rejet des palpes. Les palpes contrôlent les fèces afin de créer des boulettes appelées pseudo-fèces (fèces mal digérées) qui vont être transférées vers la voie de rejet du manteau (Garrido et al., 2012). Cependant, les particules envoyées vers la glande digestive seront rejetées sous forme de fèces (bien digérées) comme décrites dans l'étude de Brillant et MacDonald, (2003).

Les particules ingérées se déplacent de crête en crête dans le système digestif de la bouche jusqu'au canal d'acceptation des palpes labiaux, tandis que celles rejetées se déplacent dans les creux des plis ventralement jusqu'à la voie de rejet des palpes. Selon Garrido et al. (2012), les palpes surveillent les fèces pour générer des boulettes appelées pseudo-fèces (fèces mal digérées) qui seront ensuite transférées vers la voie de rejet du manteau. Alors que les particules envoyées vers la glande digestive seront expulsées sous forme de fèces (bien digérées) comme expliqué dans l'étude de Brillant et MacDonald (2003).

L'étude de Cognie et al. (2003) décrit le mécanisme d'ingestion des bivalves. Il est démontré que les structures branchiales sont plicaturées (formées en plis), et que la distance entre les plis adjacents ($\approx 100 \mu\text{m}$) empêche l'entrée de grosses particules. Il en est conclu que les grosses particules sont généralement transportées vers le tractus ventral de la branchie et rejetées en tant que pseudo-fèces. Les particules rejetées lors de la sélection chimique via les lectines du mucus sont également retrouvées dans les pseudo-fèces (Jones et al., 2020).

5.3 Rôles des réserves lipidiques

Les lipides sont des macromolécules essentielles qui jouent des rôles à la fois fonctionnels et structurels dans les processus biologiques en termes d'approvisionnement en énergie, de membranes biologiques et de molécules de signalisation (Schmitz and Ecker,

2008). Chez les pétoncles, les lipides sont généralement localisés au niveau de l'hépatopancréas (Figure 4), qui constitue le seul véritable organe de stockage des réserves lipidiques (Giese, 1966). Les lipides sont un groupe varié de molécules biochimiques qui sont divisées en différentes classes, dont les principaux sont les cétones, les cires estérifiées, les alcools gras, les stérols, les triglycérides et les phospholipides (Pernet et al., 2003). La croissance et la survie des organismes vont dépendre de l'acquisition d'acides gras qui vont être essentiels pour fournir l'énergie, mais également comme éléments structuraux des cellules (Soudant et al., 1998). Les lipides peuvent donc être utilisés comme indicateur de l'état nutritionnel et de la santé des organismes (Filimonova et al., 2016). Le métabolisme lipidique constitue une des voies d'approvisionnement énergétique des organismes marins en général, ce qui revêt une importance dans leur réponse au stress engendré par les contraintes environnementales (Lee et al., 2018).

5.4 Rôle du glycogène

Le glycogène constitue le principal matériau de stockage d'énergie chez les bivalves, particulièrement les Pectinidés. Cette réserve d'énergie est communément répartie au niveau du muscle (Figures 4,7) où le glycogène peut être rapidement dégradé en glucose pour fournir de l'énergie au muscle pour permettre leur déplacement, mais également le transférer aux gamètes pour leur développement (gamétogénèse) (Gabbot, 1975). Différents facteurs peuvent favoriser l'utilisation des réserves énergétiques des pétoncles, comme la hausse de la température ou la présence d'un prédateur. Le niveau de glycogène des bivalves peut aussi être influencé par des facteurs internes tels que la croissance (Barber et Blake, 1981), la maturation sexuelle (Uzaki et al., 2003), et la reproduction (Kraffe et al., 2008) qui diminuerait dramatiquement jusqu'à induire la mortalité des organismes. La teneur en glycogène est souvent utilisée pour mesurer l'état physiologique des bivalves (Shinomiya et al., 1997).

5.4.1 Impact des MPs sur les réserves glucidiques et les réserves lipidiques

L'exposition à des micropolluants tels que les microplastiques pourrait empêcher un apport alimentaire adéquat et entraîner un coût de maintien énergétique élevé (Shang et al., 2021). En effet, l'ingestion de microplastique provoquerait un déficit alimentaire et demanderait aux organismes de puiser dans leurs réserves d'énergie pour satisfaire la demande métabolique et/ou réaffecter l'énergie pour le maintien de la condition physique, la croissance ou la reproduction (Wright et al., 2013). La taille et la concentration des particules pourraient impacter directement sur les concentrations en réserves énergétiques. Des microplastiques de taille 100 à 500 μm avec une forte concentration (25 mg/kg) impacteraient de manière négative l'énergie totale des organismes, induisant une réduction des réserves énergétiques en moyenne de 35 % (Bour et al., 2018). Les microplastiques pourraient également interférer avec l'assimilation de la nourriture, impactant ainsi négativement la reproduction des bivalves contaminés (Sussarellu et al., 2016).

Bour et al. (2018) ont réalisé une contamination à long terme de 4 semaines à des microparticules de polyéthylène (PE) sur deux espèces de pétoncles *Ennucula tenuis* et *Abra nitida*. Les organismes ont été exposés à trois fortes concentrations de MPs (1 ; 10 et 25 mg/kg) avec trois gammes de taille différentes (4 à 6 ; 20 à 25 et 125 à 500 μm). Après la contamination, aucun changement significatif dans les réserves énergétiques, soit les protéines, les glucides et les lipides, n'a été observé chez les individus exposés aux plus petites particules. Mais une diminution de la teneur en protéine et en lipide a été observée pour *A. nitida* en présence de plus grosses particules. Les auteurs suggèrent qu'une exposition à long terme aux microparticules à des concentrations environnementales peut avoir un impact sur les espèces benthiques.

Shang et al. (2021) ont étudié l'impact des microplastiques sur le bilan énergétique des moules (*Mytilus coruscus*). Les organismes ont été exposés durant 14 jours, suivis d'une période de 7 jours de récupération, à trois concentrations de MPs de polystyrène (PS) de 2 μm (10 , 10^4 et 10^6 particules/L). L'exposition à de fortes concentrations, 10^4 et 10^6

particules/L, a provoqué une augmentation de la demande d'énergie cellulaire entraînant l'épuisement des réserves énergétiques, soient les glucides, les lipides et les protéines. Les niveaux de glucides ont été les premiers impactés après 7 jours d'exposition, mais ont été rétablis après une semaine de récupération. Quant aux réserves lipidiques, elles ont été impactées au bout du 14^e jour et non pas été complètement rétablies après la semaine de récupération. Les résultats de cette étude démontrent un impact négatif des MPs de PS de 2 µm sur le métabolisme énergétique des moules étudiés.

Cependant, des études complémentaires restent à mener pour comprendre l'impact réel des contaminants, plus précisément des microparticules de plastique, sur la condition générale des invertébrés marins (Shumway et al., 2023). Il est nécessaire de se baser sur la taille des microplastiques biodisponibles dans l'environnement marin ainsi que leur concentration réelle tout en respectant la physiologie et la nutrition des animaux étudiés afin de déterminer les effets réels des microparticules.

6. PROBLEMATIQUE

Il a été mis en évidence que les organismes marins, comme les bivalves, étaient capables d'ingérer (Wright et al., 2013), de rejeter et de transférer des particules à d'autres organismes dans le réseau trophique (Farrell and Nelson, 2013). Cela a généré un regain d'intérêt pour réaliser diverses expérimentations en laboratoire pour comprendre les différents mécanismes mis en place par les bivalves lors de la filtration (MacDonald et Ward, 2009), de l'ingestion (Brillant et MacDonald, 2000), de la digestion (Wang et Sun, 2010) et de l'excrétion (Meng et al., 2024) des MPs. Cependant, les effets nocifs de ces contaminants sur les invertébrés, une fois ingérés, demeurent indistincts et largement spéculatifs (Ng and Obbard, 2006; Shumway et al., 2023).

En effet, l'utilisation de méthodes inappropriées comme la collecte des organismes avec des sacs en plastique ou l'utilisation de verrerie non nettoyée, ainsi que des moyens de transport générant d'importants stress, et le non-respect de la physiologie de l'organisme durant les expositions, génère une contamination additionnelle des microplastiques

entraînant des résultats douteux (Shumway et al., 2023). Des protocoles expérimentaux sans organismes témoins, sans l'utilisation de blanc et l'emploi de mauvais solvant durant les manipulations peuvent avoir des effets sur la santé des organismes, engendrent également de mauvaises interprétations des résultats menant à une surestimation ou une sous-estimation de la concentration des MPs et de leurs impacts sur les fruits de mer (Shumway et al., 2023).

6.1 Lacunes

De récentes publications sont remises en question quant aux fortes concentrations de MPs utilisées lors de leurs expositions, provoquant une surestimation des impacts des microparticules (Burton, 2017; Shumway et al., 2023). Il est également nécessaire de garantir une uniformisation et une homogénéité dans les préparations de microparticules, ainsi que des protocoles et des méthodologies de quantification et de caractérisation d'écotoxicité des microparticules sur les organismes étudiés (Shumway et al., 2023). De ce fait, l'utilisation de concentrations proches de l'environnement doit être favorisée afin d'évaluer les impacts réels des MPs sur les organismes. De plus, pour les espèces de filtreurs comme les bivalves, il est important de prendre en considération le taux de filtration, le taux d'alimentation et leur capacité à ingérer et rejeter les particules (Ward et al., 2019).

Avec les publications récentes de Shumway et al. (2023) et Lanctôt et al. (2018), il est suggéré de mettre en place une méthode plus standardisée avec des concentrations pertinentes afin de faciliter l'analyse et la concordance des résultats. En résumé, il est proposé de :

- 1) Mettre en place des méthodes standardisées pour l'échantillonnage, la quantification et la caractérisation des NPs et MPs ;
- 2) Améliorer la pertinence environnementale dans les expériences en laboratoire en tenant compte de concentrations réalistes, de la variété de types et de tailles de plastiques, ainsi que de l'impact des facteurs de dégradation (physico-chimiques et biologiques) sur le comportement des plastiques ;

- 3) Évaluer le potentiel des particules de plastique en tant que vecteurs de contaminants et les risques liés aux métaux et aux composés organiques traces qui sont adsorbés ;
- 4) Évaluer les effets biologiques des particules de plastique à différents niveaux d'organisation biologique.

6.2 Originalité du projet

Ce projet de recherche est le premier à s'intéresser à une exposition prolongée de 3 mois à des MPs de PS marqués au ^{14}C de 1,3 μm de concentration de 1,09 à 1,59 MP/L^{-1} sur le pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*). Cette étude prend en compte les recommandations et suggestions faites par Shumway et al. (2023) en a) éliminant les potentielles sources de contaminations externes (vêtements, verreries, ...) qui constituent un atout primordial quant à la standardisation des protocoles ; b) respectant la physiologie des pétoncles ; c) en utilisant un seuil de concentrations d'expositions similaire à des concentrations à celles mesurées en milieu naturel (Roweczyk et al., 2022) ; d) l'utilisation de contrôle. L'utilisation de la technique de radiomarquage aux ^{14}C des particules associées à la méthode d'autoradiographie du corps entier permet de faciliter la visualisation de la biodistribution des microparticules (Al-Sid-Cheikh et al., 2018; Soubaneh et al., 2023). Les résultats de cette étude sur l'impact des MPs de PS ainsi que sur la biodistribution, la bioaccumulation et la dépuration vont permettre d'élucider en partie les questions relatives à l'impact et au devenir des micropolluants avec des pétoncles géants d'intérêt commercial pour l'alimentation humaine.

7. OBJECTIF PRINCIPAL

L'objectif principal de ce mémoire sera d'évaluer la dynamique de bioaccumulation des microplastiques de polystyrène chez les pétoncles géants (*Placopecten magellanicus*) en utilisant des microparticules radiomarquées au ^{14}C (MPS- ^{14}CPS) et en étudiant la bioaccumulation des MPS dans le corps entier (autoradiographie) ainsi que les cinétiques

d'accumulation / dépuration dans différents tissus de l'organisme. De plus, les effets des microparticules non radiomarquées au ^{14}C (MPS-PS) sur la condition énergétique au niveau des lipides et du contenu en glycogène ont été étudiés.

7.1 Objectifs spécifiques et hypothèse

De cet objectif principal découlent plusieurs objectifs spécifiques ayant pour but de mener à bien ce projet. Tout d'abord, l'optimisation et la préparation de microparticules marquées au ^{14}C (MPS- ^{14}CPS) et non marquées (MPS-PS) de faible taille seront primordiales pour initier la période d'exposition et de dépuration. De plus, l'étude de la biodistribution et de la cinétique de bioaccumulation des MPs dans les tissus comme l'hépatopancréas et le muscle ou encore dans le corps entier des organismes sera évaluée. Finalement, l'impact potentiel des MPS-PS sur la condition énergétique (lipides et contenu en glycogène) des pétoncles géants sera analysé dans la glande digestive et dans le muscle adducteur.

Les hypothèses de ce projet de recherche seraient que les micro-nanoparticules de PS seraient ingérées, bioaccumulées et seraient capables de traverser les barrières biologiques contaminant le muscle adducteur, seule partie consommée par les humains. Nous suggérons également que cette contamination aux MPS-PS impacterait les réserves énergétiques représentées par les lipides accumulés dans la glande digestive et le glycogène dans le muscle. Finalement, nous prédisons une ingestion visible des MPS- ^{14}CPS , mais sans bioaccumulation croissante en fonction du temps d'exposition.

CHAPITRE 1

**SUIVI DES MICROPLASTIQUES DE POLYSTYRENE RADIOMARQUÉS
INGÉRÉS PAR LES PÉTONCLES GÉANTS (PLACOPECTEN
MAGELLANICUS) : ÉVALUATION DE LA BIOACCUMULATION, DE LA
DÉPURATION ET DE L'IMPACT BIOÉNERGÉTIQUE**

Marie Faraut^{1,2}, Youssouf Djibril Soubaneh^{2,*}, Réjean Tremblay¹, Émilien Pelletier¹,
Claude Rouleau², Véronique Langlois²

¹ Rimouski Institute of Marine Sciences, University of Quebec at Rimouski, 310, Allée des
Ursulines, Rimouski, QC, G5L 3A1, Canada

² Department of Biology, Chemistry and Geography, University of Quebec at Rimouski, 300,
Allée des Ursulines, Rimouski, QC, G5L 3A1, Canada

* Corresponding author. email: Youssoufdjibril_Soubaneh@uqar.ca

1.1 CONTRIBUTION DES AUTEURS

Cet article intitulé « *Tracking ingested radiolabelling polystyrene microplastics in Atlantic scallops (Placopecten magellanicus): bioaccumulation, depuration and bioenergetic impacts assessment* » n'a pas encore été soumis à la publication. Il sera envoyé très prochainement à la revue *Marine Pollution*. En tant que première auteure, j'ai contribué à l'essentiel de la recherche sur l'état de la question, à la planification des tests, à la synthèse de microplastique, au développement de la méthode et à l'exécution des tests expérimentaux, au suivi et à l'entretien des bassins, aux échantillonnages ainsi qu'aux traitements des données et des tests statistiques et à la rédaction de l'article. Le professeur Youssouf Djibril Soubaneh, second auteur, a obtenu le financement du projet, a eu les idées originales du

projet, a aidé à la recherche sur l'état de la question, au développement de la méthode, à l'exécution des tests expérimentaux, ainsi qu'à la révision de l'article. Le professeur Réjean Tremblay, troisième auteur, a contribué à l'idée originale de l'étude des effets bioénergétiques, à la planification des tests, à l'exécution des tests expérimentaux, à aider aux traitements statistiques et à la révision de l'article. Le professeur émérite Émilien Pelletier, quatrième auteur, a contribué à l'orientation des expériences, au développement de la méthodologie, au suivi et à l'entretien des bassins et à la révision de l'article. Le professeur Claude Rouleau, cinquième auteur, a contribué à la mise en place de méthodologie des synthèses de microplastique, à l'échantillonnage et aux traitements d'une partie des données. Finalement, l'assistante Véronique Langlois a participé au développement de la méthode, à la planification des tests et à l'exécution des tests expérimentaux, au suivi et à l'entretien des bassins, a contribué à la synthèse de microplastique, aux échantillonnages, ainsi qu'une partie des traitements des données.

1.2 RÉSUMÉ EN FRANÇAIS

La plupart de la production de plastiques finit dans l'environnement marin, créant un risque de pollution. Les processus de dégradation rentrant en jeu détériorent et fragmentent les plastiques en de fines particules, tels que les microplastiques (1 μm à 5 mm) et les nanoplastiques (< 1 μm). L'omniprésence dans l'environnement marin est à ce jour très bien documentée, mais les connaissances sur les effets potentiels de ces microplastiques (MPs) et nanoplastiques (NPs) sur les organismes sont limitées. Cette étude examine la cinétique de bioaccumulation et de biodistribution de microparticules de plastique en polystyrène (PS) de taille de $1,3 \pm 0,2 \mu\text{m}$ avec des concentrations allant de 1,09 à 1,59 MP/L⁻¹ ainsi que la cinétique de dépuration des microparticules. De plus, l'impact potentiel sur les réserves énergétiques (lipidiques et glycogène) a été mesuré. Le pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) a été choisi dans cette recherche, car il représente une espèce socio-économiquement importante au Nord Est du Canada. Les pétoncles ont été exposés à des MPs de PS marquées au ¹⁴C qui ont été préalablement synthétisées durant 3 mois suivis d'une

période de dépuraton du même temps. Les résultats de cette étude suggèrent que les organismes sont capables d'ingérer des MPs. Les microparticules ingérées étaient principalement localisées au niveau du système digestif, hépatopancréas, intestin, rectum et anus. Aucune trace de radioactivité n'a été mesurée et détectée au niveau du muscle adducteur, la seule partie consommée. Malgré l'ingestion des MPs, aucune bioaccumulation n'a été observée dans les tissus contaminés au cours de la période de contamination, et les organismes ont pu éliminer rapidement les microparticules ($0,057 \pm 0,001 \text{ kBq} \cdot \text{g}^{-1} \text{ ww / corps entier}$). Après 7 jours de dépuraton, aucune trace de radioactivité n'a été détectée dans les tissus, ce qui signifie que les organismes possèdent un mécanisme de sélection des particules fiable. Finalement, l'ingestion des particules n'a pas eu d'incidence sur les réserves énergétiques des organismes. Les résultats de cette étude sur l'impact des MPs de PS, ainsi que sur la biodistribution, la bioaccumulation et la dépuraton, il sera possible d'éclaircir en partie les interrogations concernant les effets et le futur des MPs sur des organismes d'intérêt commercial pour l'alimentation humaine.

1.3 TRACKING INGESTED RADIOLABELLING POLYSTYRENE MICROPLASTICS IN ATLANTIC SCALLOPS (*PLACOPECTEN MAGELLANICUS*): BIOACCUMULATION, DEPURATION AND BIOENERGETIC IMPACTS ASSESSMENT

The massive production of plastics leads to their integration and bioavailability in marine ecosystems, constituting a major concern for environmental pollution. Degradation/fragmentation process breaks down plastics into fine particles, called microplastics (MPs) and nanoplastics (NPs), whose effects on marine organisms remain largely to be improved and understood. This study investigates the bioaccumulation and biodistribution kinetics of $1.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$ polystyrene (PS) plastic microparticles, as well as their elimination. It assesses their impact on the energy reserves of Atlantic scallops (*Placopecten magellanicus*). Three tanks were used during the three-month exposure period. In tank 1, organisms were fed a mixture of microalgae and ^{14}C -labelled MPS at concentrations similar to those found in the marine environment. Tank 2 underwent the same treatment but with non-radioactive MPs. And tank 3 (control) was fed only with a mixture of microalgae. During the three-month depuration period, the organisms were fed with microalgae, enabling us to assess the rate of MP depuration by the organisms. Results showed that MPs ingested by scallops were mainly concentrated in the digestive system (intestine and anus) with a radioactivity value of $0.228 \pm 0.155 \text{ kBq}\cdot\text{g}^{-1}\text{ww}$ and the hepatopancreatic gland, $0.855 \pm 0.200 \text{ kBq}\cdot\text{g}^{-1}\text{ww}$. No MPs bioaccumulation was observed in the organs during the exposure period, and the organisms eliminated the microparticles within a short period of 7 days. Finally, consumption of MPs had no impact on the organisms' energy reserves. This study on the effect of PS MPs, as well as on biodistribution, bioaccumulation and depuration, will help clarify questions about the effects and future of MPs on organisms of commercial interest for human consumption.

1.4 INTRODUCTION

Plastic production is currently estimated at 415 million metric tons per year (Mt/year) (Boucher et al., 2020), with 79% accumulating in landfills or in the natural environment, 12% incinerated, and only 9% being recycled (Geyer et al., 2017). Between 4.8 and 12.7 Mt of plastic debris is dumped yearly into the oceans (Jambeck et al., 2015). Plastics undergo degradation/fragmentation processes that result in size reduction, forming finer particles called microplastics (MPs) or nanoplastics (NPs) (Andrady, 2011). Microplastics are considered particles smaller than 5 mm (Arthur et al., 2009), while nanoplastics (<1µm) result from the further degradation of microplastics in the environment (Andrady, 2011).

The issue of plastic pollution was first identified in the 1970s (Carpenter et al., 1972), and since then, extensive research has been conducted on the abundance of these pollutants in the aquatic environment (Bridson et al., 2020) and their potential effects on marine organisms such as bivalves (Li et al., 2019).. The bioavailability and abundance of microparticles in marine compartments; on beaches, at the water's edge, at the water's surface, in water columns, as well as in marine sediments (Claessens et al., 2011; Collignon et al., 2012; Thompson et al., 2004; Turner and Holmes, 2011) are widely studied in the literature, including their impact on marine ecosystems and organisms, as well as on the entire food web (Shumway et al., 2023; Wright et al., 2013).

The presence of microplastics in all marine ecological compartments makes this material easily available to organisms, especially filter-feeding species such as mussels (Wang et al., 2021), oysters (Bringer et al., 2020) and scallops (Soubaneh et al., 2023). A great deal of research has been carried out to assess the potential impact of microparticles on these organisms, including the filtration (MacDonald and Ward, 2009), ingestion (Brillant and MacDonald, 2000), digestion (Wang and Sun, 2010), excretion (Meng et al., 2024) and on the energetic condition of filtering organisms (Shang et al., 2021). It has been found that filter-feeding species such as bivalves can filter and ingest plastic particles (Moore, (2008).

Indeed, these organisms have a high filtration rate, up to 10 L h⁻¹ (Prasetya et al., 2020), which enables them to ingest particles of various sizes, from nanoparticles to microparticles ranging from 100 nm to 5 µm (Ward et al., 2019). Various studies describe the harmful impact of plastic microparticles on bivalves during laboratory exposure (Soubaneh et al., 2023; Sui et al., 2023; Ward et al., 2019). Al-Sid-Cheikh et al. (2018) demonstrated that after a six-hour exposure to ¹⁴C-labelled polystyrene NPs from 24 to 250 nm on scallops (*Pecten maximus*), NPs were observed in the gills, hepatopancreas, gonads, muscles, kidneys, intestines, and anus upon ingestion. In addition, these authors suggest that particle size and shape have a different impact on ingestion, and that nanoparticles may be translocated through organ epithelial membranes, meaning they are able to pass through organ tissues. It is recognized that microplastics are ingested by organisms (Brillant and MacDonald, 2000; Shumway et al., 2023), leading to a reduction in energy reserves (Gardon et al., 2018) such as lipid reserves (Shang et al., 2021) or glucose reserves (Bour et al., 2018). Bringer et al. (2020) highlighted that 1-5 µm MPs at different concentrations of 0.1, 1, and 10 mg MP/L⁻¹, had negative impacts on the life cycle of bivalve, playing a role in larvae deformations and on shell growth.

Scallops have been shown to possess particle selection mechanisms, meaning that they can sort and select particles according to their nutritional value and chemical composition (Brillant and MacDonald, 2000). Particles with no nutritional value or which are toxic to the organism will be depurated via pseudo-faecal discharge (poorly digested particles), so these organisms have a particle selection mechanism (Brillant et MacDonald, 2003, 2002). Properly digested particles will be excreted in the form of faeces.

Several studies on the kinetics of bioaccumulation (Teuten et al., 2009) and depuration of plastic microparticles have been carried out on various bivalve species of commercial interest, such as mussels (Gonçalves et al., 2023; Wang et al., 2021) and oysters (Bringer et al., 2020; Choi et al., 2022) to determine the biodistribution of MPs in organisms. Several particle tracking methods are used in the literature, primarily the ¹⁴C-particle labelling

method and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and Raman spectroscopy (Liu et al., 2021; Maes et al., 2017). In the present study, the method of ^{14}C -labeling combined with autoradiography was used. Whole-body autoradiography (WBARG) is a technique used to visualize the distribution of a radiolabeled chemical compound in the tissues of an organism (Ullberg, 1954) as the trace detection of particles of different sizes, ranging from nano ($<1\ \mu\text{m}$) to microparticles ($1\ \mu\text{m}$ to $5\ \mu\text{m}$). The advantage of WBARG and the ability to easily sample all anatomical structures allows microparticles tracking directly in the whole body as well as in the target organs (Rouleau et al., 2003; Ullberg and Ewaldsson, 1964). The spectroscopy (FTIR) detection method can be difficult to use when small particles (nanoparticles) are used. In most studies, higher concentrations, often exceeding those present in the real environment, are used (Sui et al., 2023) and focuses on MPs sizes $> 10\ \mu\text{m}$ (Leslie et al., 2022). Soubaneh et al., (2023) assessed the translocation, bioaccumulation, biodistribution and depuration of $325 \pm 121\ \text{nm}$ ^{14}C -radiolabeled polystyrene NPs particles during a 6-hour short exposure and a 2-week-long exposure on Atlantic scallops (*Placopecten magellanicus*). The results of their study indicate that nanosized particles do not bioaccumulate in scallop tissues even when ingested and transported. NPs were mainly located in the digestive system (hepatopancreas and intestine) and depuration system (rectum and anus). In contrast to the findings of Al-Sid-Cheikh et al. (2018), no particles were detected in the adductor muscle, meaning that the particles were not able to translocate through the biological barriers of the body's tissues. Finally, rapid elimination of the NPs within 48 hours was observed, suggesting the presence of an active depuration mechanism for particles with no nutritional value such as polystyrene plastic.

The Atlantic scallop [Gmelin, 1781] belongs to the Pectinidae family, and is a filter-feeding organism that feeds on considerable quantities of particles (Browne et al., 2013; Prasetya et al., 2020; Wegner et al., 2012). This species was chosen for this research because of its socio-economic interest in Eastern Canada's fisheries, with annual production estimated at 436 tonnes generating more than three million dollars (Niles and al., 2021). To be a bioindicator species, the organism must be sedentary, abundant, widely distributed, long-lived, easy to obtain, of sufficient size for tissue analysis, and should accumulate the

contaminant with a high concentration factor (Rainbow et al., 1990). Bivalves such as mussels and oysters have been widely studied to date, while scallops, although also conforming to these criteria, are less used (Marsden and Cranford, 2016).

This project is the first to assess the bioaccumulation dynamics of polystyrene MPs during a three-month prolonged exposure in Atlantic scallops using ^{14}C -radiolabeled microparticles (MPS- ^{14}CPS) under near-environmental conditions. The study includes an analysis of whole-body bioaccumulation of MPs using autoradiography, and an examination of the kinetics of accumulation and depuration in various body tissues. The effects of non-radiolabeled ^{14}C microparticles (MPS-PS) on energy status, in particular lipid and glycogen content, were also investigated.

1.5 MATERIALS AND METHODS

1.5.1 Chemicals and Organisms

All chemicals used in this work were of reagent grade; ^{14}C -radiolabeled styrene (American Radiolabeled Chemicals Inc., MO, USA), Styrene 99.5 % stabilized (Acros Organics, Thermo Fisher Scientific, USA), Ammonium Persulfate (APS, Fisher Chemical, USA), Polyvinylpyrrolidone (PVP, average mol 40.000, Sigma-Aldrich, MO, USA), and Dichloromethane (DCM, DX0838-1 HPLC Grade, Germany). Information on these chemicals is available in Soubaneh et al. (2023). For the study of bioaccumulation kinetics in organs, the solvents used included SolvableTM (Perkin Elmer, MA, USA), hydrogen peroxide 30 % (H_2O_2 , VWR BDH chemical, USA), scintillation cocktail (Ionic Fluor, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA), 2-Methoxyethanol (TCI America, VWR International, Maine, USA) and carbon- 14 labeled toluene (Internal Standard, 6004062A, MA, USA). For lipid extraction, a mixture of dichloromethane and methanol (2:1 ratio) was used as well as potassium chloride (0.88% KCl).

Scallops (*Placopecten magellanicus*) of 3.6 ± 0.3 cm ($n = 180$, shell mass 2.050 g and soft tissue weight 1.978 g) were provided by the company Pétoncles Carleton (Quebec, Canada). Organisms were acclimated to laboratory conditions for two weeks in 200-L tanks supplied with running seawater ($1 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$) and continuously aerated before long-term exposure. The water temperature and salinity ranges were $10 \pm 1^\circ\text{C}$ and 27 ± 2 ppm throughout the acclimation and experimental periods. Scallops were fed three times per week with a commercial phytoplankton mixture (Shellfish diet 1800™, Reed Mariculture, Campbell CA, USA) at 3% dry weight of the estimated soft tissue dry weight. The seawater flow was cut off for 3 hours during feeding.

1.5.2 Microplastic synthesis

The synthesis of small microplastic beads was achieved by optimizing the previously reported synthesis (Soubaneh et al., 2023), and adapting the work of Ha et al. (2010). More information about the procedure is available in supplementary data. The chosen methodology was selected after testing various ethanol/water ratios and different ammonium persulfate (APS) concentrations to regulate particle size. Dichloromethane was also added to the procedure to allow enhancements and production of smaller particle sizes.

For this study, two MPs were synthesised. Firstly, MPs synthesis was prepared with ^{14}C -styrene to label the MPs (MPS- ^{14}CPS), and another synthesis was carried out without labeling (MPS-PS). The concentration of microparticles was $6.17 \text{ Bq}/\mu\text{g}$ styrene or $162.1 \mu\text{g}$ styrene/L in order to achieve a particle concentration close to observe environmental levels (extrapolated), as suggested by Lenz et al. (2016) in their study for MPs. The quantity of radiolabeled and non-radiolabeled microplastics, as well as the volume of water, were adjusted according to the number of organisms present in the tanks (Table S.1).

1.5.3 Microplastics characterization

The MPs were characterized using several devices, including a zetasizer (Malvern's Nanon ZS), a laser particle size analyzer (Malvern's Mastersizer), a cytometer (CytoFLEX,

Beckman Coulter), and two different scanning electron microscopes (SEM), (S-4700, Hitachi and Phenom XL, Thermo Fisher). This approach allowed greater precision in determining the size and shape of the particles, and the results are compiled in the supplementary data (Figure S.1). Finally, the samples were analysed using a flow cytometer. This characterization technique makes it possible to determine the concentration of MPs in the preparation medium and confirmed the presence of NPs in our synthesis.

1.5.4 Long-term exposure and depuration periods

The *Placopecten magellanicus* specimens were divided into three separate 100 L tanks (T1, T2 and T3) with 51 scallops per tank. Long-term exposure with MPS-¹⁴CPS and depuration experiment exposure were performed in the T1 Exposure experiments, unlabelled PS particles carried out in the T2, and a control group without PS particles exposure was realized in T3. Tanks were fed three times a week during 6-hours for three months with a feed cocktail consisting of 400 ml seawater, algae concentrated at a ratio of 6% of biomass of tissues per day, and 100 kBq radiolabeled in T1 and non-radiolabeled MPs in T2. The T3 control group received the same treatment as the T1 and T2 tanks but without the addition of MPs.

During the contamination period, scallops were regularly sampled (Tables S.2 and S.3) to monitor the distribution of microparticles throughout the body with autoradiography (WBARG). In addition, measures of the bioaccumulation of microparticles in the hepatopancreas and muscles were carried out to evaluate particle concentration and accumulation in the different tissues of the body.

After carrying out a long-term exposure (n= 35 over 3 months), a depuration phase was initiated to monitor the depuration of MPS-¹⁴CPS duration in the scallop organs, until radioactivity levels fell below the detection limit (0.08 Bq mL⁻¹ or 0.007 kBq·g⁻¹ww). Scallops from each tank were fed for three months with 1 ml of algae concentrate, at a water flow rate of 1.500 ± 100 ml/min and sampled as previously described (Table S.2 and S.3). A detailed analysis of energy reserves was undertaken, including the evaluation of lipid reserves

as well as glycogen content, to understand the impact of contamination on the metabolism and overall health of the scallops.

1.5.5 Whole-body autoradiography (WBARG)

Scallops (n=18) were collected at weeks 2, 4, 8, 10 and 11 of contamination and weeks 2, 3, 5 and 12 of depuration (Tables S.2 and S.3). The scallops were prepared and frozen following the WBARG. Further detailed information on the procedures used is available in the supplementary material (Figure S.3).

Autoradiogram images were obtained using an autoradiograph (Perkin Elmer, Cyclone Plus) and processed with OptiQuant software (version 3.00). Image processing was performed using OptiQuant and CorelDRAW Graphics (Suite 2023) to obtain biodistribution autoradiograms. The data were measured in digital light units (DLU), which correspond to the light intensity of radioactivity, and transformed into kBq, the unit of radioactivity, see supplementary data.

1.5.6 Accumulation and depuration kinetics

The accumulation kinetics method was used to quantify the concentration of radioactivity in becquerels (Bq) present in scallop organs, particularly the muscle and hepatopancreas. Samples (n=30) were taken at intervals of 1, 2, 3, 4, 5, 8 and 11 weeks during the contamination period and at 1, 2, 3, 5, 8 and 12 weeks during the depuration period in ¹⁴C contaminated and uncontaminated tanks. The muscle and hepatopancreas of each scallop were divided, and between 50 and 200 ± 40 mg of tissue was placed and weighed into 20 ml glass scintillation vials, with the addition of one SolvableTM. Samples were heated for two hours in a water bath (180 series precision water bath) at 50-60°C with a stirring. After cooling, 200 µl of 30% hydrogen peroxide was used for decolorization. To complete the decolorization process, the samples were returned to the water bath at 50-60°C for a further 30 minutes. Volumes of 50µl, 100µl and 200µl of ¹⁴C toluene were added to the samples to achieve final concentrations of standards of 0.040, 0.085 and 0.159 g, respectively. The

samples were left in the scintillation counter for 24 hours before being counted in the 2-carbon 14 program.

1.5.7 Determination of lipid concentration

Samples were collected during the depuration period 1, 5, 9, and 12 weeks in contaminated with MPS-¹⁴CPS and control group tanks (n= 20 per tank, sample protocol in supplementary data Tables S.2 and S.3). Lipids were extracted from 100 mg of hepatopancreas of the organisms using the method of Folch and al. (1957), and deposited on Chromarods S-III (Iatron Laboratories Inc., Tokyo, Japan) according to the method of Parrish (1987) to separate lipids into different classes, such as hydrocarbons (HC), ketones (KT), triacylglycerols, fatty free acids, fatty free alcohols, sterols (ST), diglycerides, polar lipid mobile acetone (AMPL), and phospholipids (PL) using the chromatography technique. The chromarods were scanned by a flame ionization detection system (Iatroscan Mk-6 TLC-FID/FPD), and the chromatograms were analyzed using integration software (SRI Peak Sample 3.29 software configured for IatroscanMK-6). Lipid classes were identified and quantified with the use of standard calibration curves obtained for each lipids class. The concentration of each class of lipids was summed to obtain the total lipid concentration in the hepatopancreas, and each class was expressed as relative proportion (% of total lipids). These lipid analyses provided valuable information on the nutritional status and distribution of lipids in the scallop's hepatopancreas.

1.5.8 Determination of glycogen concentration

Samples were collected during the depuration period at 1, 5, 9 and 12 weeks in contaminated and uncontaminated tanks (n = 20 per tank, sample protocol in supplementary data Tables S.2 and S.3). An average of 0.050 ± 0.100 g of muscle was placed in a liquid nitrogen-cooled grinding cylinder. Once the cylinder was cold, the sample was ground for 60 seconds at 30 frequencies per second using a grinder (MM 400, Retsch Inc.). Glucose and

glycogen concentrations were analyzed using the amyloglucosidase digestion method of Carr and Neff, (1984); Guillou et al., (2023) using the commercial kit (Glucose assay Fit, Sigma-Aldusck, USA) for the quantitative enzymatic determination of glucose using a spectrophotometer (Molecular Device, SpectraMax 190). The data obtained for free glucose concentration and glycogen content were used to determine the effect of treatment (MPs or control) and time (1, 2, 3, and 4 months) on glycogen stores in scallop muscle.

1.5.9 Kinetics of MPS-¹⁴CPS particles in water

During each exposure, the kinetics of MPs disappearance was studied in the MPS-¹⁴CPS-contaminated tank and the uncontaminated tank to ensure that the organisms had consumed the MPs. Seawater samples were taken in triplicate from the tanks at t = 15, 30, 60, 120, 180, 240, 300 and 360 minutes. Samples (2 mL) were also taken the following day, twenty-four hours after exposure (n=27 samples per day per tank), and then placed in vials with 15 mL ionic fluor. Throughout the period of contamination, the kinetics of MPs bioaccumulation was analyzed. These kinetics measurements make it possible to monitor the disappearance of microparticle radioactivity in the tanks, and to calculate the percentage of MPs potentially ingested by scallops. During depuration, water samples from the MPS-¹⁴CPS-contaminated tank were taken in triplicate on days 4, 5, 7 and 14 (n=3 samples per day) to analyze radioactivity concentration. The concentration of radioactivity in the samples was measured using a scintillation counter (Beckman Coulter, LS 6500). The scintillation counter data were then converted to Bq/L (SEq.1).

1.5.10 Statistical analysis

The data set of bioaccumulation kinetics, ¹⁴C disappearance of accumulation kinetics, and bioenergetics (lipid and glycogen) were processed on Primer 7 software (V2.0.23) and underwent a univariate PERMANOVA, optimized when the conditions of distribution normality or homoskedasticity were not met and/or the design was unbalanced.

1.6 RESULTS AND DISCUSSION

1.6.1 MPs synthesis and characterization

Polymerization was carried out in 25/3 (v/v) ethanol/water, 2.2 mL styrene, 2.5 mL of APS, and 5 wt% of PVP relative to styrene. Optimization of the Ha et al., (2010) method resulted in polystyrene microparticle sizes of $1.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$, with a minimum of 700 nm and a maximum of $1.6 \mu\text{m}$ (Figure S.1). The microbeads were spherical in shape, with agglomerated behaviour, as seen under the scanning microscope (Figure 8).

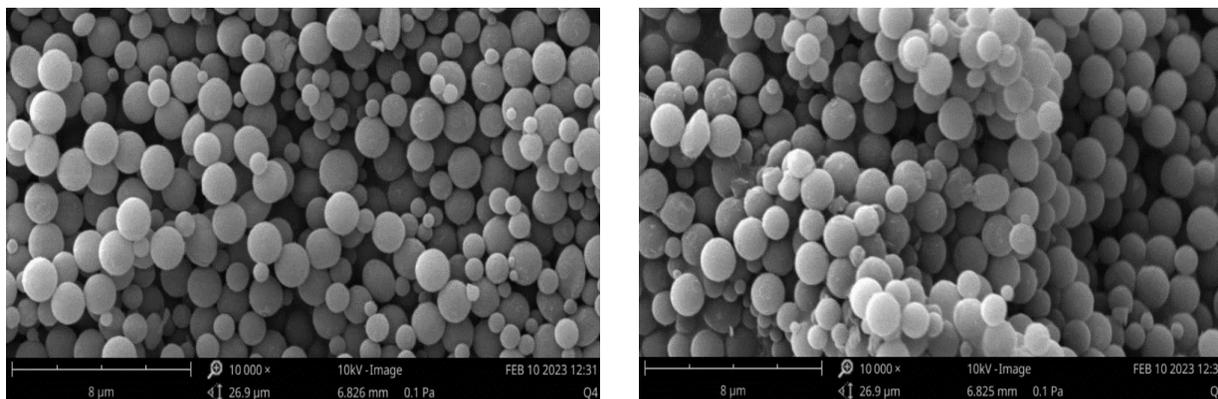


Figure 8. Samples of polystyrene microspheres analysed by scanning electron microscopy (SEM) with a Hitachi S-4700. Scale bar: $8 \mu\text{m}$

Compared with the protocol employed by Ha and al. (2010), the styrene particles obtained were characterized by lower size variability and showed a more pronounced tendency to agglomerate with each other (Figure 9). The use of APS in the optimization of this synthesis enabled finer particle sizes of 700 nm to be obtained. This is due to the sulfate group that is available on the particle surface and reduces their solubility in the ethanol-based medium because persulfate generates radicals and initiates the polymerization reaction (Ha et al., 2010).

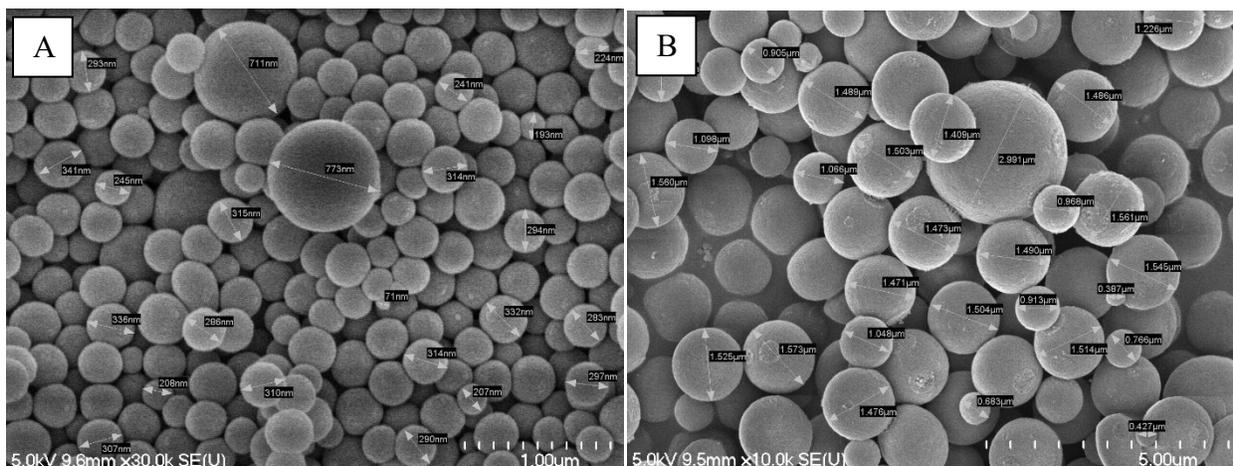


Figure 9. Samples of polystyrene nano-sphere, scale bar: 1 μm (A) and micro-sphere, scale bar: 5 μm (B) analysed by SEM with a Hitachi S-4700, scale bar: 5 μm .

As observed in several studies on micro-nano particle synthesis, the concentration of APS as well as the styrene-dependent concentration of PVP had an impact on particle size (Ha et al., 2010; Lee et al., 2006). The water/ethanol ratio (v/v) helps determine the polydisperse or monodisperse behavior of micro-nanoparticles (Zhang et al., 2021).

Finally, particle characterization using the zetasizer (Figure 10), SEM (Hitachi S-4700 and SEM-Table) and cytometer, enabled us to establish a gradient table of the MPs/NPs previously synthesized for the exposure period in T1 and T2 (Figure S.1) (Table3).

Table 3: Data from Zetasizer, MEB and cytometer used to characterize the size of MPs/NPs as a function of replicates (Q4, Q5 and Q6).

	Zetasizer		Hitachi S-4700		SEM-Table		Cytometer
Sample	Average	SD	Average	SD	Average	SD	
Q4	0.78	0.29	1.28	0.48	1.33	0.25	
Q5	1.27	0.39			1.47	0.14	
Q6	1.20	0.21			1.62	0.35	2.15-2.18

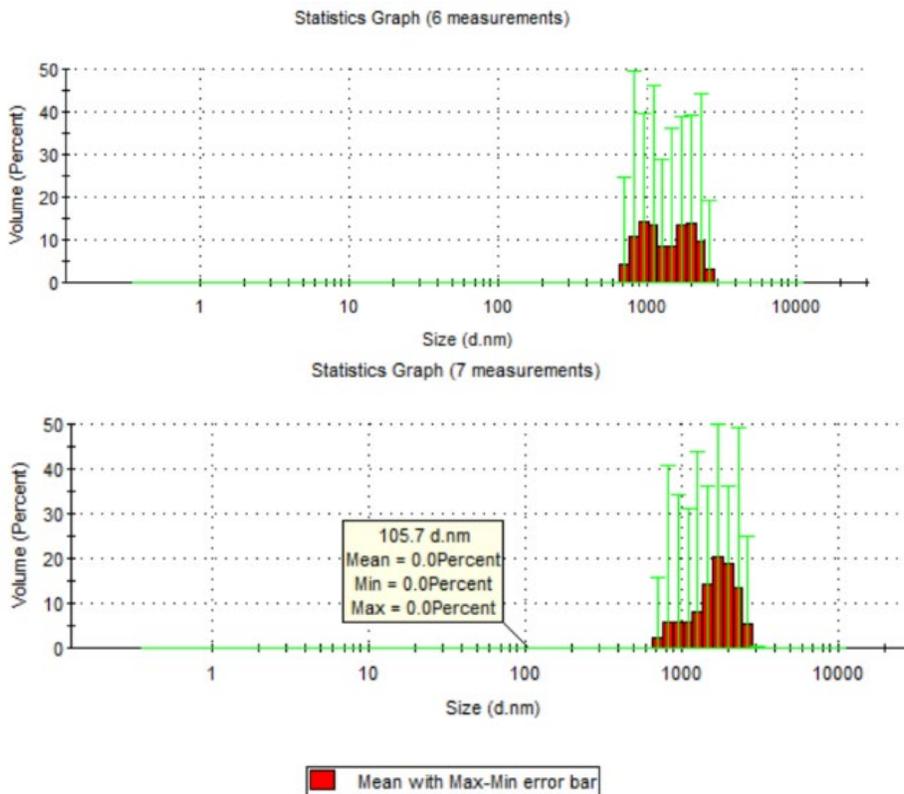


Figure 10: Sample size (nm) and volume (%) distribution of synthesized MPs/NPs measured with the Zetasizer (Malvern's Nanon ZS). The green lines represent the SD.

1.6.2 Kinetics of MPS-¹⁴CPS in water

The kinetics of MPS-¹⁴CPS disappearance in tank T1 decreased steadily over the course of exposure (Figure 11). The concentration of ¹⁴C available in the water decreased by 81% after 6-hours exposure with 77% of MPs potentially consumed by scallops, as observed in Soubaneh et al. (2023). During depuration, the level of MPS-¹⁴CPS particles in the tank was maintained. After 4 days of depuration, a concentration of 0.05 ± 0.001 kBq ¹⁴C.L⁻¹ was observed, gradually decreasing until the 6th day of depuration (0.03 ± 0.04 kBq ¹⁴C.L⁻¹). During the 7th day, an increase in the concentration of radioactivity was observed up to 0.09 ± 0.012 kBq ¹⁴C.L⁻¹. Concentrations below the detection limit (0.077 kBq ¹⁴C.L⁻¹) were observed only at the 14th day but without significant decrease ($dF= 3$ years 11, pseudo-F=9.884, $p=0.0026$).

The results of the reduction in radioactivity during exposure align with those of previous studies (Al-Sid-Cheikh et al., 2018; Wright et al., 2013) on the ability of filter-feeding organisms to filter microparticles in the presence of their food. Absence of a significant decrease in water tank level could be related to the very low level observed in the water after exposure.

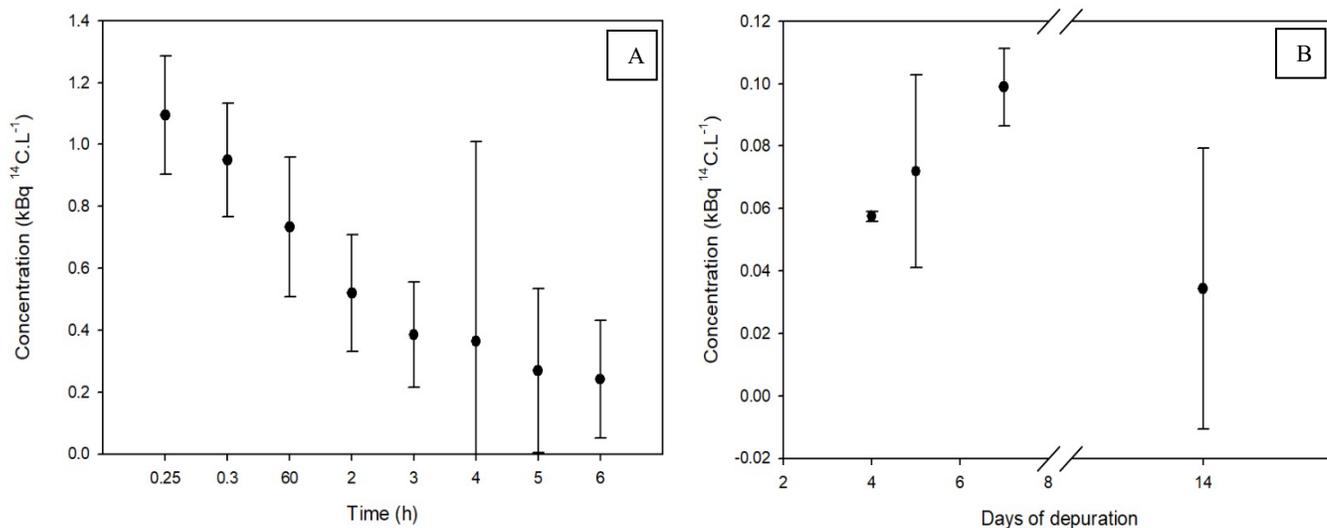


Figure 11. Concentration of MP-¹⁴CPS (kBq¹⁴C.L⁻¹) in tank water after the first 6-hours of the acute exposure (A) and concentration of MPS-¹⁴C (kBq¹⁴C.L⁻¹) after depuration (B). (X SD, n=3).

1.6.3 Whole body autoradiography (WARG)

The biodistribution of MPS-¹⁴CPS in scallop tissues after a 6-hour pulsed exposure was recorded by the autoradiography method (Figure 12). The quantification shows that after 6 hours, the mean whole-body measure was 0.11 ± 0.03 kBq·g⁻¹ww. More precisely, MPs were biodistributed in the hepatopancreas (0.84 ± 0.66 kBq·g⁻¹ww) and the digestive tract (0.23 ± 0.11 kBq·g⁻¹ww) as previously observed by Al-Sid-Cheikh et al., (2018) and Soubaneh et al. (2023). Slight bioaccumulation of MPs was observed in these target organs after 3 months' exposure, with 0.47 ± 0.51 kBq·g⁻¹ww at the start and 0.84 ± 0.64 kBq·g⁻¹ww at the end of contamination for the hepatopancreas with no statistical difference. For the

digestive tract, no bioaccumulation was observed with $0.31 \pm 0.05 \text{ kBq}\cdot\text{g}^{-1}\text{ww}$ and $0.29 \pm 0.12 \text{ kBq}\cdot\text{g}^{-1}\text{ww}$ between the beginning and end of contamination of 3 months respectively.

Microparticles were rapidly depurated by the organisms, as also observed by Soubaneh et al. (2023), and after 7 days, the concentration levels of MPS-¹⁴CPS in the whole body were below the detection limit ($0.007 \text{ kBq}\cdot\text{g}^{-1}\text{ww}$) with $0.003 \pm 0.004 \text{ kBq}\cdot\text{g}^{-1}\text{ww}$ (Figure 13). Only in the hepatopancreas on the 7th day, a slight concentration of MPS-¹⁴CPS of $0.09 \pm 0.04 \text{ kBq}\cdot\text{g}^{-1}\text{ww}$ was observed. On the 71st day of depuration, no concentration of MPS-¹⁴CPS was detected in the organs. Further information is available in supplementary data (Figures S.3 and S.4). The results obtained from this study are consistent with the results of those previous in the literature relating to the bioaccumulation and depuration of plastic NPs/MPs (Al-Sid-Cheikh et al., 2018; Ribeiro et al., 2022; Soubaneh et al., 2023). These observations are also in accordance from Sui et al. (2023), on *Clamys ferreri*, sampled in coastal aquaculture sites. The authors observed that the majority of microparticles (from 5 μm to 1 mm) were in the anus, intestine, and kidneys, while the gills, muscles and gonads were relatively free of MPs.

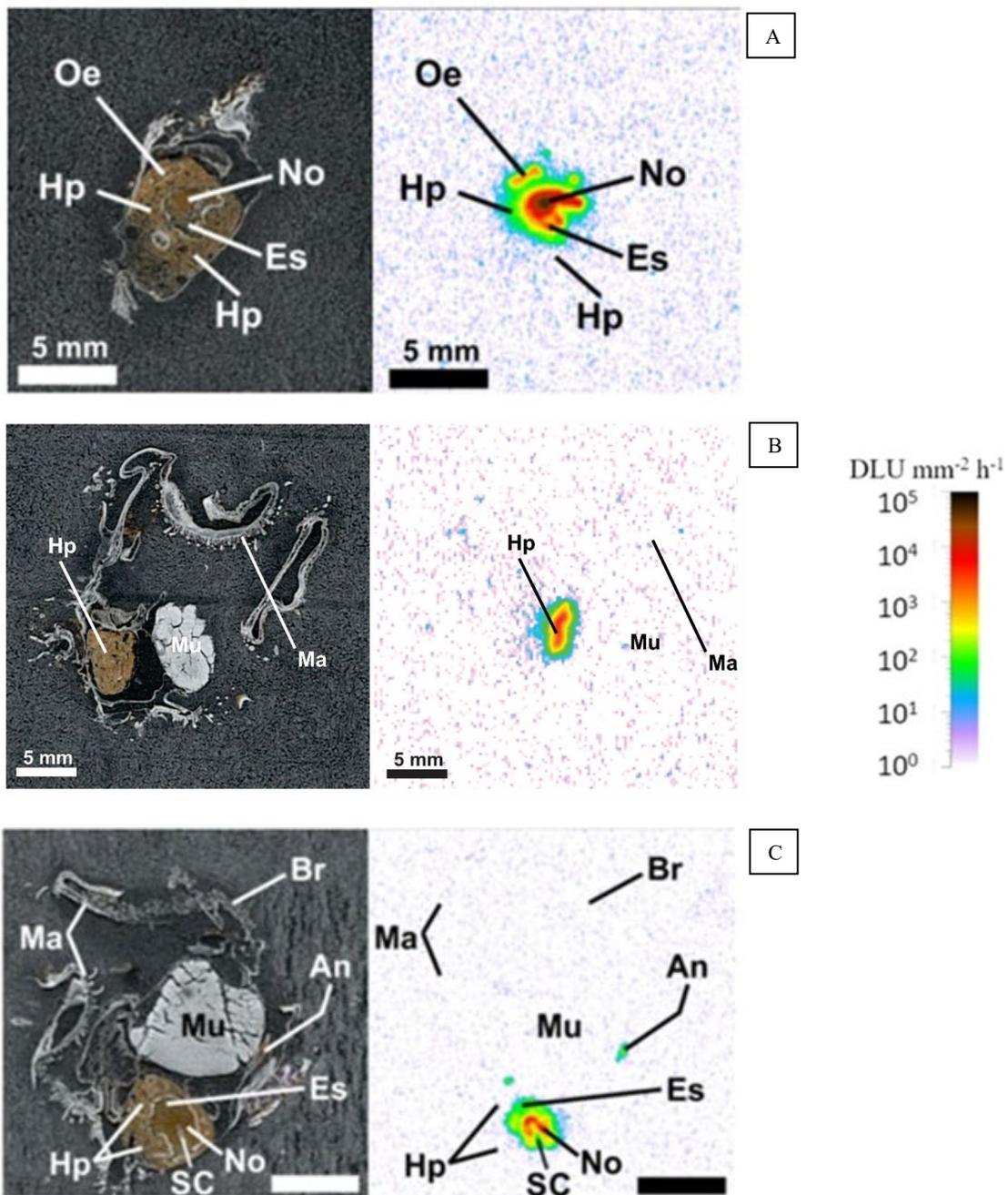


Figure 12. Autoradiography showing radioactivity concentration (DLU) higher in red and lower in blue during the contamination period. Day 21 (A), Day 39 (B) and Day 84 (C). Legends: An: anus, Br: gills, Es: stomach, Hp: hepatopancreas, In-desc: descending intestine, Ma: mantle, Mu: muscle, Oe: oesophagus, No: food, SC/ST: crystalline stylet.

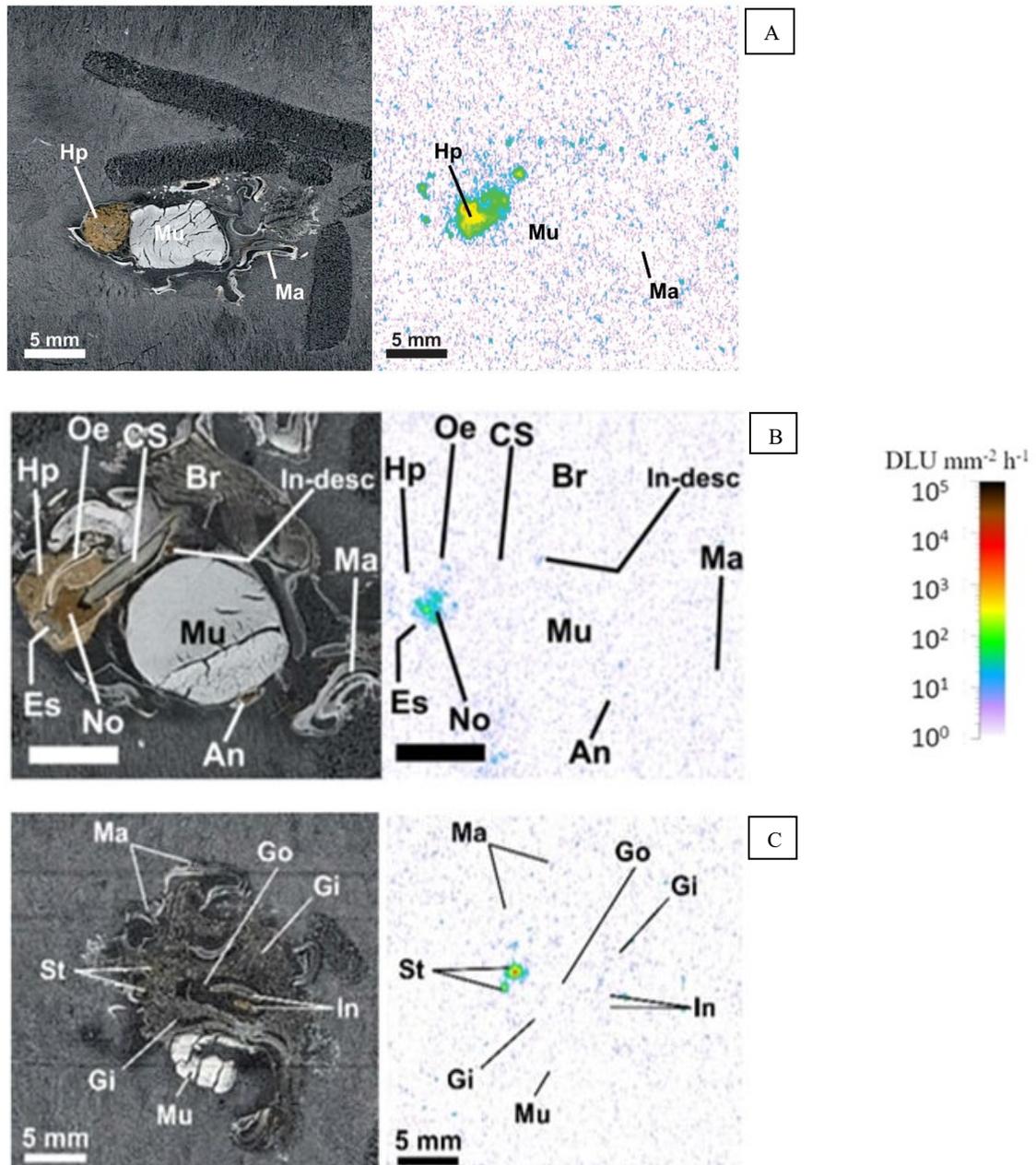


Figure 13. Autoradiography showing radioactivity concentration (DLU) higher in red and lower in blue during the depuration period. Day 7 (A), Day 24 (B) and Day 71 (C). Legends: An: anus, Br: gills, Es: stomach, Hp: hepatopancreas, In-desc: descending intestine, Ma: mantle, Mu: muscle, Oe: oesophagus, No: food, SC/ST: crystalline stylet.

Scallops have a filtration mechanism allowing them to reject filtered specific particles without ingestion (Ward et al., 2019), with some walls of the stomach formed by a complex design of folds and ciliated ridges thought to act as sorting zones (Reid, 1965). This complex design and the crystalline stylet allow the circulation of fluids inside the stomach (Purchon, 1987). Physical properties such as particle size can influence ingestion; larger particles could be recycled until broken down during extracellular digestion while smaller particles could be transported in pseudo-faeces as described by Brilliant and MacDonald, (2000). Furthermore, our results suggest that MPs are mainly expelled in pseudo-faeces or faeces, which could explain their low ingestion and their rapid transit through the gland and the digestive tract. Al-Sid-Cheikh et al. (2018) observed in their short exposures that 24 to 250 nm sized PS NPs were able to pass through tissue to the adductor muscle, the consumed part. Here, our results show that even the smaller 700 nm particles did not translocate to the muscle and remained focused in the hepatopancreas and gastrointestinal tract, as suggested by Ward et al. (2019).

1.6.4 MPS-¹⁴CPS accumulation kinetics in organs

Samples of the organisms' hepatopancreas and muscle were taken immediately after 6h of exposure (n=2, Tables S.2 and S.3). The figure reveals a slight but significant trace of MPS-¹⁴CPS concentration in certain scallop organs, such as the hepatopancreas after 3 months of exposure (dF = 11 and 119, pseudo - F = 6.6431, p = 0.0001). The maximum concentration observed in the hepatopancreas was 0.49 ± 0.13 kBq·g⁻¹ww during the third week of exposure. After the first week of depuration, the concentration of radioactivity present was drastically reduced to values below the detection limit, 0.017 ± 0.003 kBq·g⁻¹ww. For the muscle, during the contamination and depuration period, no trace of radioactivity was detected, and in fact all values were below 0.025 ± 0.003 kBq·g⁻¹ww (Figure 14). In the studies conducted by Al-Sid-Cheikh et al. (2018), Brilliant and MacDonald, (2000), and Soubaneh et al. (2023), similar results were obtained during short-term exposure to scallops, indicating that no bioaccumulation of MPS-¹⁴CPS is observed in the organs of organisms during long or short exposure. This means that the organisms possess

a reliable particle selection mechanism, enabling undesirable or toxic particles to be eliminated efficiently, as demonstrated in several studies (Al-Sid-Cheikh et al., 2018; Fernández and Albentosa, 2019; Soubaneh et al., 2023; Ward et al., 2019). Finally, these results show that the MPS-¹⁴CPS particles were not translocated/transferred into other organs such as from the hepatopancreas to muscle as observed by Al-Sid-Cheikh et al. (2018), but remained concentrated in the digestive system of organisms (Brillant and MacDonald, 2000).

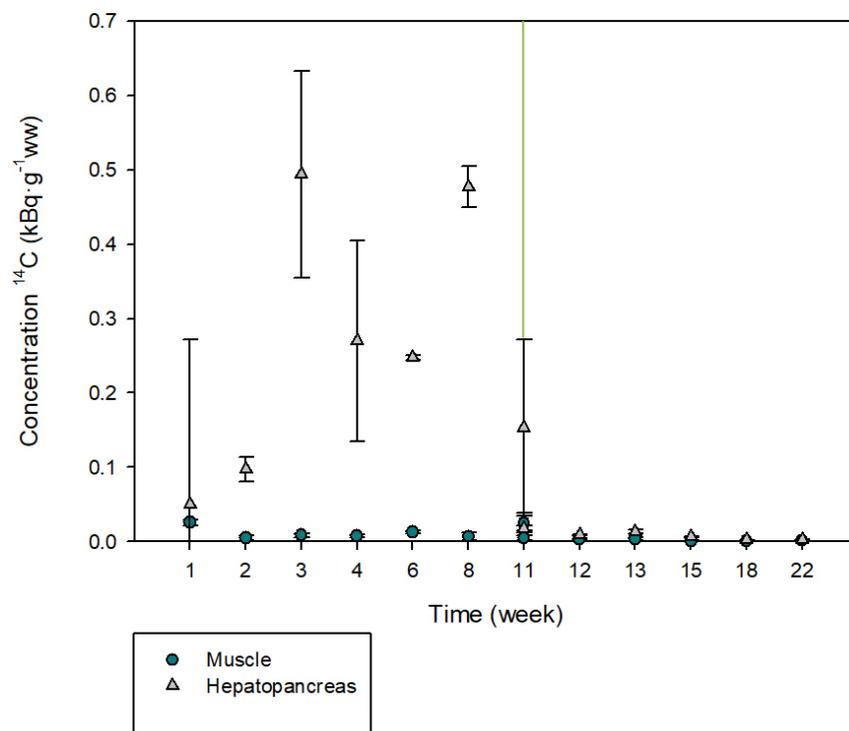


Figure 14. MPS-¹⁴CPS concentration (kBq.g⁻¹ ww) in scallop muscle and hepatopancreas as a function of time in weeks. The green line represents the end of the contamination and the beginning of the depuration period.

1.6.5 Lipids and glycogen concentration

Lipid extraction from the hepatopancreas was performed in scallops exposed to MPS-PS for 3 months and in scallops not exposed to MPs. This was used to assess the storage status of lipid reserves under different treatments and at different times. The results of this study showed no difference in lipid classes composition between MPS-PS-fed scallops and microalgae-fed scallops (Table 4) (dF = 3 and 39, pseudo – F = 2.26, p = 0.586).

Table 4. Mean lipid classes composition of the hepatopancreas of exposure and non-exposure scallop MPS-PS-fed and microalgae-fed. Legend: HC: Hydrocarbon, SE-WE: Sterol ester-Wax ester, KET: Ketone, ST: Free sterol, AMPL: Acetone mobile polar lipid and PL: Phospholipid.

	HC (%)	SE-WE (%)	KET (%)	ST (%)	AMPL (%)	PL (%)
Average	2.4	4.0	7.2	9.7	15.2	61.52
SD	4.1	3.7	7.1	3.5	5.6	13.7

Total lipids represent the lipids available in the entire hepatopancreas. As for lipid classes, no impact was observed for the MPS-PS-fed scallops compared to the control scallops (dF= 3 and 39, pseudo – F = 0.025, p = 0.891) with a mean $49 \pm 18 \text{ mg g}^{-1}$ dry mass.

Glycogen content in scallop muscle did not show any significant difference between MPS-PS-fed and microalgae-fed scallops over time (dF=3 and 39, pseudo-F=0.035, p=0.89). The average glycogen concentration observed was $1.00 \pm 0.002 \text{ mg g}^{-1}$ dry mass.

Unlike other available studies (Bour et al., 2018; Shang et al., 2021), the energy reserves (lipids and glycogen) of the scallops were not influenced by the presence of MPs. Finally, the study used young adult scallops and due to their young age, it was not possible to differentiate males from females. Young adults, in their constant growth phase, deplete their resources (lipids and glycogen) daily. The low concentrations of lipid reserves observed

in the hepatopancreas are in line with previous studies analyzing the lipid content of Atlantic scallop gonads (Napolitano et al., 1993; Napolitano and Ackman, 1992; Pernet et al., 2003), suggesting that energy is not stored, but mainly used for organism growth.

1.7 CONCLUSIONS

A three-month exposure to radiolabelled and non-radiolabelled polystyrene MPs, followed by a depuration phase, has been carried out for the first time on *P. magellanicus*, enabling a better understanding of the ingestion, bioaccumulation and depuration processes of MPs in this species, prized for its muscle, and thus improving our knowledge of their potential effects.

The MPs used, with a size of $1.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$, were at least partially ingested by the scallops and found to be mainly localized in the digestive system, in line with the previous findings of Ward et al. (2019) and Soubaneh et al. (2023). Rapid depuration of particles also makes it possible to confirm that MPs are poorly bioaccumulated in the tissues of organisms without translocate/transfer into other organs such as muscle, which is the only part consumed by humans.

In conclusion, these results illustrate that MPS-¹⁴CPS is not bioaccumulated in the tissues of young Atlantic scallops, as also observed by Soubaneh et al. (2023). Contrary to this last study, long-term exposure of several months was used but with similar results. MPS-¹⁴CPS remained localized in the hepatopancreas as well as in the digestive tract, from where they were rapidly excreted. The highly prized edible part of these scallops, namely the white adductor muscle, remained entirely free of ¹⁴C-labelled microparticles. In addition, plastic MPs had no negative impact on the lipid content nor the glycogen reserves of the organisms. These results go against this of previous study, in which smaller NPs (24 nm), were observed moving/transferring in the circulatory system of the scallop *Pecten maximus* (Al-Sid-Cheikh et al., 2018). Thus, the pseudo-faeces and faeces of filter-feeding organisms could represent a new source of contamination in the environment which should be taken into consideration in future research to evaluate the transfer and its impact in the trophic network.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les recherches entreprises dans le cadre de ce mémoire de maîtrise se concentrent sur la préparation de microparticules de polystyrène radiomarquées au ^{14}C (MPS- ^{14}CPS) ainsi que leur bioaccumulation, leur biodistribution et leur cinétique d'accumulation dans les tissus des pétoncles géants (*Placopecten magellanicus*). La condition énergétique estimée par les classes de lipides et le contenu en glycogène des individus a été analysée afin d'évaluer les effets des microparticules sur un organisme filtreur. Les progrès réalisés au sein de cette initiative se sont révélés cruciaux pour combler les lacunes relatives aux impacts à long terme de la contamination par des microplastiques dans des conditions environnementales réelles. Cette recherche représente la première longue exposition aux MPs de PS sur le pétoncle géant à notre connaissance. Dans la littérature, on y trouve seulement des expositions longues sur d'autres fruits de mer, tels que la moule ou encore l'huître. Finalement, la méthode de l'autoradiographie, qui n'est pas encore largement utilisée pour détecter les microplastiques (MP) et les nanoplastiques (NPs), a permis de mieux visualiser leur distribution spatiale dans les organismes. Cela nous a permis de mieux comprendre comment les particules de plastique se dispersent et se localisent dans les espèces marines. L'un des principaux avantages de cette méthode est sa polyvalence, puisqu'elle peut être appliquée à un large éventail d'espèces marines, des poissons aux larves de moules, quelle que soit leur taille.

Les résultats de cette étude ont révélé la capacité des pétoncles à ingérer des microparticules de polystyrène d'une taille de $1,3 \pm 0,2 \mu\text{m}$ avec un minimum de 700 nm et un maximum de $1.6 \mu\text{m}$, dans des conditions environnementales similaires à celles du milieu naturel avec des concentrations allant de 1×10^3 à $1 \times 10^9 \text{ MP L}^{-1}$ (Lenz et al., 2016) durant une période de 3 mois. La préparation des microparticules de polystyrène a été faite en amont de l'exposition suivant le protocole d'optimisation des MPs de PS proposé par Ha et al. (2010). Les organismes présentaient une aptitude notable à filtrer les microparticules lors de

la période de contamination, en les ingérant efficacement dans différents organes du système digestif, tels que la bouche, l'hépatopancréas, l'intestin et l'anus, comme le suggère Ward et al. (2019). Mais aucune bioaccumulation dans d'autres tissus des jeunes pétoncles n'a été observée, comme l'ont également observé Soubaneh et al. (2023) lors de leurs expositions de 14 jours sur la même espèce de pétoncle. De plus, les pétoncles géants ont également démontré leur capacité à expulser rapidement toutes les microparticules de leurs organes dans un laps de temps de 120 heures, comme le proposent Al-Sid-Cheikh et al. (2018) et Soubaneh et al. (2023). Finalement, aucune incidence et impact n'a été constaté sur les réserves énergétiques, que ce soit au niveau du glycogène ou des réserves lipidiques. Le taux de concentration de la teneur en sucre (glucose) dans le muscle demeurerait conforme aux normes caractéristiques d'un pétoncle en phase de croissance active (Pernet et al., 2003). Aucune altération n'a été observée sur les diverses classes de lipides (lipides totaux ou la composition en classes lipidiques), jouant un rôle crucial dans le bien-être général des individus. La Figure 15 présente de manière schématique les différents organes de *P. magellanicus* et retrace le parcours suivi par les MPs/NPs tout au long de leur transit dans l'organisme. Ce schéma permet de visualiser, étape par étape, le trajet emprunté par les MPs/NPs depuis leur ingestion initiale par la bouche, à travers le système digestif, l'hépatopancréas et l'intestin, jusqu'à leur déjection finale par l'anus. Cette figure schématique aide à mieux comprendre les mécanismes sous-jacents à l'ingestion et à l'élimination des microparticules chez le pétoncle géant, ainsi que leur impact potentiel sur la santé des organismes marins.

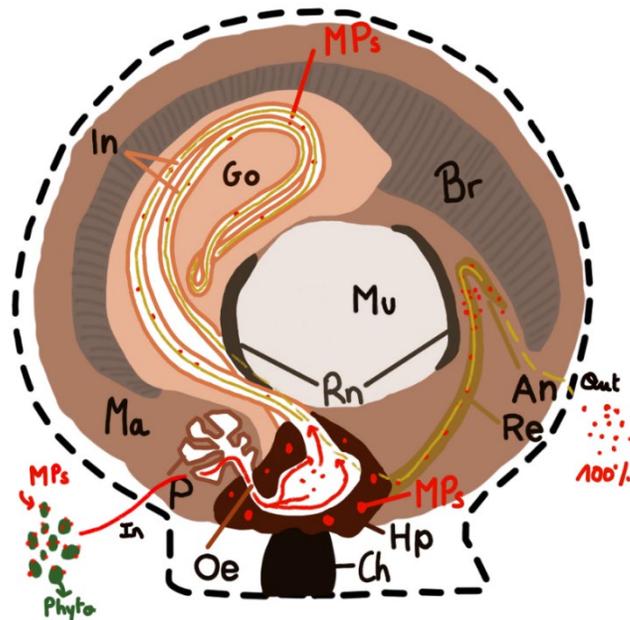


Figure 15. Schéma général des organes internes du pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) illustrant le trajet des microparticules de plastique (ligne jaune) au sein des différents organes. Légende : Ma : manteau, In : Intestin, Go : Gonade, Br : Branchie, Mu : Muscle, An : Anus, Re : Rectum, St : Stylet cristallin, Hp : Hépatopancréas, Oe : Œsophage, Ch : Charnière, P : Palpes et MPs : Microplastiques. Adapté de Soubaneh et al. (2023).

La rapide élimination des MPs par les organismes laisse penser que certaines particules ne sont pas digérées au niveau de l'estomac, mais vont être expulsées via les palpes labiaux et l'adduction des valves, comme suggéré par Beninger et al. (1999). Ceci confirme que les pétoncles sont capables de sélectionner et trier les particules toxiques et sans valeur nutritionnelle pour eux (Brillant and MacDonald, 2000). Les particules mal dirigées vont être de ce fait excrétées sous forme de pseudos-fèces alors que les particules correctement digérées vont être expulsées sous forme de boulette fécale.

Travaux futurs / Perspectives

Les investigations réalisées au cours de ce projet de maîtrise suscitent une réflexion sur la pertinence de poursuivre l'étude du transfert des microparticules de plastique au sein du réseau trophique. En effet, après l'ingestion de MPs, les organismes ont été capables de les trier et de les éjecter rapidement sous forme de boulette fécale. Il serait ainsi intéressant d'explorer l'exposition des pseudo-fèces ainsi que des fèces des pétoncles sur des organismes microphages suspensivores, qui se nourrissent de particules organiques en suspension telles que le krill ou les éponges de mer. L'utilisation de la méthode de radiomarquage permettrait de suivre l'ingestion de ces particules par ces organismes de petite taille, ainsi que la biodistribution de ces particules au sein de leur anatomie. L'exposition à des pseudo-fèces permettrait de comprendre si le rejet de particules mal digérées par les organismes présente une nouvelle source de contamination pour d'autres espèces marines. Finalement, l'étude et l'évaluation de la taille des MPs/NPs dans les organismes permettraient d'observer s'il y a une différence entre les particules données et les particules ingérées par les pétoncles. Cela donnerait la possibilité de déterminer si les MPs/NPs sont ingérées en fonction de la taille synthétisée ou sous une autre taille (plus petite ou plus grande).

Sensibilisation

La réduction de l'utilisation des plastiques à usage unique contribuerait à réduire la pollution qui contamine actuellement nos océans et nos cours d'eau, mais il faut pour cela que le public soit largement sensibilisé et comprenne le problème des déchets plastiques, qui génèrent des microplastiques et des nanoplastiques. Bien, que cette étude n'ait pas révélé d'impact néfaste sur les jeunes pétoncles, il n'en demeure pas moins que ces polluants constituent une menace pour la faune et la flore marine, qui entraîne l'extinction d'habitats et de certaines espèces d'animaux marins. Tant que le public ne comprendra pas mieux et n'acceptera pas largement la nécessité de changer les habitudes et l'utilisation du plastique, les problèmes liés aux MPs et aux NPs continueront de s'aggraver. Comme l'a noté Mendenhall (2018), il est peut-être vrai que l'on en sait assez sur les débris plastiques marins

pour savoir qu'il faut faire quelque chose, mais on n'en sait pas assez pour créer l'urgence nécessaire à la formulation et à la mise en œuvre de solutions efficaces. Une base plus profonde de preuves scientifiques ainsi que de la confiance dans ces preuves sont nécessaires pour générer des conventions internationales.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Al-Sid-Cheikh, M., Rowland, S.J., Stevenson, K., Rouleau, C., Henry, T.B., Thompson, R.C., 2018. Uptake, Whole-Body Distribution, and Depuration of Nanoplastics by the Scallop *Pecten maximus* at Environmentally Realistic Concentrations. *Environ. Sci. Technol.* 52, 14480–14486. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05266>
- Anderson, W., Kozak, D., Coleman, V.A., Jämting, Å.K., Trau, M., 2013. A comparative study of submicron particle sizing platforms: Accuracy, precision and resolution analysis of polydisperse particle size distributions. *J. Colloid Interface Sci.* 405, 322–330. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.02.030>
- Andrady, A.L., 2011. Microplastics in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 1596–1605. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.05.030>
- Andrady, A.L., Neal, M.A., 2009. Applications and societal benefits of plastics. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 364, 1977–1984. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0304>
- Auta, H.S., Emenike, C.U., Fauziah, S.H., 2017. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *Environ. Int.* 102, 165–176. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013>
- Baechler, B.R., Stienbarger, C.D., Horn, D.A., Joseph, J., Taylor, A.R., Granek, E.F., Brander, S.M., 2020. Microplastic occurrence and effects in commercially harvested North American finfish and shellfish: Current knowledge and future directions. *Limnol. Oceanogr. Lett.* 5, 113–136. <https://doi.org/10.1002/lol2.10122>
- Barber, B.J., Blake, N.J., 1981. Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (say). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 52, 121–134. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(81\)90031-9](https://doi.org/10.1016/0022-0981(81)90031-9)
- Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M., 2009. Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 364, 1985–1998. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0205>
- Barrett, K.E.J., 1973. Dispersion polymerisation in organic media. *Br. Polym. J.* 5, 259–271. <https://doi.org/10.1002/pi.4980050403>

- Bellakhal, M., Ishak, S., Al-Hoshani, N., Qurtam, A.A., Al-Zharani, M., Pacioglu, O., Boufahja, F., 2023. The multifaceted effects of fluoranthene and polystyrene on the taxonomic composition and associated functional traits of marine meiofauna, by using single and mixture applications. *Mar. Pollut. Bull.* 194, 115390. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115390>
- Beninger, P.G., Veniot, A., Poussart, Y., 1999. Principles of pseudofeces rejection on the bivalve mantle: integration in particle processing. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 178, 259–269. <https://doi.org/10.3354/meps178259>
- Beninger, P.G., St-Jean, S.D., 1997. The role of mucus in particle processing by suspension-feeding marine bivalves: unifying principles. *Mar. Biol.* 129, 389–397. <https://doi.org/10.1007/s002270050179>
- Beninger, P.G., Ward, J.E., MacDonald, B.A., Thompson, R.J., 1992. Gill function and particle transport in *Placopecten magellanicus* (Mollusca: Bivalvia) as revealed using video endoscopy. *Mar. Biol.* 114, 281–288. <https://doi.org/10.1007/BF00349531>
- Bonhomme, S., Cuer, A., Delort, A.-M., Lemaire, J., Sancelme, M., Scott, G., 2003. Environmental biodegradation of polyethylene. *Polym. Degrad. Stab.* 81, 441–452. [https://doi.org/10.1016/S0141-3910\(03\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0141-3910(03)00129-0)
- Boucher, J., Billard, G., Simeone, E., Sousa, J., 2020. The marine plastic footprint. IUCN, International Union for Conservation of Nature. <https://doi.org/10.2305/IUCN.CH.2020.01.en>
- Bour, A., Haarr, A., Keiter, S., Hylland, K., 2018. Environmentally relevant microplastic exposure affects sediment-dwelling bivalves. *Environ. Pollut.* 236, 652–660. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.02.006>
- Bridson, J.H., Patel, M., Lewis, A., Gaw, S., Parker, K., 2020. Microplastic contamination in Auckland (New Zealand) beach sediments. *Mar. Pollut. Bull.* 151, 110867. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110867>
- Brillant, M.G.S., MacDonald, B.A., 2003. Postingestive sorting of living and heat-killed *Chlorella* within the sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 290, 81–91. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(03\)00073-X](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(03)00073-X)
- Brillant, M.G.S., MacDonald, B.A., 2002. Postingestive selection in the sea scallop (*Placopecten magellanicus*) on the basis of chemical properties of particles. *Mar. Biol.* 141, 457–465. <https://doi.org/10.1007/s00227-002-0845-2>

- Brillant, M.G.S., MacDonald, B.A., 2000. Postingestive selection in the sea scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin): the role of particle size and density. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 253, 211–227. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(00\)00258-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(00)00258-6)
- Bringer, A., Cachot, J., Prunier, G., Dubillot, E., Clérandeau, C., Hélène Thomas, 2020. Experimental ingestion of fluorescent microplastics by pacific oysters, *Crassostrea gigas*, and their effects on the behaviour and development at early stages. *Chemosphere* 254, 126793. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126793>
- 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.). *Environ. Sci. Technol.* 42, 5026–5031. <https://doi.org/10.1021/es800249a>
- Browne, M.A., Niven, S.J., Galloway, T.S., Rowland, S.J., Thompson, R.C., 2013. Microplastic Moves Pollutants and Additives to Worms, Reducing Functions Linked to Health and Biodiversity. *Curr. Biol.* 23, 2388–2392. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.10.012>
- Bubel, A., 1984. Epidermal cells, in: *Biology of the Integument: Invertebrates*. Springer, pp. 400–447.
- Burns, E.E., Boxall, A.B.A., 2018. Microplastics in the aquatic environment: Evidence for or against adverse impacts and major knowledge gaps. *Environ. Toxicol. Chem.* 37, 2776–2796. <https://doi.org/10.1002/etc.4268>
- Burton, G.A., 2017. Stressor Exposures Determine Risk: So, Why Do Fellow Scientists Continue To Focus on Superficial Microplastics Risk? *Environ. Sci. Technol.* 51, 13515–13516. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b05463>
- Cameron, G.G., Kerr, G.P., 1968. Thermal degradation of polystyrene—I. Chain scission at low temperatures. *Eur. Polym. J.* 4, 709–717. [https://doi.org/10.1016/0014-3057\(68\)90052-9](https://doi.org/10.1016/0014-3057(68)90052-9)
- Carpenter, E.J., Anderson, S.J., Harvey, G.R., Miklas, H.P., Peck, B.B., 1972. Polystyrene Spherules in Coastal Waters. *Science* 178, 749–750. <https://doi.org/10.1126/science.178.4062.749>
- Carr, R.S., Neff, J.M., 1984. Quantitative semi-automated enzymatic assay for tissue glycogen. *Comp. Biochem. Physiol. Part B Comp. Biochem.* 77, 447–449. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(84\)90258-X](https://doi.org/10.1016/0305-0491(84)90258-X)
- Cheung, P.K., Fok, L., 2017. Characterisation of plastic microbeads in facial scrubs and their estimated emissions in Mainland China. *Water Res.* 122, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.05.053>

- Choi, H., Im, D.-H., Park, Y.-H., Lee, J.-W., Yoon, S.-J., Hwang, U.-K., 2022. Ingestion and egestion of polystyrene microplastic fragments by the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Environ. Pollut.* 307, 119217. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119217>
- 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. *Mar. Pollut. Bull.* 62, 2199–2204. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.06.030>
- Cognie, B., Barillé, L., Massé, G., Beninger, P., 2003. Selection and processing of large suspended algae in the oyster *Crassostrea gigas*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 250, 145–152. <https://doi.org/10.3354/meps250145>
- Collignon, A., Hecq, J.-H., Glagani, F., Voisin, P., Collard, F., Goffart, A., 2012. Neustonic microplastic and zooplankton in the North Western Mediterranean Sea. *Mar. Pollut. Bull.* 64, 861–864. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.01.011>
- Córdova, A., Iversen, T., Hult, K., 1999. Lipase-catalyzed formation of end-functionalized poly(ϵ -caprolactone) by initiation and termination reactions. *Polymer* 40, 6709–6721. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(99\)00017-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(99)00017-8)
- Cranford, P.J., Gordon, D.C., 1992. The influence of dilute clay suspensions on sea scallop (*Placopecten magellanicus*) feeding activity and tissue growth. *Neth. J. Sea Res.* 30, 107–120. [https://doi.org/10.1016/0077-7579\(92\)90050-O](https://doi.org/10.1016/0077-7579(92)90050-O)
- Dame, R.F., 2016. *Ecology of Marine Bivalves: An Ecosystem Approach*, 2nd ed. CRC Press, Boca Raton. <https://doi.org/10.1201/b11220>
- De Marchi, L., Renzi, M., Anselmi, S., Pretti, C., Guazzelli, E., Martinelli, E., Cuccaro, A., Oliva, M., Magri, M., Bulleri, F., 2022. Polyethylene microplastics reduce filtration and respiration rates in the Mediterranean sponge *Petrosia ficiformis*. *Environ. Res.* 211, 113094. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113094>
- Do Sul, J.A.I., Spengler, Â., Costa, M.F., 2009. Here, there and everywhere. Small plastic fragments and pellets on beaches of Fernando de Noronha (Equatorial Western Atlantic). *Mar. Pollut. Bull.* 58, 1236–1238.
- Eriksen, M., Maximenko, N., Thiel, M., Cummins, A., Lattin, G., Wilson, S., Hafner, J., Zellers, A., Rifman, S., 2013. Plastic pollution in the South Pacific subtropical gyre. *Mar. Pollut. Bull.* 68, 71–76. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.12.021>

- Espinosa, E.P., Perrigault, M., Ward, J.E., Shumway, S.E., Allam, B., 2009. Lectins Associated With the Feeding Organs of the Oyster *Crassostrea virginica* Can Mediate Particle Selection. *Biol. Bull.* 217, 130–141. <https://doi.org/10.1086/BBLv217n2p130>
- European Commission. Directorate General for Research and Innovation., 2020. Biodegradability of plastics in the open environment. Publications Office, LU.
- Evan Ward, J., Shumway, S.E., 2004. Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 300, 83–130. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2004.03.002>
- Farrell, P., Nelson, K., 2013. Trophic level transfer of microplastic: *Mytilus edulis* (L.) to *Carcinus maenas* (L.). *Environ. Pollut.* 177, 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.01.046>
- Fernández, B., Albentosa, M., 2019. Insights into the uptake, elimination and accumulation of microplastics in mussel. *Environ. Pollut.* 249, 321–329. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.037>
- Filimonova, V., Gonçalves, F., Marques, J.C., De Troch, M., Gonçalves, A.M.M., 2016. Biochemical and toxicological effects of organic (herbicide Primextra® Gold TZ) and inorganic (copper) compounds on zooplankton and phytoplankton species. *Aquat. Toxicol.* 177, 33–43. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2016.05.008>
- Folch, J., Lees, M. and Sloane-Stanley, G.H. (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226, 497-509.
- Freymond, C., Mackré-Delannoy, X., Guinault, A., Charbuillet, C., Fayolle, B., 2022. Thermal oxidation of acrylonitrile-butadiene-styrene: Origin of the ductile/brittle transition. *Polym. Degrad. Stab.* 206, 110186. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2022.110186>
- Fu, W., Min, J., Jiang, W., Li, Y., Zhang, W., 2020. Separation, characterization and identification of microplastics and nanoplastics in the environment. *Sci. Total Environ.* 721, 137561. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137561>
- Gabbot P. A., 1975. Storage cycles in marine bivalve molluscs: A hypothesis concerning the relationship between glycogen metabolism and gametogenesis, in: *Proceeding 9th Eur. Mar. Biol. Symp.* 191–211.
- Gagnon, C., Fisher, N.S., 1997. The bioavailability of sediment-bound Cd, Co, and Ag to the mussel *Mytilus edulis*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 54, 147–156. <https://doi.org/10.1139/f96-256>

- Galgani, F., Bruzard, S., Duflos, G., Fabre, P., Casdaldi, E., Ghiglione, J., Grimaud, R., George, M., Huvet, A., Lagarde, F., Paul-Pont, I., Ter Halle, A., 2020. Pollution des océans par les plastiques et les microplastiques, Pollution of oceans by plastics and microplastics. Tech. Ing.
- Gao, Z., Pan, L., Xu, R., Zhou, Y., Li, D., 2022. Insights into disruption of lipid metabolism in digestive gland of female scallop *Chlamys farreri* under B[a]P exposure. Environ. Pollut. 299, 118904. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118904>
- Gardon, T., Reisser, C., Soyez, C., Quillien, V., Le Moullac, G., 2018. Microplastics Affect Energy Balance and Gametogenesis in the Pearl Oyster *Pinctada margaritifera*. Environ. Sci. Technol. 52, 5277–5286. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b00168>
- Garrido, M.V., Chaparro, O.R., Thompson, R.J., Garrido, O., Navarro, J.M., 2012. Particle sorting and formation and elimination of pseudofaeces in the bivalves *Mulinia edulis* (siphonate) and *Mytilus chilensis* (asiphonate). Mar. Biol. 159, 987–1000. <https://doi.org/10.1007/s00227-012-1879-8>
- Geyer, R., Jambeck, J.R., Law, K.L., 2017. Production, use, and fate of all plastics ever made. Sci. Adv. 3, e1700782. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>
- Giese, A.C., 1966. Lipids in the economy of marine invertebrates. Physiol. Rev. 46, 244–298. <https://doi.org/10.1152/physrev.1966.46.2.244>
- Gonçalves, J.M., Benedetti, M., d’Errico, G., Regoli, F., Bebianno, M.J., 2023. Polystyrene nanoplastics in the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. Environ. Pollut. 333, 122104. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122104>
- Graham, E.R., Thompson, J.T., 2009. Deposit- and suspension-feeding sea cucumbers (Echinodermata) ingest plastic fragments. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 368, 22–29. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.09.007>
- Gregory, M.R., 2009. Environmental implications of plastic debris in marine settings—entanglement, ingestion, smothering, hangers-on, hitch-hiking and alien invasions. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 364, 2013–2025. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0265>
- Guillou, E., Cyr, C., Toupoint, N., Tremblay, R., 2023. Performance of blue mussel culture in nearshore and offshore environments. Aquac. Rep. 28, 101451. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101451>

- Güven, O., Gökdağ, K., Jovanović, B., Kıdeyş, A.E., 2017. Microplastic litter composition of the Turkish territorial waters of the Mediterranean Sea, and its occurrence in the gastrointestinal tract of fish. *Environ. Pollut.* 223, 286–294. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.01.025>
- Ha, S.T., Park, O.O., Im, S.H., 2010. Size control of highly monodisperse polystyrene particles by modified dispersion polymerization. *Macromol. Res.* 18, 935–943. <https://doi.org/10.1007/s13233-010-1008-9>
- Hahladakis, J.N., Iacovidou, E., 2018. Closing the loop on plastic packaging materials: What is quality and how does it affect their circularity? *Sci. Total Environ.* 630, 1394–1400. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.330>
- Hardy, D., 2006. *Scallop farming*, 2nd ed. ed. Blackwell publ, Oxford.
- Hart, D., Chute, A., 2004. Sea scallop, *Placopecten magellanicus*, life history and habitat characteristics, Essential fish habitat source document. NOAA Tech Memo NMFS-NE 198, 32pp.
- Hart, M.W., 1991. Particle Captures and the Method of Suspension Feeding by Echinoderm Larvae. *Biol. Bull.* 180, 12–27. <https://doi.org/10.2307/1542425>
- Hartmann, N.B., Hüffer, T., Thompson, R.C., Hassellöv, M., Verschoor, A., Daugaard, A.E., Rist, S., Karlsson, T., Brennholt, N., Cole, M., Herrling, M.P., Hess, M.C., Ivleva, N.P., Lusher, A.L., Wagner, M., 2019. Are We Speaking the Same Language? Recommendations for a Definition and Categorization Framework for Plastic Debris. *Environ. Sci. Technol.* 53, 1039–1047. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05297>
- He, S., Jia, M., Xiang, Y., Song, B., Xiong, W., Cao, J., Peng, H., Yang, Y., Wang, W., Yang, Z., Zeng, G., 2022. Biofilm on microplastics in aqueous environment: Physicochemical properties and environmental implications. *J. Hazard. Mater.* 424, 127286. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127286>
- 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. *Environ. Sci. Technol.* 46, 3060–3075. <https://doi.org/10.1021/es2031505>
- Ho, B.T., Roberts, T.K., Lucas, S., 2018. An overview on biodegradation of polystyrene and modified polystyrene: the microbial approach. *Crit. Rev. Biotechnol.* 38, 308–320. <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1355293>

- Huan, P., Wang, H., Liu, B., 2011. Comparative proteomic analysis of challenged Zhikong scallop (*Chlamys farreri*): A new insight into the anti-Vibrio immune response of marine bivalves. *Fish Shellfish Immunol.* 31, 1186–1192. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.10.014>
- Huang, X., Fang, C.-W., Guo, Y.-W., Huang, H.-Q., 2011. Differential protein expression of kidney tissue in the scallop *Patinopecten yessoensis* under acute cadmium stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74, 1232–1237. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2011.02.005>
- Iglesias, J.I.P., Urrutia, M.B., Navarro, E., Alvarez-Jorna, P., Larretxea, X., Bougrier, S., Heral, M., 1996. Variability of feeding processes in the cockle *Cerastoderma edule* (L.) in response to changes in seston concentration and composition. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 197, 121–143. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(95\)00149-2](https://doi.org/10.1016/0022-0981(95)00149-2)
- Jain, R., Gaur, A., Suravajhala, R., Chauhan, U., Pant, M., Tripathi, V., Pant, G., 2023. Microplastic pollution: Understanding microbial degradation and strategies for pollutant reduction. *Sci. Total Environ.* 905, 167098. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167098>
- Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., Law, K.L., 2015. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science* 347, 768–771. <https://doi.org/10.1126/science.1260352>
- Jinhua, L., Guangyuan, Z., 2014. Polystyrene Microbeads by Dispersion Polymerization: Effect of Solvent on Particle Morphology. *Int. J. Polym. Sci.* 2014, 1–4. <https://doi.org/10.1155/2014/703205>
- Jones, J., Allam, B., Espinosa, E.P., 2020. Particle Selection in Suspension-Feeding Bivalves: Does One Model Fit All? *Biol. Bull.* 238, 41–53. <https://doi.org/10.1086/707718>
- Koelmans, A.A., Besseling, E., Shim, W.J., 2015. Nanoplastics in the Aquatic Environment. Critical Review, in: Bergmann, M., Gutow, L., Klages, M. (Eds.), *Marine Anthropogenic Litter*. Springer International Publishing, Cham, pp. 325–340. https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_12
- Koelmans, A.A., Kooi, M., Law, K.L., Van Sebille, E., 2017. All is not lost: deriving a top-down mass budget of plastic at sea. *Environ. Res. Lett.* 12, 114028. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/aa9500>
- Kowalski, N., Reichardt, A.M., Waniek, J.J., 2016. Sinking rates of microplastics and potential implications of their alteration by physical, biological, and chemical factors. *Mar. Pollut. Bull.* 109, 310–319. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.05.064>

- Kraffe, E., Tremblay, R., Belvin, S., LeCoz, J.-R., Marty, Y., Guderley, H., 2008. Effect of reproduction on escape responses, metabolic rates and muscle mitochondrial properties in the scallop *Placopecten magellanicus*. *Mar. Biol.* 156, 25–38. <https://doi.org/10.1007/s00227-008-1062-4>
- Kukut, M., Karal-Yilmaz, O., Yagci, Y., 2013. Synthesis, characterization, and hydrolytic degradation of graft copolymers of polystyrene and aliphatic polyesters. *Des. Monomers Polym.* 16, 233–240. <https://doi.org/10.1080/15685551.2012.725214>
- Kung, H.-C., Wu, C.-H., Cheruiyot, N.K., Mutuku, J.K., Huang, B.-W., Chang-Chien, G.-P., 2023. The Current Status of Atmospheric Micro/Nanoplastics Research: Characterization, Analytical Methods, Fate, and Human Health Risk. *Aerosol Air Qual. Res.* 23, 220362. <https://doi.org/10.4209/aaqr.220362>
- Kwon, B.G., Koizumi, K., Chung, S.-Y., Kodera, Y., Kim, J.-O., Saido, K., 2015. Global styrene oligomers monitoring as new chemical contamination from polystyrene plastic marine pollution. *J. Hazard. Mater.* 300, 359–367. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.07.039>
- Lambert, S., Scherer, C., Wagner, M., 2017. Ecotoxicity testing of microplastics: Considering the heterogeneity of physicochemical properties: Ecotoxicity Testing of Microplastics. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 13, 470–475. <https://doi.org/10.1002/ieam.1901>
- Lambert, S., Sinclair, C.J., Bradley, E.L., Boxall, A.B.A., 2013. Environmental fate of processed natural rubber latex. *Env. Sci Process. Impacts* 15, 1359–1368. <https://doi.org/10.1039/C3EM00192J>
- Lanctôt, C.M., Al-Sid-Cheikh, M., Catarino, A.I., Cresswell, T., Danis, B., Karapanagioti, H.K., Mincer, T., Oberhänsli, F., Swarzenski, P., Tolosa, I., Metian, M., 2018. Application of nuclear techniques to environmental plastics research. *J. Environ. Radioact.* 192, 368–375. <https://doi.org/10.1016/j.jenvrad.2018.07.019>
- Land, M.F., 1965. Image formation by a concave reflector in the eye of the scallop, *Pecten maximus*. *J. Physiol.* 179, 138–153. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1965.sp007653>
- Larson, E.R., 2015. Why Use Plastic?, in: *Thermoplastic Material Selection*. Elsevier, pp. 19–56. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-31299-8.00002-7>
- Lattin, G.L., Moore, C.J., Zellers, A.F., Moore, S.L., Weisberg, S.B., 2004. A comparison of neustonic plastic and zooplankton at different depths near the southern California shore. *Mar. Pollut. Bull.* 49, 291–294. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.01.020>

- Lee, J., Ha, J.U., Choe, S., Lee, C.-S., Shim, S.E., 2006. Synthesis of highly monodisperse polystyrene microspheres via dispersion polymerization using an amphoteric initiator. *J. Colloid Interface Sci.* 298, 663–671. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.01.001>
- Lee, M.-C., Park, J.C., Lee, J.-S., 2018. Effects of environmental stressors on lipid metabolism in aquatic invertebrates. *Aquat. Toxicol.* 200, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.04.016>
- Lenz, R., Enders, K., Nielsen, T.G., 2016. Microplastic exposure studies should be environmentally realistic. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113. <https://doi.org/10.1073/pnas.1606615113>
- Leslie, H.A., Van Velzen, M.J.M., Brandsma, S.H., Vethaak, A.D., Garcia-Vallejo, J.J., Lamoree, M.H., 2022. Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environ. Int.* 163, 107199. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>
- Levinton, J.S., Ward, J.E., Thompson, R.J., 1996. Biodynamics of Particle Processing in Bivalve Molluscs: Models, Data, and Future Directions. *Invertebr. Biol.* 115, 232. <https://doi.org/10.2307/3226933>
- Li, J., Lusher, A.L., Rotchell, J.M., Deudero, S., Turra, A., Bråte, I.L.N., Sun, C., Shahadat Hossain, M., Li, Q., Kolandhasamy, P., Shi, H., 2019. Using mussel as a global bioindicator of coastal microplastic pollution. *Environ. Pollut.* 244, 522–533. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.10.032>
- Li, J., Yang, D., Li, L., Jabeen, K., Shi, H., 2015. Microplastics in commercial bivalves from China. *Environ. Pollut.* 207, 190–195. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.09.018>
- Liebezeit, G., Dubaish, F., 2012. Microplastics in Beaches of the East Frisian Islands Spiekeroog and Kachelotplate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 89, 213–217. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0642-7>
- Liu, S., Shang, E., Liu, J., Wang, Y., Bolan, N., Kirkham, M.B., Li, Y., 2021. What have we known so far for fluorescence staining and quantification of microplastics: A tutorial review. *Front. Environ. Sci. Eng.* 16, 8. <https://doi.org/10.1007/s11783-021-1442-2>
- Lok, K.P., Ober, C.K., 2017. Particle size control in dispersion polymerization of polystyrene. *100 Years CSC Pages CJC 01*, 209–216. <https://doi.org/10.1139/v85-033>

- Lu, Y., Li, M.-C., Lee, J., Liu, C., Mei, C., 2023. Microplastic remediation technologies in water and wastewater treatment processes: Current status and future perspectives. *Sci. Total Environ.* 868, 161618. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161618>
- MacDonald, B.A., Ward, J.E., 2009. Feeding activity of scallops and mussels measured simultaneously in the field: Repeated measures sampling and implications for modelling. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 371, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2009.01.002>
- Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K., Mayes, A.G., 2017. A rapid-screening approach to detect and quantify microplastics based on fluorescent tagging with Nile Red. *Sci. Rep.* 7, 44501. <https://doi.org/10.1038/srep44501>
- Maghsodian, Z., Sanati, A.M., Tahmasebi, S., Shahriari, M.H., Ramavandi, B., 2022. Study of microplastics pollution in sediments and organisms in mangrove forests: A review. *Environ. Res.* 208, 112725. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.112725>
- Marsden, I.D., Cranford, P.J., 2016. Scallops and Marine Contaminants, in: *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*. Elsevier, pp. 567–584. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62710-0.00013-4>
- Mendenhall, E., 2018. Oceans of plastic: A research agenda to propel policy development. *Mar. Policy* 96, 291–298. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2018.05.005>
- Meng, L., Sun, X., Li, Q., Zheng, S., Liang, J., Zhao, C., 2024. Quantification of the vertical transport of microplastics by biodeposition of typical mariculture filter-feeding organisms. *Sci. Total Environ.* 908, 168226. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.168226>
- Moore, C.J., 2008. Synthetic polymers in the marine environment: A rapidly increasing, long-term threat. *Environ. Res.* 108, 131–139. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2008.07.025>
- Morton, B., 1996. The biology and functional morphology of *Minnivola pyxidatus* (Bivalvia: Pectinoidea). *J. Zool.* 240, 735–760. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1996.tb05318.x>
- Morton, B., 1979. A comparison of lip structure and function correlated with other aspects of the functional morphology of *Lima lima*, *Limaria* (Platilimaria) *fragilis*, and *Limaria* (Platilimaria) *hongkongensis* sp. nov. (Bivalvia: Limacea). *Can. J. Zool.* 57, 728–742. <https://doi.org/10.1139/z79-091>
- Muncke, J., 2009. Exposure to endocrine disrupting compounds via the food chain: Is packaging a relevant source? *Sci. Total Environ.* 407, 4549–4559. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.006>

- Napolitano, G.E., Ackman, R.G., 1992. Anatomical distributions and temporal variations of lipid classes in sea scallops *Placopecten magellanicus* (Gmelin) from Georges bank (Nova Scotia). *Comp. Biochem. Physiol. Part B Comp. Biochem.* 103, 645–650. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(92\)90384-4](https://doi.org/10.1016/0305-0491(92)90384-4)
- Napolitano, G.E., Ackman, R.G., Silva-Serra, M.A., 1993. Incorporation of dietary sterols by the sea scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin) fed on microalgae. *Mar. Biol.* 117, 647–654. <https://doi.org/10.1007/BF00349777>
- Ng, K.L., Obbard, J.P., 2006. Prevalence of microplastics in Singapore's coastal marine environment. *Mar. Pollut. Bull.* 52, 761–767. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2005.11.017>
- Niles, M., Barrell, J., Sameoto, J., Keith, D. and Sonier, R. 2021. Scallop Fishery Assessment of the Southern Gulf of St. Lawrence in 2018: Commercial Fishery and Survey Data. DFO Can. Sci. Advis. Sec. Res. Doc. 2021/038. xii + 178 p.
- Norén, F., 2007. Small plastic particles in coastal Swedish waters. *Kimo Swed.* 11, 1–11.
- Ober, C.K., Lok, K.P., Hair, M.L., 1985. Monodispersed, micron-sized polystyrene particles by dispersion polymerization. *J. Polym. Sci. Polym. Lett. Ed.* 23, 103–108. <https://doi.org/10.1002/pol.1985.130230209>
- Oliveira, M., Almeida, M., 2019. The why and how of micro(nano)plastic research. *TrAC Trends Anal. Chem.* 114, 196–201. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2019.02.023>
- Osman, A.I., Hosny, M., Eltaweil, A.S., Omar, S., Elgarahy, A.M., Farghali, M., Yap, P.-S., Wu, Y.-S., Nagandran, S., Batumalaie, K., Gopinath, S.C.B., John, O.D., Sekar, M., Saikia, T., Karunanithi, P., Hatta, M.H.M., Akinyede, K.A., 2023. Microplastic sources, formation, toxicity and remediation: a review. *Environ. Chem. Lett.* 21, 2129–2169. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01593-3>
- Paine, A.J., Luymes, W., McNulty, J., 1990. Dispersion polymerization of styrene in polar solvents. 6. Influence of reaction parameters on particle size and molecular weight in poly(N-vinylpyrrolidone)-stabilized reactions. *Macromolecules* 23, 3104–3109. <https://doi.org/10.1021/ma00214a012>
- Parrish, C.C., 1987. Separation of Aquatic Lipid Classes by Chromarod Thin-Layer Chromatography with Measurement by Iatroscan Flame Ionization Detection. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44, 722–731. <https://doi.org/10.1139/f87-087>
- Patchaiyappan, A., Ahmed, S.Z., Dowarah, K., Jayakumar, S., Devipriya, S.P., 2020. Occurrence, distribution and composition of microplastics in the sediments of South Andaman beaches. *Mar. Pollut. Bull.* 156, 111227. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111227>

- Peng, L., Fu, D., Qi, H., Lan, C.Q., Yu, H., Ge, C., 2020. Micro- and nano-plastics in marine environment: Source, distribution and threats — A review. *Sci. Total Environ.* 698, 134254. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134254>
- Pernet, F., Tremblay, R., Bourget, E., 2003. Biochemical indicator of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) quality based on lipid class composition. Part II: Larval growth, competency and settlement. https://www.researchgate.net/publication/234119215_Biochemical_indicator_of_sea_scallop_Placopecten_magellanicus_quality_based_on_lipid_class_composition_Part_II_Larval_growth_competency_and_settlement (accessed 9.26.23).
- Pétoncle - Région de Terre-Neuve et du Labrador URL <https://www.dfo-mpo.gc.ca/fisheries-peches/ifmp-gmp/scallop-petoncle/2019/index-fra.html> (accessed 10.4.23).
- Piarulli, S., Scapinello, S., Comandini, P., Magnusson, K., Granberg, M., Wong, J.X.W., Sciutto, G., Prati, S., Mazzeo, R., Booth, A.M., Airoidi, L., 2019. Microplastic in wild populations of the omnivorous crab *Carcinus aestuarii*: A review and a regional-scale test of extraction methods, including microfibres. *Environ. Pollut.* 251, 117–127. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.092>
- Prasetya, F.S., Decottignies, P., Tremblay, R., Mouget, J.-L., Sunarto, S., Iskandar, I., Dhahiyat, Y., Cognie, B., 2020. Not only greening: The effects of marennine produced by *Haslea ostrearia* on physiological traits of three bivalve species. *Aquac. Rep.* 18, 100546. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100546>
- Pu, D.W., Devitt, M.P., Thickett, S.C., Lucien, F.P., Zetterlund, P.B., 2013. Dispersion polymerization of styrene in CO₂-expanded ethanol. *Polymer* 54, 6689–6694. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2013.10.036>
- Purchon, R.D., 1987. The stomach in the bivalvia. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 316, 183–276. <https://doi.org/10.1098/rstb.1987.0027>
- Purchon, R.D., 1977. The biology of the mollusca, 2. ed. ed, International series in pure and applied biology / Division zoology. Pergamon Press, Oxford.
- Rainbow, P.S., Phillips, D.J., Depledge, M.H., 1990. The significance of trace metal concentrations in marine invertebrates: a need for laboratory investigation of accumulation strategies. *Mar. Pollut. Bull.* 21, 321–324.
- Rangel-Buitrago, N., Neal, W., Williams, A., 2022. The Plasticene: Time and rocks. *Mar. Pollut. Bull.* 185, 114358. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114358>

- Reid, R.G.B., 1965. The structure and function of the stomach in bivalve molluscs. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 147, 156–184. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1965.tb04640.x>
- Renard, E., Walls, M., Guérin, P., Langlois, V., 2004. Hydrolytic degradation of blends of polyhydroxyalkanoates and functionalized polyhydroxyalkanoates. *Polym. Degrad. Stab.* 85, 779–787. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2003.11.019>
- Ribeiro, F., Mitrano, D.M., Hacker, C., Cherek, P., Brigden, K., Kaserzon, S.L., Thomas, K.V., Galloway, T.S., 2022. Short Depuration of Oysters Intended for Human Consumption Is Effective at Reducing Exposure to Nanoplastics. *Environ. Sci. Technol.* 56, 16716–16725. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c02269>
- Riisgård, H., Larsen, P., 2010. Particle capture mechanisms in suspension-feeding invertebrates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 418, 255–293. <https://doi.org/10.3354/meps08755>
- Rivard, C., Moens, L., Roberts, K., Brigham, J., Kelley, S., 1995. Starch esters as biodegradable plastics: Effects of ester group chain length and degree of substitution on anaerobic biodegradation. *Enzyme Microb. Technol.* 17, 848–852. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(94\)00120-G](https://doi.org/10.1016/0141-0229(94)00120-G)
- Rouleau, C., Xiong, Z.-H., Pacepavicius, G., Huang, G.-L., 2003. Uptake of Waterborne Tributyltin in the Brain of Fish: Axonal Transport as a Proposed Mechanism. *Environ. Sci. Technol.* 37, 3298–3302. <https://doi.org/10.1021/es020984n>
- Rowenczyk, L., Cai, H., Nguyen, B., Sirois, M., Côté-Laurin, M.-C., Toupoint, N., Ismail, A., Tufenkji, N., 2022. From freshwaters to bivalves: Microplastic distribution along the Saint-Lawrence river-to-sea continuum. *J. Hazard. Mater.* 435, 128977. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128977>
- Roy, P.K., Titus, S., Surekha, P., Tulsi, E., Deshmukh, C., Rajagopal, C., 2008. Degradation of abiotically aged LDPE films containing pro-oxidant by bacterial consortium. *Polym. Degrad. Stab.* 93, 1917–1922. <https://doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2008.07.016>
- Saido, K., Kodera, Y., Kimukai, H., Sato, H., Okabe, A., Koizumi, K., Takatama, K., Kwon, B.G., Chung, S.-Y., Nishimura, M., Mentese, S., 2020. Waste Polystyrene Degradation in the World Oceans: Newly identified sources of Contamination. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-83390/v3>
- Schmitz, G., Ecker, J., 2008. The opposing effects of n–3 and n–6 fatty acids. *Prog. Lipid Res.* 47, 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2007.12.004>

- Setälä, O., Norkko, J., Lehtiniemi, M., 2016. Feeding type affects microplastic ingestion in a coastal invertebrate community. *Mar. Pollut. Bull.* 102, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.053>
- Shang, Y., Wang, X., Chang, X., Sokolova, I.M., Wei, S., Liu, W., Fang, J.K.H., Hu, M., Huang, W., Wang, Y., 2021. The Effect of Microplastics on the Bioenergetics of the Mussel *Mytilus coruscus* Assessed by Cellular Energy Allocation Approach. *Front. Mar. Sci.* 8, 754789. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.754789>
- Shi, C., Liu, Zhiquan, Yu, B., Zhang, Y., Yang, H., Han, Y., Wang, B., Liu, Zhiquan, Zhang, H., 2024. Emergence of nanoplastics in the aquatic environment and possible impacts on aquatic organisms. *Sci. Total Environ.* 906, 167404. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167404>
- Shim, W.J., Hong, S.H., Eo, S.E., 2017. Identification methods in microplastic analysis: a review. *Anal. Methods* 9, 1384–1391. <https://doi.org/10.1039/C6AY02558G>
- Shim, W.J., Thomposon, R.C., 2015. Microplastics in the Ocean. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 69, 265–268. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0216-x>
- Shinomiya Y., Iwanaga S., Yamaguchi T., Kono K., Uchimura Y., 1997. Relationship Between Autumn Mortality, Glycogen Content, and Carbohydrate Metabolism Enzyme Activity in Japanese Pearl Oyster *Pinctada fucata martensii*. <https://doi.org/10.1123/aquaculturesci1953.45.47>
- Shumway, S.E., Mladinich, K., Blaschik, N., Holohan, B.A., Ward, J.E., 2023. A Critical Assessment of Microplastics in Molluscan Shellfish with Recommendations for Experimental Protocols, Animal Husbandry, Publication, and Future Research. *Rev. Fish. Sci. Aquac.* 1–133. <https://doi.org/10.1080/23308249.2023.2216301>
- Shumway, S.E., Parsons, G.J. (Eds.), 2016. *Scallops: biology, ecology, aquaculture, and fisheries*, Third edition. ed, *Developments in aquaculture and fisheries science*. Elsevier, Amsterdam ; Boston.
- Shumway, S.E., Parsons, J., 2016. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science | Scallops - Biology, Ecology, Aquaculture, and Fisheries* | ScienceDirect.com by Elsevier. <https://www.sciencedirect.com/bookseries/developments-in-aquaculture-and-fisheries-science/vol/40/suppl/C> (accessed 10.4.23).
- Sierszen, M.E., Frost, T.M., 1992. Selectivity in suspension feeders: food quality and the cost of being selective. *Arch. Für Hydrobiol.* 123, 257–273. <https://doi.org/10.1127/archiv-hydrobiol/123/1992/257>

- Song, J.A., Choi, C.Y., Park, H.-S., 2020. Exposure of bay scallop *Argopecten irradians* to micro-polystyrene: Bioaccumulation and toxicity. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 236, 108801. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108801>
- Soubaneh, Y.D., Rouleau, C., Pelletier, É., Tremblay, R., Langlois, V., Beauchamp, K., Faraut, M., 2023. Depuration of ingested ¹⁴C-labelled polystyrene nanospheres in the Atlantic scallop (*Placopecten magellanicus*). *Mar. Pollut. Bull.* 196, 115575. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115575>
- Soudant, P., Marty, Y., Moal, J., Masski, H., Jean François Samain, 1998. Fatty acid composition of polar lipid classes during larval development of scallop *Pecten maximus* (L.). *Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol.* 121, 279–288. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(98\)10130-7](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(98)10130-7)
- Stewart, P.L., et S.H. Arnold? 1994. Besoins environnementaux et réactions aux activités humaines du pétoncle géant (*Placopecten magellanicus*) dans l'est du Canada; Rapp; tech. can. sci. halieut. aquat. 2005: ix += 39p
- Sui, Y., Xue, Z., Chen, S., Jiang, H., Zhou, Y., Nguyen, H., Lv, L., Wang, C., Liu, L., Cao, T., Zhang, S., Zheng, L., 2023. Investigation of physiological energetic response of the thick shell mussel, *Mytilus coruscus*, to microplastics and low salinity: Potential countermeasures to multi-environmental changes. *Aquaculture* 569, 739382. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739382>
- Sussarellu, R., Suquet, M., Thomas, Y., Lambert, C., Fabioux, C., Pernet, M.E.J., Le Goïc, N., Quillien, V., Mingant, C., Epelboin, Y., Corporeau, C., Guyomarch, J., Robbens, J., Paul-Pont, I., Soudant, P., Huvet, A., 2016. Oyster reproduction is affected by exposure to polystyrene microplastics. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, 2430–2435. <https://doi.org/10.1073/pnas.1519019113>
- Teuten, E.L., Saquing, J.M., Knappe, D.R.U., Barlaz, M.A., Jonsson, S., Björn, A., Rowland, S.J., Thompson, R.C., Galloway, T.S., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Viet, P.H., Tana, T.S., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, M.P., Akkhang, K., Ogata, Y., Hirai, H., Iwasa, S., Mizukawa, K., Hagino, Y., Imamura, A., Saha, M., Takada, H., 2009. Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 364, 2027–2045. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0284>
- Thompson, R.C., Olsen, Y., Mitchell, R.P., Davis, A., Rowland, S.J., John, A.W.G., McGonigle, D., Russell, A.E., 2004b. Lost at Sea: Where Is All the Plastic? *Science* 304, 838–838. <https://doi.org/10.1126/science.1094559>
- Turner, A., Holmes, L., 2011. Occurrence, distribution and characteristics of beached plastic production pellets on the island of Malta (central Mediterranean). *Mar. Pollut. Bull.* 62, 377–381. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.09.027>

- Ugelstad, J., Mørk, P.C., Kaggerud, K.H., Ellingsen, T., Berge, A., 1980. Swelling of oligomer-polymer particles. New methods of preparation. *Adv. Colloid Interface Sci.* 13, 101–140. [https://doi.org/10.1016/0001-8686\(80\)87003-5](https://doi.org/10.1016/0001-8686(80)87003-5)
- Ullberg, S., 1954. Studies on the distribution and fate of S35-labelled benzylpenicillin in the body.
- Ullberg, S., Ewaldsson, B., 1964. Distribution of Radio-Iodine Studied by Whole-Body Autoradiography. *Acta Radiol. Ther. Phys. Biol.* 2, 24–32. <https://doi.org/10.3109/02841866409134127>
- Uzaki, N., Kai, M., Aoyama, H., Suzuki, T., 2003. Changes in mortality rate and glycogen content of the Manila clam *Ruditapes philippinarum* during the development of oxygen-deficient waters. *Fish. Sci.* 69, 936–943. <https://doi.org/10.1046/j.1444-2906.2003.00710.x>
- Van Cauwenberghe, L., Devriese, L., Galgani, F., Robbens, J., Janssen, C.R., 2015. Microplastics in sediments: A review of techniques, occurrence and effects. *Mar. Environ. Res.* 111, 5–17. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.06.007>
- Van Cauwenberghe, L., Janssen, C.R., 2014. Microplastics in bivalves cultured for human consumption. *Environ. Pollut.* 193, 65–70. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.06.010>
- Van Hoecke, K., De Schamphelaere, K.A.C., Van Der Meeren, P., Lucas, S., Janssen, C.R., 2008. Ecotoxicity of silica nanoparticles to the green alga *pseudokirchneriella subcapitata* : Importance of surface area. *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 1948–1957. <https://doi.org/10.1897/07-634.1>
- Walker, T.R., Fequet, L., 2023. Current trends of unsustainable plastic production and micro(nano)plastic pollution. *TrAC Trends Anal. Chem.* 160, 116984. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2023.116984>
- Wang, S., Hu, M., Zheng, J., Huang, W., Shang, Y., Kar-Hei Fang, J., Shi, H., Wang, Y., 2021. Ingestion of nano/micro plastic particles by the mussel *Mytilus coruscus* is size dependent. *Chemosphere* 263, 127957. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127957>
- Wang, W., Gao, H., Jin, S., Li, R., Na, G., 2019. The ecotoxicological effects of microplastics on aquatic food web, from primary producer to human: A review. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 173, 110–117. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.01.113>

- Wang, Y., Sun, H., 2010. Immunohistochemical Identification of Met-Enkephalin in Digestive System and Its Effect on Digestive Enzyme Activities of the Scallop *Chlamys farreri*. *Int. J. Pept. Res. Ther.* 16, 31–37. <https://doi.org/10.1007/s10989-010-9199-7>
- Ward, J.E., Levinton, J.S., Shumway, S.E., Cucci, T., 1998. Particle sorting in bivalves: in vivo determination of the pallial organs of selection. *Mar. Biol.* 131, 283–292. <https://doi.org/10.1007/s002270050321>
- Ward, J.E., Rosa, M., Shumway, S.E., 2019. Capture, ingestion, and egestion of microplastics by suspension-feeding bivalves: a 40-year history. *Anthr. Coasts* 2, 39–49. <https://doi.org/10.1139/anc-2018-0027>
- Wegner, A., Besseling, E., Foekema, E.M., Kamermans, P., Koelmans, A.A., 2012. Effects of nanopolystyrene on the feeding behavior of the blue mussel (*Mytilus edulis* L.). *Environ. Toxicol. Chem.* 31, 2490–2497. <https://doi.org/10.1002/etc.1984>
- Wright, S.L., Thompson, R.C., Galloway, T.S., 2013. The physical impacts of microplastics on marine organisms: A review. *Environ. Pollut.* 178, 483–492. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.02.031>
- Xi, B., Wang, B., Chen, M., Lee, X., Zhang, X., Wang, S., Yu, Z., Wu, P., 2022. Environmental behaviors and degradation methods of microplastics in different environmental media. *Chemosphere* 299, 134354. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134354>
- Yen, J., Sanderson, B., Strickler, J.R., Okubo, A., 1991. Feeding currents and energy dissipation by *Euchaeta rimana*, a subtropical pelagic copepod. *Limnol. Oceanogr.* 36, 362–369. <https://doi.org/10.4319/lo.1991.36.2.0362>
- Yousif, E., Haddad, R., 2013. Photodegradation and photostabilization of polymers, especially polystyrene: review. *SpringerPlus* 2, 398. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-2-398>
- Zhang, K., Hamidian, A.H., Tubić, A., Zhang, Y., Fang, J.K.H., Wu, C., Lam, P.K.S., 2021. Understanding plastic degradation and microplastic formation in the environment: A review. *Environ. Pollut.* 274, 116554. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.116554>

