



HAL
open science

Analyse chimique des résidus des contaminants anthropiques dans les chaînes alimentaires : influence du régime alimentaire chez les prédateurs

Hussein Alomar

► **To cite this version:**

Hussein Alomar. Analyse chimique des résidus des contaminants anthropiques dans les chaînes alimentaires : influence du régime alimentaire chez les prédateurs. Toxicologie. Université de Lyon, 2017. Français. NNT : 2017LYSE1211 . tel-01736250

HAL Id: tel-01736250

<https://theses.hal.science/tel-01736250>

Submitted on 16 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



N°d'ordre NNT : 2017LYSE1211

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON
opérée au sein de
l'Université Claude Bernard Lyon 1

Ecole Doctorale « EDISS » N° 205
(Ecole Doctorale interdisciplinaire Sciences-Santé)

Spécialité de doctorat : Sciences de la santé, Toxicologie

Soutenue publiquement le 25/10/2017, par :

Hussein ALOMAR

Analyse chimique des résidus des contaminants anthropiques dans les chaînes alimentaires : Influence du régime alimentaire chez les prédateurs

Devant le jury composé de :

Mme FALSON Françoise	Professeur, Université de Lyon 1	Président
Mme KAMMERER Martine	Professeur de Pharmacie-Toxicologie, ONIRIS	Rapporteur
M. SCHEIFLER Renaud	Maître de conférences - HDR, Université de Franche-Comté	Rapporteur
Mme MAITRE Anne	Professeur, Université Grenoble 1	Examinatrice
M. COEURDASSIER Michaël	Maître de conférences, Université de Franche-Comté	Examineur
M. BERNY Philippe	Professeur de Pharmacie-Toxicologie, VetAgro Sup	Directeur de thèse

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université

Président du Conseil Académique

Vice-président du Conseil d'Administration

Vice-président du Conseil Formation et Vie Universitaire

Vice-président de la Commission Recherche

Directrice Générale des Services

M. le Professeur Frédéric FLEURY

M. le Professeur Hamda BEN HADID

M. le Professeur Didier REVEL

M. le Professeur Philippe CHEVALIER

M. Fabrice VALLÉE

Mme Dominique MARCHAND

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard

Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles
Mérieux

Faculté d'Odontologie

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation

Département de formation et Centre de Recherche en Biologie
Humaine

Directeur : M. le Professeur G. RODE

Directeur : Mme la Professeure C. BURILLON

Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS

Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA

Directeur : M. X. PERROT

Directeur : Mme la Professeure A-M. SCHOTT

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies

Département Biologie

Département Chimie Biochimie

Département GEP

Département Informatique

Département Mathématiques

Département Mécanique

Département Physique

UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives

Observatoire des Sciences de l'Univers de Lyon

Polytech Lyon

Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique

Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1

Ecole Supérieure du Professorat et de l'Education

Institut de Science Financière et d'Assurances

Directeur : M. F. DE MARCHI

Directeur : M. le Professeur F. THEVENARD

Directeur : Mme C. FELIX

Directeur : M. Hassan HAMMOURI

Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE

Directeur : M. le Professeur G. TOMANOV

Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID

Directeur : M. le Professeur J-C PLENET

Directeur : M. Y.VANPOULLE

Directeur : M. B. GUIDERDONI

Directeur : M. le Professeur E.PERRIN

Directeur : M. G. PIGNAULT

Directeur : M. le Professeur C. VITON

Directeur : M. le Professeur A. MOUGNIOTTE

Directeur : M. N. LEBOISNE

Remerciements

Je remercie vivement Mme Françoise FALSON, professeur à l'Université Claude Bernard Lyon I pour avoir accepté de présider le jury de soutenance de cette thèse. J'exprime mes sincères remerciements à Mme Martine KAMMERER, professeur à l'ONIRIS, et à M. Renaud SCHEIFLER, enseignant-chercheur à l'Université de Franche-Comté, qui m'ont fait l'honneur d'accepter de juger ce travail de thèse en qualité de rapporteurs. De même, je tiens à remercier vivement Mme Anne MAITRE, professeur à l'Université Joseph Fourier Grenoble 1 et M. Michael COEURDASSIER, maître de conférences à l'Université de Franche-Comté pour avoir accepté d'examiner cette étude.

Je tiens à remercier sincèrement mon directeur de thèse, le professeur Philippe BERNY qui m'a accueilli dans son équipe de recherche, qui m'a fait confiance pour mes capacités de chercheur, pour son aide et ses conseils précieux tout au long de cette thèse.

Je remercie sincèrement Monsieur Etienne BENOIT, directeur de l'unité de recherche USC1233, qui a accepté de m'accueillir dans leur unité pour effectuer cette thèse.

Je tiens à remercier chaleureusement Monsieur Charles LEMARCHAND et Monsieur René ROSOUX, qui ont participé dans la collection d'animaux et le prélèvement pour les analyses toxicologiques.

J'adresse également mes remerciements à Monsieur André Chabert, directeur de l'ACTA pour son aide dans les expérimentations des invertébrés.

Je souhaite également exprimer mes remerciements à Madame Danièle Vey, de l'équipe de Toxicologie de VetAgro Sup, Campus vétérinaire de Lyon, pour son aide précieuse dans les analyses toxicologiques.

Je n'oublierai pas adresser mes remerciements à Madame Michèle Bonnet, le secrétariat de laboratoire Toxicologie.

Je souhaite également remercier Stéphane, Julia et Houssam, qui j'ai partagé le bureau.

Je remercie sincèrement mes ami(e)s qui m'ont soutenu tout au long de cette thèse. Je remercie tous mes collègues au Laboratoire Toxicologie de VetAgro Sup.

Je remercie très sincèrement mon oncle Jomaa en Syrie, qui m'a soutenu de venir en France pour faire le doctorat. Merci mon oncle pour les conseils.

Je souhaiterais infiniment remercier mon père et ma mère en Syrie, qui m'ont donné les moyens d'en arriver là. Mes remerciements vont également à mes frères et à mes sœurs, qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours.

En fin, je remercie très chaleureusement mon épouse Maha et ma fille Tasnim, pour leur soutien inconditionnel et leur patience.

Table des matières

LISTE DES TABLEAUX	6
LISTE DES FIGURES	7
LISTE DES ABREVIATIONS	8
LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS.....	9
RESUME.....	10
SUMMARY.....	11
INTRODUCTION.....	12
PREMIERE PARTIE : CONTEXTE GENERAL DE L'ETUDE.....	15
I. LES ESPECES ANIMALES	16
I.1 Loutre d'Europe.....	16
I.1.1 Systématique et morphologie.....	16
I.1.2 Répartition en Europe et en France	16
I.1.3 Reproduction	17
I.1.4 Statut juridique de l'espèce.....	18
I.1.5 Régime alimentaire de la loutre	19
I.2 Grand cormoran	22
I.2.1 Systématique et morphologie.....	22
I.2.2 Répartition en Europe et en France	23
I.2.3 Reproduction	24
I.2.4 Statut juridique de l'espèce.....	25
I.2.5 Régime alimentaire du cormoran	25
I.3 Silure glane.....	27
I.3.1 Systématique et morphologie.....	27
I.3.2 Répartition en Europe et en France	29
I.3.3 Reproduction	29
I.3.4 Statut juridique de l'espèce.....	30
I.3.5 Régime alimentaire du silure	31
I.4 Hérisson d'Europe.....	32
I.4.1 Systématique et morphologie.....	32
I.4.2 Répartition en France et en Europe	32
I.4.3 Reproduction	32
I.4.4 Statut juridique de l'espèce.....	33
I.4.5 Régime alimentaire du hérisson	33

II. ISOTOPES STABLES	35
II.1 Définition des isotopes stables	35
II.2 Utilisation des isotopes stables dans l'étude des réseaux trophiques	36
II.3 Utilisation des AIS pour instituer des lignes de base du réseau trophique	37
III. LES MICROPOLLUANTS.....	38
III.1 Les composés organochlorés (pesticides et polychlorobiphényles).....	38
III.1.1 Définition et toxicologie	38
III.1.2 Contamination de la loutre d'Europe.....	46
III.1.3 Contamination du grand cormoran.....	49
III.1.4 Contamination du silure	51
III.1.5 Contamination des proies comme les poissons	52
III.2 Les éléments traces métalliques (ETM)	53
III.2.1 Définition.....	53
III.2.2 Sources de pollution et toxicologie	54
III.2.3 Contamination de la loutre	59
III.2.4 Contamination du grand cormoran.....	61
III.2.5 Contamination de Silure glane.....	64
III.2.6. Contamination des proies comme les poissons	66
III.3 Les rodenticides anticoagulants	68
III.3.1 Définition et utilisation	68
III.3.2 Mode d'action	68
III.3.3 Contamination des prédateurs par des AVKs.....	69
DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE.....	74
I. MATERIEL ET METHODES	75
I.1 Sites d'étude pour les prédateurs	75
I.2 Collecte des échantillons des prédateurs	75
I.2.1 Loutres.....	75
I.2.2 Cormorans	76
I.2.3 Silures.....	76
I.3 Collecte des échantillons des proies	77
I.3.1 Limaces	77
I.4 Analyse des polluants.....	78
I.4.1 Dosage des pesticides organochlorés et des PCBs	78
I.4.2 Dosage des rodenticides anticoagulants	79
I.4.3 Dosage du plomb, du cadmium et du cuivre	80
I.4.4 Dosage du mercure	81

II. CONTAMINATION DES PREDATEURS AQUATIQUES (LOUTRE, CORMORAN ET SILURE) DE LA FLEUVE LOIRE PAR LES POLLUANTS.....	82
II.1 Objectifs.....	82
II.2 Article n° 1	82
II.3 Données complémentaires	108
III. EXPOSITION DES INVERTEBRES (LIMACES) AUX RODENTICIDES ANTICOAGULANTS AU LABORATOIRE ET SUR LE TERRAIN.....	110
III.1 Objectifs.....	110
III.2 Article n°2	110
IV. DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	135
IV.1 Etude de la contamination des prédateurs piscivores.....	135
IV.2 Transfert de contaminants dans la chaîne alimentaire : le rôle des invertébrés.....	141
IV.3 Contamination des chaînes alimentaires par les polluants.....	143
CONCLUSION	145
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	147

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition de l'alimentation du hérisson.....	34
Tableau 2 : Abondances respectives des isotopes légers et lourds des éléments chimiques : carbone et azote.....	35
Tableau 3 : Composition des PCBs par homologue.....	44
Tableau 4 : Concentrations de composés organochlorés dans les foies du cormoran collectés de plusieurs pays.....	50
Tableau 5 : Caractéristiques chimiques, minerais d'origine du plomb, du cadmium, du mercure et du cuivre.....	54
Tableau 6 : Concentrations moyennes des éléments traces (plomb, cadmium, cuivre et mercure) dans les foies du cormoran.....	64

Liste des figures

Figure 1 : Répartition Européenne de la loutre (Rosoux et De Bellefroid, 2007).....	17
Figure 2 : Régime alimentaire de la Loutre d'Europe dans le bassin de l'Allier.....	22
Figure 3 : Carte de répartition des colonies de grands cormorans en France en 2006 En bleu, colonies côtières, en rouge, colonies continentales (Marion, 2007).....	24
Figure 4 : Proportions des espèces proies dans les régimes alimentaires des Grands Cormorans en Loire-Atlantique durant l'hiver 2002-2003.....	27
Figure 5 : Représentation d'un silure glane (source: www.federationpeche.fr).....	28
Figure 6 : Exemple du réseau trophique de la gravière de Gensac (Tarn et Garonne) pour le mois de septembre 2009.....	37
Figure 7 : Formule développée de DDT.....	40
Figure 8 : Formule développée du lindane (γ -HCH).....	41
Figure 9 : Structure de l'aldrine.....	41
Figure 10 : Structure de dieldrine.....	42
Figure 11 : Structure de l'heptachlore.....	42
Figure 12 : Structure chimique des polychlorobiphényles (PCBs).....	44
Figure 13 : Concentrations moyennes en PCB totaux dans les tissus de poissons (mg/kg poids frais 10^{-3}) et dans les épreintes de loutres (mg/kg lipide) sur 5 sites.....	48
Figure 14 : Sites de prélèvement sur les bassins de la rivière Loire en France.....	77
Figure 15 : Concentration du cadmium dans les prédateurs.....	108
Figure 16 : Concentration du cuivre dans les prédateurs.....	109
Figure 17 : Concentration du mercure dans les prédateurs.....	109

Liste des abréviations

AIS: Analyse des Isotopes Stables

ATSDR: Agency for Toxic Substances and Disease Registry

AVKs: Anti-Vitamin K

ETM: Elements Traces Métalliques

FGAR: First Generation Anticoagulants Rodenticides

HAP: Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques

LMR: Limites Maximales de Résidus

LOD: Limite Of Détection

OC : Organochlorés

ONCFS : Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage

PCBs : Polychlorobiphényles

PCB-NDL : Polychlorobiphényles Non Dioxine-Like

PF : Poids Frais

POC : Pesticides Organochlorés

POP : Polluants Organiques Persistants

PV : Poids Vif

RA : Rodenticides Anticoagulants

SGAR : Second Génération Anticoagulants Rodenticides

TER : Toxicity Exposure Ratio

Liste des publications et communications

Publications

Alomar, H., Lemarchand, C., Rosoux, R., Vey, D., & Berny, P. (2016). Concentrations of organochlorine compounds (pesticides and PCBs), trace elements (Pb, Cd, Cu, and Hg), ^{134}Cs , and ^{137}Cs in the livers of the European otter (*Lutra lutra*), great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and European catfish (*Silurus glanis*), collected from the Loire River (France). *European Journal of Wildlife Research*, 62(6), 653-661.

Alomar, H., Chabert, A., Coeurdassier, M., Vey, D., & Berny, P. (2018). Accumulation of anticoagulant rodenticides (chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum) in a non-target invertebrate, the slug, *Deroceras reticulatum*. *Science of the Total Environment*, 610-611, 576-582.

Communications dans des congrès et posters

Communication orale à la nuit Européenne des chercheurs le 25 septembre 2015 à Vaulx-en-Velin : Résidus des composés organochlorés et le mercure dans les prédateurs.

Communication orale à la colloque de la Société Française d'Ecotoxicologie Fondamentale et Appliquée à Lille, 29-30 juin 2017 : accumulation des rodenticides anticoagulants dans les limaces.

Accumulation of organochlorine compounds (OCP and PCBs), Cd and Hg in livers of otter, cormorant and catfish collected from Loire River, 21^{ème} Journée Scientifique de l'EDISS, Université Claude Bernard Lyon1, 13 Octobre 2016, Lyon. **Poster** (Dans les 6 meilleurs posters).

Résumé

Dans ce travail de thèse, nous avons analysé les résidus des plusieurs contaminants anthropiques dans des prédateurs de la chaîne alimentaire aquatique et des proies de la chaîne terrestre. En effet, la loutre, le grand cormoran et le silure sont prédateurs piscivores au sommet de la chaîne alimentaire, les pesticides organochlorés, les PCBs et les éléments traces métalliques (plomb, cadmium, cuivre et mercure) ont été détectés dans tous les foies de ces prédateurs prélevés dans les bassins de la Loire en France. Les PCBs sont les organochlorés les plus abondants dans les trois espèces, suivi des DDTs. Les valeurs maximales de PCBs ont atteint 1,61, 1,96 et 0,28 mg/kg de poids frais pour les cormorans, les loutres et les silures, respectivement. La concentration du mercure a dépassé la limite toxique pour plus de 40 % des cormorans analysés. L'effet « cocktail » de ces contaminants sur les trois espèces n'est pas étudié dans cette thèse. Cependant, Les concentrations des organochlorés et des éléments traces dans ces prédateurs sont généralement modestes ou faibles. Ainsi, Il nous semble que ces contaminants ne constituent pas une menace pour la conservation de ces espèces à court ou moyen terme. Par ailleurs, dans le réseau trophique terrestre, nous avons trouvé que trois rodenticides anticoagulants la chlorophacinone, la bromadiolone et le brodifacoum s'accumulent dans les limaces de la manière rapide et stable au cours de temps, par contre aucune mortalité n'a été observée chez les limaces. Le brodifacoum a été détecté dans plus de 90 % des limaces prélevées sur le terrain, et nous avons constaté que ces limaces représentaient un risque élevé d'empoisonnement secondaire pour trois de leurs prédateurs, le hérisson européen, la musaraigne commune et l'étourneau sansonnet. On pourrait donc confirmer que les invertébrés constituent une source non négligeable de rodenticides pour leurs prédateurs.

L'objectif de cette thèse est de montrer l'influence du régime alimentaire sur la contamination des prédateurs et d'évaluer les risques toxicologiques pour ces espèces.

Mots clés : Résidus ; Pesticides organochlorés ; Rodenticides ; Prédateurs ; Limaces ; Chaîne alimentaire

Summary

In this work, we analyzed the residues of several anthropogenic contaminants in predators of the aquatic food chain and prey of the terrestrial chain. The otter, the great cormorant and the catfish are piscivorous predators at the top of the food chain. Organochlorine pesticides, PCBs and trace elements (lead, cadmium, copper and mercury) were detected in all these predators collected from the basins of the Loire in France. Residue level of PCBs in these predators was the highest followed by DDTs and maximal PCB values reached 1.61, 1.96, and 0.28 mg/kg wet weight for cormorants, otters, and catfish, respectively. The concentration of mercury exceeded the toxic thresholds for more than 40% of the cormorants analyzed. The possible combined effect of these contaminants on the three species has not been studied in this thesis. However, the concentrations of organochlorines and trace elements are generally modest or low. Thus, it seems that these contaminants do not constitute a major threat to the conservation of these species for the short or medium term. Furthermore, in the terrestrial food chain, we found that three anticoagulant rodenticides chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum accumulate in slugs in a stable way over the time, whereas no mortality was observed in slugs. Brodifacoum was detected in more than 90% of the slugs collected in the field, and we found that these slugs represented a high risk of secondary poisoning for three of their predators, European hedgehog, common shrew and European starling. Therefore, it could be confirmed that invertebrates constitute a non-negligible source of rodenticides for their predators.

The objective of this thesis is to show the influence of the diet on the contamination of predators and to evaluate the toxicological risks for these species.

Key words: Residues; Organochlorine pesticides; Rodenticides; Predators; Slugs; Food chain

Introduction

La révolution industrielle et agricole qui s'est passée au cours du vingtième siècle a entraîné l'augmentation de l'utilisation de divers produits toxiques, sans prise en compte de l'impact sur l'environnement, ou des répercussions sur la santé humaine ou animale. Cela a provoqué une large distribution des polluants dans l'environnement tels que les pesticides, éléments traces métalliques ou d'autres polluants, ce qui facilite leur entrée dans la chaîne alimentaire. La France est un des plus gros consommateurs de pesticides dans le monde, située au 3^{ème} rang mondial, derrière les Etats Unis d'Amérique et le Japon.

Dans les milieux aquatiques, La loutre, le grand cormoran et le silure, prédateurs au sommet de la chaîne alimentaire, sont sensibles à la pollution de l'environnement avec des variations de sensibilité bien entendu. Les substances xénobiotiques tels que les polluants organiques persistants (POPs) dans l'eau des fleuves constituent un large éventail de contaminants, qui se concentrent, par bioaccumulation, dans les tissus, les organes des êtres vivants et, par bioamplification, à travers tous les niveaux trophiques. Ces polluants ont fortement contribué à la menace et au déclin de diverses populations de prédateurs dans le monde entier comme la loutre et le cormoran qui sont protégés par la loi (Kruuk et al., 1997 ; Goutner et al., 2011). Ces prédateurs sont d'ailleurs des espèces bio-indicatrices utilisées dans l'évaluation de la pollution environnementale due aux activités humaines.

Dans les milieux terrestres, Les rodenticides anticoagulants (RAs) sont très largement utilisés dans le monde pour lutter contre les rongeurs, par contre ceux-ci peuvent se transférer dans la chaîne alimentaire, soit directement par l'ingestion d'appâts empoisonnés (exposition primaire) ou indirectement par la consommation de proies contaminées (exposition secondaire) (Lambert et al., 2007). De nombreuses études ont montré l'exposition des prédateurs de mammifères et d'oiseaux aux RAs dans le monde entier, cette exposition a entraîné des intoxications pour des espèces protégées et classées dans la liste rouge de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) comme Milan Royal en Europe (Berny et Gaillet, 2008) et le Puma en Amérique (Riley et al., 2007).

Les invertébrés comme les limaces, représentent peut-être une route potentielle de transfert des RAs dans la chaîne alimentaire et donc la contamination des vertébrés insectivores comme le hérisson, la musaraigne commune et l'étourneau sansonnet (Spurr et Drew, 1999 ; Dowding et

al., 2010), par contre les études sur ce sujet sont rares et l'exposition des invertébrés aux RAs n'a pas bien décrite.

La problématique de la recherche est l'étude du transfert de divers polluants toxiques (pesticides organochlorés, PCBs, rodenticides anticoagulants, radioactifs et éléments traces métalliques) dans la chaîne alimentaire aquatique ou terrestre, et l'analyse des risques pour les prédateurs.

Dans le milieu aquatique, nous avons fait un suivi de terrain pour trois prédateurs piscivores (loutre, grand cormoran et silure) concernant les niveaux de contamination par divers produits toxiques, et concernant aussi de leur position dans le réseau trophique par l'utilisation d'analyse des isotopes stables (AIS). Par ailleurs, dans le milieu terrestre, nous avons étudié l'exposition des proies (limaces) aux rodenticides anticoagulants. Ensuite, on a analysé les risques toxicologiques pour les trois prédateurs piscivores par comparaison aux valeurs toxiques rapportées à la littérature, et on a utilisé le rapport toxicité/exposition pour analyser les risques toxicologiques chez trois prédateurs des limaces (hérisson, musaraigne commune et étourneau sansonnet).

Ainsi, Les objectifs de ce travail sont :

- de déterminer la teneur en contaminants dans les trois prédateurs piscivores (loutre, grand cormoran et silure).
- de démontrer que le transfert alimentaire est une voie d'exposition aux polluants
- d'analyser les risques toxicologiques pour les trois prédateurs piscivores et les trois prédateurs des limaces

Notre première hypothèse posée est que le régime alimentaire est un facteur essentiel de la contamination des prédateurs. La seconde hypothèse est que les proies contaminées présentent un risque pour leurs prédateurs.

Dans le contexte général, pour atteindre nos objectifs nous allons répondre à plusieurs questions :

- Quels sont les niveaux de contamination chez les proies et les prédateurs ?
- Est-ce qu'il y a des risques toxicologiques pour les prédateurs ?
- Est-ce que les invertébrés comme les limaces peuvent jouer un rôle de transfert de contaminants (comme les rodenticides anticoagulants) vers leurs prédateurs ?

Dans ce présent travail, une première partie sera consacrée à l'analyse des données bibliographiques concernant la description des prédateurs, et de leur régime alimentaire et leur contamination par les composés toxiques. Les méthodes et les matériels utilisés seront présentés dans une seconde partie. En fin, une dernière partie présentera les publications dont ces travaux ont fait l'objet, et une discussion générale des principaux résultats ainsi que des perspectives possibles pour envisager une suite à ce travail.

Première partie :
Contexte général de l'étude

I. Les espèces animales

Dans cette partie, je présenterai les trois prédateurs piscivores étudiés dans mon travail (loutre, grand cormoran, silure), et je présenterai aussi le hérisson comme un modèle des prédateurs des limaces étudiés ici.

I.1 Loutre d'Europe

I.1.1 Systématique et morphologie

La loutre d'Europe (*Lutra lutra*) est un mammifère, de l'ordre des Carnivores, de la famille des Mustélidés (sous-famille des Lutrinés). Cette famille regroupe environ 67 espèces, comme la belette, l'hermine, le vison, la marte, le putois et la fouine.

La loutre est un animal au corps allongé et sinueux, à la tête plate portant de petites oreilles arrondies, un museau large et court, muni de vibrisses blanches qui l'aident à la recherche de proies durant la nuit et en eau trouble. Elle possède un pelage ras, épais, imperméable, de couleur brun foncé. Il est composé de poils de bourre et de jarre, ils sont denses et courts (10 à 15 mm), lui assure une protection thermique dans l'eau, tandis que les poils de jarre sont plus longs (25 mm), bruns et moins denses sur lesquels l'eau glisse. En France, la loutre d'Europe mesure en taille moyenne de 119 cm pour les mâles, et 105 cm pour les femelles, dont 30 à 40 cm de queue qui est épaisse au niveau de la base et fine à l'extrémité. Les pattes sont courtes et robustes, munies de 5 doigts comportant des griffes pointues. Le poids moyen est de 8,6 kg pour les mâles, et 6,8 kg pour les femelles (Lemarchand, 2007).

I.1.2 Répartition en Europe et en France

La loutre a disparu dans plusieurs pays européens comme Belgique, Pays-Bas et Suisse, tandis qu'elle est encore présente en Italie, Allemagne, Espagne, Portugal, Ecosse et Grèce (Chanin, 2003 ; Mazet, 2005).

En France, au début du 20^{ème} siècle la Loutre était présente sur la totalité du territoire (sauf en Corse). La loutre a ensuite régressé à partir des années 1930, les premiers signes de déclin sont apparus, premièrement dans l'Est et le Nord de la France, s'étendant progressivement à une grande partie du territoire. A la fin des années 1970, l'espèce n'existait pratiquement plus que dans 12 départements, situés dans le Massif Central et le long de la façade atlantique,

particulièrement sur les têtes de bassin de la Dordogne et de l'Allier (Bouchardy, 2001). Au cours des années 90, une phase de recolonisation s'est amorcée avec notamment une progression en Bretagne et en Loire-Atlantique, la loutre est de nouveau présente dans la Dordogne et dans les bassins de l'Allier, dans le Puy de Dôme et en Haute-Loire. Le mouvement se poursuit toujours et la loutre occupe actuellement une majeure partie du Limousin et de l'Auvergne (Lemarchand, 2007). Par ailleurs, ces dernières années, des signes de retour de la loutre ont été confirmés dans le nord des Alpes (Haute-Savoie et Ain). Elle reste cependant rare ou absente dans les départements limitrophes de Franche-Comté. La figure 1 représente l'état de la répartition de la loutre en Europe.

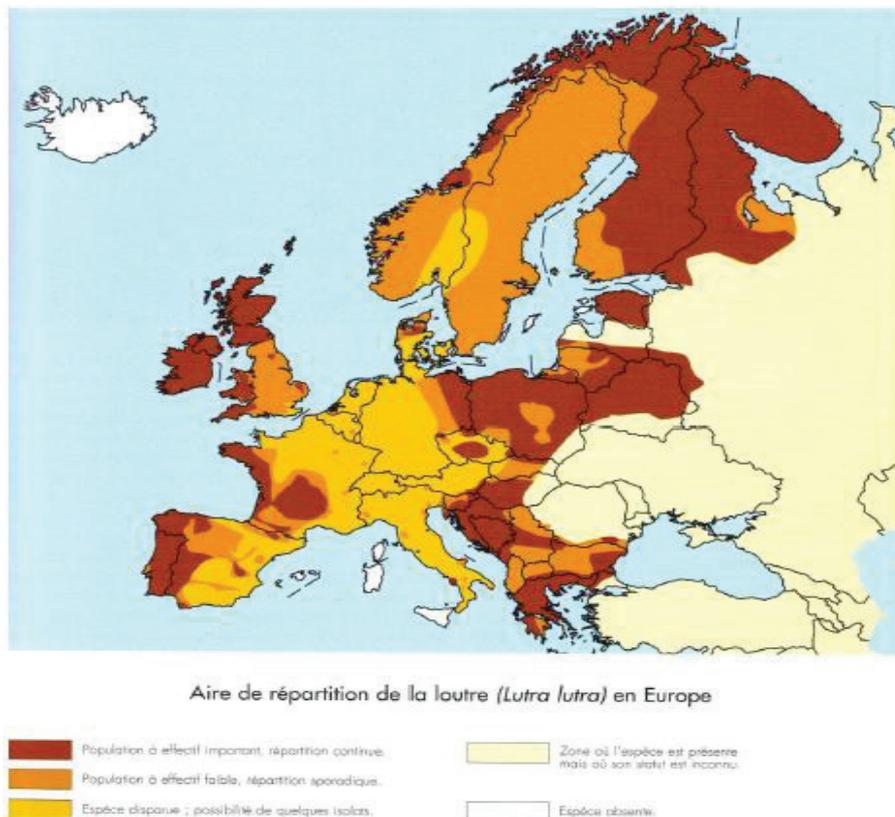


Figure 1. Répartition Européenne de la loutre (Rosoux et De Bellefroid, 2007)

1.1.3 Reproduction

La loutre est une espèce à polyœstrus non saisonnier, c'est-à-dire que la reproduction de cet animal peut intervenir à n'importe quelle période de l'année, la disponibilité de la nourriture

semble un facteur déterminant pour cette reproduction sans relation avec une saison particulière (Lemarchand, 2007).

L'activité sexuelle chez le mâle de la loutre est présente pendant une grande partie de l'année, tandis que chez la femelle, la durée de l'œstrus est environ deux semaines, avec une durée d'intervalle de 30 à 40 jours (Mason et Macdonald, 1986). Le mâle de la loutre atteint la maturité sexuelle à 18 mois environ, à partir de 2 ou 3 ans pour les femelles (Lemarchand, 2007). L'accouplement a souvent lieu dans l'eau et dure une demi-heure. La durée de la gestation est de 60 à 62 jours (Mason et Macdonald, 1986 ; Capber, 1997). Les femelles mettent bas de un à deux loutrons, rarement trois. Ceux-ci restent avec leur mère pendant une période d'environ 8 mois à un an. A la naissance, les jeunes pèsent moins de 100 g, leurs yeux sont fermés, les ouvrent vers 30 à 35 jours.

I.1.4 Statut juridique de l'espèce

En France, l'interdiction de chasse et de destruction a été décrétée en 1972, l'arrêté ministériel du 17 avril 1981 décrète sa protection intégrale. La loutre figure à l'annexe I de la convention de Washington (CITES) de 1973 sur le commerce des espèces en déclin, ainsi qu'à l'annexe II des espèces strictement protégées de la convention de Berne qui est signée le 19 septembre 1979, cette annexe II interdit notamment : toute forme de capture intentionnelle, de détention et de mise à mort intentionnelle ; la destruction intentionnelles des sites de reproduction ; la perturbation intentionnelle de la faune sauvage, notamment durant la période de reproduction ; la détention et le commerce interne de ces animaux, vivants ou morts, y compris des animaux naturalisés, et de tout produit, facilement identifiable, obtenu à partir de l'animal. La Directive Européenne concernant "Habitats-Faune-Flore" de 1992 a donné double protection de l'espèce (Annexe IV) et de ses habitats (Annexe II).

Ainsi La protection légale a *in extremis* sauvé l'espèce. Par ailleurs, quelques pays européens comme l'Espagne et la Grande-Bretagne ont choisi de provoquer la recolonisation par des opérations de renforcement de populations ou de réintroductions, l'intervention dans ce processus naturel n'a pas été appliquée en France (Bouchardy et al., 1992 ; White et al., 2003 ; Lemarchand, 2007), par contre une seule expérience de réintroduction de quelques individus de la loutre européenne a été tentée en Alsace en 1998, ces individus ont été régulièrement suivies par télémétrie (Mercier, 2004).

I.1.5 Régime alimentaire de la loutre

Les contaminants anthropiques se transfèrent principalement vers les prédateurs par les aliments, il est donc nécessaire de connaître les modes d'alimentation des prédateurs et leur régime alimentaire, afin de bien comprendre une façon de contamination des prédateurs à partir de leurs proies ainsi que la comparaison des niveaux d'accumulation des substances xénobiotiques dans les tissus des prédateurs.

Les loutres se nourrissent principalement de poissons, mais elles consomment aussi des amphibiens, des reptiles, des petits mammifères, des oiseaux et des invertébrés. Le régime alimentaire de la loutre se comporte 70 à 90 % de poissons, mais on voit qu'il y a des variations saisonnières, cela dépend aussi de la disponibilité des proies.

Le régime alimentaire de la loutre a été décrit par plusieurs études (Libois, 1995 ; Lanszki et al., 2006 ; Lemarchand, 2007). Selon des études menées en France dans le Massif Central et dans les Marais de l'Ouest (Libois, 1995), les salmonidés sont les proies les plus importantes de la loutre dans les milieux oligotrophes, leur quantité ingérée atteint plus de 80 % de la biomasse totale, elles complètent leur régime alimentaire par des vertébrés homéothermes (mammifères et oiseaux). Puis, les cyprinidés sont les proies les plus consommées dans les zones mésotrophes, leurs quantités étaient entre 75 à 80 % de la biomasse totale ingérée par la loutre (Libois, 1995), le régime alimentaire de la loutre repose principalement sur les anguilles dans les milieux eutrophes selon l'étude précédente en France.

En Hongrie, Lanszki et Sallai (2006) ont étudié le régime alimentaire dans trois habitats différents de la rivière Drava dans le sud-ouest de la Hongrie pendant une période de 2 ans. En effet, les poissons étaient les proies les plus consommées par la loutre dans les trois sites étudiés, la moyenne de leur proportion atteint 89.8 %, les autres proies sont constituées par des oiseaux 3,9 % (principalement des anserinaes et rarement de petits passereaux), des mammifères 0,5 % correspondent à des rongeurs (rat musqué *Ondatra zibethicus*, grand campagnol *Arvicola terrestris* et mulot *Apodemus sp*), 5,6 % des reptiles (surtout des Colubridae) et des amphibiens particulièrement les grenouilles (*Rana sp*) et en fin des invertébrés (0.1 %). Par ailleurs, la différence de taxons nourriture était significative concernant les trois habitats de la rivière Drava. Les loutres préféraient principalement consommer des poissons des espèces suivantes : gibel carpe (*Carassius auratus gibelio*), l'ablette (*Alburnus alburnus*), le gardon (*Rutilus rutilus*) et la barbotte brune (*Ictalurus nebulosus*). Ils ont aussi observé que la taille des poissons consommés

était généralement faible (85,6 %) en dessous de 100 g en poids, tandis que les loutres ont rarement pris des poissons pesant plus de 500 g. Ce résultat est en accord avec la plupart des études qui ont indiqué que les loutres se nourrissent principalement de poissons de petite taille (Kloskowski, 1999 ; Taaström et Jacobsen, 1999 ; Lanszki et al., 2001 ; Ruiz-Olmo et al., 2001 ; Copp et Roche, 2003). La consommation de poissons la plus élevée est en hiver et la plus basse en été. Par ailleurs, Les habitudes alimentaires des loutres différaient dans les types d'habitats (rivière ou backwater), il y avait des différences significatives entre les habitats des loutres concernant les types des poissons consommés (Lanszki et Sallai, 2006).

Dans les travaux menés en Irlande, les premières études ont suggéré que la loutre est considérée comme un «spécialiste du poisson» (Mason et Macdonald, 1986) mais au cours des années, il a semblé que le régime alimentaire de la loutre dépend d'une grande diversité de proies en fonction de leurs disponibilités (Kruuk, 1995 ; Carss et Nelson, 1998 ; Ottino et Giller, 2004), la fréquence de pourcentage des poissons, des écrevisses, des oiseaux et des proies diverses était variée selon les régions dépendant de leur disponibilité, les salmonidés étaient généralement les poissons les plus importants dans le régime de la loutre, ensuite l'anguille d'Europe et les épinoches concernant les rivières de la nord-ouest, ouest et sud-ouest d'Irlande (O'Sullivan, 1994 ; Ottino et Giller, 2004 ; Bailey et Rochford, 2006 ; Preston et al., 2006 ; Preston et al., 2007). En effet, les salmonidés sont les proies les plus importantes de la loutre dans les rivières de la nord-ouest, ouest et sud-ouest, tandis que les loutres se sont particulièrement nourries avec des écrevisses dans les régions centrales de l'Irlande (Reid et al., 2013). De plus, les oiseaux qui ont été détectés dans l'alimentation des loutres comprennent des Anseriformes, Columbiformes, Passeriformes et Rallidés (O'Sullivan, 1994), parmi les mammifères, les auteurs ont indiqué que Mulot sylvestre (*Apodemus sylvaticus*), le Campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*), le rat brun (*Rattus norvegicus*) et le lapin (*Oryctolagus cuniculus*) sont inclus dans le régime alimentaire de la loutre en Irlande (Breathnach et Fairley, 1993 ; O'Sullivan, 1994 ; Preston et al., 2006). La fréquence d'occurrence des poissons a augmenté pendant l'hiver en comparaison avec les autres proies comme les écrevisses qui semblent moins importantes pendant cette période de l'année, cela provient probablement de leur niveau d'activité inférieur dans l'eau froide (Breathnach et Fairley, 1993 ; Reid et al., 2013). Les grenouilles rousses (*Rana temporaria*) sont prises plus souvent (17 %) en fin d'hiver et au début du printemps en raison de leurs agrégations saisonnières pendant la période de frai (Ottino et Giller, 2004).

Taastrom et Jacobsen (1999) ont étudié le régime alimentaire de la loutre au Danemark dans le milieu lacustre et dans la rivière. En effet, la fréquence d'occurrence des poissons a atteint 76 à 99 % du régime alimentaire total, les résultats obtenus ont indiqué que la loutre a des préférences pour les cyprinidés (gardon *Rutilus rutilus*) et les salmonidés (truite fario *Salmo trutta fario*) en milieu lacustre, et les percidés (perche commune *Perca fluviatilis*, grémille *Gymnocephalus cernuus*) en rivière. Les loutres ont majoritairement consommé un autre type de proies qui sont les amphibiens, leur proportion dans le régime était de 4 à 23 %.

En France, Lemarchand (2007) a étudié le régime alimentaire de la loutre d'Europe dans 5 sites du Massif Central (figure 2), les résultats obtenus ont montré que toutes les catégories de proies disponibles dans les différents milieux sont représentées. En effet, les poissons sont les proies les plus consommés par la loutre, leur fréquence d'occurrence relative atteint près de 80 %, et ils représentent près de 90 % de la biomasse totale ingérée. Concernant les poissons, les cyprinidés et les salmonidés étaient les familles les plus abondantes dans le régime alimentaire de la loutre, leur fréquence d'occurrence relative étant élevée 38,3 et 26,4 % respectivement). Parmi les cyprinidés, le goujon (*Gobio gobio*), le chevaine (*Leuciscus cephalus*) et le barbeau (*Barbus barbus*) sont les espèces les plus consommées. Parmi les salmonidés, la truite commune (*Salmo trutta fario*) représente le tiers (32,0 %) de la biomasse totale ingérée par la loutre pour l'ensemble de la zone d'étude. Concernant les autres espèces des poissons utilisés par la loutre, la perche-soleil (*Lepomis gibbosus*), la loche franche (*Barbatula barbatula*) et le brochet (*Esox lucius*) ont été identifiés, par contre leurs proportions sont faibles (0,9 %, 0,8 % et 0,2 % de la biomasse totale ingérée, respectivement). Par ailleurs, les amphibiens et les crustacés constituent 3,5 % et 3,2 % de la biomasse ingérée au cours de la période d'étude, respectivement, les espèces d'amphibiens capturées ont principalement été le crapaud commun (*Bufo bufo*), la grenouille rousse (*Rana temporaria*) et la grenouille verte (*Rana sp.*). Les crustacés capturés représentent les écrevisses allochtones qui s'appellent Américaine (*Orconectes limosus*) et la Louisiane (*Procambarus clarkii*), les crustacés de petite taille (*Asellus sp.*, *Gammarus sp.*) ont également parfois été retrouvés, mais en quantités très faibles.

Les oiseaux, les mammifères et les reptiles sont composés 1,8 %, 1,5 % et 1,1 % respectivement, de la biomasse totale ingérée par la loutre. Les mammifères chassés sont des rongeurs (*Arvicola sp.*, *Rattus sp.*, *Ondatra zibethicus*) et les oiseaux trouvés étaient des Rallidés (*Gallinula chloropus*).

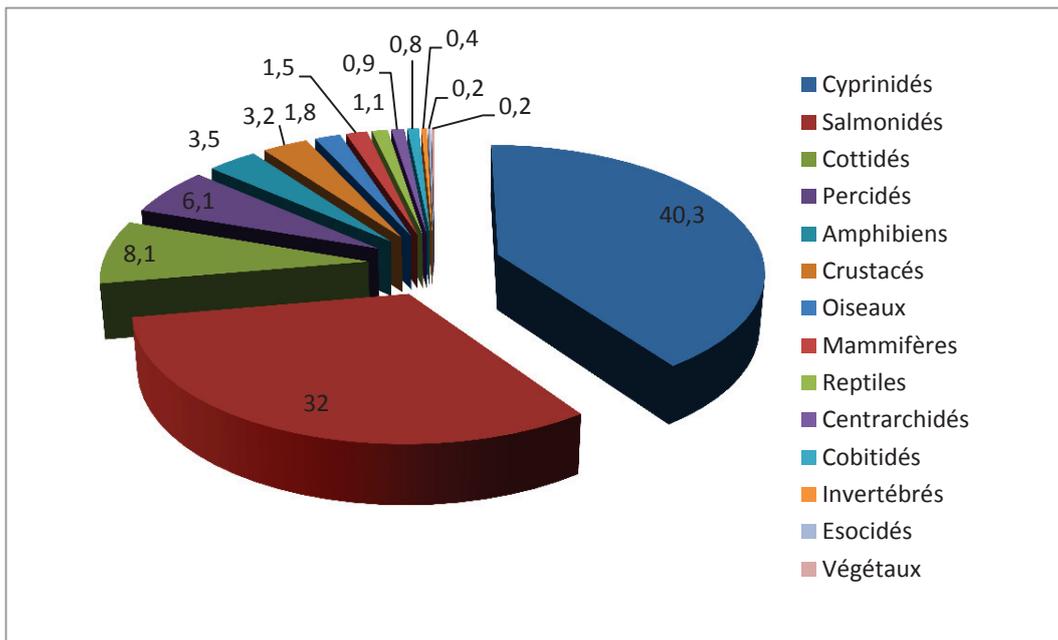


Figure 2. Régime alimentaire de la Loutre d'Europe dans le bassin de l'Allier (Lemarchand, 2007)

1.2 Grand cormoran

1.2.1 Systématique et morphologie

Le grand cormoran est un oiseau aquatique piscivore, de l'ordre des Péléciformes, de la famille des Phalacrocoracidae, le grand cormoran adulte est généralement un oiseau noir à la silhouette caractéristique, ses pattes sont entièrement palmées, le bec est fort et ne fait pas d'angle avec le dessus de la tête. La longueur du corps (de la pointe du bec à l'extrémité de la queue) est en moyenne 90 cm, tandis que l'envergure est en moyenne 1,5 mètre, il pèse entre 1,3 et 3,1 kg. Les femelles sont légèrement plus petites et plus légères que les mâles.

En janvier, les cormorans adultes obtiennent leur plumage nuptial où les joues et la gorge sont blanches, des filoplumes blanches apparaissent sur la tête et sur la nuque. Des taches blanches apparaissent sur les flancs, en haut des cuisses. Les individus immatures sont identifiés par leur ventre blanc et différentes taches sombres (Baker, 1993 ; Przybysz, 1997).

Le grand cormoran (*Phalacrocorax carbo*) comprend deux sous-espèces reconnues en Europe : *Phalacrocorax carbo carbo* et *Phalacrocorax carbo sinensis*. La distinction entre les deux sous-espèces est difficile.

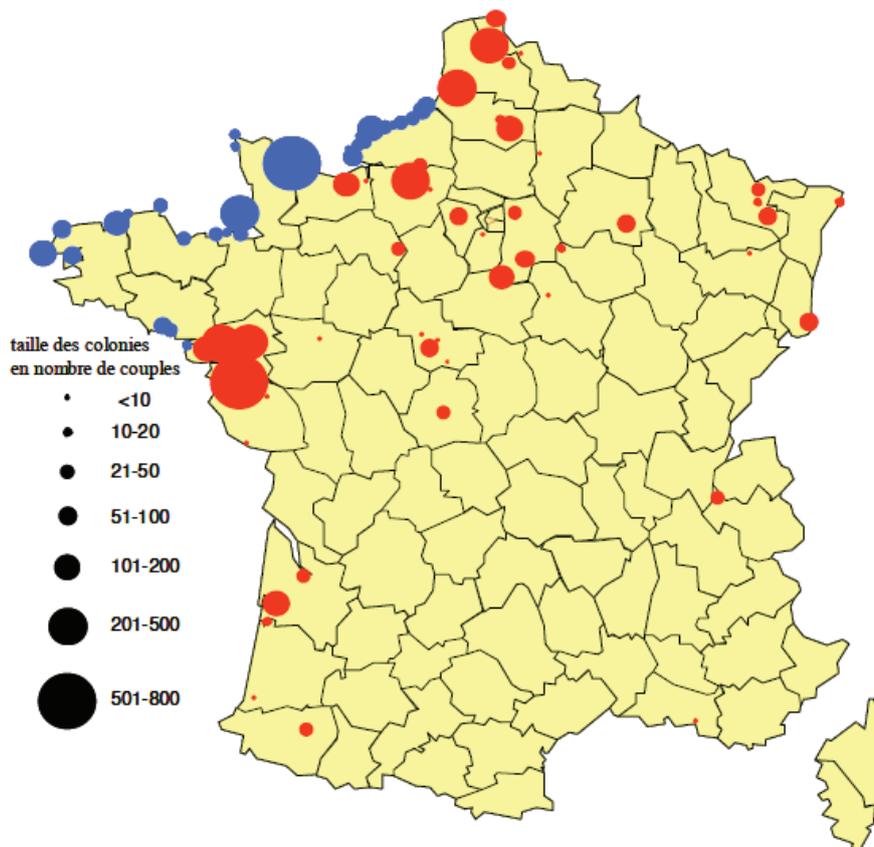
I.2.2 Répartition en Europe et en France

Le Grand Cormoran a une répartition mondiale, à l'exception de l'Amérique du Sud (Johnsgard, 1993). On distingue cinq sous-espèces dont deux concernent directement la France (*Ph.c. sinensis* et *Ph.c. carbo*). En Europe de l'ouest, au début des années 1970, il y avait 5300 couples pour *Phalacrocorax carbo sinensis*, localisés principalement aux Pays Bas et au Danemark, tandis que *Phalacrocorax carbo carbo* comptait 22500 couples répartis en Norvège, Grande Bretagne, Irlande et côtes nord de la France (Van Eerden et Gregersen, 1995 ; Marion, 1997), en France le Grand cormoran a bénéficié de mesures de protection prises en 1976 (Loi n° 76-629 du 10 juillet 1976, relative à la protection de la nature (J.O. du 13 juillet 1976)). Ces mesures ont été renforcées par la suite au niveau européen par le classement de *Ph.c.sinensis* à l'annexe I de la Directive Oiseaux de 1979.

La France est le pays d'Europe le plus important pour l'hivernage du cormoran et sert aussi d'étape migratoire pour les cormorans hivernant en péninsule Ibérique. Les populations hivernantes de cormorans (les deux sous-espèces) ont fortement augmenté en Europe continentale, et particulièrement en France, à partir des années 80, passant de 14000 individus en 1981 à 89183 en 2003 (Marion, 2003), et 99270 cormorans en 2007 (Marion, 2007).

Cette population hivernante croissante a entraîné des installations d'oiseaux nicheurs en milieu dulçaquicole continental, avec une première installation au lac de Grand-Lieu en 1981 (Marion, 1983), puis sur la Seine et la vallée de la Somme au début des années 1990. La population nicheuse française de cormorans atteignait environ 6050 couples en 2006 répartis dans 77 à 79 colonies qui sont dans le tiers nord de la France, au nord d'une ligne allant de l'Alsace à la Loire Atlantique (figure 3), dans la colonie du Teich (près du bassin d'Arcachon), d'Artix dans les Pyrénées Atlantiques et une colonie en Savoie (Marion, 2007). La population côtière de cormorans répartie sur 6 départements en Normandie et en Bretagne, atteint en 2006 environ 1956 couples nicheurs répartis dans 31 ou 32 colonies, contre 2122 couples répartis dans 38 colonies en 2003 (Marion, 2007). En 2006, la population continentale de cormorans atteint environ 4094 couples répartis dans 46 ou 47 colonies, contre 2807 couples répartis en 34 colonies en 2003, cette population continentale a occupé 28 départements en 2006 contre 19 en 2003, mais reste cantonnée à la moitié nord de la France.

Cette forte augmentation a suscité des craintes de la part des pisciculteurs et des pêcheurs professionnels en raison de l'impact potentiel de ces cormorans piscivores sur leurs activités.



*Figure 3. Carte de répartition des colonies de grands cormorans en France en 2006.
En bleu, colonies côtières, en rouge, colonies continentales (Marion, 2007)*

I.2.3 Reproduction

La saison de nidification varie selon la localisation géographique : elle peut avoir lieu à n'importe quel moment de l'année, avec un pic d'occupation de la fin du mois d'avril au début du mois de mai à l'hémisphère nord (Debout, 1988). Le grand cormoran est une espèce grégaire et forme des colonies lors de nidification, comprenant de 10 à 500 couples ou plus, la taille dépend de la superficie des zones de pêche disponibles (Debout, 1987), le nid est installé sur les falaises, des arbres, sur les côtes comme à l'intérieur des terres. Chaque année le cormoran construit de gros nids qu'il ne réutilise pas. La femelle dépose normalement trois à six œufs avec un intervalle de 2 à 3 jours. La période d'incubation est de 23 à 31 jours. Les mâles et les femelles partagent l'incubation ainsi que le soin des poussins. Le niveau habituel de succès de la reproduction est de

deux à trois poussins par paire. L'envol se produit à cinq semaines, la mortalité du grand cormoran est élevée la première année. La maturité sexuelle est atteinte à l'âge de 3 ou 4 ans avec des variations selon les colonies.

1.2.4 Statut juridique de l'espèce

En Europe, la sous-espèce du grand cormoran (*Phalacrocorax carbo sinensis*), ainsi que la sous-espèce (*Phalacrocorax carbo carbo*) sont protégées dans tout l'espace européen par la Directive oiseaux de 1979 puis au titre du régime général de protection de toutes les espèces d'oiseaux visées à l'article 1^{er} de la directive 2009/147/CE du 30 novembre 2009 parmi la conservation des oiseaux sauvages. Le grand cormoran est inscrit à l'annexe III de la convention de Berne. Par ailleurs, des autorisations de tirs de régulation du grand cormoran ont été accordées dans plusieurs pays européens, dont la France pour protéger les piscicultures ou des espèces de poissons protégées vivant en eaux libres et qui sont menacées par la prédation du grand cormoran. Ces dérogations sont cadrées par la loi, des quotas sont fixés par le ministre pour chaque département et ces opérations sont suivies par une commission départementale placée sous l'autorité des préfets.

1.2.5 Régime alimentaire du cormoran

Le grand cormoran est un prédateur opportuniste, qui se nourrit exclusivement de poissons sans aucune préférence particulière dans les espèces de proies, il choisit les proies les plus faciles et les plus nombreuses à attraper (Przybysz, 1997). Il chasse individuellement ou en groupe. Le type et la proportion des espèces consommées varient effectivement en fonction de différents paramètres tels que l'habitat (lacs eutrophes ou non, rivières salmonicoles ou cyprinicoles), la saison, les caractéristiques bathymétriques de la zone de pêche, le comportement des proies, l'âge des cormorans, etc (Dirksen et al., 1995 ; Suter, 1997).

En Pologne, plusieurs études ont indiqué que le régime alimentaire du cormoran se compose essentiellement de poissons des familles Cyprinidés et Percidés : la grémille (*Gymnocephalus cernuus*), la perche (*Perca fluviatilis*) et le gardon (*Rutilus rutilus*), et plus rarement la tanche (*Tinca tinca*) et le carassin argenté (*Carassius gibelio*). De plus, des poissons d'autres familles sont également consommés, comme l'éperlan (*Osmerus eperlanus*) et le hareng (*Clupea harengus*) en zone marine (Stempniewicz et Grochowski, 1997 ; Martyniak et al., 2003 ; Stempniewicz et al., 2003). La disponibilité des poissons varie selon les saisons. Par exemple

pendant la période de février à début avril, les cormorans pêchent des petits Percidés et Cyprinidés, comme la grémille, le gardon et la brème (Bzoma et al., 2003). Au début de la saison de reproduction chez les poissons, le hareng devient la proie la plus consommée par le cormoran en zone côtière car ces poissons deviennent plus faciles à capturer pendant leur frai (Kanarek et Rolbiecki, 2006).

Dans une autre étude menée en Pologne, Martyniak et al. (2003) ont trouvé que le régime alimentaire de grand cormoran se composait de grémille (74,6 %), éperlan (11,6 %), perche (6 %), gardon (3,7 %), hareng (1,2 %) et des autres espèces <1 %.

Dans une étude sur la rivière de la Meuse en Belgique, Evrard et Tarbe. (2002) ont trouvé que le régime alimentaire hivernant du grand cormoran était constitué essentiellement de Cyprinidés qui sont le Gardon (*Rutilus rutilus*) (33,9 %) et le Goujon (*Gobio gobio*) (24,2 %), ensuite les Percidés avec principalement la Grémille (*Gymnocephalus cernuus*) (16,9 %) et la Perche (*Perca fluviatilis*) (11,8 %). L'abondance du Gardon dans le régime alimentaire peut être facilement expliquée car ce poisson est l'espèce la plus fréquemment rencontrée où le cormoran se nourrit principalement d'espèces caractérisées par de fortes densités.

En France, Libois. (2001) a étudié le régime alimentaire du grand cormoran dans les eaux intérieures du Pas-de-Calais. En effet, le Gardon est en tête des poissons prélevés par le cormoran, c'est la proie la plus régulière, la plus abondante et celle qui représente la masse la plus importante. Il est suivi mais de loin par la Brème commune. Ces deux dernières espèces constituent ensemble près de 75 % du régime du cormoran, que ce soit en fréquence ou en masse. La Perche est assez commune et elle est présente dans 25 % des estomacs mais la biomasse qu'elle représente est faible, de l'ordre de (5 %). D'autres proies sont présentes comme l'Ablette mais irrégulièrement. En biomasse, les salmonidés représentent plus de 10 % du total consommé. Il semble donc que le type de régime du grand cormoran dans le Pas-de-Calais, est largement dominé par les Cyprinidés (Libois, 2001), ce qui est habituellement trouvé sur les eaux intérieures (Veldkamp, 1995 ; Ventard, 1997).

Dans une autre étude menée en Loire-Atlantique en France, Fonteneau et al. (2004) ont analysé le contenu de 17 estomacs de cormoran, 13 entre eux comportaient des poissons. Les Gardons, les Brèmes et les Poissons chats sont les proies les plus abondantes. La Perche franche est présente dans seulement 2 des 13 estomacs (15%). Le Gardon (44%) est numériquement la proie la plus présente dans le régime du cormoran, ensuite le Poisson-chat (28%) et la Carpe

(14%), tandis que les Poissons chats constituent la biomasse la plus forte (40%), suivis par les Brèmes (31%) (figure 4). De plus, la prédation du cormoran sur les salmonidés et l'Anguille reste très faible (Fonteneau et al., 2009).

Selon les études précédentes, on trouve ainsi que le régime alimentaire du cormoran est constitué principalement des poissons de la famille Cyprinidés (par exemple, le Gardon et la Brème) et Percidés (par exemple, la Perche et la grémille).

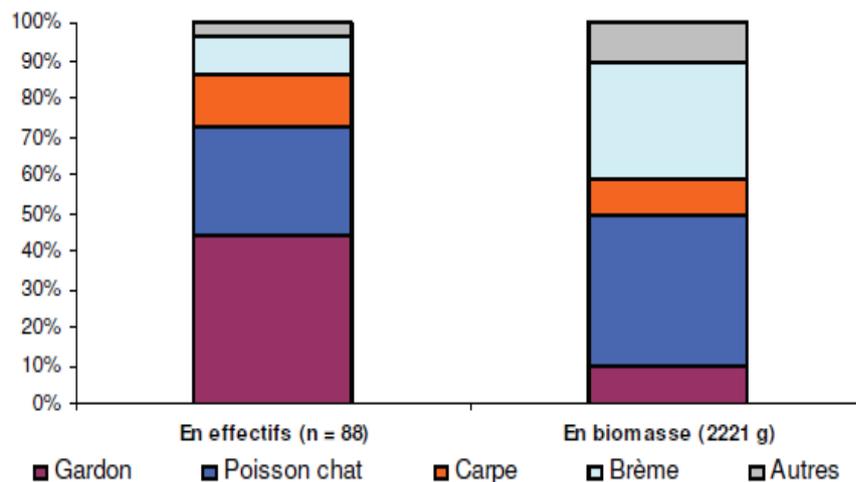


Figure 4. Proportions des espèces proies dans les régimes alimentaires des Grands cormorans en Loire-Atlantique durant l'hiver 2002-2003

I.3 Silure glane

I.3.1 Systématique et morphologie

Le silure glane (*Silurus glanis*) est de la famille des Siluridae, cette famille comprend 12 genres et environ 100 espèces dans le monde, il existe deux espèces de silure dans les eaux intérieures européennes : (1) *S. glanis* (2) *S. aristotelis*. Le silure glane est le plus répandu en Europe où il a été introduit dans nombreux pays européens, dont la France, l'Italie, le Pays-Bas, l'Espagne et le Royaume-Uni et aussi le seul représentant de la famille des Siluridae en France (Britton et al, 2007 ; Carol et al, 2007 ; Copp et al, 2009). Le silure glane est aussi l'un des plus grands poissons des eaux douces européennes (figure 5), il est originaire de l'est d'Europe et Asie occidentale. Seule autre espèce européenne de ce genre, *Silurus aristotelis* est confiné au nord-

ouest de la Grèce. Les autres espèces connues sont essentiellement représentées en Asie Centrale et du sud-est.

Le corps du silure glane est allongé, large et trapu dans sa partie antérieure, aminci et comprimé latéralement dans sa partie postérieure. La nageoire dorsale est très réduite contrairement à la nageoire anale qui est particulièrement longue. La tête du silure glane est large, forte et aplatie dont la mâchoire est ornée de petites dents en cadres sur les intermaxillaires, la mandibule, le vomer et les pharyngiens. Ces dents forment des râpes et sont orientées vers l'intérieur de la gueule. Sa bouche est munie de six barbillons, deux très longs sur la mâchoire supérieure et quatre plus courts sur la mandibule, sont des organes tactiles et olfactifs qui lui permettent de goûter l'eau et le substrat (Brusle et Quignard, 2001 ; Valadou et al., 2007). Les yeux sont petits et possèdent une faible capacité visuelle, largement compensée par une excellente perception sensorielle acoustique. La peau du silure glane n'est pas recouverte d'écailles mais sécrète un abondant mucus en guise de protection.

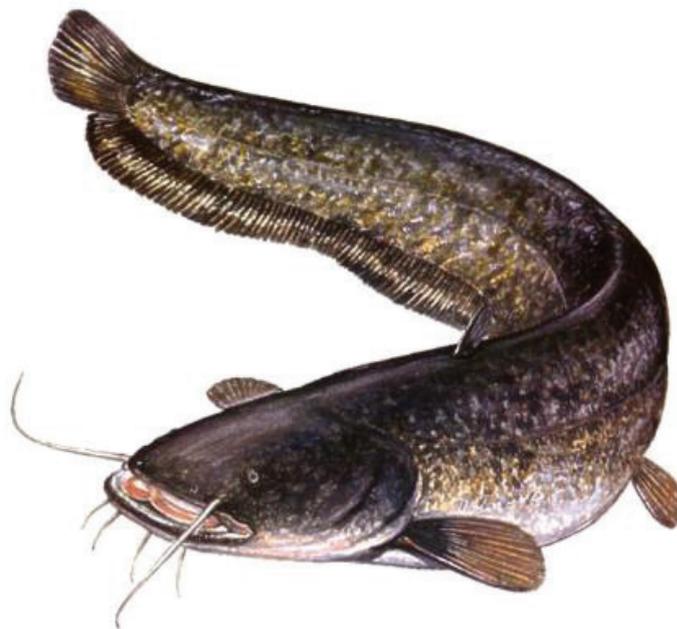


Figure 5. Représentation d'un silure glane (source: www.federationpeche.fr)

I.3.2 Répartition en Europe et en France

Les silures glanes sont aujourd'hui présents en Europe Centrale et en Europe de l'Est, depuis le Bassin du Rhin à l'Ouest, jusqu'aux bassins des mer Noire, Caspienne, d'Azov et d'Aral au Sud (SAAT, 2003). Les populations de silure glane se trouvent dans les pays du Nord de l'Europe, en Suède, aux Pays-Bas et en Belgique (Nathanson, 1987). En Espagne, le silure glane est présent dans l'Ebre, entre Saragosse et la Méditerranée depuis 1972. Cette espèce s'est établie dans le fleuve Pô en Italie au cours des années 1970 (Portrat, 1998).

En France, il semble que la famille des Siluridae a disparu durant de longues périodes géologiques. En effet, cette famille réapparaît, seulement en 1857 sous le nom de *Silurus glanis* : sur une branche du canal Rhin-Rhône (Proteau et al., 1993).

En 1968, des petits silures glanes ont été trouvés dans la rivière de la Sône morte. Ensuite cette espèce était présente de plus en plus importante dans la Saône (Cemagref et C.S.P. 1987). Au début des années 1970, le silure glane est apparu dans la Loire où la Loire et la Saône sont reliées par le canal du Centre. A la fin des années 1980, les silures glanes ont colonisé un grand nombre d'affluents de la Loire (Damien, 1996). Le silure glane est ensuite apparu dans le Rhône dans les années 1990 (Carrel et al. 1995). Plusieurs essais ont été effectués pour introduire cette espèce sur le territoire français par l'utilisation des canaux trans-bassins. A la fin des années 1980, la population de silure glane de la Saône était considérée comme stable (Cemagref et C.S.P. 1987), par contre les populations de silure glane ont progressé dans l'ensemble des grands bassins et particulièrement sur ceux de la Loire et de la Garonne après 1995. Au cours de temps, le silure glane est aujourd'hui capturé dans des cours d'eau de taille plus modeste (CSP, 2004).

I.3.3 Reproduction

La reproduction du silure glane est annuelle et ne peut intervenir que si la somme des températures annuelles est suffisante. L'âge de maturité sexuelle varie selon la zone géographique et le sexe, comprise généralement entre 3 et 5 ans. La température de l'eau et l'abondance de la nourriture sont les principaux facteurs influents sur l'âge de maturité sexuelle (Alp et al., 2004). Dans les conditions environnementales optimales, le taux de maturation sexuelle est lié au taux de croissance (Orlova, 1988). La reproduction commence par la migration des silures vers les zones de frai dès que la température de l'eau atteint 8 à 10°C. Une température de 20 à 22°C est ensuite nécessaire afin de commencer le frai (Shikhshabekov,

1978), elle ne doit pas descendre sous 18°C pendant 3 à 4 jours, et donc selon les régions, la période de frai est entre fin avril et fin juillet (généralement 2 à 3 mois). Le milieu de reproduction est au bord des rivières où les racines des végétaux et les plantes aquatiques vont fournir une protection aux œufs (Lelek, 1987), cependant lorsque le milieu ne présente pas d'endroit approprié, le mâle peut construire un nid à même le sédiment pour accueillir les œufs. Le frai se passe généralement la nuit et la ponte intervient pendant une parade nuptiale où le mâle féconde directement les œufs (Planche, 1987). Le diamètre des œufs varie de 1,9 à 3 mm et le silure glane peut produire de 20000 à 30000 œufs/kg de femelle, Durant la période de développement des œufs, c'est le mâle qui va garder le nid et assurer la ventilation par des mouvements de nageoire. L'embryogenèse dure 50 à 70 degrés-jours (2,7 jours après une ponte à 22°C) et la phase larvaire dure 4 à 5 jours (Saat, 2003). Dès leur éclosion, les larves vont rester fixées sur les racines du secteur de ponte pendant 4 à 5 jours avant de nager librement.

1.3.4 Statut juridique de l'espèce

Le statut juridique du silure glane dépende de plusieurs facteurs, par exemple, la présence de cette espèce dans le milieu aquatique naturel ou introduction par l'intervention humaine, est-ce que cette présence peut être ancienne ou relativement récente? La dispersion en dehors de son aire de distribution naturelle.

A l'échelle de l'Europe, le silure glane est considéré comme globalement menacé compte tenu des risques sur l'espèce dans son milieu naturel (destruction d'habitats par dragages et canalisation, aménagements divers sur les cours d'eau, pollution par les éléments traces métalliques) ou par une pêche excessive. Cela est classé dans l'Annexe III "Espèces de Faune Protégées" de la convention de Berne relative à la conservation de la vie sauvage et du milieu en Europe (Fiers et al. 1997). Il est protégé par la loi en Estonie (SAAT, 2003) et en Grèce (Bobori et al. 2001) où il est classé espèce autochtone « en danger ». Dans les pays où il est menacé (Finlande, Suède, Pays-Bas et Suisse), la protection du silure impose la protection et la restauration des milieux où l'espèce subsiste.

En France, le silure glane est une espèce introduite dans les bassins français, hors celui du Rhin où ses populations se maintiennent naturellement et sa répartition géographique se continue. L'augmentation de son aire de répartition, dans des bassins où il n'était pas déjà présent (introduction par l'homme). Même si le silure glane se reproduise naturellement dans les cours

d'eau français, on ne peut lui conférer le terme de « naturalisé » qui implique pour l'espèce intégrée aux communautés résidentes.

I.3.5 Régime alimentaire du silure

Le silure glane est au sommet de la chaîne alimentaire dans l'écosystème, et peut être utilisé comme un bioindicateur pour le niveau de contamination dans l'eau (Cheng et al., 2006). Le silure est connu pour son régime alimentaire présentant un large spectre de proies. En effet, c'est un poisson opportuniste, qui peut se nourrir aux interfaces des écosystèmes (marin, dulçaquicole, terrestre).

Le régime alimentaire du silure glane dépend souvent de son âge et des espèces disponibles dans son habitat. En Espagne une étude a été effectuée dans la rivière de l'Ebre et la rivière du Ter, Carol et al. (2009) ont montré que les silures qui mesurent moins de 30 cm consomment principalement des invertébrés, un certain nombre d'espèces de poissons étaient aussi présents dans les estomacs des silures précédents mais la carpe commune (*Cyprinus carpio*) et les oiseaux étaient seulement présents dans les silures les plus grands (> 120 cm).

En France, Copp et al. (2009) ont indiqué que la composition de son régime change légèrement avec l'âge, le régime alimentaire des juvéniles (4-7 cm TL) est varié mais il est parfois exclusivement composé d'invertébrés, il pourrait également être composé d'organismes benthiques. Parmi les silures adultes, il y a une diversité dans son régime qui est principalement composé de poissons, les espèces de la famille des cyprinidés étaient des proies importantes dans la plupart des études comme l'étude de Syvaranta et al. (2010). Au moins 47 espèces de poissons ont été aussi identifiées, y compris les poissons d'eau douce ou migrateur, par exemple, Anguille européenne (*Anguilla anguilla*), esturgeon russe (*Acipenser gueldenstaedtii*), ainsi que des espèces indigènes ou non indigènes, par exemple, (*Lepomis gibbosus*), barbotte noire (*Ameiurus males*) (review Copp et al., 2009).

Dans le delta du Rhône dans le sud de la France, Martino et al. (2011) ont trouvé que les petits silures se nourrissent également avec des invertébrés comme les gammarus et écrevisses, les proies les plus consommées du silure adulte étant les écrevisses (*Procambarus clarkii*). En effet, celle-ci représentent 79% de la biomasse totale ingérée par le silure, son régime est aussi constitué de 10% de poissons d'eau douce (Cyprinidés), tandis que les poissons marins (le mullet et le *Pseudorasbora parva*) ont composé (5%) de son régime. Le silure consomme rarement des anguilles.

I.4 Hérisson d'Europe

I.4.1 Systématique et morphologie

Parmi les trois prédateurs des limaces étudiées ici (hérisson, musaraigne commune et étourneau sansonnet), j'ai choisi de développer uniquement le hérisson, en tant que modèle. En effet, le hérisson d'Europe (*Erinaceus europaeus*) est un Mammifère, de l'ordre des insectivores, du sous-ordre des *Erinaceomorphes* (Hérissons et Gymnures). Il fait partie de la famille des *Erinacidae*, et de la sous-famille des *Erinaceinae*.

Le hérisson est un petit mammifère de couleur brune (du brun clair au brun foncé), il pèse de 800 g à 1200 g (Morris et al., 2003). Sa principale caractéristique est la présence de piquants sur le dos de 2-3 cm de longueur et de 1 mm d'épaisseur, gris clair (clairs à la base puis foncé puis clairs à la pointe) et sans orientation spécifique. Les piquants sont des poils creux, qui ont une durée de vie de 18 mois, et qui se renouvellent en permanence. Chaque piquant est relié à un muscle, qui lui permette de s'ériger. Ainsi, en cas de danger, le hérisson est capable de soulever sa carapace pour se défendre de lui-même (Chesne, 2012).

La taille d'un hérisson varie de 20 à 30 cm, la longueur de la queue est de 2 à 3 cm. La tête est large à la base et se termine par un museau pointu. Le hérisson n'a pas de cou visible.

I.4.2 Répartition en France et en Europe

Le hérisson d'Europe se trouve dans toute l'Europe Occidentale ainsi qu'en Russie. Il est présent sur toute l'Europe centrale et occidentale, incluant la Grande Bretagne et les îles méditerranéennes comme la Sardaigne, la Corse et les îles Ecossoises (Chesne, 2012). Il est en revanche absent de certaines îles entourant la France et le Royaume Uni (Morris et al., 2003).

I.4.3 Reproduction

Les hérissons sont des animaux solitaires. Ils vivent seuls une fois adultes et se retrouvent uniquement pour les périodes de reproduction. Les hérissons sont matures sexuellement vers l'âge de 9 à 11 mois (Morris et al., 2003).

Lors de la saison de reproduction au printemps et en été, la taille de l'appareil génital des mâles augmente, et elle peut représenter jusqu'à 10% du poids total de l'individu. La femelle possède 5 paires de mamelles. Elle est fécondée par plusieurs mâles lors d'un œstrus (Moran et al., 2009).

La gestation dure de 30 à 49 jours (Atanasov, 2005). Sa durée est en fonction des conditions climatiques. Elle donne naissance de 4 à 7 petits, qui naissent aveugles et nus. Ils pèsent environ 20 g. Ce poids de naissance est doublé en une semaine. Les petits ouvrent les yeux à 14 jours puis ils sont sevrés à l'âge de 4 à 6 semaines lorsqu'ils atteignent un poids d'environ 250 g, ensuite les petits se dispersent, chaque hérisson devient alors solitaire.

Durant la période d'allaitement, la température corporelle de la mère reste constante. Il n'y a pas de période d'hibernation pour elle, certainement grâce à l'augmentation de son métabolisme de base qui produit de la chaleur.

I.4.4 Statut juridique de l'espèce

Le hérisson est une espèce protégée par les lois Françaises. L'article L411-1 du code de l'environnement (2010) stipule que « la destruction ou l'enlèvement des œufs ou des nids, la mutilation, la destruction, la capture ou l'enlèvement, la perturbation intentionnelle, la naturalisation d'animaux de ces espèces ou, qu'ils soient vivants ou morts, leur transport, leur colportage, leur utilisation, leur détention, leur mise en vente, leur vente ou leur achat » ainsi que « la destruction, l'altération ou la dégradation [...] de ces habitats d'espèce » est interdit.

De même, la convention de Berne signée le 29 septembre 1979 et appliquée le 26 avril 1990, établit que le commerce et « le transport international des espèces de faunes et de flores sauvages menacées d'extinction » doivent être soumis à une « réglementation stricte ».

La détention par des particuliers de hérissons européens est donc interdite. Seuls des établissements habilités peuvent héberger, soigner cette espèce. En pratique, les centres de soins ou les centres de protection de la faune sauvage peuvent recueillir les hérissons affaiblis ou blessés.

I.4.5 Régime alimentaire du hérisson

Le hérisson est principalement insectivore mais il peut se nourrir d'autres sources alimentaires, c'est un opportuniste (Jones et al., 2005). Il peut aussi manger des carcasses de lapins et de moutons (Moss et Sanders, 2001). Il peut subtiliser des œufs dans les nids terrestres des oiseaux. Par ailleurs, le hérisson ne chasse pas vraiment, il attrape les proies qui passent à sa portée. Il préfère des proies peu rapides et proches du sol comme les vers de terre, les limaces, les perce-oreilles, tableau 1 (Yalden, 1976).

Les préférences sont individuelles mais dépendent aussi de la disponibilité saisonnière des proies (Hendra, 1999). En effet, en Nouvelle Zélande, le régime du hérisson en printemps est constitué de scarabées noirs, de végétaux, d'araignées, de vers de terre, de limaces et de larves de papillons de nuit principalement. En été, le régime est principalement composé des criquets, des charançons, des scarabées, des larves variées, des végétaux, des vers de terre. En automne, le régime se compose de criquets, de larves et de végétaux, voire de charançons, de limaces et d'araignées. Pour l'hiver où les proies sont plus difficiles à trouver, le hérisson consomme ce qu'il trouve en abondance, comme des araignées, des limaces et des larves variées, voire de quelques scarabées, perce-oreilles et vers de terre.

Obrtel et Holisova. (1981) ont indiqué que le régime alimentaire du hérisson en Europe est composé majoritairement de millepattes (*Julus terrestris*), de 40% des proies ingérées, puis les hyménoptères 17,7%, des scarabées (17,2%), des hétéroptères, des lépidoptères, des araignées.

La composition du régime alimentaire du hérisson varie en fonction de la saison et la disponibilité des proies.

Tableau 1: Composition de l'alimentation du hérisson (d'après Yalden, 1976)

Principales proies	% estomacs	% proies	% poids
Chenilles	49	21	26
Scarabées	74	-	-
Vers de terre	35	-	13
Perce-oreilles	58	13	3
Limaces	23	5	4
Mille pattes	40	10.5	3
Abeilles	4	1	1
Larves de tipules	4	2	1.2

% estomacs : pourcentage d'estomacs contenant la proie

% de proie : proportion de cette espèce parmi les autres

% poids : proportion du poids de chaque proie dans le régime alimentaire des hérissons

- : Pas de données

II. Isotopes stables

II.1 Définition des isotopes stables

Deux atomes qui ont le même nombre de protons mais un nombre de neutrons différent, ils s'appellent isotopes, et sont distingués par une masse atomique différente ainsi que les propriétés physiques et chimiques des molécules formées. Les éléments principaux des composés biologiques (C, N, O, H, . . .) sont retrouvés sous plusieurs formes isotopiques stables. L'abondance naturelle de ces isotopes varie entre les différents compartiments de la biosphère, et donc au niveau des chaînes alimentaires. La quantité d'une espèce isotopique par rapport au nombre total d'atomes d'un élément donné peut être définie par les abondances isotopiques (tableau 2)

Tableau 2: Abondances respectives des isotopes légers et lourds des éléments chimiques : carbone et azote.

Elément	Isotope léger	Abondance	Isotope lourd	Abondance
Carbone	^{12}C	98,89%	^{13}C	1,11%
Azote	^{14}N	99,63%	^{15}N	0,37%

Dans la plupart des études, la composition isotopique d'un échantillon est définie par le delta isotopique (δ). Il s'agit de la différence entre le rapport isotopique d'un échantillon (R_{ech}) et celui d'un standard (R_{std}), divisé par le rapport isotopique du standard et exprimé en pour mille :

$$\delta = \left(\frac{R_{\text{ech}} - R_{\text{std}}}{R_{\text{std}}} \right) \times 1000$$

Le standard international de référence pour le carbone est la Pee Dee Belemnite (rostre de Bélemnite, fossile calcaire). Le standard international pour l'azote est le N_2 atmosphérique.

II.2 Utilisation des isotopes stables dans l'étude des réseaux trophiques

Les isotopes stables sont un outil innovant pour étudier l'écologie trophique des espèces animales (caractérisation des régimes alimentaires, sélectivité, etc.) et la structure des réseaux trophiques (positions trophiques, longueurs de chaînes, etc.).

Pour l'écologie, l'analyse des isotopes stables (AIS) est devenue populaire pour l'étude des réseaux trophiques (Gray, 2006 ; Fry, 2006). En effet, cette méthode est basée sur la relation prévisible entre les signatures isotopiques des consommateurs et celles de leurs proies, ce qui permet donc d'étudier la composition du régime alimentaire et aussi l'étude des flux d'énergie au sein des réseaux alimentaires (Gray, 2006 ; Fry, 2006). Chaque organisme a une signature isotopique au sein de la chaîne alimentaire. Quand un consommateur consomme son aliment, il y a un transfert d'énergie trophique qui s'accompagne d'un fractionnement isotopique, de valeur variable en fonction de l'isotope considéré (Dufour et Gerdeaux, 2001). Les taux de fractionnement ont été estimés par plusieurs études, ils sont compris entre 0 et 1 pour le carbone et à 3,4 pour l'azote selon (Peterson et Fry, 1987), tandis que ces taux sont négligeables pour l'hydrogène et le soufre. Les isotopes stables les plus utilisés par les écologues en eau douce sont le carbone ($\delta^{13}\text{C}$) et l'azote ($\delta^{15}\text{N}$). Par ailleurs, le niveau trophique de la proie est séparé de celui du consommateur par un taux de fractionnement pour le carbone et l'azote relativement selon les niveaux trophiques (consommateurs primaire, secondaire etc.). Ainsi les isotopes du carbone permettent de déterminer les sources de carbone présentes dans le réseau trophique (nature du régime alimentaire) tandis que les isotopes de l'azote permettent de déterminer la position trophique des individus et espèces dans le réseau (Peterson et Fry, 1987). Par conséquent, la (AIS) apparaît comme un outil sensible et polyvalent pour étudier les processus de compétition et de prédation dans les réseaux trophiques (Peterson et Fry, 1987 ; Fry, 2006 ; Cucherousset et al., 2012).

Le réseau trophique peut être donc estimé à l'aide de la construction de graphiques $\delta^{15}\text{N}$ et $\delta^{13}\text{C}$, avec les différents taux de fractionnement (figure 6). De plus, à l'utilisation des signatures isotopiques, on peut calculer des proportions des sources de nourriture consommées par un organisme. Il s'agit des modèles de mélange à plusieurs sources.

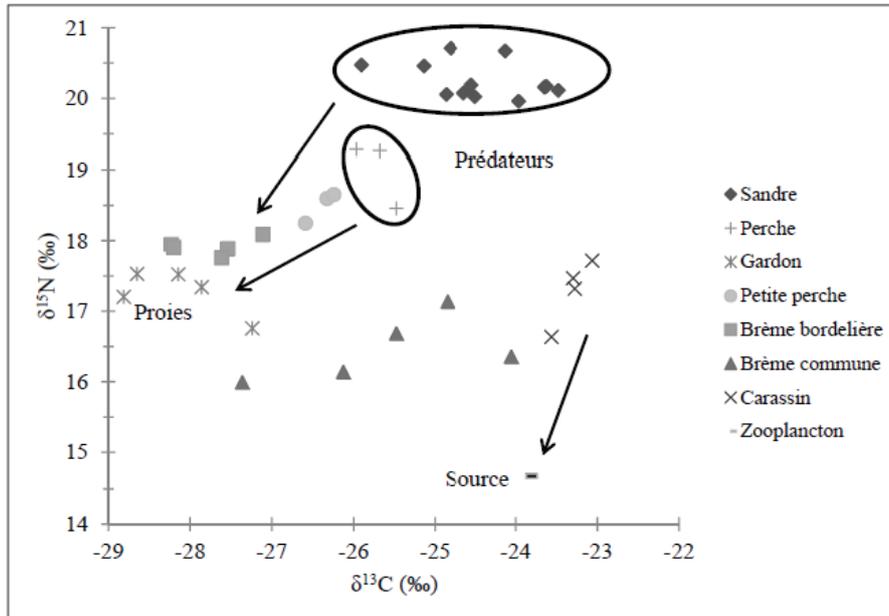


Figure 6. Exemple du réseau trophique de la gravière de Gensac (Tarn et Garonne) pour le mois de septembre 2009.

II.3 Utilisation des AIS pour instituer des lignes de base du réseau trophique

Lorsqu'on veut comparer les réseaux trophiques de plusieurs sites échantillonnés dans des milieux différents, il faut au début avoir des données par rapport à un niveau trophique de base avant de les comparer. En effet, Les sources potentielles de carbone et d'azote d'un écosystème constituent le maillon le plus bas de la chaîne alimentaire. Ces sources peuvent être du phytoplancton (producteurs primaires), de la matière organique en suspension, etc. En raison de leur position trophique, les consommateurs primaires ont les signatures isotopiques les plus proches des signatures isotopiques des sources potentielles du milieu. C'est pour cela que les valeurs isotopiques des consommateurs primaires constituent le plus souvent la ligne de base du milieu. Si les données d'un réseau trophique ne sont pas standardisées à partir des valeurs de la ligne de base, il y aura des décalages dans les signatures isotopiques entre écosystèmes, et donc entre les positions trophiques des espèces dans différents milieux car les positions trophiques sont calculées à partir de lignes de base.

Pour le calcul des positions trophiques des consommateurs secondaires en milieu ouvert (rivière, fleuve) où la notion de compartiments littoral et pélagique est moins marquée (eau courante), il existe une formule de Vander Zanden et al. (1997) qui est la plus utilisée :

$$Position\ trophique\ Consommateur\ 2^{aire} = \left[\frac{(\delta^{15}N_{C2aire} - \delta^{15}N_{Baseline})}{\Delta n} \right] + 2$$

Avec Δn le taux de fractionnement moyen du $\delta^{15}N$ soit 3,4 ‰ ici et 2 la position trophique des consommateurs primaires de la ligne de base

III. Les micropolluants

III.1 Les composés organochlorés (pesticides et polychlorobiphényles)

III.1.1 Définition et toxicologie

Les pesticides organochlorés et les polychlorobiphényles (PCBs) font partie de la vaste famille des Polluants Organiques Persistants (POP), un groupe qui comprend aussi les Dioxines et les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP). Ces différentes molécules complexes se caractérisent par plusieurs propriétés communes : leur toxicité prouvée sur la santé animale et humaine, leur persistance dans l'environnement et leur accumulation dans les organismes ou les réseaux trophiques (bioaccumulation et bioamplification). Les organochlorés ont été utilisés dans deux domaines majeurs après la seconde guerre mondiale : en agriculture (pesticides) et dans l'industrie (PCBs).

Les pesticides organochlorés sont des composés complexes de synthèse, leurs structures de base sont cycliques ou polycycliques, substitués par une ou plusieurs fonctions chlore. Cette famille regroupe de nombreuses molécules regroupées en 5 familles (Mazet, 2005) :

- les dichlorodiphényltrichloroéthanés (DDT, DDE, DDD et methoxychlor) ;
- les hexachlorocyclohexanes (lindane) ;
- les cyclodiènes (aldrine, dieldrine, endosulfan) ;
- le toxaphène ;
- et les structures telles que le chlordecone et mirex.

Ces pesticides ont été largement utilisés pour combattre différents insectes nuisibles (en agriculture, en usages domestiques et en santé humaine) jusqu'à la fin des années 1960.

Cependant, après les premières études publiées ce qui ont montré que les pesticides organochlorés ont des effets négatifs sur différents organismes vivants, l'utilisation de ces composés a considérablement été réduite durant les années 1970.

Les pesticides organochlorés (POC) sont très lipophiles et très persistants dans l'environnement, avec un temps de demi-vie longue (quelques mois à plusieurs années). Ainsi, ces deux caractéristiques pourraient expliquer leur caractère accumulatif dans les organismes, et un transfert dans le long des chaînes trophiques.

Les animaux sont exposés aux POC par l'ingestion, inhalation et/ou absorption par la peau. Les POC se transfèrent ensuite par le sang vers les organes richement vascularisés (rein, poumons et encéphale), puis ils sont stockés dans les tissus riches en graisse (tissus adipeux, foie et cerveau). Dans le système biologique, plusieurs de ces composés chimiques peuvent également causer des altérations dans les systèmes endocriniens et nerveux (Langer et al., 2003). Plusieurs facteurs ont un effet sur la toxicité des POC, par exemple le niveau et la durée d'exposition (continu, occasionnel), la voie d'exposition (percutanée, en ingestion, par inhalation), la nature du composé et la probabilité d'interaction avec d'autres, et l'individu exposé (sexe, âge, etc.) (Mazet, 2005).

Le DDT et ses dérivés : le DDT ou dichlorodiphényltrichloroéthane est la molécule phare des insecticides organochlorés, de formule brute $C_{14}H_9Cl_5$ (figure 7). Le DDT est le plus connu et le plus étudié des insecticides. Il a été synthétisé pour la première fois en Allemagne en 1873 par Othmar Zeidler (Zeidler, 1873). De plus, ce pesticide était l'un des plus utilisés dans le monde. Il a été appliqué pour lutter contre des espèces de ravageurs des cultures et les vecteurs d'arboviroses. Cependant, ce pesticide a également démontré des effets toxiques, notamment chez les oiseaux. En effet, le DDT cause une diminution de l'épaisseur de la coquille d'œuf, une mortalité embryonnaire élevée, et une baisse du taux d'éclosion. Il diminue donc le taux de reproduction chez les oiseaux. L'utilisation du DDT a été interdite dans nombreux pays, compris la France en 1974 (Bailly et al., 1974) et les États-Unis en 1972. Toutefois, de nos jours ce pesticide est encore utilisé pour lutter contre des arboviroses dans certains pays (Smith, 1991).

Le DDE (dichlorodiphényléthane) et le **DDD** (dichlorodiphényldichloroéthane) sont dérivés du DDT, résultant de la perte d'un atome de chlore sur le groupement CCl_3 de la molécule de DDT. La toxicité de ces molécules sur les insectes n'est pas forte, et ces produits

n'étaient pas utilisés comme pesticides. La présence du DDE et du DDD dans l'environnement provient cependant de la dégradation du DDT (Clark, 1997).

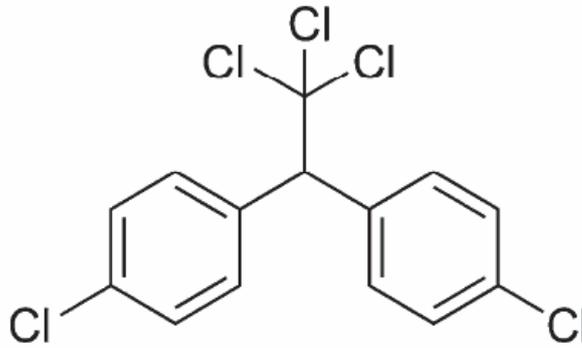


Figure 7. Formule développée de DDT

Le **lindane** ou isomère gamma de l'hexachlorocyclohexane, de formule brute $C_6H_6Cl_6$ (figure 8) est un insecticide organochloré qui a été longtemps utilisé dans de nombreuses applications agricoles : traitement des sols (maïs, betteraves, etc.), traitement des semences, en arboriculture et en cultures maraîchères. Il est également employé pour la protection des bois d'œuvre, en médecine vétérinaire pour le traitement antiparasitaire des animaux. Le lindane est absorbé par les voies respiratoires, la peau et les voies digestives et s'accumule principalement dans le tissu adipeux, mais aussi dans les reins, les muscles, le cerveau, l'hypophyse et la thyroïde. L'exposition au lindane induit des effets sur la fonction de reproduction, par exemple une diminution de la fertilité et une augmentation de la mortalité embryonnaire, dans l'Union Européenne, le lindane n'est plus utilisé en agriculture depuis 1998 (Cluzeau et al., 1998).

L'**aldrine** est un insecticide organochloré de formule brute $C_{12}H_8Cl_6$ (figure 9). Cet insecticide a été largement utilisé dans les années 1950-1960 sur le traitement des sols pour la lutte contre les coléoptères, dans la culture du coton, des larves attaquant les racines. A partir de 1960, l'utilisation de l'aldrine a commencé à diminuer à cause de son caractère toxique et persistant dans l'environnement. L'aldrine pénètre dans l'organisme par contact, ingestion et

inhalation, et les effets toxiques sont observés sur le système nerveux central et le foie. L'utilisation de cet insecticide en agriculture a été interdite en 1972 (Mazet, 2005).

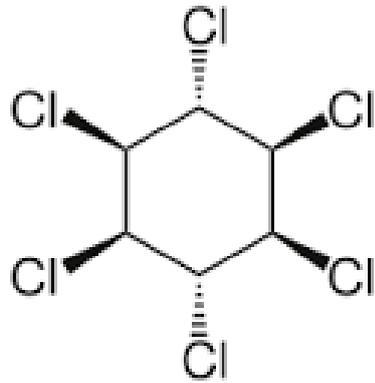


Figure 8. Formule développée du lindane (γ -HCH)

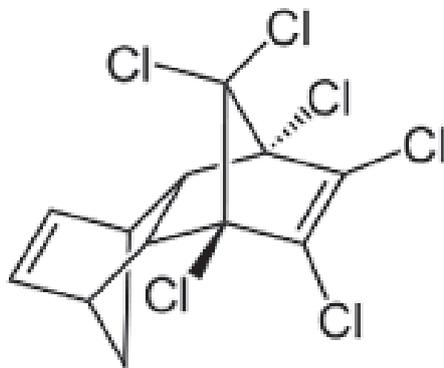


Figure 9. Structure de l'aldrine

La **dieldrine** est métabolite de l'aldrine, avec une formule brute de la dieldrine $C_{12}H_8Cl_6O$ (figure 10). La dieldrine, comme l'aldrine, a été largement utilisée dans le monde à partir des années 1950 pour le traitement des sols et des semences, dans l'industrie du bois, il est très efficace contre les termites. Les organes cibles pour le dieldrine sont le système nerveux central et le foie comme pour l'aldrine. En France, l'emploi de la dieldrine est également interdit en agriculture depuis 1972 (Mazet, 2005).

L'**heptachlore** est un insecticide organochloré, de formule brute $C_{10}H_5Cl_7$ (figure 11), l'heptachlore a été employé pour le traitement des sols et des semences. Il peut se transformer en heptachlore époxyde, molécule qui a des propriétés très voisines. Des effets cancérogènes de l'heptachlore ont été montrés chez l'animal, son utilisation a été interdit en 1972 à cause des effets toxiques et persistant dans l'environnement (Mazet, 2005).

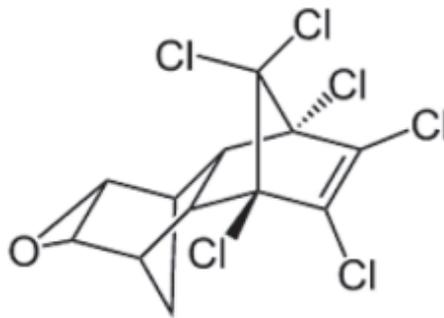


Figure 10. Structure de dieldrine

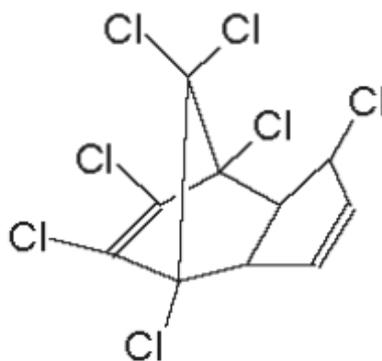


Figure 11. Structure de l'heptachlore

L'**endosulfan**, de formule brute $C_9H_6Cl_6O_3S$, Il a été utilisé pour contrôler une large variété d'insectes suceurs et masticateurs, comprenant les aphides, les thrips, les coléoptères, les chenilles des limbes, les mites, les charançons, les vers gris. Il a été également utilisé sur les cultures, sur les animaux de ferme et les animaux domestiques. Cet insecticide peut entrer dans l'organisme par contact, inhalation et ingestion. L'endosulfan affecte le système nerveux, et il est très toxique chez les oiseaux. Il est reproché de causer des troubles endocriniens, ce qui n'est pas sans conséquences sur la reproduction et le développement des animaux et des êtres humains. L'endosulfan n'est pas classé comme cancérigène pour l'homme. Son usage agricole est interdit depuis les années 1980 en Europe et en Amérique du nord. En revanche, il a été récemment retiré de la liste des produits phytopharmaceutiques autorisés dans l'Union européenne, et cette substance active a été interdite par la décision communautaire 2005/864/CE du 2 décembre 2005. En avril 2011, à la suite d'une réunion des représentants de 127 pays, l'endosulfan a été inscrit sur la « liste noire » des Nations Unies.

Les polychlorobiphényles (PCBs), aussi appelés **biphényles polychlorés**, ont une structure générale correspondant au diphényle $C_6H_5-C_6H_5$ substitué par un nombre variable d'atomes de chlore (1 à 10). Leur formule générale est $C_{12}H_{10-n}Cl_n$. Les PCBs sont des polluants organiques persistants (POP) des écosystèmes terrestres et aquatiques, ils comportent 209 congénères qui diffèrent entre eux par le nombre et la position des atomes de chlore associés à deux groupes phényles. Les PCBs ont été fabriqués, industriellement, par chloration directe du diphényle (figure 12). Le pourcentage de chloration utilisé lors de la synthèse oriente la composition du mélange final de congénères. Cela peut expliquer les dénominations commerciales des produits, par exemple l'Arochlor 1248, commercialisé aux Etats-Unis, est un composé de PCBs à 12 atomes de carbone et 48% de chloration (Mazet, 2005). Sept PCB (PCB28, 52, 101, 118, 138, 153, 180) appelés « indicateurs » sont les plus présents dans l'environnement et les aliments.

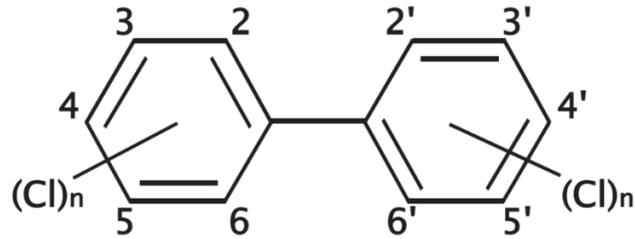


Figure 12. Structure chimique des polychlorobiphényles (PCBs)

Tableau 3: Composition des PCBs (Erickson, 1997)

Formule chimique par homologue	Poids moléculaire	Pourcentage de chloration	Nombre de congénères
$C_{12}H_9Cl$	188,0	19	3
$C_{12}H_8Cl_2$	222,0	32	12
$C_{12}H_7Cl_3$	256,0	41	24
$C_{12}H_6Cl_4$	289,9	49	42
$C_{12}H_5Cl_5$	323,9	54	46
$C_{12}H_4Cl_6$	357,8	59	42
$C_{12}H_3Cl_7$	391,8	63	24
$C_{12}H_2Cl_8$	425,8	66	12
$C_{12}HCl_9$	459,7	69	3
$C_{12}Cl_{10}$	493,7	71	1

Les propriétés physico-chimiques des PCB dépendent du degré de substitution par les atomes de chlore mais aussi du positionnement de ces atomes sur le diphényle. Ils se caractérisent par une stabilité thermique et une faible volatilité. Les PCB sont très peu solubles dans l'eau. En revanche, ils sont très solubles dans les solvants organiques et les graisses, ce qui explique pourquoi ils s'accumulent dans les graisses animales et cela tout au long de la chaîne alimentaire.

L'utilisation de PCB dans les systèmes commerciaux a commencé en 1930, la propriété des PCBs est leur résistance à de fortes températures, et ces composés ont été utilisés dans trois domaines principaux selon Dobson et al. (1993) en fonction de leur impact sur l'environnement :

Les systèmes clos contrôlables, comme les équipements électriques, y compris (transformateurs, gros condensateurs), il n'y a de risque de contamination de l'environnement qu'en cas de fuite de l'appareil ou lors de sa mise au rebut ;

Les systèmes clos non contrôlables, comme les tubes fluorescents, les moteurs, les émetteurs radio, qu'il est impossible de récupérer quand le matériel est hors d'usage ;

Les systèmes ouverts, par exemple des peintures, les caoutchoucs, les adhésifs, les encres d'imprimerie, les papiers, les huiles de graissage, les savons et les insecticides, où les PCBs sont utilisés comme agents stabilisants, lubrifiants, et dans ce cas les PCB sont en contact direct avec l'environnement et ils sont donc irrécupérables.

Les effets toxicologiques des PCBs ont été démontrés chez de nombreuses espèces (rats, souris, vison, oiseaux, homme). En effet, l'intoxication par les PCBs se traduit par des effets sur le système gastro-intestinal, endocrinien, reproducteur, neurologique, immunologique et sur certaines activités enzymatiques (Lemarchand, 2007). Les PCBs sont classés comme des perturbateurs endocriniens. En effet, l'exposition aux PCBs peut entraîner une perturbation de la sécrétion des hormones gonadotropes (GnRH) au niveau de l'hypothalamus (Khan et Thomas, 2001), ils diminuent notamment les niveaux circulants de triiodothyronine (T3), de thyroxine (T4), d'œstradiol et de testostérone. Par ailleurs, on observe une hypertrophie de la thyroïde et une diminution du taux sanguin de la vitamine A et d'hormones thyroïdiennes, impliquées dans le métabolisme, la croissance et le développement (Mazet, 2005). En ce qui concerne les effets sur le système immunitaire, on trouve une diminution de la taille du thymus et du taux de lymphocytes dans le sang (Mazet, 2005).

III.1.2 Contamination de la loutre d'Europe

La loutre était très répandue en Europe. Cependant, le nombre de ces animaux a fortement décliné au cours des années 1950-1980 en raison de la dégradation de l'habitat, un piégeage massif de la fourrure et de la chasse (Kruuk, 2006). La contamination globale aquatique par les polluants persistants (pesticides, polychlorés biphényles (PCB) ou métaux lourds) peuvent aussi être responsable de cette baisse à travers d'Europe (Mason et al., 1993 ; Kruuk et al., 1995 ; Smit et al., 1998).

Au cours des années 1960, des premières études ont été effectuées sur la contamination de mammifères carnivores aquatiques par les composés organochlorés. En effet, des troubles de la reproduction ont été observés chez les visons (*Mustela vison*) en élevage, ces visons étaient nourris avec des saumons, des poissons fortement contaminés par les PCBs. Ces observations ont conduit à développer d'autres études sur les effets des PCBs sur les visons et particulièrement leurs impacts sur la reproduction.

En Europe, des visons femelles ont été exposés aux doses connues de PCBs dans leur ration, et leur reproduction était ensuite étudiée (Jensen et al., 1977). En effet, le taux de naissances et la survie des jeunes étaient affectés à partir de 3,3 mg/kg/j de PCBs dans la nourriture, et les naissances ont disparu à partir de 11 mg/kg/j. L'exposition aux PCBs affecte la vascularisation du placenta et du fœtus, ce qui est incompatible avec un développement normal du fœtus. Parmi les PCBs les auteurs s'accordent sur une valeur seuil à 50 mg/kg poids de lipides dans les foies ou dans les muscles des visons, au-delà de laquelle les troubles de reproduction apparaissent (Jensen et al., 1977 ; Mazet, 2005 ; Lemarchand, 2007). De nombreuses études sur la contamination des visons par les organochlorés ont pris en compte à la fois les pesticides et les PCBs. Etant donné qu'il n'y a pas d'étude de laboratoire sur l'effet des composés organochlorés sur les loutres, les valeurs seuils des organochlorés (50 mg/kg de poids lipide dans le foie ou le muscle) correspondant au vison ont été admises pour différentes espèces de loutres sauvages considérant que les deux espèces sont de la même famille (Mustélidés) et proches génétiquement.

Les concentrations de PCBs dans les tissus des loutres (foie et muscle) ont été analysées dans différents pays européens. Les résidus les plus élevées ont été détectés chez les loutres de Suède qui sont fortement menacées, des Pays-Bas, et en République Tchèque. Les concentrations retrouvées en Autriche et à l'Ouest de la France étaient inquiétantes (concentration moyenne de 26,2 mg/kg de lipides de muscle) (Tans et al., 1996).

Les résidus des PCBs dans les tissus des loutres constituaient la part dominante de la totalité des composés organochlorés (pesticides OC et PCBs) selon la plupart des études de la bibliographique (Mason et Macdonald, 1994 ; Kruuk et Conroy, 1996 ; Roos et al., 2001 ; Kannan et al., 2004 ; Lemarchand et al., 2007, 2010). Cependant, on peut dire que les concentrations des pesticides organochlorés diminuent progressivement dans l'environnement suite à leur interdiction, avec prise en compte la persistance des PCBs dans les tissus des animaux et dans l'environnement. De plus, la loutre a la capacité de métaboliser et d'éliminer des PCBs selon la nombreuses études (Smit et al., 1998 ; Gutleb, 2000 ; Colas et al., 2005 ; Lemarchand et al., 2007, 2010). Les PCBs ne semblent pas s'accumuler de manière linéaire avec l'âge de la loutre selon ces auteurs (Kruuk et Conroy, 1996 ; Kruuk, 2006), cependant Lemarchand et al. (2010) ont observé que la teneur en PCBs augmente significativement avec l'âge de loutres prélevées du centre de la France, il est possible que l'accumulation éventuelle des PCBs chez un individu de la loutre puisse être reliée à la condition générale de cet individu plutôt que à la tendance de l'espèce.

De plus, la capacité de métabolisation et la sensibilité aux PCBs varient d'une espèce à l'autre, Jensen et al. (1977) et Leonards et al. (1995) ont en effet vu que le vison est l'espèce la plus sensible aux PCBs concernant les mustélidés, et il semble que la loutre (*Lutra lutra*) a la capacité de métaboliser de certains congénères de PCBs, alors que le vison ne le peut pas (Leonards et al., 1998). Par ailleurs, la loutre serait plus exposée à des concentrations en PCBs que le vison car la loutre consomme principalement des poissons, qui sont plus contaminés que les proies des visons (amphibiens et rongeurs) (Leonards et al., 1998).

Dans l'étude menée par Lemarchand et al. (2010) sur les bassins de la Loire en France, les résidus de PCBs ont été retrouvés dans tous les foies des loutres et la concentration maximale de la somme des PCBs analysés a atteint 64,8 mg/kg poids lipides dans le foie, ces concentrations en PCBs ont été comparées à celles observés dans les épreintes de la même population en 2007, et il n'y avait pas de différence significative entre les épreintes et les foies de cette population (Lemarchand et al. 2007, 2010). Ce qui confirme donc la capacité des loutres à excréter ou métaboliser les PCBs (Leonards et al., 1997, 1998 ; Smit et al. 1998 ; Gutleb, 2000).

Mason et Macdonald (1993c) ont analysé les résidus de PCBs dans les tissus de poissons et les épreintes de loutres qui ont été collectés sur 5 sites et sur une même rivière, les résultats ont

montré qu'il existe une corrélation entre la concentration moyenne en PCB dans les tissus de poissons et la concentration en PCB dans les épreintes de loutres pour chaque site (figure 13).

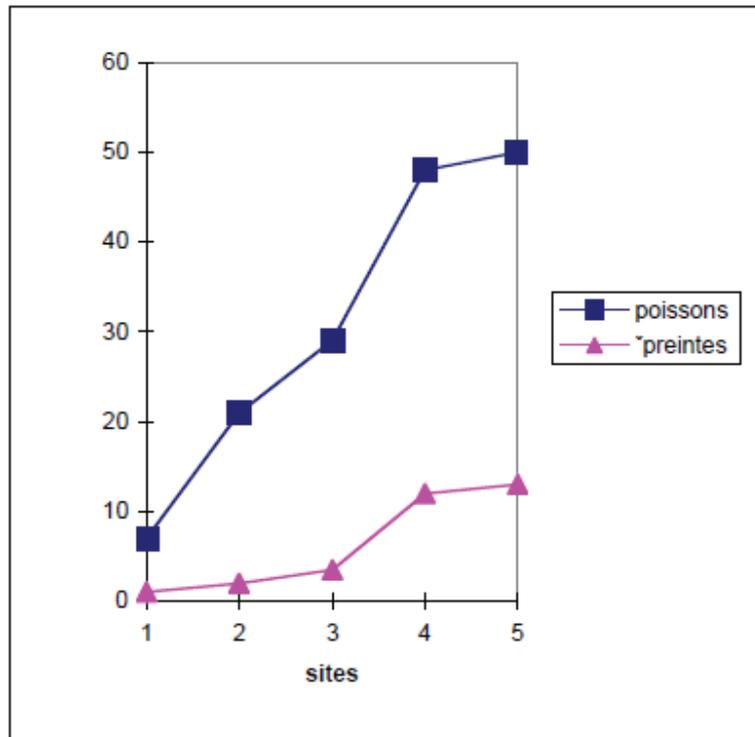


Figure 13. Concentrations moyennes en PCB totaux dans les tissus de poissons (mg/kg poids frais 10^{-3}) et dans les épreintes de loutres (mg/kg lipide) sur 5 sites

Plusieurs congénères de PCB ont été détectés dans les épreintes de la loutre collectés au niveau de rivière de l'Allier en France. En effet, les PCB 126, 153 et 138 étaient les congénères les plus abondants dans ces épreintes, la valeur de PCB 153 a atteint 2,08 mg/kg poids lipides et le total de PCB a atteint 13,58 mg/kg poids lipides (Lemarchand et al., 2007). La concentration maximale des PCBs analysés dans la loutre en France a atteint 64,8 mg/kg poids lipides dans le foie (Lemarchand et al., 2010).

Parmi les pesticides organochlorés chez les loutres, le DDT (principalement le *p,p'*-DDE) était le pesticide organochloré le plus abondant dans le foie des loutres au Danemark et en France (Mason et Madsen, 1993 ; Lemarchand et al., 2007, 2010). Le lindane a constitué le pesticide

organochloré le plus trouvé après les DDTs en France (Lemarchand et al., 2007, 2010). Par ailleurs, selon les études précédentes qui ont été effectuées au centre de la France, les concentrations en aldrine, heptachlore et heptachlore époxyde dans la loutre sont restées faibles, l'endosulfan et le méthoxychlor n'ont jamais été détectés dans les foies (Lemarchand et al., 2007, 2010), la concentration des pesticides d'organochlorés totaux mesurés dans le foie a atteint de 9,4 mg/kg poids lipides, ce qui est inférieure à la limite toxique (50 mg/kg poids de lipide dans le foie ou le muscle) concernant les POC chez le vison (Jensen et al., 1977).

En France, Lemarchand et al., (2010) ont trouvé que les concentrations des pesticides organochlorés mesurés dans le foie des loutres sont significativement supérieures ($p < 0,05$) à celles mesurées dans les épreintes des loutres de la même population (Lemarchand et al., 2007), cela indique que l'élimination de ces contaminants est faible via le métabolisme général.

III.1.3 Contamination du grand cormoran

Les oiseaux sauvages sont exposés aux polluants dans leur habitat. Les consommateurs supérieurs des milieux aquatiques tels que le grand cormoran (*Phalacrocorax carbo*) consommant du poisson sont particulièrement touchés par la bioaccumulation de substances toxiques (pesticides, PCBs, traces éléments etc...) dans leurs tissus.

Les concentrations en pesticides organochlorés et PCBs dans les foies des grands cormorans ont été étudiées par plusieurs auteurs (Scharenberg, 1991 ; Guruge et al., 1997 ; Fossi et al., 1995 ; Platteeuw et al., 1995 ; Falandysz et al., 2002 ; Kannan et al., 2002 ; Goutner et al., 2011 ; Lemarchand et al., 2013). Les concentrations les plus élevées ont été trouvées chez les cormorans de Shinobazu au Japon (127,5 mg/kg poids sec dans le foie), qui sont fortement menacés par ces composés. Les concentrations en PCBs étaient moins élevées (de 13,8 à 26,2 mg/kg poids sec) dans les foies des cormorans de Lake Biwa au Japon, en Pologne, en Allemagne et aux Pays-Bas (tableau 4), et ces concentrations sont généralement faibles (de 1,9 à 5,1 mg/kg poids sec) en France, Italie et en Grèce (Kannan et al., 2002 ; Goutner et al., 2011 ; Lemarchand et al., 2013).

De nombreuses études ont été effectuées sur les concentrations des composés organochlorés (pesticides et PCBs) dans les différentes espèces de cormorans qui peuvent souvent servir de modèle d'études en écotoxicologie (Mason et al., 1997 ; Custer et al., 1999 ; Harris et al., 2005 ; Bouwman et al., 2008), et les concentrations dans les différents tissus de

cormorans sont comprises entre 0.1 à 13 mg/kg poids frais de foie, sans aucun impact négatif observé sur l'individu, comme par exemple des cas de toxicité aiguë ou chronique.

Parmi les composés organochlorés, Les concentrations en PCBs dans les foies des grands cormorans constituent la part dominante suivis par le pesticide DDT au Japon et en France (Guruge et al., 1997 ; Lemarchand et al., 2013), mais ce résultat était différent en Grèce où le DDT est l'organochloré le plus abondant dans les foies des grands cormorans (Goutner et al., 2011). En France, Lemarchand et al. (2013) ont trouvé des résidus d'organochlorés (pesticides et PCBs) dans tous les foies des cormorans prélevés au centre de la France, mais les valeurs observées étaient généralement faibles, inférieures à 0,1 mg/kg poids frais pour les pesticides organochlorés et 1,0 mg/kg poids frais pour les PCBs, les pesticides organochlorés les plus abondants dans les foies des cormorans sont le DDTs, le métoxychlor et le lindane selon (Lemarchand et al., 2013).

Tableau 4 : Concentrations moyennes de composés organochlorés dans le foie des cormorans collectés de plusieurs pays ($\mu\text{g}/\text{kg}$ poids sèche)

Zone	Σ PCBs	Σ DDTs	Lindane	Référence
Lake Biwa, Japan	7656 ^b -26.249 ^c	-	-	Guruge and Tanabe (1997)
Lake Biwa, Japan^a	24.790	10.572	401	Guruge et al. (1997)
Shinobazu, Tokyo^a	127.598	47.393	583	Guruge et al. (1997)
Chubu region, Japan	838	-	-	Hoshi et al. (1998)
Danube, Papadia canal	-	225	29	Covaci et al. (2006)
Danube, japsa Marcova	-	512	69	Covaci et al. (2006)
Orbetello, Italy	3150	-	-	Fossi et al. (1995)
Sardinia, Italy	5177	-	-	Kannan et al. (2002)
Baltic Sea, Poland	1604-15.312	-	-	Falandysz et al. (2002)
Schleswig, Germany	8859	-	-	Scharenberg (1991)
Netherlands	17.892	2897	150	Platteeuw et al. (1995)
Greek wetlands, Greece	1965	5747	238	Goutner et al. (2011)
Loire, France	3500	185	94	Lemarchand et al. (2013)

^a Adulte, ^b Femelle, ^c Mâle.

- : pas de données

Dans l'étude menée en Angleterre, Mason et al. (1997) ont montré que les concentrations en DDE dans les œufs des cormorans étaient inférieures à celles de PCBs totaux, la dieldrine était présente en petite quantité dans la même étude.

La plupart des études précédentes ont indiqué qu'il n'y a pas d'impact négatif sur les populations des cormorans parmi les résidus des OC.

III.1.4 Contamination du silure

Les poissons d'eau douce sont considérés comme des indicateurs fiables pour la présence de polluants persistantes et les composés lipophiles toxiques dans les bassins fluviaux (Patrolecco et al., 2010 ; Pacini et al., 2013). Ces composés peuvent se concentrer dans les tissus des poissons, la fraction de contaminants organiques trouvés dans les tissus des poissons représente une partie biodisponible qui se transfère dans les réseaux trophiques aquatiques.

Puisque les contaminants organiques (par exemple, pesticides et PCBs) ont une grande affinité pour les lipides des tissus animaux, les poissons sont capables d'accumuler des concentrations de contaminants non détectables dans la colonne d'eau.

Le silure glane (*Silurus glanis*) est un prédateur dans la chaîne alimentaire de l'écosystème d'eau douce, et peut refléter la contamination de l'environnement. Il n'existe pas beaucoup de données bibliographiques sur les concentrations des composés organochlorés (pesticides et PCBs) dans les tissus du silure glane.

Dans l'étude effectuée dans le nord de l'Italie, Squadrone et al. (2013) ont indiqué que les six congénères de PCB 28, 52, 101, 138, 153 et 180 ont été détectés dans les muscles de silure glane, Σ_6 PCB au total ont varié de 0,02 à 1,01 $\mu\text{g/g}$ poids frais, avec une concentration moyenne de 0,14 $\mu\text{g/g}$ poids frais, les PCB 153 et 138 étaient les plus abondants dans les muscles de silure glane (environ 70%) de total de PCB-NDL.

Concernant les congénères de PCB-NDL, autres études ont aussi montré que les PCB 153 et 138 sont les plus présents dans les différentes espèces de poissons d'eau douce collectées dans la rivière du Danube en Serbie et du sud de l'Italie (Janković et al., 2011 ; Pacini et al., 2013). En effet, cela peut être expliqué par le fait que les congénères 138 et 153 ont des caractéristiques moins hydrophobe et sont moins étroitement liés à sédiments c'est la raison pour laquelle ils sont facilement disponibles pour les organismes aquatiques (McFarland et Clarke, 1989). En outre, ces congénères peuvent avoir une résistance plus grande au métabolisme et à l'élimination de

l'organisme du poisson que les congénères inférieurs tels que 28, 52, et 101 (Jacob et Boer, 1994 ; Nie et al., 2006).

En Turquie, Les niveaux de PCBs (28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180) mesurés dans les foies et les muscles de silure glane étaient faibles (médiane 0,004 µg/g poids frais de muscle) et inférieurs à ceux observés en Pays d'Europe ou aux Etats-Unis concernant la même espèce (Erdogrul et al., 2005). Par ailleurs, les résidus des composés organochlorés (pesticides et PCBs) détectés sont plus élevées dans les muscles que dans les foies de silure (Erdogrul et al., 2005 ; Svobodová et al., 1995).

Pour les pesticides organochlorés, en Turquie, Erdogrul et al. (2005) ont démontré que les résidus des DDTs sont les plus abondants dans les tissus de silure glane concernant les composés organochlorés analysés, le *p,p'*-DDE constituait 93-95 % du total de DDTs dans ces échantillons, suivie de *p,p'*-DDD (5-7 %), la concentration médian de DDTs dans les muscles était de 0,05 µg/g poids frais. En Chine, les pesticides organochlorés ont été détectés dans plusieurs tissus de silure (*Silurus asotus*) comme la graisse mésentérique, le foie, le muscle, le rein, le cerveau, la peau, les yeux et les œufs, ces pesticides se sont concentrés principalement dans la graisse mésentérique de silure, les DDTs étaient les contaminants organochlorés les plus répandus dans leur tissu (Cheng et al., 2006).

III.1.5 Contamination des proies comme les poissons

Une étude a été effectuée sur les bassins de la rivière Loire en France par Beck. (2011). En effet, l'objectif de cette étude était de mesurer les résidus des composés organochlorés (pesticides et PCBs) et métaux lourds dans plusieurs espèces de poissons, des écrivisses et des mollusques, les échantillons précédents ont été collectés sur plusieurs sites. Parmi tous les pesticides organochlorés qui ont été recherchés au sein du bassin de la Loire, seuls trois d'entre eux ont été retrouvés :

- le DDT, de façon très ponctuelle,
- l'Endosulfan-sulfate, de façon plus fréquente,
- le Lindane, le plus abondant: la plus grande fréquence.

Le DDT

Le pesticide DDT a été retrouvé dans les tissus de poissons de différentes espèces (Brèmes, barbeau et mullet) prélevés de trois sites (Val d'Allier, Val d'Orléans et L'amont de Nantes). Les

concentrations relevées lorsque la molécule est détectée sont comprises entre 0,4 et 1,55 mg/kg PV.

l'Endosulfan

L'endosulfan a été détecté sur les mêmes sites que le DDT, mais dans un plus grand nombre d'espèces comme les Carassins juveniles, les Gardon, les Brochets, le Goujon, les Chevesnes et les Mulets. Les concentrations relevées étaient entre 0,17 et 0,26 mg/kg PV (sur muscle ou poisson total).

Le Lindane

Le lindane a été retrouvé chez le plus d'espèces différentes, et il est aussi l'organochloré le plus répandu en termes géographiques. La contamination du bassin de la Loire par le Lindane est globale et relativement importante malgré l'interdiction ancienne de ce composé.

Les PCBs

Selon l'étude de Beck (2011) sur la Loire, les PCB sont retrouvés dans tous les poissons prélevés comme le Chevesne, le Gardon ou le Barbeau...etc, quel que soient les sites de prélèvements. Les concentrations des PCBs dans les différentes espèces de poissons ont varié selon les sites de prélèvement. En effet, au niveau de l'Allier amont et du Bec d'Allier, les concentrations étaient respectivement mesurées à 0,15 et 0,2 mg/kg PV (sur poisson total). Il a mesuré au niveau du Val d'Orléans une concentration en PCB de 0,4 mg/kg PV. Au niveau des barrages sur la Loire, une concentration en PCB de plus de 1 mg/kg PV (sur poisson total). A l'amont de Nantes, les résidus en PCBs dans les muscles de poissons sont de 0,7 mg/kg PV. Cette différence en PCB sur le long de Loire peut expliquer par l'existence de plusieurs sources de pollution ponctuelles.

III.2 Les éléments traces métalliques (ETM)

III.2.1 Définition

Les éléments traces sont des éléments naturellement présents dans tous les compartiments de notre environnement, l'air, l'eau et les sols, mais devenus des polluants suite aux activités humaines. D'un part, certains éléments traces sont *essentiels* pour le fonctionnement des

processus biologiques : ils sont nommés parfois oligo-éléments et ils sont nécessaires en très petites quantités pour les organismes vivants, comme le cuivre qui est important pour la composition de l'hémoglobine et impliqué dans la fonction du système immunitaire, ou le zinc, le manganèse et le sélénium. En revanche, les éléments traces essentiels peuvent s'avérer toxiques pour diverses formes de vie, à des teneurs plus élevées. D'autre part, les éléments traces dits *non essentiels* qui ne sont pas nécessaires pour les organismes et présentent des effets toxiques dès les faibles teneurs : ce sont principalement le plomb, le cadmium et le mercure.

Dans le cadre de cette étude, nous avons choisi d'étudier les résidus de quatre éléments (le plomb, le cadmium, le mercure et le cuivre) dans les foies de la loutre d'Europe, du Grand cormoran, du silure. Le tableau 5 présente les principales propriétés physicochimiques de ces éléments.

Tableau 5: *Caractéristiques chimiques, minerais d'origine du plomb, du cadmium, du mercure et du cuivre*

	Plomb	Cadmium	Mercure	Cuivre
Symbole	Pb	Cd	Hg	Cu
Masse atomique	270	112	200	63,5
Masse volumique (g.cm-3)	11,35	8,6	13,6	8,9
Température d'ébullition (°C)	1740	765	357	2567
Minerai d'origine	Galène	Scories de zinc	Cinabre	Chalcocite, Chalcopyrite

III.2.2 Sources de pollution et toxicologie

III.2.2.1 Plomb

Le plomb est présent naturellement dans l'environnement. Cependant, la plupart des concentrations en plomb que l'on trouve dans l'environnement sont le résultat des activités humaines, l'utilisation de plomb dans les industries est la source principale de la contamination de l'environnement par cet élément. Dans certains pays qui utilisent encore du plomb dans les carburants, le gaz d'échappement de véhicules est aussi une source de la présence de plomb dans l'environnement. Le plomb est un métal facile à façonner, il a été employé dans les canalisations et l'imprimerie, mais aussi dans les batteries et les peintures.

Le plomb pénètre dans l'organisme par l'ingestion ou l'inhalation. Après absorption, il se distribue largement dans le corps par la circulation sanguine et se fixe très rapidement aux organes : 90 % de la quantité totale de plomb absorbé dans l'organisme est fixée sur le squelette, le reste s'accumule dans les tissus mous (foie, rein, rate, cerveau et muscle) et le sang (Rudy, 2009). Le plomb est très lentement éliminé dans les urines et les fèces, mais aussi la salive, la sueur et les phanères. Le plomb inhibe plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine provoquant une forme d'anémie. Le plomb a par ailleurs une action toxique sur le système nerveux central et périphérique en raison de la perturbation de la synthèse et l'action de l'acétylcholine. Chez les animaux, l'exposition au plomb peut conduire à des altérations dans les systèmes hématologiques, reproduction, immunitaire, vasculaire, nerveux, et les systèmes rénaux (Sharpe et Livesey, 2005).

III.2.2.2 Cadmium

Le cadmium est un constituant mineur de divers minerais, il est aussi un métal lourd toxique qui est largement présent dans l'environnement, le volcanisme est la principale source naturelle d'émission de cadmium dans l'environnement, mais aussi incendies de forêt, la production d'aérosols de sel de mer, ou d'autres phénomènes naturels (ATSDR, 2012). Les sources anthropiques de cadmium sont attachés à son utilisation dans les cas suivants : Les piles (83%), pigments (8%), des revêtements et des placages (7%), stabilisants pour les matières plastiques (1,2%), alliages non ferreux, des dispositifs photovoltaïques, et d'autres utilisations (0.8%) (ATSDR, 2012). Le cadmium est émis dans le sol, l'eau et l'air par l'exploitation minière des métaux non ferreux et le raffinage, la fabrication et l'application d'engrais phosphatés, la combustion de combustibles fossiles, l'incinération des déchets (ATSDR, 2012). Les utilisations industrielles du cadmium sont la principale source pour la pollution de l'environnement en Cd (Liu, 2003).

La voie principale de pénétration du cadmium dans l'organisme est l'ingestion, particulièrement par la consommation des aliments d'origine aquatique car ces aliments sont les plus contaminés en cadmium selon (ATSDR, 2003). L'absorption gastro-intestinale est généralement inférieure à 5 % chez des individus en bonne santé. Ce taux peut être augmenté lors de carence alimentaire en calcium, en fer, en zinc ou en protéines. Le cadmium est transporté par la circulation sanguine en fixant à l'hémoglobine des hématies (90-95 %), il est ensuite accumulé

principalement dans les reins et le foie, et il s'accumule aussi dans des autres organes mais avec des concentrations faibles (ATSDR, 2003). L'accumulation de cadmium chez les mammifères augmente avec l'âge selon plusieurs études.

L'entrée du cadmium dans les cellules de rein ou de foie induit la synthèse de la métallothionéine (protéine de faible poids moléculaire). Puis, il est séquestré par cette protéine qui le fixe et limite donc son action toxique, et ce complexe Cd-métallothionéine est transporté vers les autres organes. Le cadmium et ses composés ne sont pas métabolisés dans l'organisme et la métallothionéine peut lier jusqu'à sept atomes de cadmium. Le cadmium exercerait son action toxique sur les reins lorsqu'il est sous forme libre. Quand la synthèse des métallothionéines à l'intérieur des cellules ne permet plus une fixation totale du cadmium, les lésions cellulaires apparaissent, principalement sous la forme de troubles du fonctionnement rénal (Lemarchand, 2007). Particulièrement chez les mammifères, la plus grande partie du cadmium absorbé est excrété très lentement par voie urinaire ou dans les fèces en proportion approximativement égale, il peut également être éliminé dans la salive et les phanères. L'excrétion du cadmium par l'urine augmenterait avec l'âge (comme son accumulation dans l'organisme), et proportionnellement à la charge corporelle totale (Nordberg et al., 2007).

III.2.2.3 Mercure

Le mercure est l'un des métaux lourds le plus toxique dans notre environnement, y compris la lithosphère, l'hydrosphère, l'atmosphère et la biosphère, il est le seul métal présent sous forme liquide à température ambiante. Le mercure est présent naturellement dans l'écorce terrestre sous forme de sels, dont la forme la plus fréquente est le cinabre (sulfure mercurique). Il existe trois sources principales qui émettent Hg dans l'environnement : les sources naturelles, anthropiques et réémise. L'activité volcanique et l'évaporation de surface des océans constituent la source naturelle de la présence de vapeurs de mercure dans l'atmosphère, qui s'oxydent sous l'action de la lumière et deviennent donc hydrosolubles, avant de retomber sur les sols et rejoindre les eaux de surface. En milieu aquatique, sous certaines conditions, le mercure peut être méthylé par l'action des bactéries. Le mercure se trouve sous trois états dans l'environnement : les vapeurs de mercure, les composés inorganiques et les composés méthylés ($\text{CH}_3\text{-Hg}$ et $(\text{CH}_3)_2\text{-Hg}$). Certains procédés biologiques comme l'activité bactérienne dans les végétaux et les sédiments au fond des

lacs, des rivières et des océans peuvent transformer le mercure métallique en forme organique méthyl-mercure (Fitzgerald et al., 2007).

La majeure partie de mercure trouvée dans l'environnement vient principalement des sources naturelles. Par ailleurs, les sources anthropiques de mercure sont aussi très importantes, comme les rejets urbains, en agriculture (fongicides autrefois en Europe : ces composés sont interdits), l'exploitation minière, la fabrication de peintures, la combustion de combustibles fossiles (particulièrement les usines alimentées au charbon) et les rejets industriels (Zhang et Wong, 2007). C'est la raison pour laquelle les niveaux du mercure dans la chaîne alimentaire ont augmenté au cours des 100 dernières années.

Chez les mammifères la toxicité du mercure est très variable en fonction de la forme chimique et sa solubilité. En effet, le mercure de forme liquide (Hg°) est considéré comme très peu toxique car son absorption orale est très faible et son excrétion est quasi-totale (plus de 99 %) par les urines et les selles. Le mercure métallique sous forme de vapeur (Hg°) pénètre dans le sang par inhalation et s'accumule principalement dans l'organe cible (cerveau). Le mercure de forme ionisée pénètre dans l'organisme par voie orale ou cutanée et s'accumule dans le foie et les reins. Les formes organiques de mercure, comme le méthyl-mercure ($\text{CH}_3\text{-Hg}$) sont les formes les plus toxiques du mercure en raison de leur accumulation dans les organes, de leur capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique et de leur bioamplification dans les réseaux trophiques (Honda et al., 2006 ; Carrasco, 2011); le mercure peut atteindre les concentrations les plus fortes dans le tissu musculaire des poissons prédateurs et d'autres grands consommateurs comme les mammifères marins et les oiseaux.

Les formes organiques de mercure peuvent affecter le système immunitaire, modifier les systèmes génétiques et enzymatiques, et endommager le système nerveux (Zhang et Wong, 2007). La population est exposée au méthyl-mercure, principalement par la consommation des aliments contaminés d'origine aquatique comme les poissons, les coquillages et les crustacés, qui peuvent accumuler du mercure dans leurs tissus sous forme de méthyl-mercure (CH_3Hg).

La bioaccumulation de mercure dans les poissons dépend du niveau trophique, l'âge et la longueur de poisson selon (Zhang et Wong, 2007). Par ailleurs, Les niveaux de méthyl-mercure chez l'animal augmentent en aval de la chaîne alimentaire, du plancton aux poissons de grande taille, aux oiseaux et aux mammifères, y compris les humains.

Des espèces des poissons comme le doré, le thon et le requin peuvent avoir des niveaux élevés de méthyl mercure en raison de bioaccumulation et de bioamplification. Le mercure est suivi sur les produits de la pêche pour éviter toute exposition excessive des consommateurs. C'est un contaminant majeur des chaînes alimentaires aquatiques.

III.2.2.4 Cuivre

Le cuivre est un oligo-élément essentiel à la vie, pour son rôle important dans les systèmes biologiques mais cet élément peut présenter des effets toxiques si ses concentrations ont dépassé un certain seuil. Il est naturellement présent dans l'environnement, notamment sous forme de sulfures cuivreux ou cuivriques (valence +1 et +2, respectivement), d'oxydes de cuivre (CuO) ou de carbonates basiques. Le cuivre se trouve aussi dans les roches basaltiques, les schistes et les roches sableuses. Il se trouve également dans les sols, la plupart de cette quantité (98%) est sous forme complexée à la matière organique, il ne voyage donc pas très loin et il ne pénètre presque jamais dans les eaux souterraines. Dans les eaux de surface, une fois les sols lessivés par les pluies, le cuivre peut parcourir de longues distances et s'accumuler dans les eaux de rivière et les sédiments. Les sources anthropiques du cuivre sont très importantes. En effet, le cuivre est utilisé dans différents domaines par exemple à l'état métallique, il est employé en électricité, en métallurgie et chaudronnerie, il est aussi utilisé dans les pigments. Par ailleurs, le cuivre est utilisé dans la fabrication des fongicides et insecticides car il possède des propriétés oxydantes qui en font un biocide naturel (Richard-Mazet, 2005 ; Lemarchand, 2007).

Le cuivre est un élément qui est essentiel pour la santé. En effet, il exerce plusieurs fonctions comme :

- Intervention dans la production des enzymes indispensables à notre organisme (collagène, élastine, mais surtout de l'hémoglobine)
- Intervention dans la formation des cartilages, des os
- Fonctionnement de système nerveux central
- Limite les dégâts causés par le stress oxydatif (action anti-oxydante)

L'exposition au cuivre est normale ; son entrée dans l'organisme peut se faire principalement par l'ingestion d'aliments ou d'eau, où entre 55 % et 75 % du cuivre ingéré est absorbé. Le foie est le principal organe de stockage du cuivre et ce stockage se fait à l'aide de

métallothionéines hépatiques. Chez les mammifères l'excrétion du cuivre passe majoritairement par la bile, et en quantités faibles dans la sueur, la salive et les phanères (Cassereau, 2001).

Les intoxications par le cuivre apparaissent surtout chez les ruminants, et cela pourrait se passer dès que les capacités de stockage de foie sont dépassées, les signes d'intoxication sont : anémie, nécroses hépatiques et rénaux, syndrome hémolytique, hémoglobinurie, symptômes nerveux. La dose toxique de cuivre est de l'ordre de 15 à 30 mg/kg pour les ruminants, et supérieure à 250 mg/kg pour les monogastriques qui sont plus résistants (Cassereau, 2001).

III.2.3 Contamination de la loutre

Plusieurs études ont été effectuées sur les résidus des ETM dans la loutre d'Europe, ces études ont démontré qu'il y a des concentrations des ETM (plomb, cadmium, mercure et cuivre) dans les tissus de la loutre ce qui confirme une exposition très répandue de la loutre à la contamination par ces minéraux.

Dans les études effectuées en grand Bretagne, en Autriche, en République tchèque, en Hongrie, en Ecosse, en Espagne et en France, les concentrations en **plomb** sont généralement inférieures à 2 mg/kg poids sec dans le foie de la loutre (Mason et al., 1986 ; Kruuk et Conroy, 1991 ; Gutleb et al., 1998 ; Ruiz-Olmo et al., 2000 ; Lanszki et al., 2009). Ces valeurs sont largement inférieures au seuil toxique défini (entraînant la mort ou l'arrêt de la reproduction), qui atteint 25 mg/kg poids sec, proposé par Ma. (1989) pour les tissus des mammifères. En France, Lemarchand et al. (2010) ont analysé les concentrations en plomb dans les foies des loutres prélevés sur la Rivière Loire, ces valeurs n'ont pas dépassé 1 mg/kg poids sec de foie. De plus, il n'y avait pas de différences significatives entre les individus analysés en fonction de l'âge ou du sexe concernant le plomb dans la même population.

Différents auteurs ont mesuré les concentrations de **cadmium** dans les tissus de loutres de plusieurs espèces, et ces concentrations sont généralement faibles, inférieures à 4 mg/kg poids sec dans le foie ou le rein (Mason et al., 1986 ; Gutleb et al., 1998 ; Ruiz-Olmo et al., 2000 ; Hyvärinen et al., 2003 ; Colas et al., 2005 ; Lanszki et al., 2009 ; Lemarchand et al., 2010) ; et ces valeurs sont largement inférieures à 100 mg/kg poids sec dans les tissus de mammifères, qui est considérée comme un seuil critique (Gutleb et al., 1998). Lemarchand et al. (2010) ont indiqué

que les concentrations de cadmium dans le foie des loutres ne sont pas significativement différentes en fonction de l'âge ou du sexe.

Les concentrations du **cuivre** dans le foie des loutres ont été mesurées dans de nombreuses études européennes, elles étaient faibles en République Tchèque, au Danemark, en Irlande et en Hongrie (17.1-23.84 mg/kg poids sec) (Gutleb et al., 1998 ; Mason et Stephenson, 2001 ; Lanszki et al., 2009), elles étaient plus élevées dans le foie des loutres (28.3-38.7 mg/kg poids sec) prélevés en Autriche, en France et en Royaume-Uni (Gutleb et al., 1998 ; Ruiz-Olmo et al., 2000 ; Mason et Stephenson, 2001). En France, dans l'étude menée sur la loutre de la Rivier Loire moyenne en 2010, les concentrations en cuivre étaient 2 à 3 fois plus élevées que celles observés dans les données de la bibliographique en Europe. Cependant, alors que la toxicité du cuivre est assez délicate à évaluer, il semble que les valeurs mesurées dans la bibliographie restent dans une limite sans risques d'effets toxicologiques immédiats sur la loutre (Gutleb et al., 1998 ; Mason et Stephenson, 2001 ; Lanszki et al., 2009 ; Lemarchand et al., 2010).

Les concentrations du **mercure** ont été largement analysées chez les loutres où l'exposition de ces dernières au mercure est très répandue, car elles consomment essentiellement des poissons. Le mercure est généralement considéré comme le métal la plus nocif pour la loutre, et le « mercurialisme » a été parfois identifié comme un agent causal de la mort (Gutleb et al., 1998 ; Evans et al., 2000). Le mercure a été détecté dans les tissus des loutres par plusieurs études. En effet, la concentration moyenne du mercure la plus faible a été détectée en Espagne (0.99 mg/kg poids sec dans le foie) (Ruiz-Olmo et al., 2000), mais ces concentrations étaient les plus élevées en Ecosse et à l'ouest de la France (9.5 – 12.8 mg/kg poids sec) (Kruuk et Conroy, 1991 ; Ruiz-Olmo et al., 2000). Dans une étude effectuée au centre de la France, Lemarchand et al. (2010) ont trouvé que la concentration moyenne du mercure (2.1 mg/kg poids frais de foie) était supérieure à celle observée dans la littérature sur l'espèce (Mason et al., 1986 ; Evans et al., 2000 ; Strom, 2008 ; Lanszki et al., 2009), mais reste inférieure à celle mesurée dans l'ouest de la France (Ruiz-Olmo et al., 2000).

Lanszki et al. (2009) ont estimé que le seuil toxique de mercure pour la loutre est de 30 mg/kg poids frais. Dans la bibliographie européenne, les concentrations en mercure dans quelques individus des loutres analysés étaient parfois supérieures au seuil toxique, mais la plupart des

études ont généralement trouvé des concentrations en mercure le plus souvent inférieures à 10 mg/kg poids sec dans le foie ou les reins, sans voir des signes cliniques.

III.2.4 Contamination du grand cormoran

Les concentrations de quatre ETM (plomb, cadmium, cuivre et mercure) dans les différents tissus des cormorans ont été étudiées par plusieurs auteurs (Saeki et al., 2000 ; Fabczak et al., 2003 ; Nam et al., 2005 ; Houserova et al., 2007 ; Goutner et al., 2011 ; Misztal-Szkudlinska et al., 2011 ; Skoric et al., 2012 ; Lemarchand et al., 2013), ce qui confirme que les cormorans sont exposés à l'accumulation de ces métaux dans leurs tissus, et ceux-ci sont fréquemment utilisés comme bioindicateurs pour contamination des métaux.

Les concentrations en **plomb** dans les foies de grands cormorans (*Phalacrocorax carbo*) prélevés en Pologne, au Japon, en Hongrie, en Serbie et en France étaient généralement faibles, inférieures à 1,0 mg/kg de poids sec en moyenne (Fabczak et al., 2003 ; Nam et al., 2005 ; Skoric et al., 2012 ; Lehel et al., 2013 ; Lemarchand et al., 2013). Ces dernières valeurs sont aussi inférieures à 5 mg/kg en poids sec, et ce qui concerne l'exposition environnementale d'autres oiseaux aquatiques au plomb. Par ailleurs, Ochiai et al. (1992, 1993a, 1993b) ont indiqué que la concentration en plomb de 10,15 mg/kg en poids sec du foie et de 20,65 mg/kg en poids sec des reins est responsable des symptômes initiaux d'intoxication (clinique et macroscopique) chez les oiseaux aquatiques sauvages. Les concentrations en plomb n'étaient pas significativement différentes en fonction de l'âge ou du sexe des cormorans selon la bibliographie (Fabczak et al., 2003 ; Lehel et al., 2013 ; Lemarchand et al., 2013).

Chez les autres oiseaux aquatiques (par exemple, les espèces de manchots Adélie, d'albatros et de pétrels), les niveaux de plomb étaient également faibles, allant de 0,03 à 0,34 mg/kg de poids sec (Honda et al., 1986 ; Kim et al., 1998).

De plus, il n'y avait pas de signes manifestes d'intoxication par le plomb chez la population de cormorans dans les études précédentes, c'est pour cela qu'il nous semble que le plomb n'a pas un effet pour la conservation de l'espèce, au moins sur le court terme.

En ce qui concerne la contamination des cormorans par le **cadmium**, par exemple, au Japon Nam et al. (2005) ont montré que la concentration du cadmium la plus élevée était dans le rein

(3,31 mg/kg de poids sec), ensuite dans le foie (1,15 mg/kg de poids sec), et ces concentrations ne constituaient pas une menace pour le grand cormoran. En France, Lemarchand et al. (2013) ont observé des variations significatives des concentrations en cadmium dans les grands cormorans en fonction de différents sites d'étude, les valeurs étaient de l'ordre de 0,2 à 2,1 mg/kg de poids sec. Cependant, ces valeurs n'ont pas de conséquences toxicologiques comme des perturbations de reproduction ou des mortalités directes. Les différences observées entre les sites d'étude pourraient être liées à des sources ponctuelles de contamination. Dans l'étude effectuée en Serbie, le cadmium n'a pas été détecté dans les foies des grands cormorans.

Le **cuivre** est un oligo-élément essentiel, mais il peut être toxique en concentrations élevées. Malheureusement, les données toxicologiques du cuivre dans les oiseaux sont rares et les concentrations physiologiques de cuivre diffèrent selon les espèces aviaires (Pérez-López et al., 2006). Un niveau plus élevé de cuivre dans les oiseaux pourrait induire l'anémie (Hui et al., 1998). Selon Skoric et al. (2012), l'augmentation des concentrations de cuivre dans le foie de la carpe commune et de carpe prussienne pourrait être la source de leur augmentation dans le foie du cormoran. Tandis que Hui et al. (1998) n'ont détecté aucun des effets négatifs chez l'Oie des neiges (*Anser c.caerulescens*) avec une augmentation de taux du cuivre hépatique (24,5-626,5 mg/kg en poids sec), il est confirmé que dans certains cas il peut conduire à une nécrose et fibrose du foie avec une concentration de 1050 mg/kg poids frais.

En France, la moyenne des concentrations du cuivre dans les foies des grands cormorans était de 22,9 mg/kg en poids sec (Lemarchand et al., 2013), au Japon ces concentrations étaient inférieures à 43 mg/kg en poids sec de foie selon (Nam et al., 2005). Il semble que les précédentes concentrations du cuivre ne constituent pas une menace pour la conservation du grand cormoran en France et au Japon selon les auteurs, au moins à court terme.

Les concentrations en **mercure** dans les grands cormorans ont été décrites par nombreuses études. Des concentrations élevées de mercure sont capables de perturber le système immunitaire et nerveux chez les oiseaux, les concentrations en mercure dans le foie entre 4 à 40 mg/kg en poids sec peuvent avoir un impact négatif sur la croissance, le développement, la reproduction, la chimie sanguine et tissulaire, le métabolisme et le comportement chez les cormorans (Goutner et al., 2011 ; Skoric et al., 2012).

En Grèce, Goutner et al. (2011) ont trouvé que la plupart des grands cormorans analysés a des concentrations en mercure toxiques, dans 83,7 % des cormorans, les résidus du mercure étaient supérieurs à 4 mg/kg en poids sec et, pour 16 % d'entre eux supérieurs à 17 mg/kg.

Dans l'étude menée en Serbie, Skoric et al. (2012) ont indiqué que le mercure s'est principalement concentré dans les foies et les muscles de grand cormoran, sa concentration dans les juvéniles et sous-adulte était de 6,15 mg/kg en poids sec dans le foie (>4 mg/kg), tandis que cette concentration était de 3,18 mg/kg en poids sec dans le foie chez les adultes.

Dans les bassins de la Loire en France, les concentrations du mercure dans les foies des grands cormorans étaient entre 1,5 et 2,4 mg/kg en poids sec, la valeur moyenne était de 1,9 mg/kg poids sec. De plus, les différences mesurées entre les sites ou en fonction du sexe ou de l'âge des cormorans ne se sont pas significatives (Lemarchand et al., 2013). Par ailleurs, l'accumulation du mercure dans le foie n'est pas significativement différente en fonction de l'âge des grands cormorans collectés en Grèce et au Japon (Goutner et al., 2011 ; Nam et al., 2005 ; Saeki et al., 2000). Au contraire aux Pays-Bas, la concentration du mercure dans les grands cormorans adultes est significativement supérieure à celle observé chez les jeunes (Platteeuw et al., 1995).

En général, Goutner et al. (2011) ont trouvé que les concentrations en mercure dans les grands cormorans de Grèce étaient supérieures à celles observés dans des autres pays comme le Japon, la France, la Hongrie et la Serbie (tableau 6)

Tableau 6 : Concentrations moyennes des éléments traces métalliques (plomb, cadmium, cuivre et mercure) dans le foie de cormorans (mg/kg de poids sec).

Zone	Pb	Cd	Cu	Hg	référence
Lake Biwa, Japon	-	1,25	-	3,39	Saeki et al., 2000
Lake Biwa, Japon	0,07	1,15	42,3	3,4	Nam et al., 2005
Lake Mie, Japon	0,08	0,76	34,3	7,4	Nam et al., 2005
République tchèque	-	-	-	42,2	Houserova et al., 2007
Lake Balaton, Hongrie	0,67	-	-	4,47	Lehel et al., 2013
Grèce	-	-	-	8,08	Goutner et al., 2011
Serbie	nd	nd	3,0	5,26	Skoric et al., 2012
Pologne	0,76	-	-	-	Fabczak et al., 2003
France	0,8	1,2	22,9	1,9	Lemarchand et al., 2013

Nd : non détecté

- : pas de données

III.2.5 Contamination de Silure glane

L'accumulation d'ETM dans les eaux douces a des conséquences directes pour l'homme et l'écosystème, ces métaux se transfèrent dans la chaîne alimentaire aux niveaux différents. Plusieurs études ont montré l'accumulation de quatre métaux lourds (Pb, Cd, Cu et Hg) dans les tissus de Silure glane.

En Italie, le **plomb** a été détecté dans les tissus de silure glane (foie, muscle, rein et branchies), avec une concentration moyenne 0.05, 0.04, 0.05 et 0.06 mg/kg poids frais, respectivement. Les résidus du plomb dans les muscles de silure étaient inférieurs à la LMR (0.3 mg/kg) pour la consommation humaine (Squadrone et al., 2013). En Serbie, Subotic et al. (2013) n'ont pas trouvé des résidus du plomb dans les foies de silure glane analysés. En Croatie, les concentrations de plomb dans les foies de silure étaient supérieures à celles observés dans les autres pays européens (moyenne 0.16 mg/kg poids frais) (Matasin et al., 2011). Par ailleurs, il n'y

avait pas de corrélations positive ($p > 0.05$) entre la longueur/l'âge de silure glane et les niveaux de plomb dans ses tissus selon l'étude menée en Slovénie (Mazej et al., 2010).

De nombreuses études ont mesuré les résidus de **cadmium** dans les tissus de silure glane. Squadrone et al. (2013) ont trouvé que le cadmium s'accumule particulièrement dans le rein (moyenne 0.32 mg/kg poids frais), et la teneur en cadmium dans les muscles de silure était faible. Dans l'étude effectuée en Serbie sur la Rivier Danube, les concentrations en cadmium dans les foies et les muscles de silure glane étaient généralement faibles, inférieures à 0,07 mg/kg poids sec (Subotic et al., 2013). Ces résidus sont aussi faibles (< 0.01 mg/kg PF) dans les tissus (foie et muscle) de silure glane prélevés en Slovénie, et la taille du silure n'a pas d'effet sur le niveau d'accumulation de cadmium dans cette espèce (Mazej et al., 2010).

Pour ce qui concerne le **cuivre** chez le silure, il n'existe pas beaucoup de données dans la littérature. Deux études sur les silures prélevés en Croatie et en Serbie, donnent une concentration moyenne de cuivre dans le foie de 3.98 et 8.37 mg/kg poids sec, respectivement (Matasin et al., 2011 ; Subotic et al., 2013).

Les concentrations du **mercure** dans le silure glane ont été mesurées par plusieurs auteurs. Squadrone et al. (2013) ont montré que le mercure se concentrait principalement dans le muscle et le foie, avec moyenne 0.34 et 0.25 mg/kg poids frais, respectivement. Les résidus du mercure musculaire étaient supérieurs à la LMR (0.5 mg/kg pf) dans 18 % de silures analysés, l'accumulation de mercure dans les tissus de silure est significativement différente avec la longueur, le poids ou l'âge de cette espèce, les femelles de silure contenaient des concentrations du mercure plus élevées que celles observé chez les mâles selon (Carrasco et al., 2011 ; Squadrone et al., 2013, 2015).

En Slovénie, Mazej et al. (2010) ont indiqué que les concentrations du mercure dans les muscles (0.19 mg/kg pf) étaient supérieures à celles trouvés dans les foies du silure (0.12 mg/kg pf). En Serbie, les résidus moyens du mercure dans les foies et les muscles du silure glane sont 1.90 et 1.63 mg/kg poids sec, respectivement (Subotic et al., 2013), tandis qu'en République Tchèque ces concentrations dans les muscles ont varié entre 0,35 et 0,58 mg/kg pf selon Cerveny et al.

(2014). Quelques données de la littérature ont indiqué que la teneur en mercure dans les muscles et les foies des poissons, compris le silure glane peuvent être supérieures à celles observées dans les autres tissus (Voigt, 2000 ; Navarro et al., 2009 ; Squadrone et al., 2013). La concentration de Hg dans le muscle de silure a atteint de 0.050 mg.kg^{-1} pf concernant les échantillons collectés en France (Noel et al., 2013), ces concentrations étaient inférieures à celles observées dans les autres pays européens.

De plus, l'accumulation de mercure dans les tissus de poissons dépend de plusieurs facteurs comme la longueur de la chaîne alimentaire. En effet, plusieurs études ont montré que le mercure s'accumule aux niveaux élevés dans les tissus de poissons prédateurs comme le silure glane et la perche commune en comparaison les autres espèces de poissons non prédateurs comme la carpe commune et l'ablette selon Voigt, 2000 ; Łuczyńska et al., 2006 ; Mazej et al., 2010.

III.2.6. Contamination des proies comme les poissons

Dans l'étude de Beck. (2011), tous les métaux lourds analysés sont retrouvés, dans tous les poissons, sur tous les sites de prélèvements de la Loire.

Le plomb

Il est d'abord intéressant de rappeler que l'absorption du plomb par le système digestif des poissons est faible, et la plupart du plomb présent dans les tissus des poissons est capté par les branchies. Ensuite, il se distribue dans le foie, les reins et les os, mais très peu, en proportion, dans les muscles.

Le plomb a été détecté dans tous les poissons prélevés comme le chevesne, le gardon et le barbeau, avec des concentrations de 0,014 à 0,27 mg/kg PV. Il semble que la contamination par le plomb des poissons est stable tout au long de la rivière Loire (généralement de 0,07 mg/kg PV).

Le cadmium

Pour le cadmium, Les niveaux de contamination dans les poissons de la Loire sont globalement faibles (Beck, 2011), entre 0 et 6 $\mu\text{g/kg}$ PV. C'est-à-dire que cet élément reste un

peu présent dans les premiers compartiments des réseaux trophiques mais par contre il a une tendance à s'accumuler chez les prédateurs et super prédateurs.

Le cuivre

La concentration en cuivre dans les poissons de la Loire semble relativement homogène tout au long de la rivière, ces concentrations sont comprises entre 2,8 à 6,3 mg/kg PV (sur poisson total), inférieures au seuil de 10 mg/kg PV sur poisson total, qui est prise dans le cadre d'une contamination. Selon Lemarchand et al. (2013), il est proposé que l'accumulation du cuivre chez les poissons est assez faible mais un transfert et une amplification importante de cet élément vers les piscivores comme la loutre et le grand cormoran reste possible.

Nous pouvons donc conclure que la contamination des poissons du bassin de la Loire est apparue globalement complexe, variable d'un site et / ou d'une espèce à l'autre. Pour les pesticides organochlorés, les métabolites du DDT sont rares, et le lindane est l'élément le plus fréquemment détecté. Les PCBs ont également été systématiquement détectés, à la fois pour l'ensemble des sites et des espèces, les concentrations sont localement importantes, par comparaison avec les études bibliographiques. Ces résultats confirment la présence d'une multitude de sources ponctuelles de contamination des poissons entre l'amont et l'aval. Tous les métaux recherchés (Pb, Cd et Cu) sont systématiquement détectés, le plomb et le cuivre sont les plus abondants, le plomb et le cadmium étaient abondants sur le site d'étude proche des barrages de la Loire.

III.3 Les rodenticides anticoagulants

III.3.1 Définition et utilisation

Les rodenticides anticoagulants anti-vitamine K sont très largement utilisés dans le monde pour contrôler les populations de petits mammifères, et occupent le premier lieu dans la lutte contre différents rongeurs anthropophiles commensaux (rat noirs, surmulots, souris) ou ravageurs des cultures (mulots, campagnols, ragondins). En fonction de la substance active, les AVKs peuvent être utilisés soit dans ou autour des bâtiments ou en nature afin de contrôler les rongeurs champêtres et certains autres mammifères nuisibles.

Nous distinguons en général deux générations d'anticoagulants :

- la première génération, y compris la warfarine (coumafène en France), la diphacinone, le coumatétralyl et la chlorophacinone,
- La deuxième génération comprend brodifacoum, bromadiolone, difenacoum, diféthialone et flocoumafène

Les composés de première génération sont rapidement métabolisés, ont une demi-vie plus courte dans le tissu hépatique (2 semaines à plusieurs mois) (Eason et al., 2002), et en général il ne sont efficaces qu'après ingestions répétées par les rongeurs, c'est-à-dire que l'animal visé doit donc se laisser tenter par l'appât plusieurs jours. La deuxième génération a été introduite sur le marché dans les années 1970 en raison de la résistance des rats surmulots (*Rattus norvegicus*) et les souris domestiques (*Mus musculus spp*) à la première génération (Thijssen et al., 1989). Les composés de seconde génération sont actifs après une seule prise, plus persistants dans les tissus animaux, les demi-vies hépatiques allant de 6-12 mois, et peuvent persister dans le tissu hépatique pendant plus d'un an chez certaines espèces (Eason et al., 2002 ; Fisher et al., 2003).

III.3.2 Mode d'action

Tous les composés rodenticides anticoagulants ont une analogie structurale avec la vitamine K, ce qui leur confère un mécanisme d'action commun : ils se lient au complexe enzymatique assurant le recyclage de la vitamine K, la vitamine K époxyde réductase (VKOR). Le recyclage de la vitamine K (passage de sa forme époxyde à sa forme réduite), est ainsi inhibé. L'absence de vitamine K sous forme réduite empêche l'activation de certains facteurs de

coagulation (les facteurs II, VII, IX et X), ce qui conduit à des troubles de la coagulation (Berny, 2011). Ils apparaissent plusieurs jours après l'ingestion, le temps pour l'organisme d'épuiser son stock de vitamine K réduite. Cet effet retardé a un double avantage. D'abord l'efficacité des AVKs contre les animaux néophobes comme les rats est plus grande que celle des poisons foudroyants. Par ailleurs, cet effet retardé des AVKs permet d'administrer l'antidote (la vitamine K) à l'animale non-cible lorsqu'ils présentent les premiers symptômes d'intoxication (Mason et Littin, 2003).

III.3.3 Contamination des prédateurs par des AVKs

Les rodenticides anticoagulants ont été introduits sur le marché pour la lutte contre les rongeurs nuisibles, mais malheureusement, les espèces non-cibles peuvent être aussi affectées, soit directement par l'ingestion d'appâts empoisonnés (exposition primaire) ou indirectement par la consommation de proies contaminées (exposition secondaire) (Lambert et al., 2007). L'exposition de la faune non cible aux AVKs a été rapportée pour de nombreuses espèces de prédateurs de mammifères et d'oiseaux dans le monde entier, par exemple en Angleterre, en France, aux Etats-Unis, en Nouvelle Zélande et en Espagne (Berny et al., 1997 ; McDonald et al., 1998 ; Eason et al., 2002 ; Riley et al., 2007 ; Stone et al., 2003 ; Lambert, 2007 ; Walker et al., 2008 ; Elmeros et al., 2011 ; Ruiz-Suárez et al., 2014, 2016 ; Poessel et al., 2015). Ces intoxications comprennent donc des espèces qui sont protégées voire classées dans la liste rouge de l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) comme potentiellement menacées avec par exemple Milan Royal en Europe (Berny et Gaillet, 2008) et la Puma en Amérique (Riley et al., 2007).

Pour les espèces non ciblées, le risque d'empoisonnement secondaire par la deuxième génération d'anticoagulants est généralement supérieur à celui observé pour la première génération en raison de leur toxicité élevée et sa persistance longue dans les tissus des vertébrés (Erickson et Urban, 2004). Par ailleurs, même si l'exposition primaire des animaux non-cibles peut être réduite par l'utilisation de stations d'appât, l'exposition secondaire est plus difficile à contrôler en raison de l'effet prolongé de l'anticoagulant (Eason et al., 2002).

En France, plusieurs auteurs ont étudié l'empoisonnement de rodenticides et ils ont constaté que l'empoisonnement secondaire est très commun en raison de l'utilisation abondante des

rodenticides (Berny et al., 1997, 2008 ; Fournier-Chambrillon et al., 2004 ; Lambert et al., 2007). Par exemple dès les premières années d'utilisation de la bromadiolone dans le massif du Jura, des empoisonnements de faune sont signalés. En 1982, 70 cadavres d'animaux sauvages, dont des buses, milans royaux et renards, sont découverts suite à une campagne de traitements dans le canton de Neuchâtel (Jacquat, 1982). Selon Berny et al. (1997), l'empoisonnement d'anticoagulants est l'une des causes les plus courantes pour intoxication chez les animaux domestiques et sauvages en France. Dans cette étude, la bromadiolone a été détectée dans le foie de 22 des 31 renards roux, 15 des 16 buses, 2 des 13 lapins (*Oryctolagus cuniculus*), 2 des 14 lièvres (*Lepus europaeus*), 2 des 2 chevreuils (*Capreolus capreolus*) et 2 des 2 fouines (*Martes foina*). Les rodenticides anticoagulants ont été détectés dans le foie de 22 sur 30 rapaces (73%) et 4 sur 28 oiseaux d'eau (14%) selon Lambert et al. (2007). Les rapaces ont été fréquemment plus contaminés que les oiseaux d'eau. Cela montre une relation entre les résidus des rodenticides et les différents régimes alimentaires des espèces. Au cours de la période 1992-2002, 62 milans royaux ont été retrouvés morts et l'empoisonnement était la cause de la mort dans plus de 80% de ces cas (Berny et Gaillet, 2008).

Dans l'étude menée au Danemark par Christensen et al. (2012) sur les résidus de cinq rodenticides anticoagulants dans le foie de cinq espèces de rapaces diurnes et six d'hiboux, au total 430 oiseaux ont été analysés. Les anticoagulants ont été détectés dans 84-100% des oiseaux individuels au sein de chaque espèce, difénacoum, bromadiolone et le brodifacoum étaient les plus répandus et la deuxième génération des anticoagulants représentent 96% de total des anticoagulants qui ont été trouvés dans les échantillons. Il y avait des variations fortes dans les concentrations totales des AVKs en fonction de la saison, les niveaux les plus bas ont été observés à l'automne, ce qui est probablement lié à un afflux d'oiseaux migrants provenant du nord de la Scandinavie où des AVKs sont moins utilisés car la densité humaine et l'utilisation des terres sont moins intenses (Lodal et Hansen, 2002).

Langford et al. (2013) ont étudié l'occurrence du flocoumafène, diféthialone, difénacoum, bromadiolone et brodifacoum dans le foie des cinq espèces de rapaces retrouvés morts en Norvège entre 2009 et 2011. Les AVKs brodifacoum, bromadiolone, difénacoum et flocoumafène ont été détectés dans les foies de l'aigle royal (*Aquila chrysaetos*) et du Hibou

grand-duc (*Bubo bubo*), et leur concentration totale était entre 11 et 255 ng/g poids frais dans environ 70% des aigles royaux et 50% des hiboux examinés dans cette étude. Le brodifacoum et la bromadiolone ont été les SGAR les plus abondants (37% et 23% des échantillons, respectivement). Le difénacoum et flocoumafène ont également été fréquemment détectés, dans 7 et 10% des échantillons, respectivement. Par ailleurs, aucun SGARs n'a été détecté dans les foies de faucon pèlerin (*Falco peregrinus*), faucon gerfaut (*Falco rusticolus*), ou le balbuzard pêcheur (*Pandion haliaetus*), cela peut être en raison du petit nombre d'échantillons, mais aussi en raison des habitudes alimentaires différentes car les deux faucons mangent principalement des oiseaux et occasionnellement des mammifères, les balbuzards se nourrissent exclusivement de poisson.

En Espagne Ruiz-Suárez et al. (2014) ont évalué l'exposition de six rapaces (*Buteo buteo*, *Accipiter nisus*, *Falco pelegrinoides*, *Falco tinnunculus*, *Asio otus* et *Tyto alba*) aux rodenticides anticoagulants, ils ont trouvé que 61% des foies avaient des résidus détectables d'au moins un des AVKs. Bromadiolone, brodifacoum, difénacoum et chlorophacinone étaient couramment détectés dans les six espèces, et fréquemment le rodenticide le plus détecté était le bromadiolone, qui a été détecté dans 60,3% des cas positifs. Les fréquences de détection de ces composés varient considérablement selon l'espèce. En effet, plus de 75% des individus de (*A. nisus*, *T. alba* et de *A. otus*) avaient des résidus de rodenticides détectables dans le foie, tandis que les fréquences de détection étaient plus faibles dans *B. buteo* et *F. pelegrinoides* (environ 30%). Les concentrations les plus élevées ont été mesurées dans *F. tinnunculus*. Environ 35% de ces rapaces ont dépassé les seuils toxiques pour ces composés (0,1-0,2 mg/kg poids frais de foie) qui ont été établis dans certaines espèces de rapaces (Thomas et al., 2011 ; Stansley et al., 2013). Par contre la plupart des animaux n'ont aucun signe macroscopique de troubles de la coagulation, il est aussi important de reconnaître qu'il existe une grande variation de sensibilité aux AVKs entre différentes espèces des rapaces (Erickson et Urban, 2004 ; Thomas et al., 2011).

De plus, Ruiz-Suárez et al. (2014) ont indiqué que le profil de contamination par les AVKs dépend des habitudes alimentaires des rapaces examinés dans leur étude. En effet, Les concentrations des AVKs étaient plus élevées chez les rapaces (*A. otus*, *T. alba*, et *B. buteo*) qui se nourrissent principalement de petits mammifères et de reptiles que les rapaces dont le régime alimentaire était principalement composé des oiseaux (*F. tinnunculus*, *F. pelegrinoides* et *A.*

nisus) ($p < 0,01$). L'accumulation des résidus d'AVKs dans les rapaces qui se nourrissent des petits mammifères n'est pas surprenante car les AVKs sont utilisés pour lutter contre les petits mammifères (comme les souris et les rats) qui peuvent accumuler des niveaux très élevés de ces composés chimiques dans leur foie et le tube digestif. Cependant, il est intéressant d'observer que les rapaces qui se nourrissent d'autres oiseaux ont aussi des niveaux élevés de ces contaminants, alors que les oiseaux ne sont pas les espèces cibles pour ces rodenticides, c'est-à-dire que beaucoup des oiseaux granivores peuvent en fait ingérer les appâts AVKs ou être exposés par la chaîne alimentaire et accumuler ces contaminants dans leur corps, mais la source de contamination reste obscure. Ainsi, les rapaces qui chassent ces oiseaux seraient également exposés à des quantités importantes de ces composés. Les oiseaux insectivores constituent théoriquement une source mineure d'AVKs pour les rapaces, cependant certains invertébrés peuvent se nourrir des appâts AVKs sans éprouver des effets indésirables (Spurr et Drew, 1999 ; Johnston et al., 2005a), et ces invertébrés vont devenir comme un réservoir d'anticoagulant pour leurs prédateurs. Ainsi, les rapaces qui se nourrissent d'oiseaux insectivores peuvent également être exposés à des quantités considérables d'AVKs.

Les études sur l'exposition indirecte des espèces non-cibles aux rodenticides anticoagulants se sont largement concentrées sur les prédateurs (oiseaux et mammifères) qui consomment des rongeurs empoisonnés (Berny et al., 1997 ; McDonald et al., 1998 ; Shore et al., 2003 ; Sánchez-Barbudo et al., 2012 ; Langford et al., 2013 ; Stansley et al., 2014 ; Ruiz-Suárez et al., 2014 ; Poessels et al., 2015). Toutefois, les invertébrés peuvent être une voie potentielle de contamination pour les vertébrés insectivores (Spurr et Drew, 1999), par contre l'exposition des insectivores aux AVKs a rarement été étudiée, c'est la raison pour laquelle Dowding et al. (2010) ont effectué une étude en Grande-Bretagne sur l'exposition de 120 hérissons européens (*Erinaceus europaeus*) aux AVKs (FGARs et SGARs). Dans cette étude, les SGARs ont été détectées chez 69 hérissons (57,5%), les FGARs ont été détectés chez 27 animaux (22,5%). Globalement, au moins un de FGAR ou un SGAR ont été trouvés dans 80% de Hérissons. Le difénacoum et la bromadiolone étaient les plus présents dans les hérissons, suivis par le brodifacoum, coumatétralyl et la warfarin. Étant donné que les hérissons se nourrissent exceptionnellement de rongeurs, il est intéressant de noter que la prédation des invertébrés contaminés est une voie plausible et sans doute importante par laquelle les hérissons sont exposés

aux AVKs. Ces rodenticides peuvent donc poser un risque pour les mammifères et les oiseaux insectivores (Empson et Miskelly, 1999 ; Robertson et Colbourne, 2001) et bien sûr pour les prédateurs mammifères et des oiseaux par la contamination potentielle des invertébrés.

Deuxième partie :
Etude expérimentale

I. MATERIEL ET METHODES

I.1 Sites d'étude pour les prédateurs

Pour réaliser cette étude, plusieurs sites de prélèvements ont été sélectionnés sur les bassins de la rivière Loire au centre et à l'ouest de la France, le choix de ces sites est en fonction de plusieurs facteurs : la diversité des habitats et du fonctionnement du bassin ligérien, la répartition supposée des prédateurs ciblées, les éventuels effets de l'agriculture intensive.

Il n'était pas possible de prélever systématiquement toutes les espèces (loutre, cormoran et silure) dans chacun des sites d'études. Cependant, nous avons finalement réussi à respecter la couverture souhaitée en regardant le nombre total des espèces et l'origine géographique des prédateurs collectés.

Pour des raisons légales, pratiques éthiques et conservation des espèces, notre stratégie d'échantillonnage a été concentrée sur les individus trouvés morts pour la valorisation scientifique, à l'exception des espèces invasives pour lesquelles un prélèvement est autorisé (cormorans) ou des silures, sans statut de protection. En fin, nous avons fait au mieux selon les contraintes géographiques, ou les aspects éthiques liés au statut des espèces.

I.2 Collecte des échantillons des prédateurs

I.2.1 Loutres

Les populations reproductrices de loutres d'Europe sont encore très faibles à l'échelle nationale, et dans la mesure de statut de protection de la loutre, il n'y a aucun choix possible de site de prélèvement. Ainsi, dans la mesure où il n'était pas question d'organiser un prélèvement actif, mais juste de récupérer des animaux déjà morts, au sein du bassin de la Loire.

Dans notre étude, une partie des loutres mortes ont été collectées via l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS, réseau de suivi des mammifères du bassin de la Loire), afin de valoriser les loutres victimes de collisions avec des véhicules et récupérées par les agents des services départementaux. Ensuite, une valorisation efficace et fiable, riche d'enseignements, y compris des aspects toxicologiques ont été effectués (figure 14).

L'autre partie des loutres mortes a été récupérée à l'aide du Muséum d'Orléans, via un réseau important de collaborateurs, comme l'association Pro Lutra, l'ADEV Sud-Vendée, la LPO

Vendée, les fédérations de chasse, le PIR du Marais Poitevin, le Centre d'études des mammifères marins, le Pôle Sciences de l'Université de La Rochelle, les Muséums de La Rochelle et de Nantes (figure 14)

Plusieurs classes d'âges (juvénile, subadulte, adulte) ont été affectées aux individus selon leur taille, leur masse ainsi que la forme et l'état d'usure de leurs dents.

En général, les échantillons de foies sont prélevés sur les spécimens décongelés, rassemblés pour les séances d'autopsie et de dissection. Nous avons choisi le foie pour cette étude toxicologique en raison de sa propension naturelle à stocker les différentes substances xénobiotiques.

1.2.2 Cormorans

Les grands cormorans ont été récupérés lors des opérations de tirs de régulation encadrés, afin de limiter des déprédations des oiseaux sur les bassins et les étangs de pisciculture, ces opérations sont effectuées grâce à la collaboration de l'ONCFS, des fédérations de chasse et de pêche, des laboratoires scientifiques utilisant l'espèce comme support de recherches, sachant que cette espèce est protégée par la loi française, à l'exception des tirs encadrés et organisés par l'Etat (A.M. du 25 octobre 2010) pour limiter les effectifs locaux. Donc seulement quelques individus ou quelques dizaines d'individus au niveau des zones de chasse dans les départements concernés ont été collectés (figure 14). L'échantillon de cormorans était compris d'individus juvéniles, subadultes ou adultes, les classes d'âges se sont faites selon le *pattern* et le stade d'évolution du plumage. 59 grands cormorans ont été collectés sur trois départements dans un centre de la France, les foies ont été prélevés et rassemblés au Muséum d'Orléans, ensuite à l'Ecole vétérinaire de Lyon (VétAgro Sup) jusqu'à l'analyse toxicologique.

1.2.3 Silures

Pour les silures, nous avons plus de liberté de collecter les échantillons. En effet, les sites de prélèvements ont été choisis en Loire moyenne près d'Orléans dans le centre de la France (figure 14). La collection des échantillons a été faite avec la participation de pêcheurs professionnels volontaires, dans leurs secteurs habituels de pêche. Les foies de silures chassés ont été prélevés, transférés au Muséum d'Orléans, puis à l'Ecole vétérinaire de Lyon (VétAgro Sup) jusqu'à l'analyse.

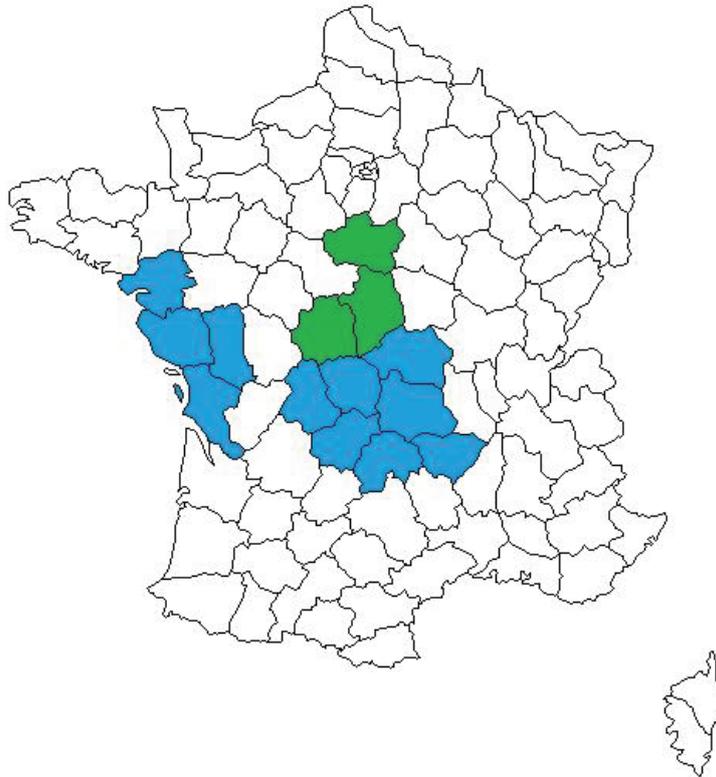


Figure 14. Sites de prélèvement sur les bassins de la rivière Loire en France

Vert : cormoran et silure

Bleu : loutre

I.3 Collecte des échantillons des proies

I.3.1 Limaces

Les échantillons des limaces ont été collectés auprès de Lyon pour l'étude au laboratoire, ces limaces ont été mises dans une chambre avec température de 18 C°, puis les limaces vivants ont été utilisées pour l'exposition aux rodenticides anticoagulants, chaque limace a été mise dans un boîte de pétri, trois anticoagulants ont été appliqués dans cette étude, et ceux les plus utilisés en France et dans la monde entier : chlorophacinone, bromadiolone et brodifacoum. Des individus non exposés ont été conservés pour mise en place de la technique analytique et vérification des seuils de détection et linéarité.

I.4 Analyse des polluants

I.4.1 Dosage des pesticides organochlorés et des PCBs

I.4.1.1 Extraction

1,0 d'échantillon (foie) est prélevé au sein de chaque individu analysé (loutre, cormoran et silure), ensuite 30 ml d'un mélange hexane/acétone (75/25, v/v) est ajouté à l'échantillon, l'ensemble est ensuite broyé à l'ultraturrax® (Ika, Werke, Germany), puis la phase hexanique a été filtrée. L'étape de broyage et d'extraction est effectuée deux fois. L'extrait est ensuite évaporé à 60°C à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu a été repris dans 10 ml d'hexane, puis 2 ml d'acide sulfurique fumant (SO₃ 7%) sont ajoutés. Après agitation et une centrifugation (3000 tr/min pendant 10 minutes), 1 ml du surnageant est injecté en chromatographie en phase gazeuse pour l'analyse des pesticides organochlorés (lindane, aldrin, endosulfan, DDE, DDD, DDT, heptachlor, heptachlor epoxyde et metoxychlor).

Parmi le dosage des PCBs, 1 ml d'hydroxyde de potassium (KOH) à 2% dans de l'éthanol est ajouté à 1 ml de la même précédent surnageant. Les tubes sont ensuite mis dans un bain-marie agité à 50°C pendant 30 minutes. Après refroidissement, 2 ml d'eau ultra-pure sont ajoutés, le mélange est centrifugé (3000 tr/min, 10 minutes), et ensuite l'acide sulfurique fumant (SO₃ 7%) est ajouté au surnageant récupéré. Après une dernière centrifugation (3000 tr/min, 10 min) le surnageant est injecté en chromatographie en phase gazeuse pour l'analyse des PCBs (7 congénères : IUPAC no. 28, 52, 101, 118, 128, 153, 180).

I.4.1.2 Chromatographie en phase gazeuse

Le dosage des organochlorés et des PCBs a été effectué par chromatographie phase gazeuse, CPG Hewlett-Packard HP 5890 Series 2 équipé d'un injecteur automatique (HP 6890 Series Injector), d'une colonne capillaire (RTX-5) de 60 m long (diamètre intérieur : 0,25 mm, épaisseur du film : 0,25 µm) et un détecteur à capture d'électrons (GC-ECD) (Berny et al., 2002). L'azote a été utilisé comme gaz porteur. Le programme de température était : 2 min à 75 °C, puis 15 °C / min jusqu'à 150 °C, de 150 à 265 °C à 1,2 °C / min, puis 25 °C / min jusqu'à 300 °C (Lemarchand et al., 2007, 2010, 2011). La durée totale de l'analyse était de 40 min. Les concentrations en pesticides et PCBs sont calculées à partir de standards disponibles sur le marché (CIL, St Foy la Grande, France, pureté >99% ; niveau de récupération sur les standards supérieur à 92% ; linéarité déterminée entre 5 et 100 ng/g ($R^2 > 0.99$ sur des standards, courbes

de calibration à 5 points). Les limites de détection étaient de 0,001 et 0,005 mg / kg de poids humide pour chaque élément (pesticide ou congénère de PCB).

Parmi **les pesticides organochlorés**, nous avons utilisé trois étalons pour leur analyse :

- OC1 s'agit un mélange de lindane, endosulfan, d'aldrine, heptachlore, heptachlore époxyde et méthoxychlore à 0,1 mg/l.
- OC2 s'agit un mélange de DDD 2.4', DDE 2.4', DDT 2.4' à 0,1 mg/l.
- OC3 s'agit un mélange de DDD 44', DDE 44', DDT 44' à 0,1 mg/l.

Parmi **les PCBs**, un étalon avec 7 congénères principaux a été utilisé : PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 118, PCB 128, PCB 153, PCB 180 à 0,5 mg/l.

Les différents congénères ont été identifiés par comparaison des temps de rétention obtenus entre l'échantillon et ceux des étalons.

I.4.1.3 Calcul des résultats

Les résidus des OC et PCB dans l'échantillon sont calculés selon la formule :

$(C_s \times H_e \times V_r) / (H_s \times V_i) = \text{mg/g de poids frais avec}$

C_s = concentration du standard en ng/ μ l

H_e = aire du pic essai

V_r = volume final de reprise

H_s = aire du pic standard

V_i = poids initial pour l'extraction en g

Sachant que le volume injecté du standard et de l'essai en CPG était la même (2 μ l).

I.4.2 Dosage des rodenticides anticoagulants

Les analyses des rodenticides (raticides) anticoagulants (3 composés les plus utilisés pour lutter chimique contre les rongeurs en France : chlorophacinone, bromadiolone, brodifacoum) dans les limaces ont été effectuées par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Les limaces pesées entre 100 à 1000 mg sont utilisées. Tous les solvants utilisés sont de la plus haute pureté disponible. 15 μ l de chaque échantillon ou solution standard sont injectés dans une colonne C18 (250 x 4 mm, pores de 10 nm, grains de 5 μ m). Le système HPLC utilisé est constitué d'une pompe isocratique (L6000), d'un échantillonneur automatique (AS2000), d'un détecteur DAD-UV et d'un détecteur fluorimétrique (F1000). Un logiciel spécifique (D7000

HSM) est utilisé pour l'acquisition des données. Bromadiolone, brodifacoum sont détectés par fluorescence tandis que chlorophacinone est détecté par UV. La linéarité a été déterminée sur des standards entre 0,1 et 2 mg/kg ($R^2 > 0.99\%$). Le pourcentage de récupération varie entre 80.1% et 89.2% pour ces rodenticides. La limite de détection est de 0.02 mg/kg pour les trois anticoagulants testés.

1.4.3 Dosage du plomb, du cadmium et du cuivre

Principe : détermination de la concentration du plomb, du cadmium et du cuivre hépatique par absorption atomique en four après minéralisation humide par micro-ondes focalisées (Ethos®).

Préparation des échantillons : 0,5 g de foie est utilisé pour l'analyse du plomb, du cadmium et du cuivre. 1 ml d'eau ultra pure milliQ est ajouté, puis 1,5 ml d'eau oxygénée (H_2O_2) et 5 ml d'acide nitrique à 65% (HNO_3). Le mélange est ensuite minéralisé dans un four à micro-ondes (ETHOS) comme suit : les températures sont allées de 20 °C à 180 °C en 10 min et maintenues à 180 °C pendant 15 minutes. Après refroidissement, les échantillons sont transférés dans des tubes de polypropylène et complétés avec de l'eau ultra pure milliQ jusqu'à un volume total de 15 ml.

Parmi **les solutions étalons**, nous avons les réalisés à partir :

- d'une solution mère de plomb à 1000 mg/l, la solution étalon finale est à 20 µg/l ;
- d'une solution mère de cadmium à 500 mg/l, la solution étalon finale est à 5 µg/l ;
- d'une solution mère de cuivre à 1000 mg/l, la solution étalon finale est à 10 µg/l.

Les concentrations en métaux sont analysées avec un spectromètre d'absorption atomique (UNICAM 989 QZ) à l'aide de lampes spécifiques pour chaque élément, la longueur d'onde est de 217 nm, 228,8 nm et 324,8 nm pour le plomb, le cadmium et le cuivre, respectivement. Chaque échantillon d'analyse de métaux est mené en triplicate, et afin de tester toute éventuelle contamination, un passage à blanc est effectué.

Les concentrations en éléments sont calculées à partir d'une courbe d'étalonnage à 5 points ($R^2 > 0.99$) :

- pour le plomb de 2 à 20 µg/l ;

- pour le cadmium de 0,5 à 5 µg/l ;
- et pour le cuivre de 1 à 10 µg/l.

Les résultats sont exprimés en µg/kg de poids frais. Les limites de détection sont de 50 µg/kg pour le plomb, le cadmium et le cuivre.

1.4.4 Dosage du mercure

Principe : la méthode consiste à déterminer la concentration en mercure par spectrophotométrie atomique après minéralisation humide par micro-ondes focalisées (Ethos®).

Préparation des échantillons : 1 g de foie a été introduit dans le matras de minéralisation. 1 ml d'eau milliQ est ajouté, puis on ajoute 1,5 ml d'eau oxygénée (H₂O₂) et 6 ml d'acide nitrique à 65%. L'ensemble est ensuite minéralisé dans un four Ethos® avec un programme de température : montée jusqu'à 180°C en 10 min puis pallier de 15 min. Après minéralisation, les échantillons sont versés dans un tube Falcon et conservés au congélateur à -20°C jusqu'à analyse. Au jour de l'analyse, on ajoute du permanganate de potassium (à 6,4%) dans les échantillons jusqu'à obtenir une solution violette et ajuster à 50 ml avec de l'eau milliQ décongelée. Agiter les tubes doucement, ensuite filtrer sur papier Whatman, dans d'autres tubes Falcon.

Dosage : La concentration en mercure hépatique est mesurée par un spectromètre d'absorption atomique Perkin Elmer Analyst, équipé d'une lampe de mercure ELD (180 mA avec la modulation, longueur d'onde 253,7 λ). La teneur en mercure est calculée à partir de la courbe d'étalonnage (standard 0 = blanc, standard 1 = 5 µg/l, standard 2 = 10 µg/l, standard 3 = 15 µg/l, standard 4 = 20 µg/l). La limite de détection est de 20 µg/kg. Pour chaque série, on passe un blanc et un échantillon avec ajout (1 ml de solution à 0,5 mg/l de mercure), pour la vérification et l'étalonnage du système de mesure. Les teneurs T en mercure sont exprimées en mg/kg selon la formule :

$$T = (C_e \times f) / m$$

C_e = concentration en mg/l

f = facteur de dilution

m = masse en kg.

II. Contamination des prédateurs aquatiques (loutre, cormoran et silure) de la fleuve Loire par les polluants

II.1 Objectifs

Dans cette étude nous cherchons à répondre aux questions suivantes :

1. Est-ce que les prédateurs aquatiques prélevés dans la Loire dans notre étude sont contaminés par les divers polluants ?
2. Si oui, est-ce que les concentrations des contaminants sont faibles ou élevés ?
3. Quels sont les contaminants les plus abondants dans les espèces des prédateurs ?
4. Est-ce que les concentrations des composés toxiques diffèrent entre ces prédateurs ?
5. Est-ce qu'il existe des effets toxicologiques potentiels sur les prédateurs prélevés dans la Loire dans cette étude par rapport à des valeurs seuils de la littérature ?
6. Position des prédateurs dans le réseau trophique ?

II.2 Article n° 1

European Journal of Wildlife Research. (2016), 62 (6): 653-661

Doi: 10.1007/s10344-016-1038-5

© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016

Concentrations of organochlorine compounds (pesticides and PCBs), trace elements (Pb, Cd, Cu and Hg), ^{134}Cs and ^{137}Cs in livers of European Otter (*Lutra lutra*), Great cormorant (*Phalacrocorax carbo*) and European catfish (*Silurus glanis*), collected from Loire River (France)

Hussein Alomar¹, Charles Lemarchand¹, René Rosoux², Danièle Vey¹, Philippe Berny¹

¹ USC1233 INRA -VetAgro-Sup Campus Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France

² Muséum d'Orléans, 6 rue Marcel Proust, 45000 Orléans, France

Corresponding author: philippe.berny@vetagro-sup.fr tel : +33 (0)4 78 87 26 31 fax : +33(0)4 78 87 80 12

Received: 26 October 2015 /Revised: 20 July 2016 /Accepted: 27 July 2016

First Online: 4 August 2016

Abstract:

In this study, liver samples of European otter (*Lutra lutra*), great cormorant (*Phalacrocorax carbo*) and European catfish (*Silurus glanis*) from along Loire River (France) were analyzed for organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls (PCB), trace elements (lead, cadmium, copper and mercury), ^{134}Cs and ^{137}Cs . Organochlorine compounds were found in 100% of the samples. Residue level of PCBs in these predators was the highest followed by DDTs and endosulfan, and maximal PCBs values reached 1.61, 1.96 and 0.28 mg/kg wet weight for cormorants, otters and catfish, respectively. DDTs, endosulfan and lindane were abundant pesticides in the livers these predators. Concentrations of copper, lead and cadmium in the livers of top predators were generally low; a potentially toxic level of lead was found in only one cormorant (34.9 mg/kg dry weight). Mean mercury concentrations in cormorant, otter and catfish livers were 5.47, 4.68 and 2.71 mg/kg dry weight, respectively and exceeded toxic thresholds for more than 40% of the cormorants. Levels of organochlorine compounds and trace elements in these predators are generally below known toxic thresholds, but potential combined effects are not studied and warrant more investigations.

Keywords: Organochlorine, trace elements, otter, cormorant, catfish, France

1. Introduction

Great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), European otter (*Lutra lutra*) and European catfish (*Silurus glanis*) are piscivorous predators at the top of their food chains and are able to accumulate high levels of contaminants (Kruuk et al., 1997; Lemarchand et al., 2010; Goutner et al., 2011; Squadrone et al., 2013). Populations of European otters (*Lutra lutra*) have declined substantially during the past decades in many countries of Western Europe; the species has even become extinct in some European countries (Conroy and Chanin, 2000). Contamination by organochlorines (OCs, PCBs) and trace elements is considered an important causal factor in this decline (Mason and Macdonald 1986, 1993; Kruuk et al., 1997). Organochlorine pesticides (OCs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) are groups of man-made chemicals. These compounds have become widespread environmental pollutants and have been proven to have detrimental effects on humans and wildlife. Moreover, OCs are persistent in the environment, toxic to organisms and enter food chains accumulating in considerable levels in top predators such as fish-eating birds (cormorants) and other predators including otters and European catfish (Fossi et al., 1995; Guruge et al., 1997; Leonards et al., 1998; Erdogrul et al., 2005; Cheng et al., 2006; Goutner et al., 2011); these top predators could be considered as bioindicators of aquatic habitat contamination (Guruge et al., 1997; Nam et al., 2005; Lemarchand et al., 2007; Squadrone et al., 2013).

Lead and cadmium are toxic metals, even in trace amounts, and several studies have shown that lead and cadmium accumulate in tissues of cormorants, otters and catfish (Gutleb et al., 1998; Harding et al., 1998; Nam et al., 2005; Skoric et al., 2012; Noël et al., 2013; Subotić et al., 2013). Mercury is one of the most toxic trace minerals in our environment, it accumulates at high concentrations in top predators such as cormorants and otters, and these concentrations are even considered as toxic to these species (Kruuk et al., 1997; Gutleb et al., 1998; Goutner et al., 2011;

Skoric et al., 2012). Copper is an essential metal for its important role in biological systems, but this metal may have toxic effects at high concentrations. It is widely used as a fungicide.

The Loire River is the largest and one of the most preserved rivers in France. It is also used for the production of electricity with several nuclear power plants along its banks. It is a major corridor for species dispersion and migration its importance in terms of conservation of endangered and protected species should be considered. Unfortunately, very few studies have been conducted in France. Current levels of contamination are poorly known with information available only for the upper part of the Loire River (Bouchard, 2007, Lemarchand et al., 2010).

The objectives of the present study were as follows: (1) to determine concentrations of toxic compounds PCBs, OCs, trace elements (Pb, Cd, Cu, Hg) in top predators of the Loire River; (2) to determine liver ^{137}Cs and ^{134}Cs concentrations in these predators as markers of nuclear power plant unexpected emissions; (3) to compare contaminant levels with known levels of toxicity for these predators; (4) and to investigate the influence of life history traits of three different top predator species in the same environment on their level of contaminants.

2. Materials and Methods

2.1 Monitoring Sites and sampling

The study area was located around the Loire River basin in Central and Western France (See Figure 1). For ethical and legal reasons, only road-traffic killed otters were collected. They were deep-frozen (-20°C) by the French wild fauna and hunting service (ONCFS) and 65 carcasses in total were collected. For each carcass, a necropsy was performed, and about 50 g of liver was sampled prior to analysis. Sex and weight were determined. Cormorants (*Phalacrocorax carbo* sp.) were collected during ONCFS population control operations intended to limit the

depredation of fish ponds. Fifty-nine cormorants were collected from the Loire River in France; their livers were sampled and preserved in a freezer at -20°C until analysis. The European catfish can be caught for food consumption during the fishing season and 20 European catfish were collected during 2013 and 2014 from the Loire River in France.

Body length and weight (weight ranging 4 to 36 kg) were measured and gender assigned by inspection of the gonads. Liver samples were collected from each specimen and were immediately frozen and stored at -20°C prior to analysis.

2.2 Pesticides and PCBs analyses

A 2 g sub-sample was taken from the each liver, and blended in 30 ml of hexane/acetone (3:1) using an Ultraturrax® (Ika-, Werke, Germany). The supernatant was removed and filtered through a phase separator membrane. This extraction procedure was performed twice. The extract was evaporated at 50°C in a rotary evaporator. The dry extract was dissolved in 10 ml hexane. 2 ml of fuming sulfuric acid ($\text{H}_2\text{SO}_4+\text{SO}_3$ 7%) were added and after centrifugation, 1 ml of the supernatant was used for organochlorine pesticides analyses. 1 ml of the supernatant was added to 1 ml of 2% potassium hydroxide in ethanol. The tubes were placed in a water bath at 50°C for 30 min. At the end of this period, 2 ml ultra-pure water were added, the samples were centrifuged and underwent another sulphuric acid hydrolysis. After a final centrifugation, the supernatant was used for PCBs analyses.

A gas chromatography with electron capture detection was used for all PCB and OC analyses, temperature program and injection conditions are described in Lemarchand et al. (2007). Each sample was run in duplicate. PCBs and organochlorine pesticides concentrations were calculated by using different mix standards. Recovery level on spiked liver samples was always greater than 92%. All standards were purchased from CIL (St Foy la Grande, France), and purity was >99%.

Linearity was determined between 5 and 100 ng/g ($r^2 > 0.99$ on standards and spiked samples, 5-point calibration curves). Limits of detection (noise level +3 standard deviations) were 0.001 and 0.005 mg/kg wet weight for each element (pesticide or individual PCB). The concentration is given in mg/kg wet weight. In order to check the validity of the GC-ECD method, 1 out of 10 samples was analyzed by GC-MS (confirmation of identity of the substance and concentration, data not included). Specific retention times and ions were monitored for each OC or PCB of interest.

2.3 Trace elements analyses

A 0.5 gram sub-sample of liver was used for lead, cadmium and copper analysis. 1 ml of ultra pure milliQ® water was added, and then 1.5 ml of (H₂O₂) and 5 ml of 65% nitric acid (HNO₃). The mix was mineralized in a microwave oven (ETHOS) as follows: temperatures went from 20 °C to 180 °C in 10 min, and held at 180 °C for 15 min. After cooling, samples were transferred in polypropylene tubes, the digested samples were diluted with ultra pure milliQ® water to a total volume of 15 ml. element concentrations were determined by atomic absorption spectrometry (UNICAM 989 QZ, Thermo Optek, Roissy France) using elements specific lamps, wave length was 217 nm, 228.8 nm and 324.8 nm for (lead, cadmium and copper, respectively).

One gram of liver was used for mercury analysis, mixed with 1 ml ultrapure milliQ® water, 1.5 ml of hydrogen peroxide H₂O₂ and 6 ml of 65% HNO₃ and mineralized in the same way as for the other metals. After cooling, samples were transferred in polypropylene tubes, and a 6.4% KMnO₄ solution was added. Mercury analyses were performed by atomic absorption spectrophotometry (Perkin Elmer Analyst) using element specific lamps after hydride generation. Each sample was run in triplicate. For all mineral analyses, certified samples were used for quality control (CRM185R certified values for Pb, Cd, Cu, Hg were checked and found to be within the 95% confidence interval provided by lab). For each day of analysis spiked samples

were used to ascertain recovery (>90%) and blank vessel was tested for potential contamination. All metal concentrations were calculated using a 5-point calibration curve ($r^2 > 0.99$), the detection limit was 0.050 mg/kg (Cd, Pb, Cu), 0.020 mg/kg (Hg) wet weight, and the results were expressed in mg/ kg dry weight after the calculation of percentage for dry matter.

2.4 Stable isotope analyses

Samples of 20 specimens for each species were selected randomly from the overall dataset to be analyzed by the PLATIN (Plateau d'Isotopie de Normandie) core facility for all element and isotope analysis. The laboratory is certified for isotope analysis and part of the Université de Caen. Analyses were conducted with an elementary analyzer with mass spectrometry (EA3000 Eurovector and MS Horizon – Nu Instrument). Calibration was done with international stable isotope standards (IAEA Vienna, Austria) with the following references: air for N $^{15}\text{N}/^{14}\text{N} = 0.0036735$; V-PBD Pee Dee Belenite for carbon $^{13}\text{C}/^{12}\text{C} = 0.0112372$. Limits of detection were as follows : 1 μgN per capsule, 10 μgC per capsule. Calibration curves were determined between 20 and 200 $\mu\text{g N/capsule}$ and between 50 and 250 $\mu\text{g C/capsule}$. Daily coefficient of variations were obtained and found to be < 20% for each element and each day of analysis.

2.5 Radio-elements

The Loire basin is a major site for nuclear power production, with 4 power plants (2 located near the collection sites for cormorants and catfish) (www.asn.fr, consulted on May 2015). ^{134}Cs and ^{137}Cs analyses were conducted by a certified laboratory for radio-element analysis by gamma spectrometry (Laboratoire Départemental du Puy de Dôme). Twelve individuals were selected randomly from the otter and cormorant liver sample collections (200 g each). Because the amount of material available from catfish was not sufficient, no analysis could be conducted on fish.

2.6 Statistical analysis

DDE, DDD and DDT were added to calculate the sum of DDTs. Mean concentrations of lindane, endosulfan, DDTs, heptachlore, heptachlor epoxyde, aldrin and metoxychlor were calculated by assigning half-detection limit values to samples that had concentrations below the detection limit. The sum concentration of 7 PCB congeners (28, 52, 101, 118,128, 153 and 180) was calculated to provide the sum of PCBs concentrations. All the organochlorine pesticides and 7 PCB congeners were chosen by the National Veterinary School of Lyon (France) standard protocol (Mazet et al., 2004, 2005; Lemarchand et al., 2007, 2010). Means and Medians of organochlorine pesticides, PCBs and elements (Cu, Pb, Cd and Hg) were calculated. Multiple component analysis was used to identify potential groups of qualitative factors describing the dataset. Contaminant concentrations were classified as “Low” “Medium” or “High” for each contaminant and each species, representing 1/3rd of each group. The number of axes for analysis of inertia was set at 6. Only those factors with h values close to or > 0.50 were considered for further investigation. Since most data were not normally distributed, non-parametric tests (Kruskal-Wallis test and post-hoc tests) were used. The level of significance was set at $p \leq 0.05$. All statistics were computed using the R 3.1.1 computer program (<http://R-project.org>).

3. Results and discussion

3.1 Contamination by organochlorine pesticides and PCBs

Residues of DDT (mainly DDD and DDE) and endosulfan were the predominant OC pesticides detected in livers of cormorant and otter (Table 1), as observed in previous studies from France (upper Loire River) and other countries (Guruge et al., 1997; Lemarchand et al., 2007, 2010; Goutner et al., 2011). Lindane constituted the most abundant pesticide after DDT and endosulfan in livers of all three species and was found in 11% of cormorants and 15% of otters. There was

no significant difference between the three species with respect to the total organochlorine pesticides concentration (Table 1). Moreover, we did not observe any significant difference in total OC pesticides concentrations between males and females (otters, cormorants and catfish). Aldrin and Metoxychlor were never detected in livers of the three predators. Heptachlor and heptachlor epoxide were never found in livers of otters and catfish but these pesticides were detected in four cormorants.

In our study PCBs were detected in all samples. In all three species, PCBs 128 and 153 were predominant followed by PCBs 180 and 118 (Table 2). This is consistent with the findings of other studies on these species (Guruge and Tanabe, 1997; Lemarchand et al., 2007; Squadrone et al., 2013). Overall, PCBs were the major component of total organochlorine contamination (Table 1). As could be expected for recent samples (2013 and 2014), the predominance of PCBs in the organochlorine profile is consistent with findings of previous studies on otters in Europe (Mason and Madsen, 1993; Kruuk and Conroy, 1996; Roos et al., 2001; Kannan et al., 2004; Lemarchand et al., 2010). Most of these authors concluded that the PCB concentrations detected in otters did not pose significant threat to otter populations. In the current study, the mean of PCBs in otter liver was 0.09 mg/kg wet weight; this value was lower than the toxic threshold for PCBs (1.24 mg/kg wet wt) which is associated with reproductive problems in mink *Mustela vison* (Jensen et al., 1977) and is generally taken as the critical level for otters (Olsson et al., 1981; Mason, 1989). We found that the concentrations of PCBs increased significantly with age in otters (Table 3), but the difference between males and females was not significant, as also found by Lemarchand et al. (2010) for otters from the upper Loire basin. Overall, the otter population from the Loire river basin does not seem to be exposed to high levels of PCBs.

Σ PCBs concentrations in great cormorant livers can be considered low compared to those of measured by earlier studies on the same species in the Mediterranean or other areas (Guruge and Tanabe, 1997; Falandysz et al., 2002; Kannan et al., 2002). We did not detect any significant difference between species with respect to PCB contamination in our study area. Unfortunately, there are no historical data from this part of France to assess temporal trends and the difference observed between our study and other studies in Europe may reflect both spatial differences and a temporal decline since published studies on Great cormorants are more than 10 years old.

3.2 Contamination by trace elements

Copper, lead, cadmium and mercury were detected in all livers of predators (Table 4).

Liver copper concentrations in catfish (Table 4) were higher than those in the catfish in other European countries such as Croatia and Serbia (means of 3.98 and 8.37 mg/kg dry wt respectively: Matasin et al., 2011; Subotić et al., 2013); no other data on copper concentrations in catfish could be found. Liver copper levels in otters did not vary significantly with age or sex and the overall mean concentration (44.5 mg/kg dry weight) was significantly higher than that in the other predators in the present study (Table 4), and was generally higher than in otters elsewhere (23.8, 28.2, 21 and 21 mg/kg dry wt in Hungary, Great Britain, Denmark and Canada respectively; Gutleb et al., 1998; Harding et al., 1998; Ruiz-Olmo et al., 2000; Mason and Stephenson, 2001; Lanszki et al., 2009). However, concentrations were lower than that reported by Lemarchand et al., (2010) for otters from the upper Loire River and were within the range for which toxicological effects are unlikely to occur (Gutleb et al., 1998; Harding et al., 1998; Mason and Stephenson, 2001; Lemarchand et al., 2010). Relatively high liver copper concentrations in otters in the Loire river basin may reflect the presence of several major cultivation areas and associated use of copper fungicides, as we observed in the Drôme River (Mazet et al., 2005).

Cormorants are frequently used as bioindicators for metal contamination, Copper is an essential trace element and, unfortunately, toxicological data on Cu in birds are scarce. In our study the median copper concentrations in livers of cormorants reached 17 mg/kg dry weight, and this value was lower than those observed in other studies in Japan and Serbia (Nam et al., 2005; Skoric et al., 2012).

Concentrations of lead in livers of otters were generally low (Table 4) and comparable to, or sometimes higher than those observed in otters from Austria (Mean 0.37 mg/kg dry wt), Canada (0.79mg/kg dry wt) and Hungary (0.21 mg/kg dry wt) (Gutleb et al., 1998; Harding et al., 1998; Lanszki et al., 2009). Concentrations of lead and cadmium in otters were lower than those already detected in France (Lemarchand et al., 2010), and below known toxic thresholds for lead and cadmium (25 and 100 mg/kg dry weight, respectively; Gutleb et al., 1998 and Lemarchand et al., 2010). Lead concentrations did not differ significantly with age or sex, whereas liver cadmium concentrations were significantly higher in adults than young (Table 3), as also found in Finland and Hungary (Hyvarinen et al., 2003; Lanszki et al., 2009) and consistent with the cumulative properties of cadmium.

We did not detect any effect of age on lead or cadmium contamination in cormorants. Overall, liver lead concentrations in cormorants were higher than those reported in other parts of the world (Nam et al., 2005; Skoric et al., 2012), but generally similar to those in cormorants from other European countries like Poland (Fabczak et al., 2003). The average liver lead levels (Table 4) was low in relation to normal environmental exposure of other aquatic birds to Pb (<5 mg/kg dry wt) (Nam et al., 2005) and a likely toxic concentration (34.9 mg/kg dry weight) was detected in only one cormorant.

Concentrations of cadmium in livers of cormorants were lower than those reported in Japan (Saeki et al., 2000; Nam et al., 2005), but our values were higher than those observed in Serbia

(Skoric et al., 2012). In our study, levels of lead and cadmium in livers of catfish were higher than those observed in other European countries (Mazej et al., 2010; Squadrone et al., 2013; Subotić et al., 2013). There were no significant differences between the three predator species with respect to lead levels, while the concentrations of cadmium in livers of catfish were significantly higher than those observed in other species in this study (Table 4).

Liver mercury concentrations did not differ between species (Table 4). There were no significant effects of age or gender on the total mercury concentration in cormorants. Several studies indicate that levels of liver mercury in cormorant above 4 µg/g dry weight can have negative effects on growth, reproduction, development, hematology and metabolism (Goutner et al., 2011; Skoric et al., 2012). Although liver mercury level in cormorants in our study were two-three times lower than those observed in Japan, the Czech Republic, Poland and Greece (Nam et al., 2005; Houserova et al., 2007; Misztal-Szkudlinska et al., 2011; Goutner et al., 2011) and similar to those reported in Serbia (Skoric et al., 2012), 45.7 % (27 individuals) of the cormorants sampled from the Loire valley had mercury concentrations above mercury level of concern and so may impact local cormorant populations. We suggest that future studies on cormorants should not only focus on contaminant levels but also on markers of health effects, including reproductive success, hematology and growth.

Liver mercury concentrations did not differ significantly between males and female otters but were significantly higher in adults than young (Supplementary data), as observed in previous studies (Kruuk et al., 1997; Lanszki et al., 2009; Lodenius et al., 2014). Overall, the average level of liver mercury in otters (Table 3) was higher than those reported in other studies worldwide (Harding et al., 1998; Evans et al., 2000; Lanszki et al., 2009) but lower than those published in previous studies on otters in France, Denmark and Finland (Mason and Madsen, 1992; Ruiz-Olmo et al., 2000; Lemarchand et al., 2010; Lodenius et al., 2014). The maximal value of

mercury in livers otters was 18.52 mg/kg dry weight therefore this value does not exceed the toxic threshold (30 mg/kg wet weight) reported by Lanszki et al. (2009) or Sleeman et al. (2010). We found that mean concentration of liver mercury in European catfish was 2.71 mg/kg dry weight (Table 4), two or three times higher than mean levels observed in other European countries such as Italy, Serbia and Slovenia (Mazej et al., 2010; Squadrone et al., 2013; Subotić et al., 2013). It seems advisable to monitor Cd and Hg levels in fish from the Loire basin (including muscle samples) to identify if catfish are a potential source of contamination for local human consumers and to indicate if management strategies (e.g. prohibition of consumption) are needed. Previous studies (Carrasco et al., 2011; Squadrone et al., 2013) indicated that female catfish contained higher concentrations of mercury but we did not detect any gender effect, which may be due to the limited number of samples available.

Overall, some individuals of the three species may have concentrations of trace elements or OC/PCBs above known toxic thresholds, suggesting that part of the animal populations may suffer from this exposure. Furthermore, although most pollutant concentrations measured in the three species were lower than known toxic threshold, it should be kept in mind that pollutant combined effects have never been considered and may still have an impact on these predators. It would be interesting to monitor health effects (especially for Cd or Hg exposure) of predator populations along the Loire River.

3.3 Contamination with ^{134}Cs and ^{137}Cs

The mean ^{134}Cs was 5.1 (± 0.4) Bq.kg⁻¹ for otters and 5.4 (± 0.4) Bq.kg⁻¹ for cormorants. The mean ^{137}Cs was 5.2 (± 0.3) Bq.kg⁻¹ for otters and 5.3 (± 0.4) Bq.kg⁻¹ for cormorants. These values are close to background values and well below the accepted WHO standards for food consumption (600 Bq.kg⁻¹). They are also lower than values obtained from contaminated sites after nuclear

accidents such as Chernobyl or Fukushima. Indeed, even in the control zone (30-35 km away from Chernobyl), the average contamination level of wild boar tissues with ^{137}Cs (the long term isotope) is 600 Bq.kg^{-1} , ca 100 fold the median value measured in our samples (Gulakov, 2014). If we consider a bioconcentration factor of 10 (as generally recommended by Ramade, 2007), then it would seem that water/sediment concentrations should be around 0.5 Bq.kg^{-1} , which is close to pre-nuclear background contamination (Ramade, 2007).

^{134}Cs also serves as an indicator of short term exposure. In both cases, ^{134}Cs and ^{137}Cs do not indicate any evidence of recent or long term exposure of wild predators to radioactive compounds or nuclear-power related activity.

3.4 Stable isotopes analyses

Stable isotope analyses were used as a tool to obtain information on the feeding ecology of predators species in present study, the mean and median $\delta^{13}\text{C}$ value (‰) of cormorant, otter and catfish was (-24.31 and -24.19) (-25.38 and -25.59) (-24.91 and -25.12), respectively, whereas the mean and median $\delta^{15}\text{N}$ value (‰) was (16.62 and 16.72) (15.19 and 15.46) (15.52 and 15.34), respectively. The $\delta^{15}\text{N}$ value (‰) in livers of cormorant was significantly higher than that in the two other predatory species in our study ($p \leq 0.05$, Fig.2). There were no significant differences in $\delta^{15}\text{N}$ between otter and catfish. The $\delta^{13}\text{C}$ value in cormorants was higher than in otter and catfish ($p=0.05$, Fig.2). The difference in $\delta^{15}\text{N}$ values suggests that cormorants have a higher trophic position (Kopp et al., 2009). Considering the heterogeneity of collection sites for otters, differences may also be attributed to site-specific geological data. This is probably reflected by the high variability and SD of both ratios in otters as compared with the other 2 species. We observed only one positive significant relationship between $\delta^{15}\text{N}$ and PCBs

concentrations in catfish ($r^2=0.68$, $p<0.05$). Since all fish were obtained from the same place, this suggests a link between a higher trophic position and higher concentrations of PCBs in catfish.

4. Conclusion

In this study, organochlorine pesticides, PCBs and trace elements (lead, cadmium, copper and mercury) were found in livers of cormorant, otter and catfish in Loire River (France). Although average concentrations of those contaminants were apparently moderate/low (except for mercury in cormorants), levels of contamination were above known toxicity threshold for some individuals and, moreover, the possible combined effect of toxic substances is not known. Therefore, contamination levels in these predators warrant further investigations. Also, despite some moderate differences in metals or PCB concentrations between species, the level of contamination of both species is quite comparable. Repeated studies on these predators across different environments would be valuable to confirm this finding and suggest whether one predator (for instance the invasive catfish), could be an indicator of environmental contamination for the other two.

Acknowledgements

We are most grateful to PLATIN' (Plateau d'Isotopie de Normandie) core facility for all element and isotope analysis used in this study, the French ONCFS. This study was financially supported by: European Commission (FEDER Grant n°38462), Agence de l'Eau Loire-Bretagne, Région Centre and VetAgro Sup.

References:

- Bouchard JP. (2007). La restauration des poissons migrateurs du bassin de la Loire : l'aménagement des seuils des centrales électriques. *Hydroécologie appliquée* 13: 131-147.
- Carrasco L, Barata C, García-Berthou E, Tobias AM, Bayona J, Díez S. (2011). Patterns of mercury and methylmercury bioaccumulation in fish species downstream of a long-term mercury-contaminated site in the lower Ebro River (NE Spain). *Chemosphere* 84, 1642–1649.
- Cheng DX, Yang ZZ, Wang XT, Sun YZ, Xu XB. (2006). Organochlorine pesticides in tissues of catfish (*Silurus asotus*) from Guanting Reservoir, People's Republic of China. *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 76, 766-773.
- Conroy JWH, Chanin PRF. (2000). The status of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) in Europe. A Review. *Journal of the International Otter Survival Fund* 1, 7-28.
- Erdogrul Ö, Covaci A, Schepens P. (2005). Levels of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish species from Kahramanmaraş, Turkey. *Environment International* 31, 703-711.
- Evans RD, Addison EM, Villeneuve JY, MacDonald KS, Joachim DG. (2000). Distribution of inorganic- and methyl-mercury among tissues in Mink (*Mustela vison*) and otter (*Lutra canadensis*). *Environmental Research* 84, 133-139.
- Fabczak J, Szarek J, Markiewicz K, Markiewicz E. (2003). Cormorant as a lead contamination bio-indicator in the water environment. *Cormorant Research Group Bulletin* 5, 40-44.
- Falandysz J, Wyrzykowska B, Strandberg L, Puzyn T, Strandberg B, Rappe C. (2002). Multivariate analysis of the bioaccumulation of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the marine pelagic food web from the southern part of the Baltic Sea, Poland. *J. Environ. Monit.* 4, 929-941.
- Fossi M, Massi A, Lari A, Marsili L, Focardi S, Leonzio C, et al. (1995). Interspecies differences in mixed function oxidase activity in birds: relationship between feeding habits, detoxication activities and organochlorine accumulation. *Environmental Pollution* 90, 15-24.

Goutner V, Becker P, Liordos V. (2011). Organochlorines and mercury in livers of great cormorants (*Phalacrocorax carbo sinensis*) wintering in northeastern Mediterranean wetlands in relation to area, bird age, and gender. *Science of the Total Environment* 409, 710-718.

Gulakov AV. (2014) Accumulation and distribution of ¹³⁷Cs and ⁹⁰Sr in the body of the wild boar (*Sus scrofa*) found on the territory with radioactive contamination. *Journal of Environmental Radioactivity*. 127: 171-175

Guruge KS, Tanabe S. (1997). Congener specific accumulation and toxic assessment of polychlorinated biphenyls in common cormorants, *Phalacrocorax carbo*, from Lake Biwa, Japan. *Environmental Pollution* 96, 425-433.

Guruge KS, Tanabe S, Fukuda M, Yamagish S, Tatsukawa R. (1997). Accumulation pattern of persistent organochlorine residues in common cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. *Marine Pollution Bulletin* 34, 186-193.

Gutleb AC, Kranz A, Nechay G, Toman A. (1998). Heavy metal concentration in livers and kidneys of the otter (*Lutra lutra*) from central Europe. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 60, 273-279.

Harding LE, Harris ML, Elliot JE. (1998). Heavy and trace metals in wild mink (*Mustela vison*) and river otter (*Lontra canadensis*) captured on rivers receiving metals discharges. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 61, 600-607.

Houserova' P, Kuban V, Kracmar S, Sitko J. (2007). Total mercury and mercury species in birds and fish in an aquatic ecosystem in the Czech Republic. *Environmental Pollution* 145, 185-194.

Hyvärinen H, Tyni P, Nieminen P. (2003). Effects of moult, age, and sex on the accumulation of heavy metals in the otter (*Lutra lutra*) in Finland. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 70, 278-284.

Jensen S, Kihlstrom JE, Olsson M, Lundberg C, Ordberg J. (1977). Effects of PCB and DDT on mink (*Mustela vison*) during the reproductive season. *Ambio* 6, 239.

Kalyoncu L, Agca I, Aktumsek A. (2009). Some organochlorine pesticide residues in fish species in Konya, Turkey. *Chemosphere* 74, 885-889.

- Kannan K, Corsolini S, Imagawa T, Focardi S, Giesy JP. (2002). Polychlorinated-naphthalenes, -biphenyls, -dibenzo-p-dioxins, -dibenzofurans and p,p'-DDE in bluefin tuna, swordfish, cormorants and barn swallows from Italy. *Ambio* 31, 207-11.
- Kannan K, Kajiwara N, Watanabe M, Nakata H, Thomas NJ, Stephenson M, et al. (2004). Profiles of polychlorinated biphenyl congeners, organochlorine pesticides, and butyltins in southern sea otters and their prey. *Environ. Toxicol. Chem.* 23, 49-56.
- Koop D, Cucherousset J, Syväranta J, Martino A, Céréghino R, Santoul F. (2009) Trophic ecology of the pikeperch (*Sander lucioperca*) in its introduced areas: a stable isotope approach in southwestern France. *Compte rendus Biologie* 332: 741-746
- Kruuk H, Conroy, JWH. (1996). Concentrations of some organochlorine in otters (*Lutra lutra*) in Scotland: implications for populations. *Environ. Pollut.* 92, 165-171.
- Kruuk H, Conroy JWH., Webb A. (1997). Concentrations of mercury in otters (*Lutra lutra* L.) in Scotland in relation to rainfall. *Environ. Pollut.* 96, 13-18.
- Lanszki J, Orosz E, Sugár L. (2009). Metal levels in tissues of Eurasian otters (*Lutra lutra*) from Hungary: Variation with sex, age, condition and location. *Chemosphere* 74, 741-743.
- Lemarchand C, Amblard C, Souchon Y, Berny, P. (2007). Organochlorine compounds (pesticides and PCBs) in scats of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) from an actual expanding population in central France. *Water Air Soil Pollut* 186, 55-62.
- Lemarchand C, Rosoux R, Berny P. (2010). Organochlorine pesticides, PCBs, heavy metals and anticoagulant rodenticides in tissues of Eurasian otters (*Lutra lutra*) from upper Loire River catchment (France). *Chemosphere* 80, 1120-1124.
- Leonards PEG, Broekhuizen S, de Voogt P, Van Straalen NM, Brinkman UAT, Cofino WP, et al. (1998). Studies of bioaccumulation and biotransformation of PCBs in mustelids based on concentration and congener patterns in predators and preys. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35, 654-665.

- Lodenus M, Skaren U, Hellstedt P, Tulisalo E. (2014) Mercury in various tissues of three mustelid species and other trace metals in liver of European otter from Eastern Finland. *Environ. Monit. Assess.* 186, 325-333
- Mason CF, Macdonald SM. (1986). *Otters, ecology and conservation*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Mason CF. (1989). Water pollution and otter distribution: a review. *Lutra*, 32: 97-131.
- Mason CF, Madsen AB. (1992). Mercury in Danish otters (*Lutra lutra*). *Chemosphere* 25, 865-867.
- Mason CF, Madsen AB. (1993). Organochlorine pesticide residues and PCBs in Danish otters (*Lutra lutra*). *The Science of the Total Environment*, 133, 73-81.
- Mason CF, Stephenson A. (2001). Metals in tissues of Eurasian otters (*Lutra lutra*) from Denmark, Great Britain and Ireland. *Chemosphere* 44, 351–353.
- Matasin Z, Ivanusic M, Orescanin V, Nejedli S, Gajger IT. (2011). Heavy metal concentrations in predator fish. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10, 1214-1218.
- Mazej Z, Al Sayegh-Petkovsek S, Pokorny B. (2010). Heavy metal concentrations in food chain of Lake Velenjsko jezero, Slovenia: an artificial lake from mining. *Arch Environ Contam Toxicol* 58, 998-1007.
- Mazet A, Keck G, Berny P. (2004). PCBs in fish of the Ardeche river: potential implications for the survival of the otter (*Lutra lutra*). *Bull. Environ. Contam.* 72, 784-790.
- Mazet A, Keck G., Berny P. (2005). Concentrations of PCBs, organochlorine pesticides and heavy metals (lead, cadmium, and copper) in fish from the Drôme River: potential effects on otters (*Lutra lutra*). *Chemosphere* 61, 810-816.
- Misztal-Szkudlinska M, Szefer P, Konieczka P, Namiesnik J. (2011). Biomagnification of mercury in trophic relation of Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo*) and fish in the Vistula Lagoon, Poland. *Environ Monit Assess* 176, 439-449.

Nam DH, Anan Y, Ikemoto T, Okabe Y, Kim EY, Subramanian A., et al. (2005). Specific accumulation of 20 trace elements in great cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. *Environmental Pollution* 134, 503-514.

Olsson M, Reutergårdh L, Sandegren F. (1981). Var är uttern? *Sveriges Natur*, 6: 234-240.

Ramade F. (2007) Introduction à l'écotoxicologie. Edition Tech et Doc, Lavoisier, Paris

Roos A, Greyerz E, Olson M, Sandegren F. (2001). The otter (*Lutra lutra*) in Sweden—population trends and relation to DDT and total PCB concentrations during 1968–99. *Environ. Pollut.* 111, 457-469.

Ruiz-Olmo J, Lafontaine L, Prignioni C, Lopez-Martin JM, Santos-Reis M. (2000). Pollution and its effects on otter population in south-western Europe. *J. Int. Otter Survival Fund* 1, 63-82.

Saeki K, Okabe Y, Kim EY, Tanabe S, Fukuda M, Tatsukawa R. (2000). Mercury and cadmium in common cormorants (*Phalacrocorax carbo*). *Environmental Pollution* 108, 249-255.

Skoric S, Visnjic'-Jeftic Z, Jaric I, Djikanovic V, Mickovic B, Nikcevic M, et al. (2012). Accumulation of 20 elements in great cormorant (*Phalacrocorax carbo*) and its main prey, common carp (*Cyprinus carpio*) and Prussian carp (*Carassius gibelio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80, 244-251.

Sleeman J, Cristol DA, White AE, Evers DC, Gerhold RW, Keel MK. (2010) Mercury poisoning in a free-living Northern River Otter (*Lontra canadensis*). *J. Wild. Dis.* 46(3), 1035-1039.

Smit MD, Leonards PEG., De Jongh AW, Van Hattum BG. (1998). Polychlorinated biphenyls in Eurasian Otter (*Lutra lutra*). *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 157, 95-130.

Squadrone S, Prearo M, Brizio P, Gavinelli S, Pellegrino M, Scanzio T, et al. (2013). Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gill of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian Rivers. *Chemosphere* 90, 358–365.

Subotić S, Spasić S, Višnjić-Jeftić Ž, Hegediš A, Krpo-Ćetković J, Mičković B, et al. (2013). Heavy metal and trace element bioaccumulation in target tissues of four edible fish species from the Danube River (Serbia). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 98, 196–202.

Tables and figures

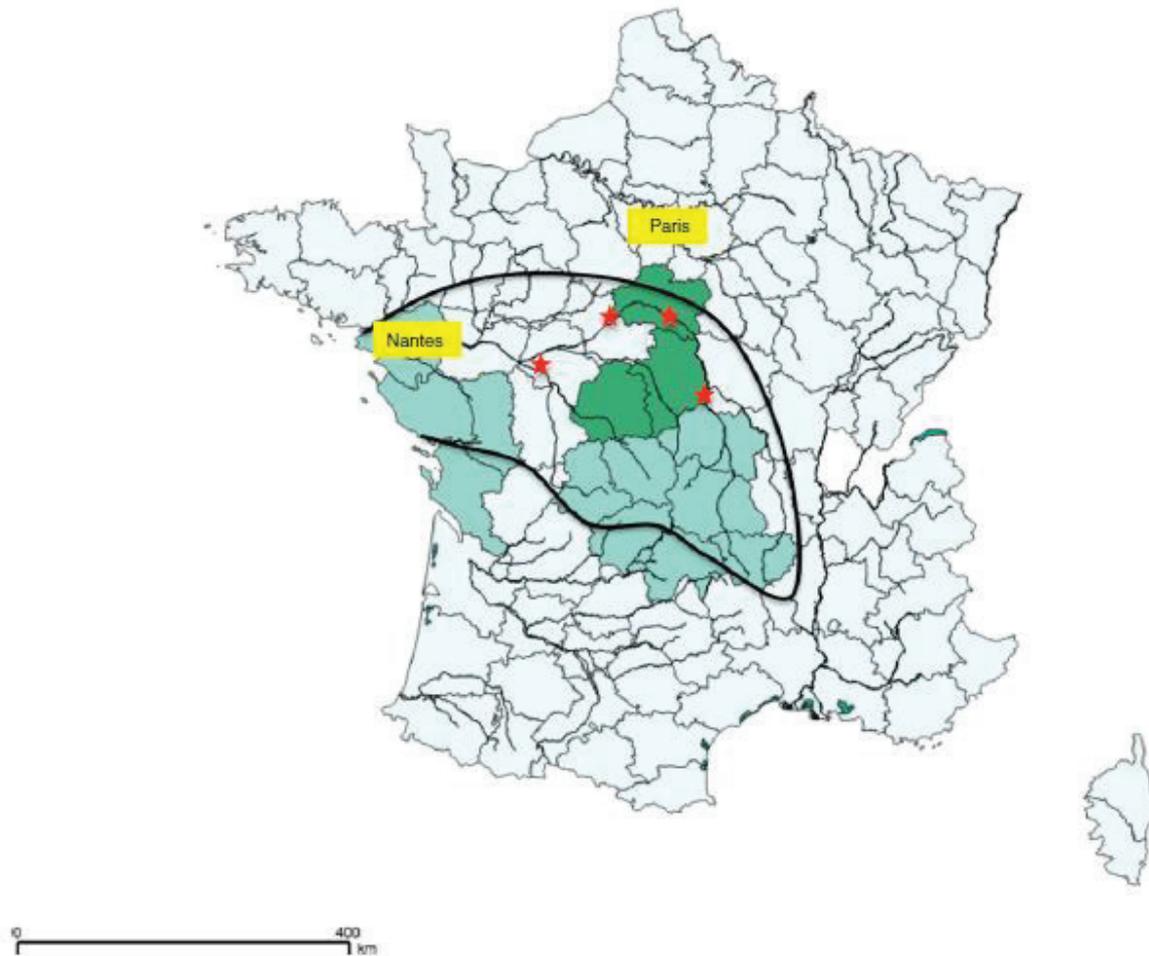


Fig.1. Sampling sites along the Loire basin

Legend: light green: otters only; dark green: catfish and cormorants. Stars indicate the nuclear plants. The dark line symbolizes the Loire river basin.

Table 1. Concentrations of organochlorine compounds (mg/kg wet weight) in the livers of cormorant, otter and catfish from Loire River in France.

		PCBs	DDTs	Lindane	Endosulfan
Cormorants n=59	Mean	0.131	0.113	<LOD	0.134
	Median	0.053	0.035	<LOD	<LOD
	Range	0.012-1.619	<LOD-0.634	<LOD-0.066	<LOD-1.587
	n<LOD	0	7	52	37
Otters n=65	Mean	0.093	0.032	<LOD	0.109
	Median	0.046	0.011	<LOD	<LOD
	Range	0.010-1.961	<LOD-0.364	<LOD-0.049	<LOD-1.124
	n<LOD	0	18	55	35
Catfish n=20	Mean	0.073	0.030	0.025	0.057
	Median	0.070	0.020	<LOD	0.046
	Range	0.015-0.285	<LOD-0.070	<LOD-0.078	0.012-0.132
	n<LOD	0	2	11	0

LOD: limit of detection set at 0.005 mg/kg wet weight

N<LOD: number of individuals below limit of detection

Table 2. Concentrations of PCB congeners (mg/kg wet weight) in livers of cormorant, otter and catfish from Loire River in France (LOD=0.005 mg/kg).

		PCB28	PCB52	PCB101	PCB118	PCB128	PCB153	PCB180
Cormorants	Mean	<LOD	<LOD	0.005	0.009	0.049	0.032	0.024
	Median	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.018	0.012	0.005
	Range	<LOD-0.009	<LOD-0.005	<LOD-0.021	<LOD-0.045	<LOD-0.897	<LOD-0.477	<LOD-0.707
Otters	Mean	<LOD	<LOD	<LOD	0.005	0.017	0.021	0.013
	Median	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.010	<LOD
	Range	<LOD-0.006	<LOD-0.009	<LOD-0.020	<LOD-0.063	<LOD-0.250	<LOD-0.208	<LOD-0.384
Catfish	Mean	<LOD	<LOD	<LOD	0.006	0.013	0.007	<LOD
	Median	<LOD	<LOD	<LOD	0.005	0.007	<LOD	<LOD
	Range	<LOD	<LOD-0.011	<LOD-0.020	<LOD-0.030	<LOD-0.055	<LOD-0.026	<LOD-0.011

Table 3. Concentrations of organochlorine compounds (mg/kg wet weight) and trace elements (mg/kg dry weight) in the livers of otters

		PCBs	OCP	Cu	Pb	Cd	Hg
Males	Mean	0.131	0.177	39.30	0.63	0.27	4.54
	Median	0.040	0.040	32.08	0.47	0.18	3.70
	Range	0.010-1.961	0.012-1.406	2.81-120.97	0.09-4.25	0.04-1.77	0.36-14.26
Females	Mean	0.036	0.093	51.27	1.54	0.24	4.86
	Median	0.030	0.045	33.86	0.58	0.13	0.87
	Range	0.006-0.097	0.012-0.608	7.83-251.83	0.05-9.30	0.01-1.33	0.17-18.52
Young	Mean	0.035	0.107	58.10	0.98	0.18	3.38
	Median	0.024*	0.045	40.67	0.50	0.10*	3.14*
	Range	0.009-0.201	0.012-0.604	12.05-251.80	0.05-5.33	0.01-0.62	0.17-8.96
Adults	Mean	0.127	0.164	37.91	1.00	0.32	5.72
	Median	0.040*	0.030	31.81	0.49	0.21*	4.66*
	Range	0.008-1.961	0.012-1.418	7.10-120.97	0.09-9.30	0.04-1.77	0.36-18.52

*significant difference (p< 0.05) between age groups

Table 4. Concentrations of Cu, Pb, Cd and Hg (mg/kg dry weight) in livers of cormorant, otter and catfish from Loire River in France.

	Cormorants n=59				Otters n=65				Catfish n=20			
	Cu	Pb	Cd	Hg	Cu ^a	Pb	Cd	Hg	Cu	Pb	Cd ^a	Hg
Mean	22.00	1.23	0.31	5.47	44.46	1.02	0.26	4.68	18.06	0.73	1.49	2.71
SD	18.69	4.48	0.21	4.76	37.8	1.64	0.29	3.72	8.27	0.35	0.97	4.08
Median	17.36	0.63	0.24	3.61	33.61 ^a	0.49	0.17	3.7	18.18	0.79	1.21 ^a	0.84
Range	5.04-113.22	0.05-34.9	0.05-1.19	0.87-22.51	2.81-251.83	0.05-9.30	0.05-1.77	0.17-18.52	4.79-37.92	0.19-1.27	0.17-3.96	0.20-14.23

^a significant species difference

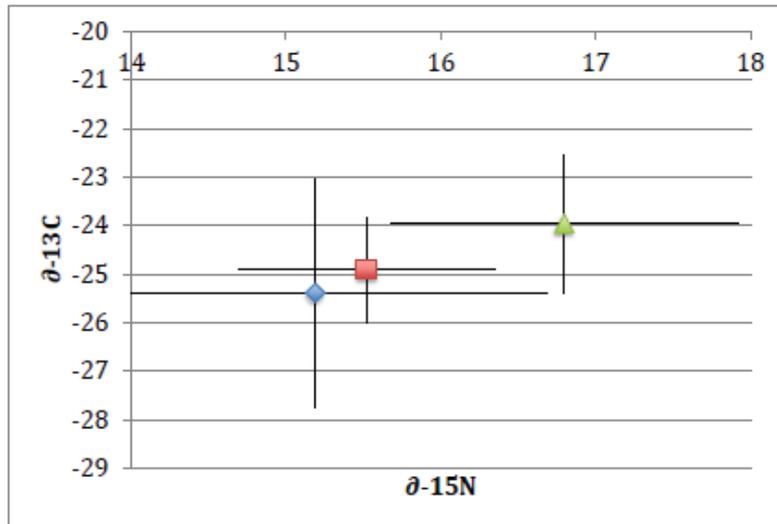
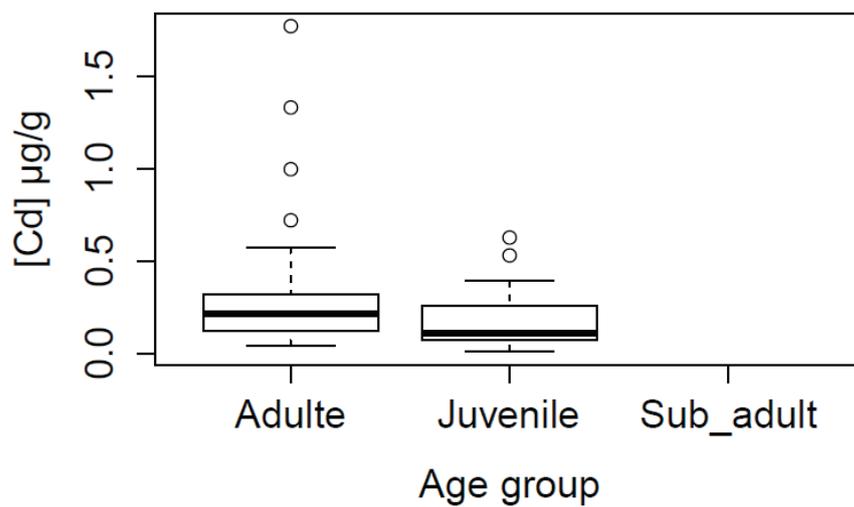
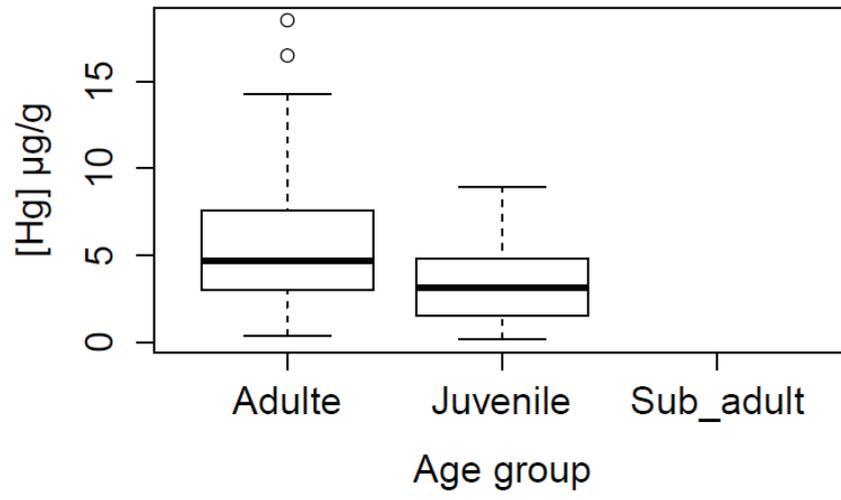


Fig.2. Mean values of $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ of otters (*diamond*), cormorants (*triangle*) and European catfish (*square*). Bars represent SD

Electronic Supplementary data: Difference in concentrations of cadmium (2a) and mercury (2b) between adults and young otters (dry weight, $p < 0.05$)

Box: median, 1st quartile, 3rd quartile





II.3 Données complémentaires

II.3.1. Concentration du cadmium dans le foie des prédateurs de la Loire

Dans notre étude, nous avons trouvé que les concentrations du cadmium dans le foie du silure sont significativement supérieures à celles détectées dans les autres espèces ($p < 0.05$).

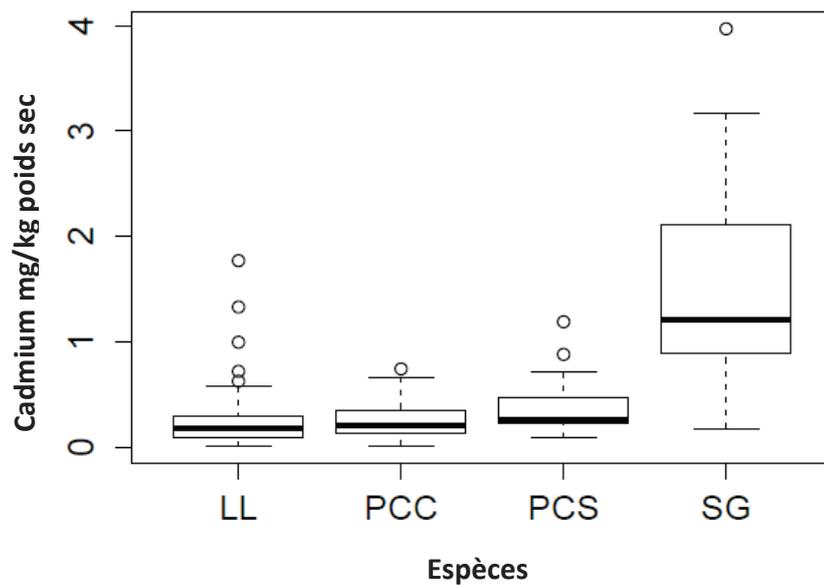


Figure 15. Concentration du cadmium dans les prédateurs (LL. Loutre ; PCC, PCS. Cormoran ; SG. Silure)

II.3.2. Le cuivre dans le foie des prédateurs

Les concentrations du cuivre dans le foie de la loutre (44.5 mg/kg poids sec) sont significativement supérieures à celles trouvées dans le cormoran et le silure. Cela peut être expliqué que les mammifères ont plus de capacités d'accumuler de cuivre dans leurs tissus, par contre ces concentrations ne font pas d'effets toxicologiques chez la loutre.

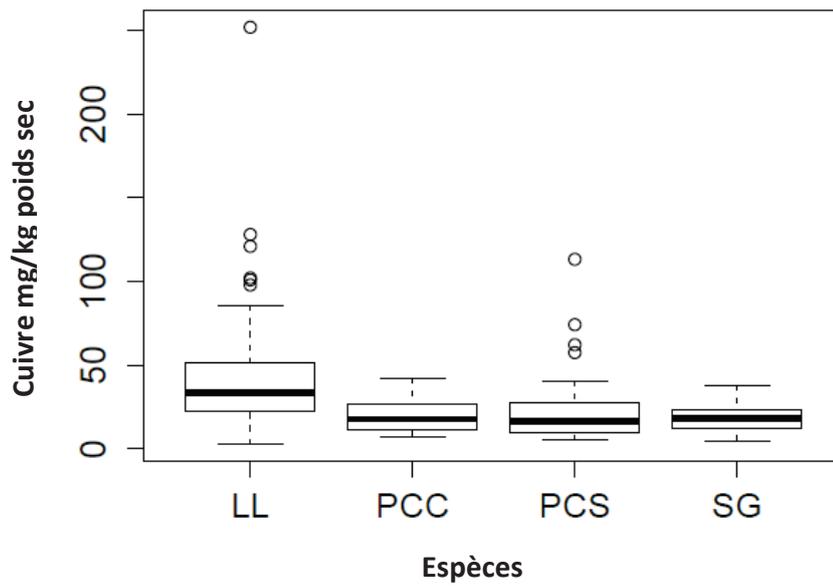


Figure 16. Concentration du cuivre dans les prédateurs

II.3.3. Le mercure dans les espèces des prédateurs

Parmi l'accumulation du mercure, nous n'avons pas trouvé une différence significative entre les trois prédateurs

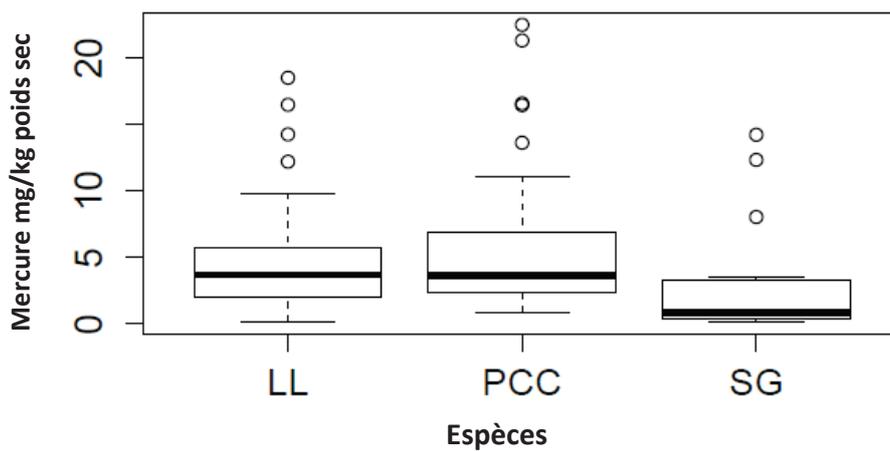


Figure 17. Concentration du mercure dans les prédateurs

III. Exposition des invertébrés (limaces) aux rodenticides anticoagulants au laboratoire et sur le terrain

III.1 Objectifs

A travers cette étude, nous cherchons à répondre aux questions suivantes pour bien comprendre le transfert des rodenticides anticoagulants AVKs dans la chaîne alimentaire terrestre

1. Est-ce que les limaces consomment les appâts raticides?
2. Est-ce que les rodenticides anticoagulants s'accumulent dans les tissus des limaces ?
3. Est-ce que les limaces sont considérées comme une source de transfert des raticides dans la chaîne alimentaire terrestre (de proies vers les prédateurs) ?
4. Quels sont les risques toxicologiques (aigué, répété ou subchronique) pour les prédateurs des limaces ?

On pose l'hypothèse suivante : l'exposition des limaces à la chlorophacinone, bromadiolone et brodifacoum provoque l'accumulation de ces rodenticides dans les tissus des limaces.

III.2 Article n°2

Science of the Total Environment 610-611 (2018) 576-582

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.117>

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

Accumulation of anticoagulant rodenticides (chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum) in a non-target invertebrate, the slug, *Deroceras reticulatum*

Hussein Alomar^a, André Chabert^b, Michael Coeurdassier^c, Danièle Vey^a, Philippe Berny^a

^a USC1233 INRA -VetAgro-Sup Campus Vétérinaire de Lyon, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'Etoile, France

^b ACTA, ICB-VetAgro-Sup, 1 avenue Bourgelat, 69280 Marcy l'étoile, France

^c Laboratoire Chrono-Environnement UMR UFC/CNRS 6249 USC INRA, Université Bourgogne Franche-Comté, 16 route de Gray, 25000 Besançon, France

Corresponding author: hussein.alomar@etu.univ-lyon1.fr ; tel: +33 (0)4 78 87 26 31 fax: +33(0)4 78 87 80 12

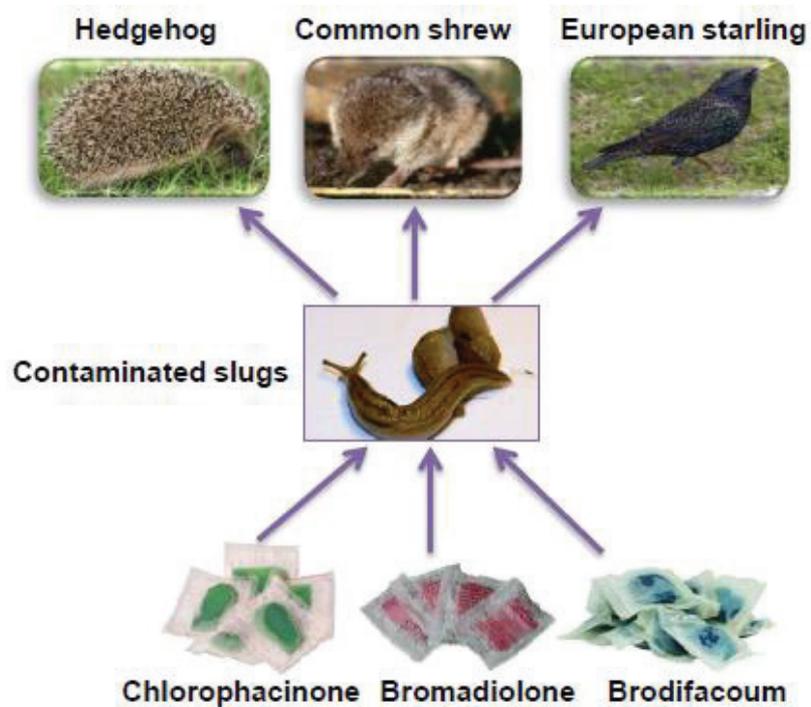
Received 14 May 2017/ Received in revised form 11 August 2017/ Accepted 12 August 2017

Available online 17 August 2017

Highlights

- Chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum accumulate in slugs
- In the field, brodifacoum was detected in > 90 % of analyzed slugs
- Brodifacoum baits represent a high risk of secondary poisoning for slug predators

Graphical abstract



Abstract:

Anticoagulant rodenticides (ARs) are used worldwide to control populations of agricultural and urban rodents, but these pesticides may be accumulated in and poisoned non-target species of wildlife. Slugs may feed on rodenticide bait following field applications. Thus, it can be assumed that their predators are exposed to rodenticides through food chain transfer. However, AR exposure in the slugs has not been systematically studied. We investigated the accumulation of three ARs (chlorophacinone, bromadiolone or brodifacoum) in the slug *Deroceras reticulatum* exposed for a period of 5 days followed by depuration time of 4 days in the laboratory. Moreover, we studied the exposure of slugs to brodifacoum in the field. In the laboratory exposure, the slugs consumed rodenticide baits, but no mortality was observed. After 1 day, their concentrations were stable over the time and no differences were detected between the concentrations of the three ARs. After 5 days of exposure, mean concentrations in slugs were 1.71, 1.91 and 0.44 mg/kg wet weight for chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum respectively. A significant decrease of bromadiolone and brodifacoum in slugs was observed in the post exposure period. In the field study, brodifacoum was detected in > 90 % of analyzed slugs after application of brodifacoum baits. Then, based on a toxicity-exposure ratio approach, we found that slug consumption may represent a risk of secondary poisoning for three of their predators under acute, repeated or subchronic exposure scenarios. These results suggest that the slugs are not only the potential subject to primary exposure, but also the source of secondary exposure for their predators following application of rodenticide baits.

Keywords: Exposure; Secondary poisoning; Rodenticides; Risk; Predators

1. Introduction:

Anticoagulant rodenticides (ARs) are highly toxic compounds and widely used for pest control of rodents (Eason et al., 2002; Ruiz-Suárez et al., 2014). They act by inhibition of vitamin K epoxide reductase, and as a result block the vitamin K cycle, which is essential for the production of blood-clotting factors (Pelfrène, 2010).

The first generation anticoagulant rodenticides (FGARs) such as warfarin, chlorophacinone and diphacinone were introduced in the late 1940s. The second generation anticoagulant rodenticides (SGARs) such as bromadiolone, brodifacoum, difenacoum, difethialone and flocoumafen were developed in the 1970s, they generally are more effective, toxic and persistent for animals than FGARs (Thijssen et al., 1989; Eason et al., 2002; Pelfrène, 2010). Non-target species may be affected by ARs, either directly through consumption of poisoned baits or indirectly through consumption of contaminated preys (secondary poisoning) (Berny et al., 1997; Lambert et al., 2007).

Since many years, numerous studies have reported the secondary exposure of predatory birds or mammals due to the consumption of poisoned rodents (Berny et al., 1997; McDonald et al., 1998; Shore et al., 1999, 2003a; Sánchez-Barbudo et al., 2012; Langford et al., 2013; Stansley et al., 2014; Poessels et al., 2015). Moreover, the exposure of insectivorous birds and mammals to ARs was reported (Borst and Couston, 2002; Dowding et al., 2006; Dowding et al., 2010) and invertebrates, including insects, snails and/or slugs, were suggested as a potential route of contamination (Spurr and Drew, 1999; Elliott et al., 2013). Indeed, a variety of invertebrates, including slugs, were observed on and around baits after the application of ARs in New Zealand, Spain or Hawaiian forests (Morgan et al., 1996; Spurr and Drew, 1999; Dunlevy et al., 2000; Elliott et al., 2013; Hernández-Moreno et al., 2013). The accumulation of ARs in invertebrates,

exposed potentially by direct consumption of baits, and/or rodent carcasses and faeces and/or by ingestion of soil-bound residues, was shown in arthropods, earthworms and gastropods, including slugs (Spurr and Drew, 1999; Dunlevy et al., 2000; Craddock, 2002; Eason et al., 2002; Hernández-Moreno et al., 2013; Liu et al., 2015). The diet of many mammals and birds, such as European hedgehog or European starling, consists of slugs that could therefore represent an important pathway of AR transfer for their predators. However, exposure of slugs to ARs was rarely studied and the occurrence of AR residues in slugs was not well characterized.

The aim of this study is to estimate (i) the accumulation of three anticoagulant rodenticides (chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum) in the slug *Deroceras reticulatum* exposed to these ARs in laboratory conditions and (ii) the accumulation of brodifacoum in the field. Then, in order to test whether invertebrates may cause lethal or sublethal poisoning of some of their predators by ARs, we calculated the dose of brodifacoum ingested daily by three carnivorous, including the Common shrew, the European starling and the Hedgehog, eating slugs randomly among those collected in the field trial. Then, based on a toxicity-exposure-ratio approach, we determined the subsequent risk of secondary poisoning under acute, repeated and subchronic exposure scenarios.

2. Materials and methods

2.1 Laboratory exposure study

This experiment was conducted in the laboratory of Vetagro Sup in Lyon, France. Slugs for control analyses and laboratory exposure tests were collected in April 2016 from some areas near the city of Lyon without history use of ARs. After collection, slugs were kept in an incubation chamber under controlled conditions of temperature (18 ± 1 °C) and moisture content in soil (30 - 35 %, local agricultural soil). After acclimatization for three days, 120 healthy slugs weighing

100 – 1000 mg were selected and placed randomly in individual petri box for testing with wax block baits. These slugs received chlorophacinone (green bait Rozol pat 0.005%), bromadiolone (red bait Maki[®] pat 0.005%) or brodifacoum (blue bait Saphir pasta[®] 0.004%), 40 individuals for each rodenticide during an exposure period from 1 to 5 days and a post exposure period. Fifteen individuals were collected each day (n = 5 for each rodenticide). Blocks were cut to administer them to slugs. A total of 5 g of rodenticide bait per slug was offered, as the only food during exposure period. Daily bait consumption was checked by the visual presence of bait color in the faeces. It was not possible to determine the exact amount of bait ingested, because of the high hydrophilicity of the bait associated to the high humidity in the enclosure, which was maintained to keep slugs active and in good conditions. At the end of the exposure, the remaining slugs received only salad during a post exposure period of 4 days during which 45 slugs were collected at 1 d (15 slugs), 3 d (15 slugs) and 4 d (15 slugs).

The slug samples were finally collected, fast frozen at - 80 °C and stored at - 20 °C until use. The concentration of active ingredient in the Block baits was confirmed by HPLC analysis.

2.2 Field exposure study

Field study was carried out in a local area near Lyon (France), in November 2016. Tamper-resistant plastic bait stations were placed on the ground at 10 m intervals along rat trails. A total of 12 bait stations were placed on site. Bait stations were checked daily for food consumption, slug presence and slug collection during 3 weeks. We found twenty-three slugs on day 3 (7 slugs), day 14 (8 slugs) and day 15 (8 slugs) after the distribution of brodifacoum baits*. These slugs were collected, identified and stored at - 20 °C until use. Brodifacoum concentration in bait, 0.0024 %, was confirmed by HPLC analysis.

2.3 Residue analyses

Each slug sample was analyzed separately, homogenized and blended in 10 ml of acetone using Ultraturrax® (Ika ,Werke, Germany). The whole slug was used for analysis (total weight 100 - 1000 mg). The obtained extract was centrifuged at 4000g for 10 min and evaporated to dryness under a stream of nitrogen at 60 °C. The residues were reconstituted to 2 ml of methanol, mixed in vortex 30 s, and centrifuged at 4000g for 10 min. Reconstituted extracts were transferred to clean test tubes, and evaporated to dryness. The dry extract was reconstituted with 2 ml of acetonitrile, vortexed for 30 s, and cleaned with 2 ml of hexane. After agitation for 20 s in vortex, the upper hexane phase was removed using a Pasteur pipette. The extract was evaporated to dryness under a stream of nitrogen at 60 °C and reconstituted to 0.5 ml of mixture of 70 % methanol and 30 % phosphate buffer (v/v) for analysis by HPLC. The concentration of these ARs is given in mg/kg wet weight. Individuals collected in an area with no AR treatment were used as a negative control. The recovery level on spiked samples was always > 92 %.

2.4 High performance liquid chromatography (HPLC)

Concentrations of ARs (chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum) were quantified by high-performance liquid chromatography (HPLC). The used HPLC system is equipped with an isocratic pump (L6000), an automatic sampler (AS2000), UV detector, a fluorimetric detector (F1000) and integration software. 15 µl of each sample or standard solution (Pestanal® Sigma-Aldrich, purity 99.5%) was injected in a C18 column (10 nm pores, 5 µm granule size), 250 × 4 mm (Chromcart Nucleosil, Macherey–Nagel, Strasbourg, France). The elution solution was prepared with 70 % methanol and 30 % of phosphate buffer (v/v) (pH = 6.5). The phosphate buffer solution was prepared from disodium hydrogen phosphate dehydrate and potassium dihydrogen phosphate (both > 99% purity). Bromadiolone and brodifacoum concentrations in samples were determined fluorimetrically (excitation wavelength of 250 nm and emission

wavelength of 350 nm). Chlorophacinone was detected under UV light at 286 nm. Linearity was determined with 5-points calibration curves ($R^2 > 0.99$) on standard solutions and spiked samples (standard solutions added to control slugs before extraction from 0.02 to 0.5 mg/kg). Detection limit was 0.02 mg/kg for all ARs tested in spiked slugs.

2.5 Statistical analysis

Values were expressed as mean \pm standard error of mean (SEM) for all the experiments. Coefficients of variation were also computed ($CV = SEM*100/Mean$). Chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum residue data and residuals were examined for normality using the Shapiro-Wilk test. Non parametric test (Mann-Whitney Wilcoxon or Kruskal-Wallis) were used in case of lack of normality to compare concentrations between days during the exposure period for each rodenticide. Pooled data for each AR rodenticide exposure were compared to determine if there was a difference between groups in terms of accumulation (Kruskal-Wallis). The Spearman correlation test was used to analyze residue concentration over time (absorption, elimination) comparing concentrations in slugs each day for the accumulation or elimination period to identify a significant positive or negative trend. Significance level was set at $p \leq 0.05$ and statistical analysis was computed using the R 3.1.1 computer program (<http://R-project.org>).

2.6 Risk assessment for slug predators

We used a toxicity-exposure ratio (TER) approach to assess the risk that slugs exposed to brodifacoum in the field may represent for three of their predators, two mammals, the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) and the Common shrew (*Sorex araneus*) and a bird, the European starling (*Sturnus vulgaris*). This methodology is specifically developed for birds and mammals exposed to pesticides (European Food Safety Authority 2009). The characteristics of the predators used for risk assessment are presented in Table 1. The exposure factor was calculated as the daily dose of brodifacoum ingested by each predator (expressed in mg

brodifacoum / kg body weight / day) based on the brodifacoum concentration in slugs measured in the field. We assumed that the slugs constitute 4%, 20% and 6.5% of the biomass of diet ingested daily by the three predators, respectively (Table 1). For each predator, predation was simulated by randomly sampling slugs among all the individuals collected in the field and assuming that, in a treated site, slug population may mix individuals exposed for 3 days or for 14 - 15 days. When the biomass of slugs sampled reached the biomass ingested daily by a predator (Table 1), the sampling was stopped and the quantities of brodifacoum contained in predated slugs were summed and divided by the body mass of the predator. For each predator, the dose of brodifacoum was calculated using Monte Carlo simulations based on 500 random samplings in slug population. The toxicity factors were retained in order to simulate different scenarios of exposure: acute single dose exposure corresponding to acute oral LD50 for rat (0.4 mg / kg bw / day) or for bird (mallard duck, 0.31 mg / kg bw / day), repeated 5-days exposure corresponding to oral LD50 5d for rats (0.06 mg / kg bw / day) or for birds (laughing gull *Leucophaeus atricilla*, 0.07 mg / kg bw / day) and/or subchronic exposure (repeated 90 days) corresponding to the no-adverse-effect level (NOAEL) determined for rats (0.001 mg / kg bw / day) or for birds (calculated from toxicity test of difenacoum on Japanese quail *Coturnix japonica*, 0.000385 mg / kg bw / day). All these toxicity factors were proposed by the Standing Committee on Biocidal Products (2009). Then, the risks for predators were assessed as $TER = LD50 \text{ or NOAEL} / \text{daily dietary dose}$. The acute and repeated-5d risks were evidenced when $TER < 10$ while a subchronic risk corresponded to $TER < 5$ (European Food Safety Authority 2009). For each exposure scenario, risk was expressed as the probability that the $TER < 10$ or 5 and was calculated using Monte Carlo simulations as described above. The elimination half-life for AR residues in slugs was determined from the regression of $\log [AR]$ over time (Riviere, 2011).

3. Results and discussion

3.1 Accumulation of rodenticides in slugs in the laboratory experiment

Our laboratory and field exposure trials showed that all slugs consumed chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum baits, and AR residues were detected in these slugs, as previously reported in field studies (Spurr and Drew, 1999; Dunlevy et al., 2000).

The results we obtained indicate that chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum are accumulated in slugs rapidly as residues were detected from the first day of exposure in 100 % of the sampled individuals. Then, the concentrations were stable over time and were not significantly different between the 3 ARs (KW $p > 0.05$). The highest average chlorophacinone residues were observed on the third day followed by the fourth day, with 2.05 and 1.92 mg/kg wet weight, respectively. The maximum average residues of bromadiolone was found on the fifth day followed by the first day, with 1.91 and 1.78 mg/kg, respectively. The maximum average values of brodifacoum was measured on the third day followed by the second day, with 0.77 and 0.65 mg/kg, respectively (Fig. 1). This can be explained by the fact that the amount of bait ingested was different between slugs. Moreover, as evidenced by the lack of bait color in faeces, some slugs did not continuously consume bait throughout the period of exposure. It should be noted, however, that the obtained results were highly variable (CV >30%), which may be attributed to the variable food or bait intake as well as variable body mass/water content. The measured concentrations in slugs in laboratory exposure correspond to what is accumulated and also to what is found in the digestive tract.

Previous researches have also concluded that snails feeding on the bait also accumulated brodifacoum (Booth et al. 2001, 2003; Craddock, 2003; Bowie and Ross, 2006). According to Booth et al. (2003), the maximum brodifacoum residue level found in both the body and foot

tissue of snails was 3.9 and 1.2 mg/kg wet weight, respectively, whereas the highest residues of brodifacoum in earthworms were 0.90 mg/kg ww. Moreover, Liu et al. (2015) observed in a laboratory experiment that bromadiolone in soil can be accumulated in earthworms, with maximal residue 0.44 mg/kg ww, and they showed that bromadiolone is toxic for earthworms at 1 mg/kg soil, which is a likely concentration in the field following application of bromadiolone baits. Primus et al. (2006) studied the exposure of two species of slugs (*Deroceras laeve* and *Limax maximus*) to baits containing diphacinone (FGAR), and this rodenticide was measured in whole slug, at concentrations ranging from 1.3 to 4.0 mg/kg dw for *D. laeve* and < LOD to 1.8 mg/kg dw for *L. maximus*.

Blood-clotting mechanisms in invertebrates are different to those found in vertebrates, so invertebrates are less sensitive to ARs than mammals and birds (Pain et al., 2000; Craddock, 2003; Johnston et al., 2005a, 2005b). In our study, no mortality was observed in any of the slugs exposed to the three used ARs during the course of the study, similar tolerance to ARs was also reported in previous studies (Shirer, 1992; Eason and Spurr, 1995). This observation indicates that the acute primary toxicity of chlorophacinone, bromadiolone or brodifacoum to the slug *D. reticulatum* is probably low even if it cannot be quantified from the present results.

During laboratory exposure period, chlorophacinone, bromadiolone and brodifacoum residues in slugs ranged 0.6 to 3.3 mg/kg, 0.2 to 4.24 mg/kg and 0.07 to 1.65 mg/kg, respectively. The decrease of bromadiolone and brodifacoum concentrations in slugs was significant during the post exposure period (Spearman test $p = 0.002$ and 0.02 , respectively), whereas this decrease was not significant for chlorophacinone (Spearman test $p = 0.26$) (Fig. 1). It can be suggested that these ARs were eliminated quickly (some days) from slug through metabolism and/or fecal excretion. We estimated the elimination half-life for bromadiolone and brodifacoum at $1.9 (\pm 0.6)$ and $2.5 (\pm 0.9)$ days respectively. For chlorophacinone, the elimination half-life was estimated at

4.0 (± 1.2) days. Prolonged persistence of chlorophacinone residues may result in prolonged exposure of predators. These elimination half-lives are considerably shorter than those observed in rodents (for instance: Brodifacoum and bromadiolone > 6 months, chlorophacinone > 3 months) (Erickson and Urban, 2004).

3.2 Accumulation of brodifacoum in slugs in the field and risk assessment for slug predators

In our field study, no invertebrates except slugs were observed on the rodenticide baits, may be because of the low activity of most of the invertebrates during the field trial in November. Similarly, we did not detect slugs every day, but it should be noted that the period was cool and dry and only 2 days of rain were recorded during the exposure period (on day 2 and day 14). However, previous studies identified a broad range of invertebrate species visiting bait stations (Spurr and Powlesland, 1997; Sherley et al., 1999; Spurr and Berben, 2004; Bowie and Ross, 2006). Brodifacoum was detected in 21 slugs from a total of 23 samples. The concentrations ranged from < LOD to 10.6 mg/kg wet weight (Fig. 2). It means that > 90% of analyzed slugs were contaminated with brodifacoum during the field trial. These concentrations are quite similar or even higher than those measured in the laboratory experiment, but we need to mention that we do not know how long these slugs have been exposed (from 1 to 15 days). It should also be mentioned that there were only two days of rain during the field trial, and it may well be that slugs were active and fed more actively during these two days. We could not detect evidence of mortality in slugs in the field. Insectivorous birds and mammals could be exposed to ARs in baiting areas via consumption of gastropods, including contaminated slugs. According to different scenario of exposure, we showed that the European hedgehog, the Common shrew and the European starling can be exposed to high doses of brodifacoum via slug consumption. The hedgehog is exposed to the lowest median doses, 0.007 mg brodifacoum / kg bw /d, whatever the

scenario, while the European starling ingested doses that are approximately 10 times higher (Table 2). With a median exposure of 0.576 to 0.580 mg brodifacoum / kg bw /d, the Common shrew is the most exposed predator (Table 2). The calculated toxicity-exposure ratios suggest that such levels of exposure could be at risk in most of the cases (Fig. 3). The absence of risk was determined in only one scenario corresponding to a hedgehog consuming slugs for one day. In this case, the doses ingested were from 40 to 100 times lower than the LD50 for rats (Fig. 3). We calculated that the dose of brodifacoum would lead to a TER < 10, the threshold retained for a risk, if contaminated slugs constitute 23.4% of the biomass ingested by a hedgehog. Assuming a repeated exposure of a hedgehog for 5 days, the TER were < 10 in 80% of the simulations (Fig. 3), suggesting that, under this realistic scenario, slugs could be a pathway leading to lethal poisoning of hedgehog. The frequent exposure of hedgehog to rodenticides has been previously shown in UK (Downing et al. 2010). Residues were detected in the liver of 66.7% of the individuals studied (n = 120), difenacoum and bromadiolone being the most frequently detected. The authors did not investigate the main routes of exposure of hedgehogs to ARs but they assumed that predation of contaminated invertebrates is likely to be a major pathway. Moreover, although no evidence of lethal poisoning was found, this cannot be excluded because animals with fatal doses may become lethargic some hours before death and die in cryptic locations (Downing et al. 2010). The modeling approach developed in this work reinforces these hypotheses about the possible role of invertebrates in lethal or sublethal poisoning of hedgehog by AR. For the Common shrew feeding on slugs, the risk posed by brodifacoum is high even in the acute exposure scenario in which the TER < 1 in 99% of the simulations (Fig. 3). We also calculated that the repeated consumption of slugs during 5 days would probably kill shrews (TER < 0.16, Fig. 3) and that subchronic exposure is also at high risk (TER < 0.003, Fig. 3). In a site treated with brodifacoum for rat control, a high residue occurrence was measured in the White-

toothed shrew *Crocidura russula* (66% of individuals) and *Sorex spp.* (28%), but neither the exposure pathway nor effects were investigated (Geduhn et al. 2014). It has been proposed that shrew exposure could be due to both primary (direct bait consumption) and secondary poisoning caused by invertebrate predation (Brakes and Smith 2005). Finally, feeding on contaminated slugs would be detrimental also for the European starling in all scenarios. In the case of acute and/or repeated exposure scenario, our assessment is consistent with previous zoo case reporting that the insectivorous birds died from eating ants and cockroaches that had fed on brodifacoum baits (reported by Godfrey 1985). Moreover, in the cultivated crops areas, populations of slugs are strongly variable according to weather conditions of the soil and culture conditions. Studies carried out in UK indicate that the populations varied from 10 to 100 slugs per m² with peaks at 500 slugs per m² (Glen et al., 1996). Despite our limited sampling period, we could determine that, after the end of exposure, the calculated half-life for AR in slugs is around 2 – 2.5 days for brodifacoum and bromadiolone and up to 4 days for chlorophacinone. It can be estimated that slugs would need 10 – 15 days (i.e., 5 half-lives) to eliminate completely bromadiolone or brodifacoum residues and up to 20 days to eliminate chlorophacinone (Riviere, 2011).

4. Conclusion

The use of ARs in the field can result in primary exposure of non-target invertebrate such as slugs, which can consume AR baits and accumulate residues in their bodies. Therefore, several insectivorous birds and mammals could be exposed to these rodenticides in baiting areas via consumption of contaminated slugs. The exposure can also continue during few days after removal of rodenticide baits. Our TER risk analysis based on brodifacoum residues in slugs collected from the field, shows that the slugs represent a high risk of secondary poisoning for 3 of their predators, the European hedgehog, the Common shrew and the European starling. It means

that the contamination of slugs results a potential risk for non-target intoxication in terms of species and individuals. Therefore, it is recommended to implement a protocol of AR application to mitigate the risk of ARs baits for non-target invertebrates. For instance, (1) AR baits should not be applied during slug activity unless necessary, (2) after the application of AR baits, we have to examine the plastic bait stations every day to remove any presented slugs.

5. References

- Berny, P.J., Buronfosse, T., Buronfosse, F., Lamarque, F., Lorgue, G., 1997. Field evidence of secondary poisoning of foxes (*Vulpes vulpes*) and buzzards (*Buteo buteo*) by bromadiolone, a 4 year survey. *Chemosphere* 35, 1817–1829.
- Booth, L.H., Eason, C.T., Spurr, E.B., 2001. Literature review of the acute toxicity and persistence of brodifacoum to invertebrates. *Sci. Conserv.* 177, 1–9.
- Booth, L.H., Fisher, P., Heppelthwaite, V., Eason, C.T., 2003. Toxicity and residues of brodifacoum in snails and earthworms. *DOC Sci. Intern. Ser.* 143, 5–14.
- Borst, G.H.A., Counotte, G.H.M., 2002. Shortfalls using second-generation anticoagulant rodenticides. *J. Zoo Wildl. Med.* 33, 85.
- Bowie, M.H., Ross, J.G., 2006. Identification of weta foraging on brodifacoum bait and the risk of secondary poisoning for birds on Quail Island, Canterbury, New Zealand. *N. Z. J. Ecol.* 219–228.
- Brakes, C.R., Smith, R.H., 2005. Exposure of non-target small mammals to rodenticides: short-term effects, recovery and implications for secondary poisoning. *J. Appl. Ecol.* 42, 118–128.
- Churchfield, S., 1982. Food availability and the diet of the common shrew, *Sorex araneus*, in Britain. *J. Anim. Ecol.* 15–28.
- Craddock, P., 2003. Aspects of the Ecology of Forest Invertebrates and the Use of Brodifacoum. PhD thesis. University of Auckland, New Zealand, 206 pp.
- Crocker, D., Hart, A., Gurney, J., McCoy, C., 2002. Methods for Estimating Daily Food Intake of Wild Birds and Mammals. Final Report PN0909. British Department for Environment. Food & Rural Affairs.
- Dowding, J.E., Lovegrove, T.G., Ritchie, J., Kast, S.N., Puckett, M., 2006. Mortality of northern New Zealand dotterels (*Charadrius obscurus aquilonius*) following an aerial poisoning operation. *Notornis* 53, 235–239.

Dowding, C.V., Shore, R.F., Worgan, A., Baker, P.J., Harris, S., 2010. Accumulation of anticoagulant rodenticides in a non-target insectivore, the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Environ. Pollut.* 158, 161–166.

Dunlevy, P.A., Campbell, E.W., Lindsey, G.W., 2000. Broadcast application of a placebo rodenticide bait in a native Hawaiian forest. *Int. J. Biodeterioration Biodegradation* 45, 199–208.

Eason, C.T., Spurr, E.B., 1995. Review of the toxicity and impacts of brodifacoum on non-target wildlife in New Zealand. *N. Z. J. Zool.* 22, 371–379.

Eason, C.T., Murphy, E.C., Wright, G.R.G., Spurr, E.B., 2002. Assessment of risks of brodifacoum to non-target birds and mammals in New Zealand. *Ecotoxicology* 11, 35–48.

Elliott, J.E., Hindmarch, S., Albert, C.A., Emery, J., Mineau, P., Maisonneuve, F., 2014. Exposure pathways of anticoagulant rodenticides to nontarget wildlife. *Environ. Monit. Assess.* 186, 895–906.

Erickson, W., Urban, D., 2004. Potential risks of nine rodenticides to birds and nontarget mammals: a comparative approach. Environmental Protection Agency Office of Prevention. Pesticides and Toxic Substances, Washington, DC., USA.

European Food Safety Authority, 2009. Guidance document on risk assessment for birds & mammals on request from EFSA. *EFSA J.* 7 (12):1438. <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2009.1438> Available online: www.efsa.europa.eu.

Feare, C.J., McGinnity, N., 1986. The relative importance of invertebrates and barley in the diet of Starlings *Sturnus vulgaris*. *Bird Study* 33, 164–167.

Geduhn, A., Esther, A., Schenke, D., Mattes, H., Jacob, J., 2014. Spatial and temporal exposure patterns in non-target small mammals during brodifacoum rat control. *Sci. Total Environ.* 496, 328–338.

Glen, D.M., Wiltshire, C.W., Walker, A.J., Wilson, M.J., Shewry, P.R., 1996. Slug problems and control strategies in relation to crop rotations. *Asp. Appl. Biol.* (U. K.).

Godfrey, M.E.R., 1985. Non-target and secondary poisoning hazards of 'second generation' anticoagulant rodenticides. *Acta Zool. Fenn.* 173, 209–212.

Hernández-Moreno, D., De La Casa-Resino, I., Lopez-Beceiro, A., Fidalgo, L.E., Soler, F., Perez-Lopez, M., 2013. Secondary poisoning of non-target animals in an Ornithological Zoo in Galicia (NW Spain) with anticoagulant rodenticides: a case report. *Vet. Med.* 58, 553–559.

Johnston, J.J., Holmes, M.J., Hart, A., Kohler, D.J., Stahl, R.S., 2005a. Probabilistic model for estimating field mortality of target and non-target bird populations when simultaneously exposed to avicide bait. *Pest Manag. Sci.* 61, 649–659.

Johnston, J.J., Pitt, W.C., Sugihara, R.T., Eisemann, J.D., Primus, T.M., Holmes, M.J., Hart, A., 2005b. Probabilistic risk assessment for snails, slugs, and endangered honeycreepers in diphacinone rodenticide baited areas on Hawaii, USA. *Environ. Toxicol. Chem.* 24, 1557–1567.

Lambert, O., Pouliquen, H., Larhantec, M., Thorin, C., L'Hostis, M., 2007. Exposure of raptors and water birds to anticoagulant rodenticides (difenacoum, bromadiolone, coumatetralyl, coumafen, brodifacoum): epidemiological survey in Loire Atlantique (France). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 79, 91–94.

Langford, K.H., Reid, M., Thomas, K.V., 2013. The occurrence of second generation anticoagulant rodenticides in non-target raptor species in Norway. *Sci. Total Environ.* 450, 205–208.

Liu, J., Xiong, K., Ye, X., Zhang, J., Yang, Y., Ji, L., 2015. Toxicity and bioaccumulation of bromadiolone to earthworm *Eisenia fetida*. *Chemosphere* 135, 250–256.

McDonald, R.A., Harris, S., Turnbull, G., Brown, P., Fletcher, M., 1998. Anticoagulant rodenticides in stoats (*Mustela erminea*) and weasels (*Mustela nivalis*) in England. *Environ. Pollut.* 103, 17–23.

Morgan, D.R., Wright, G.R., Ogilvie, S.C., Pierce, R., Thompson, P., 1996. Assessment of the environmental impact of brodifacoum during rodent eradication operations in New Zealand. Proceedings, 17th Vertebrate Pest Conference, Rhonert Park, CA, USA, March 5–7, pp. 213–218.

- Pain, D.J., de Brooke, M.L., Finnie, J.K., Jackson, A., 2000. Effects of brodifacoum on the land crab of Ascension Island. *J. Wildl. Manag.* 64, 380–387.
- Pelfrène, A.F., 2010. Rodenticides. In: Krieger, R. (Ed.), *Haye's Handbook of Pesticide Toxicology*. Elsevier, Inc.
- Poessel, S.A., Breck, S.W., Fox, K.A., Gese, E.M., 2015. Anticoagulant rodenticide exposure and toxicosis in coyotes (*Canis latrans*) in the Denver metropolitan area. *J. Wildl. Dis.* 51, 265–268.
- Primus, T.M., Kohler, D.J., Johnston, J.J., 2006. Determination of diphacinone residues in Hawaiian invertebrates. *J. Chromatogr. Sci.* 44, 1–5.
- Riviere, J.E., 2011. *Comparative Pharmacokinetics: Principles, Techniques and Applications*. 2nd edition. Wiley and Sons, Hoboken, USA, pp. 143–186 ISBN: 978-0-813- 82993-7.
- Ruiz-Suárez, N., Henríquez-Hernández, L.A., Valerón, P.F., Boada, L.D., Zumbado, M., Camacho, M., Luzardo, O.P., 2014. Assessment of anticoagulant rodenticide exposure in six raptor species from the Canary Islands (Spain). *Sci. Total Environ.* 485, 371–376.
- Sánchez-Barbudo, I.S., Camarero, P.R., Mateo, R., 2012. Primary and secondary poisoning by anticoagulant rodenticides of non-target animals in Spain. *Sci. Total Environ.* 420, 280–288.
- Sherley, G.H., Wakelin, M., McCartney, J., 1999. Forest invertebrates found on baits used in pest mammal control and the impact of sodium monofluoroacetate (1080) on their numbers at Ohakune, North Island, New Zealand. *N. Z. J. Zool.* 26, 279–302.
- Shirer, M., 1992. In poison's defence. *Terra Nova* 17, 3.
- Shore, R.F., Birks, J.D.S., Freestone, P., 1999. Exposure of non-target vertebrates to second generation rodenticides in Britain, with particular reference to the polecat (*Mustela putorius*). *N. Z. J. Ecol.* 23, 199–206.
- Shore, R.F., Birks, J.D.S., Afsar, A., Wienburg, C.L., Kitchener, A.C., 2003. Spatial and temporal analysis of second-generation anticoagulant rodenticide residues in polecats (*Mustela putorius*) from throughout their range in Britain, 1992–1999. *Environ. Pollut.* 122, 183–193.

South, A., 1992. Terrestrial Slugs. Biology, Ecology and Control. Chapman and Hall, London (428 pp).

Spurr, E.B., Berben, P.H., 2004. Assessment of nontarget impact of 1080-poisoning for vertebrate pest control on weta (Orthoptera: Anostomatidae and Rhabdophoridae) and other invertebrates in artificial refuges. N. Z. J. Ecol. 28, 63–72.

Spurr, E.B., Drew, K.W., 1999. Invertebrates feeding on baits used for vertebrate pest control in New Zealand. J. Ecol. 23, 167–173.

Spurr, E.B., Powlesland, R.B., 1997. Impacts of aerial application of 1080 on non-target native fauna. Science for Conservation 62. Department of Conservation, Wellington, N.Z.

Standing Committee on Biocidal Products, 2009. Directive 98/8/EC Concerning the Placing of Biocidal Products on the Market—Assessment Report: Brodifacoum, Product-type 14 (Rodenticides). European Commission, Brussels.

Stansley, W., Cummings, M., Vudathala, D., Murphy, L.A., 2014. Anticoagulant rodenticides in red-tailed hawks, *buteojamaicensis*, and great horned owls, *Bubo virginianus*, from New Jersey, USA, 2008–2010. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 92, 6–9.

Thijssen, H.H.W., Janssen, C.A.T., Mosterd, J.J., 1989. Warfarin resistance: biochemical evaluation of a warfarin-resistant wild brown rat. Biochem. Pharmacol. 38, 3129–3132.

Whitaker Jr., J.O., Cross, S.P., Maser, C., 1983. Food of vagrant shrews (*Sorex vagrans*) from Grant County, Oregon, as related to livestock grazing pressures. Northwest Sci. 57 (2).

Yalden, D.W., 1976. The food of the hedgehog in England. Acta Theriol. 21, 401–424.

Tables et figures

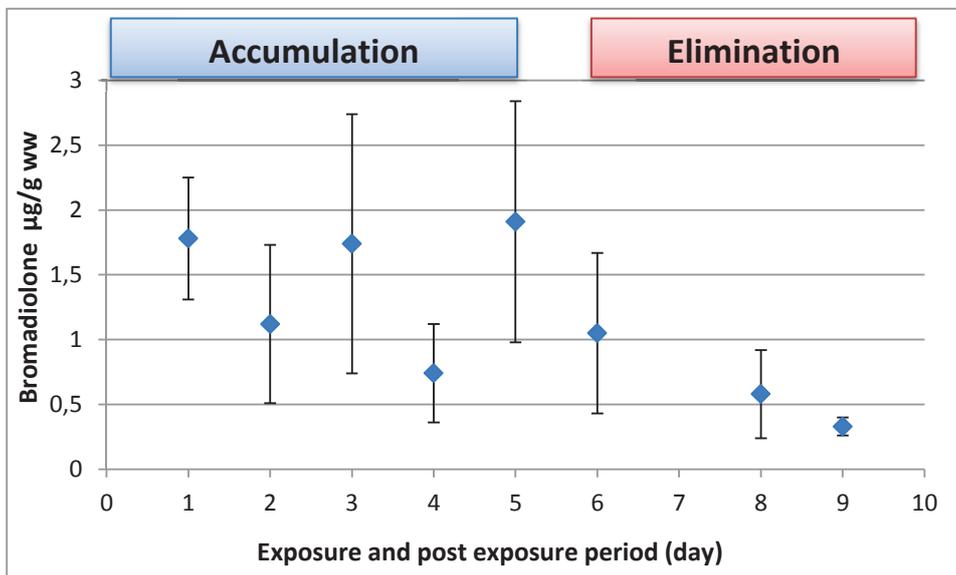
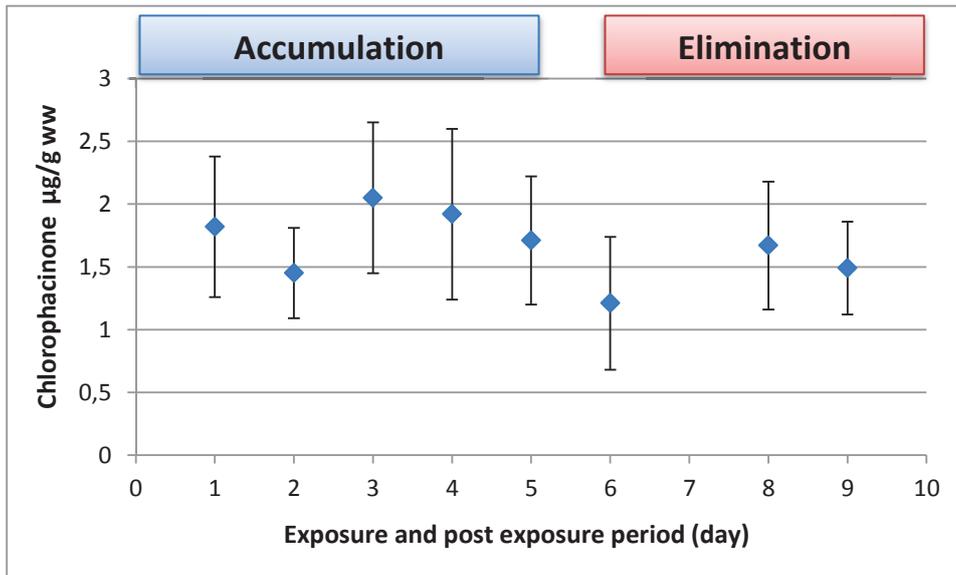
Table 1. Ecological characteristics of the 3 slug predators used in risk assessment.

Slug predator	Body mass ^a (g ww)	Daily food intake (g ww / d)	% slug in diet
Hedgehog <i>Erinaceus europeus</i>	1100	100 ^b	4 ^b
Common shrew <i>Sorex araneus</i>	12	18.75 ^c	20 ^c
European starling <i>Sturnus vulgaris</i>	80	50 ^d	6.5 ^f

^a Crocker et al. 2002 ; ^b Yalden 1976 ; ^c Estimated from Churchfield 1982 ; ^d Estimated from Feare and McGinity 1986 ; ^e Estimated from Whitaker et al. 1983 ; ^f Cited in South 1992

Table 2. Dose of brodifacoum ingested by three slug predators (in mg brodifacoum / kg bw /d) according to different scenario of exposure (values are median, 2.5 and 97.5 percentiles in parenthesis).

	Exposure scenario		
	Acute	Repeated	Subchronic
Hedgehog	0.0069 (0.0046 – 0.0090)	0.0069 (0.0052 – 0.0088)	0.0070 (0.0051 – 0.0091)
Common shrew	0.576 (0.401 – 0.799)	0.580 (0.420 – 0.760)	0.576 (0.444 – 0.781)
European starling	0.070 (0.045 – 0.096)	0.069 (0.049 – 0.091)	0.071 (0.051 – 0.095)



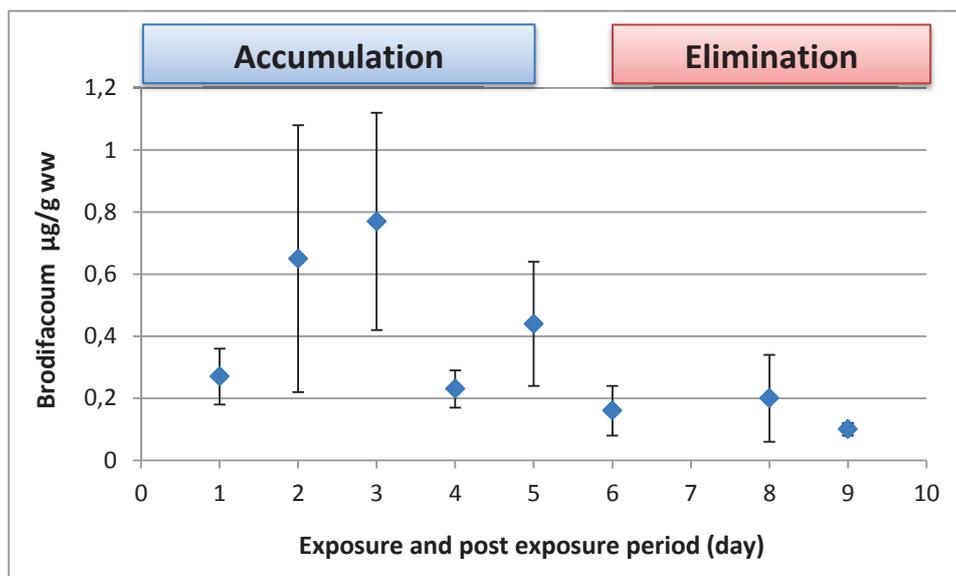


Figure 1: Mean accumulation and elimination of chlorphacinone, bromadiolone and brodifacoum in slug ($\mu\text{g/g}$ wet weight) (for each day, 5 slugs were analyzed) (The bars represent the SEM)

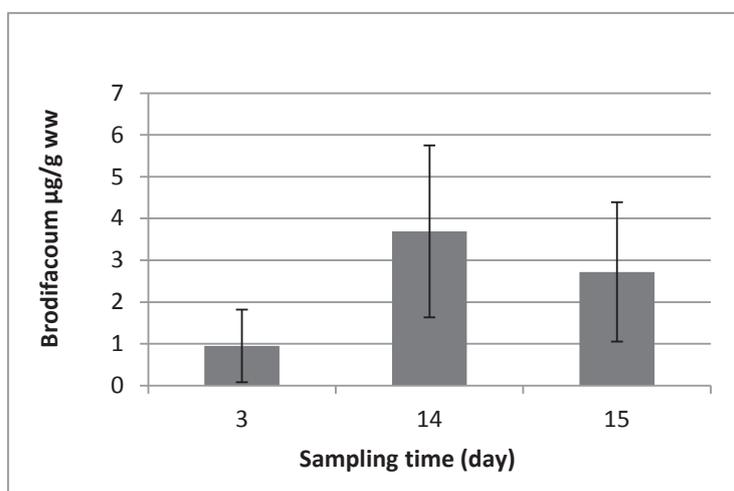


Figure 2: Mean residues of brodifacoum in field-exposed slugs (for 3, 14 and 15 days of exposure, 7, 8 and 8 slugs were analyzed, respectively) (The bars represent the SEM)

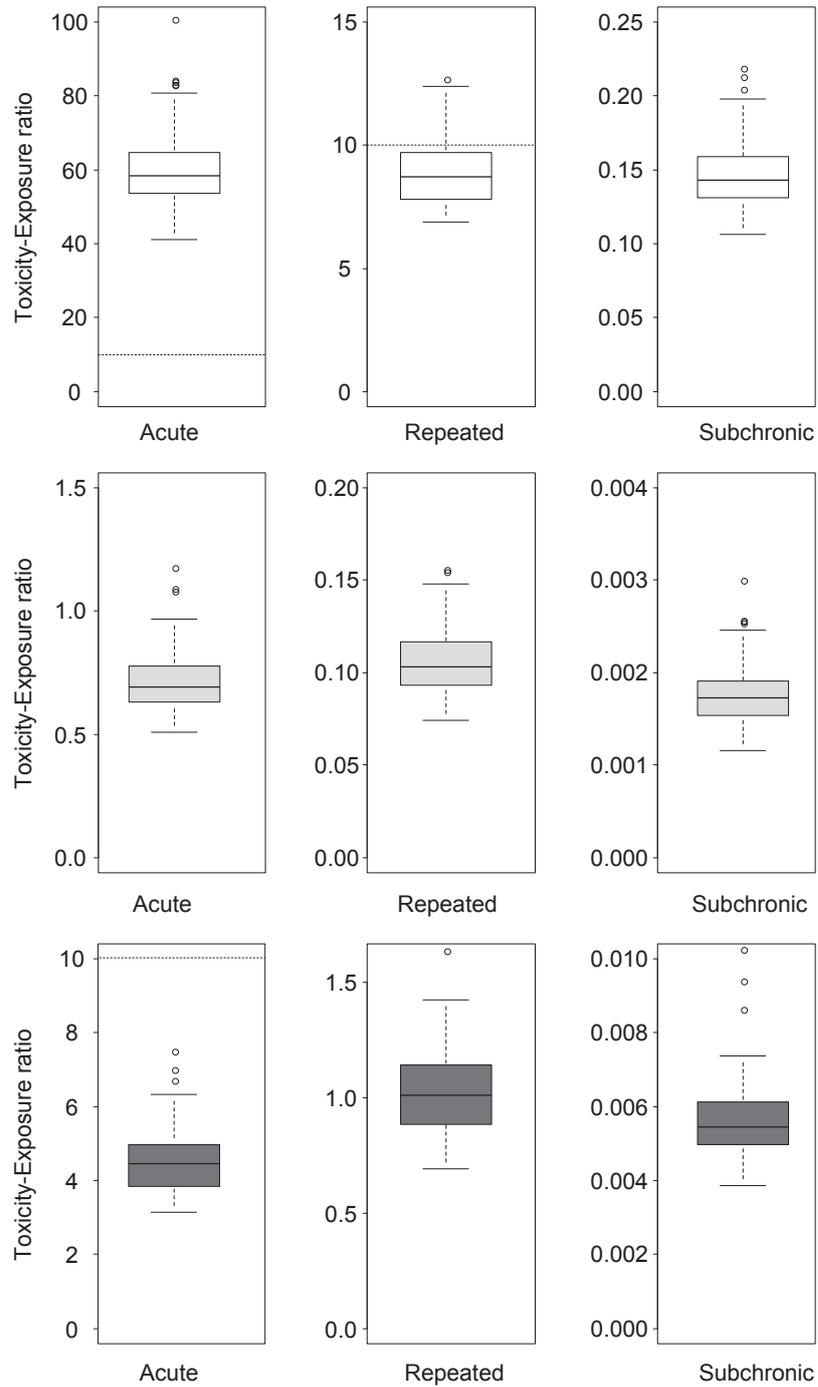


Figure 3. Toxicity-Exposure Ratio (TER) calculated for three slug predators (hedgehog in white, Common shrew in light grey, European starling in dark grey). For both acute and repeated scenario, risk is evidenced when $TER < 10$ while $TER < 5$ is retained for subchronic scenario

IV. Discussion générale et perspectives

IV.1 Etude de la contamination des prédateurs piscivores

Les concentrations moyennes des pesticides organochlorés, des PCBs, et la somme totale des composés organochlorés dans les foies de la loutre, du cormoran et du silure sont généralement faibles ou modérées. D'une manière globale, ces concentrations mesurées sont comparables à celles rapportées dans la bibliographie. Les concentrations en pesticides organochlorés dans la loutre sont similaires à celles observées en France par (Lemarchand et al., 2010, 2013), mais ces concentrations sont supérieures à celles mesurées dans les marais de l'ouest de la France par d'autres auteurs (Tans et al., 1995 ; Colas et al., 2005). Cependant, les valeurs des POC restent inférieures à celles rapportées dans autres pays européens (Mason et al., 1992 ; O'Sullivan et al., 1993 ; Kruuk et Conroy, 1996). Le DDT est le pesticide organochloré le plus abondant dans le foie des loutres. Il nous semble que la contamination des loutres par les pesticides organochlorés ne représente pas une menace immédiate à la conservation de l'espèce sur l'ensemble du bassin de la Loire, comme noté de façon générale en Europe aujourd'hui.

Les concentrations en PCBs dans la loutre constituent la part dominante de la totalité des composés organochlorés (pesticides OC et PCBs), ce qui est noté dans la plupart des études de la bibliographie (Mason & Macdonald, 1994; Kruuk & Conroy, 1996; Roos et al., 2001; Kannan et al., 2004, Lemarchand et al., 2007, 2010). Entre les congénères des PCBs mesurés, le 128 et le 153 sont le plus abondants, ce qui confirme leur caractère persistant et leur utilisation comme marqueurs de la contamination. Les concentrations en PCBs augmentent significativement avec l'âge des loutres ($p < 0,05$), par contre il n'existe pas de différence significative selon le sexe. La moyenne des PCBs dans le foie de la loutre est de 0,09 mg/kg poids frais ; cette valeur était inférieure au seuil toxique pour les PCB (1,24 mg/kg de poids frais) qui est associée à des problèmes de reproduction pour le vison (Jensen et al., 1977) et est généralement considérée comme le niveau critique pour les loutres (Mason, 1989).

Il est observable que la contamination par les PCBs analysés ici ne semble pas menacer la conservation de l'espèce, à court ou moyen terme. Pourtant, les effets de la contamination universelle et simultanée des loutres par les composés, notamment les pesticides organochlorés, les PCBs ou encore le mercure (généralement dénommée effet « cocktail ») restent encore mal connus et il serait intéressant d'étudier de façon plus systématique à l'avenir.

De manière générale chez les cormorans, les concentrations en pesticides organochlorés et en PCBs sont faibles, en moyenne 0,12 mg/kg en poids frais pour les POC et 0,13 mg/kg en poids frais pour les PCBs. Ces valeurs sont inférieures à celles mesurées par d'autres études sur les cormorans en Europe ou dans d'autres pays (Guruge et Tanabe, 1997; Falandysz et al., 2002 ; Kannan et al., 2002 ; Harris et al., 2005 ; Bouwman et al., 2008 ; Goutner et al., 2011). Comme pour les loutres, les pesticides organochlorés les plus abondants sont le DDTs et l'endosulfan, et on constate également la dominance des PCBs par rapport aux pesticides dans le total de la contamination par les organochlorés. La contamination des cormorans par les pesticides et les PCBs en fonction de l'âge ou du sexe des oiseaux n'est pas significativement différente. Les précédentes études n'ont observé aucun impact toxicologique sur les cormorans, comme par exemple une mortalité directe ou une diminution de la croissance de la population. Ainsi à la suite des conclusions de ces études, il semble que les composés organochlorés ne constituent probablement pas de menace directe pour l'espèce dans notre zone d'étude.

Les données bibliographiques sur la contamination du silure par les pesticides organochlorés et les PCBs sont assez rares, nos valeurs sont généralement faibles, avec une moyenne de 0,07 mg/kg en poids frais dans le foie pour les PCBs et 0,1 mg/kg en poids frais pour la totale des pesticides organochlorés. Le DDT est le pesticide organochloré le plus abondant dans les foies du silure, ce qui est aussi observé dans le silure en Turquie et en Chine (Erdogrul et al., 2005 ; Cheng et al., 2006). L'utilisation du DDT est interdite depuis 1973 en France, et même si les organochlorés, y compris le DDT ont une extrême résistance à la destruction dans l'environnement, et une rémanence élevée dans les tissus adipeux des organismes, il n'y a pas de certitude absolue que cette interdiction d'utilisation du DDT soit complètement respectée en regardant les teneurs résiduelles dans les trois prédateurs (loutre, cormoran et silure). Cependant, le ratio DDE/DDT, nettement en faveur du premier, est globalement en faveur d'une contamination résultant d'un usage ancien du DDT, uniquement présent sous forme de son métabolite le plus persistant (Lemarchand et al., 2010 ; Goutner et al., 2011). Concernant les congénères de PCBs analysés ici, le PCB 153 est le plus présent dans le silure, ce qui est rapporté dans la même espèce en Italie (Squadroni et al., 2013), aussi dans les différentes espèces de poissons d'eau douce en Serbie et en Italie (Janković et al., 2011 ; Pacini et al., 2013). Ce dernier congénère est moins lié au sédiment et donc facilement disponible pour l'organisme aquatique, il a aussi une forte résistance au métabolisme et à l'élimination chez le poisson.

Les éléments traces (cuivre, plomb, cadmium et mercure) ont été détectés dans tous les foies des loutres analysés dans notre étude, leurs concentrations ont été interprétées par rapport à la bibliographie, les niveaux du cuivre (44,5 mg/kg en poids sec) sont inférieurs à ceux mesurés dans l'autre étude en France par Lemarchand et al. (2010), cependant ces concentrations restent supérieures à celles notées dans la bibliographie européenne sur l'espèce (Gutleb et al., 1998 ; Ruiz-Olmo et al., 2000 ; Mason and Stephenson, 2001 ; Lanszki et al., 2009), elles sont aussi significativement supérieures à celles mesurées sur le cormoran et le silure au cours de cette étude, mais les valeurs observées ici demeurent dans une limite ne présentant pas de risques d'effets toxicologiques immédiats sur la loutre. On peut se poser la question de l'origine de cette contamination. L'usage phytosanitaire des dérivés du cuivre avait été suspecté dans la contamination des poissons de la Drôme (Mazet et al., 2005). Ce composé étant aujourd'hui très employé en agriculture, il serait pertinent de continuer le monitoring sur cette contamination potentielle.

Les concentrations observées en plomb et cadmium sont globalement comparables à celles notées en Europe sur la loutre (Gutleb et al., 1998 ; Lanszki et al., 2009), elles sont inférieures à celles détectées en France sur l'espèce (Lemarchand et al., 2010), et demeurent inférieures aux seuils toxiques définis (entraînant la mort ou l'arrêt de la reproduction), qui atteignent 25 et 100 mg/kg en poids sec, respectivement pour le plomb et le cadmium. Les différences en plomb ne sont pas significatives en fonction de l'âge ou du sexe des loutres analysées, mais la différence en cadmium est significative en fonction de l'âge de l'individu.

La concentration moyenne en mercure total dans les foies de loutres a atteint 4,68 mg/kg en poids sec, avec d'importantes variations entre les individus. Ces valeurs sont comparables, voire supérieures à celles rapportées dans quelques études de la littérature sur l'espèce (Harding et al., 1998 ; Evans et al., 2000 ; Lanszki et al., 2009), mais elles sont inférieures à celles observées dans la bibliographie européenne (Ruiz-Olmo et al., 2000 ; Lemarchand et al., 2010 ; Lodenius et al., 2014). La plus importante valeur observée est de 18,5 mg/kg en poids sec, inférieure au seuil toxique défini pour l'espèce (30 mg/kg en poids frais, selon Lanszki et al., 2009 ; Sleeman et al., 2010). Les concentrations en mercure sont significativement supérieures ($p < 0,05$) chez les adultes des loutres par comparaison avec les individus juvéniles et subadultes, non significatives selon le sexe des loutres analysées.

Le cuivre, le plomb, le cadmium et le mercure ont été relevés au sein des foies de l'ensemble des grands cormorans. Les concentrations en cuivre sont assez élevées, comprises entre 5 et 113 mg/kg en poids sec (moyenne de 22 mg/kg poids sec), mais restent inférieures à celles rapportées dans la littérature (Nam et al. 2005 ; Skoric et al. 2012), et aussi inférieures à celles détectées dans les loutres de notre étude. Les valeurs observées ici sont généralement comparables à celles relevées par Elliott et al. (1992), pour qui aucune conséquence physiologique de la contamination par les métaux sur les cormorans n'avait été observée. En regardant la conclusion de ces auteurs, on peut suggérer que le cuivre ne semble pas menacer la conservation des grands cormorans dans la zone d'étude à court ou moyen terme.

Les concentrations en plomb dans les cormorans sont restées relativement faibles, avec une moyenne de 1,2 mg/kg en poids sec, similaires à celles observées au sein d'une population de cormorans en Pologne et en France (Fabczak et al., 2003 ; Lemarchand et al., 2013), ou pour la présente étude, chez la loutre ou le silure. Les variations interindividuelles ne sont pas significatives en fonction de l'âge, du sexe des cormorans. Au sein des individus analysés ou dans le reste de la population de cormorans, il n'est pas observable des signes manifestes d'intoxication par le plomb (saturnisme). Ainsi, il semble que cet élément ne constitue pas une menace pour l'espèce sur le bassin de la Loire, au moins à court terme.

Les résidus du cadmium dans les cormorans sont globalement faibles, compris entre 0,05 et 1,19 mg/kg en poids sec, inférieurs à ceux notés au Japon sur l'espèce (Saeki et al., 2000 ; Nam et al., 2005), où aucune conséquence toxicologique comme des perturbations de reproduction ou des mortalités directes sur les cormorans n'avait été observée. Conformément à ces conclusions, il apparaît que le cadmium ne constitue pas une menace pour l'espèce sur la zone étude.

Le mercure constitue l'élément métallique le plus abondant dans les foies des cormorans analysés, ses concentrations sont comprises entre 0,87 et 22,5 mg/kg en poids sec, supérieures à celles détectées dans une autre étude en France par Lemarchand et al. (2013). Par ailleurs, Goutner et al. (2011) ont indiqué que la concentration hépatique du mercure entre 4 et 40 mg/kg en poids sec peut avoir un impact négatif sur la croissance, le développement, la reproduction, la chimie sanguine et tissulaire, le métabolisme et le comportement chez les cormorans, pour 45,7% des cormorans analysés ici (27 individuels), la teneur en mercure hépatique est supérieure à 4 mg/kg poids sec, c'est pour cela pour les prochaines études il est proposé de se concentrer sur les effets sur la santé des cormorans par le suivi de population (clinique et reproductif). L'analyse

histologique ou le suivi hématologique pourraient constituer des éléments pertinents de futurs projets de suivi des effets du mercure sur ces populations animales.

Les quatre éléments analysés ici sont tous retrouvés dans tous les foies des silures, les concentrations du cuivre sont comprises entre 4,7 et 37,9 mg/kg en poids sec, supérieures à celles notées dans la bibliographie européenne (Matasin et al., 2010 ; Subotic et al., 2013), ces concentrations peuvent refléter la présence de plusieurs zones de culture majeures et l'utilisation associée de fongicides de cuivre (Mazet et al., 2005).

Les concentrations en plomb et en cadmium dans le silure sont assez élevées, supérieures à celles mesurées dans les autres études européennes (Mazej et al., 2010 ; Squadrone et al., 2013 ; Subotić et al., 2013). Les niveaux du cadmium dans les foies des silures sont significativement supérieurs à ceux observés dans les loutres et les cormorans analysés dans la présente étude. Le cadmium reste peu présent dans les premiers compartiments des réseaux trophiques mais par contre il a tendance à s'accumuler chez les prédateurs et super prédateurs. Les différences en plomb entre les trois prédateurs analysés ici ne sont pas significatives.

A la manière du mercure chez le silure, ces concentrations sont de 0,2 à 14,2 mg/kg en poids sec, supérieures à celles rapportées dans les silures en Europe (Mazej et al., 2010 ; Squadrone et al., 2013 ; Subotić et al., 2013). On ne relève pas de différence significative sur les teneurs en mercure entre les trois prédateurs. Il est intéressant de noter que la contamination du silure (y compris le muscle) par le cadmium et le mercure est inquiétante pour la santé des consommateurs humaines locaux puisque dépassant la limite maximale des résidus (LMR) pour le cadmium et le mercure. Ainsi comme perspective dans l'avenir, il est recommandé d'évaluer les risques pour les consommateurs du silure du bassin de la Loire. Pour les PCB, des mesures d'interdiction de pêche et de consommation avaient été prises par les préfets. Il semble que la contamination par le mercure devrait faire l'objet d'une étude approfondie pour proposer des mesures de précaution ou de gestion de cette contamination sur les sites concernés.

Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre les trois prédateurs concernant la contamination par les pesticides organochlorés ou PCBs et aussi pour la totale des composés organochlorés. Par ailleurs, D'importantes variations des concentrations en pesticides organochlorés et en PCBs ont été observées entre les individus et les secteurs.

Certaines valeurs individuelles sont élevées de certains contaminants comme les PCBs, le cadmium et le mercure, peuvent affecter l'état général ou la dynamique de reproduction. En

outre, l'effet « cocktail » de ces contaminants à moyen et long terme de l'exposition sur la reproduction ou la conquête reste inconnu. La poursuite des suivis toxicologiques permettra de connaître la diminution ou l'apparition de certains composés dans les tissus. On peut notamment envisager de mesurer des paramètres hématologiques ou biochimiques par prélèvement sanguin sur les cormorans, pris comme « indicateurs » de la contamination de la Loire.

A la suite de notre étude, nous pouvons considérer le grand cormoran et le silure comme des indicateurs fiables pour la contamination des milieux aquatiques par les composés organochlorés (pesticides et PCBs) et les traces éléments métalliques. Nous constatons également que les trois espèces sont très comparables en termes de niveau de contamination. Il est donc possible de prélever et d'analyser une seule espèce (le silure par exemple, espèce invasive et non protégée) pour avoir une idée de la contamination des autres prédateurs.

L'analyse des isotopes stables ($\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$) permet d'évaluer la position trophique des espèces dans un environnement particulier, en raison de la métabolisation différente des isotopes stables à partir d'un même fond géochimique. Les deux prédateurs (silure, cormoran) ont été prélevés de la même zone et donc ils ont les mêmes signatures de base. Les études ont montré que le grand cormoran peut être considéré comme un top prédateur dans la rivière Loire et qu'il occupe le sommet de réseau trophique avec une position la plus élevée par rapport au silure. Les différences ne sont pas significatives, cependant, ce qui permet de considérer que l'alimentation de ces deux espèces prédatrices est comparable et qu'ils assimilent de la même façon les contaminants métalliques et organiques étudiés. Il apparaît donc possible de privilégier le suivi des populations de silures comme espèce indicatrice de la contamination des « top-prédateurs ».

IV.2 Transfert de contaminants dans la chaîne alimentaire : le rôle des invertébrés

Les rodenticides anticoagulants (AVKs) ont été largement utilisés pour lutter contre les rongeurs nuisibles dans le monde entier, par contre ces pesticides peuvent entrer dans les réseaux trophiques. La plupart des études ont concentré sur le transfert des AVKs dans la chaîne alimentaire par les rongeurs contaminés (de proies vers prédateurs) (Sánchez-Barbudo et al., 2012 ; Langford et al., 2013 ; Stansley et al., 2014 ; Poessels et al., 2015). Certaines études ont suggéré que les invertébrés, y compris les limaces peuvent être une voie potentielle des AVKs pour contaminer leurs prédateurs (Spurr et Drew, 1999 ; Dowding et al., 2006, 2010 ; Elliott et al., 2013). Cependant, l'exposition des limaces aux AVKs n'a pas été systématiquement décrite, c'est la raison pour laquelle nous avons effectué une étude d'exposition des limaces à trois AVKs (chlorophacinone, bromadiolone et brodifacoum) en condition de laboratoire, et aussi sur le terrain avec le suivi d'application des appâts de brodifacoum.

Nos résultats ont montré que les limaces consomment régulièrement les appâts des AVKs, et les trois rodenticides étudiés ici, s'accumulent de manière rapide et stable dans les limaces, de façon similaire à ce qui est observé dans la bibliographie pour les invertébrés comme les limaces, les escargots et les vers de terre (Spurr et Drew, 1999; Dunlevy et al., 2000 ; Booth et al. 2001, 2003 ; Bowie et Ross, 2006 ; Hernández-Moreno et al., 2013 ; Liu et al., 2015). Nous n'avons pas trouvé une accumulation linéaire de ces rodenticides dans les limaces au cours de temps. Il n'existe pas de différence significative entre les trois AVKs pour ce qui concerne les niveaux d'accumulation dans les limaces.

Par ailleurs, aucune mortalité n'a été observée dans les limaces exposées à ces trois AVKs au cours de l'étude au laboratoire (5j) ou sur le terrain, c'est-à-dire que la toxicité primaire de ces AVKs est probablement faible, ce qui est rapporté aussi dans la littérature (Shirer, 1992 ; Eason and Spurr, 1995).

En ce qui concerne l'étude sur le terrain, un seul site a été choisi pour appliquer les appâts de brodifacoum pendant le mois de novembre 2016, les boîtes plastiques contenant des appâts de brodifacoum ont été distribuées dans la station, avec une distance de 10 m entre les boîtes. Les sites ont été visités tous les jours et les limaces présentes sur les appâts ont été collectées uniquement sur les jours 3, 14 et 15 à partir de début le traitement (pluvieux), 23 limaces ont été

prélevées et le brodifacoum a été détecté dans 21 limaces entre eux (> 90 %) avec des concentrations <LOD à 10,6 mg/kg poids frais.

On a aussi utilisé l'approche toxicity-exposure ratio (TER) de l'EFSA pour évaluer les risques potentiels pour trois prédateurs des limaces en prenant les données de brodifacoum sur le terrain. En effet, selon différents scénarios d'exposition, nous avons montré que le hérisson européen, la musaraigne commune et l'étourneau sansonnet peuvent être exposés à de fortes doses de brodifacoum par la consommation de limaces sur la base des données du terrain et de la modélisation classique utilisée pour évaluer le risque des pesticides.

Ainsi, plusieurs espèces d'oiseaux et de mammifères pourraient être exposées à la chlorophacinone, à la bromadiolone et au brodifacoum dans les zones d'application des appâts par la consommation de limaces contenant ces rodenticides. Cette exposition peut se poursuivre pendant plusieurs jours après l'élimination des appâts de rodenticide. Dans l'ensemble, ces prédateurs pourraient consommer des limaces contenant des rodenticides pendant plusieurs jours et il est probable que les doses de rodenticides consommées par les jours consécutifs s'accumulent dans leurs tissus. Cependant, une expérimentation sur une durée plus longue serait nécessaire pour établir avec plus de précision les courbes d'accumulation et d'élimination des rodenticides chez les limaces. Il faudrait également affiner le scénario proposé. En effet, si l'exposition aiguë ou subaiguë (5 j) constitue une approche raisonnable et compatible avec une réalité de terrain, on peut douter de la réalité d'une exposition chronique régulière sur 90 j. Malgré les limites de cette première approche, on peut donc confirmer que les invertébrés constituent une source non négligeable de contaminants (ici les rodenticides) pour leurs prédateurs, source généralement ignorée dans les études environnementales ou pour l'évaluation du risque des pesticides. Dans le futur, il semble important de prendre en compte les données d'exposition de ces invertébrés dans l'analyse des risques. C'est une démarche qui est entreprise par l'USEPA pour l'exposition des prédateurs aux pesticides (le modèle T-Rex pour les mammifères ou les oiseaux, T-Herps, pour les reptiles ou les amphibiens) incorpore des proies contaminées (insectes notamment). On pourrait également affiner les modèles en utilisant des suivis d'exposition sur le terrain, comme dans notre première approche, sur plusieurs sites et plusieurs périodes afin d'avoir une base de calcul plus pertinente.

IV.3 Contamination des chaînes alimentaires par les polluants

Les travaux réalisés dans le cadre de cette thèse ont été construits de façon à aborder la problématique de la contamination des chaînes alimentaires par deux approches à la fois sur le terrain et expérimentalement. Comme il n'était pas possible de regrouper ces deux approches sur les mêmes espèces et le même site expérimental, il a été décidé de procéder en deux étapes complémentaires :

- Une approche de terrain en milieu aquatique permettant de montrer la réalité de la contamination de prédateurs piscivores au régime alimentaire très proche. Cette approche montre que les prédateurs choisis ont des niveaux de contamination comparables, dans un environnement commun.
- Une approche expérimentale ayant pour objectif de démontrer la capacité de proies invertébrées à accumuler certains contaminants (ici les rodenticides) et de constituer un risque réel pour leurs prédateurs en proposant une analyse de risque par simulation Monte Carlo.

Il a été ainsi possible de démontrer que les prédateurs sont fortement exposés à des contaminants minéraux ou organiques et que le caractère cumulatif reste important y compris pour des produits récents encore employés. Cette démarche doit être poursuivie sur d'autres exemples ou circonstances. Il est indispensable d'aborder l'étude des risques environnementaux de certains contaminants en appuyant la réflexion sur l'expérimentation, tout en limitant les essais sur vertébrés. Le modèle de proies invertébrées est particulièrement intéressant car ces proies ne semblent pas métaboliser les composés ni même présenter d'effets toxiques avec les anticoagulants. Elles peuvent donc être des sources de contamination pendant de longues périodes pour leurs prédateurs. Nous avons pu démontrer que les proies se contaminaient longtemps qu'elles pouvaient constituer une source non négligeable de toxique pour leurs prédateurs.

Il est impossible de tester expérimentalement l'exposition ou la toxicité sur prédateurs vertébrés aussi l'approche de terrain, par la collecte d'animaux morts ou la pêche, le tir sélectif dans notre contexte permet de confirmer la réalité du transfert et, si des données complémentaires de toxicocinétique sont disponibles, on pourra être à même de confirmer l'importance du transfert des contaminants. Enfin, les données de toxicodynamie seraient indispensables pour établir des

modèles TK/TD qui seront les seuls pertinents pour établir de façon plus globale une analyse de risques pour les espèces non cibles prédatrices.

Le transfert vers les prédateurs peut donc être estimé au travers de démarches de modélisation. Nous avons uniquement proposé une simulation Monte Carlo simple, afin de montrer la faisabilité de cette approche dans l'analyse de risque. Des modèles plus complexes (TK/TD par exemple ou des modélisations spatio-temporelles plus complexes) seraient évidemment à développer pour une estimation affinée des risques. Nos travaux établissent donc l'intérêt de l'approche combinée et il conviendra pour la suite de développer cette démarche sur plus d'exemples et de cas complexes de toxicologie environnementale, ce qui n'était pas l'objectif de ce travail.

Conclusion

Les pesticides organochlorés, les PCBs et les éléments traces (plomb, cadmium, cuivre et mercure) ont été détectés dans les foies de la loutre, du grand cormoran et du silure prélevés sur les bassins Loire en France, leurs concentrations sont généralement modestes ou faibles, similaires à la bibliographie européenne, sauf certains contaminants comme les résidus du mercure chez le cormoran. De plus, l'effet mélange « cocktail » de ces contaminants n'est pas étudié dans notre travail. Selon nos résultats, le cormoran et le silure peuvent être considérés comme des bons indicateurs pour la contamination de l'environnement par ces polluants. Il nous semble que les contaminants analysés ici ne constituent pas de menace pour la conservation de trois prédateurs (loutre, grand cormoran et silure) dans la zone d'étude à court ou moyen terme. En ce qui concerne le mercure chez le cormoran, dans l'étude suivante il est suggéré de faire un suivi clinique et reproductif des populations des cormorans. En ce qui concerne les niveaux du cadmium et du mercure dans le silure, il serait intéressant d'évaluer les risques pour les consommateurs dans les prochaines études.

L'utilisation des RAs pour lutter contre les rongeurs sur le terrain peut causer une exposition primaire pour les limaces, qui peuvent consommer des appâts RAs et retenir les résidus de ces pesticides dans leur corps. Ainsi, les oiseaux et mammifères insectivores pourraient être exposés à ces rodenticides dans les zones d'applications des appâts par la consommation des limaces contaminées. Cette exposition peut également se poursuivre pendant plusieurs jours après l'élimination des appâts de rodenticides. La persistance des RAs dans les limaces après arrêt de l'exposition n'est pas suffisamment étudiée dans ce travail, c'est pour cela qu'une étude complémentaire sera nécessaire afin de déterminer la durée de persistance des RAs dans les invertébrés (limaces ou escargots). En menant l'analyse de risque TER basée sur les résidus de brodifacoum dans les limaces exposées sur le terrain, nous avons constaté que les limaces représentaient un risque élevé d'empoisonnement secondaire pour trois de leurs prédateurs, le hérisson européen, la musaraigne commune et l'étourneau sansonnet. Pour les futures études, il serait donc intéressant de confirmer ces risques par le suivi de terrain pour les prédateurs des limaces. Par ailleurs, il est recommandé de mettre en œuvre un protocole pour réduire des risques d'exposition des invertébrés non visés aux appâts RAs, par exemple (1) Les appâts des RAs ne doivent pas être appliqués pendant l'activité des limaces, sauf si nécessaire; (2) Après l'application des appâts RAs, nous devons examiner les stations d'appât en plastique tous

les jours pour enlever les limaces présentes. Il serait également intéressant de développer des systèmes empêchant l'accès des limaces aux appâts dans les boîtes.

En fin les résultats de cette thèse confirment l'hypothèse que le régime alimentaire est un facteur essentiel de la contamination des prédateurs.

Références bibliographiques

- Alp, A., Kara, C., & Büyükçapar, H.M. (2004). Reproductive biology in a native European catfish, *Silurus glanis* L., 1758, population in Menzelet Reservoir. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 28, 613-622.
- Atanasov, A.T. (2005). Allometric relationship between the length of pregnancy and body weight in mammals. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 8, 13-22.
- ATSDR, 2003. Toxicological Profile for cadmium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Public Health Service, Atlanta, GA, USA.
- ATSDR, 2012. Toxicological Profile for cadmium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. US Public Health Service, Atlanta, GA, USA.
- Bailey, M., & Rochford, J. (2006). Otter survey of Ireland 2004/2005. Irish Wildlife Manuals, (23).
- Bailly, R., & Dubois, G. association de coordination technique agricole, (1974). Index des produits phytosanitaires 11^{ème} édition. ACTA, Paris, 355p.
- Baker, K. (1993). Identification guide to European non-passerines, guide 24. Thetford: British Trust for Ornithology.
- Beck, A. (2011). Contribution à l'étude de la contamination par les polluants organiques persistants et les métaux lourds des animaux de la chaîne alimentaire du bassin versant de la Loire: cas particulier des poissons. Mémoire de thèse vétérinaire, université Claude Bernard Lyon1.
- Berny, P., Buronfosse, T., Buronfosse, F., Lamarque, F., & Lorgue, G. (1997). Field evidence of secondary poisoning of foxes (*Vulpes vulpes*) and buzzards (*Buteo buteo*) by bromadiolone, a 4-year survey. Chemosphere, 35, 1817-1829.

- Berny, P. (2011). Challenges of anticoagulant rodenticides: resistance and ecotoxicology. In Pesticides in the Modern World-Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment. InTech.
- Berny, P., & Gaillet, J.R. (2008). Acute poisoning of red kites (*Milvus milvus*) in France: data from the SAGIR network. Journal of Wildlife Diseases, 44, 417-426.
- Berny, P., Lachaux, O., Buronfosse, T., Mazallon, M., & Gillet, C. (2002). Zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) as indicators of freshwater contamination with lindane. Environmental Research, 90, 142-151.
- Bobori, D.C., Economidis, P.S., & Maurakis, E.G. (2001). Freshwater fish habitat science and management in Greece. Aquatic Ecosystem Health and Management, 4, 381-391.
- Booth, L.H., Eason, C.T., & Spurr, E.B. (2001). Literature review of the acute toxicity and-persistence of brodifacoum to invertebrates. Science for Conservation, 177, 1-9.
- Booth, L.H., Fisher, P., Heppelthwaite, V., & Eason, C.T. (2003). Toxicity and residues of brodifacoum in snails and earthworms. DOC Science Internal Series, 143, 5-14.
- Bouchardy, C. (2001). La loutre d'Europe: histoire d'une sauvegarde. Catiche Productions; Libris.
- Bouchardy, C., Libois, R., & Rosoux, R. (1992). Charte déontologique de la réintroduction de la loutre (*Lutra lutra*) en France. Ann. biol. Centre (Actes XIVème Coll. Mammal., SFEPM.), 4, 128-129.
- Bouwman, H., Polder, A., Venter, B., & Skaare, J.U. (2008). Organochlorine contaminants in cormorant, darter, egret, and ibis eggs from South Africa. Chemosphere, 71, 227-241.

- Bowie, M.H., & Ross, J.G. (2006). Identification of weta foraging on brodifacoum bait and the risk of secondary poisoning for birds on Quail Island, Canterbury, New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, 30, 219-228.
- Breathnach, S., & Fairley, J.S. (1993). The diet of otters *Lutra lutra* (L.) in the Clare river system. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy*, 93B, 151-158.
- Britton, J.R., Pegg, J., Sedgwick, R., & Page, R. (2007). Investigating the catch returns and growth rate of wels catfish, *Silurus glanis*, using mark-recapture. *Fisheries Management and Ecology*, 14, 263-268.
- Bruslé, J., & Quignard, J.P. (2001). *Biologie des poissons d'eau douce européens. Technique et Documentation*, Londres Paris.
- Bzoma, S., Goc, M., Brylski, T., Stempniewicz, L., & Iliszko, L. (2003). Seasonal changes and intra-colony differentiation in the exploitation of two feeding grounds by Great Cormorants *Phalacrocorax carbo sinensis* breeding at Katy Rybackie. *Vogelwelt*, 124, 175-181.
- Caober, F. (1997). *La loutre européenne Lutra lutra : reproduction et réintroduction. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, 201 p.*
- Carol, J., Zamora, L., & García-Berthou, E. (2007). Preliminary telemetry data on the movement patterns and habitat use of European catfish (*Silurus glanis*) in a reservoir of the River Ebro, Spain. *Ecology of Freshwater Fish*, 16, 450-456.
- Carol, J., Benejam, L., Benito, J., & García-Berthou, E. (2009). Growth and diet of European catfish (*Silurus glanis*) in early and late invasion stages. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie*, 174, 317-328.

- Carrasco, L., Barata, C., García-Berthou, E., Tobias, A., Bayona, J.M., & Díez, S. (2011). Patterns of mercury and methylmercury bioaccumulation in fish species downstream of a long-term mercury-contaminated site in the lower Ebro River (NE Spain). *Chemosphere*, 84, 1642-1649.
- Carrel, G., Pont, D., & Rivier, B. (1995). Variabilité temporelle des peuplements piscicoles dans la section médiane du Bas-Rhône. *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture*, (337-338-339), 101-111.
- Carss, D.N., & Nelson, K.C. (1998). Cyprinid prey remains in otter *Lutra lutra* faeces: some words of caution. *Journal of Zoology*, 245, 238-244.
- Cassereau, G. (2001). Contamination des loutres *Lutra lutra* de l'Ouest de la France par quelques éléments traces : cadmium, cuivre, mercure, sélénium et zinc. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Nantes, 146 p.
- Cemagref and C.S.P. (1987). Le silure glane (*Silurus glanis*, L. 1766) dans la Seille. Lyon, Conseil Supérieur de la Pêche: 17 p.
- Cervený, D., Zlabek, V., Velisek, J., Turek, J., Grabic, R., Grabicova, K., & Randak, T. (2014). Contamination of fish in important fishing grounds of the Czech Republic. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 109, 101-109.
- Chanin, P. (2003). Ecology of the European Otter. *Conserving Natura 2000 Rivers Ecology Series No. 10*. English Nature, Peterborough, 64.
- Cheng, D.X., Yang, Z.Z., Wang, X.T., Sun, Y.Z., & Xu, X.B. (2006). Organochlorine pesticides in tissues of catfish (*Silurus asotus*) from Guanting Reservoir, People's Republic of China. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 76, 766-773.
- Chesne, C., Ed. (2012). Le hérisson. *Portrait sauvage*, Losange.

- Christensen, T.K., Lassen, P., & Elmeros, M. (2012). High exposure rates of anticoagulant rodenticides in predatory bird species in intensively managed landscapes in Denmark. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 63, 437-444.

- Clark, R.B., 1997. *Marine pollution*, fourth edition. Clarendon Press, Oxford, 161 p.

- Cluzeau, S., Paternelle, M.C., Association de Coordination Technique Agricole, 1998. *Index des produits phytosanitaires 34ème édition*. ACTA, Paris, 598 p.

- Colas, C., Caurant, F., Rosoux, R., & De Bellefroid, M.D.N. (2005). Contamination de la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) par les polluants organiques (PCBs, OCPs) et métalliques (Cd, Hg, Se, Zn, Cu) dans l'ouest de la France. Synthèse des travaux 2005. Rapport MEDD, Région Poitou-Charentes, Ville de La Rochelle.

- Copp, G.H., Robert Britton, J., Cucherousset, J., García-Berthou, E., Kirk, R., Peeler, E., & Stakênas, S. (2009). Voracious invader or benign feline? A review of the environmental biology of European catfish *Silurus glanis* in its native and introduced ranges. *Fish and Fisheries*, 10, 252-282.

- Copp, G.H., & Roche, K. (2003). Range and diet of Eurasian otters *Lutra lutra* (L.) in the catchment of the River Lee (south-east England) since re-introduction. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 13, 65-76.

- Covaci, A., Gheorghe, A., Hulea, O., & Schepens, P. (2006). Levels and distribution of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in sediments and biota from the Danube Delta, Romania. *Environmental Pollution*, 140, 136-149.

- CSP (2004). *Rapport technique de l'année 2003*. Paris, Conseil Supérieur de la Pêche.

- Cucherousset, J., Boulêtreau, S., Martino, A., Roussel, J.M., & Santoul, F. (2012). Using stable isotope analyses to determine the ecological effects of non-native fishes. *Fisheries Management and Ecology*, 19, 111-119.
- Custer, T.W., Custer, C.M., Hines, R.K., Stromborg, K.L., Allen, P.D., Melancon, M.J., & Henshel, D.S. (2001). Organochlorine contaminants and biomarker response in double-crested cormorants nesting in Green Bay and Lake Michigan, Wisconsin, USA. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 40, 89-100.
- Damien, J.P. (1996). Le silure glane (*Silurus glanis*, L.) dans le bassin de la Loire. Tours, Université de Tours (Maîtrise Sciences et Techniques, Ingénierie des Milieux Aquatiques et des corridors fluviaux), 9 p.
- Debout, G. (1988). La biologie de reproduction du Grand Cormoran en Normandie. *Oiseau*, 58, 1-17.
- Dirksen, S., Boudewijn, T.J., Noordhuis, R., & Marteijn, E.C.L. (1995). Cormorants *Phalacrocorax carbo sinensis* in shallow eutrophic freshwater lakes: prey choice and fish consumption in the non-breeding period and effects of large-scale fish removal. *Ardea*, 83, 167-184.
- Dobson, S., & van Esch, G.J. (1993). Environmental Health Criteria 140. Polychlorinated biphenyls and terphenyls, 2nd edition, WHO, Geneva, 682 p.
- Dowding, C.V., Shore, R.F., Worgan, A., Baker, P.J., & Harris, S. (2010). Accumulation of anticoagulant rodenticides in a non-target insectivore, the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*). *Environmental Pollution*, 158, 161-166.
- Dowding, J.E., Lovegrove, T.G., Ritchie, J., Kast, S.N., & Puckett, M. (2006). Mortality of northern New Zealand dotterels (*Charadrius obscurus aquilonius*) following an aerial poisoning operation. *Notornis*, 53, 235-239.

- Dufour, E., & Gerdeaux, D. (2001). Apports des isotopes stables ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, $^{36}\text{S}/^{34}\text{S}$ $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$) aux études écologiques sur les poissons. *Cybium*, 25, 369-382.
- Dunlevy, P.A., Campbell, E.W., & Lindsey, G.D. (2000). Broadcast application of a placebo rodenticide bait in a native Hawaiian forest. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 45, 199-208.
- Eason, C.T., Murphy, E.C., Wright, G.R., & Spurr, E.B. (2002). Assessment of risks of brodifacoum to non-target birds and mammals in New Zealand. *Ecotoxicology*, 11(1), 35-48.
- Eason, C.T., Spurr, E.B. (1995). Review of the toxicity and impacts of brodifacoum on non-target wildlife in New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, 22, 371-379.
- Elliott, J.E., Hindmarch, S., Albert, C.A., Emery, J., Mineau, P., & Maisonneuve, F. (2014). Exposure pathways of anticoagulant rodenticides to nontarget wildlife. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186, 895-906.
- Elliott, J.E., Scheuhammer, A.M., Leighton, F.A., & Pearce, P.A. (1992). Heavy metal and metallothionein concentrations in Atlantic Canadian seabirds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 22, 63-73.
- Elmeros, M., Christensen, T.K., & Lassen, P. (2011). Concentrations of anticoagulant rodenticides in stoats *Mustela erminea* and weasels *Mustela nivalis* from Denmark. *Science of the Total Environment*, 409, 2373-2378.
- Empson, R.A., & MISKELLY, C.M. (1999). The risks, costs and benefits of using brodifacoum to eradicate rats from Kapiti Island, New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, 241-254.

- Erdogrul, Ö., Covaci, A., & Schepens, P. (2005). Levels of organochlorine pesticides, polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in fish species from Kahramanmaras, Turkey. *Environment International*, 31, 703-711.
- Erickson, M.D. (1997). *Analytical chemistry of PCBs*, second edition. CRC press, Boca Raton, 667p.
- Erickson, W.A., & Urban, D.J. (2004). Potential risks of nine rodenticides to birds and nontarget mammals: a comparative approach (p. 225). Washington, DC: US Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances.
- Evans, R.D., Addison, E.M., Villeneuve, J.Y., MacDonald, K.S., & Joachim, D.G. (2000). Distribution of inorganic and methylmercury among tissues in mink (*Mustela vison*) and otter (*Lutra canadensis*). *Environmental Research*, 84, 133-139.
- Evrard, G., & Tarbe, A.L. (2002). Etude du régime et de la sélectivité alimentaire du Grand Cormoran (*Phalacrocorax carbo sinensis*) hivernant en Haute-Meuse belge. *Aves*, 39, 159-178.
- Fabczak, J., Szarek, J., Markiewicz, K., & Markiewicz, E. (2003). Cormorant as a lead contamination bio-indicator in the water environment. *Cormorant Research Group Bulletin* 5, 40-44.
- Falandysz, J., Wyrzykowska, B., Strandberg, L., Puzyn, T., Strandberg, B., & Rappe, C. (2002). Multivariate analysis of the bioaccumulation of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the marine pelagic food web from the southern part of the Baltic Sea, Poland. *Journal of Environmental Monitoring*, 4, 929-941.
- Fiers, V., Gauvrit, B., Gavazzi, E., Haffner, P., & Maurin, H. (1997). Statut de la faune de France Métropolitaine: statuts de protection, degrés de menace, statuts biologiques. Réserves naturelles de France. Paris, Muséum National d'Histoire Naturelle.

- Fisher, P., O'Connor, C., Wright, G., & Eason, C.T. (2003). Persistence of four anticoagulant rodenticides in the livers of laboratory rats. DOC Science Internal Series, 139, 1-19.
- Fitzgerald, W.F., Lamborg, C.H., & Hammerschmidt, C.R. (2007). Marine biogeochemical cycling of mercury. Chemical Reviews, 107, 641-662.
- Fonteneau, F., Jérôme, L.G., Paillisson, J.M., Carpentier, A., & Marion, L. (2004). Etude de la prédation des grands cormorans (*Phalacrocorax carbo*) hivernant dans l'ouest de la France.
- Fonteneau, F., Paillisson, J., & Marion, L. (2009). Relationships between bird morphology and prey selection in two sympatric great cormorant *Phalacrocorax carbo* subspecies during winter. Ibis, 151, 286-298.
- Fossi, M.C., Massi, A., Lari, L., Marsili, L., Focardi, S., Leonzio, C., & Renzoni, A. (1995). Interspecies differences in mixed function oxidase activity in birds: relationship between feeding habits, detoxication activities and organochlorine accumulation. Environmental Pollution, 90, 15-24.
- Fournier-Chambrillon, C., Berny, P.J., Coiffier, O., Barbedienne, P., Dassé, B., Delas, G., & Fournier, P. (2004). Evidence of secondary poisoning of free-ranging riparian mustelids by anticoagulant rodenticides in France: implications for conservation of European mink (*Mustela lutreola*). Journal of Wildlife Diseases, 40, 688-695.
- Fry, B. (2006). Stable Isotope Ecology. Springer, New York, 1st ed. 2006. 3rd. corr. printing edition ed.
- Goutner, V., Becker, P.H., & Liordos, V. (2011). Organochlorines and mercury in livers of great cormorants (*Phalacrocorax carbo sinensis*) wintering in northeastern Mediterranean wetlands in relation to area, bird age, and gender. Science of the Total Environment, 409, 710-718.

- Grey, J. (2006). The use of stable isotope analyses in freshwater ecology: current awareness. *Polish Journal of Ecology*, 54, 563-584.
- Guruge, K.S., & Tanabe, S. (1997). Congener specific accumulation and toxic assessment of polychlorinated biphenyls in common cormorants, *Phalacrocorax carbo*, from Lake Biwa, Japan. *Environmental Pollution*, 96, 425-433.
- Guruge, K.S., Tanabe, S., Fukuda, M., Yamagishi, S., & Tatsukawa, R. (1997). Accumulation pattern of persistent organochlorine residues in common cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. *Marine Pollution Bulletin*, 34, 186-193.
- Gutleb, A.C., Kranz, A., Nechay, G., & Toman, A. (1998). Heavy metal concentrations in livers and kidneys of the otter (*Lutra lutra*) from Central Europe. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 60, 273-279.
- Gutleb, A.C. (2000). The role of pollutants in the decline of the otter. In *Proceedings of the First Otter Toxicology Conference, Isle of Skye, september 2000*: 29-40.
- Harding, L.E., Harris, M.L., & Elliott, J.E. (1998). Heavy and trace metals in wild mink (*Mustela vison*) and river otter (*Lontra canadensis*) captured on rivers receiving metals discharges. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 61, 600-607.
- Harris, M.L., Wilson, L.K., & Elliott, J.E. (2005). An assessment of PCBs and OC pesticides in eggs of double-crested (*Phalacrocorax auritus*) and pelagic (*P. pelagicus*) cormorants from the west coast of Canada, 1970 to 2002. *Ecotoxicology*, 14, 607-625.
- Hendra, R. (1999). Seasonal abundance patterns and dietary preferences of hedgehogs at Trounson Kauri Park (p. 12). Wellington: Department of Conservation.
- Hernandez-Moreno, D., De La Casa-Resino, I., Lopez-Beceiro, A., Fidalgo, L.E., Soler, F., & Perez-Lopez, M. (2013). Secondary poisoning of non-target animals in an Ornithological Zoo

in Galicia (NW Spain) with anticoagulant rodenticides: a case report. *Veterinarni Medicina*, 58, 553-559.

- Honda, K., Yamamoto, Y., Hidaka, H., & Tatsukawa, R. (1986). Heavy metal accumulations in Adélie penguin, *Pygoscelis adeliae*, and their variations with the reproductive processes. *Memoirs of National Institute of Polar Research. Special Issue*, 40, 443-453.
- Honda, S. I., Hylander, L., & Sakamoto, M. (2006). Recent advances in evaluation of health effects on mercury with special reference to methylmercury—a minireview. *Environmental Health and Preventive Medicine*, 11, 171-176.
- Hoshi, H., Minamoto, N., Iwata, H., Shiraki, K., Tatsukawa, R., Tanabe, S., & Kinjo, T. (1998). Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyl congeners in wild terrestrial mammals and birds from Chubu region, Japan: interspecies comparison of the residue levels and compositions. *Chemosphere*, 36, 3211-3221.
- Houserová, P., Kubáň, V., Kráčmar, S., & Sitko, J. (2007). Total mercury and mercury species in birds and fish in an aquatic ecosystem in the Czech Republic. *Environmental Pollution*, 145, 185-194.
- Hubert, P., Julliard, R., Biagianti, S., & Poulle, M.L. (2011). Ecological factors driving the higher hedgehog (*Erinaceus europeus*) density in an urban area compared to the adjacent rural area. *Landscape and Urban Planning*, 103, 34-43.
- Hui, A., Takekawa, J.Y., Baranyuk, V.V., & Litvin, K.V. (1998). Trace element concentrations in two subpopulations of lesser snow geese from Wrangel Island, Russia. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 34, 197-203.
- Hyvärinen, H., Tyni, P., & Nieminen, P. (2003). Effects of moult, age, and sex on the accumulation of heavy metals in the otter (*Lutra lutra*) in Finland. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70, 0278-0284.

- Jacob, D., & Boer, E.H. (1994). 8-year study on the elimination of PCBs and other organochlorine compound from eel under nature conditions. *Environmental Science and Technology*, 28, 2242-2248.
- Jacquat, M.S. (1982). Remarques sur l'utilisation de l'ARVICOSTOP pour lutter contre les pullulations du Campagnol terrestre et sur les conséquences pour la faune. *Nos Oiseaux*, 36,397–400.
- Janković, S., Ćurčić, M., Radičević, T., Stefanović, S., Lenhardt, M., Durgo, K., & Antonijević, B. (2011). Non-dioxin-like PCBs in ten different fish species from the Danube river in Serbia. *Environmental Monitoring and Assessment*, 181, 153-163.
- Jensen, S., Kihlström, J.E., Olsson, M., Lundberg, C., & Örberg, J. (1977). Effects of PCB and DDT on mink (*Mustela vison*) during the reproductive season. *Ambio*, 6, 239.
- Johnsgard, P.A. (1993). *Cormorants, darters, and pelicans of the world*. Smithsonian institution press. 445 p.
- Johnston, J.J., Holmes, M.J., Hart, A., Kohler, D.J., & Stahl, R.S. (2005a). Probabilistic model for estimating field mortality of target and non-target bird populations when simultaneously exposed to avicide bait. *Pest Management Science*, 61, 649-659.
- Johnston, J.J., Pitt, W.C., Sugihara, R.T., Eisemann, J.D., Primus, T.M., Holmes, M.J., & Hart, A. (2005). Probabilistic risk assessment for snails, slugs, and endangered honeycreepers in diphacinone rodenticide baited areas on Hawaii, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 24, 1557-1567.
- Jones, C., Moss, K., & Sanders, M. (2005). Diet of hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) in the upper Waitaki Basin, New Zealand: implications for conservation. *New Zealand Journal of Ecology*, 29, 29-35.

- Kanarek, G., & Rolbiecki, L.E.S.Z.E.K. (2006). Third-stage larvae of *Anisakis simplex* (Rudolphi 1809) in the Great Cormorant [*Phalacrocorax carbo sinensis* (Blumenbach, 1798)] from the Vistula Lagoon, Poland. *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 35, 23-28.
- Kannan, K., Corsolini, S., Imagawa, T., Focardi, S., & Giesy, J.P. (2002). Polychlorinated-naphthalenes,-biphenyls,-dibenzo-p-dioxins,-dibenzofurans and p, p'-DDE in bluefin tuna, swordfish, cormorants and barn swallows from Italy. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 31, 207-211.
- Kannan, K., Kajiwara, N., Watanabe, M., Nakata, H., Thomas, N.J., Stephenson, M., & Tanabe, S. (2004). Profiles of polychlorinated biphenyl congeners, organochlorine pesticides, and butyltins in southern sea otters and their prey. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23, 49-56.
- Kelderman, P., Drossaert, W.M.E., Min, Z., Galione, L.S., Okonkwo, L.C., & Clarisse, I.A. (2000). Pollution assessment of the canal sediments in the city of Delft (the Netherlands). *Water Research*, 34, 936-944.
- Khan, I.A., & Thomas, P. (2001). Disruption of neuroendocrine control of luteinizing hormone secretion by Aroclor 1254 involves inhibition of hypothalamic tryptophan hydroxylase activity. *Biology of Reproduction*, 64, 955-964.
- Kim, E.Y., Goto, R., Tanabe, S., Tanaka, H., & Tatsukawa, R. (1998). Distribution of 14 elements in tissues and organs of oceanic seabirds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 35, 638-645.
- Kloskowski, J. (1999). Otter *Lutra lutra* predation in cyprinid-dominated habitats. *Zeitschrift fur Säugetierkunde*, 64, 201-209.
- Kruuk, H., & Conroy, J.W.H. (1996). Concentrations of some organochlorines in otters (*Lutra lutra* L.) in Scotland: implications for populations. *Environmental Pollution*, 92, 165-171.

- Kruuk, H., & Conroy, J.W.H. (1991). Mortality of otters (*Lutra lutra*) in Shetland. *Journal of Applied Ecology*, 28, 83-94.
- Kruuk, H. (2006). *Otters: ecology, behaviour and conservation*. Oxford University Press, 265p.
- Kruuk, H. (1995). *Wild otters: predation and populations*. Oxford University Press, Oxford, UK, 286 pp.
- Lambert, O., Pouliquen, H., Larhantec, M., Thorin, C., & L'Hostis, M. (2007). Exposure of raptors and waterbirds to anticoagulant rodenticides (difenacoum, bromadiolone, coumatetralyl, coumafen, brodifacoum): epidemiological survey in Loire Atlantique (France). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79, 91-94.
- Langer, P., Tajtáková, M., Petřík, J., Chovancová, J., Drobná, B., Jursa, S., & Elena, S. (2003). Possible effects of polychlorinated biphenyls and organochlorinated pesticides on the thyroid after long-term exposure to heavy environmental pollution. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 45, 526-532.
- Langford, K.H., Reid, M., & Thomas, K.V. (2013). The occurrence of second generation anticoagulant rodenticides in non-target raptor species in Norway. *Science of the Total Environment*, 450, 205-208.
- Lanszki, J., Körmendi, S., Hancz, C., & Martin, T.G. (2001). Examination of some factors affecting selection of fish prey by otters (*Lutra lutra*) living by eutrophic fish ponds. *Journal of Zoology*, 255, 97-103.
- Lanszki, J., Molnár, M., & Molnár, T. (2006). Factors affecting the predation of otter (*Lutra lutra*) on European pond turtle (*Emys orbicularis*). *Journal of Zoology*, 270, 219-226.

- Lanszki, J., Orosz, E., & Sugár, L. (2009). Metal levels in tissues of Eurasian otters (*Lutra lutra*) from Hungary: variation with sex, age, condition and location. *Chemosphere*, 74, 741-743.
- Lanszki, J., & Sallai, Z. (2006). Comparison of the feeding habits of Eurasian otters on a fast flowing river and its backwater habitats. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, 71, 336-346.
- Lehel, J., Gál, J., Faragó, S., Berta, E., Andrásófszky, E., Fekete, S., & Marosán, M. (2013). Evaluation of mercury and lead content in the liver of the cormorant (*Phalacrocorax carbo sinensis*) population of Kis-Balaton, Hungary. *Acta Veterinaria Hungarica*, 61, 187-196.
- Lelek, A. (1987). Siluridae. In *The Freshwater Fishes of Europe: Threatened Fishes of Europe*, 9, 259-263.
- Lemarchand, C., Amblard, C., Souchon, Y., & Berny, P. (2007). Organochlorine compounds (pesticides and PCBs) in scats of the European otter (*Lutra lutra*) from an actual expanding population in central France. *Water, Air, and Soil Pollution*, 186, 55-62.
- Lemarchand, C. (2007). Etude de l'habitat de la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) en région Auvergne (France): relations entre le régime alimentaire et la dynamique de composés essentiels et d'éléments toxiques. Thèse de doctorat de l'Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand 225p.
- Lemarchand, C., Rosoux, R., & Berny, P. (2010). Organochlorine pesticides, PCBs, heavy metals and anticoagulant rodenticides in tissues of Eurasian otters (*Lutra lutra*) from upper Loire River catchment (France). *Chemosphere*, 80, 1120-1124.
- Lemarchand, C., Rosoux, R., & Berny, P. (2013). Etude écotoxicologique du bassin de la Loire à l'aide de bioindicateurs, dans le contexte des effets prévisibles du réchauffement climatique. Plan Loire Grandeur Nature, 2013.

- Leonards, P.E.G., Broekhuizen, S., De Voogt, P., Van Straalen, N.M., Brinkman, U.T., Cofino, W.P., & Van Hattum, B. (1998). Studies of bioaccumulation and biotransformation of PCBs in mustelids based on concentration and congener patterns in predators and preys. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 35, 654-665.

- Leonards, P.E.G., De Vries, T.H., Minnaard, W., Stuijzand, S., De Voogt, P., Cofino, W.P., & van Hattum, B. (1995). Assessment of experimental data on PCB-induced reproduction inhibition in mink, based on an isomer-and congener-specific approach using 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin toxic equivalency. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 14, 639-652.

- Leonards, P.E.G., Zierikzee, Y., Brinkman, U.A.T., Cofino, W.P., van Straalen, N.M., & van Hattum, B. (1997). The selective dietary accumulation of planar polychlorinated biphenyls in the otter (*Lutra lutra*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16, 1807-1815.

- Libois, R. (2001). Aperçu du régime alimentaire du Grand Cormoran (*Phalacrocorax carbo*) dans les eaux intérieures du Pas-de-Calais (France). *Aves*, 38 : 49-59.

- Libois, R. (1995). Régime et tactique alimentaires de la loutre (*Lutra lutra*) en France: synthèse. *Cahiers d'Ethologie*, 15, 251-274.

- Liu, J., Xiong, K., Ye, X., Zhang, J., Yang, Y., & Ji, L. (2015). Toxicity and bioaccumulation of bromadiolone to earthworm *Eisenia fetida*. *Chemosphere*, 135, 250-256.

- Liu, Z.P. (2003). Lead poisoning combined with cadmium in sheep and horses in the vicinity of non-ferrous metal smelters. *Science of the Total Environment*, 309, 117-126.

- Lodal, J., & Hansen, O.C. (2002). Human and Environmental Exposure Scenarios for Rodenticides—Focus on the Nordic Countries. Nordic Council of Ministers. TemaNord, Copenhagen, p 575.

- Lodenius, M., Skarén, U., Hellstedt, P., & Tulisalo, E. (2014). Mercury in various tissues of three mustelid species and other trace metals in liver of European otter from Eastern Finland. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186, 325-333.
- Łuczyńska, J., & Brucka-Jastrzębska, E. (2006). Determination of heavy metals in the muscles of some fish species from lakes of the north-eastern Poland. *Pol. J. Food Nutr. Sci*, 15, 141-146.
- Marion, L. (1983). Problèmes biogéographiques, écologiques et taxonomiques posés par le Grand cormoran *Phalacrocorax carbo*. *Revue d'Ecologie*, 38, 65-99.
- Marion, L. (1997). Le Grand Cormoran en Europe: dynamique des populations et impacts. Oiseaux à Risques en ville et en campagne, INRA. Editions, Paris, 133-178.
- Marion, L. (2003).- Recensement national des grands Cormorans hivernant en France durant l'hiver 2002-2003. Rapport au ministère de l'environnement. Université de Rennes1, 35 p.
- Marion, L. (2007a). Recensement national des Grands cormorans hivernant en France durant l'hiver 2006-07. Ministère Ecologie, du Développement et de l'Aménagement durables, MNHN et Université de Rennes, SESLG : 37 p.
- Marion, L. (2007b). Recensement National des Grands Cormorans nicheurs en France en 2006. Ministère Ecologie, Aménagement et Développement durables, Université de Rennes I-CNRS, SESLG : 18 p.
- Martino, A., Syväranta, J., Crivelli, A., Cereghino, R., & Santoul, F. (2011). Is European catfish a threat to eels in southern France? *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 21, 276-281.

- Martyniak, A., Wziatek, B., Szymanska, U., Hliwa, P., & Terlecki, J. (2003). Diet composition of Great Cormorants *Phalacrocorax carbo sinensis* at Katy Rybackie, NE Poland, as assessed by pellets and regurgitated prey. *Vogelwelt*, 124, 217-225.

- Mason, C.F., Ekins, G., & Ratford, J.R. (1997). PCB congeners, DDE, dieldrin and mercury in eggs from an expanding colony of cormorants (*Phalacrocorax carbo*). *Chemosphere*, 34, 1845-1849.

- Mason, C.F., Last, N.I., & Macdonald, S.M. (1986). Mercury, cadmium, and lead in British otters. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 37, 844-849.

- Mason, C.F., Macdonald, S.M., Bland, H.C., & Ratford, J. (1992). Organochlorine pesticide and PCB contents in otter (*Lutra lutra*) scats from western Scotland. *Water, Air, and Soil Pollution*, 64, 617-626.

- Mason, C.F., & Macdonald, S.M. (1993b). Impact of organochlorine pesticide residues and PCBs on otters (*Lutra lutra*) in eastern England. *Science of the Total Environment*, 138, 147-160.

- Mason, C.F., & Macdonald, S.M. (1986). *Otters: ecology and conservation*. Cambridge University Press, Cambridge, 236 p.

- Mason, C.F., & Macdonald, S.M. (1993c). PCBs and organochlorine pesticide residues in otter (*Lutra lutra*) spraints from Welsh catchments and their significance to otter conservation strategies. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 3, 43-51.

- Mason, C.F., & Macdonald, S.M. (1994). PCBs and organochlorine pesticide residues in otters (*Lutra lutra*) and in otter spraints from SW England and their likely impact on populations. *Science of the Total Environment*, 144, 305-312.

- Mason, C.F., & Madsen, A.B. (1993). Organochlorine pesticide residues and PCBs in Danish otters (*Lutra lutra*). *Science of the Total Environment*, 133, 73-81.
- Mason, C.F. (1989). Relationships between organochlorine concentrations in liver and muscle of otters. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 43, 548-549.
- Mason, C.F., & Stephenson, A. (2001). Metals in tissues of European otters (*Lutra lutra*) from Denmark, Great Britain and Ireland. *Chemosphere*, 44, 351-353.
- Mason, G.J., & Littin, K.E. (2003). The humaneness of rodent pest control. *Animal Welfare*, 12, 1-37.
- Matasin, Z., Ivanusic, M., Orescanin, V., Nejedli, S., & Gajger, I.T. (2011). Heavy metal concentrations in predator fish. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10, 1214-1218.
- Ma, W.C. (1989). Effect of soil pollution with metallic lead pellets on lead bioaccumulation and organ/body weight alterations in small mammals. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 18, 617-622.
- Mazej, Z., Al Sayegh-Petkovšek, S., & Pokorny, B. (2010). Heavy metal concentrations in food chain of Lake Velenjsko jezero, Slovenia: an artificial lake from mining. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 998-1007.
- Mazet, A. (2005). Etude écotoxicologique et environnementale de la rivière Drôme: application à la survie de la loutre. Thèse de doctorat de l'Université Joseph-Fourier-Grenoble I.
- McDonald, R.A., Harris, S., Turnbull, G., Brown, P., & Fletcher, M. (1998). Anticoagulant rodenticides in stoats (*Mustela erminea*) and weasels (*Mustela nivalis*) in England. *Environmental Pollution*, 103, 17-23.

- McFarland, V.A., & Clarke, J.U. (1989). Environmental occurrence, abundance, and potential toxicity of polychlorinated biphenyl congeners: considerations for a congener-specific analysis. *Environmental Health Perspectives*, 81, 225-239.
- Mercier, L. (2004). Bilan de la réintroduction de la loutre *Lutra lutra* (Linné, 1758) en Alsace (France). *Bulletin de la Société d'histoire naturelle et d'ethnographie de Colmar*, 65: 117-134.
- Misztal-Szkudlińska, M., Szefer, P., Konieczka, P., & Namieśnik, J. (2011). Biomagnification of mercury in trophic relation of Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo*) and fish in the Vistula Lagoon, Poland. *Environmental Monitoring and Assessment*, 176, 439-449.
- Moran, S., Turner, P.D., & O'Reilly, C. (2009). Multiple paternity in the European hedgehog. *Journal of Zoology*, 278, 349-353.
- Morris, P., Berthoud, G., Schmid, O., & Troughton, G. (2003). *La vie du hérisson*. Delachaux & Niestlé.
- Moss, K., & Sanders, M. (2001). Advances in New Zealand mammalogy 1990–2000: hedgehog. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 31, 31-42.
- Nam, D.H., Anan, Y., Ikemoto, T., Okabe, Y., Kim, E.Y., Subramanian, A., & Tanabe, S. (2005). Specific accumulation of 20 trace elements in great cormorants (*Phalacrocorax carbo*) from Japan. *Environmental Pollution*, 134, 503-514.
- Nathansson, J.E. (1987). *Distribution of the Sheatfish (Silurus glanis) in Sweden*. Institute of Freshwater Research, Drottningholm, 70 pp.
- Navarro, A., Quirós, L., Casado, M., Faria, M., Carrasco, L., Benejam, L., & Bayona, J.M. (2009). Physiological responses to mercury in feral carp populations inhabiting the low Ebro River (NE Spain), a historically contaminated site. *Aquatic Toxicology*, 93, 150-157.

- Nie, X.P., Lan, C.Y., An, T.C., Wong, M.H., & Li, K.B. (2006). Distributions and congener patterns of PCBs in fish from major aquaculture areas in the Pearl River Delta, South China. *Human and Ecological Risk Assessment*, 12, 363-373.
- Noël, L., Chekri, R., Millour, S., Merlo, M., Leblanc, J.C., & Guérin, T. (2013). Distribution and relationships of As, Cd, Pb and Hg in freshwater fish from five French fishing areas. *Chemosphere*, 90, 1900-1910.
- Nordberg, G.F., Nogawa, K., Nordberg, M. In: *Handbook on the Toxicology of Metals*, (Nordberg G, Fowler B, Nordberg M, eds). Amsterdam: Elsevier, 446–486; 2007. Cadmium.
- Obrtel, B., & Holisova, V. (1981). The Diet of Hedgehogs in an Urban Environment. *Folia Zoologica*, 30, 193-201.
- Ochiai, K., Hoshiko, K., Jin, K., Tsuzuki, T., & Itakura, C. (1993). A survey of lead poisoning in wild waterfowl in Japan. *Journal of Wildlife Diseases*, 29, 349-352.
- Ochiai, K., Jin, K., Goryo, M., Tsuzuki, T., & Itakura, C. (1993). Pathomorphologic Findings of Lead Poisoning in White-fronted Geese (*Anser albifrons*). *Veterinary Pathology*, 30, 522-528.
- Ochiai, K., Jin, K., Itakura, C., Goryo, M., Yamashita, K., Mizuno, N., & Tsuzuki, T. (1992). Pathological study of lead poisoning in whooper swans (*Cygnus cygnus*) in Japan. *Avian Diseases*, 313-323.
- Orlova, E.L. (1988). Peculiarities of growth and maturation of the catfish, *Silurus glanis*, in the Volga Delta under regulated flow conditions. *Journal of Ichthyology*, 28, 35-45.
- O'sullivan, W.M., Macdonald, S.M., & Mason, C.F. (1993, March). Organochlorine pesticide residues and PCBs in otter spraints from southern Ireland. In *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy*, 93, 55-57.

- O'Sullivan, W.M. (1994). Summer diet of otters on part of the River Blackwater catchment. *The Irish Naturalists' Journal*, 24, 349-354.

- Ottino, P., & Giller, P. (2004). Distribution, density, diet and habitat use of the otter in relation to land use in the Araglin valley, Southern Ireland. *Biology and Environment: proceedings of the royal Irish academy*, 104, 1-17.

- Pacini, N., Abate, V., Brambilla, G., De Felip, E., De Filippis, S.P., De Luca, S., & Iacovella, N. (2013). Polychlorinated dibenzodioxins, dibenzofurans, and biphenyls in fresh water fish from Campania Region, southern Italy. *Chemosphere*, 90, 80-88.

- Patrolecco, L., Ademollo, N., Capri, S., Pagnotta, R., & Polesello, S. (2010). Occurrence of priority hazardous PAHs in water, suspended particulate matter, sediment and common eels (*Anguilla anguilla*) in the urban stretch of the River Tiber (Italy). *Chemosphere*, 81, 1386-1392.

- Pérez-López, M., Cid, F., Oropesa, A.L., Fidalgo, L.E., Beceiro, A.L., & Soler, F. (2006). Heavy metal and arsenic content in seabirds affected by the Prestige oil spill on the Galician coast (NW Spain). *Science of the Total Environment*, 359, 209-220.

- Peterson, B.J., & Fry, B. (1987). Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18, 293-320.

- Planche, B. (1987). Croissance et reproduction du silure glane (*Silurus glanis*, Cypriniformes, Siluridae) dans la Seille (Saône et Loire, France). Rapport technique de DEA, Université de Lyon I, Villeurbanne, 25pp.

- Platteeuw, M, van Eerden, M.R, van de Guchte, K. (1995). Variation in contaminant content of livers of cormorants (*Phalacrocorax carbo sinensis*) living near polluted sedimentation area in Lake IJsselmeer in the Netherlands. *Ardea*, 83, 315–24.

- Poessel, S.A., Breck, S.W., Fox, K.A., & Gese, E.M. (2015). Anticoagulant rodenticide exposure and toxicosis in coyotes (*Canis latrans*) in the Denver metropolitan area. *Journal of Wildlife Diseases*, 51, 265-268.

- Portrat, O. (1998). Le silure en Europe. *Le Pêcheur de France*. 40, 16-19.

- Preston, S.J., Portig, A.A., Montgomery, W.I., McDonald, R.A., Dick, J.T.A., & Fairley, J.S. (2007). Temporal and spatial variation in otter *Lutra lutra* diet in Northern Ireland. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy*, 107B, 61-66.

- Preston, S.J., Portig, A.A., Montgomery, W.I., McDonald, R.A., & Fairley, J.S. (2006). Status and diet of the otter *Lutra lutra* in Northern Ireland. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy*, 106B, 57-63.

- Proteau, J.P., Schlumberger, O., & Albiges, C. (1993). Silure et sandre. *Aqua revue*. 47: 18-19.

- Przybysz, J. (1997). Kormoran-Monografie przyrodnicze. Wyd. Lubuskiego Klubu Przyrodników. Świebodzin.

- Reid, N., Thompson, D., Hayden, B., Marnell, F., & Montgomery, W.I. (2013). Review and quantitative meta-analysis of diet suggests the Eurasian otter (*Lutra lutra*) is likely to be a poor bioindicator. *Ecological Indicators*, 26, 5-13.

- Riley, S.P., Bromley, C., Poppenga, R.H., Uzal, F.A., Whited, L., & Sauvajot, R.M. (2007). Anticoagulant exposure and notoedric mange in bobcats and mountain lions in urban southern California. *Journal of Wildlife Management*, 71, 1874-1884.

- Robertson, H.A., & Colbourne, R.M. (2001). Survival of little spotted kiwi exposed to the rodenticide brodifacoum. *The Journal of Wildlife Management*, 65, 29-34.

- Roos, A., Greyerz, E., Olsson, M., & Sandegren, F. (2001). The otter (*Lutra lutra*) in Sweden—population trends in relation to Σ DDT and total PCB concentrations during 1968-99, *Environmental Pollution*, 111, 457-469.

- Rosoux, R. & De Bellefroid, M.d.N. (2007). *La Loutre. Portraits Sauvages*, Artémis, 64p.

- Rudy, M. (2009). The analysis of correlations between the age and the level of bioaccumulation of heavy metals in tissues and the chemical composition of sheep meat from the region in SE Poland. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1117-1122.

- Ruiz-Olmo, J., Lafontaine, L., Prigioni, C., López-Martín, J.M., & Santos-Reis, M. (2000). Pollution and its effects on otter populations in south-western Europe. In *Proceedings of the First Otter Toxicology Conference* (Eds JWH Conroy, P. Yoxon and AC Gutleb.). *Journal of the International Otter Survival Fund*, 1, 63-82.

- Ruiz-Olmo, J., Saavedra, D., & Jiménez, J. (2001). Testing the surveys and visual and track censuses of Eurasian otters (*Lutra lutra*). *Journal of Zoology*, 253, 359-369.

- Ruiz-Suárez, N., Henríquez-Hernández, L.A., Valerón, P.F., Boada, L.D., Zumbado, M., Camacho, M., & Luzardo, O.P. (2014). Assessment of anticoagulant rodenticide exposure in six raptor species from the Canary Islands (Spain). *Science of the Total Environment*, 485, 371-376.

- Ruiz-Suárez, N., Melero, Y., Giela, A., Henríquez-Hernández, L.A., Sharp, E., Boada, L.D., & Hartley, G. (2016). Rate of exposure of a sentinel species, invasive American mink (*Neovison vison*) in Scotland, to anticoagulant rodenticides. *Science of the Total Environment*, 569, 1013-1021.

- SAAT, T. (2003). Wels, sheatfish, *Silurus glanis* L. In *Fishes of Estonia*, Estonian Academy Publishers, 252-254.

- Saeki, K., Okabe, Y., Kim, E.Y., Tanabe, S., Fukuda, M., & Tatsukawa, R. (2000). Mercury and cadmium in common cormorants (*Phalacrocorax carbo*). *Environmental Pollution*, 108, 249-255.
- Sánchez-Barbudo, I.S., Camarero, P.R., & Mateo, R. (2012). Primary and secondary poisoning by anticoagulant rodenticides of non-target animals in Spain. *Science of the Total Environment*, 420, 280-288.
- Scharenberg, W. (1991). Cormorants (*Phalacrocorax carbo sinensis*) as bioindicators for polychlorinated biphenyls. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 21, 536-540.
- Sharpe, R.T., & Livesey, C.T. (2005). Surveillance of suspect animal toxicoses with potential food safety implications in England and Wales between 1990 and 2002. *The Veterinary Record*, 157, 465-469.
- Shikhshabekov, M.M. (1978). The sexual cycles of the catfish, *Silurus glanis*, the pike, *Esox lucius*, the perch, *Perca fluviatilis*, and the pike-perch, *Lucioperca lucioperca*. *Journal of Ichthyology*, 18, 457-468.
- Shirer, M. (1992). In poison's defence. *Terra Nova*, 17, 3.
- Shore, R.F., Birks, J.D.S., Afsar, A., Wienburg, C.L., & Kitchener, A.C. (2003). Spatial and temporal analysis of second-generation anticoagulant rodenticide residues in polecats (*Mustela putorius*) from throughout their range in Britain, 1992–1999. *Environmental Pollution*, 122, 183-193.
- Skoric, S., Visnjić-Jeftić, Z., Jaric, I., Djikanovic, V., Mickovic, B., Nikcevic, M., & Lenhardt, M. (2012). Accumulation of 20 elements in great cormorant (*Phalacrocorax carbo*) and its main prey, common carp (*Cyprinus carpio*) and Prussian carp (*Carassius gibelio*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 80, 244-251.

- Sleeman, J.M., Cristol, D.A., White, A.E., Evers, D.C., Gerhold, R.W., & Keel, M.K. (2010). Mercury poisoning in a free-living northern river otter (*Lontra canadensis*). *Journal of Wildlife Diseases*, 46, 1035-1039.
- Smith, A.G., 1991. Chlorinated Hydrocarbon Insecticides. In: Hayes W.J., Lawes E.R. (eds). *Handbook of pesticides toxicology*. Volume 2. Classes of pesticides. Academic Press, San Diego, California, 731-915.
- Smit, M.D., Leonards, P.E., de Jongh, A.W., & van Hattum, B.G. (1998). Polychlorinated biphenyls in the Eurasian otter (*Lutra lutra*). In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 157, 95-130.
- Spurr, E.B., & Drew, K.W. (1999). Invertebrates feeding on baits used for vertebrate pest control in New Zealand. *New Zealand Journal of Ecology*, 23, 167-173.
- Squadrone, S., Benedetto, A., Brizio, P., Prearo, M., & Abete, M.C. (2015). Mercury and selenium in European catfish (*Silurus glanis*) from Northern Italian Rivers: Can molar ratio be a predictive factor for mercury toxicity in a top predator? *Chemosphere*, 119, 24-30.
- Squadrone, S., Favaro, L., Prearo, M., Vivaldi, B., Brizio, P., & Abete, M.C. (2013). NDL-PCBs in muscle of the European catfish (*Silurus glanis*): an alert from Italian rivers. *Chemosphere*, 93, 521-525.
- Squadrone, S., Prearo, M., Brizio, P., Gavinelli, S., Pellegrino, M., Scanzio, T., & Abete, M. C. (2013). Heavy metals distribution in muscle, liver, kidney and gill of European catfish (*Silurus glanis*) from Italian Rivers. *Chemosphere*, 90, 358-365.
- Stansley, W., Cummings, M., Vudathala, D., & Murphy, L.A. (2014). Anticoagulant Rodenticides in Red-Tailed Hawks, *Buteojamaicensis*, and Great Horned Owls, *Bubo virginianus*, from New Jersey, USA, 2008–2010. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92, 6-9.

- Stempniewicz, L., & Grochowski, A. (1997). Diet composition of cormorants in the breeding colony of Katy Rybackie, NE Poland (regurgitated preys, 1992–94). *Supplemento alle Ricerche di Biologia della Selvaggina*, 26, 537-544.

- Stempniewicz, L., Martyniak, A., Borowski, W., & Goc, M. (2003). Interrelationships between Ruffe *Gymnocephalus cernuus* and Great Cormorants *Phalacrocorax carbo sinensis* in the Vistula Lagoon, N Poland. *Poland–Vogelwelt*, 124, 261-269.

- Stone, W.B., Okoniewski, J.C., & Stedelin, J.R. (2003). Anticoagulant rodenticides and raptors: recent findings from New York, 1998–2001. *Bulletin of Environmental Contamination and toxicology*, 70, 0034-0040.

- Strom, S.M. (2008). Total mercury and methylmercury residues in river otters (*Lutra canadensis*) from Wisconsin. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 54, 546-554.

- Subotić, S., Jeftić, Ž.V., Spasić, S., Hegediš, A., Krpo-Ćetković, J., & Lenhardt, M. (2013). Distribution and accumulation of elements (As, Cu, Fe, Hg, Mn, and Zn) in tissues of fish species from different trophic levels in the Danube River at the confluence with the Sava River (Serbia). *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 5309-5317.

- Suter, W. (1997). Roach rules: shoaling fish are a constant factor in the diet of cormorants *Phalacrocorax carbo* in Switzerland. *Ardea*, 85, 9-27.

- Svobodová, Z., Piačka, V., Vykusová, B., Machova, J., Hejtmanek, M., Hrbková, M.L., & Bastl, J. (1995). Residues of Pollutants in Siluriformes from Various Locations of the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, 64, 195-208.

- Syväranta, J., Cucherousset, J., Kopp, D., Crivelli, A., Céréghino, R., & Santoul, F. (2010). Dietary breadth and trophic position of introduced European catfish *Silurus glanis* in the Tarn River (Garonne River basin), southwest France. *Aquatic Biology*, 8, 137-144.

- Taastrøm, H.M., & Jacobsen, L. (1999). The diet of otters (*Lutra lutra* L.) in Danish freshwater habitats: comparisons of prey fish populations. *Journal of Zoology*, 248, 1-13.
- Tans, M., Hugla, J.L., Libois, R.M., Rosoux, R., & Thomé, J.P. (1995). Contamination of European otters (*Lutra lutra*) by PCB congeners and organochlorinated pesticides in the wetlands of western France. *Netherlands Journal of Zoology*, 46, 326-336.
- Thijssen, H.H.W., Janssen, C.A.T., & Mosterd, J.J. (1989). Warfarin resistance: biochemical evaluation of a warfarin-resistant wild brown rat. *Biochemical Pharmacology*, 38, 3129-3132.
- Thomas, P.J., Mineau, P., Shore, R.F., Champoux, L., Martin, P.A., Wilson, L.K., & Elliott, J. E. (2011). Second generation anticoagulant rodenticides in predatory birds: probabilistic characterisation of toxic liver concentrations and implications for predatory bird populations in Canada. *Environment International*, 37, 914-920.
- Valadou, B. (2007). Le silure glane (*Silurus glanis*, L.) en France. Evolution de son aire de répartition et prédiction de son extension. Conseil Supérieur de la Pêche, Fontenay-sous-Bois, France.
- Vander Zanden, M.J., Cabana, G., & Rasmussen, J.B. (1997). Comparing trophic position of freshwater fish calculated using stable nitrogen isotope ratios ($\delta^{15}\text{N}$) and literature dietary data. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54, 1142-1158.
- Van Eerden, M.R., & Gregersen, J.E.N.S. (1995). Long-Term Changes in the Northwest European Population of Cormorants (*Phalacrocorax carbo sinensis*). *Ardea*, 83, 61-79.
- Veldkamp, R. (1995). Diet of Cormorants *Phalacrocorax carbo sinensis* at Wanneperveen, The Netherlands, with special reference to Bream, *Abramis brama*. *Ardea*, 83, 143-155.

- Ventard, E. (1997). Contribution à l'étude du régime alimentaire et des parasites intestinaux du Grand cormoran (*Phalacrocorax carbo sinensis*, L.) hivernant en Dombes. Thèse doctorale, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 165 p.

- Voigt, H.R. (2000). Heavy Metal and Organochlorine levels in coastal fishes from the Väike Vään strait, western Estonia, in high summers of 1993-94. Proc. Estonian Academy of Science, Biology and Ecology, 49, 335–343.

- Walker, L.A., Turk, A., Long, S.M., Wienburg, C.L., Best, J., & Shore, R.F. (2008). Second generation anticoagulant rodenticides in tawny owls (*Strix aluco*) from Great Britain. Science of the Total Environment, 392, 93-98.

- White, P.C., McClean, C.J., & Woodroffe, G.L. (2003). Factors affecting the success of an otter (*Lutra lutra*) reinforcement programme, as identified by post-translocation monitoring. Biological Conservation, 112, 363-371.

- Yalden, D.W. (1976). The food of the hedgehog in England. Acta Theriologica, 21(30), 401-424.

- Zhang, L., & Wong, M.H. (2007). Environmental mercury contamination in China: sources and impacts. Environment International, 33, 108-121.

