

UNIVERSITÉ DE LA ROCHELLE FACULTÉ DE SCIENCES ET TECHNIQUES

MASTER 2 Gestion de l'environnement et écologie du littoral 2022-2023

Evaluation de la contamination par les éléments traces métalliques des puffins en France métropolitaine

Tanguy GROLHIER

Stage effectué du 18 janvier au 10 juin 2023 au laboratoire LIENSs sous la co-direction scientifique de M. Paco Bustamante et M. Jérôme Fort

©Adrien Lambrechts

Remerciements :

Je souhaite remercier dans un premier temps M. Jérôme Fort et M. Paco Bustamante qui ont été mes encadrants tout au long de ces cinq mois de stage. J'ai pu à de nombreuses reprises échanger avec eux sur les techniques mises en place à la plateforme d'analyse, l'analyse statistique, l'écologie des puffins et l'avancement du présent rapport. Je remercie également mes encadrants pour avoir eu la possibilité d'assister au meeting sur les prédateurs marins organisé par le CEBC, l'Observatoire Pélagis et le LIENSs.

Je souhaite également remercier l'ensemble des membres de l'équipe AMARE qui m'ont permis d'enrichir mes connaissances scientifiques, de développer mon esprit critique et de l'aide qu'ils m'ont apporté tout au long de ce stage. De plus, je voudrais remercier tout particulièrement Alice Carravieri qui m'a fourni une aide précieuse pour l'analyse de données et Gauthier Poiriez pour la partie méthodologique et les explications sur les prélèvements.

Merci à Maud Brault Favrou, Carine Churlaud et Gaël Guillou pour avoir été présents durant mes analyses en laboratoire, pour vos partages d'expériences et de m'avoir formé à l'utilisation du matériel spécifique à l'analyse du mercure et de l'isotopie.

Un grand merci à l'équipe de stagiaire de mon bureau : Florence, Léo, Louise, Nushrat et Wassim ; pour cette bonne ambiance, ces moments de partages et d'entraides. Également, je souhaite remercier tout particulièrement : Laura Patier et Chloé Malirat, stagiaire de Master 2 sur l'écologie alimentaire et la contamination au mercure ; avec qui, nous avons pu échanger et s'entraider sur nos sujets respectifs.

Avant-propos :

Le laboratoire "Littoral, Environnement et Sociétés" également appelé LIENSs est une Unité Mixte de Recherches interdisciplinaires du CNRS et de La Rochelle Université (UMRi 7266). Situé sur la commune de La Rochelle, ce laboratoire se focalise sur des enjeux de développement durable en lien avec le littoral, sur le fonctionnement de ce système, de son évolution et des impacts de l'urbanisation croissante sur les côtes.

Réparti en 6 équipes, le LIENSs intègre les compétences de nombreuses disciplines allant des sciences de l'environnement aux sciences humaines tout en étudiant la chimie et les biotechnologies. L'objectif du laboratoire est de répondre à la problématique de l'adaptation aux changements, qu'ils soient chimiques, physiques, biologiques, écologiques et sociétaux sur les littoraux en évolution sous la pression anthropique dans un contexte de changement climatique. L'étude de l'adaptation et la transformation des littoraux aux changements socio-environnementaux est menée par l'équipe AGILE (Approche géographique : Îles, Littoraux, Environnement). La structure et le fonctionnement des écosystèmes littoraux par une approche en écologie trophique de l'échelle individuelle à populationnelle est également un socle majeur au LIENSs mené par l'équipe BIOFEEL (Biodiversité et Fonctionnement des Écosystèmes Littoraux). L'équipe DPL (Dynamique Physique du Littoral) quant à elle étudie la dynamique du littoral tant du point de vue des processus physigues contrôlant la dynamique hydro-sédimentaire et leurs évolutions morphologiques que les changements environnementaux récents modifiant ces systèmes. Une équipe de chimistes et biochimistes appelée BCBS (Biotechnologies et Chimie des Bioressources pour la Santé) vise à découvrir et comprendre de nouveaux principes actifs issus des océans dans le but d'améliorer les connaissances sur ces substances biologiques à l'échelle moléculaire et cellulaire. Ils souhaitent découvrir et innover de nouveaux principes actifs (naturels) qui seront les bioactifs du futur, issus ou inspirés des ressources marines. L'étude sociétale est menée par une équipe pluridisciplinaire (historiens et géophysiciens) travaillant sur les rapports entre les sociétés littorales et leurs rapports avec la mer, cette équipe se nomme ESTRAN (Espaces, Sociétés, Territoires des Rivages Anciens et Nouveaux). Responsable de l'équipe AMARE (Réponses des Animaux Marins à la variabilité Environnementale), Paco Bustamante a été mon co-encadrant durant l'ensemble de ces 6 mois de stage conjointement avec Jérôme Fort, chargé de recherche CNRS dans cette même équipe. L'objectif de l'équipe AMARE est de comprendre comment les organismes marins s'adaptent à un environnement changeant et impacté par l'action anthropique notamment via la contamination chimique.

Mon stage s'inscrit dans une démarche de conservation et d'appui au Plan National d'Actions en faveur du Puffin des Baléares (*Puffinus mauretanicus*) entre 2021 et 2025. Durant ces 5 mois de stage, j'ai pu réaliser les analyses au mercure et isotopiques pour les échantillons des puffins des Baléares et des puffins Yelkouan. Les données des puffins de Scopoli ont été fournies par le laboratoire. J'ai pu ensuite réaliser l'ensemble de mes analyses statistiques et rédiger le présent rapport (Annexe 1.).

<u>Sommaire :</u>

Introduction :	
Matériels et méthodes :	7
1.Région d'étude et espèces :	7
2.Collecte des échantillons :	
3.Préparation des échantillons	9
4.Analyse des éléments traces	9
4.1.Dosage des éléments métalliques :	9
4.2.Dosage du mercure :	
5.Détermination des seuils d'effets	
6.Analyse isotopique	
7.Analyse statistique	
Résultats :	
1. Les éléments traces métalliques	
2. Interactions des éléments traces et des isotopes	
3. Étude des niches isotopiques	
4. Evaluation du risque lié au mercure	
Discussion :	
1.Concentrations des ETMs dans les tissus des puffins	
2. Etude de l'écologie alimentaire en lien avec la contamination	
3.Risques associés aux ETMs	
Conclusion :	
Références :	
Annexes :	51
Résumé :	
Abstract:	

Table des figures, tableaux et annexes :

Figure 1. Concentrations des ETMs dans le sang des trois espèces de puffins étudiées.	p. 13
Figure 2. Concentrations des ETMs dans le sang des puffins de Scopoli poussins sur les quatre colonies étudiées.	p. 14
Figure 3. Biplot des scores individuels et des charges en ETMs à partir d'une ACP sur les éléments traces métalliques dans le sang chez les puffins des Baléares.	p. 16
Figure 4. Biplot des scores individuels et des charges en ETMs à partir d'une ACP sur les éléments traces métalliques dans le sang chez les puffins de Scopoli avec la représentation des colonies.	p. 17
Figure 5. Données du δ^{13} C et δ^{15} N pour chaque individu et des niches isotopiques (a.) chez les trois espèces étudiées et (b.) chez les poussins des quatre colonies de puffins de Scopoli,	p. 22
Figure 6. Données du δ^{13} C et δ^{15} N pour chaque individu et des niches isotopiques chez les trois types de tissus étudiés chez le puffin des Baléares.	p. 23
Figure 7. Concentration en Hg dans (a.) le sang et (b.) les plumes des puffins étudiés pour les différents sites d'échantillonnage et pour chaque espèce avec les seuils de toxicité établis	p. 24
Figure 8. Concentration en Hg dans plusieurs types de tissus chez les puffins des Baléares avec les seuils de toxicité établis	p. 25
Figure 9. Relation entre les concentrations en Hg et Se dans le sang chez les poussins de Scopoli.	p. 25

Tableau 1. Concentrations des ETMs dans les tissus internes des puffins Yelkouan.	p. 15
Tableau 2. Corrélation entre les ETMs dans les tissus internes des puffins Yelkouan.	p. 15
Tableau 3. Valeurs du δ^{13} C, δ^{15} N et les concentrations des ETMs étudiées dans le sang	p. 18
chez les trois espèces de Procellariiformes.	
Tableau 4. Classement des modèles AIC des concentrations en ETMs sélectionnés	p. 19
dans le sang chez les puffins de Scopoli poussins	

Annexe 1. Synthèse des activités réalisés (Annexe).	p. 50
Annexe 2. Choix des variables pour les axes sélectionnés de l'ACP 1 (Annexe).	p. 50
Annexe 3. Choix des variables pour les axes sélectionnés de l'ACP 2 (Annexe).	p. 50
Annexe 4. Test post-hoc (Tukey HSD) pour la comparaison des concentrations dans	p. 50
le sang chez les trois espèces étudiées (Annexe).	
Annexe 5. Test post-hoc (Tukey HSD) pour la comparaison des concentrations dans	p. 51
le sang chez les quatre colonies de puffins de Scopoli (Annexe).	
Annexe 6. Test de Kruskal-Wallis et Wilcoxon, comparaison des concentrations en	p. 53
ETMs entre les tissus (Annexe).	

Introduction :

La croissance démographique qu'a connu notre planète au siècle dernier a été d'une ampleur considérable. La population mondiale est passée de 1,8 milliard à 8 milliards en cent ans (ONU, World Population Prospects 2022). Corollaire d'une démographie mondiale qui augmente, l'avancée des technologies n'a cessé de s'étendre. L'ère industrielle est un véritable tournant pour le développement des sociétés humaines. Avec une utilisation des ressources communes de plus en plus importante, les industries n'ont fait qu'accroître leurs productions et leurs impacts sur la biosphère. L'industrialisation rapide des pays en voie de développement tels que la Chine a entraîné ces dernières années une augmentation majeure des rejets de polluants dans l'environnement (Chen et al., 2020). L'augmentation des concentrations en polluants dans la biosphère peut s'expliquer par les émissions suite à la combustion des énergies fossiles via la production de cendres et de poussières (Burmistrz et al., 2016), les rejets par les fonderies de métaux (Richir & Gobert, 2016), les cimenteries, l'exploitation minière (Wu et al., 2018), l'orpaillage (Furtado et al., 2021) mais également par les activités agricoles et urbaines (Béthoux et al., 1990, Richir & Gobert, 2016). Un nombre important de composés chimiques nocifs se retrouve relargués ainsi dans les sols, l'air, les eaux et l'alimentation (Ramade, 1979). Les émissions, qu'elles soient atmosphériques, terrestres ou aquatiques conduisent à une contamination globale de l'hydrosphère. Transportés par les cellules atmosphériques, les polluants se retrouvent à l'échelle mondiale grâce à une dispersion sur de longues distances et un long temps de résidence dans le milieu (Shen et al., 2017 ; Mao et al., 2016 ; Furtado et al., 2021).

Parmi ces composés, se trouvent les éléments traces métalliques (ETMs), dont les principaux représentants sont : l'argent (Ag), l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le chrome (Cr), le mercure (Hg), le nickel (Ni), le plomb (Pb) et le zinc (Zn). Constitutifs de la croûte terrestre, ils se retrouvent naturellement dans l'ensemble des compartiments de la biosphère à des concentrations relativement faibles. Largement étudiés pour comprendre leurs effets toxiques sur la santé humaine, l'As, le Cd, le Hg et le Pb font l'objet d'une surveillance accrue (Salvo et al., 2015). Ces éléments sont en effet responsables respectivement de cancers, de la maladie Itaï-Itaï, de la maladie de Minamata, et du saturnisme (World Health Organization, 2022).

Les ETMs sont facilement solubles, compte tenu de leur capacité à s'activer à partir de l'état solide et à migrer vers l'environnement aquatique, où ils deviennent biologiquement disponibles (Baran & Tarnawski, 2015 ; Sutherland & Tack, 2007). Le milieu marin est principalement touché par cette contamination car il a un rôle de réservoir majeur dans les cycles biogéochimiques de nombreux éléments (Clarke & Sloss, 1992). Les principaux métaux dans les eaux naturelles sont le K, Ca, Mg, Mn, Fe. Les carences en ces nutriments essentiels peuvent être néfastes pour la faune et la flore aquatiques (Martins et al., 2014).

Considérés comme un problème global et la source principale de pollution marine (Bonanno & Di

Martino, 2017), les ETMs impactent l'ensemble des réseaux trophiques. Les prédateurs marins du fait de leurs positions trophiques élevées se retrouvent fortement exposés aux contaminants bioamplifiables. Les éléments xénobiotiques n'ayant aucune fonction physiologique tels que le Cd, le Hg et le Pb se bioaccumulent tout au long de la vie des individus, rendant les espèces longévives vulnérables.

Parmi les prédateurs supérieurs, les oiseaux marins sont principalement exposés aux contaminants environnementaux par l'ingestion de nourriture et intègrent par conséquent la contamination de leurs réseaux trophiques (Borgå et al., 2004 ; Lavoie et al., 2013). Du fait de leur durée de vie longue, les oiseaux de mer présentent généralement des concentrations élevées de contaminants dans leurs tissus (Thompson et al., 1991, 1992). Des effets sublétaux peuvent être observés chez les populations d'oiseaux marins tels que des problèmes comportementaux et physiologiques (Burger & Gochfeld, 2000, 2004). Pouvant directement impacter la condition des individus, les ETMs amplifient leurs sensibilités aux autres facteurs de stress environnementaux (PNA, 2021). Par exemple, des concentrations élevées en Hg dans le sang ont été associées à une plus grande probabilité de ne pas se reproduire chez les mouettes tridactyles, *Rissa tridactyla* (Tartu et al., 2013). Le Hg peut perturber la sécrétion de prolactine, hormone impliquée dans le processus de reproduction, ce qui pourrait entraîner une réduction de la survie des poussins (Tartu et al., 2016). Par conséquent, un enjeu majeur, au-delà de réduire l'émission des ETMs, est d'évaluer la contamination des prédateurs marins aux éléments traces à très large échelle spatiale et les risques liés à cette contamination pour ces espèces vulnérables (Costa et al., 2016).

L'utilisation des oiseaux marins comme bioindicateurs de l'état de contamination des écosystèmes marins a commencé depuis quelques décennies (Burger & Fry, 1993 ; Becker et al., 1993 ; Monteiro & Furness, 1995). Sachant que l'intégration des contaminants provient principalement de la voie alimentaire, comprendre le comportement de recherche de nourriture et le régime alimentaire des oiseaux marins est essentiel pour évaluer le degré de contamination de ces espèces. Les isotopes stables du carbone et de l'azote sont fréquemment utilisés dans les études écotoxicologiques pour relier les niveaux de contaminants à la zone d'alimentation (δ^{13} C) et à la position trophique (δ^{15} N). En effet, la valeur isotopique de δ^{15} N augmente de la proie au consommateur (Minagawa & Wada, 1984) tandis que les sources de carbone côtières sont enrichies en δ^{13} C par rapport aux sources océaniques (Peterson & Fry, 1987 ; Kelly, 2000). Ces données isotopiques sont des outils précieux pour comprendre la relation existante entre la zone de recherche de nourriture, le régime alimentaire et les concentrations des contaminants (ex : Anderson et al., 2010).

Afin d'évaluer la contamination des écosystèmes marins en France métropolitaine, on peut étudier les oiseaux de mer comme indicateur de l'état de contamination du milieu. Parmi les nombreuses espèces d'oiseaux marins peuplant les côtes françaises, notre étude va se focaliser sur trois espèces de Procellariiformes ayant une alimentation principalement hauturière. En effet, le Puffin des Baléares (*Puffinus mauretanicus*) est une espèce nicheuse endémique de la Méditerranée. Philopatrique de l'archipel des Îles Baléares en Espagne, pour se reproduire, il est considéré comme l'oiseau marin le plus menacé d'Europe (PNA, 2021). Présent en période postnuptiale en Atlantique, les individus passent environ 4 mois au large du Portugal et de la France, avec une variabilité "colonie-spécifique" pouvant varier d'un mois (Pérez-Roda et al., 2017). Protégée en France, cette espèce fait l'objet d'un plan d'action national visant à mieux comprendre les risques encourus et notamment son degré d'exposition face aux ETMs. D'autres espèces de Procellariiformes nichent dans le bassin méditerranéen (BirdLife International 2018). Proche du puffin des Baléares sur le plan phénotypique et génotypique, le puffin yelkouan (*Puffinus yelkouan*) et le puffin de Scopoli (*Calonectris diomedea*) sont également en déclin. Bien plus étudiés que le puffin des Baléares, ces deux espèces serviront de comparaison tout au long de notre étude pour pouvoir en apprendre davantage sur la contamination du puffin des Baléares mais également pour avoir une vue globale de la contamination des puffins à l'échelle du bassin méditerranéen et de l'Atlantique Nord-Est.

Les mesures en ETMs et en isotopes ont été réalisées sur des plumes et du sang sur des oiseaux vivants tandis que des tissus internes ont été prélevés sur des cadavres. Une fois assimilés dans l'organisme, les ETMs circulent à travers le sang jusqu'aux organes (e.g. Kahle & Becker, 1999). Ils s'accumulent dans les tissus internes tels que les muscles, les reins et le foie. Les contaminants comme le Hg restent maintenus dans ces tissus jusqu'à ce qu'ils puissent être éliminés par la mue du plumage (Monteiro & Furness, 2001). En outre, il existe le plus souvent une corrélation significative entre les concentrations de Pb dans les plumes et celles dans les organes de stockages et dans les tissus sanguins (Burger & Gochfeld, 2004). Cependant, les concentrations des ETMs dépendent des organes de stockage étudiés. Par exemple, des concentrations élevées en Cd et Cr ont été retrouvées dans les reins tandis que des concentrations élevées en Cu, Hg et Ag ont été mesurées dans le foie de puffins des Baléares (Costa et al., 2016). Il est possible d'avoir une co-exposition des individus aux ETMs et d'observer des corrélations entre les éléments dans les différents tissus internes en fonction de leurs rôles physiologiques. Chez une large majorité d'oiseaux marins, une proportion élevée de la charge corporelle du Hg se retrouve dans les plumes lors de leur synthèse pouvant représenter plus de 70% de la charge corporelle (Burger, 1993, Braune & Gaskin, 1987). En effet, les contaminants accumulés dans les tissus sont évacués dans les plumes en croissance, et une fois incorporés dans les kératines des plumes, ils y restent piégés définitivement (Crewther et al., 1965; Appelquist et al., 1984). L'analyse des plumes de couvertures et des rémiges permettent d'obtenir des renseignements sur une large fenêtre temporelle et spatiale, sachant que la synthèse de ces deux types de tissus se fait à différentes périodes. Chez le puffin des Baléares, la mue des primaires s'effectue dès leur arrivée en Atlantique (juin/juillet) tandis que la mue des plumes de couverture s'effectue en début de reproduction, au mois de février (Zotier et al., 1999 ; PNA, 2021). Sachant que les plumes ne sont pas synthétisées au même moment, il est judicieux d'étudier les deux types de plumages pour avoir des informations sur la contamination du milieu occupé et du régime alimentaire sur de larges échelles temporelles et spatiales. Ce type de tissu peut offrir une méthode viable de surveillance des ETMs dans les différentes aires de répartition via les différentes périodes de synthèse des plumes (Bearhop et al., 2000). Afin d'étudier l'exposition des oiseaux à court terme, il est néanmoins plus adapté d'étudier le sang. Ce tissu est métaboliquement actif avec un fort taux de renouvellement qui reflète le régime alimentaire et l'exposition aux ETMs durant quelques semaines précédant l'échantillonnage (Monteiro & Furness, 2001 ; Hobson & Clark, 1992a ; 1993). Les prélèvements de plumes et de sang sont non-létaux pour les individus et sont les tissus les plus ciblés pour réaliser des études isotopiques en écologie aviaire (Cherel et al., 2014). Avec des cadavres, les organes internes tels que le foie, les reins et les muscles donnent accès à une contamination en ETMs sur une plus longue période que le sang (Mallory et al., 2018). Il est donc judicieux d'étudier les tissus sanguins et organes de stockages pour pouvoir effectuer des comparaisons avec d'autres études portant sur les Procellariiformes.

Les études interspécifiques sur les oiseaux marins se sont principalement concentrées sur les individus adultes (Anderson et al., 2010, 2009 ; Becker et al., 2016 ; Roscales et al., 2016; Sebastiano et al., 2017) où les concentrations de contaminants dans les tissus dépendent d'un mélange complexe de facteurs intrinsèques: âge, sexe, statut de reproduction (Borgå et al., 2004; Lerma et al., 2016) et extrinsèques : régime alimentaire, migration, saisonnalité (Finger et al., 2016 ; Leat et al., 2013) pouvant limiter notre capacité à identifier et évaluer les sources spécifiques d'exposition. Au contraire, les poussins de l'éclosion à l'envol sont alimentés par leurs parents avec des ressources marines capturées à proximité des colonies (Blévin et al., 2013 ; Carravieri et al., 2020). Chez les poussins, l'exposition dans l'œuf après le transfert de contaminants maternels vers l'œuf est négligeable (Bourgeon et al., 2013) en raison de l'effet de dilution de la croissance et/ou dans le duvet primaire et secondaire (Ackerman et al., 2011). Les concentrations de contaminants dans les tissus des poussins reflètent donc une exposition locale sur une fenêtre temporelle assez limitée faisant d'eux d'excellents bioindicateurs permettant d'évaluer l'exposition aux contaminants autour des colonies grâce à des prélèvements non létaux de sang et de plumes qui peuvent être obtenus facilement et rapidement au nid (Carravieri et al., 2014a).

A travers ce rapport, différents objectifs seront menés pour étudier la contamination des puffins. L'étude vise à :

(1) évaluer les niveaux de contamination par les ETMs chez trois espèces de puffins en étudiant la variabilité interspécifique ;

(2) évaluer les niveaux de contamination entre les colonies, en se basant exclusivement sur les poussins de Scopoli et en étudiant la variabilité spatiale ;

(3) déterminer le niveau de contamination en ETMs des oiseaux à l'aide des isotopes stables ;

(4) évaluer les niveaux de contamination en Hg dans le sang et dans les plumes et étudier les niveaux de contamination à l'aide de seuils de toxicité établis dans les différents tissus.

(5) étudier les corrélations entre les ETMs dans plusieurs organes et tissus chez les puffins.

Les hypothèses sous-jacentes à l'étude prédisent une différence de niveau de contamination entre les différents stades de vie et espèces. En effet, sachant que certains éléments traces tel que le Hg, s'accumulent tout au long de la vie des individus, on peut envisager des niveaux de contamination en ETMs plus importants chez les puffins adultes par rapport aux poussins. Concernant l'étude des colonies de puffins de Scopoli en Méditerranée, la proximité de la colonie de Frioul à une importante ville portuaire du sud de la France (Marseille), suggère une contamination plus importante que les autres colonies insulaires de Méditerranée. Concernant l'alimentation des puffins, on s'attend à observer une alimentation plus tournée vers des ressources pélagiques chez les adultes que chez les poussins. En effet, les parents vont se nourrir près des colonies et doivent réduire leur durée de recherche de nourriture afin de retourner à terre pour nourrir leur progéniture. Sachant que la mer Méditerranée est un bassin presque fermé, entouré de zones fortement industrialisées. Cette zone d'étude est une région avec un risque d'accumulation des contaminants plus élevés qu'en Atlantique. On peut envisager une contamination plus importante en ETMs dans les plumes de couvertures que dans les régimes primaires au vu de la phénologie de la mue chez les puffins des Baléares. Concernant les corrélations entre les éléments traces dans les organes, on s'attend à une forte corrélation entre le Hg et Se dans le foie où se produit la détoxication du Hg par coprécipitation avec le Se (Ikemoto et al., 2004).

Matériels et méthodes :

1. Région d'étude et espèces :

L'étude a été réalisée sur plusieurs sites en France métropolitaine allant de la façade Atlantique, dans le Mor Braz (Bretagne) à la façade méditerranéenne sur une plage de Camargue et sur les îlots de Frioul, Riou Giraglia et Lavezzi.

De nombreuses espèces de procellariiformes sont présentes en Atlantique et Méditerranée dont une partie d'entre elles, peuple les côtes françaises tout au long de l'année dépendant de la phénologie de l'espèce. L'étude va se focaliser sur trois espèces de puffins endémiques à la Méditerranée lors de la reproduction.

Le Puffin des Baléares (Puffinus mauretanicus) est une espèce nicheuse endémique de la Méditerranée. Procellariiforme très philopatrique de l'archipel des Baléares au large de l'Espagne durant la période de reproduction, il est considéré comme l'oiseau marin le plus menacé d'Europe (PNA, 2021). Fortement protégé en France et au niveau européen, son statut de conservation est jugé en "danger critique d'extinction" depuis 2004 (IUCN, 2020). L'utilisation de modèles démographiques a permis d'évaluer un déclin de la population avoisinant les 14%/an et une extinction de l'espèce d'ici 55 ans (Genovart et al, 2016). Selon les dernières évaluations, la population globale recenserait 25 000 individus dont 7 200 couples nicheurs (nombre théorique). Par ailleurs, la population de Puffin des Baléares serait sous-estimée et aurait connue récemment une augmentation de ses effectifs grâce à des conditions environnementales et anthropiques bénéfiques pour l'espèce (Martin et al., 2019). Le patron global de la phénologie de présence annuelle se répartit en plusieurs phases : 3 mois de nidification (ponte, incubation, élevage des poussins) dans les Baléares, 5 mois de visites entre les colonies de reproduction en Méditerranée et l'Océan Atlantique, et 4 mois passés en dispersion post-nuptiale en Atlantique : au large du Portugal et de la France. Une variabilité phénologique d'un mois existe entre les colonies concernant la durée de présence en Atlantique (Pérez-Roda et al., 2017).

Proche du puffin des Baléares sur le plan phénotypique et génotypique, le puffin yelkouan (*Puffinus yelkouan*) et le puffin de Scopoli (*Calonectris diomedea*) sont également en déclin à cause d'un faible succès de reproduction lié notamment à l'introduction de prédateurs comme les rats noirs sur les îles qu'ils occupent (Ruffino et al. 2009), la prédation des chats sur les adultes (Bonnaud et al. 2009) et les prises accidentelles de la pêche (Cortés et al. 2018).

Le Puffin Yelkouan est une espèce strictement endémique au bassin méditerranéen, qui est classé dans la catégorie vulnérable de l'IUCN (IUCN, 2010). La population européenne a été recensée par BirdLife International et on dénombre 23 500 à 40 900 couples reproducteurs répartis sur l'ensemble de la Méditerranée (BirdLife International, 2022). Cet oiseau marin a été étudié à de nombreuses reprises, cependant des lacunes subsistent dans nos connaissances liées à son niveau de contamination via son écologie alimentaire. Ayant une aire de répartition limitée, il est donc judicieux d'étudier cette espèce qui passe l'ensemble de son cycle de vie dans les limites du bassin méditerranéen, dont les écosystèmes côtiers et marins présentent des niveaux élevés de contaminants.

Le Puffin de Scopoli est également un oiseau marin pélagique qui se reproduit en Méditerranée. La présence de 141 000 à 223 000 couples reproducteurs dans l'ensemble du bassin méditerranéen a été estimée (BirdLife International, 2021) et une taille de population comprise entre 285 000 et 446 000 (BirdLife International, 2023). Quand bien même son statut de protection de l'IUCN classe l'espèce dans la catégorie : "Préoccupation mineure (LC)", on estime une légère diminution de la population (BirdLife International, 2023). La phénologie de l'espèce est bien documentée. Avec un cycle de vie avoisinant les 25 ans (Fransson, 2010), les puffins de Scopoli commencent à se reproduire à l'âge de 5 ans (Thibault et al., 1997). La ponte d'un œuf s'effectue en mai et les poussins quittent la colonie vers la fin du mois d'octobre. De nombreuses études ont été menées à des échelles locales : île de Linosa, en Sicile (Costantini et al., 2020); l'archipel de Hyères, en France (Bourgeois et al., 2011); mais également à une échelle globale pour déterminer la contamination de cette espèce en Méditerranée (Projet ROMPOM, 2019).

Cette étude a pour objectif d'évaluer les niveaux de la contamination par les métaux et les risques potentiels encourus par ces espèces.

2. Collecte des échantillons :

L'échantillonnage des puffins des Baléares a eu lieu dans le secteur du Mor Braz (Atlantique) durant l'été 2022. Les oiseaux (n=30) ont été capturés à l'aide d'un filet à propulsion tiré depuis un zodiac sur les oiseaux posés sur l'eau ou au décollage. Sur chaque individu capturé : des plumes ventrales, dorsales, la rémige primaire N°6 ainsi que du sang ont été prélevés.

Les puffins Yelkouan adultes ont été retrouvés échoués sur la plage Napoléon à Port-Saint-Louisdu-Rhône en janvier 2022. Les individus étaient en bonne condition physique permettant de supposer qu'ils ont été victimes de captures accidentelles. Lors des dissections des cadavres (n=12), des plumes ventrales, le foie, les reins, du muscle pectoral et du sang ont été prélevés et conservés à -20°C pour les analyses ultérieures.

Les puffins de Scopoli sont des poussins échantillonnés dans le cadre d'un programme de suivi de la contamination des oiseaux marins des côtes françaises, sur les sites de reproduction en Méditerranée. Des prélèvements sanguins et du duvet ont été collectés sur 51 individus répartis dans 4 colonies situées sur les îlots de : Frioul (43,27° ;5,31°) et Riou (43,18° ;5,39°) dans le sud de la France, Giraglia au Cap Corse (43,03° ;9,41°) et Lavezzi dans les Bouches de Bonifacio (41,34° ;9,26°).

3. Préparation des échantillons

Pour les plumes, le calamus est d'abord éliminé ainsi que le duvet. Le sang séché dans le bulbe de la plume permettra de sexer les individus grâce à des analyses moléculaires poussées. Afin d'éliminer la contamination externe, les plumes sont lavées dans un mélange de chloroforme:méthanol (2:1) sous ultrasons pendant 3 minutes, puis rincées dans 2 bains de méthanol successifs et séchées à 45°C pendant 48h. (Burger & Gochfeld, 2002; Carravieri et al. 2014a). Trois plumes ventrales sont placées dans un tube eppendorf de 1,5 ml et réduites en poudre à l'aide des ciseaux en acier. Pour la rémige primaire N°6, le même procédé est suivi.

Pour les tissus internes et le sang, l'ensemble des échantillons a été placé entre 24 et 48 heures au lyophilisateur pour assurer leur séchage. A l'issue de la lyophilisation, les échantillons de sang sont homogénéisés directement dans les tubes eppendorfs tandis que les tissus sont broyés au pilon dans un mortier en porcelaine pour obtenir une fine poudre homogène.

4. Analyse des éléments traces

4.1. Dosage des éléments métalliques :

La mesure des concentrations de 13 éléments : Argent (Ag), arsenic (As), cadmium (Cd), cobalt (Co), chrome (Cr), cuivre (Cu), fer (Fe), nickel (Ni), manganèse (Mn), plomb (Pb), sélénium (Se), vanadium (V) et zinc (Zn) ; a été réalisée sur les échantillons de cellules sanguines, de tissus et de plumes lyophilisées par ICP-OES Agilent 5800VDV et un ICP-MS Thermo Fisher Scientific X series II à la plateforme Analyse Élémentaire au laboratoire LIENSs. Les échantillons (n=60-240 mg) ont été digérés avec un mélange de 6 ml d'acide nitrique HNO₃ 67-69% et 2 ml d'acide chlorhydrique 34-37% (Fisher Scientific, qualité ultrapure). La digestion acide des échantillons a débuté à une température ambiante durant 12h et s'est terminée au four micro-ondes Millestone par 30 minutes de montée à 120°C suivi de 15 minutes à 120°C. Chaque échantillon a ensuite été dilué avec de l'eau ultrapure Milli-Q pour atteindre un volume total de 50 ml. Des blancs et des matrices de concentrations certifiées ont été préparés et analysés avec les échantillons. Les certifiés étaient le TORT-3 (National Research Council Canada (NRCC)) et du foie de chien de mer, DOLT-5 (NRCC). Les limites de quantification et les pourcentages de récupération étaient pour le TORT-3 de: 1 µg L⁻¹ et 103% pour l'As, 0,1 µg L⁻¹ et 98% pour le Cd, 0,1 µg L⁻¹ et 100% pour le Co, 0,1 µg L⁻¹ et 102% pour le Cr, 0,5 µg L⁻¹ et

93% pour le Cu, 20 μg L⁻¹ et 88% pour le Fe, 0,5 μg L⁻¹ et 99% pour le Mn, 0,2 μg L⁻¹ et 96% pour le Ni, 0.1 μg L⁻¹ et 82% pour le Pb, 0,5 μg L⁻¹ et 107% pour le Se, et 20 μg L⁻¹ et 97% pour le Zn. Les pourcentages de récupération étaient pour le DOLT-5 de : 94% pour l'Ag, 96% pour l'As, 92% pour le Cd, 95% pour le Co, 97% pour le Cr, 103% pour le Cu, 93% pour le Fe, 94% pour le Mn, 99% pour le Ni, 88% pour le Pb, 106% pour le Se, et 100% pour le Zn. Les concentrations des éléments métal-liques sont exprimées en μg g⁻¹ de poids sec.

4.2. Dosage du mercure :

Le dosage du mercure (Hg total) a été réalisé sans minéralisation sur les échantillons (0,25 à 0,50 mg) de cellules sanguines, de tissus et de plumes lyophilisées par spectrophotométrie d'absorption atomique avec un Advanced Mercury Analyser (AMA-254) de marque ALTEC. Cet appareil permet l'analyse d'échantillons bruts qui sont dans un premier temps brûlé sous atmosphère d'oxygène à une température de 800°C et dont le Hg est libéré lors de la combustion est amalgamé sur un collecteur en or. Par chauffage de cet amalgameur, le Hg est libéré et l'analyse est réalisée par absorption atomique. Le contrôle qualité des analyses a été réalisé par la mesure de blancs au début et fin de chaque session d'analyse, par la mesure de matrices certifiées pour leur concentration en Hg, ici de l'hépatopancréas de homard, TORT-3 (NRCC). Chaque échantillon a fait l'objet d'au moins deux mesures pour que le pourcentage de variation (RSD) entre les mesures soit inférieur à 10%. Les résultats des analyses de matrices certifiées donnent un pourcentage de récupération de la concentration en Hg variant de 96 à 102 % suivant la session d'analyse. La limite de quantification de l'appareil était de 0,01 ng de Hg. Les concentrations de Hg sont exprimées en µg g⁻¹ de poids sec.

5. Détermination des seuils d'effets

Les données brutes obtenues dans les articles de références ont été harmonisées en concentrations de matière sèche en utilisant les concentrations de poids humides. Pour les besoins de la comparaison avec les données publiées, nous avons supposé un facteur de conversion de 4,76 entre les concentrations de masse sèche et humide de l'ensemble des éléments. Pour le sang des oiseaux marins, on suppose un pourcentage d'humidité dans les tissus humides d'environ 79% (Eagles-Smith et al., 2008). Les résultats doivent être interprétés avec précaution car le facteur de conversion peut varier en fonction de l'espèce et des individus étudiés.

Pour interpréter les niveaux de contamination et les relier aux potentiels risques encourus par les puffins, nous avons utilisé les valeurs seuils établies par Dietz et al., 2021 puis repris par Chastel et al., 2022. Ils proposent plusieurs valeurs seuils et des catégories de risque qui en découlent. Ces valeurs seuils portent exclusivement sur le Hg chez les oiseaux arctiques.

Les valeurs seuils pour le sang sont tirées des travaux d'Ackerman et al., 2016, puis extrapoler pour les plumes selon l'équation :

ln ([Hg dans le sang en poids frais]) = 0,673 × ln ([Hg dans les plumes]) - 1,673

Les classes de risques sont réparties en quatre groupes :

- Risque faible : 1 5 μg g⁻¹ poids sec pour le sang et 1,62 4,53 μg g⁻¹ poids sec pour les plumes.
- Risque modéré : 5 15 µg g⁻¹ poids sec pour le sang et 4,53 9,14 µg g⁻¹ poids sec pour les plumes.
- Risque élevé : 15 20 μg g⁻¹ poids sec pour le sang et 9,14 10,99 μg g⁻¹ poids sec pour les plumes
- Risque sévère : > 20 μ g g⁻¹ poids sec pour le sang et > 10,99 μ g g⁻¹ poids sec pour les plumes.

6. Analyse isotopique

Pour étudier l'écologie trophique des puffins, des analyses d'isotopes stables du carbone et de l'azote ont été réalisées sur l'ensemble des tissus étudiés. Les analyses se sont déroulées dans les locaux Marie Curie à La Rochelle Université. Des quantités variantes entre 0.2 et 0.4 mg d'échantillon ont été pesées avec une balance Mettler Toledo, d'une précision de (± 0.5 µg) et placées dans des capsules d'étain pour l'analyse. Cette dernière est ensuite fermée hermétiquement et pliée de façon sphérique pour faciliter l'analyse. Les capsules sont ensuite transférées dans un analyseur primaire (Flash 2000, Thermo Scientific, Milan, Italie) couplé à un spectromètre de masse (Delta V Plus avec IV Interface, Thermo Scientific, Brême, Allemagne). L'analyse permet de déterminer la quantité relative des ratios isotopiques du carbone et de l'azote suivant l'équation suivante :

$$\delta X = \left(\frac{R \, \acute{e} chantillon}{R \, standard} - 1\right) \times 10^3$$

où X correspond au ¹³C ou ¹⁵N et R au ratio ¹³C/¹²C ou ¹⁵N/¹⁴N respectivement. Les résultats sont rapportés en notation unitaire (exprimée en par mil par rapport aux références, le Vienna Pee Dee Belemnite pour le δ^{13} C et l'azote gazeux de l'air pour le δ^{15} N). La précision de la mesure a été vérifiée par des analyses répétées. Pour contrôler la validité des résultats, des mesures sur des échantillons certifiés (USGS-61 et USGS-63 (Caffeine)) sont réalisées. Les valeurs mesurées de USGS-61 pour les ratios isotopiques ont été de, δ^{13} C : -35,05 ± 0,03 (‰) et δ^{15} N : -2,87 ± 0,05 (‰), n = 8. Les valeurs mesurées des échantillons certifiés USGS-63, ont été de : δ^{13} C : -1,17 ± 0,06 (‰) et δ^{15} N : 37,83 ± 0,06 (‰), n = 8. La précision analytique des mesures s'est révélée < 0.10 ‰ pour l'azote et le carbone. Les valeurs sont ensuite rassemblées dans une base de données pour être analysées. Les appareils utilisés peuvent se révéler sensibles et être influencés par l'environnement extérieur.

7. Analyse statistique

L'ensemble des graphiques et des tests statistiques ont été réalisé sous le logiciel RStudio version 4.2.2 avec l'utilisation du package *ggplot()*. Notre seuil de significativité statistique a été fixé à *p* = 0,05. La vérification de l'homoscédasticité, de l'indépendance et de la normalité des résidus a été effectuée en utilisant les graphiques des résidus (graphiques Quantile-Quantile).

Tout d'abord, nous avons cherché à comparer les concentrations en ETMs en fonction de l'espèce. Une ANOVA couplée à des T tests a été réalisée. Le test post-hoc de Tukey mis en place a permis de voir les différences entre les groupes. Dans le but de comparer les niveaux de contaminants dans les différentes colonies de puffins de Scopoli, une ANOVA et des T tests pour tester les différences entre les sites ont été réalisés avec un test de Tukey post-hoc (Figure 1., Figure 2.). Pour étudier les corrélations entre les ETMs, des ACPs ont été réalisées pour étudier d'une part, uniquement les puffins des Baléares, et d'autre part la variabilité des colonies chez les poussins de Scopoli (Figure 3., Figure 4.). La réalisation d'une valeur seuil a permis l'interprétation des éléments sur chaque axe. Afin de déterminer si l'alimentation est un facteur potentiel à la contamination, nous avons intégré les isotopes à l'analyse. Pour cela des modèles linéaires (LM) ont été réalisés. Chaque espèce a été séparée afin de limiter les biais liés au stade de vie et à la variabilité spatiale. Des tests de corrélations entre les variables et la normalité des données brutes ont été réalisés en amont. Les modèles retenus ont été compilés dans le Tableau 4.

Les niches isotopiques représentées ont été réalisées avec la version 2.1.7 du package *SIBER()* dans R (Jackson et al., 2011). Les zones d'ellipse standard corrigées pour les petites tailles d'échantillon, qui incluent environ 40 % des individus au sein d'un groupe sur la base d'une distribution normale bivariée, ont été calculées pour chaque espèce, chaque colonie et chaque tissu. Les estimations a posteriori de l'aire d'ellipse standard bayésienne ont ensuite été utilisées pour tester les différences entre les niches isotopiques des oiseaux (à l'aide d'ANOVA). Des pourcentages de recouvrements des niches isotopiques ont également été calculés (Figure 5a.,5b., Figure 6.).

Des tests non-paramétriques, sont réalisés pour étudier les corrélations entre les éléments chimiques dans les différents organes et tissus des puffins Yelkouan (Test de Spearman et Kruskal-Wallis). Les concentrations en ETMs dans les tissus ont été compilé dans le Tableau 1. et l'ensemble des corrélations significatives a été rassemblé dans le Tableau 2. De plus, une régression linéaire a été obtenue en étudiant la relation entre le Se et le Hg chez les puffins de Scopoli (Figure 9.).

<u> Résultats :</u>

1. Les éléments traces métalliques.

Parmi les quatorze ETMs recherchés dans les différents tissus des trois espèces de puffins de cette étude, seulement sept (As, Cu, Hg, Fe, Mn, Se, Zn) présentaient des concentrations supérieures à la limite de détection. De plus, le plomb a été détecté dans le sang des puffins de Scopoli (poussins).

Les concentrations des sept ETMs montrent des variations entre espèces et stades de vie (Figure 1.). Les puffins Yelkouan et les puffins des Baléares ont des concentrations plus élevées en As, Cu, Hg et Se que les poussins de Scopoli. Les trois espèces ont des concentrations en As, Cu, Fe et Hg, significativement différentes. Les puffins Yelkouan présentent des concentrations de Mn significativement supérieures à celles des deux autres espèces. Les concentrations de Se sont significativement plus faibles chez les poussins que chez les adultes (Tukey HSD : p < 0,001) mais aucune différence entre les puffins des Baléares et Yelkouan n'a été détectée (Tukey HSD: Yelkouan-Baléares p = 0.95, Annexe 4.).



Figure 1. Concentrations des ETMs (µg g⁻¹ de poids sec) dans le sang des puffins de Scopoli poussins, *C. diomedea* (en bleu), des puffins Yelkouan, *P. yelkouan* et des puffins des Baléares adultes, *P. mauretanicus* (en rouge). L'ordre de la représentation des espèces est basé sur les différents stades de vie (poussins-adultes) et sur les aires d'échantillonnage ; Méditerranée (à gauche) pour les puffins de Scopoli et les puffins Yelkouan, et Atlantique (à droite) pour les puffins des Baléares. Les lettres indiquent des différences significatives entre les espèces (Tukey HSD, *p* < 0,05). Chez les puffins de Scopoli, il n'y a pas de différence significative entre les colonies pour le Cu, le Mn, et le Pb (Figure 2.). En revanche, des différences apparaissent entre sites pour les autres éléments. Ainsi, Giraglia présente les concentrations les plus élevées en Hg, Se et Zn tandis que le site du Frioul montre les concentrations les plus faibles en Zn.



Figure 2. Concentrations des ETMs (μ g g⁻¹ de poids sec) dans le sang des puffins de Scopoli poussins, *C. diomedea*. L'ordre de la représentation des espèces est basé sur les différentes aires d'échantillonnage ; les colonies proches du Golfe du Lion à gauche et de la Corse à droite. Les lettres indiquent des différences significatives entre les espèces (Tukey HSD, *p* < 0,05).

Dans les tissus internes des puffins Yelkouan, l'Ag, le Cr, le Ni, le Pb et le V présentaient des concentrations inférieures à la limite de détection. Les ETMs ont des concentrations significativement plus élevées dans le foie que dans le muscle à l'exception du Cu (p = 0.47; Tableau 1.). Les concentrations en Mn, Se et Zn sont significativement plus élevées dans les reins par rapport aux muscles tandis que les concentrations en Cd et en Zn sont significativement plus élevées dans les reins par rapport aux autres organes (p < 0.05). Les concentrations en Cu, Mn et Zn sont significativement plus faibles dans le sang que dans les autres types d'organes (p < 0.05). Les concentrations les plus importantes de Fe se retrouvent dans le sang (p < 0.01). Dans les tissus internes, on observe de nombreuses corrélations entre les ETMs (Tableau 2.). Le sang est un tissu où les ETMs interagissent entre eux. En effet de nombreuses corrélations, on remarque que le Cu, le Zn et le Mn sont les éléments avec le plus de corrélations dans le sang et dans les organes de stockage. Le Se est uniquement corrélé de façon positive au Mn dans le foie. Le Hg est corrélé positivement avec d'autres ETMs seulement dans les reins. Dans le sang, le Fe est négativement corrélé au Cd et au Zn tandis qu'il est corrélé positivement au Cu et au Zn dans les muscles.

Éléments	Sang	Muscle	Rein	Foie
	n = 8	n = 9	n = 4	n = 7
As	3,63 ±1,06	4,57 ±1,42	6,79 ±2,12	7,58 ±1,85
Cd	0,12 ±0,11	0,09 ±0,04	10,08 ±1,92	0,58 ±0,11
Со	0,04 ±0,04	0,10 ±0,02	0,16 ±0,02	0,10 ±0,01
Cu	3,63 ±1,41	18,29 ±2,62	12,90 ±0,82	17,45 ±1,79
Fe	1976 ±146	291 ±45	552 ±78	885 ±214
Hg	3,01 ±1,00	1,97 ±1,11	2,69 ±1,30	4,91 ±2,45
Mn	1,28 ±0,99	2,58 ±0,50	7,69 ±0,92	8,77 ±1,50
Se	40,25 ±7,30	10,44 ±2,77	37,23 ±1,46	27,53 ±5,86
Zn	31,13 ±6,30	42,42 ±5,44	87,77 ±8,13	76,55 ±8,39

Tableau 1. Concentrations des ETMs (µg g⁻¹ de poids sec) dans les tissus internes des puffins Yelkouan, *P. yelkouan*. Les valeurs données sont des moyennes écart-type.

Tableau 2. Corrélation entre les ETMs dans les différents tissus de puffins Yelkouan, *P. yelkouan*. Souligné : p < 0.01; autres : p < 0.05.

Éléments	Sang	Muscle	Rein	Foie
	n = 8	n = 9	n = 4	n = 7
As	+Cu, +Zn			
Cd	-Fe			
Со	+Cu, <u>+Mn</u>		+Cu	+Zn
Cu	+As,+Co,+Hg, +Mn, <u>+Zn</u>	+Fe	+Co	
Fe	-Cd, -Zn	+Cu, <u>+Zn</u>		
Hg	+Cu		+Zn, <u>+Mn</u>	
Mn	<u>+Co</u> ,+Cu, +Zn		+Hg, <u>+Zn</u>	+Se
Se				+Mn
Zn	+As, <u>+Cu</u> ,-Fe, +Mn	+Fe	+Mn, +Hg	+Co

2. Interactions des éléments traces et des isotopes

Les ETMs inclus dans l'analyse en composante principale (ACP) pour l'étude des puffins des Baléares sont : As, Cu, Fe, Hg, Mn, Se et le Zn (Annexe 2.). Ensemble, les deux premières dimensions (identifiées ici comme "Dim1" et "Dim2") de l'ACP expliquent 55,42 % de la variation totale. L'As, Fe, Hg, Mn et Se contribuent principalement à Dim1, tandis que Dim2 est influencé majoritairement par le Cu et le Zn. L'ACP permet d'observer de fortes corrélations entre certains éléments tels que le Fe et Hg ; mais également le regroupement du Se et de l'As, ainsi que le Cu et le Zn (Figure 3.). On observe une variabilité interindividuelle assez importante (Figure 3.). Cependant, on constate grâce aux matrices de corrélation ; qu'à l'exception du Zn, le Mn est très peu corrélé aux autres ETMs. La forte contamination en métaux de certains individus influence l'ensemble de l'ACP. Par exemple, les individus ayant une charge élevée en Se et As ont une faible concentration de Mn dans leurs tissus sanguins.



Figure 3. Biplot des scores individuels et des charges des éléments sur les deux axes principaux (Dim1 et Dim2), obtenus à partir d'une analyse en composantes principales (ACP) sur les éléments traces métalliques des cellules sanguines chez les puffins des Baléares adultes, *P. mauretanicus*. Les points représentent les individus.

Une seconde ACP a été réalisée pour étudier les puffins de scopoli poussins. 8 variables ont été retenues pour cette analyse : As, Cu, Fe, Hg, Mn, Pb, Se et Zn (Annexe 3.). La variation totale est expliquée à 59,96 % avec une inertie de 2,52 pour la première dimension (Dim1) et 2,27 pour la dimension 2 (Dim2). Le Cu, Fe, Mn et Zn contribuent à Dim1 et l'As, Hg, Pb et Se influencent majoritairement Dim2 (Figure 4.). Cette ACP permet d'étudier la variabilité interindividuelle et la variabilité spatiale des poussins, représentées par des points et des ellipses respectivement. On observe des corrélations positives entre l'As, Hg et Se et des corrélations négatives entre Fe, Mn et Cu, Zn. On remarque que les poussins provenant de la colonie de Riou et de Frioul ont une signature isotopique et une charge d'éléments traces dans leurs organismes plus faibles que les poussins provenant des colonies de Lavezzi et de Giraglia.



Figure 4. Biplot des scores individuels et des charges des éléments sur les deux axes principaux (Dim1 et Dim2), obtenus à partir d'une analyse en composantes principales (ACP) sur les éléments traces métalliques des cellules sanguines chez les puffins de Scopoli poussins, *C. diomedea*. Les points de couleurs et les ellipses représentent les individus en fonction du site.

Les ACPs ont permis d'avoir une vue d'ensemble sur les contaminants et leurs potentiels corrélations. Pour comprendre le lien entre l'exposition des oiseaux marins aux contaminants et le degré d'exposition, il est judicieux de s'intéresser à la niche alimentaire de ces procellariiformes. L'étude des proxies du site d'alimentation, le δ^{13} C ; et de la position trophique, le δ^{15} N ; semble donc judicieux pour comprendre l'origine de cette contamination. Les puffins de Scopoli sur les sites de Riou et Frioul ont une signature isotopique en C légèrement plus faible que les poussins de Lavezzi

et Giraglia (Tableau 3.). Les individus de Frioul ont un δ^{15} N supérieur aux autres colonies de puffins de scopoli. De plus, on remarque une valeur élevée de δ^{15} N chez les puffins des Baléares contrairement aux puffins Yelkouan adultes durant la période d'échantillonnage. Concernant les ETMs, la différence observée entre les espèces et entre les sites est visible. On peut voir des concentrations légèrement supérieures chez les puffins des Baléares et des concentrations élevées chez les puffins Yelkouan. Ces derniers sont les seuls à présenter des charges en Mn supérieures à 1 µg g⁻¹. Les charges en Zn sont comprises dans une gamme restreinte de valeurs variant en fonction de la colonie, de l'espèce ou du site étudié.

Tableau 3. Valeurs du δ^{13} C, δ^{15} N (‰), et les concentrations de l'As, Cu, Fe, Hg, Mn, Se, Zn (µg g⁻¹ de poids sec) dans le sang ; chez les trois espèces de Procellariiformes étudiées (*P. mauretanicus, C. diomedea, P. yelkouan*). Les valeurs données sont des moyennes ±écart-type.

Espèces	Site	Stade	n	δ ¹³ C	$\delta^{15}N$	As	Cu	Fe	Hg	Mn	Se	Zn
		de vie										
P. de		Poussin	51	-19,00	8,54	1,32	1,58	2 352,25	0,62	0,15	22,96	25,74
Scopoli				±0,24	±0,45	±0,55	±0,75	±80,06	±0,41	±0,05	±10,54	±7,47
	Riou	-	8	-19,16	8,56	0,98	1,85	2 345,06	0,39	0,13	10,93	32,57
				±0,12	±0,30	±0,39	±0,86	±74,25	±0,27	±0,06	±3,97	±15,60
	Frioul	-	15	-19,24	9,01	0,98	1,23	2 368,44	0,42	0,17	14,71	22,60
				±0,16	±0,34	±0,23	±0,49	±50,88	±0,17	±0,04	±4,71	±2,47
	Lavezzi	-	15	-18,79	8,18	1,38	1,54	2 324,84	0,50	0,15	29,92	25,20
				±0,13	±0,22	±0,47	±0,51	±93,80	±0,27	±0,06	±5,80	±4,97
	Giraglia	-	13	-18,86	8,39	1,85	1,85	2 369,61	1,14	0,16	31,85	25,79
				±0,14	±0,38	±0,56	±1,02	±92,60	±0,36	±0,05	±7,81	±3,26
P.	Port-	Adulte	8	-19,93	8,80	3,63	3,63	1976,39	3,01	1,28	40,25	31,13
Yelkouan	Saint-			±0,19	±0,31	±1,06	±1,41	±145,52	±1,00	±0,99	±7,30	±6,30
	Louis-											
	du-											
	Rhône											
P. des	Mor Braz	Adulte	30	-18,26	13,68	2,34	2,82	2 405,93	1,43	0,10	41,64	23,43
Baléares				±0,13	±0,59	±0,82	±0,64	±69,59	±0,57	±0,04	±12,83	±3,49

Les ACPs ont permis de réduire le nombre de modèles en partant du postulat que les éléments fortement corrélés entre eux proviennent de la même source de contamination. On obtient des modèles non significatifs concernant le Hg (p = 0.07), Se (p = 0.46), Mn (p = 0.83) et Zn (p = 0.16). Les modèles mis en place pour les poussins de Scopoli ont quant à eux révélé des résultats intéressants. Pour chaque élément, le meilleur modèle a été placé en premier (Tableau 4.). On remarque que certains éléments sont influencés par le δ^{15} N et le site tels que l'As, Hg, Se, Pb tandis que d'autres dépendent plus du δ^{13} C, du site et d'une interaction entre ces deux variables.

Tableau 4. Classement des modèles AIC des concentrations en ETMs sélectionnés dans le sang chez les puffins de Scopoli poussins, *C. diomedea* (n= 51). Les modèles les mieux supportés sont présentés en premiers. Abréviation : AIC, critère d'information d'Akaike.

Modèles		K ª	AIC	∆AIC ^b	AICwt ^c	R ^{2 d}
Hg	LM					
δ ¹⁵ N + site,		6	4,64	0,00	0.97	0,67
$\delta^{15}N$ + site + $\delta^{15}N$:site		9	12,01	7.37	0.02	0,66
δ¹³C + site		6	17.35	12,71	0,00	0,58
δ^{13} C + site + δ^{13} C:site		9	18,97	14,33	0,00	0,61
site		5	19,68	15,04	0,00	0,55
NULL		2	56,21	51,57	0,00	0,00
δ ¹³ C		3	56,32	51.57	0,00	0.02
$\delta^{15}N$		3	58,38	51,68	0,00	-0.01
As	LM					

δ^{15} N + site	6	65.44	0,00	0,54	0,41
site	5	66,40	0,96	0,34	0,38
δ^{13} C + site	6	68,92	3,48	0,09	0,37
δ^{13} C + site + δ^{13} C:site	9	72,37	6,93	0,02	0,39
δ^{15} N + site + δ^{15} N:site	9	73,11	7,67	0,01	0,38
δ¹³C	3	80,19	14,76	0,00	0,14
NULL	2	86,92	21,48	0,00	0,00
$\delta^{15}N$	3	87.71	22,27	0,00	0,008
Fe	LM				
δ ¹³ C + site	6	592,98	0,00	0,55	0,14
NULL					
	2	595,01	2,03	0,20	0,00
δ¹3C	2 3	595,01 596,67	2,03 3,68	0,20	0,00 -0,008
$\delta^{13}C$ $\delta^{15}N$	2 3 3	595,01 596,67 597,19	2,03 3,68 4,21	0,20 0,09 0,07	0,00 -0,008 -0,01
δ^{13} C δ^{15} N δ^{13} C + site + δ^{13} C:site	2 3 3 9	595,01 596,67 597,19 597,73	2,03 3,68 4,21 4.75	0,20 0,09 0,07 0,05	0,00 -0,008 -0,01 0,14
$\delta^{13}\text{C}$ $\delta^{15}\text{N}$ $\delta^{13}\text{C}$ + site + $\delta^{13}\text{C}$:site site	2 3 3 9 5	595,01 596,67 597,19 597,73 598,89	2,03 3,68 4,21 4.75 5,91	0,20 0,09 0,07 0,05 0,03	0,00 -0,008 -0,01 0,14 0,00

δ¹5N + site + δ¹5N:site	9	603.49	10,50	0,00	0,04
Zn	LM				
δ^{13} C + site + δ^{13} C:site	9	345,88	0,00	0,59	0,29
$\delta^{13}C$ + site	6	347,66	1,77	0,24	0,19
site	5	349,50	3,61	0,10	0,14
δ ¹⁵ N + site	6	351,66	5,78	0,03	0,12
NULL	2	353,06	7.17	0,02	0,00
δ ¹⁵ N	3	353.96	8,08	0,01	0,006
δ¹³C	3	354.41	8,52	0,01	-0,002
$\delta^{\scriptscriptstyle 15}N$ + site + $\delta^{\scriptscriptstyle 15}N$:site	9	355,31	9.43	0,01	0,15

^a Nombre de paramètres.

^b AIC échelonné ; AIC = 0,00 est interprété comme la meilleure adéquation aux données parmi les modèles.

^c Poids de la preuve interprété comme une proportion. La somme des poids de tous les modèles est de 1,00.

^d Coefficient de détermination.

3. Étude des niches isotopiques

La comparaison du traceur des zones d'alimentation (δ^{13} C) dans le sang permet d'observer des différences significatives entre les espèces (ANOVA, F_{2.86} = 246,4 ; *p* < 2⁻¹⁶) mais également sur les différentes colonies des puffins de Scopoli (ANOVA, F_{3.47} = 32,54 ; *p* = 1.56⁻¹¹) excepté pour les colonies de Frioul-Riou, *p* = 0,49 et Lavezzi-Giraglia, *p* = 0,53 (Tukey HSD).

La signature isotopique du δ^{15} N dans le sang permet d'observer des différences significatives entre les espèces (ANOVA, F_{2.86} =1054 ; $p < 2^{-16}$) excepté entre Scopoli-Yelkouan, p = 0.36 (Tukey HSD). L'étude des colonies des puffins de Scopoli révèle des différences significatives pour l'ensemble des sites (ANOVA, $F_{3.47}$ = 18,53 ; p = 4,49⁻⁰⁸) excepté pour les colonies Lavezzi-Giraglia, p = 0,31, et Giraglia-Riou, p = 0,63 (Tukey HSD).

L'ensemble des espèces étudiées occupe des niches isotopiques différentes (Figure 5.a.) avec des tailles variables, comme le montre le non-chevauchement des zones d'ellipses standard (ANOVA, $F_{2,11997}$ = 2827, $p < 2^{-16}$). De plus, malgré une gamme isotopique assez restreinte, on remarque un chevauchement des niches isotopiques de 3 % pour Riou/Frioul et 5 % pour Lavezzi/Giraglia (Figure 5.b.). Cependant les poussins provenant de ces quatre colonies ont des tailles de niches isotopiques significativement différentes malgré des colonies qui semblent à première vue similaires (ANOVA, $F_{3.15996}$ = 3178, $p < 2^{-16}$).



Figure 5. Données du δ^{13} C et δ^{15} N (‰) pour chaque individu (point) et des niches isotopiques (zones d'ellipses standard) avec une robustesse de 40% (a.) chez les trois espèces de Procellariiformes étudiées (*P. mauretanicus, C. diomedea, P. yelkouan*) et (b.) chez les poussins des quatre colonies de puffins de Scopoli, *C. diomedea*.

Les valeurs isotopiques varient dans l'organisme en fonction de la période d'échantillonnage (sang) et de la synthèse des tissus externes tels que les plumes de couvertures et les rémiges primaires. Avec différents types de tissus provenant du même individu, une variabilité temporelle peut être observée. Les valeurs δ^{13} C et δ^{15} N du sang des puffins des Baléares varient faiblement (δ^{13} C : -18,26 ±0,13 ; δ^{15} N : 13,68 ±0,59) contrairement à leurs plumes de couvertures et de leur rémige primaire N°6 ; avec des valeurs respectives de : δ^{13} C : -16,83 ±0,46 ; δ^{15} N : 14,14 ±1,32 et δ^{13} C : -18,04 ±0,75 ; δ^{15} N : 14,89 ±1,26. Il existe une variabilité inter-individuelle assez marquée concernant les signatures isotopiques des plumes par rapport au sang (Figure 6.). Les niches isotopiques du sang et des rémiges primaires ont un recouvrement dans des gammes relativement restreintes avoisinant les 14%. Les puffins des Baléares occupent des niches isotopiques de tailles différentes durant la synthèse des plumes de couvertures et des rémiges primaires N°6 signifiant une variabilité inter-individuelle

marquée ou bien un régime plus généraliste pendant cette période. Les tests statistiques ont révélé que les tailles des niches isotopiques sont significativement différentes.





4. Evaluation du risque lié au mercure

Les concentrations de Hg dans le sang des poussins de puffins de Scopoli sont inférieures à 1 µg g⁻¹ de poids sec, indiquant l'absence de risque toxicologique lié à ce métal (Chastel et al., 2022). La colonie de Giraglia fait néanmoins exception avec huit poussins (62% des individus) qui dépassent ce seuil de 1 µg g⁻¹ (Figure 7.a.). En ce qui concerne les adultes des puffins Yelkouan et Baléares, leurs niveaux de Hg sont compris entre 1 et 5 µg g⁻¹, les plaçant dans la catégorie "risque faible" pour les individus.

En comparaison avec les seuils d'effets établis avec les plumes (Chastel et al., 2022), l'ensemble des colonies de puffin de Scopoli dépasse le seuil de non risque (< 1,62 µg g⁻¹) même si à l'échelle individuelle, certains poussins présentent des concentrations dans leur duvet inférieures à ce seuil (Figure 7.b.). Sept individus, soit 58 % des puffins Yelkouan (n=12) présentent des niveaux de contaminations dans les plumes avoisinant un risque faible pour les individus tandis que 18 individus (60%) des puffins des Baléares (n=30) présentent des niveaux de contaminations modérés, compris entre 4,53 et 9,14 µg g⁻¹.



Figure 7. Concentration en Hg dans (a.) le sang et (b.) les plumes ; des puffins en μ g g⁻¹ de poids sec pour les différents sites d'échantillonnage et pour chaque espèce. Dans l'ordre : *C. diomedea* (4 sites), *P. mauretanicus* (1 site), *P. yelkouan* (1 site). Les seuils de toxicité sont figurés par les lignes en pointillé : (a.) < 1 μ g g⁻¹ : aucun risque (pointillé orange), 1 - 5 μ g g⁻¹ : risque faible pour les individus (pointillé rouge) et (b.) < 1,62 μ g g⁻¹ : aucun risque (pointillés gris clair), 1,62 - 4,53 μ g g⁻¹ : risque faible (pointillés gris foncé), 4,53 - 9,14 μ g g⁻¹ : risque modéré pour les individus (pointillé noir).

Chez le puffin des Baléares, la rémige primaire N°6 (P6) présente des concentrations de Hg supérieures à celles des plumes de couverture et du sang (Figure 8.). Huit individus, soit 27% des puffins présentent des niveaux de contamination élevés (9,14 - 10,99 µg g⁻¹) dans la P6. De plus, 11 individus (37%) sont au-dessus du seuil de 10,99 µg g⁻¹, les plaçant dans la catégorie "risque sévère" pour les individus.

Les concentrations de Hg et de Se ne sont pas corrélées chez les puffins des Baléares et les puffins Yelkouan (Baléares, n=30, p = 0.78; Yelkouan, n=8, p = 0.72). Cependant on observe une corrélation significative (n= 51, p = 0.001) chez les puffins de Scopoli (Figure 9.). Le modèle linéaire représenté suit l'équation : [Se dans le sang] = 11.31 × [Hg dans le sang] + 15.94. En ajoutant la variabilité spatiale, on remarque que les poussins de la colonie de Giraglia sont les seuls à avoir des concentrations en Se qui diminue lorsque le Hg augmente.



Figure 8. Concentration en Hg dans plusieurs types de tissus chez les puffins des Baléares, *P. mauretanicus* (n=30) en μ g g⁻¹ de poids sec. Les lignes rouges représentent les seuils de toxicité pour le sang et en noir, les seuils de toxicité pour les plumes. Seuil de toxicité pour le sang : < 1 μ g g⁻¹ : aucun risque, 1 - 5 μ g g⁻¹ : risque faible pour les individus. Seuil de toxicité pour les plumes : < 1,62 μ g g⁻¹ : aucun risque, 1,62 - 4,53 μ g g⁻¹ : risque faible, 4,53 - 9,14 μ g g⁻¹ : risque modéré, 9,14 - 10,99 μ g g⁻¹ : risque élevé, > 10,99 μ g g⁻¹ : risque sévère pour les individus.



Figure 9. Relation entre les concentrations en Hg et Se (µg g⁻¹ de poids sec) dans le sang chez les poussins de Scopoli, *C. diomedea.*

Discussion:

Malgré son statut d'oiseau marin le plus menacé d'Europe, peu d'études se sont penchées sur l'évaluation de la contamination chez le puffin des Baléares. Dans le cadre du Plan National d'Actions, l'objectif principal du rapport est d'apporter les premières informations sur les niveaux d'exposition de cette espèce. Pour pallier au manque global d'informations, réaliser des comparaisons avec des espèces proches sur le plan phénotypique et génotypique semble donc une bonne méthode pour obtenir des éléments complémentaires. Le présent travail est la première étude visant à comparer les niveaux de contamination par les ETMs chez trois espèces de puffins : le puffin des Baléares, le puffin de Scopoli et le puffin Yelkouan couplé à une analyse des isotopes stables utilisés comme traceurs de l'écologie alimentaire des oiseaux. En effet, quelques études ont déjà été réalisées sur ces espèces séparément en Atlantique Nord-Est et en Méditerranée en se focalisant sur les adultes ou sur les poussins, mais aucune n'avait proposé une comparaison multi-espèces. A travers ce rapport, différentes hypothèses ont été testées afin d'expliquer les niveaux de contamination des puffins. Les isotopes stables du carbone (traceur de la zone d'alimentation) et de l'azote (traceur de la position trophique) ne permettent pas d'expliquer la contamination des puffins des Baléares et Yelkouan alors qu'ils apportent des informations expliquant les niveaux des ETMs chez le puffin de Scopoli. L'analyse de ces proxys couplée aux concentrations des ETMs a également permis d'observer des niveaux d'exposition différents entre les colonies des puffins de Scopoli. L'étude des ETMs dans les tissus internes des puffins Yelkouan adultes a permis de réaliser des comparaisons avec les quelques études déjà menées sur les puffins des Baléares adultes et de comprendre les corrélations entre les ETMs dans les organes. Pour finir, les résultats obtenus ont été comparés à des seuils de toxicité potentiels établis dans d'autres études pour appuyer le Plan National d'Actions en faveur du puffin des Baléares.

1. Concentrations des ETMs dans les tissus des puffins

Les concentrations des sept ETMs déterminées dans cette étude (As, Cu, Hg, Fe, Mn, Se, Zn) se placent globalement dans la même gamme que celles rapportées chez d'autres espèces d'oiseaux marins de différentes zones dans le monde, tant chez les adultes que chez les poussins (Carravieri et al. 2014, 2020 ; Finger et al., 2016 ; Lucia et al., 2016 ; Sebastiano et al., 2017, 2016 ; Carvalho et al., 2013 ; Osborn et al., 1979). L'étude interspécifique met en lumière des concentrations plus élevées en As, Cu, Hg et Se dans le sang chez les puffins adultes. Les poussins de Scopoli et les puffins des Baléares présentent des niveaux en Fe dans le sang supérieurs à ceux des puffins Yelkouan adultes. Etudier des poussins et des adultes ; des stades de vie différents chez les oiseaux marins longévifs, peut limiter l'interprétation des données. En effet, on s'attend à observer des teneurs en métaux plus élevées dans les tissus des adultes (ex : plumes) que chez les poussins, car l'intervalle de temps disponible pour l'accumulation est plus long chez les adultes (Burger & Gochfeld, 2000 ; Bond & Diamond, 2009).

Chez les adultes, les puffins Yelkouan présentent des niveaux de contamination plus élevés en As, Cu, Hg, Mn et Zn dans le sang que les puffins des Baléares (Figure 1.). On sait que la mer Méditerranée et l'océan Atlantique présentent des différences en termes de contamination. Le Mor Braz (zone dans laquelle ont été échantillonnés les puffins des Baléares) est ouvert sur l'océan tandis que le Golfe du Lion (échantillonnage des puffins Yelkouan) fait partie de la mer semi-fermée méditerranéenne. Les masses d'eau vont être renouvelées plus régulièrement en Atlantique qu'en Méditerranée, ce qui facilite la dilution des contaminants. Plusieurs hypothèses peuvent donc expliquer ces résultats. Premièrement, les différents niveaux de contamination entre ces deux espèces peuvent s'expliquer par des concentrations plus élevées en ETMs dissous dans les eaux de surface méditerranéenne que dans l'océan Atlantique (Boyle et al., 1985 ; Morley et al., 1997). La Méditerranée reçoit des apports atmosphériques via les émissions anthropiques européennes, les épisodes de poussière saharienne et l'influence des eaux douces issues de la lixiviation des sols (Durrieu de Madron et al., 2011). Dans le Golfe du Lion, les concentrations en Co, Cu et Zn dans les eaux de surface, ainsi que leurs corrélations négatives avec la salinité, suggèrent que les concentrations de ces éléments sont influencées par le panache superficiel du Rhône (Chouvelon et al., 2019, Radakovitch et al., 2008). Deuxièmement, on sait que le Bassin Méditerranéen a une activité volcanique assez importante pouvant relarquer dans le milieu de nombreux ETMs tel que le Hg. En Méditerranée, de nombreuses études ont pu mettre en évidence une oligotrophie des masses d'eau, ce qui entraîne des niveaux de contamination plus élevés (Chouvelon et al., 2018).

Par ailleurs, la saison d'échantillonnage est un facteur important à considérer pour l'évaluation des contaminants. En effet, la saisonnalité joue un rôle dans les variations des concentrations en ETMs dans les eaux de surface et dans les tissus musculaires des proies des oiseaux comme les sardines. Une augmentation généralisée en Ag, Cd, Cu, Hg, Pb et Zn dans le muscle des sardines a par exemple été mesurée entre le printemps 2010 et l'hiver 2011 dans le Golfe du Lion (Chouvelon et al., 2019).

Or la saisonnalité, mais aussi l'année d'échantillonnage était différente entre les trois espèces étudiées dans ce travail. Ainsi les puffins des Baléares se déplacent entre la Méditerranée et l'Atlantique durant la période post-reproduction (juillet à novembre) alors que les puffins Yelkouan ont été échantillonnés en hiver (janvier 2022). Il est donc complexe de réaliser des comparaisons interspécifiques. De plus, la sensibilité aux contaminants varie considérablement entre espèces et les facteurs de stress n'ont pas le même impact sur les différentes espèces, rendant les comparaisons interspécifiques entre différents sites plus difficiles (Fisk et al., 2005 ; Thompson & Hamer, 2000). Cependant, ces prélèvements aviaires sont de natures rares et difficiles à obtenir, et peuvent donc contribuer à enrichir les informations portant sur la contamination des puffins en France métropolitaine.

Enfin, deux facteurs manquent à l'analyse afin d'étudier les niveaux de contamination des adultes : l'âge des individus et leur sexe. Si un élément est bioaccumulable dans les organes de stockage, on présume que les oiseaux les plus vieux auront des concentrations de contaminants plus importantes. Or les puffins peuvent vivre jusqu'à 23 ans. Malheureusement, il est difficile d'estimer l'âge d'un oiseau marin une fois adulte et cette information n'était donc pas accessible dans cette étude. Il peut également exister des différences de contamination entre les sexes, notamment du fait de l'excrétion des contaminants différentes par les femelles lors de la ponte ou en raison d'une ségrégation trophique entre sexes, rencontrée chez de nombreuses espèces d'oiseaux et qui peut exposer différemment les mâles et les femelles (Burger, 2007). Par exemple, Dauwe et al., en 2002 ont évalué les niveaux de Cd, Cu, Pb et Zn dans les plumes chez la mésange charbonnière (Parus major) et la mésange bleue (Cyanistes caeruleus) en étudiant à la fois l'âge et le sexe des individus. Ils ont montré que les mâles avaient des concentrations en Zn significativement plus élevées que les femelles. Également, une étude menée sur les plumes de manchot du Cap (Spheniscus demersus), a mis en lumière des différences liées au sexe et à l'âge des individus afin d'examiner les différents modèles de bioaccumulation des métaux entre les mâles et les femelles ainsi que chez les adultes et les juvéniles. Les femelles juvéniles présentaient des niveaux d'As significativement plus élevés que les mâles, tandis que les niveaux de Se augmentaient significativement avec l'âge des individus indépendamment du sexe (Squadrone et al., 2016). Le sexage des individus via une analyse génétique est donc une perspective envisageable chez les puffins en vue d'étudier si les concentrations des ETMs varient entre les mâles et les femelles pour affiner nos résultats.

Chez les poussins de Scopoli, l'échantillonnage nous permet d'étudier quatre colonies réparties dans le Nord-ouest de la Méditerranée. Les concentrations des ETMs dans le sang étaient similaires pour tous les sites pour le Cu, le Fe, le Mn et le Pb. Au contraire, les concentrations d'As et de Hg étaient les plus élevées pour les poussins de la colonie de Giraglia, une île située au nord de la Corse, en mer Ligure. Les flux globaux des ETMs tels que l'As et le Hg sont extrêmement influencés par les activités humaines : combustion d'énergies fossiles et activités humaines (Rauch & Pacyna, 2009 ; Sen & Peucker-Ehrenbrink, 2012). La côte italienne est très anthropisée et possède de nombreux volcans. Couplés à des courants provenant de l'est de la Méditerranée, on peut se demander si la mer Ligure est enrichie en certains éléments comme l'As et le Hg.

On peut supposer que les poussins sont exposés à des quantités relativement importantes de contaminants d'origine anthropique via l'alimentation. Le Hg et le Pb sont des éléments nonessentiels pouvant être fortement toxiques pour les individus. L'ACP réalisée pour les poussins des puffins de Scopoli montre des corrélations positives entre l'As, Hg, Se et Pb dans le sang (Figure 4.). En comparant à d'autres études, on remarque que les poussins de Scopoli sont plus contaminés en As (1,32 ±0,55), Cu (1,58 ±0,75), Fe (2352,25 ±80,06) et Pb (0,03 ±0,03) par rapport aux poussins d'autres espèces d'oiseaux marins échantillonnés dans les Terres Australes et Antarctiques Françaises comme le Pétrel des neiges du continent Antarctique (As: 0,80 ±0,42; Cu: 0,49 ±0,05; Fe: 2373 ±80,3; Pb: 0,04), l'Albatros à nez jaune de l'océan Indien (As: 0,34 ±0,09; Cu: 1,21 ±0,13; Fe: 2057 ±169; Pb: 0,03 ±0,005), l'Albatros d'Amsterdam de l'océan Indien (As: 0,30 ±0,11; Cu: 1,17 ±0,07; Fe: 1823 ±188; Pb: 0,02 ±0,01) (Carravieri et al., 2020). Si on considère que les oiseaux de mer en général sont de bons bioindicateurs de la contamination des réseaux trophiques, il semble donc que la contamination en ETMs de la Méditerranée soit supérieure à la contamination des territoires reculés comme le sud de l'océan Indien ou le continent Antarctique.

Le sang et les plumes sont des tissus échantillonnés dans de nombreuses études car ils peuvent être prélevés aisément sur les oiseaux sans nécessiter leur mise à mort. Cela a été le cas pour les 3 espèces de puffins incluses dans cette étude. Cependant des tissus internes peuvent également être analysés si un accès à des oiseaux morts est possible. On obtient ainsi, des informations à plus long terme grâce à l'analyse des organes de stockage, permettant de compléter les informations obtenues avec le sang ou les plumes.

Les concentrations des ETMs dans les tissus internes des puffins Yelkouan permettent d'apporter une vue globale sur le comportement des éléments dans l'organisme et lier les concentrations dans les différents organes à des fonctions physiologiques.

Dans le sang, le Cu (3,63 ±1,41), le Fe (1976 ±146), le Zn (31,13 ±6,30) et le Se (40,25 ±7,30) sont les éléments essentiels les plus concentrés. On remarque de nombreuses corrélations entre les ETMs dans le sang (Tableau 2.). Le Cu, le Mn et le Zn sont les éléments avec le plus de corrélations positives dans le sang mais avec des concentrations assez faibles dans les autres tissus internes. Ces trois éléments sont essentiels à l'homéostasie de l'organisme, on peut donc potentiellement apercevoir dans ces résultats les éléments nécessaires au maintien des fonctions physiologiques chez les organismes. Concernant le Fe, son rôle majeur dans la composition de l'hémoglobine (protéine transportant l'oxygène dans le sang) est une des raisons expliquant la forte concentration en Fe dans ce tissu. Cet élément peut également jouer un rôle dans le processus de division cellulaire. Le Se permet de protéger les cellules contre le stress oxydant. En effet, cet élément permet la lutte contre les radicaux libres dans l'organisme et favorise le maintien du bon fonctionnement du système immunitaire. Les corrélations négatives entre le Fe et le Cd et le Zn dans le sang suscitent de nombreuses questions d'ordre physiologique qui devront être étudiées par d'autres travaux.

Dans le muscle, on retrouve la plus faible concentration en Fe (291 ±45), Hg (1,97 ±1,11) et en Se (10,44 ±2,77) comparé aux autres organes. Une étude menée au Portugal sur des puffins des Baléares a montré que les tissus musculaires stockent faiblement le Hg (0,22 ±0,10) et le Se (2,31 ±0,98) par rapport aux reins et au foie. Costa et al., en 2016 ont mesuré des niveaux de contamination au Hg et Se plus faibles dans le foie, le rein et le muscle chez les puffins des Baléares par rapport aux puffins Yelkouan de notre étude. Des mesures plus élevées en Cu ont été réalisées dans les tissus musculaires des puffins Yelkouan de notre étude (18,29 ±2,62). On observe parallèlement à cela une corrélation importante entre le Fe et le Zn dans les muscules.

L'analyse des contaminants dans les reins des puffins Yelkouan a mis en lumière des niveaux élevés en Cd (10,08 ±1,92) et en Zn (87,77 ±8,13). Cependant, aucune corrélation n'a été trouvée entre ces deux éléments dans les reins alors qu'ils peuvent se coaccumuler en se fixant aux métallothionéines (Bustamante et al., 2004). En outre, le Zn est fortement corrélé avec le Mn dans cet organe. Le Cd a la capacité de se bioaccumuler tout au long de la vie des individus dans les reins et dans le foie. Les niveaux de Cd rapportés par Costa et al., en 2016 sont plus faibles dans le muscle, les reins et le foie chez les puffins des Baléares que chez les puffins de notre étude.

Cette différence peut s'expliquer par différentes durées de vie chez les oiseaux échantillonnés dans les deux études. Potentiellement, les puffins Yelkouan échantillonnés sont plus vieux que les puffins des Baléares étudiés par Costa et al. (2016) au Portugal. Avec une durée de vie plus courte, la bioaccumulation du Cd dans les reins est donc limitée. Il faut noter qu'avec seulement quatre échantillons de reins, les analyses statistiques sont moins robustes que celles sur les autres organes.

Dans le foie des puffins Yelkouan, l'As (7,58 ±1,85), le Hg (4,91 ±2,45) et le Mn (8,77 ±1,50) ont les concentrations les plus élevées par rapport aux autres tissus. Pour les puffins des Baléares étudiés par (Costa et al., 2016) au Portugal, les concentrations dans le foie de l'As (1,32 ±1,41), le Hg (1,00 ±0,53) et le Mn (4,24 ±1,00) étaient inférieures à celles des puffins Yelkouan de notre étude. Une corrélation entre le Zn et le Co est observée dans le foie de ces derniers.

Les comparaisons des différents types de tissus internes entre les puffins Yelkouan, étudiés dans ce rapport et les puffins des Baléares étudiés par Costa et al., (2016) montrent une contamination plus importante chez les puffins Yelkouan. Comme évoqué précédemment, l'âge des individus, le sexe et l'écologie trophique sont des paramètres essentiels à prendre en compte dans l'étude de ces modèles biologiques pour comprendre leurs niveaux de contamination, les différences spatiales et interspécifiques.

2. Etude de l'écologie alimentaire en lien avec la contamination

L'écologie trophique incluant à la fois le régime alimentaire et la zone d'alimentation des oiseaux marins fait partie des variables environnementales qui peuvent fortement influencer l'exposition aux ETMs (Honda et al., 1990 ; Burger & Gochfeld 2000).

Puffins de Scopoli

Les concentrations en ETMs chez les puffins de Scopoli peuvent s'expliquer par l'écologie trophique. En effet, les modèles ont révélé que les concentrations en Hg et en Se dans le sang des poussins peuvent s'expliquer par la position trophique des oiseaux et la colonie étudiée. Les isotopes du carbone suggèrent que certains individus des colonies de Lavezzi et Giraglia s'alimentent sur les mêmes zones de pêche. Il est donc possible d'observer des variabilités entre les poussins des colonies proches de Marseille et celles de Corse. Les modèles permettent également d'appuyer nos résultats précédents. Les charges en Se et Hg sont plus importantes chez les puffins des colonies de Giraglia et Lavezzi. Le schéma entre les concentrations de Hg et de Se dans le sang des poussins peut être le résultat d'une co-exposition alimentaire de ces deux ETMs. On a donc une influence assez prononcée de la variable "site de reproduction" sur nos modèles.

L'As est le seul ETM de l'étude qui dépend exclusivement du site de reproduction (colonie). Ce résultat peut appuyer l'hypothèse d'une contamination proche d'une des colonies. Au vu des résultats précédents, la colonie de Giraglia est significativement plus contaminée que les autres colonies. Il peut être judicieux d'étudier les sources potentielles d'As dans la zone d'alimentation des puffins de la colonie de Giraglia et aux abords de la colonie. Les concentrations en Cu, Fe, Mn et Zn peuvent s'expliquer à la fois par la zone d'alimentation et par le site étudié. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce résultat. Une biodisponibilité élevée d'oligo-éléments essentiels dans les eaux côtières peut influencer l'ensemble du réseau trophique. Comme dit précédemment, les concentrations en Cu et Zn dans les eaux de surface sont influencées par le bassin versant du Rhône. Un enrichissement des eaux de surface par les éléments essentiels est observé dans le Golfe du Lion (Battuello et al., 2016). Une étude menée en 2018 sur l'île de Linosa suggère que les puffins de Scopoli adultes s'alimentent à une distance linéaire maximale de 75 ±44 km par rapport aux colonies (Cianchetti-Benedetti et al., 2018). Ce résultat renforce l'hypothèse selon laquelle nos données reflètent l'exposition locale. Sachant que nous étudions des éléments essentiels au bon développement des poussins, on peut se demander si les parents peuvent influencer leurs captures de proies en fonction des valeurs énergétiques et des teneurs en oligo-éléments de ces dernières. Une autre étude menée à Linosa, sur des poussins de puffins de Scopoli a montré des différences de concentration en ETMs dans l'huile stomacale prélevée au jour 20 et au jour 70 depuis l'éclosion (Cumbo et al., 2022). Ces résultats suggèrent que les puffins de Scopoli adoptent une stratégie ciblée pour l'alimentation de leurs poussins, probablement en rapport avec les différents besoins nutritionnels du jeune au cours du développement. Les parents peuvent percevoir l'état nutritionnel de leurs poussins et ajuster leur taux d'approvisionnement en conséquence (Ottosson et al., 1997).

Les niches isotopiques des poussins de Scopoli montrent deux entités distinctes : les îles proches de Marseille (Riou et Frioul) et les îles de la Corse (Giraglia et lavezzi). Cela indique une différenciation dans les sites d'alimentation et dans la position trophique. Notre gamme de valeurs isotopiques restant tout de même restreinte, on ne peut affirmer que l'écologie alimentaire de ces entités sont différentes. De plus, des niveaux de base différents peuvent être observés entre des fronts océaniques (Cherel & Hobson, 2007). En Méditerranée, le front océanique nord des Baléares sépare les masses d'eau du bassin algérien des eaux froides et plus salées de la zone Liguro-Provençale (Barral et al., 2021). Dépendant des courants océaniques et de la distribution des ressources, on peut potentiellement avoir des niveaux de base différents à une échelle très locale. Il peut être judicieux de réaliser des mesures isotopiques sur l'ensemble des niveaux trophiques des deux groupements d'îles pour voir si cette hypothèse peut être confirmée ou réfutée.

Puffins des Baléares et puffins Yelkouan

La contamination aux ETMs n'est pas expliquée par l'écologie trophique chez les puffins des Baléares et les puffins Yelkouan. On peut s'interroger sur l'importance du stade de vie lors de l'échantillonnage pour pouvoir analyser le lien entre la contamination chimique et l'alimentation.

L'analyse des proxys de l'alimentation montre une variabilité des niches isotopiques chez les trois espèces étudiées (Figure 5.a.). Ce résultat semble logique car les puffins ne vont pas s'alimenter sur les mêmes zones et les mêmes ressources. Pour autant, l'étude bibliographique a permis de montrer des comportements alimentaires différents au sein d'une espèce. En Atlantique, il a été montré que les puffins des Baléares s'alimentent à la fois de poissons pélagiques (anchois, sardines) et aussi de rejets de pêche (poissons démersaux) (Le Mao & Yésou, 1993; Meier, 2016; Navarro et al., 2009). Cependant, il est probable qu'une partie importante du régime alimentaire est constituée de proies occupant une place inférieure dans le réseau trophique, comme le macro-zooplancton (Lou-zao et al., 2014).

Les puffins Yelkouan victimes d'une capture accidentelle ont une niche isotopique plus axée sur des ressources pélagiques (valeurs de δ^{13} C plus faibles) par rapport aux poussins de Scopoli. Comme dit précédemment, les parents des poussins de Scopoli vont s'alimenter sur des ressources proches des colonies afin de maximiser la survie du jeune. Cette explication peut être soutenue par nos résultats. Malgré le fait que les puffins Yelkouan se sont rapprochés des côtes durant la période d'étude, l'hypothèse d'un rapprochement dans le but d'une recherche de nourriture ne semble pas être appuyée par nos résultats isotopiques. Les gestionnaires de la réserve de Camargue ont cependant observé en 2020 une concentration inhabituelle de puffins Yelkouan sur la côte corrélée à la présence de mammifères marins venant s'alimenter sur des bancs de poissons bleus (sardine et anchois). Cette concentration de proies et l'arrivée de bateaux de pêche dans la même zone est potentiellement la cause de la capture accidentelle des oiseaux.

L'amplitude des valeurs isotopiques δ^{13} C mesurée est assez restreinte par rapport à celle du δ^{15} N qui s'étale de 8 à 16 ‰ (Figure 5.a.). On observe deux groupes distincts, d'une part l'écologie alimentaire des puffins en Méditerranée et d'autre part l'écologie alimentaire des puffins en Atlantique. Les deux écosystèmes ont été choisis pour leurs différences en termes de statut trophique : mésotrophie (Atlantique) et oligotrophie (Méditerranée) (Liénart et al., 2017). On ne peut faire de comparaison entre les puffins des Baléares et les puffins Yelkouan car la différence entre espèce peut être un biais dans cette comparaison. Cependant, étudier une espèce commune en Méditerranée et en Atlantique qui est une proie potentielle des puffins comme la sardine Européenne (*Sardina pilchardus*) es possible. Celle-ci présente une position trophique et une valeur en δ^{13} C plus élevées en Atlantique (δ^{13} C : -18,29 ±1,05 ; δ^{15} N : 11,99 ±1,29) qu'en Méditerranée (δ^{13} C : -19,77 ±0,31 ; δ^{15} N : 7,98 ±0,3) (Cresson et al., 2019). Chia-Ting Chen et al. (2022) ont montré des résultats amenant à une conclusion similaire avec des valeurs en Atlantique de δ^{13} C : -17,8 ±0,3 ; δ^{15} N : 10,9 ±0,5 ; et en Méditerranée, δ^{13} C : -20,0 ±0,3 ; δ^{15} N : 8,3 ±0,4.

On a pu voir dans la partie précédente que les concentrations de métaux sont généralement plus élevées chez les individus en Méditerranée que chez ceux en Atlantique. De plus, on remarque ici que les valeurs des isotopes stables du C et du N sont plus faibles en Méditerranée. Certaines études ont mis en évidence l'effet prédominant de l'oligotrophie pouvant entraîner des niveaux de contamination plus élevés en Hg, des abondances isotopiques faibles et une taille des organismes réduite en Méditerranée. En effet, il y a un effet de "bio-dilution" plus faible des contaminants à travers le réseau trophique (Chouvelon et al., 2018; Cossa et al., 2012; Harmelin-Vivien et al., 2009). Les puffins en Méditerranée sont donc potentiellement plus exposés aux ETMs que les puffins en Atlantique.

En outre, on peut donc se demander si en plus d'une dispersion spatiale importante durant la reproduction, d'une phénologie migratoire et d'un changement des ressources prédatées ; s'ajoutent à celà des niveaux de base différents entre les écosystèmes marins. Les niveaux de base des isotopes varient spatialement, selon les régions et les écosystèmes étudiés (McMahon et al., 2013 ; Graham et al., 2010). Une comparaison directe des valeurs du δ^{13} C et du δ^{15} N entre des zones éloignées ne peut être faite. Cresson et al. (2020), ont calculé des niveaux de base assez différents entre le Golfe du Lion et l'Atlantique. Les niveaux de base peuvent donc influencer les niches isotopiques et possiblement l'exposition aux contaminants via l'alimentation.

Chez les puffins des Baléares, la variabilité des niches isotopiques dans les différents tissus reflète une variation temporelle liée à la migration (Figure 8.). En effet, les plumes de couvertures sont synthétisées au début de la période de nidification en Méditerranée. La rémige primaire N°6 est synthétisée durant la période post-nuptiale, lorsque les individus retournent s'alimenter en Atlantique. On observe donc des niches isotopiques différentes s'expliquant par des niveaux de base variables, comme dit précédemment et une exploitation des ressources pouvant être modulées en fonction des proies disponibles. Le régime alimentaire des puffins des Baléares en Méditerranée varie au cours de la saison de reproduction et selon le sexe des individus. Les adultes (principalement les femelles) se nourrissent plus de proies démersales, issues des rejets de pêche (PNA, 2021). Une étude d'Arcos estimait que 40% du besoin énergétique des adultes reproducteurs en période de nidification était apporté par des proies démersales rendues disponibles par les rejets de pêche au chalut. 38% des proies provenaient de cette source, 33% des proies étaient capturées sous des objets dérivants, 10% étaient constitués de poissons capturés grâce à la présence de prédateurs de sub-surface (dauphins), 10 % étaient directement pêchés sur des bancs de poissons et 10 % étaient constitués de plancton (Arcos 2000,2002). Une étude a confirmé que le macro-zooplancton fait partie du régime alimentaire pendant la période de reproduction (Louzao et al., 2014). Les proies potentielles sont donc multiples et à des niveaux trophiques variables. Cette variabilité des ressources alimentaires entraîne une modification de la niche isotopique au cours de l'année et peut donc être révélée par l'étude de plusieurs tissus (Figure 8.).

L'étude des isotopes stables pour expliquer les niveaux de contamination en ETMs chez les adultes est donc complexe. Les puffins des Baléares, évoluant entre la Méditerranée et l'Atlantique se retrouvent dans des écosystèmes complexes et contrastés. Il semble judicieux d'effectuer d'autres analyses telles qu'un suivi télémétrique en plus des isotopes stables pour comprendre à quel moment et à quels endroits à lieu la contamination des puffins aux ETMs.

3. Risques associés aux ETMs

A travers ce rapport, nous avons étudié trois espèces de puffins exploitant les eaux territoriales françaises. De fait de leur persistance et de leur capacité à se bioaccumuler dans les tissus des organismes, les ETMs peuvent présenter un risque toxicologique pour les oiseaux marins. Comme décrit précédemment, les concentrations sanguines mesurées dans les puffins des 3 espèces sont pour les éléments essentiels classés comme sans risque toxicologique.

Les ETMs essentiels tels que l'As, le Cu, le Fe, le Mn et le Zn ont des concentrations faibles qui restent dans les gammes standard chez les oiseaux marins. Cependant, notre étude ne s'est pas intéressée aux différentes formes des composés chimiques. L'As inorganique est considéré comme hautement toxique par rapport aux composés organiques de cet élément. Il peut agir comme perturbateur endocrinien, perturber la reproduction et déclencher des effets sublétaux (Eisler 1988 ; Kunito et al. 2008). Les puffins étudiés ont des concentrations en As comprises en 0,34 et 5 µg g⁻¹ poids sec dans le sang. Les concentrations en As dans les organismes vivants sont généralement faibles, environ 5 µg g⁻¹ poids sec (Eisler, 1988). Les valeurs de référence pour l'As dans le sang des oiseaux provenant d'une zone non contaminée équivalent à 0,4 µg g-1 poids sec (Burger & Gochfeld, 1997b ; Anderson et al., 2010). On remarque que les trois espèces de puffins sont en dessous du seuil de 5 µg g⁻¹ poids sec mais présentent des niveaux de contamination supérieur à 0,4 µg g⁻¹ de poids sec. Même si l'As est principalement accumulé sous sa forme organique (Neff, 1997), de nombreux arsenicaux organiques peuvent subir des biotransformations et les organismes peuvent être affectés par des intermédiaires toxiques (Morrissey et al., 2007). On peut en conclure que les concentrations en As ne présentent pas de risque pour les puffins étudiés. Cependant, analyser les concentrations en As inorganique est une potentielle voie d'étude pour comprendre les effets sublétaux sur ces procellariiformes.

On sait encore peu de choses sur l'exposition des oiseaux marins aux oligo-éléments tels que le Cu, Fe, Mn ou bien le Zn (Anderson et al., 2010 ; Borgå et al., 2006; Fromant et al., 2016). Ces derniers ont la capacité d'interagir avec d'autres contaminants métalliques pour l'absorption, le stockage et influencer les effets toxiques (Waugh et al., 2012). Les effets cumulatifs et synergiques des éléments essentiels pourraient être préjudiciables ou favorables pour les oiseaux marins (Braune et al., 2006).

Cadmium

Chez les puffins des Baléares et les puffins de Scopoli, les concentrations en Cd dans le sang ne sont pas détectées. Cet ETM ne présente donc aucun risque pour les individus au vu des analyses sanguines. Réaliser des analyses sur des organes internes chez ces deux espèces semble donc intéressant comme axe de recherche. De plus, l'âge est l'un des principaux facteurs expliquant l'accumulation du Cd, comme cela a été observée dans les organes de stockage chez les oiseaux aquatiques (Gomez et al., 2004). Il semble logique que le Cd ne soit pas détecté chez les poussins de Scopoli. Avec une exposition continue, le Cd s'accumule tout au long de la vie des oiseaux (Dailey et al., 2008). Chez les puffins Yelkouan, le tissu rénal présente des concentrations plus élevées par rapport aux autres tissus (Tableau 1). Les reins représentent le principal organe de stockage et d'accumulation de cet élément non-essentiel. Des résultats similaires sont retrouvés dans de nombreuses études (Lock et al., 1992 ; Barjaktarovic et al., 2002 ; Lucia et al., 2012). La toxicité de ce métal a déjà été démontrée chez les vertébrés et les oiseaux en particulier (Hughes et al., 2000). Des concentrations de 4,7 ±0,7 µg g⁻¹ dans le foie d'oiseaux contaminés expérimentalement pourraient déclencher l'apparition d'effets sublétaux (Lucia et al., 2009). Les puffins Yelkouan présentent des concentrations dans le foie avoisinant les 0,58 ±0,11 µg g⁻¹. Scheuhammer en 1987 a suggéré que la toxicité aiguë du Cd se traduisait par des niveaux de Cd plus élevés dans le foie que dans les reins. Ces résultats soulignent l'absence d'une contamination aiguë des puffins Yelkouan de notre étude.

On peut donc considérer que les puffins Yelkouan ne sont pas impactés par le Cd au vu de leurs faibles concentrations dans les organes de stockage, mais qu'ils sont cependant sujet à une exposition de fond.

Plomb

Les puffins de Scopoli sont les seuls Procellariiformes de l'étude à avoir des concentrations en Pb détectées dans le sang. On peut se demander si certaines espèces sont plus exposées que d'autres à la contamination au Pb en raison de différences en termes d'écologie trophique et de distribution spatiales. Summers et al. (2014) ont observé des variations des niveaux de contamination en Pb dans le sang chez diverses familles et espèces d'oiseaux marins étudiés sur l'île Marion, en Afrique du Sud. L'espèce étudiée était un facteur significatif des concentrations en Pb. Sachant que le Pb n'a pas été détecté dans les tissus des puffins adultes, une comparaison interspécifique ne peut être réalisée avec nos données. Travailler sur d'autres espèces d'oiseaux nichant à proximité des colonies de puffins pourrait être intéressant pour évaluer les niveaux de contamination de plusieurs espèces ayant des écologies trophiques contrastées. Aucune différence significative entre colonies n'est visible chez les puffins de Scopoli. Les concentrations en Pb des individus échantillonnés ne dépassent pas les 0,05 µg g⁻¹ de poids sec, à l'exception d'un individu provenant de la colonie de Giraglia qui atteint les 0,23 µg g⁻¹ de poids sec. Les valeurs en Pb mesurées dans le sang se situent à des niveaux considérés comme une exposition de fond (< 0,20 µg g⁻¹) (Franson & Pain,

2011). Le seul échantillon élevé se trouve dans la gamme des effets subcliniques (0,20 et 0,50 µg g⁻ ¹) (Franson & Pain, 2011). Ce poussin a pu recevoir des proies capturées par ses parents fortement contaminées en Pb. Comme toutes les autres valeurs de Pb dans le sang se situent dans la plage d'exposition de fond acceptable, nous pouvons conclure que l'empoisonnement au Pb n'est pas une menace importante pour les trois espèces de procellariiformes de l'étude.

Mercure et sélénium

Parmi les ETMs dont les concentrations sont élevées, le Hg est l'un des plus préoccupants. S'expliquant par son comportement bioamplifiable dans les réseaux trophiques et bioaccumulables tout au long de la vie des individus, le Hg peut être fortement toxique lorsqu'il est sous sa forme organique, le méthylmercure (MeHg). Les niveaux en Hg analysés chez les puffins représentent la concentration totale en Hg dans le sang ou les plumes. Les seuils créés par Ackerman et al., en 2016 puis repris et précisés par Chastel et al., en 2022 ont permis de déterminer des risques potentiels liés aux concentrations en Hg total dans le sang et les plumes chez les oiseaux marins. Les risques encourus par les individus sont des dysfonctionnements physiologiques et des modifications comportementales, qui par conséquent peuvent influencer la survie des individus.

L'analyse du sang a permis de montrer que l'ensemble des colonies de puffins de Scopoli ne présente aucun risque, à l'exception du site de Giraglia. Un total de 8 poussins, soit 62% de l'échantillon réalisé ; présente des concentrations supérieures au seuil de non risque (< 1 µg g⁻¹), les classant dans la catégorie : "risque faible" (Ackerman et al., 2016). Les puffins adultes sont classés également dans cette catégorie (Figure 7.a.). Les concentrations en Hg dans le sang reflètent une période d'exposition avoisinant les quelques semaines. Le Hg s'accumule tout au long de la vie des individus dans des organes de stockage, principalement dans le foie mais aussi dans les reins.

Les concentrations en Hg dans les tissus internes chez les puffins Yelkouan augmentent en fonction de l'organe étudié : muscle < rein < sang < plumes < foie (voir Tableau 1). Le niveau de Hg dans les plumes de couvertures est supérieur à certains organes tels que le muscle et le rein. Les concentrations en Hg dans les plumes peuvent atteindre jusqu'à 70 % de la charge corporelle totale de Hg chez certaines espèces en raison de l'excrétion massive du Hg stockée lors du renouvellement du plumage (Braune & Gaskin, 1987). En effet, la mue est l'une des voies principales de l'excrétion du Hg chez les oiseaux marins. On s'attend donc à des charges plus importantes en Hg dans les plumes que dans le sang.

Les plumes de couvertures des puffins sont plus chargées en Hg que le sang. Les puffins de Scopoli présentent des niveaux en Hg supérieurs à la limite du seuil de "non risque". Sur la colonie de Giraglia, sept poussins présentent des concentrations élevées de Hg, les classant dans la catégorie des risques modérés. On peut s'interroger sur les niveaux de contamination des puffins de Scopoli adultes qui devraient être plus élevés que les poussins. Des prélèvements sur ces individus semblent donc pertinents pour étudier plusieurs stades de vie de la même espèce. Chez les puffins des Baléares, certains individus ont atteint des concentrations élevées de Hg, dépassant 9,14 µg g⁻¹ poids sec dans les plumes, ce qui est supérieur au seuil de risque élevé pour les oiseaux. Le Hg s'accumule principalement sous forme de MeHg dans les plumes (Thompson & Furness, 1989). Ce composé organique représente en moyenne 67 à 81 % du Hg total dans les plumes de goélands argentés de l'Arctique canadien (Mallory et al., 2015). Il peut donc être intéressant d'étudier les concentrations en MeHg dans les plumes et dans le sang pour évaluer les différents niveaux de contamination en Hg organique et inorganique chez les oiseaux. Chez le puffin des Baléares, la rémige primaire N°6 (P6) présente des concentrations de Hg supérieures à celles des plumes de couverture (Figure 9.). Une comparaison directe entre les plumes et le sang est impossible car les éléments ne se bioaccumulent pas de la même façon dans les tissus. Au total, huit individus, soit 27 % des puffins présentent des niveaux de contamination élevés (9.14 - 10.99 µg g⁻¹) dans la P6. De plus, 11 individus (37 %) sont au-dessus du seuil de 10.99 µg g⁻¹, les plaçant dans la catégorie "risque sévère".

Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que les concentrations de Hg de certains individus peuvent être suffisamment élevées pour déclencher des effets sublétaux et/ou des troubles de la reproduction des oiseaux. Par conséquent, la contamination au Hg peut potentiellement contribuer au déclin des populations de puffins. D'autres études menées en France métropolitaine, notamment dans le cadre de la DCSMM (Poiriez et al., 2020) et le projet ROMPOM (Projet ROMPOM, 2019) étudient la contamination des puffins en Méditerranée. Des prélèvements sur le duvet de puffin de Scopoli a permis de connaître les concentrations en Hg sur plusieurs sites : Riou et Frioul, en France (4,31 ±1,06 µg g⁻¹); la réserve marine des Habibas, en Algérie (3,04 ±1,71 µg g⁻¹) et dans le parc national de Zembra Zembretta, en Tunisie (4,59 ±1,22 µg g⁻¹). L'ensemble des efforts d'échantillonnage permet d'avoir des résultats à l'échelle du bassin méditerranéen et permet d'enrichir les connaissances sur la contamination des puffins.

Néanmoins, la toxicité du Hg peut être réduite par la présence du Se dans l'organisme. Les propriétés chimiques de ces deux éléments jouent un rôle clé dans l'atténuation de leur toxicité respective en cas d'exposition élevée (Khan et Wang 2009). Les deux ETMs peuvent former un complexe de séléniure mercurique (HgSe). Ce composé chimique est non toxique et bien connu chez les mammifères et oiseaux marins (Koeman et al., 1973 ; Nigro & Leonzio, 1996 ; Ikemoto et al., 2004). Quelques études ont quantifié la co-exposition au Hg-Se et l'interaction existante entre ces deux éléments chez les oiseaux marins (Carvalho et al., 2013 ; Cipro et al., 2014 ; Gonzalez-Solís et al., 2002). Dans notre étude, les puffins des Baléares et les puffins Yelkouan présentent des concentrations en Hg et Se non corrélées dans le sang. Des résultats non-significatifs pour les deux espèces sont obtenues (Baléares, n=30, p = 0.78 ; Yelkouan, n=8, p = 0.72). Cependant, on observe une corrélation significative dans le sang (n= 51, p = 0.001) chez les puffins de Scopoli (Figure 9.). Le stade de vie semble être une variable majeure dans l'étude de ces composés bioaccumulables.

Le Se est essentiel au métabolisme des organismes mais il peut être également toxique en fonction du composé chimique ingéré par les individus (Stewart et al., 1999). Les effets du Se sur les organismes sont nombreux : des troubles de la reproduction avec tératogenèse, la réduction de la croissance, des lésions histopathologiques, des altérations du glutathion hépatique et la mort directe (Hoffman, 2002). Skorupa et al. en 1996 ont suggéré un seuil d'effet de 30 µg g⁻¹ poids sec dans le foie des oiseaux. De plus, des concentrations en Se dans le foie supérieures à 10 µg g⁻¹ poids sec sont associées à un succès reproducteur plus faible chez les femelles reproductrices et une réduction de la prise de masse chez les adultes (Outridge et al., 1999). Dans la présente étude, 100% des puffins Yelkouan dépassent le seuil des 10 µg g⁻¹ poids sec et 57,14 % dépassent le seuil des 30 µg g⁻¹ poids sec dans le foie.

L'étude des colonies de puffins de Scopoli permet d'observer une diminution des concentrations en Se chez les poussins de la colonie de Giraglia alors que les individus présentent des concentrations élevées en Hg. Globalement, on observe une régression linéaire croissante permettant de voir une co-exposition des poussins au Se et Hg dans le bassin méditerranéen (pour l'ensemble des colonies). Les rapports molaires Se:Hg calculés sont toujours supérieurs à 1 dans le sang des puffins. Il y a donc un surplus substantiel de Se par rapport au Hg. Dans l'ensemble, on peut conclure que les puffins de l'étude sont probablement protégés contre la toxicité du Hg, à l'exception des individus fortement contaminés, notamment sur la colonie de Giraglia. Au vu des concentrations en Se dans le foie des puffins Yelkouan, ces résultats soulèvent des questions quant à la toxicité du Se pour ces espèces.

Conclusion :

L'étude menée est la première à réaliser une comparaison des niveaux de contamination chez plusieurs espèces de puffins en France métropolitaine en étudiant la façade Atlantique et méditerranéenne. Ces données vont permettre d'appuyer le Plan National d'Actions en faveur du puffin des Baléares sur le volet des risques liés à la contamination chimique. De plus, l'étude de la variabilité spatiale a permis d'obtenir de nombreux renseignements sur d'autres espèces de procellariiformes peuplant la mer Méditerranée. L'étude de l'écologie alimentaire ne suffit pas pour expliquer la contamination aux éléments traces métalliques chez les puffins adultes. La réalisation d'un suivi télémétrique est donc une perspective d'avenir pour affiner nos résultats et pouvoir consolider les mesures prises en faveur de la conservation de l'oiseau marin le plus menacé d'Europe, le puffin des Baléares.

Références:

Ackerman, J.T., Eagles-Smith, C.A. and Herzog, M.P. (2011) 'Bird Mercury Concentrations Change Rapidly as Chicks Age: Toxicological Risk is Highest at Hatching and Fledging', *Environmental Science & Technology*, 45(12), pp. 5418–5425. Available at: <u>https://doi.org/10.1021/es200647g</u>.

Ackerman, J.T., Eagles-Smith, C.A., Herzog, M.P., Hartman, C.A., Peterson, S.H., Evers, D.C., Jackson, A.K., Elliott, J.E., Vander Pol, S.S. and Bryan, C.E. (2016) 'Avian mercury exposure and toxicological risk across western North America: A synthesis', *Science of The Total Environment*, 568, pp. 749–769. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.071</u>.

Anderson, O., Phillips, R., McDonald, R., Shore, R., McGill, R. and Bearhop, S. (2009) 'Influence of trophic position and foraging range on mercury levels within a seabird community', *Marine Ecology Progress Series*, 375, pp. 277–288. Available at: <u>https://doi.org/10.3354/meps07784</u>.

Anderson, O.R.J., Phillips, R.A., Shore, R.F., McGill, R.A.R., McDonald, R.A. and Bearhop, S. (2010a) 'Element patterns in albatrosses and petrels: Influence of trophic position, foraging range, and prey type', *Environmental Pollution*, 158(1), pp. 98–107. Available at: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.07.040.

Anderson, O.R.J., Phillips, R.A., Shore, R.F., McGill, R.A.R., McDonald, R.A. and Bearhop, S. (2010b) 'Element patterns in albatrosses and petrels: Influence of trophic position, foraging range, and prey type', *Environmental Pollution*, 158(1), pp. 98–107. Available at: https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.07.040.

Appelquist, H., Asbirk, S. and Drabæk, I. (1984) 'Mercury monitoring: Mercury stability in bird feathers', *Marine Pollution Bulletin*, 15(1), pp. 22–24. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/0025-326X(84)90419-</u> <u>3</u>.

Arcos, J. and Oro, D. (2002) 'Significance of fisheries discards for a threatened Mediterranean seabird, the Balearic shearwater Puffinus mauretanicus', *Marine Ecology Progress Series*, 239, pp. 209–220. Available at: <u>https://doi.org/10.3354/meps239209</u>.

Baran, A. and Tarnawski, M. (2015) 'Assessment of heavy metals mobility and toxicity in contaminated sediments by sequential extraction and a battery of bioassays', *Ecotoxicology*, 24(6), pp. 1279–1293. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s10646-015-1499-4</u>.

Barjaktarovic, L., Elliott, J.E. and Scheuhammer, A.M. (2002) 'Metal and Metallothionein Concentrations in Scoter (Melanitta spp.) from the Pacific Northwest of Canada, 1989-1994', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 43(4), pp. 486–491. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00244-002-1273-5</u>.

Barral, Q.-B., Zakardjian, B., Dumas, F., Garreau, P., Testor, P. and Beuvier, J. (2021) 'Characterization of fronts in the Western Mediterranean with a special focus on the North Balearic Front', *Progress in Oceanography*, 197, p. 102636. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.pocean.2021.102636</u>.

Battuello, M., Brizio, P., Mussat Sartor, R., Nurra, N., Pessani, D., Abete, M.C. and Squadrone, S. (2016) 'Zooplankton from a North Western Mediterranean area as a model of metal transfer in a marine environment', *Ecological Indicators*, 66, pp. 440–451. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.02.018</u>.

Bearhop, S., Ruxton, G.D. and Furness, R.W. (2000) 'Dynamics of mercury in blood and feathers of great skuas', *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(6), pp. 1638–1643. Available at: <u>https://doi.org/10.1002/etc.5620190622</u>.

Becker, P.H., Furness, R.W. and Henning, D. (1993) 'The value of chick feathers to assess spatial and interspecific variation in the mercury contamination of seabirds', *Environmental Monitoring and Assessment*, 28(3), pp. 255–262. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/BF00545769</u>.

Becker, P.H., Goutner, V., Ryan, P.G. and González-Solís, J. (2016) 'Feather mercury concentrations in Southern Ocean seabirds: Variation by species, site and time', *Environmental Pollution*, 216, pp. 253–263. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.061</u>.

Béthoux, J. P., Courau, P., Nicolas, E., & Ruizpino, D. (1990). Trace-metal pollution in the mediterranean-sea. *Oceanologica acta*, *13*(4), 481-488.

Blévin, P., Carravieri, A., Jaeger, A., Chastel, O., Bustamante, P. and Cherel, Y. (2013) 'Wide Range of Mercury Contamination in Chicks of Southern Ocean Seabirds', *PLoS ONE*. Edited by R.H. Clarke, 8(1), p. e54508. Available at: <u>https://doi.org/10.1371/journal.pone.0054508</u>.

BirdLife International. (2018). European red list of birds. *Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.*

BirdLife International. (2021). European red list of birds. *Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.*

BirdLife International. (2022). European red list of birds. *Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.*

BirdLife International. (2023). European red list of birds. *Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg.*

Bonanno, G. and Di Martino, V. (2017) 'Trace element compartmentation in the seagrass Posidonia oceanica and biomonitoring applications', *Marine Pollution Bulletin*, 116(1–2), pp. 196–203. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.12.081</u>.

Bond, A.L. and Diamond, A.W. (2009) 'Mercury concentrations in seabird tissues from Machias Seal Island, New Brunswick, Canada', *Science of The Total Environment*, 407(14), pp. 4340–4347. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.04.018</u>.

Bonnaud, E., Bourgeois, K., Vidal, E., Legrand, J. and Le Corre, M. (2009) 'How can the Yelkouan shearwater survive feral cat predation? A meta-population structure as a solution?', *Population Ecology*, 51(2), pp. 261–270. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s10144-008-0134-0</u>.

Borgå, K., Campbell, L., Gabrielsen, G.W., Norstrom, R.J., Muir, D.C.G. and Fisk, A.T. (2006) 'Regional and species specific bioaccumulation of major and trace elements in arctic seabirds', *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(11), p. 2927. Available at: <u>https://doi.org/10.1897/05-574R1.1</u>.

Borgå, K., Fisk, A.T., Hoekstra, P.F. and Muir, D.C.G. (2004) 'Biological and chemical factors of importance in the bioaccumulation and trophic transfer of persistent organochlorine contaminants in arctic marine food webs', *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(10), p. 2367. Available at: <u>https://doi.org/10.1897/03-518</u>.

Bourgeois, K., Vorenger, J., Faulquier, L., Legrand, J. and Vidal, E. (2011) 'Diet and contamination of the Yelkouan Shearwater Puffinus yelkouan in the Hyères archipelago, Mediterranean Basin, France', *Journal of Ornithology*, 152(4), pp. 947–953. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s10336-011-0677-2</u>.

Bourgeon, S., Leat, E.K.H., Furness, R.W., Borgå, K., Hanssen, S.A. and Bustnes, J.O. (2013) 'Dietary versus Maternal Sources of Organochlorines in Top Predator Seabird Chicks: An Experimental Approach', *Environmental Science & Technology*, 47(11), pp. 5963–5970. Available at: <u>https://doi.org/10.1021/es400442q</u>.

Boyle, E.A., Chapnick, S.D., Bai, X.X. and Spivack, A. (1985) 'Trace metal enrichments in the Mediterranean Sea', *Earth and Planetary Science Letters*, 74(4), pp. 405–419. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/S0012-821X(85)80011-X</u>.

Braune, B.M. and Gaskin, D.E. (1987a) 'A Mercury Budget for the Bonaparte's Gull during Autumn Moult', *Ornis Scandinavica*, 18(4), p. 244. Available at: <u>https://doi.org/10.2307/3676891</u>.

Braune, B.M. and Gaskin, D.E. (1987b) 'Mercury levels in Bonaparte's gulls (Larus Philadelphia) during autumn molt in the Quoddy region, New Brunswick, Canada', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 16(5), pp. 539–549. Available at: https://doi.org/10.1007/BF01055810.

Braune, B.M., Mallory, M.L. and Gilchrist, H.G. (2006) 'Elevated mercury levels in a declining population of ivory gulls in the Canadian Arctic', *Marine Pollution Bulletin*, 52(8), pp. 978–982. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.04.013</u>.

Burger, A.E. (1993) 'Estimating the mortality of seabirds following oil spills: Effects of spill volume', *Marine Pollution Bulletin*, 26(3), pp. 140–143. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/0025-326X(93)90123-2</u>.

Burger, A. E., & Fry, D. M. (1993). Effects of oil pollution on seabirds in the northeast Pacific. *Pacific Seabird Group Publication*.

Burger, J. (2007) 'A framework and methods for incorporating gender-related issues in wildlife risk assessment: Gender-related differences in metal levels and other contaminants as a case study', *Environmental Research*, 104(1), pp. 153–162. Available at: https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.08.001.

Burger, J. and Gochfeld, M. (1997) 'Risk, Mercury Levels, and Birds: Relating Adverse Laboratory Effects to Field Biomonitoring', *Environmental Research*, 75(2), pp. 160–172. Available at: <u>https://doi.org/10.1006/enrs.1997.3778</u>.

Burger, J. and Gochfeld, M. (2000) 'Metal levels in feathers of 12 species of seabirds from Midway Atoll in the northern Pacific Ocean', *Science of The Total Environment*, 257(1), pp. 37–52. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00496-4</u>.

Burger, J. and Gochfeld, M. (2004) 'Metal levels in eggs of common terns (Sterna hirundo) in New Jersey: temporal trends from 1971 to 2002', *Environmental Research*, 94(3), pp. 336–343. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/S0013-9351(03)00081-1</u>.

Burmistrz, P., Kogut, K., Marczak, M. and Zwoździak, J. (2016) 'Lignites and subbituminous coals combustion in Polish power plants as a source of anthropogenic mercury emission', *Fuel Processing Technology*, 152, pp. 250–258. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2016.06.011</u>.

Bustamante, P., Morales, C. F., Mikkelsen, B., Dam, M., & Caurant, F. (2004). Trace element bioaccumulation in grey seals Halichoerus grypus from the Faroe Islands. *Marine Ecology Progress Series*, *267*, 291-301.

Carravieri, A. (2014) 'Seabirds as bioindicators of Southern Ocean ecosystems: concentrations of inorganic and organic contaminants, ecological explanation and critical evaluation' Environmental Sciences. [Thèse]. Université de La Rochelle

Carravieri, A., Bustamante, P., Churlaud, C., Fromant, A. and Cherel, Y. (2014) 'Moulting patterns drive within-individual variations of stable isotopes and mercury in seabird body feathers: implications for monitoring of the marine environment', *Marine Biology*, 161(4), pp. 963–968. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00227-014-2394-x</u>.

Carravieri, A., Bustamante, P., Labadie, P., Budzinski, H., Chastel, O. and Cherel, Y. (2020) 'Trace elements and persistent organic pollutants in chicks of 13 seabird species from Antarctica to the subtropics', *Environment International*, 134, p. 105225. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105225</u>.

Carvalho, P.C., Bugoni, L., McGill, R.A.R. and Bianchini, A. (2013) 'Metal and selenium concentrations

in blood and feathers of petrels of the genus *Procellaria*: Metals and selenium in *Procellaria* petrels', *Environmental Toxicology and Chemistry*, p. n/a-n/a. Available at: <u>https://doi.org/10.1002/etc.2204</u>.

Chastel, O., Fort, J., Ackerman, J.T., Albert, C., Angelier, F., Basu, N., Blévin, P., Brault-Favrou, M., Bustnes, J.O., Bustamante, P., Danielsen, J., Descamps, S., Dietz, R., Erikstad, K.E., Eulaers, I., Ezhov, A., Fleishman, A.B., Gabrielsen, G.W., Gavrilo, M., Gilchrist, G., Gilg, O., Gíslason, S., Golubova, E., Goutte, A., Grémillet, D., Hallgrimsson, G.T., Hansen, E.S., Hanssen, S.A., Hatch, S., Huffeldt, N.P., Jakubas, D., Jónsson, J.E., Kitaysky, A.S., Kolbeinsson, Y., Krasnov, Y., Letcher, R.J., Linnebjerg, J.F., Mallory, M., Merkel, F.R., Moe, B., Montevecchi, W.J., Mosbech, A., Olsen, B., Orben, R.A., Provencher, J.F., Ragnarsdottir, S.B., Reiertsen, T.K., Rojek, N., Romano, M., Søndergaard, J., Strøm, H., Takahashi, A., Tartu, S., Thórarinsson, T.L., Thiebot, J.-B., Will, A.P., Wilson, S., Wojczulanis-Jakubas, K. and Yannic, G. (2022) 'Mercury contamination and potential health risks to Arctic seabirds and of The Total Environment, shorebirds', Science 844, р. Available 156944. at: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156944.

Chen, J., Sun, Y., & Zhang, Z. (2020). Evolution of trace elements and polluting gases toward clean co-combustion of coal and sewage sludge. *Fuel*, *280*, 118685. Available at: https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118685

Chen, C.-T., Carlotti, F., Harmelin-Vivien, M., Lebreton, B., Guillou, G., Vassallo, L., Le Bihan, M. and Bănaru, D. (2022) 'Diet and trophic interactions of Mediterranean planktivorous fishes', *Marine Biology*, 169(9), p. 119. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00227-022-04103-1</u>.

Cherel, Y. and Hobson, K. (2007) 'Geographical variation in carbon stable isotope signatures of marine predators: a tool to investigate their foraging areas in the Southern Ocean', *Marine Ecology Progress Series*, 329, pp. 281–287. Available at: <u>https://doi.org/10.3354/meps329281</u>.

Cherel, Y., Jaquemet, S., Maglio, A. and Jaeger, A. (2014) 'Differences in δ_{13} C and δ_{15} N values between feathers and blood of seabird chicks: implications for non-invasive isotopic investigations', *Marine Biology*, 161(1), pp. 229–237. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00227-013-2314-5</u>.

Chouvelon, T., Cresson, P., Bouchoucha, M., Brach-Papa, C., Bustamante, P., Crochet, S., Marco-Miralles, F., Thomas, B. and Knoery, J. (2018) 'Oligotrophy as a major driver of mercury bioaccumulation in medium-to high-trophic level consumers: A marine ecosystem-comparative study', *Environmental Pollution*, 233, pp. 844–854. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.015</u>.

Chouvelon, T., Strady, E., Harmelin-Vivien, M., Radakovitch, O., Brach-Papa, C., Crochet, S., Knoery, J., Rozuel, E., Thomas, B., Tronczynski, J. and Chiffoleau, J.-F. (2019) 'Patterns of trace metal bioaccumulation and trophic transfer in a phytoplankton-zooplankton-small pelagic fish marine food web', *Marine Pollution Bulletin*, 146, pp. 1013–1030. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.07.047</u>.

Cianchetti-Benedetti, M., Dell'Omo, G., Russo, T., Catoni, C. and Quillfeldt, P. (2018) 'Interactions between commercial fishing vessels and a pelagic seabird in the southern Mediterranean Sea', *BMC Ecology*, 18(1), p. 54. Available at: <u>https://doi.org/10.1186/s12898-018-0212-x</u>.

Cipro, C.V.Z., Cherel, Y., Caurant, F., Miramand, P., Méndez-Fernandez, P. and Bustamante, P. (2014) 'Trace elements in tissues of white-chinned petrels (Procellaria aequinoctialis) from Kerguelen waters, Southern Indian Ocean', *Polar Biology*, 37(6), pp. 763–771. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00300-014-1476-z</u>.

Clarke, L.B. and Sloss, L.L. (1992) *Trace elements: emissions from coal combustion and gasification*. London: IEA Coal Research (IEA Coal Research publications, 49).

Cortés, V., García-Barcelona, S. and González-Solís, J. (2018) 'Sex- and age-biased mortality of three shearwater species in longline fisheries of the Mediterranean', *Marine Ecology Progress Series*, 588, pp. 229–241. Available at: <u>https://doi.org/10.3354/meps12427</u>.

Cossa, D., Harmelin-Vivien, M., Mellon-Duval, C., Loizeau, V., Averty, B., Crochet, S., Chou, L. and Cadiou, J.-F. (2012) 'Influences of Bioavailability, Trophic Position, and Growth on Methylmercury in Hakes (*Merluccius merluccius*) from Northwestern Mediterranean and Northeastern Atlantic', *Environmental Science & Technology*, 46(9), pp. 4885–4893. Available at: <u>https://doi.org/10.1021/es204269w</u>.

Costa, R.A., Torres, J., Vingada, J.V. and Eira, C. (2016) 'Persistent organic pollutants and inorganic elements in the Balearic shearwater Puffinus mauretanicus wintering off Portugal', *Marine Pollution Bulletin*, 108(1–2), pp. 311–316. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.04.039</u>.

Costantini, D., Bustamante, P., Brault-Favrou, M. and Dell'Omo, G. (2020) 'Patterns of mercury exposure and relationships with isotopes and markers of oxidative status in chicks of a Mediterranean seabird', *Environmental Pollution*, 260, p. 114095. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114095</u>.

Craddock, V.M. (1973) 'Induction of Liver Tumours in Rats by a Single Treatment with Nitroso Compounds given after Partial Hepatectomy', *Nature*, 245(5425), pp. 386–388. Available at: <u>https://doi.org/10.1038/245386ao</u>.

Cresson, P., Le Direach, L., Rouanet, E., Goberville, E., Astruch, P., Ourgaud, M., & Harmelin-Vivien, M. (2019). Biomass and isotopic data for fish community on artificial reefs in the Bay of Marseille.

Cresson, P., Chouvelon, T., Bustamante, P., Bănaru, D., Baudrier, J., Le Loc'h, F., Mauffret, A., Mialet, B., Spitz, J., Wessel, N., Briand, M.J., Denamiel, M., Doray, M., Guillou, G., Jadaud, A., Lazard, C., Prieur, S., Rouquette, M., Saraux, C., Serre, S., Timmerman, C.-A., Verin, Y. and Harmelin-Vivien, M. (2020) 'Primary production and depth drive different trophic structure and functioning of fish assemblages in French marine ecosystems', *Progress in Oceanography*, 186, p. 102343. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.pocean.2020.102343</u>.

Crewther, W.G., Fraser, R.D.B., Lennox, F.G. and Lindley, H. (1965) 'The Chemistry of Keratins', in *Advances in Protein Chemistry*. Elsevier, pp. 191–346. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/S0065-3233(08)60390-3</u>.

Cumbo, V., Galluzzo, F.G., Cammilleri, G., Mascetti, A., Lo Cascio, G., Giangrosso, I.E., Pulvirenti, A., Seminara, S. and Ferrantelli, V. (2022) 'Trace elements in stomach oil of Scopoli's shearwater (Calonectris diomedea) from Linosa's colony', *Marine Pollution Bulletin*, 174, p. 113242. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.113242</u>.

Dailey, R.N., Raisbeck, M.F., Siemion, R.S. and Cornish, T.E. (2008) 'Liver Metal Concentrations in Greater Sage-grouse (Centrocercus urophasianus)', *Journal of Wildlife Diseases*, 44(2), pp. 494–498. Available at: <u>https://doi.org/10.7589/0090-3558-44.2.494</u>.

Dauwe, T., Lieven, B., Ellen, J., Rianne, P., Ronny, B. and Marcel, E. (2002) 'Great and blue tit feathers as biomonitors for heavy metal pollution', *Ecological Indicators*, 1(4), pp. 227–234. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/S1470-160X(02)00008-0</u>.

Dietz, R., Fort, J., Sonne, C., Albert, C., Bustnes, J.O., Christensen, T.K., Ciesielski, T.M., Danielsen, J., Dastnai, S., Eens, M., Erikstad, K.E., Galatius, A., Garbus, S.-E., Gilg, O., Hanssen, S.A., Helander, B., Helberg, M., Jaspers, V.L.B., Jenssen, B.M., Jónsson, J.E., Kauhala, K., Kolbeinsson, Y., Kyhn, L.A., Labansen, A.L., Larsen, M.M., Lindstøm, U., Reiertsen, T.K., Rigét, F.F., Roos, A., Strand, J., Strøm, H., Sveegaard, S., Søndergaard, J., Sun, J., Teilmann, J., Therkildsen, O.R., Thórarinsson, T.L., Tjørnløv, R.S., Wilson, S. and Eulaers, I. (2021) 'A risk assessment of the effects of mercury on Baltic Sea, Greater North Sea and North Atlantic wildlife, fish and bivalves', *Environment International*, 146, p. 106178. Available at: https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106178.

Durrieu De Madron, X., Guieu, C., Sempéré, R., Conan, P., Cossa, D., D'Ortenzio, F., Estournel, C., Gazeau, F., Rabouille, C., Stemmann, L., Bonnet, S., Diaz, F., Koubbi, P., Radakovitch, O., Babin, M., Baklouti, M., Bancon-Montigny, C., Belviso, S., Bensoussan, N., Bonsang, B., Bouloubassi, I., Brunet,

C., Cadiou, J.-F., Carlotti, F., Chami, M., Charmasson, S., Charrière, B., Dachs, J., Doxaran, D., Dutay, J.-C., Elbaz-Poulichet, F., Eléaume, M., Eyrolles, F., Fernandez, C., Fowler, S., Francour, P., Gaertner, J.C., Galzin, R., Gasparini, S., Ghiglione, J.-F., Gonzalez, J.-L., Goyet, C., Guidi, L., Guizien, K., Heimbürger, L.-E., Jacquet, S.H.M., Jeffrey, W.H., Joux, F., Le Hir, P., Leblanc, K., Lefèvre, D., Lejeusne, C., Lemé, R., Loÿe-Pilot, M.-D., Mallet, M., Méjanelle, L., Mélin, F., Mellon, C., Mérigot, B., Merle, P.-L., Migon, C., Miller, W.L., Mortier, L., Mostajir, B., Mousseau, L., Moutin, T., Para, J., Pérez, T., Petrenko, A., Poggiale, J.-C., Prieur, L., Pujo-Pay, M., Pulido-Villena, Raimbault, P., Rees, A.P., Ridame, C., Rontani, J.-F., Ruiz Pino, D., Sicre, M.A., Taillandier, V., Tamburini, C., Tanaka, T., Taupier-Letage, I., Tedetti, M., Testor, P., Thébault, H., Thouvenin, B., Touratier, F., Tronczynski, J., Ulses, C., Van Wambeke, F., Vantrepotte, V., Vaz, S. and Verney, R. (2011) 'Marine ecosystems' responses to climatic and anthropogenic forcings in the Mediterranean', *Progress in Oceanography*, 91(2), pp. 97–166. Available at: https://doi.org/10.1016/j.pocean.2011.02.003.

Eagles-Smith, C.A., Ackerman, J.T., Adelsbach, T.L., Takekawa, J.Y., Miles, A.K. and Keister, R.A. (2008) 'Mercury correlations among six tissues for four waterbird species breeding in San Francisco Bay, California, USA', *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(10), p. 2136. Available at: <u>https://doi.org/10.1897/08-038.1</u>.

Eisler, R. 1988. Arsenic hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish Wildl. Serv. Biol. Rep. 85(1.12).

Finger, A., Lavers, J.L., Orbell, J.D., Dann, P., Nugegoda, D. and Scarpaci, C. (2016) 'Seasonal variation and annual trends of metals and metalloids in the blood of the Little Penguin (*Eudyptula minor*)', *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), pp. 261–273. Available at: https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.055.

Fisk, A.T., De Wit, C.A., Wayland, M., Kuzyk, Z.Z., Burgess, N., Letcher, R., Braune, B., Norstrom, R., Blum, S.P., Sandau, C., Lie, E., Larsen, H.J.S., Skaare, J.U. and Muir, D.C.G. (2005) 'An assessment of the toxicological significance of anthropogenic contaminants in Canadian arctic wildlife', *Science of The Total Environment*, 351–352, pp. 57–93. Available at: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.01.051.

Franson, J. C., & Pain, D. J. (2011). Lead in birds.

Fransson, T. (2010). EURING list of longevity records for European birds.

Fromant, A., Carravieri, A., Bustamante, P., Labadie, P., Budzinski, H., Peluhet, L., Churlaud, C., Chastel, O. and Cherel, Y. (2016) 'Wide range of metallic and organic contaminants in various tissues of the Antarctic prion, a planktonophagous seabird from the Southern Ocean', *Science of The Total Environment*, 544, pp. 754–764. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.11.114</u>.

Furtado, R., Granadeiro, J.P., Gatt, M.C., Rounds, R., Horikoshi, K., Paiva, V.H., Menezes, D., Pereira, E. and Catry, P. (2021) 'Monitoring of mercury in the mesopelagic domain of the Pacific and Atlantic oceans using body feathers of Bulwer's petrel as a bioindicator', *Science of The Total Environment*, 775, p. 145796. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.145796</u>.

Genovart, M., Arcos, J.M., Álvarez, D., McMinn, M., Meier, R., B. Wynn, R., Guilford, T. and Oro, D. (2016a) 'Demography of the critically endangered Balearic shearwater: the impact of fisheries and time to extinction', *Journal of Applied Ecology*. Edited by H. Österblom, 53(4), pp. 1158–1168. Available at: <u>https://doi.org/10.1111/1365-2664.12622</u>.

González-Solís, J., Sanpera, C. and Ruiz, X. (2002) 'Metals and selenium as bioindicators of geographic and trophic segregation in giant petrels Macronectes spp.', *Marine Ecology Progress Series*, 244, pp. 257–264. Available at: <u>https://doi.org/10.3354/meps244257</u>.

Gomez, G., Baos, R., Gomara, B., Jiménez, B., Benito, V., Montoro, R., Hiraldo, F. and Gonzalez, M.J. (2004) 'Influence of a Mine Tailing Accident Near Donana National Park (Spain) on Heavy Metals and Arsenic Accumulation in 14 Species of Waterfowl (1998 to 2000)', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(4), pp. 521–529. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00244-</u>

<u>004-0189-z</u>.

Harmelin-Vivien, M., Cossa, D., Crochet, S., Bănaru, D., Letourneur, Y. and Mellon-Duval, C. (2009) 'Difference of mercury bioaccumulation in red mullets from the north-western Mediterranean and Black seas', *Marine Pollution Bulletin*, 58(5), pp. 679–685. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.01.004</u>.

Hobson, K.A. and Clark, R.G. (1992) 'Assessing Avian Diets Using Stable Isotopes I: Turnover of ¹³ C in Tissues', *The Condor*, 94(1), pp. 181–188. Available at: <u>https://doi.org/10.2307/1368807</u>.

Hobson, K.A. and Clark, R.G. (1993) 'Turnover of ¹³ C in Cellular and Plasma Fractions of Blood: Implications for Nondestructive Sampling in Avian Dietary Studies', *The Auk*, 110(3), pp. 638–641. Available at: <u>https://doi.org/10.2307/4088430</u>.

Hoffman, D.J. (2002) 'Role of selenium toxicity and oxidative stress in aquatic birds', *Aquatic Toxicology*, 57(1–2), pp. 11–26. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00263-6</u>.

Honda, K., Marcovecchio, J.E., Kan, S., Tatsukawa, R. and Ogi, H. (1990) 'Metal concentrations in pelagic seabirds from the North Pacific Ocean', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 19(5), pp. 704–711. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/BF01183988</u>.

Hughes, M.R., Smits, J.E., Elliott, J.E. and Bennett, D.C. (2000) 'Morphological and pathological effects of cadmium ingestion on pekin ducks exposed to saline', *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 61(7), pp. 591–608. Available at: <u>https://doi.org/10.1080/00984100050194117</u>.

Ikemoto, T., Kunito, T., Tanaka, H., Baba, N., Miyazaki, N. and Tanabe, S. (2004a) 'Detoxification Mechanism of Heavy Metals in Marine Mammals and Seabirds: Interaction of Selenium with Mercury, Silver, Copper, Zinc, and Cadmium in Liver', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(3). Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00244-004-3188-9</u>.

Ikemoto, T., Kunito, T., Tanaka, H., Baba, N., Miyazaki, N. and Tanabe, S. (2004b) 'Detoxification Mechanism of Heavy Metals in Marine Mammals and Seabirds: Interaction of Selenium with Mercury, Silver, Copper, Zinc, and Cadmium in Liver', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47(3). Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00244-004-3188-9</u>.

International Union for Conservation of Nature (2010) <u>https://uicn.fr/congres-mondial-de-la-nature-uicn-2020/</u>. [Accessed June 09, 2023]

International Union for Conservation of Nature (2020) <u>https://uicn.fr/congres-mondial-de-la-nature-uicn-2020/</u>. [Accessed June 09, 2023]

Jackson, A.L., Inger, R., Parnell, A.C. and Bearhop, S. (2011) 'Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R: Bayesian isotopic niche metrics', *Journal of Animal Ecology*, 80(3), pp. 595–602. Available at: <u>https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2011.01806.x</u>.

Kahle, S. and Becker, P.H. (1999) 'Bird blood as bioindicator for mercury in the environment', *Chemosphere*, 39(14), pp. 2451–2457. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00154-X</u>.

Kelly, J.F. (2000) 'Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology', 78.

Khan, M.A.K. and Wang, F. (2009) 'Mercury-selenium compounds and their toxicological significance: toward a molecular understanding of the mercury-selenium antagonism', *Environmental Toxicology and Chemistry*, 28(8), p. 1567. Available at: <u>https://doi.org/10.1897/08-375.1</u>.

Koeman, J. H., Peeters, W. H. M., Koudstaal-Hol, C. H. M., Tjioe, P. S., & De Goeij, J. J. M. (1973). Mercury-selenium correlations in marine mammals. *Nature*, *245*, 385-386. Kunito, T., Kubota, R., Fujihara, J., Agusa, T., & Tanabe, S. (2008). Arsenic in marine mammals, seabirds, and sea turtles. *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 31-69.

Lavoie, R.A., Jardine, T.D., Chumchal, M.M., Kidd, K.A. and Campbell, L.M. (2013) 'Biomagnification of Mercury in Aquatic Food Webs: A Worldwide Meta-Analysis', *Environmental Science & Technology*, 47(23), pp. 13385–13394. Available at: <u>https://doi.org/10.1021/es403103t</u>.

Leat, E., Bourgeon, S., Magnusdottir, E., Gabrielsen, G., Grecian, W., Hanssen, S., Olafsdottir, K., Petersen, A., Phillips, R., Strøm, H., Ellis, S., Fisk, A., Bustnes, J., Furness, R. and Borgå, K. (2013) 'Influence of wintering area on persistent organic pollutants in a breeding migratory seabird', *Marine Ecology Progress Series*, 491, pp. 277–293. Available at: <u>https://doi.org/10.3354/meps10455</u>.

Lerma, M., Castillo-Guerrero, J.A., Ruelas-Inzunza, J. and Fernández, G. (2016) 'Lead, cadmium and mercury in the blood of the blue-footed booby (*Sula nebouxii*) from the coast of Sinaloa, Gulf of California, Mexico', *Marine Pollution Bulletin*, 110(1), pp. 293–298. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.06.049</u>.

Liénart, C., Savoye, N., Bozec, Y., Breton, E., Conan, P., David, V., Feunteun, E., Grangeré, K., Kerhervé, P., Lebreton, B., Lefebvre, S., L'Helguen, S., Mousseau, L., Raimbault, P., Richard, P., Riera, P., Sauriau, P.-G., Schaal, G., Aubert, F., Aubin, S., Bichon, S., Boinet, C., Bourasseau, L., Bréret, M., Caparros, J., Cariou, T., Charlier, K., Claquin, P., Cornille, V., Corre, A.-M., Costes, L., Crispi, O., Crouvoisier, M., Czamanski, M., Del Amo, Y., Derriennic, H., Dindinaud, F., Durozier, M., Hanquiez, V., Nowaczyk, A., Devesa, J., Ferreira, S., Fornier, M., Garcia, F., Garcia, N., Geslin, S., Grossteffan, E., Gueux, A., Guillaudeau, J., Guillou, G., Joly, O., Lachaussée, N., Lafont, M., Lamoureux, J., Lecuyer, E., Lehodey, J.-P., Lemeille, D., Leroux, C., Macé, E., Maria, E., Pineau, P., Petit, F., Pujo-Pay, M., Rimelin-Maury, P. and Sultan, E. (2017) 'Dynamics of particulate organic matter composition in coastal systems: A spatio-temporal study at multi-systems scale', *Progress in Oceanography*, 156, pp. 221–239. Available at: https://doi.org/10.1016/j.pocean.2017.03.001.

Lock, J.W., Thompson, D.R., Furness, R.W. and Bartle, J.A. (1992) 'Metal concentrations in seabirds of the New Zealand region', *Environmental Pollution*, 75(3), pp. 289–300. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/0269-7491(92)90129-X</u>.

Louzao, M., Wiegand, T., Bartumeus, F. and Weimerskirch, H. (2014) 'Coupling instantaneous energybudget models and behavioural mode analysis to estimate optimal foraging strategy: an example with wandering albatrosses', *Movement Ecology*, 2(1), p. 8. Available at: <u>https://doi.org/10.1186/2051-3933-2-8</u>.

Lucia, M., Andre, J.-M., Gonzalez, P., Baudrimont, M., Gontier, K., Maury-Brachet, R. and Davail, S. (2009) 'Impact of cadmium on aquatic bird *Cairina moschata*', *BioMetals*, 22(5), pp. 843–853. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s10534-009-9232-5</u>.

Lucia, M., Bocher, P., Cosson, R.P., Churlaud, C. and Bustamante, P. (2012) 'Evidence of species-specific detoxification processes for trace elements in shorebirds', *Ecotoxicology*, 21(8), pp. 2349–2362. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s10646-012-0991-3</u>.

Lucia, M., Strøm, H., Bustamante, P. and Gabrielsen, G.W. (2016) 'Trace Element Concentrations in Relation to the Trophic Behaviour of Endangered Ivory Gulls (*Pagophila eburnea*) During Their Stay at a Breeding Site in Svalbard', *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 71(4), pp. 518–529. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00244-016-0320-6</u>.

Mallory, M.L., Braune, B.M., Provencher, J.F., Callaghan, D.B., Gilchrist, H.G., Edmonds, S.T., Allard, K. and O'Driscoll, N.J. (2015) 'Mercury concentrations in feathers of marine birds in Arctic Canada', *Marine Pollution Bulletin*, 98(1–2), pp. 308–313. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.06.043</u>.

Mallory, M.L., Provencher, J.F., Robertson, G.J., Braune, B.M., Holland, E.R., Klapstein, S., Stevens, K. and O'Driscoll, N.J. (2018) 'Mercury concentrations in blood, brain and muscle tissues of coastal and

pelagic birds from northeastern Canada', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 157, pp. 424–430. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.04.004</u>.

Mao, H., Cheng, I., & Zhang, L. (2016). Current understanding of the driving mechanisms for spatiotemporal variations of atmospheric speciated mercury: a review. *Atmospheric Chemistry and Physics*, *16*(20), 12897-12924. Available at: <u>https://doi.org/10.5194/acp-16-12897-2016</u>.

Martín, B., Onrubia, A. and Ferrer, M. (2019) 'Endemic shearwaters are increasing in the Mediterranean in relation to factors that are closely related to human activities', *Global Ecology and Conservation*, 20, p. e00740. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00740</u>.

McMahon, K.W., Hamady, L.L. and Thorrold, S.R. (2013) 'A review of ecogeochemistry approaches to estimating movements of marine animals', *Limnology and Oceanography*, 58(2), pp. 697–714. Available at: <u>https://doi.org/10.4319/lo.2013.58.2.0697</u>.

Minagawa, M., & Wada, E. (1984). Stepwise enrichment of 15N along food chains: further evidence and the relation between δ 15N and animal age. *Geochimica et cosmochimica acta*, 48(5), 1135-1140.

Monteiro, L.R. and Furness, R.W. (2001) 'Kinetics, Dose–Response, and Excretion of Methylmercury in Free-Living Adult Cory's Shearwaters', *Environmental Science & Technology*, 35(4), pp. 739–746. Available at: <u>https://doi.org/10.1021/es000114a</u>.

Monteiro, L.R. and Furness, R.W. (1995) 'Seabirds as monitors of mercury in the marine environment'. Morley, N.H., Burton, J.D., Tankere, S.P.C. and Martin, J.-M. (1997) 'Distribution and behaviour of some dissolved trace metals in the western Mediterranean Sea', *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 44(3–4), pp. 675–691. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/S0967-0645(96)00098-7</u>.

Morley, N. H., Burton, J. D., Tankere, S. P. C., & Martin, J. M. (1997). Distribution and behaviour of some dissolved trace metals in the western Mediterranean Sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, *44*(3-4), 675-691. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/S0967-0645(96)00098-7</u>.

Morrissey, C.A., Albert, C.A., Dods, P.L., Cullen, W.R., Lai, V.W.-M. and Elliott, J.E. (2007) 'Arsenic Accumulation in Bark Beetles and Forest Birds Occupying Mountain Pine Beetle Infested Stands Treated with Monosodium Methanearsonate', *Environmental Science & Technology*, 41(4), pp. 1494–1500. Available at: <u>https://doi.org/10.1021/es061967r</u>.

Navarro, J., Louzao, M., Igual, J.M., Oro, D., Delgado, A., Arcos, J.M., Genovart, M., Hobson, K.A. and Forero, M.G. (2009) 'Seasonal changes in the diet of a critically endangered seabird and the importance of trawling discards', *Marine Biology*, 156(12), pp. 2571–2578. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00227-009-1281-3</u>.

Neff, J.M. (1997) 'Ecotoxicology of arsenic in the marine environment', *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(5), pp. 917–927. Available at: <u>https://doi.org/10.1002/etc.5620160511</u>.

Nigro, M. and Leonzio, C. (1996) 'Intracellular storage of mercury and selenium in different marine vertebrates', *Marine Ecology Progress Series*, 135, pp. 137–143. Available at: <u>https://doi.org/10.3354/meps135137</u>.

Osborn, D., Harris, M.P., Nicholson, J.K. (1979) "Comparative distribution of mercury, cadmium and zinc in three species of pelagic seabirds" Biochemistry, Pharmacology, 27, pp. 822-824

Ottosson, U. (1997) 'Begging affects parental effort in the pied ⁻ycatcher, *Ficedula hypoleuca*'.

Outridge, P.M., Scheuhammer, A.M., Fox, G.A., Braune, B.M., White, L.M., Gregorich, L.J. and Keddy, C. (1999) 'An assessment of the potential hazards of environmental selenium for Canadian water birds',

Pérez-Roda, A., Delord, K., Boué, A., Arcos, J.M., García, D., Micol, T., Weimerskirch, H., Pinaud, D. and

Louzao, M. (2017) 'Identifying Important Atlantic Areas for the conservation of Balearic shearwaters: Spatial overlap with conservation areas', *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 141, pp. 285–293. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2016.11.011</u>.

Peterson, B.J. and Fry, B. (1987) 'Stable Isotopes in Ecosystem Studies'.

Plan National d'Action 2021 -2025 en faveur du Puffin des Baléares - Puffinus mauretanicus. Ministère de la Transition Écologique (2021). 258 p.

Radakovitch, O., Roussiez, V., Ollivier, P., Ludwig, W., Grenz, C. and Probst, J.-L. (2008) 'Input of particulate heavy metals from rivers and associated sedimentary deposits on the Gulf of Lion continental shelf', *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 77(2), pp. 285–295. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.09.028</u>.

Ramade, F. (1979). Ecotoxicologie. Seconde édition. Paris, Masson, Collection d'Ecologie, n°9

Rauch, J.N. and Pacyna, J.M. (2009) 'Earth's global Ag, Al, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, and Zn cycles: Global metal cycles', *Global Biogeochemical Cycles*, 23(2), p. n/a-n/a. Available at: <u>https://doi.org/10.1029/2008GB003376</u>.

Richir, J. & Gobert S. (2016) 'Trace Elements in Marine Environments: Occurrence, Threats and Monitoring with Special Focus on the Coastal Mediterranean', *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 06(01). Available at: <u>https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000349</u>.

Projet ROMPOM (2019) Réseau d'observation méditerranéen des polluants par les oiseaux marins <u>https://medtrix.fr/portfolio_page/rompom/</u>

Roscales, J.L., Vicente, A., Muñoz-Arnanz, J., Morales, L., Abad, E., Aguirre, J.I. and Jiménez, B. (2016) 'Influence of trophic ecology on the accumulation of dioxins and furans (PCDD/Fs), non-ortho polychlorinated biphenyls (PCBs), and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in Mediterranean gulls (Larus michahellis and L. audouinii): A three-isotope approach', *Environmental Pollution*, 212, pp. 307–315. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.01.078</u>.

Ruffino, L., Bourgeois, K., Vidal, E., Duhem, C., Paracuellos, M., Escribano, F., Sposimo, P., Baccetti, N., Pascal, M. and Oro, D. (2009) 'Invasive rats and seabirds after 2,000 years of an unwanted coexistence on Mediterranean islands', *Biological Invasions*, 11(7), pp. 1631–1651. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s10530-008-9394-z</u>.

Salvo, A., Cicero, N., Vadalà, R., Mottese, A.F., Bua, D., Mallamace, D., Giannetto, C. and Dugo, G. (2016) 'Toxic and essential metals determination in commercial seafood: *Paracentrotus lividus* by ICP-MS', *Natural Product Research*, 30(6), pp. 657–664. Available at: <u>https://doi.org/10.1080/14786419.2015.1038261</u>.

Scheuhammer, A.M. (1987) 'The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: A review', *Environmental Pollution*, 46(4), pp. 263–295. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/0269-7491(87)90173-4</u>.

Schreiber, E.A. and Burger, J. (2002) *Biology of marine birds*. Boca Raton, Fla: CRC Press (CRC marine biology series).

Sebastiano, M., Bustamante, P., Costantini, D., Eulaers, I., Malarvannan, G., Mendez-Fernandez, P., Churlaud, C., Blévin, P., Hauselmann, A., Dell'Omo, G., Covaci, A., Eens, M. and Chastel, O. (2016) 'High levels of mercury and low levels of persistent organic pollutants in a tropical seabird in French Guiana, the Magnificent frigatebird, Fregata magnificens', *Environmental Pollution*, 214, pp. 384–393. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.03.070</u>.

Sebastiano, M., Bustamante, P., Eulaers, I., Malarvannan, G., Mendez-Fernandez, P., Churlaud, C., Blévin, P., Hauselmann, A., Covaci, A., Eens, M., Costantini, D. and Chastel, O. (2017) 'Trophic ecology drives contaminant concentrations within a tropical seabird community', *Environmental Pollution*,

227, pp. 183–193. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.040</u>.

Sen, I.S. and Peucker-Ehrenbrink, B. (2012) 'Anthropogenic Disturbance of Element Cycles at the Earth's Surface', *Environmental Science & Technology*, 46(16), pp. 8601–8609. Available at: <u>https://doi.org/10.1021/es301261x</u>.

Shen, B., Tian, L., Li, F., Zhang, X., Xu, H., & Singh, S. (2017). Elemental mercury removal by the modified bio-char from waste tea. *Fuel*, *187*, 189-196.

Skorupa, J. P., Morman, S. P., & Sefchick-Edwards, J. S. (1996). Guidelines for interpreting selenium exposures of biota associated with nonmarine aquatic habitats. *US Fish and Wildlife Service, Sacramento, CA. Final report to the National Irrigation Water Quality Program, Washington, DC.*

Squadrone, S., Abete, M.C., Brizio, P., Monaco, G., Colussi, S., Biolatti, C., Modesto, P., Acutis, P.L., Pessani, D. and Favaro, L. (2016) 'Sex- and age-related variation in metal content of penguin feathers', *Ecotoxicology*, 25(2), pp. 431–438. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s10646-015-1593-</u>Z.

Stewart, F., Phillips, R., Bartle, J., Craig, J. and Shooter, D. (1999) 'Influence of phylogeny, diet, moult schedule and sex on heavy metal concentrations in New Zealand Procellariiformes', *Marine Ecology Progress Series*, 178, pp. 295–305. Available at: <u>https://doi.org/10.3354/meps178295</u>.

Summers, C.F., Bowerman, W.W., Parsons, N., Chao, W.Y. and Bridges, W.C. (2014) 'Lead and Cadmium in the Blood of Nine Species of Seabirds, Marion Island, South Africa', *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 93(4), pp. 417–422. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s00128-014-1359-6</u>.

Sutherland, R.A. and Tack, F.M.G. (2007) 'Sequential Extraction of Lead from Grain Size Fractionated River Sediments Using the Optimized BCR Procedure', *Water, Air, and Soil Pollution*, 184(1–4), pp. 269–284. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/s11270-007-9415-z</u>.

Tartu, S., Bustamante, P., Angelier, F., Lendvai, Á.Z., Moe, B., Blévin, P., Bech, C., Gabrielsen, G.W., Bustnes, J.O. and Chastel, O. (2016) 'Mercury exposure, stress and prolactin secretion in an Arctic seabird: an experimental study', *Functional Ecology*. Edited by P. Hõrak, 30(4), pp. 596–604. Available at: <u>https://doi.org/10.1111/1365-2435.12534</u>.

Tartu, S., Goutte, A., Bustamante, P., Angelier, F., Moe, B., Clément-Chastel, C., Bech, C., Gabrielsen, G.W., Bustnes, J.O. and Chastel, O. (2013) 'To breed or not to breed: endocrine response to mercury contamination by an Arctic seabird', *Biology Letters*, 9(4), p. 20130317. Available at: <u>https://doi.org/10.1098/rsbl.2013.0317</u>.

Thibault, J. C., Bretagnolle, V., & Rabouam, C. (1997). Cory's shearwater *calonectris diomedea*. *Birds* of Western Palearctic Update, 1, 75-98.

Thompson, D.R. and Furness, R.W. (1989) 'The chemical form of mercury stored in South Atlantic seabirds', *Environmental Pollution*, 60(3–4), pp. 305–317. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/0269-7491(89)90111-5</u>.

Thompson, D.R., Furness, R.W. and Walsh, P.M. (1992) 'Historical Changes in Mercury Concentrations in the Marine Ecosystem of the North and North-East Atlantic Ocean as Indicated by Seabird Feathers', *The Journal of Applied Ecology*, 29(1), p. 79. Available at: <u>https://doi.org/10.2307/2404350</u>.

Thompson, D.R. and Hamer, K.C. (2000) 'Stress in seabirds: causes, consequences and diagnostic value'. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*, 7:91–110

Thompson, D.R., Hamer, K.C. and Furness, R.W. (1991) 'Mercury Accumulation in Great Skuas Catharacta skua of Known Age and Sex, and Its Effects Upon Breeding and Survival', *The Journal of Applied Ecology*, 28(2), p. 672. Available at: <u>https://doi.org/10.2307/2404575</u>.

Waugh, S.M., Filippi, D.P., Kirby, D.S., Abraham, E. and Walker, N. (2012) 'Ecological Risk Assessment for seabird interactions in Western and Central Pacific longline fisheries', *Marine Policy*, 36(4), pp. 933–946. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.marpol.2011.11.005</u>.

West, J.B., Bowen, G.J., Dawson, T.E. and Tu, K.P. (eds) (2010) *Isoscapes*. Dordrecht: Springer Netherlands. Available at: <u>https://doi.org/10.1007/978-90-481-3354-3</u>.

Whitacre, D.M. (ed.) (2008) *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. New York, NY: Springer New York (Reviews of Environmental Contamination and Toxicology). Available at: <u>https://doi.org/10.1007/978-0-387-77030-7</u>.

World Health Organization. (2022) International Atomic Energy Agency & Food and Agriculture Organization of the United Nation. Nutrition and Food safety. **ISBN:** 92-4-156173-4 <u>https://www.who.int/</u>. [Accessed June 09, 2023]

World Population Prospects. (2022) Department of Economic and Social Affairs. Population Division. <u>https://population.un.org/wpp/.</u> [Accessed June 09, 2023]

Wu, W., Wu, P., Yang, F., Sun, D. L., Zhang, D. X., & Zhou, Y. K. (2018). Assessment of heavy metal pollution and human health risks in urban soils around an electronics manufacturing facility. *Science of the Total Environment*, *630*, 53-61. Available at: <u>https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.02.183</u>.

Zotier, R., Bretagnolle, V. and Thibault, J.-C. (1999) 'Biogeography of the marine birds of a confined sea, the Mediterranean', *Journal of Biogeography*, 26(2), pp. 297–313. Available at: <u>https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.1999.00260.x</u>.

Annexes :



Annexe 1. Synthèse des activités réalisés durant le stage au LIENSs.

Annexe 2. Concentration en ETMs dans le sang sur les deux axes sélectionnés à partir de l'analyse en composantes principales chez les puffins des Baléares adultes échantillonnés dans le Mor Braz.

Axes	As	Cu	Fe	Hg	Mn	Se	Zn
Axe 1	44,99	-11,18	35,47	23,41	-48,00	52,48	-10,47
Axe 2	-0,03	-61,57	-28,69	-13,39	-4,54	-3,34	-50,41

Annexe 3. Concentration en ETMs dans le sang sur les deux axes sélectionnés à partir de l'analyse en composantes principales chez les puffins de Scopoli poussins échantillonnés en Méditerranée.

Axes	As	Cu	Fe	Hg	Mn	Pb	Se	Zn
Axe 1	9,96	-38,58	39,70	9,96	63,65	-3,54	5,67	-73,49
Axe 2	-58,64	-14,99	7,48	-58,64	0,74	-39,49	-41,33	-2,20

Annexe 4. Résultats des tests post-hoc de comparaisons multiples (Tukey HSD) pour la comparaison des concentrations en ETMs entre les différentes espèces.

Éléments	Espèce 1	Espèce 2	p-value	
As				
	Baléares	Scopoli	0.000000341	
	Baléares	Yelkouan	0.000041	
	Scopoli	Yelkouan	0.0000000026	
Cu				
	Baléares	Scopoli	0.0000000336	

	Baléares	Yelkouan	0.0318	
	Scopoli	Yelkouan	0.0000000366	
Fe				
	Baléares	Scopoli	1.85e- 2	
	Baléares	Yelkouan	2.59e-10	
	Scopoli	Yelkouan	2.59e-10	
Hg				
	Baléares	Scopoli	1.3 e- 8	
	Baléares	Yelkouan	5.15e-10	
	Scopoli	Yelkouan	2.59e-10	
Mn				
	Baléares	Scopoli	6.58e- 1	
	Baléares	Yelkouan	2.59e-10	
	Scopoli	Yelkouan	2.59e-10	
Se				
	Baléares	Scopoli	7.04e-10	
	Baléares	Yelkouan	9.47e- 1	
	Scopoli	Yelkouan	2.97e- 4	
Zn				
	Baléares	Scopoli	7.04e-10	
	Baléares	Yelkouan	9.47e- 1	
	Scopoli	Yelkouan	2.97e- 4	

Annexe 5. Résultats des tests post-hoc de comparaisons multiples (Tukey HSD) pour la comparaison des concentrations en ETMs entre les colonies chez les puffins de Scopoli poussins.

Éléments	Colonie 1	Colonie 2	p-value	
As				
	Giraglia	Lavezzi	0,0280054	
	Frioul	Lavezzi	0.0763335	
	Riou	Lavezzi	0.1759474	
	Frioul	Giraglia	0.0000183	
	Riou	Giraglia	0.0002818	
	Riou	Frioul	0.9999998	
Cu				
	Giraglia	Lavezzi	0.6718334	
	Frioul	Lavezzi	0.6423048	
	Riou	Lavezzi	0.7606297	
	Frioul	Giraglia	0.1200428	

	Riou	Giraglia	1.000000	
	Riou	Frioul	0.2155614	
Fe				
	Giraglia	Lavezzi	0.4596409	
	Frioul	Lavezzi	0.4502407	
	Riou	Lavezzi	0.9384324	
	Frioul	Giraglia	0.9999794	
	Riou	Giraglia	0.9032111	
	Riou	Frioul	0.9088299	
Hg				
	Giraglia	Lavezzi	0.000008	
	Frioul	Lavezzi	0.8682581	
	Riou	Lavezzi	0.8037555	
	Frioul	Giraglia	0.0000001	
	Riou	Giraglia	0.0000011	
	Riou	Frioul	0.9936714	
Mn				
	Giraglia	Lavezzi	0.9616885	
	Frioul	Lavezzi	0.6741412	
	Riou	Lavezzi	0.7680667	
	Frioul	Giraglia	0.9313864	
	Riou	Giraglia	0.5341965	
	Riou	Frioul	0.2381357	
Pb				
	Giraglia	Lavezzi	0.6462735	
	Frioul	Lavezzi	0.9946725	
	Riou	Lavezzi	0.9806238	
	Frioul	Giraglia	0.4989460	
	Riou	Giraglia	0.5283984	
	Riou	Frioul	0.9979773	
Se				
	Giraglia	Lavezzi	0,8210569	
	Frioul	Lavezzi	0.00000036	
	Riou	Lavezzi	0.000000131	
	Frioul	Giraglia	0.000000131	
	Riou	Giraglia	0.0000000201	
	Riou	Frioul	0,4653910	
Zn				

	Giraglia	Lavezzi	0.9960012
	Frioul	Lavezzi	0.7350082
	Riou	Lavezzi	0.0861574
	Frioul	Giraglia	0.6221107
	Riou	Giraglia	0.1454736
	Riou	Frioul	0.0101925

Annexe 6. Résultats du test de Kruskal-Wallis et des tests de Wilcoxon pour la comparaison des concentrations en ETMs entre les différents types de tissus chez les puffins Yelkouan, *Puffinus yelkouan*.

Éléments	Tissu 1	Tissu 2	p-value	
As				
	Muscle	Foie	0,016	
	Muscle	Rein	0,159	
	Muscle	Sang	0,201	
	Foie	Rein	0,648	
	Foie	Sang	0,012	
	Rein	Sang	0,012	
Cd				
	Muscle	Foie	0,00093	
	Muscle	Rein	0,00559	
	Muscle	Sang	0,96	
	Foie	Rein	0,00727	
	Foie	Sang	0,00093	
	Rein	Sang	0,00606	
Со				
	Muscle	Foie	1,0000	
	Muscle	Rein	0,0091	
	Muscle	Sang	0,0091	
	Foie	Rein	0,0091	
	Foie	Sang	0,0168	
	Rein	Sang	0,0091	
Cu				
	Muscle	Foie	0,46976	
	Muscle	Rein	0,00727	
	Muscle	Sang	0,00049	
	Foie	Rein	0,00727	
	Foie	Sang	0,00093	

	Rein	Sang	0,00727	
Fe				
	Muscle	Foie	0,00052	
	Muscle	Rein	0,00420	
	Muscle	Sang	0,00049	
	Foie	Rein	0,07273	
	Foie	Sang	0,00062	
	Rein	Sang	0,00485	
Hg				
	Muscle	Foie	0,031	
	Muscle	Rein	0,276	
	Muscle	Sang	0,082	
	Foie	Rein	0,276	
	Foie	Sang	0,188	
	Rein	Sang	0,570	
Mn				
	Muscle	Foie	0,00093	
	Muscle	Rein	0,00559	
	Muscle	Sang	0,013333	
	Foie	Rein	0,23030	
	Foie	Sang	0,00093	
	Rein	Sang	0,00606	
Se				
	Muscle	Foie	0,00093	
	Muscle	Rein	0,00559	
	Muscle	Sang	0,013333	
	Foie	Rein	0,23030	
	Foie	Sang	0,00093	
	Rein	Sang	0,00606	
Zn				
	Muscle	Foie	0,00093	
	Muscle	Rein	0,00420	
	Muscle	Sang	0,00420	
	Foie	Rein	0,04242	
	Foie	Sang	0,00093	
	Rein	Sang	0,00485	

1. Nettoyage des plumes

Matériels :

- Plumes collectées en amont (échantillons: ventrales, dorsales, Primaire 6)
- Béchers en verre pour doser la préparation
- Pince et ciseau métalliques pour manipuler
- Minuteur
- Bac à ultrasons
- Eau distillé
- Chloroforme
- Méthanol
- Enveloppe en aluminium
- Gants de protection
- Lunette de protection
- Blouse

Préparation :



 Découper le bulbe de la plume (changement de couleur à l'extrémité) et retirer le duvet avec une pince et un ciseau propres.

Préparer des enveloppes en aluminium avec le numéro de l'échantillon pour avoir une traçabilité.

 Réaliser une solution avec du Chloroforme et du Méthanol en quantité suivante : 21. Agiter la solution pour avoir un solvant homogène.

Protocole :

L'ensemble des manipulations s'effectuent sous une hotte de laboratoire.

 Retirer les plumes (ventrales, dorsales, P6) et les placer dans un bécher avec 150mL de la solution préparée en amont. Conserver les bulbes dans le sachet plastique.

- Placer ce bécher dans le bac à ultrasons durant 3 minutes.
- Retirer le bécher puis faire sécher les plumes
- Placer l'ensemble des plumes dans un second bécher avec du méthanol pur et mélanger durant quelques secondes.
- Retirer les plumes du bécher et laisser sécher.
- Renouveler les 2 demières étapes
- Placer les plumes nettoyées dans une enveloppe en aluminium annotée du numéro de l'échantillon.
- Placer l'ensemble des échantillons dans une étuve à 45°C pendant 48H.



<u> Résumé :</u>

Le puffin des Baléares (Puffinus mauretanicus) est l'oiseau marin le plus menacé d'Europe. Il est impacté par de nombreuses causes anthropiques et fait l'objet d'un plan national d'actions de 2021 à 2025. La France peut accueillir jusqu'à 50% de l'effectif mondial en période post-reproduction sur la façade Atlantique. Il est donc essentiel de comprendre les risques encourus par cette espèce dont l'exposition aux contaminants tels que les éléments traces métalliques (ETMs). Le puffin Yelkouan (Puffinus yelkouan) et le puffin de Scopoli (Calonectris diomedea) sont proches phylogénétiquement et génotypiquement du puffin des Baléares. Des comparaisons peuvent être réalisées lorsqu'on étudie le sang. Des concentrations plus élevées en ETMs sont retrouvées dans le sang des puffins Yelkouan qui résident exclusivement en Méditerranée par rapport aux puffins des Baléares, échantillonnés en Atlantique. Ces différences de contamination peuvent s'expliquer par des niveaux d'exposition différents, une anthropisation importante sur les côtes méditerranéennes, moins de dilution des ETMs dans les masses d'eau, une activité volcanique plus intense et les poussières relarquées dans l'atmosphère provenant du Sahara. Les concentrations en ETMs chez les puffins de Scopoli poussins peuvent s'expliquer par l'écologie alimentaire via l'analyse des isotopes stables (δ^{13} C) et (δ^{15} N). Le site de reproduction joue également un rôle dans les concentrations en ETMs. Les poussins de la colonie de Giraglia présentent les concentrations de Hg les plus élevées dans le sang. L'étude des isotopes pour comprendre les niveaux de contamination des puffins des Baléares et des puffins Yelkouan ne suffit pas. Les adultes se déplacent sur de grandes distances, dans des écosystèmes complexes et contrastés. Les niveaux de bases peuvent notamment varier entre la Méditerranée et l'Atlantique. L'analyse des organes internes (sang, muscle, rein, foie) des puffins Yelkouan permet d'appuyer des corrélations entre ETMs. La contamination des oiseaux aux éléments essentiels semble faible mais les effets cumulatifs et synergiques de ces derniers pourraient être préjudiciables pour ces espèces. L'exposition au Hg varie en fonction du type de tissu étudié (sang, plume de couverture, rémige primaire) chez les puffins des Baléares reflétant des niveaux d'exposition et des degrés de contamination différents durant l'année.

<u>Mots clés :</u> Puffins, éléments traces métalliques, écologie trophique, site d'alimentation, isotopes, seuils de toxicité

Abstract:

The Balearic shearwater (*Puffinus mauretanicus*) is the most endangered seabird species. Impacted by anthropic activities and this specie is the subject of a national action plan from 2021 to 2025. France can host up to 50% of the world's post-reproduction population on its Atlantic coast. It is therefore essential to understand the risks faced by this species, including exposure to contaminants such as trace metal elements (TMEs). The Yelkouan shearwater (Puffinus yelkouan) and the Scopoli shearwater (Calonectris diomedea) are phylogenetically and genotypically close to the Balearic shearwater. Comparisons can be realized when blood is studied. High concentrations of TMEs are found in the blood of Yelkouan shearwaters, which reside exclusively in the Mediterranean, compared to Balearic shearwaters. They were sampled in the Atlantic. These differences in contamination can be explained by different levels of exposure, high levels of human activity on the Mediterranean coasts, less current dynamics, more intense volcanic activities and dust released into the atmosphere from the Sahara. Concentrations of TMEs in the blood of Scopoli shearwater chicks can be explained by the feeding ecology via the analysis of stable isotopes (δ^{13} C) and (δ^{15} N). The breeding site also plays a role in ETM concentrations. Chicks from the Giraglia colony have the highest concentrations of Hg in their blood. The study of isotopes to understand contamination levels in Balearic shearwaters and Yelkouan shearwaters is not enough. In fact, Adults can migrate and travel great distances in complex and contrasting ecosystems. Baseline levels can vary between the Mediterranean Sea and the Atlantic Ocean. Analysis of the internal organs (blood, muscle, kidney, liver) of Yelkouan shearwaters supports correlations between TMEs. Contamination of seabirds by essential elements is low, but the cumulative and synergistic effects of these elements could be deleterious to these species. Hg exposure varies depending to the type of tissue (blood, cover feathers, fly feathers) in Balearic shearwaters. This result reflects different levels of exposure and degrees of contamination during the year.

Keywords: Shearwaters, trace metal elements, trophic ecology, feeding site, isotopes, toxicity levels