

PARTENARIAT SCIENTIFIQUE



**PROGRAMME DE RECHERCHE
2014/2016**

**Impacts des microplastiques sur la population de Rorquals
communs du Sanctuaire Pelagos**

*- RAPPORT FINAL –
SEPTEMBRE 2016*

Rédigé par
Théa JACOB et Cristina FOSSI

Avec la participation de
Denis ODY, Céline TARDY et Hélène LABACH

Convention de partenariat N° 14-039

entre :

Le Parc national de Port-Cros (Animateur de Pelagos France)

Castel Sainte Claire
allée du Castel Sainte Claire
BP 70 220
83406 Hyères cedex

représenté par son Directeur,



Et :

Le Groupement d'Intérêt Scientifique pour les Mammifères Marins en Méditerranée et leur environnement (GIS3M)


Le Kalliste
1 avenue Clément Monnier
13 960 Sausset-les-Pins

représenté par son Président,

Les Partenaires de cette étude au sein du GIS3M

Coordinateur : Hélène Labach – GIS3M	
Théa Jacob et Denis Ody – WWF-France	

Les Partenaires extérieurs

Cristina Fossi – Université de Sienne	
--	--

Ce rapport doit être cité comme suit :

Jacob Théa et Fossi Cristina, 2016. Impacts des microplastiques sur la population de Rorquals communs du Sanctuaire Pelagos. Rapport GIS3M pour le Parc national de Port-Cros, Animateur de la Partie française de l'Accord Pelagos. Fr. : 19 pp.

SOMMAIRE

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE :	8
II. RESULTATS ATTENDUS :	8
III. MATERIELS ET METHODE.....	9
A. Description globale de la méthode et récolte des échantillons	9
B. Traitement et analyse des données.....	9
IV. RESULTATS	13
V. CONCLUSION.....	17
BIBLIOGRAPHIE.....	18

Table des Tableaux

Tableau 1: Dates et identifications des biopsies analysées..... 10
Tableau 2: Acides phtalates recherchés dans les biopsies avec formule correspondante et poids moléculaires..... 12
Tableau 3: Concentration en phtalates des biopsies de Rorquals communs (ng/g poids secs) 14

Table des Figures

Figure 1: Localisation des animaux biopsiés durant les campagnes en mer WWF France 2014	13
Figure 2: Pourcentages relatifs des concentrations des différents phtalates détectés dans les 22 échantillons	14
Figure 3: Concentration en phtalates (ng/g poids secs) (moyenne, déviation standard) obtenus pour les échantillons de femelles (F) et mâles (M) de Rorquals communs	15
Figure 4: Pourcentages relatifs des concentrations des différents phtalates (ng/g, poids secs) obtenus pour les échantillons de femelles (F) et mâles (M) de Rorquals communs	15
Figure 5: Concentrations de 6 phtalates différents (ng/g, poids secs) (moyenne, déviation standard) obtenues pour les échantillons de femelles (F) et mâles (M) de Rorquals communs	16

Impacts des microplastiques sur la population de Rorquals communs du Sanctuaire Pelagos

- RAPPORT FINAL -

A la surface des océans, les déchets plastiques ne cessent de s'accumuler, représentant une menace croissante en terme de qualité de l'eau et de conservation d'espèces marines tels que les oiseaux marins, les tortues marines, les cétacés et les poissons. Depuis plus de cent ans, les déchets plastiques qui se retrouvent en mer se dégradent progressivement en petites particules appelées microplastiques (inférieures à 5 mm) qui mettront plusieurs siècles à se dégrader complètement. Des études menées récemment (Ryan *et al.*, 2009) indiquent que les microplastiques s'accumulent préférentiellement à la surface de l'eau, un habitat qui comprend également différentes espèces de zooplanctons, dont se nourrissent certaines espèces de mammifères marins (les mysticètes). Le zooplancton et les micros-déchets se retrouvant dans les mêmes zones et présentant des tailles similaires, l'ingestion des micro-déchets par les cétacés et leurs impacts physique, toxicologique et biologique potentiels constituent des problématiques grandissantes. Si de nombreuses études ont déjà montré l'impact de l'ingestion de microplastiques sur les oiseaux marins, les tortues marines et les poissons (Robards *et al.*, 1995 ; Derraik, 2002 ; Thompson *et al.*, 2004 ; Ryan *et al.*, 2009 ; Boerger *et al.*, 2010 ; Murray et Cowie, 2011 ; Possato *et al.*, 2011 ; Collignon *et al.*, 2012 ; Dantas *et al.*, 2012), leur impact sur les mysticètes, notamment le Rorqual commun, est beaucoup moins connu. Les cétacés, de par leur mode de nourrissage et leur régime alimentaire, sont particulièrement exposés à cette contamination.

Tous ces petits morceaux de plastique peuvent être toxiques pour les organismes. Le plastique lui-même comprend des contaminants, notamment les additifs pour plastiques, tels que les phtalates, le bisphénol A, et les PBDE. Quand ils sont ingérés, les contaminants sont libérés et ont des effets toxiques sur les individus : ils peuvent avoir un impact sur le système endocrinien des poissons, ainsi que sur leurs hormones sexuelles (Rochman *et al.*, 2014). De plus, les microplastiques peuvent agréger des contaminants et les transporter – par exemple, les POPs (= polluants organiques persistants) ou le mercure.

De récentes recherches ont souligné l'accumulation de particules de microplastiques à la surface de la Méditerranée Nord-occidentale (Collignon *et al.*, 2012 ; Fossi, 2012), soulignant l'importance de cette menace émergente dans l'environnement méditerranéen. Le taux de micro-déchets dans la Méditerranée a atteint des niveaux maximum de 892 000 particules/km². La densité de microplastique en méditerranée est actuellement du même ordre que celle du pacifique Nord, région présentant les concentrations parmi les plus élevées du monde. Plus spécifiquement, les travaux du Docteur Fossi ont démontré que la densité de microplastique est également élevée au sein du Sanctuaire Pelagos (Fossi *et al.*, 2016). Ce Sanctuaire de 87 500 km², situé au Nord-Ouest de la Méditerranée, est caractérisé par une production primaire importante, attirant ainsi de nombreux prédateurs dont le Rorqual commun (*Balaenoptera physalus*). Cette biodiversité

remarquable côtoie des pressions anthropiques extrêmement importantes, et est par conséquent considérablement affectée par la pollution des déchets plastiques. Les zones présentant les microplastiques se juxtaposent donc à des aires de nourrissage des Rorquals communs, les rendant particulièrement vulnérables notamment durant l'été.

En plus de l'ingestion directe de microplastiques, les cétacés sont sujets à l'ingestion dite « secondaire » : il a été montré que certaines espèces de zooplancton ingéraient également des particules de plastiques.

Au vu de ces éléments, une première étude a été conduite sur la contamination des cétacés par les microplastiques (Fossi *et al.*, 2012). Ces analyses sont effectuées en déterminant le taux de DEPH/MEPH (phtalate, additif très utilisé dans les matières plastiques) dans la graisse des Rorquals. Il apparaît que les rorquals fréquentant le Sanctuaire Pelagos sont exposés à la contamination par les microplastiques par ingestion directe et indirecte des micro-déchets.

Des études complémentaires sont nécessaires afin d'évaluer précisément l'impact des microplastiques sur les cétacés fréquentant le Sanctuaire Pelagos.

Ce projet : « Impacts des microplastiques sur la population de Rorquals communs du Sanctuaire Pelagos » a pour objectif d'apporter des indications majeures sur la contamination des mammifères marins par cette pollution moderne et inquiétante, et constitue un argument solide pour faire évoluer les politiques de gestion des déchets dans des villes côtières du Sanctuaire notamment.

Ce projet s'inscrit dans le cadre d'un suivi global de la population de Rorquals communs en Méditerranée Nord-occidentale conduit depuis 2000 par le WWF France et EcoOcéan Institut, qui a notamment permis d'initier l'étude de la structure génétique et le statut reproducteur de la population fréquentant la zone d'étude, ainsi que des taux de référence relatif à la contamination par les polluants organiques.

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE :

1/ Campagne en mer pour le prélèvement d'une vingtaine de biopsies de Rorquals communs en Méditerranée Nord-occidentale

2/ Etude quantitative et qualitative des concentrations en phtalates dans le gras des échantillons prélevés

II. RESULTATS ATTENDUS :

1/ Prélèvement de 20 biopsies

2/ Détection et teneur en phtalates (8 phtalates différents) dans chaque échantillons de gras

III. MATERIELS ET METHODE

A. Description globale de la méthode et récolte des échantillons

L'analyse des phtalates a été réalisée à partir de biopsies cutanées (n=22) de Rorquals communs. Les marqueurs recherchés pour les microplastiques sont huit formes différentes de phtalates. Les biopsies ont été réalisées lors de campagnes en mer WWF-France en 2014.

Un bateau pouvant embarquer six observateurs a été affrété par le WWF-France en juin et septembre 2014.

Pour l'observation en transect, le matériel nécessaire est une paire de jumelles, des feuilles de saisies et de route ainsi qu'un PAD (ordinateur de poche) pour noter toutes les observations et les conditions d'observations.

L'effort de prospection a été réalisé en se basant sur la méthode du transect linéaire décrite par Buckland *et al.* (2001). La prospection est réalisée à une vitesse de 5-6 nœuds, à l'œil nu et à l'aide de jumelles, par les observateurs et le photographe. En cas de rencontre avec des cétacés, le bateau rejoint le groupe repéré afin de prélever les biopsies de Rorquals communs mais également pour réaliser des clichés afin de photo-identifier les individus et noter les observations concernant la taille et le comportement.

Les biopsies sont réalisées à l'aide d'une arbalète et d'une flèche munie d'un emporte-pièce dans le cadre de l'avis favorable du CNPN n°4.06.2013.

Chaque échantillon recueilli a servi pour deux études. L'échantillon de la biopsie est divisé en 2 sous-échantillons, avec séparation de la peau pour la génétique et du lard pour les phtalates. Les sous-échantillons récoltés sont conservés dans des micro-tubes stériles et individuellement identifiés congelés à -18°C.

Chaque animal biopsié est conjointement photo-identifié.

B. Traitement et analyse des données

Le traitement et l'analyse des échantillons et données a été réalisé à l'université de Sienne par Cristina Fossi.

Préparation des biopsies

Les 22 échantillons de gras ont été pesés (poids sec) (Tableau 1), congelés à -80°C puis lyophilisés à -50°C. Le pourcentage d'eau moyen présent dans le gras a été calculé (46%), permettant d'exprimer la concentration en phtalates en poids secs et humides.

Tableau 1: Dates et identifications des biopsies analysées

N°Sample	Date	Name Bp
1	12/06/2014	IR4
2	18/06/2014	IR5
3	18/06/2014	IR6
4	23/06/2014	IR17
5	23/06/2014	IR18
6	23/06/2014	IR19
7	23/06/2014	IR20
8	23/06/2014	IR21
9	23/06/2014	IR22
10	23/06/2014	IR23
11	23/06/2014	IR24
12	30/07/2014	IR26
13	01/08/2014	IR27
14	01/08/2014	IR28
15	02/08/2014	IR29
16	06/08/2014	IR38
17	06/08/2014	IR39
18	03/09/2014	IR40
19	04/09/2014	IR41
20	04/09/2014	IR42
21	04/09/2014	IR43
22	04/09/2014	IR44

Analyse de la teneur en phtalates

Afin de tester une nouvelle méthodologie (Baini *et al.*, submitted), un stock de gras provenant d'un Rorqual commun échoué a été utilisé. Ce stock permet d'avoir une quantité de tissu disponible importante afin de tester et répliquer différents tests. La procédure d'analyse des phtalates synthétiques dans les organismes est similaire aux techniques d'analyses d'autres contaminants organiques. Elle comprend une phase d'extraction, de séparation, de purification et de détection.

Extraction

L'extraction de phtalates à partir d'échantillons solides doit être la plus simple possible. L'extraction a ainsi été réalisée par secouage mécanique et extraction ultrasonique. Quatre solvants différents ont été utilisés dans cette phase expérimentale :

- Hexane-dichlorométhane 1:1 (v/v)
- Hexane-acetone 1:1 (v/v)
- Ethyl acetate
- Acetonitrile

Séparation

La mixture est centrifugée afin de séparer les différentes phases, seule la couche supérieure a été prélevée. La procédure d'extraction est répétée 3 fois et les surnageants sont combinés. La méthode d'extraction solide-liquide extrait les lipides et composants organiques avec les phtalates (du fait des propriétés lipophiles des phtalates). Les lipides peuvent interférer dans la quantification et qualification finale des phtalates. Dans les échantillons riches en lipides, comme c'est le cas ici, un nettoyage final (« clean-up methodology ») des extraits est donc nécessaire.

La « clean-up methodology » utilisée se base sur la solubilité différentielle des phtalates synthétiques dans l'acide sulfurique et l'hexane. De l'acide sulfurique est ajouté à l'extrait dissout dans de l'hexane, l'échantillon est ensuite secoué, centrifugé et laissé à décanter. La phase hexane (contenant les phtalates) est ensuite été transférée dans un tube.

Purification

La purification est réalisée avec une colonne de sulfate de sodium, afin de retirer les moisissures potentielles et impuretés des extraits.

Détection

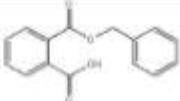
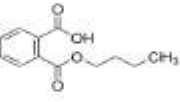
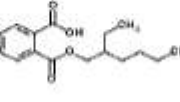

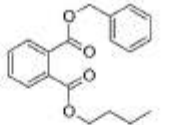
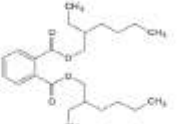
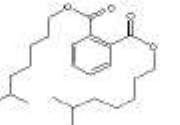
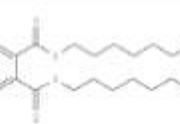
L'extrait final a été concentré sous un léger jet d'azote, pour être analysé par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS). Pour l'analyse des phtalates, un chromatographe à gaz Hewlett-Packard (HP) 6890 équipé d'une colonne HP-5MS (30m*0.25mm*0.25µm) et d'un autosampler HP 7683, ainsi qu'un spectromètre de masse (GC-MS) HP 5973 ont été utilisés.

Un étalon (deuterated phtalate : Phtalatic acid, bis-2-ethylhexyl ester D4) a été ajouté aux échantillons et analysé de la même façon. Le calcul de taux de récupération permet d'identifier quel solvant extrait le mieux les phtalates. Le solvant présentant la récupération la plus élevée (Hexane-dichlorométhane) a été utilisé pour l'analyse des biopsies.

La présence de huit phtalates différents (Mono-Benzyl phtalate (MBZP), Mono-Butyl phtalate (MBP), mono (2-ethylhexyl) phtalate (MEPH), Di-n-Hexyl phtalate (DNHP), Benzyl butyl phtalate (BBzP), Bis (2-ethylhexyl) phtalate (DEPH), Diisooctylisophtalate (DIOIP) and Di-n-decyl phtalate (DNDP)) (Tableau 2) a été étudiée dans le gras des 22 échantillons de Rorquals communs de Méditerranée Nord-occidentale.

Les limites de détection (LODs) pour chaque phtalate sont les suivantes : MBzP= 5 ng/g, MBP= 5 ng/g, MEHP= 10 ng/g, DNHP= 3 ng/g, BBzP= 9 ng/g, DEHP= 1 ng/g, DIOIP= 10 ng/g et DNDP= 1 ng/g. Les concentrations inférieures aux LODs ont été identifiées comme sous la limite de détection (BDL), une valeur correspondant à la moitié de la BDL a été utilisée dans les analyses statistiques.

Tableau 2: Acides phthalates recherchés dans les biopsies avec formule correspondante et poids moléculaires

		Formula	Molecular Weight
Mono-Benzyl phthalate (MBZP)	$C_{15}H_{12}O_4$		$256.24 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Mono-Butyl phthalate (MBP)	$C_{12}H_{14}O_4$		$222.24 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Mono(2-ethylhexyl) phthalate (MEPH)	$C_{16}H_{22}O_4$		$278.344 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Di- n-Hexylphthalate (DNHP)	$C_{20}H_{30}O_4$		$334.45 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Benzyl butyl phthalate (BBzP)	$C_{19}H_{20}O_4$		$312.37 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Bis(2-ethylhexyl) phthalate (DEPH)	$C_{24}H_{38}O_4$		$390.56 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$
Diisooctylisophthalate (DIOIP)	$C_{24}H_{38}O_4$		$390.56 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-2}$
Di-n-decyl phthalate (DNDP)	$C_{28}H_{46}O_4$		$446.74 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

IV. RESULTATS

Campagnes en mer et biopsies

Durant les campagnes en mer WWF France de juin et septembre 2014, 22 biopsies de Rorquals communs ont été réalisées et transmises à l'université de Sienne pour analyse (Figure 1).

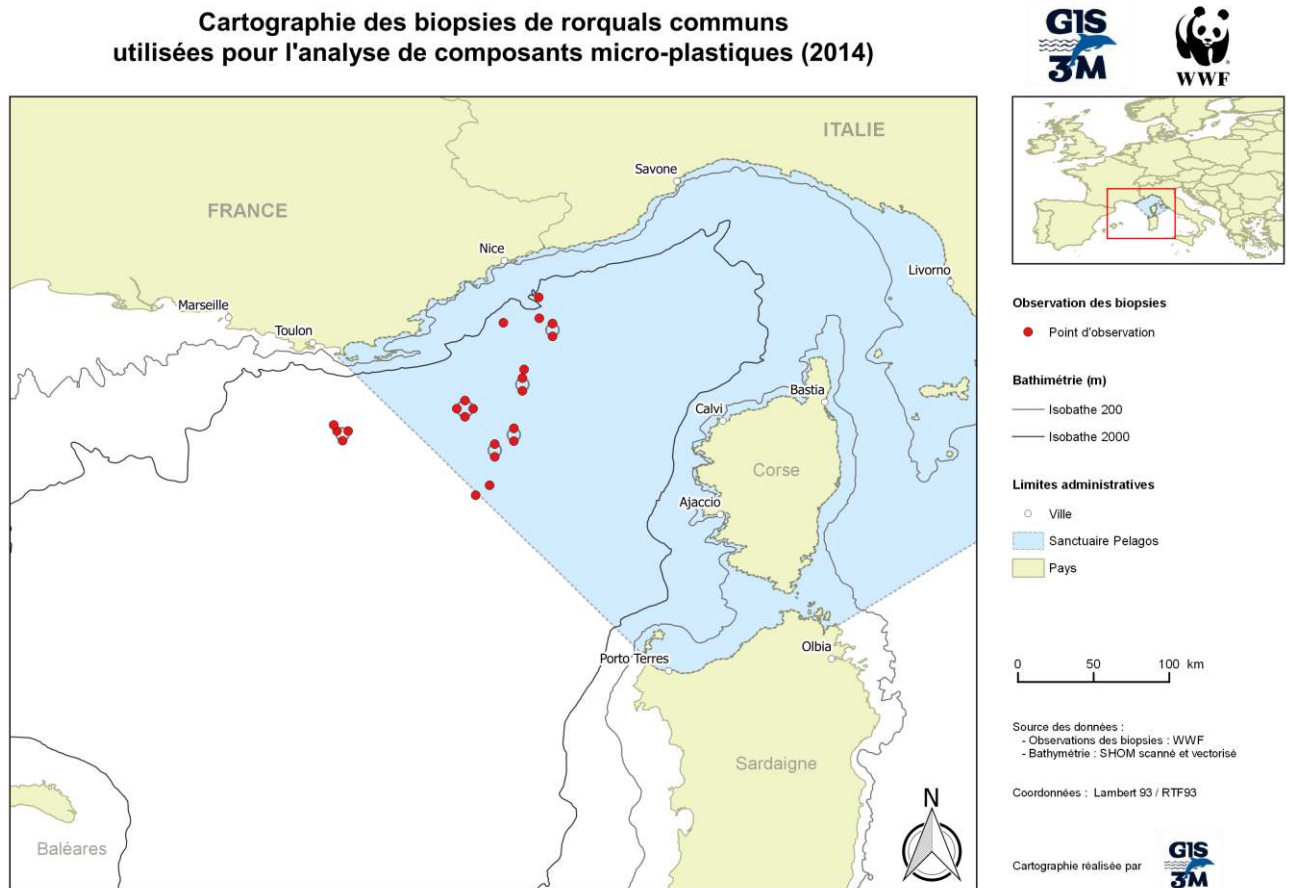


Figure 1: Localisation des animaux biopsiés durant les campagnes en mer WWF France 2014

Phtalates détectés dans les biopsies

Les concentrations totales de phtalates (ng/g poids secs) (Mono-Benzyl phtalate (MBzP), Mono-Butyl phtalate (MBP), mono (2-ethylhexyl) phtalate (MEHP), Di-n-Hexyl phtalate (DNHP), Benzyl butyl phtalate (BBzP), Bis (2-ethylhexyl) phtalate (DEHP), Diisooctylisophtalate (DIOIP) and Di-n-decyl phtalate (DNDP)), leurs moyennes, déviations standards, valeurs minimums et maximums sont présentées en Annexe 1.

Les concentrations en DNDP et DNHP étant sous les seuils de détection pour tous les échantillons, elles ne sont pas présentées dans le tableau.

Les résultats démontrent des variations significatives entre différents échantillons, reflétant une hétérogénéité de contamination entre les individus.

La Figure 2 et le Tableau 3 présentent les concentrations de phtalates (ng/g poids secs), leurs moyennes et leurs déviations standards pour tous les échantillons, mâles (n=9) et femelles (n=13), ainsi que leurs pourcentages respectifs.

Tableau 3: Concentration en phtalates des biopsies de Rorquals communs (ng/g poids secs)

	Total (n=22)		Male (n=9)		Female (n=13)	
	Mean	Std.Dev.	Mean	Std.Dev.	Mean	Std.Dev.
MBzP	26.51	25.66	32.90	27.71	22.09	24.26
MBP	637.57	372.99	712.13	466.22	585.95	302.50
MEHP	52.46	28.67	61.17	28.44	46.43	28.33
BBzP	108.66	140.87	134.83	179.65	90.54	111.10
DEHP	5952.30	2713.30	6190.00	2912.75	5787.74	2675.02
DIOIP	212.12	268.76	221.02	321.50	205.96	239.58
Σ Phthalates	6993.61	3250.38	7356.05	3724.91	6742.70	3011.97

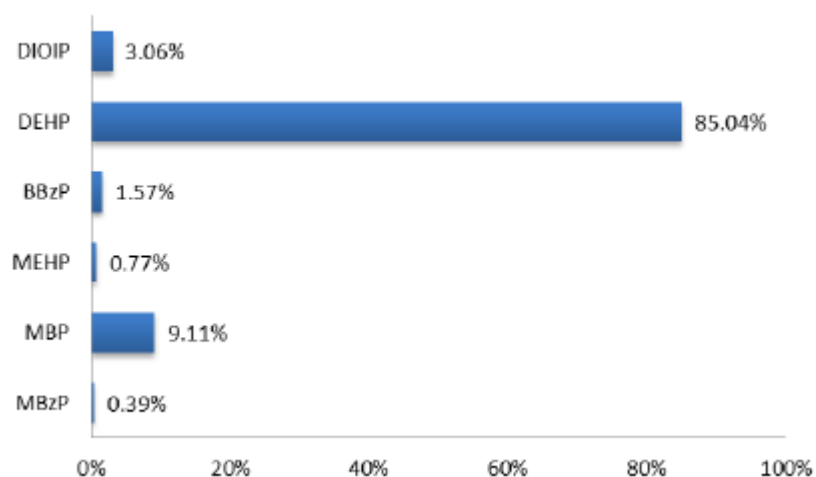


Figure 2: Pourcentages relatifs des concentrations des différents phtalates détectés dans les 22 échantillons

Le phtalate le plus détecté est le DEHP (85%) suivi par ordre décroissant du MBP (9.1%), DIOIP (3%), BBzP (1.5%), MEHP (0.7%), MBzP (0.39%). DEHP et son métabolite MBP présentent les valeurs les plus élevées dans les échantillons analysés.

Le DEHP est utilisé comme plastifiant de produits polymères, ce qui représente plus de 95% de son utilisation en Europe, majoritairement dans les PVC flexibles (tuyaux d'arrosage et d'aspiration, manchons souples, flexibles de douche,...etc.).

Les Figure 3, Figure 4 et Figure 5 présentent les concentrations de phtalates (ng/g poids secs), leurs moyennes et déviations standards obtenues pour les échantillons provenant des mâles et des femelles. Quel que soit le composé aucune différence significative n'a été observée entre les deux sexes.

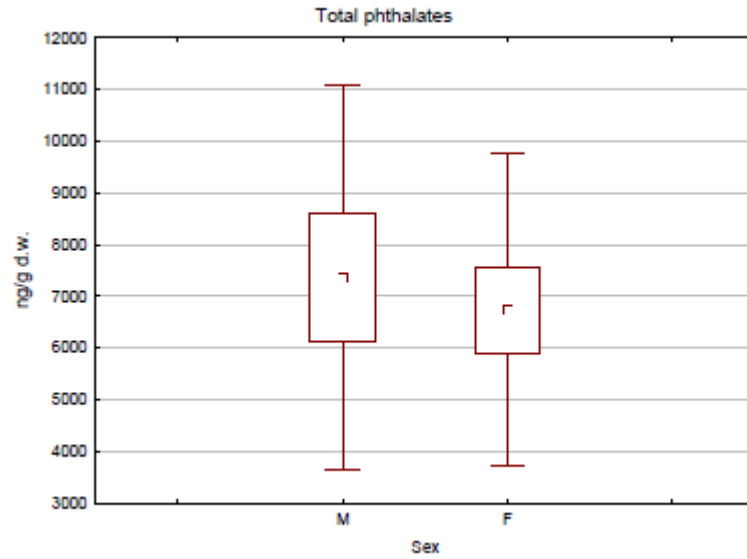


Figure 3: Concentration en phtalates (ng/g poids secs) (moyenne, déviation standard) obtenus pour les échantillons de femelles (F) et mâles (M) de Rorquals communs

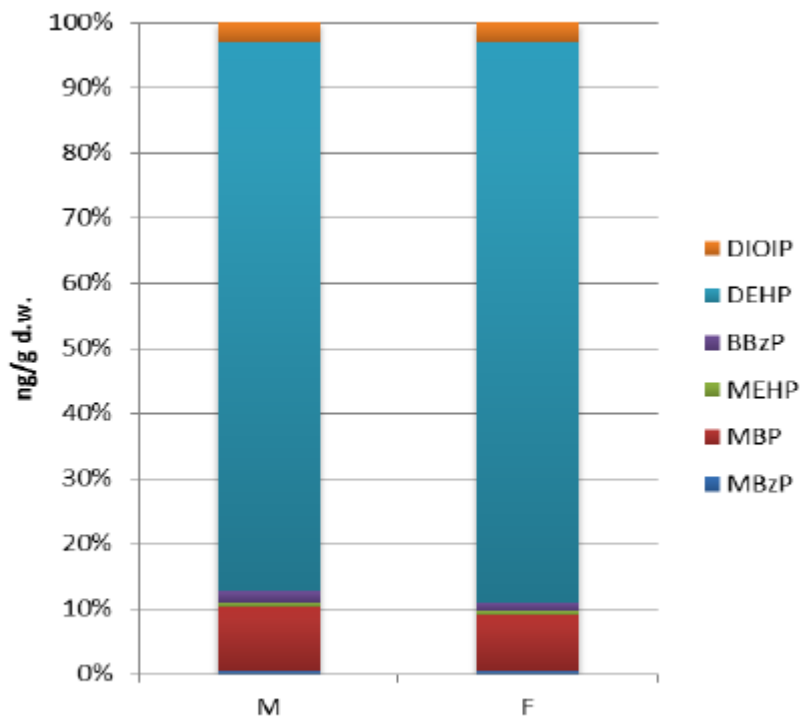


Figure 4: Pourcentages relatifs des concentrations des différents phtalates (ng/g, poids secs) obtenus pour les échantillons de femelles (F) et mâles (M) de Rorquals communs

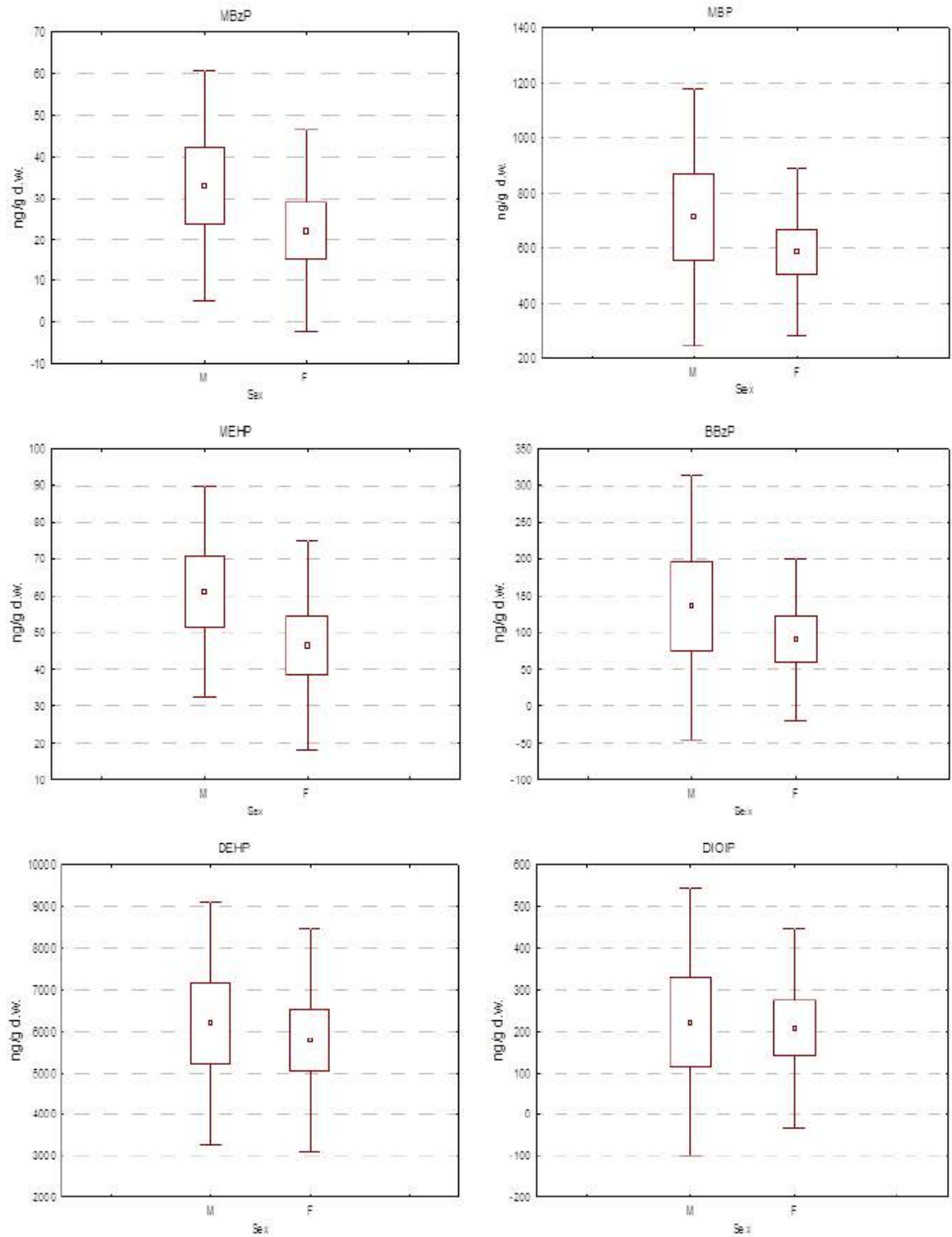


Figure 5: Concentrations de 6 phtalates différents (ng/g, poids secs) (moyenne, déviation standard) obtenues pour les échantillons de femelles (F) et mâles (M) de Rorquals communs

V. CONCLUSION

La présente étude, ainsi que les résultats publiés par le Docteur Fossi et ses collaborateurs en 2012 et 2016 révèlent la présence de phtalates dans le gras de Rorquals communs de Méditerranée Nord-occidentale.

Ces résultats démontrent une contamination par les plastiques, qui peut être liée à une ingestion directe des déchets plastiques, dont les microplastiques, par les Rorquals communs ; ainsi qu'à une ingestion indirecte (Fossi *et al.*, 2012) de par la prédation sur des proies contaminées (notamment l'espèce de plancton *Meganyctiphanes norvegica*).

Les résultats de la présente étude viennent corroborer les seules données publiées sur la contamination des mammifères marins par les phtalates (Fossi *et al.*, 2016), renforçant les hypothèses que 1- les Rorquals communs de Méditerranée Nord-occidentale sont contaminés par les phtalates et 2- cette population est plus impactée par les phtalates que les Rorquals communs de la mer de Cortez. Cette dernière hypothèse s'explique en partie par la pollution plastique marine moindre qui affecte cette partie du globe (Fossi *et al.*, 2016).

Des quantités considérables de plastiques (Fossi *et al.*, 2012, Panti *et al.*, 2015) et d'additifs plastiques (phtalates) (Fossi *et al.*, 2012 ; 2016) ont été détectées dans des échantillons neustoniques, prélevés au sein de la seule aire marine protégée en pleine mer de Méditerranée : le Sanctuaire Pelagos, ayant le statut d'Aire Spécialement Protégée d'Importance Méditerranéenne (ASPIM). Les données récoltées indiquent une exposition des mammifères marins aux microplastiques, notamment pendant l'été (période préférentielle de nourrissage au sein du Sanctuaire) (Fossi *et al.*, 2016).

Etant donné (a) les concentrations importantes de microplastiques dans la Méditerranée, spécifiquement dans le Sanctuaire Pelagos ; (b) la détection de concentrations significatives d'additifs plastiques (phtalates) dans le gras des Rorquals communs de Méditerranée Nord-occidentale, et (c) le cycle de vie long de ces espèces, les Rorquals communs de Méditerranée sont exposés à l'absorption de constituants plastiques, par ingestion directe ou indirecte de microplastiques, macroplastiques et proies contaminées. Ces résultats représentent un signal d'alarme concernant l'exposition aux plastiques d'une population déjà vulnérable de mammifères marins.

La détection de 6 phtalates différents (parmi les 8 recherchés) représente une nouvelle avancée pour la compréhension de l'exposition aux plastiques des mammifères marins, leur ingestion, et la contamination qui en résulte, en particulier pour les mammifères marins du Sanctuaire Pelagos.

BIBLIOGRAPHIE

- Boerger, C.M., Lattin G.L, Moore S.L, Moore C.J., 2010. Plastic ingestion by planktivorous fishes in the North Pacific Central Gyre. *Marine pollution Bulletin*, vol. 60, issue 12, pp. 2275-2278.
- Buckland, S.T., Anderson D.R., Burnham K.P., Laake J.L., Borchers D.L., Thomas L., 2001. Introduction to distance sampling. Oxford: Oxford University Press.
- Collignon, A., Heck J.H., Glagani F., Voisin P., Collard F., Goffard A., 2012. Neustonic microplastic and zooplankton in the North Western Mediterranean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 64, pp. 861-864.
- Dantas, D.V., Barletta M., Costa M.F., 2012. The seasonal and spatial patterns of ingestion of polyfilament nylon fragments by estuarine drums (Sciaenidae). *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 19, pp. 600-606.
- Derraik, J.G.B., 2002. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 44, pp. 842-852.
- Fossi, M.C., Panti C., Guerranti C., Coppola D., Giannetti M., Marsili L., de Sabata E., Clo S., 2012. Are baleen whales exposed to the threat of microplastics? A case study of the Mediterranean fin whale (*Balaenoptera physalus*). *Marine Pollution Bulletin*, vol. 64, pp. 2374-2379.
- Fossi, M.C., Marsili L., Baini M., Giannetti M., Coppola D., Guerranti C., Caliani I., Minutoli R., Lauriano G., Finoia M.G., Rubegni F., Panigada S., Bérubé M., Urbán R.J., Panti C., 2016. Fin whales and microplastics: The Mediterranean Sea and the Sea of Cortez scenarios. *Environmental Pollution*, vol. 209, pp. 68–78.
- Panti C., Giannetti M., Baini M., Rubegni F., Minutoli R., Fossi M.C., 2015. Occurrence, relative abundance and spatial distribution of microplastics and zooplankton NW of Sardinia in the Pelagos Sanctuary Protected Area, Mediterranean Sea. *Environmental Chemistry*, vol. 12, n°5, pp. 618–626.
- Possato, F.E., Barletta M., Costa M.F., Ivar do Sul J.A., Dantas D.V., 2011. Plastic debris ingestion by marine catfish: an unexpected fisheries impact. *Marine Pollution Bulletin*, vol. 62, pp. 1098-1102.
- Robards, M.D., Piatt J.F., Wohl K.D., 1995. Increasing Frequency of Plastic Particles Ingested by Seabirds in the Subarctic North Pacific. *Marine Pollution Bulletin*, vol.30, n°2, pp. 151-157.
- Rochman, C.M., Kurobe T., Flores I., Teh S.J., 2014. Early warning signs of endocrine disruption in adult fish from the ingestion of polyethylene with and without sorbed chemical pollutants from the marine environment. *Science of the Total Environment*, vol. 493, pp.656-661.
- Ryan, P. G., Moore C.J., van Franeker J.A., Moloney C.L., 2009. Monitoring the abundance of plastic debris in the marine environment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, vol. 364, 1999-2012. Doi:10.1098/rstb2008.0207.

Thompson, R.C., Olsen Y., Mitchell R.P., Davis A., Rowland S.J., John A.W.G., McGonigle D., Russell A.E., 2004. Lost at Sea: Where is all the plastic? *Science*, vol. 304, Issue 5672, pp. 838.