
Mémoire

Auteur : Gelder, Justine

Promoteur(s) : Joaquim-Justo, Celia; 8912

Faculté : Faculté des Sciences

Diplôme : Master en biologie des organismes et écologie, à finalité spécialisée en biologie de la conservation : biodiversité et gestion

Année académique : 2020-2021

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/12614>

Avertissement à l'attention des usagers :

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

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

Étude écotoxicologique en vue du retour de la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) en Wallonie



Mémoire de fin d'études présenté par **Justine Gelder**
en vue de l'obtention du grade de Master en Biologie des Organismes et
Ecologie à finalité spécialisée en Biologie de la Conservation : Biodiversité et
Gestion

Promoteurs : Prof. Célia Joaquim-Justo - Dr Eric Gismondi (ULiège)

Co-promoteur : Corentin Rousseau (WWF)

Septembre 2021

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mon promoteur, Éric Gismondi, pour avoir été présent tout au long de la rédaction de ce mémoire. Merci pour les nombreuses relectures, les corrections mais également les conseils avisés qui m'ont permis d'améliorer la qualité de ce travail.

Je suis également reconnaissante envers ma promotrice, Célia Joaquim-Justo, qui m'a donné goût à l'écotoxicologie suite à son cours dispensé en master 1.

Je remercie vivement Corentin Rousseau, co-promoteur de ce mémoire, pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce sujet, pour sa disponibilité, ses relectures et sa bonne humeur qui m'ont permis de rester motivée tout au long de ce travail.

Je salue également l'équipe du laboratoire de démographie des poissons et d'hydroécologie (LDPH) pour leur aide dans la récolte des échantillons qui ont permis la réalisation de ce mémoire. Merci à Michaël Ovidio pour son enseignement sur le terrain lors des pêches électriques et sa disponibilité.

Merci à Catherine Adam de m'avoir guidée dans les manipulations au laboratoire et de m'avoir aidée dans le traitement des données.

Merci aux personnes des contrats rivière de la Gueule, l'Amblève, l'Ourthe et la Meuse d'avoir répondu à mes questions.

J'adresse également une pensée particulière à mes amies rencontrées lors de ce master en BOE ; Caroline, Marine, Julie et Virginie. Sans elles les épreuves de la vie universitaire n'auraient pas eu le même goût. Merci aussi à mes ami(e)s de toujours ; Carla, Orphée, Remi, Maxime, Justine et bien évidemment la confrérie d'Odette. Vous avez chacun à votre façon contribué à me rassurer, me faire souffler quand cela était nécessaire mais surtout merci pour votre soutien quotidien.

Un immense merci à ma maman, toujours fière de moi, qui m'a soutenue tout au long de ce parcours. Ainsi qu'à mon chat Eliot pour ses câlins et ronrons réconfortants durant les moments difficiles. Merci également à mes beaux-parents pour l'intérêt qu'ils portent à mes projets, pour leur porte toujours ouverte mais aussi pour leur bonne humeur quotidienne.

Pour finir, merci à Arthur pour le fait de trouver du positif dans n'importe quel cas, de me rassurer à chaque moment de doute, de me supporter quotidiennement mais aussi de m'accompagner dans mes moments de folie. Merci de me rendre heureuse chaque jour.

Résumé

La loutre d'Europe (*Lutra lutra*), qui était fréquente dans les cours d'eau belges, a vu ses populations diminuer à partir de la fin du 19^{ème} siècle. Suite à la mise en place de mesures de protection, le mustélidé a fait une timide réapparition en 2012 en Flandre mais reste rarissime en Wallonie. Les causes de son déclin sont multiples : primes de destruction, fragmentation de l'habitat mais également la pollution des cours d'eau. En effet, la loutre d'Europe, en se situant au sommet de la chaîne trophique, en tant que super-prédateur, est considérablement exposée à la pollution. Ce mustélidé étant majoritairement piscivore, cette étude visait à analyser les concentrations en polluants organiques (PCBs, DDTs, BDEs, HCHs et HCB) de poissons pêchés dans 4 cours d'eau de Wallonie (Amblève, Gueule, Meuse et Ourthe) faisant partie des couloirs potentiellement empruntés lors du retour de la loutre. Ce, afin de déterminer si les concentrations moyennes obtenues peuvent engendrer un impact ou non sur la loutre en se basant sur des valeurs seuils retrouvées dans la littérature. L'échantillonnage a été réalisé par pêche électrique dans les 4 sites d'études, et 5 poissons (de la même espèce) par site ont été analysés. Les contaminants présents dans les échantillons ont ensuite été extraits à l'aide de la méthode ASE puis purifiés en réalisant un clean up acide et Florisil, avant d'être analysés en chromatographie gazeuse. Les résultats ont montré que les poissons provenant de l'Ourthe étaient les plus contaminés, suivi de ceux de la Meuse. Cette contamination était majoritairement liée aux PCBs où les concentrations moyennes des ablettes communes de l'Ourthe (224,3 ng/g de P.F.) dépassaient le seuil critique pour la survie de la loutre d'Europe (145 ng/g de P.F.). De même, les gardons de la Meuse (110,3 ng/g de P.F.) dépassaient quant à eux le seuil critique pour la reproduction du mustélidé (50 ng/g de P.F.). En revanche, les concentrations moyennes mesurées dans les poissons provenant de l'Amblève et de la Gueule étaient sous les seuils critiques pour chacun des polluants, ne suggérant aucune toxicité possible chez les loutres. L'étude a également mis en évidence une concentration en o'p-DDT similaire chez les poissons de l'Ourthe et de la Meuse, indiquant une contamination récente en DDT. Seules les concentrations moyennes en BDEs, HCB et HCHs étaient relativement faibles quel que soit le site d'échantillonnage. En conclusion, les concentrations en polluants des poissons provenant de l'Ourthe et de la Meuse peuvent poser problème pour le retour de la loutre, à *contrario*, de celles provenant de l'Amblève et de la Gueule. Sur base de ces résultats, différentes solutions ont été envisagées afin de limiter la pollution mais aussi de modéliser les habitats potentiels de la loutre et couloirs écologiques les reliant.

Lexique des abréviations

AL : Amblève (Loche)

AV : Amblève (Vairon)

BP : Blanc procédure

BM : Blanc matrice

DDE : Dichlorodiphényldichloroéthylène

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

Éch : Echantillon

EPA : Environmental Protection Agency

IPBES : Plateforme intergouvernementale scientifique et politique sur la biodiversité et les services écosystémiques

IPV : Index planète vivante

G : Gueule

GIEC : Groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat

HCB : Hexachlorobenzène

HCH : Hexachlorocyclohexane

LEAE : Laboratoire d'Ecologie Animale et d'Ecotoxicologie

M : Meuse

Ma : Millions d'années

NQE : Norme de qualité environnementale

O : Ourthe

PBDE : Polybromodiphényléthers

PCB : Polychlorobiphényle

P.F. : Poids frais

POP : Polluants organiques persistants

QC : Contrôle qualité

UICN : Union internationale pour la conservation de la nature

WWF : World Wildlife Fund

Liste des figures et tableaux

Figure 1 : Arbre phylogénétique des Lutrinés (Rosoux & Lemarchand, 2019).	5
Figure 2 : Morphologie de la loutre d'Europe (<i>Lutra lutra</i>) (Zoodyssée, 2021).	6
Figure 3 : Catiche de la loutre d'Europe (Agence parole de bois, 2004).	7
Figure 4 : Répartition de la loutre d'Europe (<i>Lutra lutra</i>) (Roos et al., 2015).	10
Figure 5 : Couloir de recolonisation via l'Allemagne, les Pays-Bas, le Luxembourg et la Belgique (Reuther, 1995, 2004).	11
Figure 6 : Accumulation des contaminants le long de la chaîne trophique (Rosoux & Lemarchand, 2019).	14
Figure 7 : Localisation de la zone d'étude et des lieux d'échantillonnage.	24
Figure 8 : Lyophilisateur du LEAE.	25
Figure 9 : Appareil DIONEX ASE 200, laboratoire du LEAE.	25
Figure 10 : Turbovap du LEAE.	26
Figure 11 : Appareil SUPELCO Visiprep du LEAE pour l'évaporation des échantillons.	27
Figure 12 : Appareil SUPELCO Visiprep du LEAE pour l'extraction en phase solide.	27
Figure 13 : Contamination moyenne globale avec écarts-types en PCBs, pesticides et BDEs dans les 4 sites de prélèvement.	32
Figure 14 : Analyse en composantes principales des échantillons en poids frais provenant des 4 sites de prélèvements.	36
Figure 15 : Contamination détaillée en PCBs et concentration moyenne (ng/g de poids frais) dans les 4 sites.	37
Figure 16 : Concentrations moyennes en DDTs, HCHs et HCB avec écarts-types pour les 4 sites.	39
Figure 17 : Contamination détaillée en DDTs (en ng/g de poids frais) pour les 4 sites.	40
Figure 18 : Contamination détaillée en HCHs (en ng/g de poids frais) pour les 4 sites.	42
Figure 19 : Contamination détaillée en HCB (en ng/g de poids frais) pour les 4 sites.	44

Figure 20 : Contamination détaillée en BDEs (en ng/g de poids frais) pour les 4 sites.	45
Tableau 1 : Seuils de contamination accordés en fonction du polluant, du paramètre mesuré et de la référence.....	22
Tableau 2 : Espèce pêchée en fonction du site de prélèvement.	24
Tableau 3 : Catégories d'occupation du sol présentes en quantité importante dans les 4 sites de prélèvement.	30
Tableau 4 : Concentrations moyennes en PCBs et écarts-types dans les poissons et chez la loutre d'Europe (estimation) dans les différents sites (en poids lipidique).	34
Tableau 5 : Extrapolation de la concentration moyenne en PCBs dans les foies (P.L.) de loutres à partir de la concentration moyenne en PCBs dans les poissons des 4 sites de prélèvement (Gutleb & Kranz, 1997).	38
Tableau 6 : Moyennes et écarts-types détaillés des DDTs pour les 4 sites.....	40
Tableau 7 : Moyennes et écarts-types détaillés des HCHs pour les 4 sites.	42

Table des matières

Remerciements	
Résumé	
Lexique des abréviations	
Liste des figures et tableaux	
Introduction	1
1. Le déclin de la biodiversité	1
2. Le retour de trois prédateurs majeurs en Belgique	3
2.1 Le faucon pèlerin (<i>Falco peregrinus</i>).....	3
2.2 Le loup (<i>Canis lupus</i>).....	4
2.3 La loutre d'Europe (<i>Lutra lutra</i>).....	4
3. Présentation de l'espèce	5
3.1 Taxonomie et phylogénie.....	5
3.2 Description et morphologie.....	6
3.3 Habitat et comportement.....	7
3.4 Alimentation.....	8
3.5 Reproduction.....	9
3.6 Aire de répartition passée et présente.....	10
3.6.1 Potentiel de recolonisation en Belgique.....	11
3.7 Statut de protection et conservation.....	12
3.8 Menaces.....	13
3.8.1 Destruction et fragmentation de l'habitat.....	13
3.8.2 Destruction et collision routière.....	13
3.8.3 Pollution.....	14
4. Choix des polluants	16
4.1 Polychlorobiphényles (PCBs).....	16
4.2 Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT).....	18
4.3 Pesticides organochlorés : Hexachlorocyclohexane (HCH).....	19
4.4 Hexachlorobenzène (HCB).....	20
4.5 Polybromodiphényléthers (PBDEs).....	20
4.6 Synthèse des seuils de contamination.....	22
5. Objectifs du mémoire	23
Matériel et méthodes	24

1.	Échantillonnage	24
2.	Préparation des échantillons.....	25
3.	Extraction des contaminants.....	25
3.1	Accelerated Solvant Extractor (ASE).....	25
3.2	Détermination du poids lipidique.....	26
4.	Purification des échantillons	26
4.1	Clean up acide	26
4.2	Clean up Florisil	27
4.2.1	Préparation de la courbe étalon (CE).....	28
5.	Chromatographie en phase gazeuse.....	28
6.	Analyses statistiques.....	29
7.	Recensement de l'occupation des sols	30
	<i>Résultats et discussion</i>	32
1.	Analyse générale	32
2.	Analyse détaillée	35
2.1	Analyse en composantes principales.....	35
2.2	PCBs.....	36
2.3	Pesticides.....	39
2.3.1	DDTs.....	40
2.3.2	HCHs.....	41
2.3.3	HCB	43
2.4	BDEs.....	45
3.	Recommandations.....	47
3.1	Solutions de décontamination	47
3.2	Détermination des couloirs de dispersion.....	48
	<i>Conclusion</i>	50
	<i>Bibliographie</i>	
	<i>Annexes.....</i>	

Introduction

1. Le déclin de la biodiversité

La biodiversité désigne la diversité du monde vivant et les interactions au sein de ce dernier. Elle comprend plusieurs dimensions. Parmi celles-ci, il y a la diversité taxonomique, morphologique, les flux d'énergie, les liens trophiques, la phylogénie, mais également les interactions entre ces différents niveaux (Sigwart et al., 2018). Des services écosystémiques découlent de cette diversité procurant des avantages à notre société et une résistance face aux changements comme les changements climatiques (Roe, 2019). Parmi ces services, il y a la régulation de la qualité de l'air, des sols, de l'eau, la production de denrées alimentaires ou encore des services de type récréatifs comme une promenade à travers les bois.

Cependant, l'augmentation de la population humaine et son mode de vie ont conduit à une surexploitation des ressources naturelles amenant une perte de diversité (Singh, 2002). Pour exemple, depuis l'arrivée des Hommes à Madagascar, 17 espèces de lémuriens ont disparu. Ceux-ci appartenaient à 9 genres différents dont 8 ont actuellement disparu, il s'agit de *Archaeolemur*, *Hadropithecus*, *Mesopropithecus*, *Babakotia*, *Palaeopropithecus*, *Archaeoindris*, *Megaladapis* et *Pachylemur* (Gommery & Ramanivosoa, 2011). Au total, de 1970 à 2016, les populations d'oiseaux, de reptiles, d'amphibiens, de mammifères et de poissons ont connu un déclin de 68% d'après l'indice planète vivante (IPV). Cet indice représente l'état d'une partie de la biodiversité à l'échelle mondiale grâce au suivi de quasiment 21 000 populations d'animaux (WWF, 2020). Ce constat amène à ce qui est nommé « la sixième extinction de masse ». La cause de cette extinction massive serait l'Homme à travers différents facteurs tels que la destruction et la fragmentation de l'habitat, la surexploitation des ressources, l'introduction d'espèces exotiques ou encore la diffusion de maladies (Barnosky et al., 2011).

En Belgique, la cause principale de la perte de biodiversité est la conversion des terres notamment pour y réaliser de l'agriculture et de la sylviculture intensives ou encore pour en faire des terrains de construction. Depuis la fin du 19^{ème} siècle, l'utilisation intensive des terres s'est accentuée causant la destruction et la fragmentation des habitats. La biodiversité, victime de ce processus, s'est vue fortement impactée (WWF Belgique, 2020). Pour exemple, les tourbières ont été victimes de cette fragmentation comme sur le Plateau de Saint-Hubert où entre 1770 et 2006, ces milieux ont diminué de 93,8% (Gwenn et al., 2011).

Les milieux tourbeux accueillent énormément d'espèces notamment des Lépidoptères avec le cuivré de la bistorte (*Lycaena helle*) et le nacré de la canneberge (*Boloria aquilonaris*) ou encore des plantes comme le drosera à feuilles rondes (*Drosera rotundifolia*) (Gwenn et al., 2011). En outre, la pollution joue également un rôle important dans ce déclin, notamment en dégradant la qualité biologique des cours d'eau. En effet, le passage vers une agriculture intensive où l'utilisation d'engrais et de pesticides est de mise pour produire plus, a des impacts négatifs sur l'environnement (Schlessler et al., 2020). Par exemple, le ruissellement entraîne des composés dans les eaux de surface, contaminant ainsi les cours d'eau. De plus, de nombreuses espèces consomment des arthropodes ayant été exposés à des pesticides provoquant des effets néfastes sur la reproduction ou encore sur le comportement des individus (Greenpeace, 2015).

Néanmoins, la prise de conscience environnementale a émergé à partir de 1970. L'Homme a ouvert les yeux face à la destruction de l'environnement et a commencé à agir afin de préserver la nature. Très vite, des organisations de défense et de protection de la nature ont vu le jour telles que Greenpeace et le WWF en 1971 (Vrignon, 2012). En 1972 a eu lieu la première conférence des Nations Unies traitant de l'environnement à Stockholm. C'est après cette réunion, qu'une politique environnementale a vu le jour au niveau européen avec le premier « Programme d'action des Communautés européennes en matière d'environnement » en 1973 (Meyer & Poncharal, 2012). Celui-ci avait pour objectif d'améliorer la qualité de vie et l'environnement ainsi que les conditions de vie des populations via la mise en place par exemple de mesures visant à réduire la pollution et les nuisances (European Commission, 2000). A l'échelle mondiale, nous pouvons citer l'IPBES et le GIEC qui réalisent des rapports respectivement sur l'état de la biodiversité et l'évolution climatique.

L'ensemble des actions réalisées depuis cette prise de conscience a permis de venir en aide à bon nombre d'espèces, bien que cela ne soit pas suffisant au vu du déclin toujours actuel de la biodiversité. En effet, de multiples programmes de conservation et plans d'action ont vu le jour pour permettre la sauvegarde de la biodiversité. Parmi ceux-ci, des projets LIFE Nature comme le LIFE Herbage pour la restauration des pelouses et prairies à haute biodiversité en Lorraine belge et en Ardenne méridionale. De plus, des projets sont également réalisés par des organismes comme le WWF avec son projet de conservation des forêts dans la province de Mai-Ndombé (Congo). Cela permet à certaines espèces, qui avaient quasiment disparu, de faire leur retour.

2. Le retour de trois prédateurs majeurs en Belgique

La Belgique a vu disparaître de son territoire plusieurs espèces historiquement présentes. Suite à la mise en place de mesures de conservation et de protection, certaines d'entre elles font leur retour via un processus de recolonisation. En effet, l'octroi du statut d'espèce protégée, l'interdiction de certaines pratiques telles que les primes de destructions, le bannissement de certains composés comme le pesticide DDT ou encore la réintroduction d'individus sont autant de facteurs permettant d'augmenter les chances de retour d'une espèce.

2.1 Le faucon pèlerin (*Falco peregrinus*)

Les populations de faucons pèlerins (*Falco peregrinus*) ont largement diminué au début du 20^{ème} siècle en Belgique. Le dernier couple nicheur avait disparu en 1973. Ce rapace a été chassé durant la guerre afin de protéger les pigeons apportant les messages. Cependant, l'utilisation intensive du DDT est la cause majeure de son déclin (WWF, 2020). Il s'agit d'un pesticide excessivement utilisé pour lutter en particulier contre les moustiques vecteurs du paludisme entre 1950 et 1970 et qui a la capacité de s'accumuler tout au long de la chaîne trophique. La contamination se réalise lorsque le faucon consomme ses proies qui ont elles-mêmes été exposées. Cette substance provoque un amincissement de la coquille, et donc fragilise les œufs qui se cassent alors facilement, causant la perte de nombreux œufs. Le succès de reproduction s'en retrouvait par conséquent fortement diminué (Cooper, 2007). A la suite de ce constat, diverses actions ont vu le jour : l'espèce a été protégée par l'annexe II de la convention de Berne de 1979 et l'annexe I de la Directive européenne 79/409/CEE, également appelée « Directive Oiseaux », visant à protéger des espèces d'oiseaux sauvages, le DDT a été interdit et des nichoirs ont été installés notamment par le programme « Faucons pour tous » ou encore la ville de Gembloux (Legrand, 2019; Parc Naturel Régional des Ballons des Vosges, 2012). Ces actions ont permis le retour du faucon pèlerin depuis les années 1990 avec aujourd'hui plus de 200 couples en Belgique (WWF Belgique, 2020).

2.2 Le loup (*Canis lupus*)

Un second exemple est le loup (*Canis lupus*). Ce carnivore possédait une vaste aire de répartition dans le monde, il était présent dans tout l'hémisphère nord. Il a disparu de Belgique durant le 19^{ème} siècle, le dernier individu connu ayant été tué en 1897 (Natagora, 2017). Dû à l'image diabolique qu'on donnait à ce prédateur dans certains textes ou encore dû aux attaques de celui-ci sur les troupeaux, l'Homme a persécuté ce canidé. Par conséquent, le braconnage (empoisonnement, piégeage, tir) a diminué les populations. Néanmoins, l'exode rural, ainsi que la protection de l'espèce par la convention de Berne de 1979 ont permis son retour (Schockert et al., 2020). C'est ainsi que la louve Naya a été aperçue, dans la province du Limbourg en 2017, et depuis lors d'autres loups ont été observés (WWF Belgique, 2020). Notons que Naya aurait été victime de braconnage en 2019, ce qui prouve que les conflits entre l'Homme et le loup sont encore présents et qu'il est important de continuer les actions en sa faveur (Schockert et al., 2020).

2.3 La loutre d'Europe (*Lutra lutra*)

Enfin, la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) était fréquente dans les cours d'eau de Belgique jusqu'à la fin du 19^{ème} siècle. Après quoi, ce mustélide a vu ses populations diminuer. En effet, les pêcheurs n'appréciaient pas la présence de ce prédateur essentiellement piscivore qui leur faisait concurrence en se nourrissant de poissons. Ce conflit avec les pêcheurs a abouti à la mise en place de l'arrêté du 9 juillet 1889 octroyant des primes pour la capture ou la destruction d'un individu (Beslagic & Delaigue, 2017). Au total, 2 068 loutres ont été tuées en Belgique entre 1889 et 1895 soit 20% de la population existante (Rosoux & Lemarchand, 2019). D'autres primes de ce type ont vu le jour jusqu'à ce que la chasse ne soit plus autorisée en 1973. Notons que les populations de poissons étaient déjà impactées par la pollution. Par exemple, l'usine de Tack à Flawinne a contaminé la Sambre et la Meuse avec ses rejets en 1890 provoquant la mort de milliers de poissons (Beslagic & Delaigue, 2017).

De plus, la pollution des eaux a également contribué à son déclin. En effet, l'industrialisation prenant de l'ampleur à la fin du 19^{ème} siècle et début du 20^{ème} siècle, énormément de rejets dans les cours d'eau ont eu lieu, comme cité précédemment avec l'usine de Tack. Par conséquent, la faune piscicole est impactée mais aussi leurs prédateurs.

Des métaux lourds tels que le plomb, le cadmium et le mercure ou encore des contaminants organiques comme les polychlorobiphényles (PCBs), accumulés dans les tissus gras des poissons, étaient et sont toujours responsables d'intoxications chez les loutres d'Europe (Beslagic & Delaigue, 2017; Hugla et al., 1998). Pour exemple, Boscher et al. (2010) ont montré que la concentration totale en PCBs chez le barbeau, l'anguille et le chevesne à Wallendorf (Our) dépassait, pour chacun, la limite létale pour la loutre, à savoir 145 ng/g de poids frais (P.F.).

Néanmoins, la mise en place de différents statuts de protection (Annexe II de la convention de Berne de 1979, Annexe II et IV de la Directive habitats, ...) mais également de projets de conservation tels que le projet « LIFE loutre : restauration des habitats de la loutre (Belgique et Luxembourg) » ou encore le « Plan loutre en Wallonie et au Grand-Duché du Luxembourg » ont permis à la loutre de faire sa timide réapparition depuis 2012 en Flandre. En Wallonie, elle ne semble jamais avoir disparu mais reste rarissime. Cependant, la qualité biologique des cours d'eau en Belgique joue un rôle important dans cette recolonisation. En effet, la loutre du fait de son statut de super-prédateur est fortement exposée à la pollution. Ce pourquoi, évaluer la qualité des cours d'eau belges est primordial pour déterminer les zones potentiellement problématiques, ou au contraire, propices à son retour (Rosoux & Lemarchand, 2019).

3. Présentation de l'espèce

3.1 Taxonomie et phylogénie

La loutre d'Europe également appelée loutre européenne (*Lutra lutra*) est un mammifère carnivore appartenant à la famille des Mustélidés et à la sous-famille des Lutrinés. Celle-ci comporte 13 espèces contenant trois lignées évolutives différentes qui auraient divergé il y a environ 11 à 14 Ma durant le Miocène (Pigneur et al., 2018). La première lignée contient la loutre de mer (*Enhydra lutris*) ainsi que les genres *Amblonyx*, *Aonyx*, *Hydrictis*, *Lutra* et *Lutrogale*. La seconde, le genre *Lontra* et la dernière est uniquement représentée par la loutre géante d'Amazonie (*Pteronura brasiliensis*) (figure 1) (Rosoux & Lemarchand, 2019)

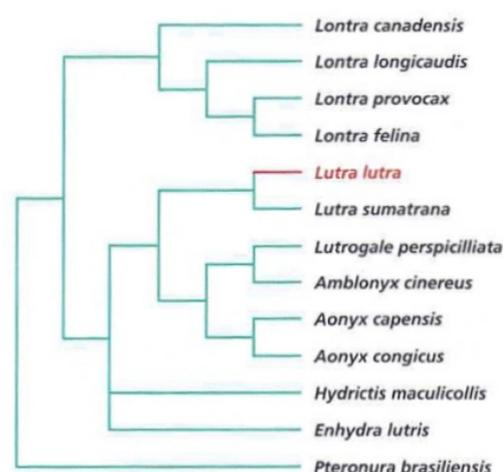


Figure 1 : Arbre phylogénétique des Lutrinés (Rosoux & Lemarchand, 2019).

La loutre d'Europe fait partie du genre *Lutra* apparu entre 5,3 et 3,4 Ma durant le Pliocène. Bien que l'apparition de l'espèce *Lutra lutra* ne soit pas précisément connue, on suppose que celle-ci date d'au moins 10 000 ans. En effet, les données les plus anciennes récoltées en Europe datent d'il y a dix millénaires, durant l'Holocène (Rosoux & Lemarchand, 2019). Au cours du dernier maximum glaciaire, une grande partie des populations de loutres d'Europe se sont éteintes à cause d'un appauvrissement des ressources alimentaires. Au terme de la période glaciaire, la loutre a pu commencer à étendre progressivement son aire de répartition à partir de populations relictuelles installées dans des zones de refuge glaciaire, jusqu'à coloniser la majeure partie de l'Europe, il y a 3 000 ans (Pigneur et al., 2018).

3.2 Description et morphologie

La loutre européenne mesure entre 95 et 125 cm de long. La queue représente un tiers de sa longueur totale. Le poids moyen est de 5 à 8 kg pour les femelles et 6 à 12 kg pour les mâles (Olsen, 2013).

C'est une espèce semi-aquatique, elle possède des adaptations morphologiques pour son milieu : son corps allongé lui confère une forme hydrodynamique, ses courtes pattes aux doigts palmés lui permettent de nager et sa queue musclée lui sert de gouvernail pour se propulser et se diriger. De plus, ses petites oreilles arrondies et ses narines se ferment de façon hermétique lors des plongées. Elle est dotée d'un crâne aplati où l'ensemble des organes sensoriels (yeux, narines et oreilles) sont alignés sur un même plan, ainsi elle reste presque entièrement immergée pour analyser son environnement. Dans la continuité de l'analyse de son faciès, son museau long et large est pourvu de longues vibrisses lui permettant de se mouvoir et de détecter ses proies la nuit ou en eaux troubles (figure 2) (Kuhn, 2009; Lemarchand, 2007; Olsen, 2013).



Figure 2 : Morphologie de la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) (Zoodyssée, 2021).

Enfin, son pelage de couleur brune possède des zones éclaircies au niveau du ventre, du cou et des joues. Sa fourrure dense est composée de poils de bourre et de poils de jarre. Les premiers sont courts et retiennent une fine couche d'air contre la peau, lui octroyant une protection contre le froid en limitant les pertes de chaleur. Les seconds sont épais, longs et très résistants. Ils sont enduits d'une sécrétion provenant des glandes cutanées qui rend le pelage relativement imperméable et améliore l'hydrodynamisme de la loutre (Lemarchand, 2007; Rosoux & Lemarchand, 2019).

3.3 Habitat et comportement

La loutre d'Europe est inféodée aux milieux aquatiques et plus particulièrement aux rivières. Cependant, on la retrouve également dans des fleuves, zones humides, marais, tourbières ou encore en zone côtière. Dans ce dernier cas, il lui est nécessaire de se trouver à proximité d'un point d'eau douce pour se désaltérer et réaliser sa toilette (Rosoux & Green, 2004).

La loutre est un animal solitaire, hormis lors de la période de reproduction, et territorial. La taille du territoire varie en fonction du sexe, car, les femelles occupent généralement un domaine vital plus restreint comparé à celui des mâles. De plus, le territoire d'un mâle peut englober celui de plusieurs femelles. En moyenne, il s'étend de 5 à 20 km le long d'un cours d'eau pour les femelles et de 20 à 40 km pour les mâles (Lemarchand, 2007; Life loutre, 2011).

Le choix ainsi que l'étendue du territoire dépendent de la disponibilité en proies et en gîtes. En effet, la loutre utilise de nombreux sites différents pour se reposer, se mettre à l'abri ou encore pour la mise-bas. Les zones de repos sont principalement à l'air libre dans de la végétation dense, des ronciers ou encore des monticules de bois. Les abris sont particulièrement utilisés dans les lieux où la présence de l'Homme est importante. Ils sont composés d'anciens terriers, de cavités rocheuses ou encore de racines d'arbres rivulaires. La mise-bas et l'élevage des loutrons se réalisent dans un abri appelé « catiche » (figure 3). Celle-ci comporte deux entrées, une située sous le niveau du cours d'eau et une autre qui émerge du sol (Life loutre, 2011; Nederlandt et al., 2011).

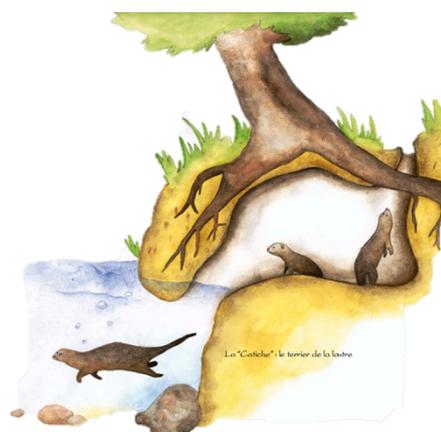


Figure 3 : Catiche de la loutre d'Europe (Agence parole de bois, 2004).

Par ailleurs, la délimitation de ce territoire se réalise par marquage urinaire et à l'aide de fèces appelées « épreintes ». Ces dernières sont déposées à des endroits stratégiques tels que des ponts, des troncs d'arbres ou encore des zones de confluence de sorte à se démarquer du paysage. Ce marquage est aussi un moyen de communication entre les loutres puisqu'il donne des informations sur le sexe, l'âge et l'état de réceptivité sexuelle de l'individu (Kuhn, 2009; Lemarchand, 2007).

Dotée d'un mode de vie nocturne et crépusculaire, la loutre est active durant toute l'année. Cette phase d'activité serait une conséquence de la pression anthropique dont elle est victime. En effet, considérée comme animal de vénerie au 18^{ème} siècle et faisant l'objet de primes de destruction à la fin du 19^{ème} siècle et début du 20^{ème} siècle, elle a longtemps été traquée et chassée. Ces événements auraient instauré une crainte envers l'Homme chez le mustélide cherchant dès lors à l'éviter (Beslagic & Delaigue, 2017; Rosoux & Lemarchand, 2019). Notons aussi que la nuit, les poissons sont moins actifs à cause du manque d'oxygène, les rendant plus vulnérables (Rosoux & Lemarchand, 2019). Néanmoins, elle est active la journée dans de nombreuses zones côtières (Irlande, Grande-Bretagne, Scandinavie, ...) mais également là où la densité humaine est réduite (Olsen, 2013; Rosoux & Green, 2004).

3.4 Alimentation

La loutre d'Europe se situe en haut de la chaîne trophique aquatique avec un régime piscivore opportuniste. En effet, les poissons constituent 50 à 90% de ses proies. De manière générale, elle se nourrit d'individus de petite taille qui sont les plus abondants et faciles à attraper. Afin d'assurer ses besoins énergétiques, elle consomme en moyenne 10 à 15% de son poids par jour soit 600 à 1200 g/jour (Kuhn, 2009; Lemarchand et al., 2016).

Du fait de son caractère opportuniste, elle complète son alimentation par des crustacés, des batraciens, des petits mammifères, des reptiles, ... Son régime alimentaire varie en fonction de la disponibilité en proies, des saisons et du lieu (Mittermeier & Wilson, 2009). En Finlande, durant l'hiver, les proies favorites de la loutre sont les amphibiens en hibernation. En présence de végétation riveraine ou lacustre, la proportion de poissons augmente dans l'alimentation de la loutre contrairement aux zones dépourvues de végétation où elle diminue (Krawczyk et al., 2016). Enfin, en Méditerranée, ce sont les insectes et reptiles qui sont favorisés. Leur proportion dans l'alimentation de la loutre évoluera avec l'assèchement des cours d'eau (Clavero et al., 2003).

En général, la loutre chasse à vue en capturant les poissons par-dessous ou par-derrière. De cette manière, le mustélide attaque ses proies dans leur angle mort profitant ainsi de l'effet de surprise pour les attraper. La nuit, ses longues vibrisses lui permettent de détecter les individus en fonction des ondulations de l'eau. Par ailleurs, le fait de se maintenir à la surface de l'eau le temps d'ingérer sa proie est très énergivore pour la loutre. Par conséquent, les petits individus seront consommés dans l'eau tandis que les grosses proies seront ramenées sur la berge (Rosoux & Lemarchand, 2019).

3.5 Reproduction

La loutre a la capacité de se reproduire tout au long de l'année. Toutefois, des tendances peuvent s'observer en fonction des zones géographiques. En effet, dans les régions tempérées d'Europe, le nombre de naissances tend à augmenter durant le printemps (Rosoux & Green, 2004). Cependant, la reproduction dépendra principalement de la disponibilité en gîtes et en proies (Lemarchand & Bouchardy, 2010). La femelle atteint sa maturité sexuelle lors de ses deux-trois ans tandis que le mâle est mature après un an et demi. Ce dernier évalue la réceptivité sexuelle de la femelle grâce aux sécrétions vaginales et épreintes que celle-ci dépose sur son territoire. La gestation dure de 60 à 62 jours et en moyenne un à trois loutrons voient le jour (Hunter & Barrett, 2012; Lemarchand, 2007).

C'est au sein d'une catiche que la femelle met bas et élève ses jeunes. L'apprentissage est relativement long, bien que leur croissance soit rapide. En effet, bien qu'il s'agisse d'animaux adaptés à la vie aquatique, la nage n'est pas une compétence acquise, de même que la chasse qui leur seront apprises par leur mère. Après 4 mois, les loutrons sont sevrés et leur émancipation a lieu à l'âge de 8-10 mois. Après quoi, ils partent à la recherche d'un territoire où s'installer (Lemarchand & Bouchardy, 2010).

L'espérance de vie est de 4 à 5 ans à l'état sauvage contre environ 15 ans en captivité. La mortalité est élevée tant chez les juvéniles que chez les adultes. En Europe occidentale, les accidents de la route sont une cause importante de mortalité. D'après une étude de suivi après réintroduction réalisée aux Pays-Bas, les mâles sembleraient plus touchés par les véhicules avec 22 mâles sur 41 morts, soit 54%, sur les routes contre 9 femelles sur 43, soit 21% (Koelewijn et al., 2010). De par cette espérance de vie relativement courte et d'une maturité sexuelle tardive, les femelles auront en moyenne peu de portées durant leur vie, de l'ordre d'une à trois en moyenne (Lemarchand, 2007).

3.6 Aire de répartition passée et présente

L'aire de répartition originelle de la loutre d'Europe est relativement large. En effet, elle s'étend du nord de l'Europe à la Russie de l'est et la Chine du sud. On la retrouve également plus au sud, en Inde, en Afrique du Nord, au Sri Lanka et à Sumatra (Hunter & Barrett, 2012). Ceci témoigne de sa grande capacité d'adaptation face à différentes conditions environnementales. Cependant, cette vaste aire de distribution s'est contractée surtout en Europe occidentale, depuis 1950. De nombreuses causes sont à l'origine de ce constat : le piégeage, la destruction de l'habitat de la loutre, la pollution, etc. Par conséquent, il y a énormément de secteurs où la loutre est maintenant absente ou présente mais en faibles effectifs. Pour exemple, en Italie, la loutre d'Europe était autrefois présente dans tout le pays, mais à l'heure actuelle, seule une petite population subsiste dans le sud du pays (Nederlandt et al., 2011; Rosoux & Lemarchand, 2019).

Concernant la Belgique, jusqu'au 19^{ème} siècle, la loutre européenne était présente dans l'entièreté du pays ainsi qu'au nord et au centre du Grand-Duché du Luxembourg. Suite à l'arrêté royal du 9 juillet 1889 qui a mis en place un système de prime pour la destruction des loutres, celles-ci ont été décimées. En effet, en seulement 6 ans et demi (1889-1895), 2 068 loutres ont été tuées (Libois & Hallet, 1995). Le Grand-Duché du Luxembourg a suivi les traces de la Belgique en instaurant en 1893 ces primes de destruction. Ces dernières ont pris fin dans les années 1960 au Grand-Duché et en 1963 en Belgique (Libois & Hallet, 1995; Nederlandt et al., 2011).

Actuellement, au niveau mondial, la loutre est présente en Europe, Afrique du Nord et dans certaines zones d'Asie (figure 4). En Europe, certains pays accueillent de grandes populations de loutres tels que la Finlande, la Norvège, la Lettonie, le Portugal ou encore les îles britanniques. D'autres montrent une tendance à l'amélioration tels que la Suède, la France, la Suisse, l'Autriche et les Pays-Bas.

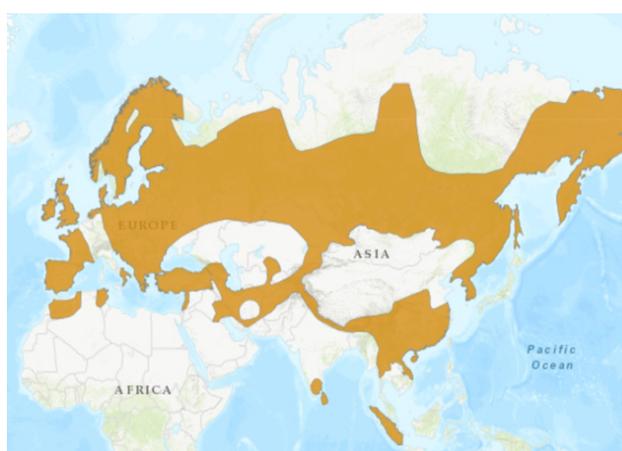


Figure 4 : Répartition de la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) (Roos et al., 2015).

Notons que pour ce dernier, la population de loutres s’est formée suite à une réintroduction d’individus provenant des Pays Baltes et d’Europe centrale (Ozoliņš et al., 2018). En Belgique, la loutre d’Europe a de nouveau été observée pour la première fois en Flandre en 2012 alors qu’elle avait disparu de cette région depuis la fin des années 1980. En Wallonie, le dernier individu a été observé en janvier 2020 dans la vallée de l’Ourthe occidentale. Bien qu’elle soit présente en Ardenne et en Famenne, rares sont les observations. Des journées de prospection ont lieu afin de récolter des épreintes ou repérer des empreintes apportant des informations quant à la présence de ce mustélide. Cependant à l’heure actuelle, peu d’indices de présence ont été récoltés. Dès lors, la densité d’individus présents en Belgique est difficile à estimer (Life loutre, 2011; Rosoux & Lemarchand, 2019).

3.6.1 Potentiel de recolonisation en Belgique

La Belgique, plus précisément la Wallonie, et le Grand-Duché du Luxembourg sont situés au centre d’un potentiel couloir de dispersion permettant de relier les populations hollandaises, françaises et allemandes de loutres (Reuther, 2004). Ces dernières pourraient passer par les Pays-Bas et le bassin de la Meuse, et remonter ses affluents (B sur la figure 5). Les populations présentes dans le massif central quant à elles auraient la possibilité de remonter la Seine et la Meuse (Nederlandt et al., 2011). Le projet LIFE-Nature « Restauration des habitats de la loutre » a d’ailleurs vu le jour en 2005. Celui-ci concernait notamment la Wallonie et le Grand-Duché du Luxembourg, et incluait les bassins hydrographiques de l’Our, la Sûre et l’Ourthe. Ce projet avait pour but d’améliorer le réseau écologique afin d’en faire des lieux propices à la loutre d’Europe (Life loutre, 2011).

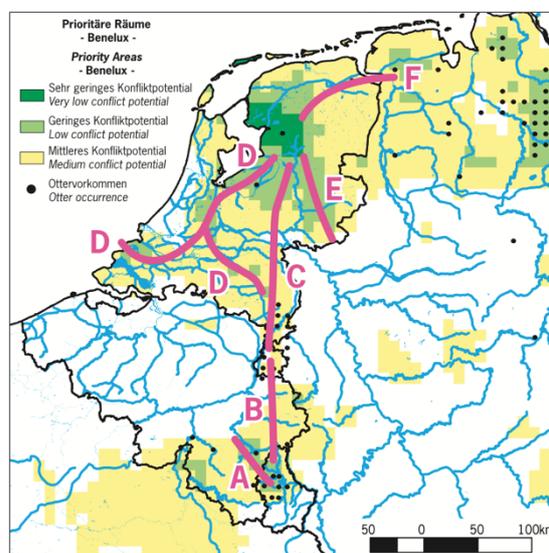


Figure 5 : Couloir de recolonisation via l’Allemagne, les Pays-Bas, le Luxembourg et la Belgique (Reuther, 1995, 2004).

3.7 Statut de protection et conservation

Au niveau international, la loutre d'Europe est inscrite en Annexe I dans la Convention de Washington traitant du commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction (CITES) de 1973. Cela signifie que la loutre est une espèce quasi menacée d'extinction et donc son commerce et/ou son transport sont interdits. A l'échelle européenne, elle figure à l'Annexe II de la Convention de Berne de 1979 signifiant qu'il s'agit d'une espèce strictement protégée. De plus, elle est intégrée aux Annexes II et IV de la Directive 92/43/CEE, plus communément appelée « Directive Habitats-Faune-Flore », au sujet de la conservation des habitats naturels, de la faune et de la flore. Notons par ailleurs que d'autres textes sont indirectement en sa faveur. Pour exemple, la Convention de Ramsar permet la protection des zones humides qui est l'un des habitats privilégiés de la loutre (Kuhn, 2009; Rosoux & Lemarchand, 2019).

En Région Wallonne, la chasse de ce mustélide est interdite depuis 1973 et le statut d'espèce protégée lui a été accordé en 1983. Elle est mentionnée dans l'Annexe 2a de la loi de la Conservation de la Nature où sont indiquées plusieurs interdictions telles que la capture et la mise à mort, la perturbation intentionnelle de l'espèce ou encore la destruction ou la détérioration de sites de reproduction (Biodiversité Wallonie, 2017; Nederlandt et al., 2011).

Enfin, le statut de conservation octroyé en 2014 par la Liste Rouge mondiale de l'UICN est celui d'« espèce quasi menacée » (Roos et al., 2015). Par contre, dans la Liste Rouge de l'UICN des espèces menacées en France de 2017, elle est répertoriée en « préoccupation mineure » (UICN France, 2017). Afin de conserver cette espèce, de nombreux projets ont vu le jour tels que le plan national d'actions en faveur de la loutre d'Europe en France, le projet LIFE loutre ou encore le plan loutre en Wallonie et au Grand-Duché du Luxembourg. Notons que ces actions de conservation et restauration de l'habitat en faveur de ce mustélide sont également bénéfiques à toute une série d'autres espèces. En effet, la loutre européenne, située en haut de la chaîne trophique est une espèce parapluie (Kuhn, 2009). Cela signifie qu'en protégeant son habitat, un grand nombre d'espèces inféodées aux milieux aquatiques seront aussi protégées. Par exemple, des espèces de libellules relativement rares telles que l'agrion nain (*Ischnura pumilio*) et l'orthétrum brun (*Orthetrum brunneum*) ont été découvertes dans des mares creusées dans le bassin de la Sûre dans le cadre du projet LIFE loutre (Life loutre, 2011).

3.8 Menaces

De multiples facteurs ont joué un rôle dans le déclin des populations de loutres d'Europe. Ces menaces pèsent soit de manière directe sur l'individu (piégeage, tir, collision routière) soit de façon indirecte en perturbant l'habitat de la loutre (pollution, dégradation et fragmentation de l'habitat) (Rosoux & Lemarchand, 2019).

3.8.1 Destruction et fragmentation de l'habitat

Depuis la seconde moitié du 20^{ème} siècle, le remembrement agricole a peu à peu transformé le paysage dans le but de produire davantage. En Belgique, les petites parcelles ont été remplacées par des champs de grande taille. Ceux-ci étaient drainés et les zones humides ont donc été détruites de même que les haies qui étaient considérées comme des obstacles à l'extension des champs. Notons aussi que les viories mais également les cours d'eau ont vu leur tracé adapté à ces transformations. Ceci a conduit à des paysages homogènes accompagnés d'une perte de biodiversité (Meganck, 2013).

Ensuite, le développement de l'agriculture a comme conséquence l'augmentation de l'érosion des sols provoquant des coulées boueuses dégradant la qualité des eaux. De plus, le pâturage du bétail au bord du cours d'eau détériore les berges formant alors un amas boueux pouvant colmater les frayères (Kuhn, 2009).

Enfin, la forme des cours d'eau a été fortement modifiée afin de tendre vers un tracé rectiligne réduisant l'hétérogénéité de l'environnement. Notons également que l'artificialisation des berges à l'aide de blocs de pierre ou de béton au détriment d'une végétation rivulaire contribue aussi à cette perte de diversité (Nederlandt et al., 2011).

L'ensemble de ces éléments participe à la dégradation et la fragmentation des habitats propices à la loutre d'Europe. Par conséquent de manière indirecte, ces facteurs rendent plus vulnérables les populations de ce mustélide puisque la disponibilité en gîte et en ressource alimentaire diminuent (Kuhn, 2009).

3.8.2 Destruction et collision routière

Comme cela a été expliqué au point 3.6, les populations de loutres ont été décimées en Belgique, mais également dans une grande partie de l'Europe, lors de l'instauration des primes de destruction. Depuis l'instauration des statuts de protection, ces actes de mise à mort volontaires sont pratiquement inexistantes.

Néanmoins, des actes de braconnage sont encore recensés, notamment la capture de loutres dans des pièges. Dans ce cas, déterminer si l'acte est volontaire (le piège pouvait viser une autre espèce) ou non est relativement complexe (Kuhn, 2009; Rosoux & Lemarchand, 2019).

En Europe, les collisions routières sont la troisième cause de mortalité de la loutre après la pollution des eaux et la contamination de la chaîne alimentaire suivie de la destruction des habitats. En effet, celle-ci est amenée à traverser des routes dans certains cas de figure, notamment face à un pont. Par exemple, le mustélidé sera dissuadé de passer sous la structure lorsque le débit de la rivière est trop important, lorsqu'il y a une chute après l'ouvrage ou encore lorsque l'air disponible sous le pont n'est pas suffisant (lorsqu'il n'y a plus de berges sous l'ouvrage sur lesquelles l'animal pourrait se déplacer). Cette prise de risque sera d'autant plus grande en période de crue (Lafontaine & Liles, 2005). En Bretagne, le Réseau Loutre du Groupe Mammalogique Breton a recensé 200 loutres tuées sur les routes entre 1983 et 2012, dont 110 entre 2002 et 2012. Ce chiffre est relativement conséquent à l'échelle des populations régionales (Simmonet, 2013). Néanmoins, ce constat peut être biaisé par le fait qu'il est plus aisé de retrouver des individus au bord des routes que dans un marais par exemple (Rosoux & Lemarchand, 2019). Ces infrastructures routières représentent un obstacle à la colonisation d'autres milieux et accroissent la fragmentation de l'habitat (Nederlandt et al., 2011).

3.8.3 Pollution

La loutre européenne, en considérant son statut de super-prédateur avec un régime alimentaire opportuniste, est considérablement exposée à la pollution (Leonards et al., 1997). En effet, certains polluants sont accumulés le long de la chaîne alimentaire, ce phénomène est appelé la biomagnification (figure 6). Par conséquent, la loutre est susceptible de consommer des proies contaminées par de nombreuses substances toxiques (Simmonet, 2008). De plus, l'accumulation de polluants dans les tissus sera différente en fonction des espèces. Par exemple, les anguilles (*Anguilla anguilla*) seront 2,2 fois plus contaminées que les truites (*Salmo trutta fario*) et ces dernières 1,4 fois plus que les vairons (*Phoxinus phoxinus*) (Lafontaine & Felipe de Alencastro, 1999).

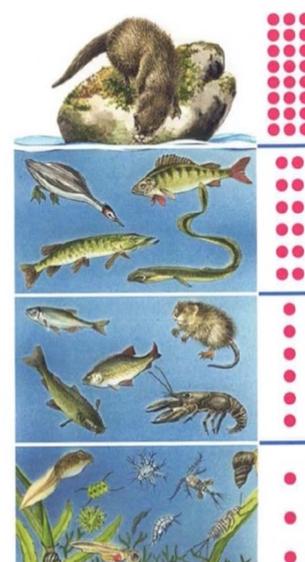


Figure 6 : Accumulation des contaminants le long de la chaîne trophique (Rosoux & Lemarchand, 2019).

Cette pollution a différentes origines, elle peut être agricole, domestique ou encore industrielle. Ses effets varient dans le temps, les catastrophes brutales peuvent provoquer la mortalité d'énormément de loutres ou encore de leurs proies. Par exemple, l'effondrement d'une digue d'un bassin de décantation où se trouvaient des eaux de lavage pour les betteraves, à Escaudroeuvres en France en 2020, a causé énormément de dégâts dans l'Escaut, où environ 50-100 tonnes de poissons sont morts (Wallonie, 2020). Cependant, ces cas sont très rares et la pollution chronique est la plus fréquente. En effet, certains composés sont persistants, ils se retrouvent alors de manière durable dans les cours d'eau. Par conséquent, les proies et l'habitat de la loutre sont contaminés et celle-ci pourrait accumuler ces polluants dans ses tissus tout au long de sa vie. Notons que ces composés peuvent être transmis aux loutrons via le lait maternel (Gutleb & Kranz, 1997; Rosoux & Lemarchand, 2019).

Les polluants fréquemment retrouvés dans les tissus (foie, reins, muscles, ...) de loutres sont des xénobiotiques appartenant à la famille des « Polluants Organiques Persistants » (POP) c'est-à-dire qu'ils sont présents en grande quantité dans l'environnement, persistants car ils possèdent une longue demi-vie leur conférant une grande rémanence (Simmonet, 2008). Il s'agit notamment des polychlorobiphényles (PCBs), des pesticides organochlorés (lindane, dieldrine, aldrine, DDT) ou encore des polybromodiphényléthers (PBDEs). Notons que des métaux lourds comme le mercure, le cadmium ou encore le nickel sont aussi retrouvés chez la loutre d'Europe, mais ceux-ci ne feront pas l'objet de cette étude (Boscher et al., 2010; Brand et al., 2020).

La loutre européenne sera contaminée soit via son alimentation en ingérant des proies contaminées, soit via l'eau souillée lors de sa toilette par exemple. De plus, lors des périodes difficiles comme des températures très basses ou encore lorsque la nourriture vient à manquer, le mustélide doit puiser dans ses réserves énergétiques libérant ainsi les composés liposolubles. Par conséquent, les substances toxiques stockées se retrouvent à nouveau dans la circulation sanguine pouvant alors provoquer des effets toxiques importants (Rosoux & Lemarchand, 2019; Simmonet, 2008). Enfin, le niveau d'exposition dépendra de différents facteurs tels que l'âge, le sexe et le type de composé (Lemarchand, 2007). Les effets de ces différents composés sont multiples. Ils peuvent causer une perte de poids, altérer la croissance des individus, diminuer la capacité de reproduction ainsi que le nombre de jeunes ou encore réduire l'espérance de vie de la loutre (Rosoux & Lemarchand, 2019; Simmonet, 2008).

Bien que certaines substances soient aujourd'hui interdites, beaucoup sont encore présentes dans l'environnement. De plus, de nouveaux composés toxiques arrivent sur le marché régulièrement et leurs effets ne sont pas forcément connus. Par conséquent, la pollution peut jouer un rôle important dans la dégradation de nos écosystèmes mais également dans le déclin des populations de loutres d'Europe (Simmonet, 2008).

4. Choix des polluants

Comme expliqué précédemment, une multitude de xénobiotiques sont présents dans notre environnement. Pour ce travail, le choix des polluants s'est établi sur base de la littérature.

4.1 Polychlorobiphényles (PCBs)

Parmi ces composés, il y a tout d'abord les PCBs, des composés organochlorés produits en grande quantité notamment dans des mélanges dénommés Aroclor (Aroclor 1242, 1248, 1254, ...). Ils ont été principalement utilisés dans la fabrication de plastiques, de peintures, de caoutchoucs ou encore dans les carburants (Bisson et al., 2005). Malgré l'arrêté royal du 9 juillet 1986 en Belgique, réglementant l'utilisation des PCBs et interdisant notamment de les fabriquer ou encore de les employer, ceux-ci sont toujours présents dans l'environnement (Dufour et al., 2021; Environnement Wallonie, 1999). Cette persistance dans le milieu provient de leurs propriétés physico-chimiques. En effet, il existe 209 congénères différents dans cette famille en fonction du nombre et de la position des atomes de chlore. Plus il y aura d'atomes de chlore, plus la structure sera stable dans l'environnement et moins elle sera soluble. Cependant, les PCBs sont liposolubles et se retrouvent donc rapidement dans les lipides des organismes (ex : foie, tissus graisseux, cerveau, ...) où il faudra dès lors plusieurs années avant qu'ils ne soient éliminés (Abbes et al., 2010; Poidevin & Squilbin, 2005). Mackay et al. (1992) ont proposé des valeurs de temps de demi-vie des PCBs dans l'eau et les sédiments allant de 0,67 an à 6 ans selon le congénère (Brignon, 2012).

Leurs effets sur la loutre d'Europe sont divers. Cela peut provoquer des problèmes dans le métabolisme de la vitamine A, des difficultés de reproduction, des troubles neurologiques, une déficience immunitaire voire la mort dans le cas de fortes concentrations (Smit et al., 1994). Divers auteurs ont tenté d'établir différents seuils de contamination notamment celui à partir duquel la loutre rencontre des difficultés de reproduction ou encore le seuil léthal.

D'après Macdonald et Mason (1992), le niveau de contamination ne causant aucun effet est inférieur à 26 ng/g de poids frais et le seuil critique pour la reproduction est supérieur à 50 ng/g. Tandis que l'étude menée par Leonards et al (1994) propose un niveau sans effet inférieur à 145 ng/g de poids frais et le seuil critique pour la loutre à plus de 371 ng/g. Néanmoins, l'étude menée par Lafontaine et De Alencastro (1999) a démontré que les loutres disparaissent lorsque la concentration en PCBs est supérieure à 145 ng/g de poids frais chez les poissons (Lafontaine & Felipe de Alencastro, 1999). Notons qu'il est difficile de comparer ces études puisque les méthodes d'analyse, le choix des tissus (foie, muscles, graisse, ...) ou encore l'expression des résultats (poids frais, poids lipidiques, ...) varient (Smit et al., 1994). Par conséquent, la concentration moyenne de 50 ng/g de P.F. représentera le seuil critique au-delà duquel surviennent des problèmes liés à la reproduction et la concentration moyenne de 145 ng/g de P.F. comme concentration critique au-dessus de laquelle la survie de la loutre d'Europe est compromise.

Différentes études basées sur l'impact des PCBs sur la loutre ont eu lieu. A titre d'exemple, une étude menée au Luxembourg en 1994, basée sur la contamination des barbeaux, des anguilles et des chevesnes, a montré des concentrations en PCBs variant de 40 à 3 500 ng/g de poids frais. Parmi ces résultats, 50% seraient au-dessus de la limite de 500 ng/g instaurée par Weber en 1990 et considérée comme très dangereuse pour la survie de la loutre d'Europe (Boscher et al., 2010; Hugla et al., 1998). Une autre étude, basée sur 20 carcasses de loutres, réalisée dans la Loire en France en 2010, a montré que la contamination par les PCBs est dominante par rapport aux autres composés. Les résultats variaient entre 3 500 ng/g et 64 800 ng/g de poids lipidique (Lemarchand et al., 2010). Ces exemples prouvent la diversité d'analyses possibles ainsi que des méthodes employées pour déterminer la concentration des polluants chez la loutre.

Notons aussi qu'il est avéré que les PCBs peuvent agir de façon additive avec d'autres composés notamment avec les PBDEs (voir 4.5).

Dans le cadre de cette étude, six congénères PCBs, appelés PCBs traceurs, seront analysés. Il s'agit des congénères 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180 (annexe 1). Ces composés sont abondants et persistants dans l'environnement. Ils représentent plus de 50% des PCBs totaux retrouvés dans la graisse, la chair, le sang ou encore les sédiments, faisant d'eux de bons indicateurs de contamination (Brignon, 2012).

4.2 Dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT)

Le DDT est un insecticide organochloré, massivement utilisé contre les moustiques, en particulier, pour lutter contre les insectes vecteurs du paludisme mais également de manière plus générale, en agriculture pour éliminer les insectes. Depuis les années 1970, il a été interdit en Belgique à cause de ses effets néfastes sur l'environnement notamment en causant une diminution du taux d'éclosion chez les oiseaux ou en réduisant l'épaisseur des coquilles. De ce fait, énormément de mortalité ont eu lieu lors de la couvaison puisque les œufs étaient écrasés (Lemarchand, 2007). De manière générale, le DDT occasionne des problèmes au niveau du foie ou encore du système endocrinien notamment au niveau de la reproduction (infertilité, avortements, ...). Une fois stocké, il est difficilement excrété car il s'agit d'un composé liposoluble, se fixant dans les tissus adipeux, très persistant dont la durée de demi-vie varie de 4 à environ 30 ans (Levet et al., 2008).

De plus, le dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE) et le dichlorodiphényldichloroéthane (DDD) sont des produits de la décomposition du DDT qui ont des propriétés chimiques similaires à ce dernier (Lemarchand et al., 2011). Ces métabolites n'ont pas été utilisés pour lutter contre les insectes mais leur présence indique une ancienne exposition au DDT (Lemarchand, 2007). Tout comme les PCBs, ils s'accumulent et se biomagnifient le long de la chaîne trophique et sont retrouvés en grande quantité chez les prédateurs (Deribe et al., 2013).

Concernant le cas de la loutre, différentes études discutant des DDT, souvent en lien avec les PCBs, ont été publiées. Par exemple, l'étude de Lemarchand et al. (2011) sur la Loire a montré que du DDT ou ses métabolites étaient détectés dans toutes les analyses réalisées sur des corps de loutres. Le DDE était le plus abondant, en particulier chez les adultes avec un total de 2 010 ng/g de poids lipidiques. Le fait que les métabolites soient les plus abondants par rapport au DDT est logique puisque l'utilisation de DDT a été interdite et soumise à restriction (Lemarchand et al., 2011). Notons que les seuils sont les mêmes que ceux octroyés aux PCBs c'est-à-dire que les concentrations sont acceptables jusqu'à 10 000 ng/g de poids lipidique mais à partir de 50 000, ng/g de poids lipidique cela devient problématique pour la reproduction (Mason & Macdonald, 1994). Une étude menée par Weber (1990), cette fois basée sur le poids frais des poissons, a indiqué comme quantité acceptable, une teneur maximale en DDT et ses métabolites de 50 à 500 ng/g de poids frais de poissons (Jacquet, 2007). Dans ce mémoire, quatre isomères seront analysés, il s'agit du p,p'-DDT, et o,p'-DDT et de ses métabolites p,p'-DDE et p,p'-DDD.

4.3 Pesticides organochlorés : Hexachlorocyclohexane (HCH)

Le lindane (γ -HCH) est un autre pesticide organochloré persistant utilisé pour lutter contre les rongeurs et les insectes. Son effet est globalement similaire à ce qui a été décrit auparavant c'est-à-dire, une diminution de la fertilité, un dysfonctionnement du système nerveux central et du foie ou encore une diminution de la masse de l'individu. Pour exemple, une étude menée sur des visons d'Europe, qui est une espèce proche de la loutre, a montré une diminution de l'acceptation à l'accouplement de la part des femelles qui ont été nourries durant 6 semaines avec une alimentation contaminée en lindane à 1 mg/kg/jour (Bisson et al., 2005).

Le lindane possède des sous-produits notamment le α -HCH et β -HCH qui sont quant à eux inactifs puisqu'uniquement le γ -HCH est utilisé dans les insecticides. Son temps de demi-vie dans les rivières est d'environ 2 à 30 jours alors que dans les eaux souterraines cela peut s'étendre jusqu'à plus de 300 jours. Dans les sédiments, son temps de demi-vie est d'environ 50 jours contre 15 mois dans les sols. Notons également que sa dégradation dépend du pH et de la température par exemple, à pH 9 et 25°C cela prendra 4 jours contre 42 ans à pH 8 et 5°C (Brignon & Gouzy, 2007b; Lasalle, 2005). En Belgique, tous les produits contenant du lindane sont interdits depuis 2001. De plus, en 2009, le lindane a été ajouté en annexe A de la convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants. Cette annexe contient les produits dont l'utilisation et la production doivent être éliminées (Conseil de l'union européenne, 2009).

Une limite acceptable pour la survie de la loutre, trouvée dans la littérature, est de 100 à 500 ng/g (Jacquet, 2007). Notons que cet insecticide est fréquemment évoqué dans des études au sujet de la loutre mais souvent à des concentrations inférieures au seuil de détection. En effet, dans l'étude menée en 2015 par Alomar et al. sur des foies de loutres d'Europe, 55 individus sur 65 se situaient en dessous du seuil de détection qui est de 1 ng/g de poids lipidique ou 5 ng/g de poids frais (Alomar et al., 2016). Néanmoins, il s'agit du pesticide le plus abondant chez la loutre après le DDT et ses métabolites. Par exemple, l'étude de Lemarchand et al. (2010) a montré une moyenne de 2 060 ng/g de poids lipidique pour le DDT et 450 ng/g pour le lindane (Lemarchand et al., 2010).

Les formes γ -HCH, α -HCH et β -HCH seront analysées au sein de cette étude.

4.4 Hexachlorobenzène (HCB)

L'hexachlorobenzène (HCB) est un fongicide utilisé dans l'agriculture qui a été banni par l'union européenne en 1978. Cependant, il est encore utilisé dans l'industrie notamment pour la production de colorants, de feux d'artifice ou encore dans la fabrication du caoutchouc. Il s'agit d'un composé, peu soluble dans l'eau, qui est stocké dans les graisses. Il peut ensuite être métabolisé en différents métabolites : pentachlorobenzène, tétrachlorobenzène, dichlorobenzène, ... (Bonnomet et al., 2011)

Concernant ses effets, il cause des troubles des fonctions hépatiques comme une augmentation du poids du foie ou encore des troubles endocriniens en particulier au niveau de la thyroïde en diminuant la production des hormones T4, utiles au développement des individus (Bitri et al., 2007). De plus, une étude menée sur le vison d'Europe a démontré que le HCB altérerait la reproduction des individus. En effet, les femelles exposées au HCB dans leur alimentation ont montré une taille amoindrie de leurs portées, une mise-bas précoce et une augmentation de mortalité à la naissance (Bleavins et al., 1984). Il serait donc possible que des troubles similaires apparaissent chez la loutre d'Europe.

La teneur maximale acceptable pour la survie de la loutre est de 1 000 ng/g de poids frais de poissons (Jacquet, 2007).

4.5 Polybromodiphényléthers (PBDEs)

Les polybromodiphényléthers (PBDEs) sont des retardateurs de flamme possédant une structure et un mode d'action similaire à celui des PCBs. En fonction de l'organisation des atomes de brome, différents congénères sont formés. Au total, il en existe 209. Ceux-ci sont mélangés entre eux afin de former des substances commerciales utilisées dans les résines, les adhésifs ou encore les revêtements. Les mélanges commerciaux les plus connus sont le pentaBDE, l'octaBDE et le decaBDE (Environnement Canada, 2013). Le premier sera analysé dans ce mémoire sur base des composés tétrabromodiphényléther (BDE-47) et pentabromodiphényléther (BDE-99) faisant partie de ce mélange (Gouzy, 2013). Le pentaBDE est plus persistant et toxique que le decaBDE et sa durée de demi-vie est estimée à environ 150 jours dans l'eau. En effet, le decaBDE possède plus d'atomes de brome qui sont donc davantage liés contrairement au pentaBDE qui sont plus répartis dans l'environnement (Gouzy, 2013; Nelson et al., 2015).

L'Union européenne a interdit les mélanges commerciaux de pentaBDE et d'octaBDE en 2004. Tandis que le décaBDE fait partie des substances réglementées depuis 2017 (Commission Européenne, 2017). Ces substances, comme celles citées précédemment, sont difficilement dégradables et lipophiles. Elles occasionnent des troubles hépatiques, de la reproduction ou encore des effets néfastes sur la thyroïde en diminuant les hormones T4 (Gouzy, 2013).

Une étude parue en 2015, menée en Angleterre, a détecté des PBDEs dans tous les échantillons de foie de loutres. Le congénère dominant était le BDE-47 avec une moyenne de 2 200 ng/g de poids lipidique. Il représentait 71,5% de l'ensemble des PBDEs. Le congénère BDE-99 était présent à une concentration moyenne de 51 ng/g de poids lipidique (Pountney et al., 2015). Une autre étude réalisée en 2014 au Canada montre également une proportion plus importante de BDE-47 dans ses résultats avec une moyenne de 150 ng/g de poids lipidiques dans les fèces de loutres (Nelson et al., 2015).

4.6 Synthèse des seuils de contamination

Tableau 1 : Seuils de contamination accordés en fonction du polluant, du paramètre mesuré et de la référence.

Polluant	Paramètre mesuré	Concentration ayant un effet	Référence
PCBs	Poids frais de poisson	< 26 ng/g : sans effet > 50 ng/g : problème de reproduction	(MacDonald & Mason, 1994)
		50 ng/g : teneur maximale acceptable pour la survie de la loutre	(Jacquet, 2007)
	Poids frais de poisson (vison d'Europe)	< 145 ng/g : sans effet > 371 ng/g : seuil critique	(Lafontaine & Felipe de Alencastro, 1999)
	Poids lipidique (tissus de loutres)	< 10 000 ng/g : sans effet > 50 000 ng/g : problème de reproduction	(Mason & Macdonald, 1994)
DDT	Poids frais de poisson (vison d'Europe)	2 000 à 3 300 ng/g : problème de reproduction	(Jacquet, 2007)
	Poids frais de poisson	50 – 500 ng/g : teneur maximale acceptable pour la survie de la loutre	(Jacquet, 2007)
	Poids lipidique (tissus de loutres)	< 10 000 ng/g : sans effet > 50 000 ng/g : problème de reproduction	(Mason & Macdonald, 1994)
Lindane	Poids frais de poisson	100 - 500 ng/g : teneur maximale acceptable pour la survie de la loutre	(Jacquet, 2007)
HCB	Poids frais de poisson	1 000 ng/g : teneur maximale acceptable pour la survie de la loutre	(Jacquet, 2007)
PBDEs	-	Aucune valeur indiquée dans la littérature. Cependant, des études montrent une plus grande proportion de BDE-47 dans les analyses.	(Nelson et al., 2015; Pountney et al., 2015)

5. Objectifs du mémoire

Bien que la Wallonie représente un potentiel couloir de dispersion pour relier les populations de loutres d'Europe provenant de France, des Pays-Bas et d'Allemagne, peu d'études ont été réalisées quant à la faisabilité de son retour sur ce territoire. De plus, malgré de nombreux articles traitant de l'impact de différents polluants sur ce mustélidé, peu de données sont disponibles pour la région wallonne. Cependant, il est important de déterminer les lieux propices ou non à cette espèce afin d'établir des mesures de conservation adaptées.

Pour ce faire, différents objectifs ont été établis en collaboration avec le WWF-Belgique. Le premier objectif était de rassembler les informations contenues dans la littérature afin de déterminer les différents seuils de contamination néfastes pour l'espèce.

Le second objectif consiste à analyser les concentrations moyennes d'une sélection de polluants présents dans des poissons collectés dans quatre rivières wallonnes : l'Amblève, la Gueule, la Meuse et l'Ourthe. Sur base des valeurs seuils trouvées dans la littérature, l'objectif sera de déterminer si les concentrations moyennes obtenues peuvent engendrer un impact ou non sur la loutre d'Europe, notamment sur sa reproduction. En effet, dans le cadre d'un potentiel retour dans certaines régions de Wallonie, il est important de déterminer si certains polluants pourraient limiter la reproduction du mustélidé.

Enfin, l'ensemble de ces informations aidera ensuite à proposer des solutions afin d'améliorer la qualité des cours d'eau si cela est nécessaire, et ce afin de permettre le potentiel retour durable de l'espèce.

Matériel et méthodes

1. Échantillonnage

Les poissons utilisés dans cette étude ont été récoltés dans quatre cours d'eau wallons correspondant au potentiel couloir de dispersion identifié au point 3.6.1 : la Gueule, l'Amblève, la Meuse et l'Ourthe via pêche électrique (figure 7). Les individus ont ensuite été euthanasiés à l'aide d'eugénol.

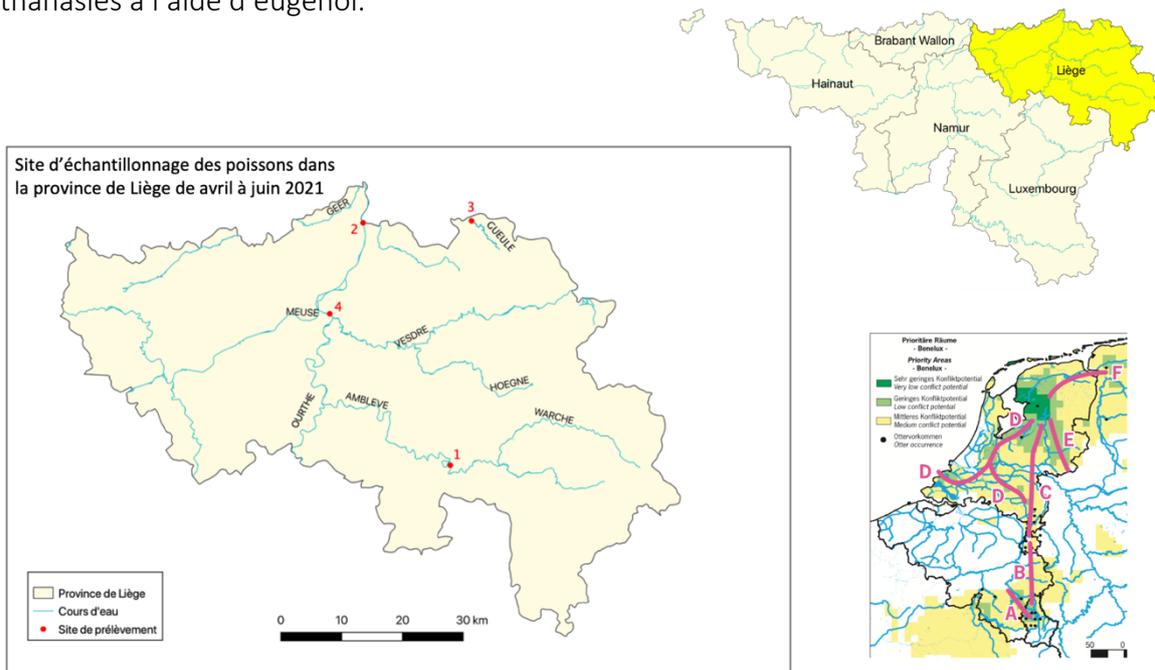


Figure 7 : Localisation de la zone d'étude et des lieux d'échantillonnage.

Afin d'être cohérent avec l'éthogramme de la loutre d'Europe qui est un animal opportuniste, l'espèce la plus abondante de chacun des cours d'eau a été sélectionnée. Le but étant d'obtenir cinq à six individus de la même espèce et d'une taille similaire, par site (tableau 2). Les poissons ont été échantillonnés entre le 1^{er} avril et le 2 juin 2021. L'échantillonnage a été réalisé sous la supervision du Professeur Ovidio de l'unité de gestion des ressources aquatiques et aquaculture du laboratoire de démographie des poissons et d'hydroécologie (LDPH) de l'Université de Liège.

Tableau 2 : Espèce pêchée en fonction du site de prélèvement.

Amblève	Gueule	Meuse	Ourthe
Loches et Vairons	Gardons	Gardons	Ablettes communes

2. Préparation des échantillons

Pour commencer, les poissons ont été découpés à l'aide de ciseaux. Comme la loutre d'Europe consomme ses proies dans son entièreté, le but était d'obtenir un échantillon représentatif de l'ensemble de l'organisme c'est-à-dire : muscles, organes, graisse, peau. En fonction de leur taille, les poissons ont soit été découpés dans leur entièreté, soit partiellement tout en gardant un prélèvement représentatif des individus (annexe 2).

Chaque échantillon est placé dans des vials EPA (Environmental Protection Agency) de 40 mL annotés et préalablement pesés à vide, sans bouchon, puis pesés une seconde fois avec l'échantillon, pour déterminer le poids frais. Ceux-ci étaient ensuite congelés à -80°C , puis lyophilisés pendant au moins 24h (figure 8). Après lyophilisation, les échantillons sont de nouveau pesés afin de déterminer le poids sec.



Figure 8 : Lyophilisateur du LEAE.

3. Extraction des contaminants

3.1 Accelerated Solvant Extractor (ASE)

Les contaminants analysés dans cette étude sont majoritairement liposolubles, donc stockés dans les graisses. Ce pourquoi, la fraction lipidique de chaque échantillon a été extraite par ASE. Pour ce faire, pour chaque échantillon, une cellule d'extraction a préalablement été préparée et contient environ 250 mg d'échantillon lyophilisé. Ensuite, 50 μL de PCB 112 ont été ajoutés en tant que standard interne afin de corriger les potentielles erreurs d'analyse, ainsi que quelques mg de Na_2SO_4 , permettant d'absorber l'eau qui pourrait être encore présente. Un blanc procédure (BP), un blanc matrice (BM) et un contrôle qualité (QC) ont été préparés en parallèle dans le but de vérifier le bon déroulement de l'extraction (BM et QC) et l'absence de contamination des échantillons durant l'analyse (BP) (annexe 3).

Les cellules d'extraction étaient ensuite placées sur l'appareil DIONEX ASE 200, sur le plateau du dessus et des vials de récoltes vides, préalablement pesés sans bouchon, placés sur le plateau du dessous afin de récupérer la fraction lipidique de l'échantillon correspondant (figure 9).

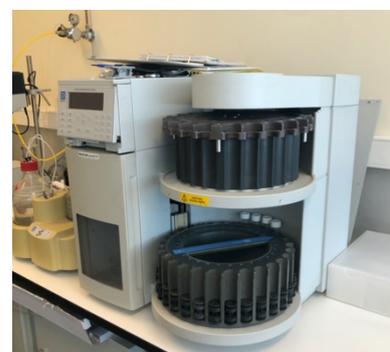


Figure 9 : Appareil DIONEX ASE 200, laboratoire du LEAE.

Pour finir, la méthode d'extraction utilisée consiste à injecter un mélange de solvants, l'hexane-dichlorométhane (90:10, v :v), dans les cellules d'extraction, à une pression de 1 500 psi¹ et une température de 125 °C (annexe 4). Cette méthode permet de récupérer les fractions lipidiques contenant les POPs d'intérêts à analyser.

3.2 Détermination du poids lipidique

A la fin de l'étape d'extraction, la fraction lipidique est placée dans un turbovap à 35°C durant 30 minutes (figure 10), afin d'évaporer le solvant et permettre de récupérer et peser la masse de lipides (masse 1).



Figure 10 : Turbopap du LEAE.

Afin d'être certain que les échantillons soient bien secs, ceux-ci sont évaporés une seconde fois au turbopap pendant 3 minutes à 35°C, puis le poids lipidique est de nouveau pesé (masse 2). Ces étapes sont renouvelées jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de différences entre les masses, indiquant un séchage complet de l'échantillon.

4. Purification des échantillons

4.1 Clean up acide

Les masses de lipides obtenues à l'étape précédente sont ensuite resuspendues dans 2mL d'hexane et transférées dans des tubes à essais. Afin de récupérer les potentiels dépôts sur les parois des vials, un second rinçage avec 1 mL d'hexane est exécuté, puis ajouté aux 2 mL précédents.

¹ 1 psi = 6 894 pascale (Pa).

Pour éliminer les impuretés de l'échantillon, 2 mL d'acide sulfurique à 98% sont ajoutés dans chaque tube à essai, puis mélangés pendant 3 minutes à l'aide d'un système Vibramax. Ensuite, les échantillons sont centrifugés durant 5 minutes à 3300 rpm (rotation par minute) afin de dissocier la phase organique de la phase acide. Cette phase organique, contenant les polluants, est prélevée puis déposée dans un nouveau tube à essai. Un second lavage à l'acide est effectué de manière similaire sur l'échantillon de départ afin d'assurer une récupération totale des polluants.

Une fois les phases organiques récupérées, les échantillons sont évaporés sous un flux d'azote jusqu'à obtenir environ 1 mL, afin de concentrer les substances dans un volume réduit (figure 11).



Figure 11 : Appareil SUPELCO Visiprep du LEAE pour l'évaporation des échantillons.

4.2 Clean up Florisil

Dans le cas de cette étude, une extraction en phase solide (SPE) est réalisée sur un dispositif visiprep afin de purifier davantage les échantillons. Cette méthode consiste à séparer les composés d'intérêt des interférents par adsorption sur une phase solide. Des colonnes de Florisil (1g) de capacité de 6 mL et composées d'une matrice de silicate de magnésium sont alors utilisées.

Dans un premier temps, les colonnes de Florisil sont conditionnées avec différents solvants comme suit : 5 mL d'hexane, 5 mL d'hexane/acétone (50:50, v :v), deux fois 6 mL d'hexane. Ce conditionnement permet de préparer la phase solide à interagir avec les solutés de l'échantillon (figure 12). Ensuite, des tubes à essais de récoltes sont ajoutés sous les colonnes et chaque échantillon est versé dans une colonne. Notons que les colonnes ne doivent jamais être à sec et que le liquide doit percoler au rythme d'environ 1 goutte par seconde pour une purification optimale.



Figure 12 : Appareil SUPELCO Visiprep du LEAE pour l'extraction en phase solide.

Une fois l'échantillon totalement percolé, les tubes à essais contenant les échantillons initiaux sont rincés avec 3 mL d'hexane/diéthyléther (85:15, v :v) et sont à leur tour déposés sur les colonnes. La dernière étape consiste à éluer une dernière fois les composés d'intérêt en ajoutant 3 mL d'hexane/diéthyléther dans les colonnes.

Une fois les échantillons purifiés sur colonne Florisil, 5 µL de nonane sont ajoutés à chaque extrait permettant ainsi d'éviter un séchage à sec lors de l'évaporation sous flux d'azote. Après évaporation, chaque échantillon est resuspendu à l'aide de 45 µL d'hexane et 50 µL de Mirex à 100 pg/µL, utilisé comme standard d'injection. Le Mirex est un composé organochloré représentatif des contaminants recherchés dans nos analyses. Sa présence permet de corriger les potentielles erreurs d'analyse en chromatographie.

Enfin, les 100 µL d'échantillon sont placés dans des vials d'injections munis d'un insert, puis analysés en chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électrons (GC-ECD).

4.2.1 Préparation de la courbe étalon (CE)

Afin de définir précisément la concentration des composés retrouvée dans les échantillons, une courbe d'étalonnage est réalisée avec des concentrations de 1,56 – 3,125 – 6,25 – 12,5 – 25 – 50 – 100 – 200 – 400 pg/µL, de chaque composé recherché. Il s'agit d'un mélange de Mix 3 (PCBs 28-52-101-118-153-180), Mix 14 (aldrine, DDD, DDE, DDT, dieldrine, endrine, α -, β - et γ -HCH, α - et β -endosulfane, heptachlore, heptachlore époxyde, méthoxychlore et HCB) et PBDE 47-99.

5. Chromatographie en phase gazeuse

Cette méthode consiste à injecter les échantillons dans la colonne au moyen d'hydrogène qui est le gaz vecteur. La colonne (OPTIMA 5MS) quant à elle, possède une phase stationnaire apolaire (annexe 5) et est placée dans un four réalisant un programme de température adéquat à la détection des POPs analysés. Initialement, la température du four est de 60°C. Ensuite, elle augmente jusqu'à atteindre le palier final de 300°C, afin de séparer les composés présents dans l'échantillon. En fonction de leur température d'évaporation, certains seront plus rapidement emportés par le gaz vecteur à travers la colonne que d'autres. Le passage dans la colonne dépendra donc de la température d'évaporation mais aussi de l'affinité pour la phase stationnaire. Les composés présents dans les échantillons traversent donc la colonne à des temps différents en fonction de leur affinité pour celle-ci.

Les composés polaires traversent en premier tandis que les composés apolaires seront retenus. Lorsque les composés sortent de la colonne, ils sont détectés par un détecteur à capture d'électrons (ECD) qui est sensible aux dérivés halocarbonés, notamment les groupements Cl (chlore) et Br (brome) (Hübschmann, 2008) (annexe 6). Ainsi, le temps de rétention et la courbe d'étalonnage permettent d'identifier et de quantifier les composés présents dans chaque échantillon.

6. Analyses statistiques

Après l'analyse des concentrations de chaque POP dans chaque échantillon, des analyses statistiques ont été réalisées sur les données en poids frais par site. En effet, la loutre consomme ses proies dans son entièreté, ce pourquoi, il semble plus cohérent d'effectuer les différents tests statistiques et graphiques sur base de ce poids frais. Un Shapiro.test a tout d'abord été testé sur le programme R Studio avec comme limite de significativité une p-value $< 0,05$. Plusieurs résultats étaient inférieurs à cette valeur et par conséquent, la normalité n'était pas respectée. Afin de pallier à cela, les valeurs brutes ont tout d'abord été transformées en logarithme népérien et la normalité a de nouveau été testée. Certains résultats ne respectaient toujours pas la normalité, donc un test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé via le programme XLStats, comme alternative à l'ANOVA. Ce test permet de déterminer si les échantillons proviennent d'une même distribution ou non. Ensuite, un test post hoc de Mann-Whitney, a été réalisé afin de déterminer s'il y avait une différence significative entre les groupes d'échantillons, regroupés en fonction du cours d'eau. Ce test a été réalisé pour chacun des polluants. Les tests de Kruskal-Wallis et de Mann-Whitney ont été réalisés avec une valeur seuil de p-value $< 0,05$.

Enfin, une analyse en composantes principales (ACP) représentant la concentration de chacun des composés dans chaque échantillon a été faite. En effet, puisqu'il y a un grand nombre de variables quantitatives (concentrations des différents composés), une analyse multivariée est la plus adaptée. L'ACP permet de réduire les données multivariées en quelques composantes principales, deux dans ce cas-ci. Ces composantes principales correspondent à une combinaison des différentes variables initiales ce qui permet de ne perdre qu'un minimum d'informations et d'être visuel graphiquement parlant (Kassambara, 2017). Cette ACP permettra de déterminer la corrélation des sites avec chacun des polluants.

7. Recensement de l'occupation des sols

Le site WalOnMap fournit diverses informations, notamment l'utilisation du sol en Wallonie (WALOUS 2018) ainsi que l'état des sols (Banque de données de l'état des sols (BDEs)). Ces cartes indiquent par exemple les productions primaires (agriculture commerciale, prairies, sylviculture, aquaculture, ...), les productions secondaires avec les différentes industries, les zones conservées mais également les parcelles nécessitant des démarches de gestion des sols. Ces informations sont utiles afin de faire des liens entre la contamination des poissons prélevés et le lieu d'échantillonnage.

De plus, les personnes chargées des contrats rivières de chacun des sites ont été contactées afin de d'obtenir des informations quant à l'utilisation des sols ainsi que des sources de pollution potentielles sur chacun des sites. L'ensemble de ces informations permet d'avoir une idée des sources de pollution potentielles dans chacun des cours d'eau. Seules les catégories d'occupation du sol présentes en bordure de cours d'eau, en quantité importante (plus de 10 parcelles) et/ou des évènements de pollution ayant eu lieu ces 5 dernières années sont représentées dans le tableau 3. L'analyse a été effectuée sur une distance de +/- 5 km en amont des sites de prélèvements.

	Ambève	Gueule	Meuse	Ourthe
Prairies	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Productions agricoles			<input checked="" type="checkbox"/>	
Sylviculture				<input checked="" type="checkbox"/>
Industries			<input checked="" type="checkbox"/>	
Gestion des sols		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Rejets d'eaux usées	<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Épisodes ponctuels de pollution		<input checked="" type="checkbox"/>		<input checked="" type="checkbox"/>

Tableau 3 : Catégories d'occupation du sol présentes en quantité importante dans les 4 sites de prélèvement.

Notons que les épisodes ponctuels de pollution concernent des déversements de lisier² dans le cas de la Gueule et un épisode de pollution aux hydrocarbures (mazout) pour l'Ourthe (2018). Les prairies favorisent l'infiltration de l'eau dans le sol limitant ainsi le ruissellement. Elles sont généralement une faible source de pollution puisqu'elles filtrent l'eau potentiellement polluée à l'inverse, des productions agricoles³ et de la sylviculture où l'utilisation d'engrais et/ou de pesticides ainsi que l'érosion du sol peuvent *in fine* favoriser la pollution des cours d'eau (Gascuel-Odoux et al., 2007). Enfin, certaines industries rejettent des eaux usées mais elles sont soumises à des permis d'environnement ainsi qu'à des normes sectorielles adaptées selon leurs activités.

Dans le cadre de ce mémoire, seules les productions agricoles pouvant causer l'érosion du sol peuvent avoir un impact sur la contamination retrouvée dans les poissons. En effet, les autres sources de pollution concernent des composés non étudiés dans ce travail.

² Le déversement de lisier peut causer l'eutrophisation du milieu dû à un grand apport en azote.

³ Les productions agricoles concernent ce qui est destiné à la vente, cela inclut les cultures de légumes, céréales, fruits et l'élevage.

Résultats et discussion

1. Analyse générale

Les rendements d'extraction du PCB 112 obtenus pour les différentes séries d'analyses sont compris entre 80 et 120%. Sachant que la norme tolérée est comprise entre 70 et 130%, les résultats de rendements obtenus sont corrects.

Notons tout d'abord que la moyenne des BDEs est représentée uniquement par le BDE47 puisque le BDE99 n'a été détecté dans aucun des échantillons. Il est possible que la concentration en BDE99 se situait sous la limite de détection fixée à 0,02 ng/g et la limite de quantification située à 0,06 ng/g de poids frais. De plus, comme indiqué dans diverses études, la proportion en BDE47 est généralement plus importante dans le biote que celle en BDE99 (Nelson et al., 2015).

Les résultats ont montré que les poissons de l'Amblève et de la Gueule sont les moins pollués de nos analyses (figure 13). Ceci concorde avec le tableau 3 puisque peu d'industries et de champs bordent ces cours d'eau. Ces derniers sont majoritairement bordés par des prairies. D'ailleurs, lors de l'échantillonnage, plusieurs ombres (*Thymallus thymallus*) ont été pêchées dans la Gueule. Ces poissons sont de bons bio-indicateurs de la qualité de l'eau puisqu'il s'agit d'une espèce très sensible à la pollution.

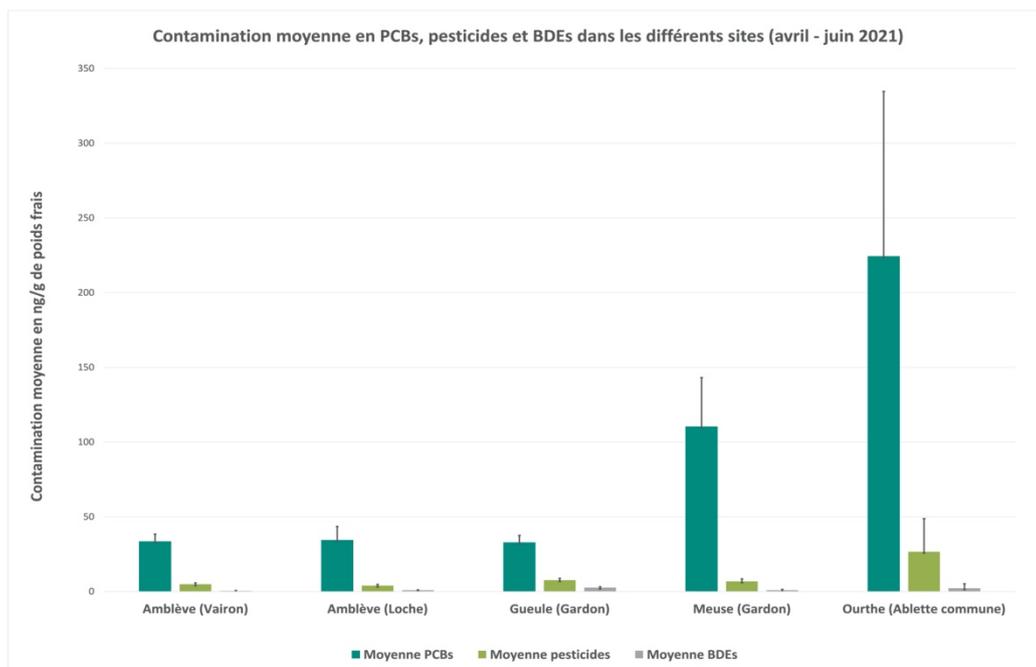


Figure 13 : Contamination moyenne globale avec écarts-types en PCBs, pesticides et BDEs dans les 4 sites de prélèvement.

L'occupation du sol autour de l'Ourthe (tableau 3) n'explique pas le fait que les ablettes communes ressortent comme les plus contaminées des analyses puisque peu d'industries et de champs sont présents sur les rives. A contrario, les concentrations moyennes en polluants retrouvées dans les gardons de la Meuse concordent avec l'analyse de l'occupation du sol. En effet, le fleuve est bordé par énormément d'industries, de champs et traverse plusieurs grandes villes. Notons d'ailleurs qu'en 2016, 149 exploitations agricoles étaient dénombrées autour de la Meuse. Il s'agissait majoritairement de cultures de céréales d'hiver suivi de maïs et de lin. Au total, 3 369 sites potentiellement pollués étaient recensés dans le bassin Meuse aval⁴ (La Direction des Eaux de surface, 2016).

Ensuite, les PCBs sont dominants dans l'ensemble des échantillons, ce qui est cohérent aux études précédentes réalisées sur la loutre d'Europe (Alomar et al., 2016). Ces PCBs sont particulièrement élevés dans les poissons de la Meuse et de l'Ourthe, qui sont de manière générale plus contaminés. Notons qu'une étude menée par Hugula et al (1995) a montré qu'en 1992, 900 kg par an de PCBs se retrouvaient dans la Meuse. Cette même étude a d'ailleurs montré que les barbeaux (*Barbus barbus*) présents dans la Meuse étaient fortement contaminés en PCBs (Hugula et al., 1995).

Les moyennes de PCBs montrent que les échantillons de l'Ourthe (224,3 ng/g de P.F.) et de la Meuse (110,3 ng/g de P.F.) (annexe 7) dépassent largement le seuil de 50 ng/g de P.F. pouvant occasionner des problèmes de reproduction comme observés par MacDonald & Mason (1994), voire compromettre la survie du mustélide d'après Jacquet (2007). De plus, l'étude menée par Lafontaine et De Alencastro (1999) a montré que les loutres ont tendance à disparaître quand la concentration moyenne en PCBs est supérieure à 145 ng/g de P.F. (Lafontaine & Felipe de Alencastro, 1999).

Ainsi, les concentrations moyennes en PBCs des poissons issus de l'Ourthe dépassent bien le seuil de 145 ng/g de P.F. et pourraient alors poser des problèmes dans le cadre d'un potentiel retour de la loutre d'Europe dans ce cours d'eau. Tandis que celles de la Meuse dépassent le seuil critique pour la reproduction, mais sont en dessous du seuil critique pour la survie de la loutre.

⁴ La zone étudiée va du ruisseau de Tailfer (proche de Profondeville) jusqu'à la frontière néerlandaise.

Les concentrations retrouvées chez les loches et les vairons (Gueule et Amblève) se situent sous les deux seuils critiques avec comme moyenne respective 33,4 ng/g (Amblève Loche (AL)), 34,3 ng/g (Amblève Vairon (AV)) et 32,7 ng/g (Gueule (G)) de P.F.

Enfin, une étude réalisée par Leonards et al. (1997), en poids lipidique, a montré que le facteur de biomagnification entre les poissons et la loutre d'Europe est de 14 pour l'ensemble des PCBs (Leonards et al., 1997). Par conséquent, bien que l'étude présente se base uniquement sur les poissons, en tenant compte de l'étude de Leonards et al (1997), il est possible

Tableau 4 : Concentrations moyennes en PCBs et écarts-types dans les poissons et chez la loutre d'Europe (estimation) dans les différents sites (en poids lipidique).

	Amblève (Vairon)	Amblève (Loche)	Gueule (Gardon)	Meuse (Gardon)	Ourthe (Ablette commune)
Moyenne PCBs (poissons)	1 541,76 +/- 304,11 ng/g	2 551,38 +/- 1 331,47 ng/g	1 700,26 +/- 601,42 ng/g	7 448,43 +/- 1 164,21 ng/g	1 365,68 +/- 556,09 ng/g
Moyenne PCBs (loutres)	21 584,59 +/- 4 257,58 ng/g	35 719,26 +/- 18 640,54 ng/g	23 803,63 +/- 8 419,86 ng/g	104 277,96 +/- 16 298,99 ng/g	19 119,56 +/- 7 785,28 ng/g

d'estimer la concentration moyenne en PCBs que posséderait le mustélide dans chacun des sites. Pour ce faire, la concentration moyenne en PCBs contenue dans les poissons (poids lipidique) a été multipliée par le facteur 14 (tableau 4). Les échantillons de la Meuse provoqueraient un dépassement du seuil de 50 000 ng/g de poids lipidique, fixé par Mason et MacDonald (1994), chez la loutre, occasionnant des troubles de la reproduction. Les autres sites dépassent tous le seuil « sans effet » de 10 000 ng/g de poids lipidique.

Le fait que les ablettes communes (Ourthe) ressortent comme les moins contaminées en PCBs des analyses en poids lipidique, peut provenir du contenu lipidique de l'espèce. En effet, au plus le contenu lipidique du poisson sera important, au plus celui-ci pourrait accumuler de polluants, notamment les polluants organiques lipophiles (Deribe et al., 2011). Par exemple, l'anguille d'Europe (*Anguilla anguilla*) est un poisson gras pouvant contenir 20% de lipides dans les muscles (Derouiche et al., 2014).

Pour finir, les concentrations en BDEs sont relativement faibles dans les poissons des 4 sites (< 3 ng/g) en comparaison aux PCBs. De même pour les pesticides (< 8 ng/g), à l'exception des ablettes communes (Ourthe) qui ont une concentration moyenne en pesticides de 26,6 ng/g de P.F. (annexe 7). Cependant, les BDEs associés à d'autres polluants notamment des PCBs peuvent agir de façon additive, c'est-à-dire qu'une faible dose de PBDE associée à une faible dose de PCB pourrait aboutir à des effets néfastes tandis que séparément ces concentrations n'ont pas ou peu d'effet. Ce pourquoi, bien que la dose reste faible pour les BDEs, des effets peuvent tout de même survenir (Pountney et al., 2015; Shaw & Kannan, 2009).

2. Analyse détaillée

2.1 Analyse en composantes principales

Le but de cette recherche était d'analyser la contamination en différents polluants dans 4 cours d'eau wallons en sélectionnant l'espèce de poisson la plus abondante dans chacun d'eux. Afin de déterminer des corrélations entre les cours d'eau et les composés, une analyse en composantes principales a été réalisée. La variance expliquée par les deux composantes principales est de 65,07% pour F1 et 16,01% pour F2. La première (F1) est très fortement corrélée ($>0,8$) aux PCBs 101, 118, 138, 180, aux p,p'-DDE, p,p'-DDD et p,p'-DDT, o,p'-DDT et au β -HCH. Elle est faiblement ($<0,2$) corrélée au α -HCH. La seconde (F2) est très fortement corrélée au PCB153, fortement corrélée (0,5-0,8) aux BDE47 et γ -HCH et faiblement corrélée aux PCBs 52, 101, 118, 180, aux p,p'-DDE, p,p'-DDD et o,p'-DDT (annexe 8).

L'ACP montre que les poissons de l'Amblève (loches et vairons) et de la Gueule se regroupent, à l'inverse, ceux de la Meuse et de l'Ourthe se détachent des trois premiers, ce qui concorde avec les résultats précédents (figure 14). Plus les échantillons sont situés à droite du graphique, plus ils seront pollués par les composés se situant à droite, c'est-à-dire l'ensemble mis à part l' α -HCH. De manière générale, les échantillons de l'Ourthe sont corrélés positivement avec la composante principale F1. Ils présentent une corrélation avec les PCBs 28, 52, 138 et 153 ainsi qu'avec l'HCB. A l'inverse, ils sont peu corrélés avec l' α -HCH. Ces résultats sont en lien avec les précédents puisque les ablettes communes contiennent les plus grandes concentrations moyennes en PCBs et HCB mais la plus faible concentration moyenne en α -HCH (annexes 7 et 9). De plus, les échantillons de l'Ourthe montrent des différences importantes de concentration en polluants puisque les points sont relativement étalés sur l'ACP.

Concernant les gardons de la Meuse (M), ceux-ci possèdent une position centrale sur l'ACP. Les poissons sont donc en lien avec la composante principale F1 mais également avec F2. Par conséquent, tous les polluants se retrouvent dans ces échantillons. Il existe des différences moyennes concernant les concentrations moyennes retrouvées dans chacun des échantillons puisque ceux-ci sont moyennement espacés les uns des autres.

Enfin les loches, les vairons (Amblève) et les gardons (Gueule) sont corrélés à α -HCH. Les échantillons sont regroupés, par conséquent leurs concentrations moyennes sont faiblement différentes. Ces trois espèces de poissons, à gauche du graphique, sont peu concentrées en polluants excepté pour l' α -HCH, ce qui est cohérent avec les relevés (annexe 9).

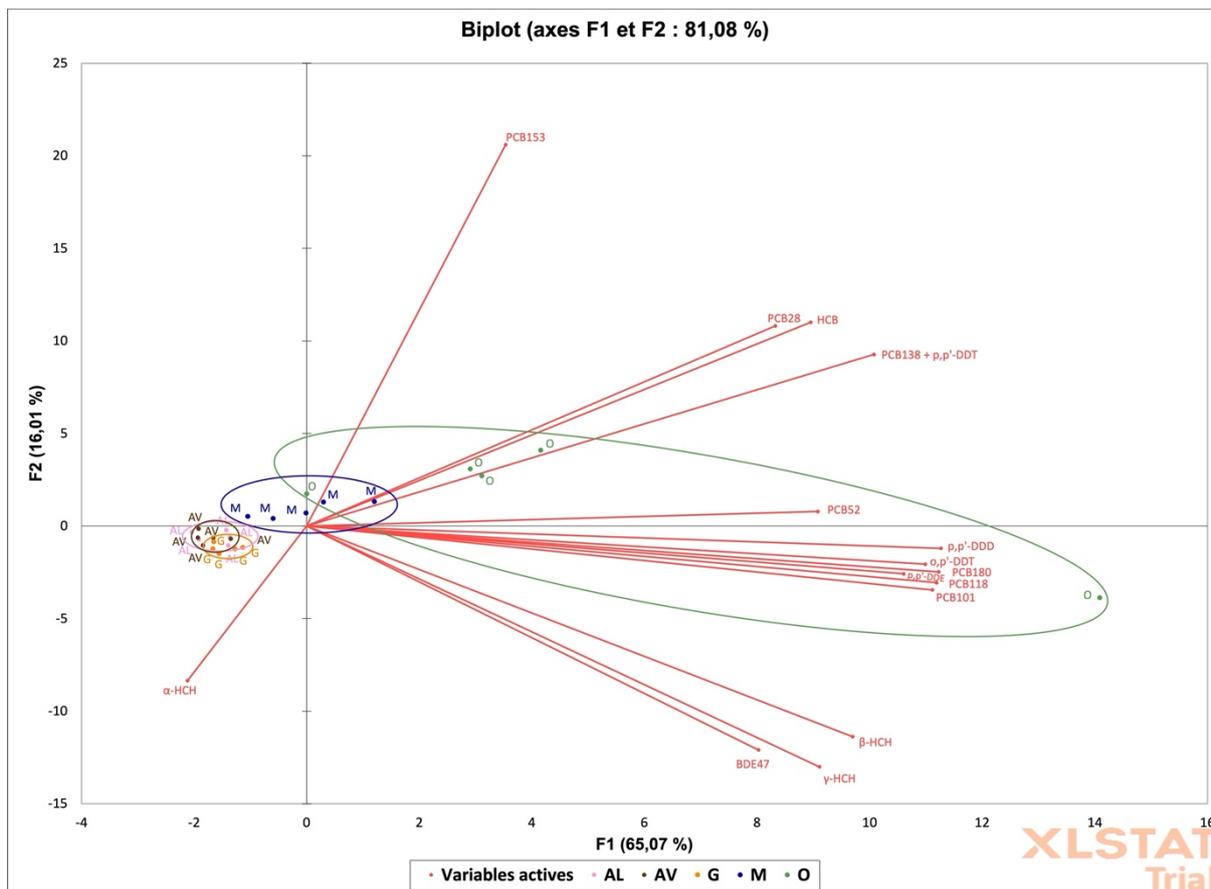


Figure 14 : Analyse en composantes principales des échantillons en poids frais provenant des 4 sites de prélèvements.

2.2 PCBs

La figure 15 permet de visualiser la proportion des 7 congénères de PCBs analysés à savoir le PCB 18, 52, 101, 118, 138, 153 et 180. Les formes dominantes pour les poissons de l'Ourthe et de la Meuse sont les PCBs 153 et 180. Concernant ceux de la Gueule et l'Amblève, les PCBs 52 et 153 dominent. Bien que les sites de l'Ourthe et de la Meuse semblent relativement similaires, de même que la Gueule et l'Amblève, il existe des différences entre ces cours d'eau. Les concentrations moyennes en PCB 28 des poissons de la Meuse et de l'Ourthe sont significativement différentes l'une de l'autre (Mann-Whitney, p-value < 0,05 - annexe 10). De même, les concentrations moyennes en PCBs 52 et 153 des loches (Amblève) sont significativement différentes des gardons de la Gueule (Mann-Whitney, p-value < 0,05 - annexe 10). Par contre, aucune différence significative n'a été perçue pour ces deux congénères entre les vairons (Amblève) et les gardons (Gueule) (Mann-Whitney, p-value > 0,05 - annexe 10).

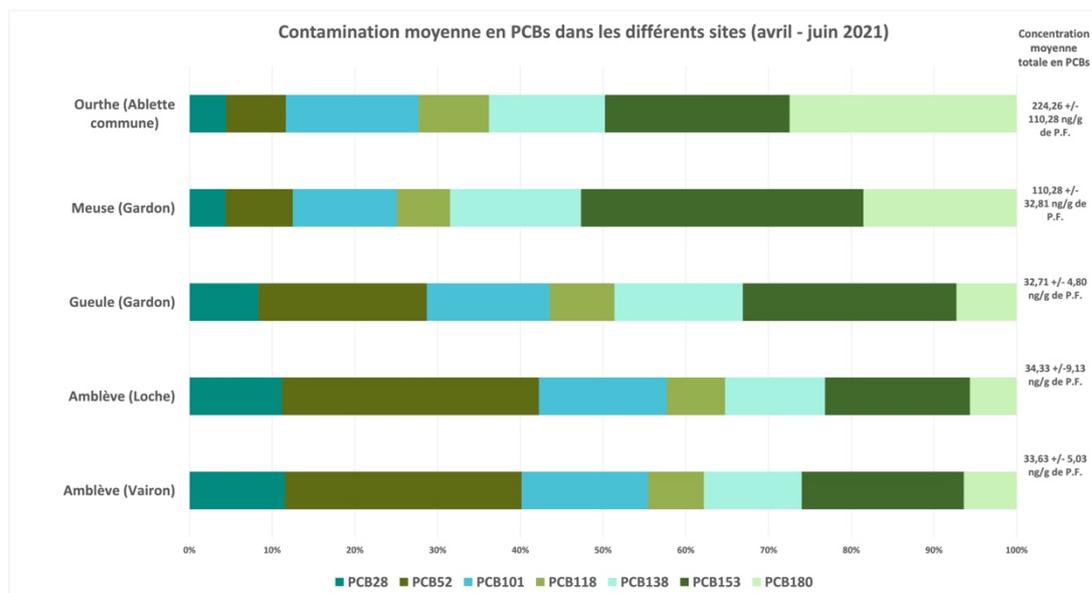


Figure 15 : Contamination détaillée en PCBs et concentration moyenne (ng/g de poids frais) dans les 4 sites.

L'Ourthe est le cours d'eau qui possède les poissons ayant les plus fortes concentrations de chacun des congénères allant de 9,9 ng/g pour le PCB 28 à 61,6 ng/g pour le PCB 180. Le second cours d'eau ayant les poissons possédant les concentrations les plus élevées est la Meuse (annexe 9). Ceci concorde avec l'histogramme analysé précédemment (figure 13).

Notons que plusieurs études ont montré des concentrations de PCB 153 plus élevées que les autres congénères chez d'autres organismes, comme l'étude de Leonards et al (1994) sur le putois d'Europe (*Mustela putorius*) (Leonards et al., 1994). Il semblerait que le pattern de PCBs soit déterminé par le processus de métabolisation, ce pourquoi les congénères contenant plus d'atomes de chlore comme le PCB 153 seraient dominants puisque le taux de métabolisation diminue lorsque le degré de chloration augmente (Bisson et al., 2005).

Mason et al (1992) ont créé un modèle permettant d'estimer la concentration en PCBs dans les foies de loutres à partir de la concentration présente dans les poissons. Ce modèle comprend plusieurs paramètres : efficacité d'assimilation en PCBs chez la loutre, la conversion de poids frais (poisson) à poids lipidique (foie de loutres), la ration alimentaire/jour du mustélide, la concentration en PCBs dans les poissons (poids frais), la constante d'excrétion et l'exposition aux PCBs en jour (annexe 11) (Gutleb & Kranz, 1997). La concentration moyenne en PCBs dans les poissons se base sur le fait que la loutre consomme environ 1 kg de poissons/jour. Dans le cadre de cette étude, il est possible de réaliser un rapport afin d'obtenir la concentration moyenne en PCBs pour 1 kg de poissons, et ce pour chacun des sites. Afin de pouvoir comparer les résultats à ceux de l'étude, le contenu en PCBs dans les poissons en ng/g de P.F. a été converti en mg/kg de P.F.

Les résultats varient de 16,12 mg/kg à 108,27 mg/kg de poids lipidique (tableau 5) alors que dans l'étude de Gutleb et Kranz (1997) les résultats de l'extrapolation étaient compris entre 1,4 mg/kg et 27 mg/kg de poids lipidique. Si l'on compare avec la concentration seuil de 50 mg/kg, donnée par Mason et MacDonald (1994), occasionnant des problèmes de reproduction, les gardons de la Meuse ainsi que les ablettes communes de l'Ourthe pourraient, par biomagnification, occasionner *in fine* des problèmes de reproduction à la loutre d'Europe. Néanmoins, ces résultats doivent être pris avec précaution puisque ceux-ci se basent sur une estimation de la concentration moyenne en PCBs dans 1 kg de poissons. De plus, l'espèce la plus abondante a été sélectionnée par site en supposant qu'il s'agirait de l'espèce qui sera la plus abondamment consommée étant donné le caractère opportuniste du mustélidé.

Par conséquent, bien que la loutre risque de consommer majoritairement l'espèce la plus abondante, elle consommera également d'autres espèces non représentées dans nos analyses pouvant être potentiellement plus contaminées. En effet, les poissons carnassiers comme le brochet (*Exos lucius*) ou la perche fluviatile (*Perca fluviatilis*) ont des concentrations en polluants plus importantes dues au phénomène de biomagnification (Deribe et al., 2011; Roosens et al., 2008).

Tableau 5 : Extrapolation de la concentration moyenne en PCBs dans les foies (P.L.) de loutres à partir de la concentration moyenne en PCBs dans les poissons des 4 sites de prélèvement (Gutleb & Kranz, 1997).

	Ambève (Vairon)	Ambève (Loche)	Gueule (Gardon)	Meuse (Gardon)	Ourthe (Ablette commune)
Moyenne PCBs foie de loutre (mg/kg)	16,12	16,56	15,78	53,24	108,27

D'après Mason et al (1992) seulement 8,4% des PCBs ingérés dans l'alimentation sont excrétés dans les épreintes. Par conséquent, 91,6% est maintenu dans l'organisme de la loutre d'Europe, soit quasiment la totalité. Notons tout de même que les femelles en lactation excrètent aussi des polluants organiques via le lait maternel, bien que cela ne fasse qu'augmenter le problème puisque la descendance est alors également contaminée (Lemarchand et al., 2007).

Pour finir, bien que les prélèvements réalisés dans l’Ourthe et la Meuse semblent démontrer des contaminations problématiques pour un retour de la loutre d’Europe sur ces sites, Kruuk et Conroy (1996) avaient émis l’hypothèse qu’un taux de reproduction efficace permettrait de surpasser les pertes dues à la contamination présente dans les cours d’eau. De plus, une étude menée par Lemarchand et al (2007) en Auvergne a montré que bien que certaines zones dépassaient les seuils critiques pour la survie des populations de loutres d’Europe, celles-ci étaient tout de même en expansion (Lemarchand et al., 2007).

2.3 Pesticides

Les DDTs sont les pesticides apparaissant comme les plus abondants dans tous les poissons avec des valeurs moyennes allant de 2,3 ng/g pour les loches (Amblève) à 22,1 ng/g de poids frais pour les ablettes communes (Ourthe) (figure 16 et annexe 9). Néanmoins, tous les sites se situent sous le seuil critique, donné par Jacquet (2007), pour la survie de la loutre qui est compris entre 50 et 500 ng/g de poids frais.

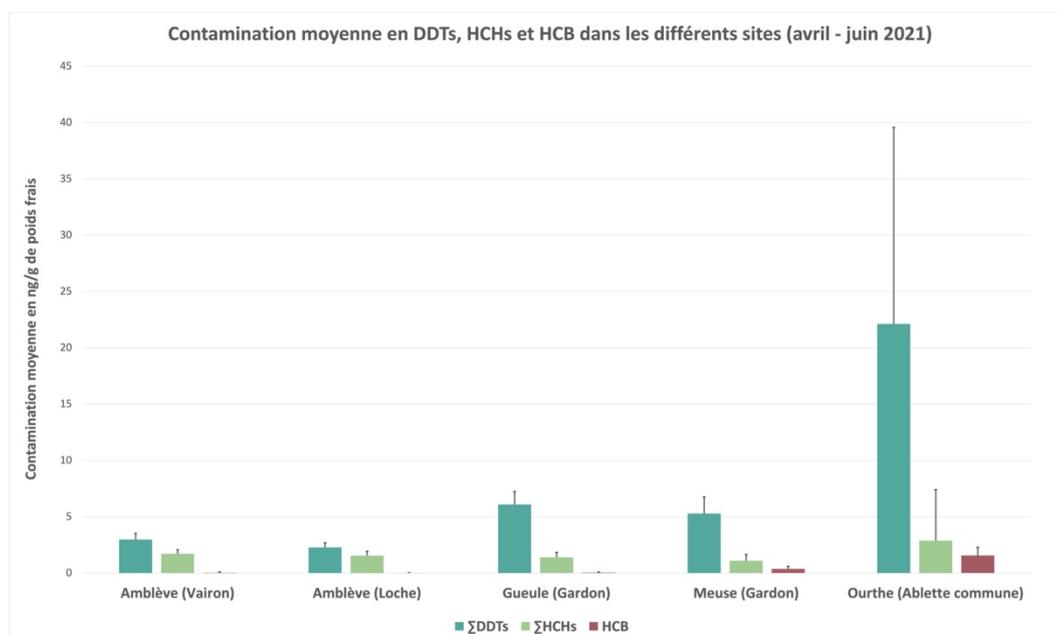


Figure 16 : Concentrations moyennes en DDTs, HCHs et HCB avec écarts-types pour les 4 sites.

Ensuite, les concentrations moyennes en HCHs sont relativement similaires d’un site à l’autre, variant de 1,1 ng/g de poids frais pour la Meuse à 2,9 ng/g de poids frais pour l’Ourthe. Les loches, les vairons (Amblève) et les gardons (Gueule) présentent les plus faibles concentrations en HCB qui sont de 0,04 ng/g (AV), 0,02 ng/g (AL) et 0,06 ng/g (G) de poids frais. La concentration en HCB dans les poissons de l’Ourthe (1,6 ng/g de poids frais) (annexe 9), se situe bien en dessous de la valeur limite pour la survie de la loutre émise par Jacquet (2007) qui est de 1 000 ng/g de poids frais de poissons.

2.3.1 DDTs

La forme dominante pour les 4 sites de prélèvement est le p,p'-DDE suivi par le p,p'-DDD (figure 17). Cela semble cohérent étant donné que ces formes sont des métabolites du DDT qui est interdit depuis les années 1970 en Belgique. Cependant, dans les échantillons de l'Ourthe et de la Meuse, la forme o,p'-DDT, c'est-à-dire un des isomères du DDT, présente des concentrations relativement importantes, à savoir 2,3 ng/g de P.F. pour les ablettes communes et 0,8 ng/g de P.F. pour les gardons de la Meuse (tableau 6), indiquant une contamination récente en DDT. Cette contamination en o,p'-DDT est similaire entre les deux espèces de poissons (Mann-Whitney, p-value > 0.05 - annexe 10).

Tableau 6 : Moyennes et écarts-types détaillés des DDTs pour les 4 sites.

	Amblève (Vairon)	Amblève (Loche)	Gueule (Gardon)	Meuse (Gardon)	Ourthe (Ablette commune)
p,p'-DDE	2,71 +/- 0,46 ng/g	2,08 +/- 0,36 ng/g	5,54 +/- 0,99 ng/g	2,31 +/- 0,47 ng/g	14,14 +/- 10,73 ng/g
p,p'-DDD	0,22 +/- 0,07 ng/g	0,16 +/- 0,08 ng/g	0,49 +/- 0,19 ng/g	1,98 +/- 0,57 ng/g	5,33 +/- 4,65 ng/g
o,p'-DDT	0,01 +/- 0,02 ng/g	0 ng/g	0,006 +/- 0,009 ng/g	0,82 +/- 0,42 ng/g	2,33 +/- 2,43 ng/g
p,p'-DDT	0,04 +/- 0,007 ng/g	0,04 +/- 0,01 ng/g	0,05 +/- 0,008 ng/g	0,18 +/- 0,06 ng/g	0,32 +/- 0,13 ng/g

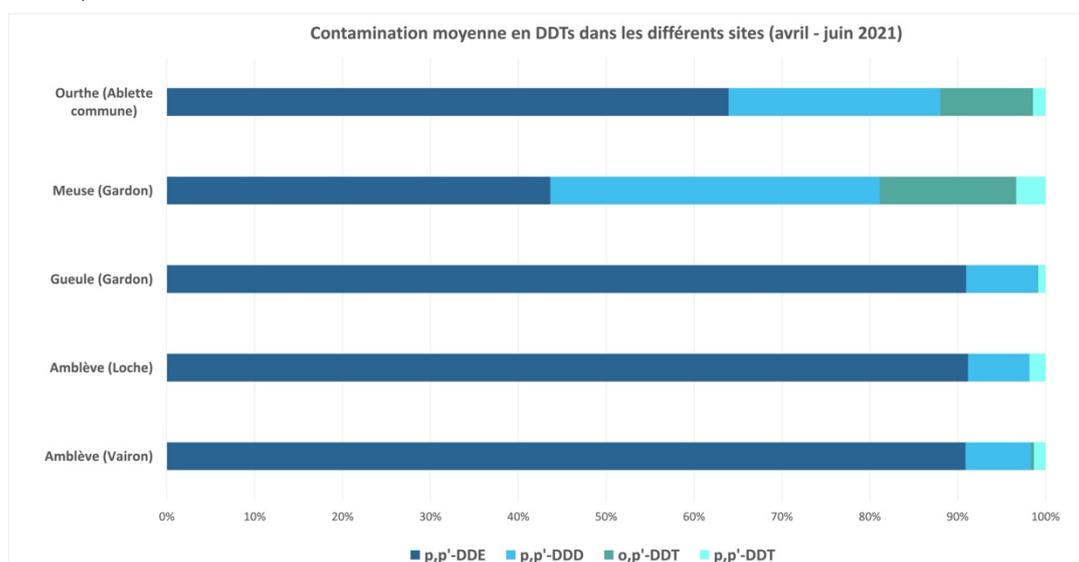


Figure 17 : Contamination détaillée en DDTs (en ng/g de poids frais) pour les 4 sites.

Une hypothèse peut être émise quant à la présence de o,p'-DDT dans la Meuse et l'Ourthe. Le temps de demi-vie du DDT dans le sol est de 4 à 30 ans en milieu tempéré (Brignon & Gouzy, 2007a). Il est donc possible que du DDT soit encore relâché des sols à l'heure actuelle en supposant que le sol contenait de grande concentration. Bien que ce polluant ait été interdit il y a 50 ans. En effet, une étude menée en Savoie dans le lac de Saint-André consistant à réaliser des carottes dans le sol, a montré une forte concentration en DDT dans les années 1990, soit 20 ans après son interdiction.

Cette augmentation soudaine proviendrait d'une augmentation de la sédimentation due à l'utilisation d'herbicides comme le glyphosate qui a augmenté l'érosion des sols. Notons aussi que les cours d'eau érodent les berges. De cette manière, l'érosion des sols permet de remobiliser le DDT dans l'environnement (Poulenard & Sabatier, 2016).

Ensuite, au sujet de la dominance du p,p'-DDE, il s'agit d'un produit de métabolisation du DDT au même titre que le p,p'-DDD. La différence entre ces deux composés est que le p,p'-DDD se forme par déchloration réductrice⁵ en condition anaérobie tandis que le p,p'-DDE se forme via déhydrochloration⁶ en condition aérobie (Chauhan & Singh, 2015; Gautam & Suresh, 2006). Le DDE serait plus persistant encore que la forme mère (DDT), s'accumulant d'autant plus, ce qui pourrait expliquer qu'on le retrouve en plus grande quantité dans tous les sites échantillonnés (Gautam & Suresh, 2006).

Les résultats indiquent que sur la totalité des congénères, le p,p'-DDE représente +/- 90% de la concentration moyenne en DDTs chez les loches (2,1 ng/g de P.F.) et les vairons (2,7 ng/g de P.F.) de l'Amblève ainsi que les gardons (5,5 ng/g de P.F.) de la Gueule (tableau 6). Cette contamination n'est pas similaire entre les trois espèces (Mann-Whitney, p-value < 0,05 - annexe 10).

2.3.2 HCHs

Les isomères dominants dans les poissons des 4 cours d'eau sont le γ -HCH et le α -HCH (figure 18). Le lindane (γ -HCH) a été largement utilisé comme insecticide à large spectre jusqu'à son interdiction en Belgique en 2001. C'est d'ailleurs le seul isomère ayant des propriétés insecticides. Ceci expliquerait pourquoi la forme γ -HCH est la plus abondante. Notons également que le γ -HCH peut être biologiquement dégradé dans les sols en sous-produits dont notamment les isomères α -HCH et β -HCH (Walker et al., 1999).

De plus, en dehors du lindane, de l'hexachlorocyclohexane (HCH) technique était aussi utilisé comme insecticide avant que le γ -HCH soit affiné puisqu'il s'agit du composé actif en tant qu'insecticide. Le HCH technique contenait 55-70% d' α -HCH, 5-14% de β -HCH, 10-15% de γ -HCH et 1-4% de ϵ -HCH. Ce dernier ne faisant pas l'objet des analyses effectuées (Walker et al., 1999).

⁵ Libération d'un ion chlorure et ajout d'un ion hydrogène

⁶ Retrait d'un HCl

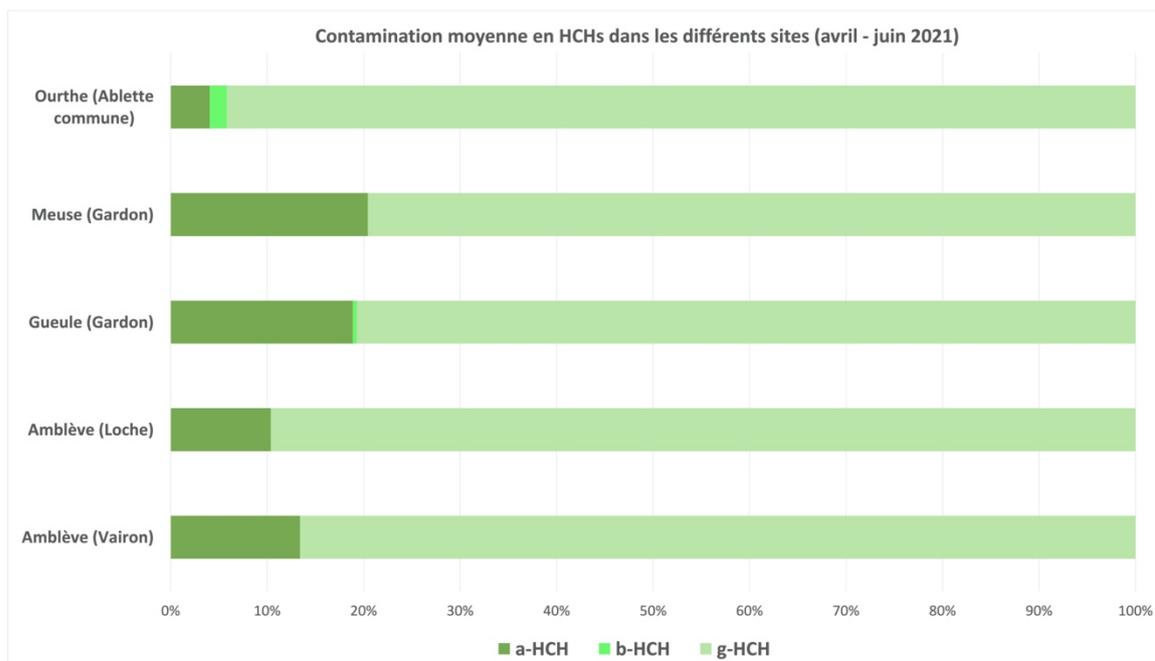


Figure 18 : Contamination détaillée en HCHs (en ng/g de poids frais) pour les 4 sites.

Parmi ces trois formes, le β -HCH est la plus persistante dans l'environnement. En effet, une étude réalisée par Stewart et Chisholm (1971) a montré qu'après 15 ans dans l'environnement, 44% de β -HCH étaient encore présents dans le sol (Malik et al., 2014). Néanmoins, les poissons de l'Ourthe et de la Gueule sont les seuls où ce composé a été détecté, mais à de faibles concentrations, à savoir 0,006 ng/g de poids frais pour les gardons (Gueule) et 0,05 ng/g pour les ablettes communes (Ourthe) (tableau 7), signifiant que seules ces deux rivières sont contaminées par ce polluant, de manière similaire (Mann-Whitney, p-value > 0,05 - annexe 10). Cependant, cette forme est celle posant le plus de problèmes au niveau toxicologique du fait de sa persistance. Elle occasionne des problèmes oestrogéniques chez les mammifères et les poissons. De ce fait, bien que les concentrations soient faibles, la vigilance est de mise pour la loutre d'Europe (Malik et al., 2014).

Tableau 7 : Moyennes et écarts-types détaillés des HCHs pour les 4 sites.

	Ambève (Vairon)	Ambève (Loche)	Gueule (Gardon)	Meuse (Gardon)	Ourthe (Ablette commune)
α -HCH	0,23 +/- 0,08 0g/g	0,16 +/- 0,09 0g/g	0,27 +/- 0,07 0g/g	0,22 +/- 0,12 0g/g	0,12 +/- 0,05 0g/g
β -HCH	0 ng/g	0 ng/g	0,006 +/- 0,01 0g/g	0 ng/g	0,05 +/- 0,12 0g/g
γ -HCH	1,48 +/- 0,29 0g/g	1,40 +/- 0,32 0g/g	1,13 +/- 0,38 0g/g	0,88 +/- 0,47 0g/g	2,72 +/- 4,39 0g/g

Le γ -HCH peut être bio-isomériser en α -HCH via l'aide de la bactérie *Pseudomonas putida* en condition anoxique ou encore *Pseudomonas aeruginosa* en présence d'oxygène. A l'inverse, la bactérie *Escherichia coli* permet en condition anoxique d'isomériser α -HCH en γ -HCH. Néanmoins, le rôle de l'isomérisation serait minime dans la persistance des isomères HCH dans l'environnement (Malik et al., 2014). Par conséquent, en considérant que le lindane (γ -HCH) ait été largement utilisé en Belgique jusque 2001, additionné au fait qu'éventuellement les réactions d'isomérisation aient eu lieu, expliqueraient la plus grande proportion en γ -HCH.

Les concentrations moyennes en α -HCH varient de 0,1 ng/g de P.F. à 0,3 ng/g de P.F. (tableau 7). Cela reste très faible étant donné qu'une étude réalisée par Hugla et al (1998) au Luxembourg avait obtenu comme concentration moyenne maximale de 4,1 ng/g de P.F. et avait indiqué que ces concentrations étaient relativement faibles (Hugla et al., 1998). Une conclusion similaire peut être faite pour la concentration moyenne en γ -HCH variant de 0,9 ng/g de P.F. à 2,7 ng/g de P.F. (tableau 7).

Par conséquent, les concentrations obtenues dans cette étude ne sont pas inquiétantes mais il serait préférable de réaliser d'autres analyses afin de multiplier les échantillons puisque dans ce cas-ci, seuls 5 échantillons par site ont été prélevés.

2.3.3 HCB

Concernant les HCB, les ablettes communes (Ourthe) possèdent la plus grande concentration moyenne avec 1,6 ng/g de P.F., suivies des gardons (Meuse) avec 0,38 ng/g de P.F. (figure 19 et annexe 7) mais comme cité au point « 2.2 pesticides », celles-ci restent bien en dessous du seuil critique pour la survie de la loutre (1 000 ng/g de P.F.). Les loches et vairons de l'Amblève ainsi que les gardons de la Gueule possèdent des concentrations moyennes similaires très faibles (Mann-Whitney, p-value > 0,05 - annexe 10).

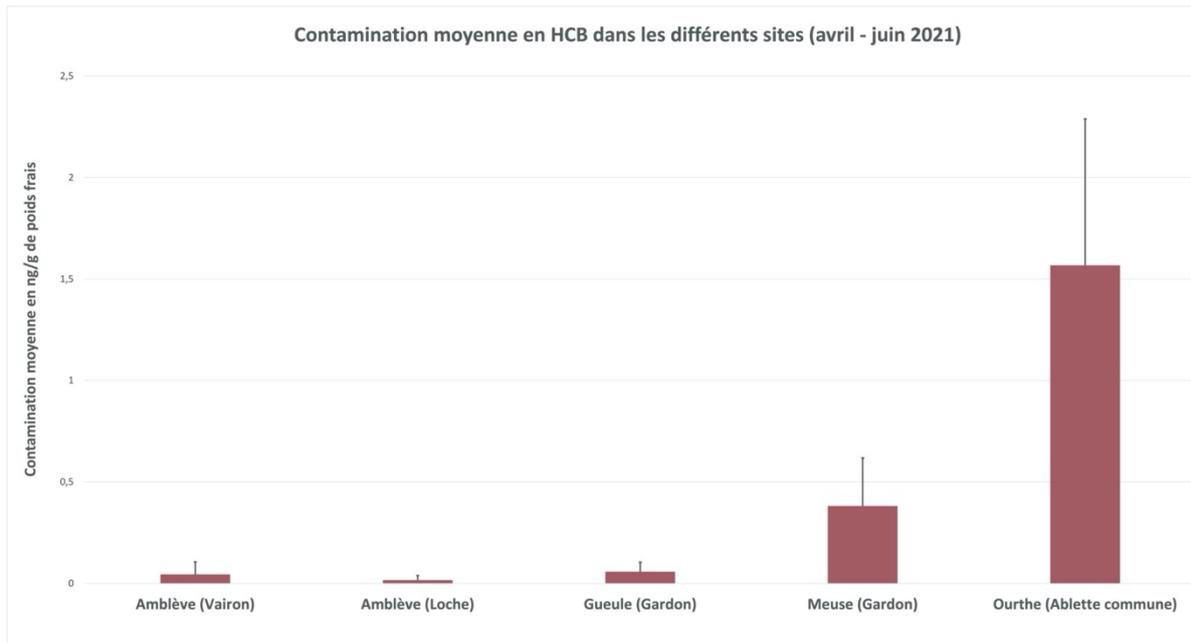


Figure 19 : Contamination détaillée en HCB (en ng/g de poids frais) pour les 4 sites.

Ce composé semble particulièrement présent chez les animaux se situant au sommet de la chaîne trophique due à la biomagnification. Une étude a été réalisée sur le vison d'Amérique (*Mustela vison*) et le putois d'Europe (*mustela putorius furo*) afin de déterminer les effets de l'HCB chez ces mustélidés. Différentes concentrations ont été insérées dans la nourriture des animaux : 0, 1, 5, 25, 125 et 625 mg/kg. Les résultats ont montré que les concentrations les plus élevées (125 et 625 mg/kg) ont provoqué la mort des individus ou l'absence d'œstrus. La concentration moyenne de 25 mg/kg a engendré une réduction des portées, une augmentation des morts nés ainsi qu'une diminution de la masse corporelle, aussi observée à 5 mg/kg et à 1mg/kg chez le vison (Bleavins et al., 1984).

De plus, une étude menée par Jürgens et al (2013) en Angleterre a montré des concentrations moyennes en HCB chez le gardon allant de 0,21 ng/g à 1,82 ng/g de P.F. Celles-ci se situent sous la norme de qualité environnementale (NQE) de 10 ng/g et ne sont donc pas particulièrement préoccupantes (Jürgens et al., 2013). Par conséquent, les concentrations moyennes retrouvées chez les espèces de poissons reprises dans cette étude sont également situées sous cette NQE en plus d'être largement inférieures au seuil critique pour la loutre.

2.4 BDEs

Les contaminations moyennes en BDEs ne sont représentées que par le congénère BDE47 puisque aucune concentration en BDE99 n'a été détectée dans les échantillons. De nombreuses études ont montré que le BDE47 était généralement le congénère dominant comme par exemple Pountney et al (2015) qui ont mesuré une concentration moyenne en BDE47 de 2 000 ng/g de poids lipidique dans des foies de loutres d'Europe (Nelson et al., 2015). En effet, le BDE47 serait dominant dans le biote tandis que le BDE99 serait dominant dans les sédiments. Cette contamination en BDEs proviendrait de l'utilisation plus ancienne du penta-BDE (Roosens et al., 2008). De plus, les formes de BDEs moins bromées, comme le BDE47 par rapport au BDE99, seraient plus facilement assimilées dans la chaîne alimentaire (Nelson et al., 2015).

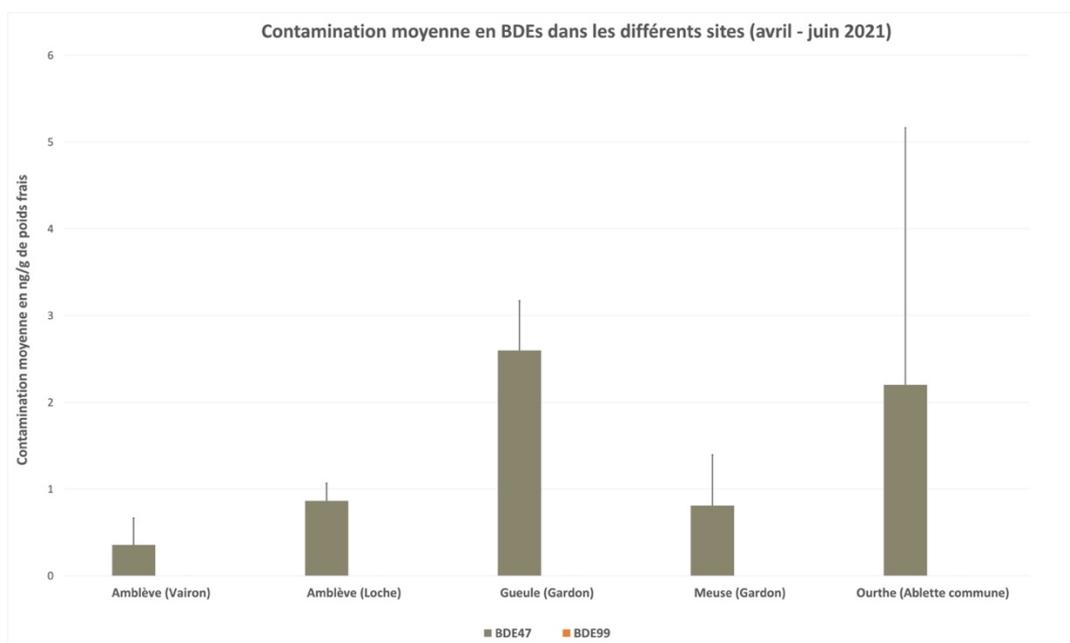


Figure 20 : Contamination détaillée en BDEs (en ng/g de poids frais) pour les 4 sites.

Les résultats montrent que les poissons provenant de la Gueule contiennent les plus grandes concentrations en BDE47 avec une moyenne de 2,6 ng/g de poids frais suivi de près par l'Ourthe avec 2,2 ng/g de poids frais (figure 20 et annexe 9). Ces contaminations sont similaires (Mann-Whitney, p-value > 0,05 - annexe 10). Notons que des études ont montré qu'en fonction de l'espèce de poisson, la quantité de congénères BDEs varie. En effet, une étude menée sur des carpes communes (*Cyprinus Carpio*) a démontré qu'une débromation du BDE99 en BDE47 avait lieu dans son tractus intestinal. Bien que cette espèce de poisson ne fasse pas partie des analyses réalisées dans ce mémoire, ce mécanisme pourrait être présent chez d'autres espèces et expliquer la plus grande quantité de BDE47 mesurée par rapport au BDE49 non détecté (Shaw & Kannan, 2009).

Aucune valeur seuil de toxicité pour la loutre n'est actuellement établie ou retrouvée dans la littérature. Néanmoins, il a été montré que l'augmentation des PBDEs dans l'organisme des mammifères provoque des effets indésirables. Par exemple, cela augmente les lésions hépatiques chez l'ours blanc (*Ursus maritimus*) ou encore diminue le taux des hormones thyroïdiennes T4 et T3 chez le phoque gris (*Halichoerus grypus*) impactant par conséquent le développement de l'individu et ses processus physiologiques. Des études menées sur le vison d'Amérique (*Mustela vison*) ont montré une immunotoxicité, des problèmes de reproduction et de même que le phoque gris, une diminution des hormones thyroïdiennes lorsque les animaux sont exposés à différentes concentrations (10 et 100 mg/kg) de PBDEs (Martin et al., 2007; Pountney et al., 2015).

De plus, l'étude menée par Covaci et al (2004) en Flandre a obtenu des concentrations moyennes en PBDEs allant de < 0,1 ng/g à 6 ng/g de P.F. chez la carpe (*Cyprinus carpio*) et de 0,62 ng/g à 3,75 ng/g de P.F. chez la carpe prussienne (*Carassius auratus gibel carpio*). Ces concentrations ont été indiquées comme modérées d'après les auteurs (Covaci et al., 2004). Par conséquent, ayant dans le cas de cette étude des concentrations moyennes en BDE47 allant de 0,35 ng/g à 2,6 ng/g de P.F., celles-ci peuvent être considérées comme modérées également.

Enfin, le plus grand danger réside dans l'effet cumulatif des polluants, particulièrement des PBDEs avec les PCBs. Puisque de faibles concentrations en PBDEs associées à de faibles concentrations en PCBs peuvent avoir des effets bien plus graves que les composés pris séparément qui, seuls, n'occasionnent parfois aucun effet (Nelson et al., 2015).

3. Recommandations

A la suite de ces résultats, il semble intéressant d'évoquer certaines solutions permettant d'offrir des habitats propices au retour de la loutre d'Europe.

Les résultats ont montré que les poissons prélevés dans l'Ourthe étaient les plus contaminés. Dès lors, il importe d'agir en premier lieu sur la pollution des cours d'eau, notamment de l'Ourthe puisqu'il semblerait qu'elle représente un passage potentiellement important pour la dispersion de la loutre d'Europe. L'idéal serait de procéder par étapes.

3.1 Solutions de décontamination

Tout d'abord, l'échantillonnage était assez limité, ne concernant que quatre sites et qu'une à deux espèces de poissons par rivière. Il conviendrait donc d'étendre cette étude à davantage de sites, à plusieurs espèces et à différentes périodes (en particulier pour les cours d'eau les plus pollués comme l'Ourthe). Cela permettrait de confirmer les pollutions détectées. Par ailleurs, si des polluants sont bien détectés, il conviendra alors d'en trouver la ou les source(s) et d'intervenir afin de mettre en place des mesures pour endiguer totalement la source. Par exemple, la région bruxelloise possède un inventaire reprenant les émissions de 86 polluants, ainsi que leurs sources (eaux usées des ménages, entreprises, transport fluvial, ...). Ce document comprend le chemin emprunté par les polluants, permettant donc de remonter à la source de manière plus précise et d'agir en conséquence (augmentation de la charge traitée par les stations d'épuration, réduction des déversements industriels, ...) (Bruxelles environnement, 2019).

Ensuite, l'étude de Poulenard et Sabatier (2016) a montré que le DDT pouvait être remobilisé via l'érosion des sols. Par conséquent, lutter contre l'érosion permettrait de limiter le transfert de polluants vers les cours d'eau. Le principe serait de limiter le ruissellement de l'eau en favorisant son infiltration dans le sol. Pour cela, l'installation de bandes enherbées, de haies ou encore de fossés en bordure de cours d'eau permettrait de ralentir l'écoulement et de piéger les sédiments. Ainsi, les potentiels polluants présents dans les eaux de ruissellement pourraient aussi être maintenus dans les sols. Afin que cela soit efficace, il serait nécessaire de travailler à l'échelle d'un bassin versant. En effet, agir à une échelle réduite serait inefficace puisque les eaux arrivant dans le cours d'eau en amont se retrouvent *in fine* des kilomètres plus loin, en aval (Eau de France, 2019; Parc naturel régional des Caps et Marais d'Opale, 2003).

La dépollution d'un cours d'eau reste la solution qui semblerait la plus efficace, mais l'extraction de sédiments contaminés ou encore la bioremédiation reste difficile à réaliser étant donné le large spectre de contamination (eaux, sédiments, biotes), et son coût très élevé. Notons tout de même que la bioremédiation a déjà fait ses preuves notamment avec des champignons lignolytiques⁷ tels que *Pleurotus ostreatus* et *Phanerochaete chrysosporium*, qui ont été utilisés afin de dégrader les PCBs en laboratoire, grâce à leur grande capacité d'oxydoréduction (Cornu, 2012; Šrédlová et al., 2020). Néanmoins, ces manipulations sont également coûteuses et difficilement applicables *in-situ*.

3.2 Détermination des couloirs de dispersion

Une autre solution serait de privilégier certains couloirs de dispersion pour la loutre d'Europe. Pour cela, il est possible d'installer des catiches artificielles pour procurer des lieux de mise-bas, d'entretenir la ripisylve octroyant des abris au mustélidé ou encore d'établir une connexion entre différents bassins versants à l'aide d'un réseau de mare (Life loutre, 2011; Nederlandt et al., 2011).

Bien qu'il soit difficile de prédire le comportement d'individus en dispersion, quelques hypothèses peuvent être émises. En effet, les populations de loutres présentes en Allemagne pourraient passer par les Pays-Bas et arriver dans l'Ourthe. Cette rivière permettrait aux individus de conquérir une grande partie des Ardennes, grâce à sa place centrale, en passant par la Lesse, la Sûre ou encore la Semois. Ce chemin semblerait être le moins énergivore pour le mustélidé à l'inverse de la Meuse dont le cours d'eau est très anthropisé, n'offrant dès lors que très peu d'habitats propices. Cependant, au vu des résultats, l'Ourthe ne semble pas être propice à la survie de la loutre d'Europe, particulièrement du fait de la forte contamination aux PCBs. De même pour la Meuse bien qu'elle traverse les Pays-Bas, la Belgique et la France.

⁷ Champignons capables de dégrader la lignine

A contrario, la Gueule et l'Amblève représentent quant à elles des habitats potentiels pour la loutre mais sans offrir de perspective de dispersion. Néanmoins, des loutres provenant des populations d'Allemagne pourraient emprunter l'Amblève, mais finiraient par arriver dans l'Ourthe aussi. Il est également possible que des loutres allemandes arrivent en amont de l'Ourthe où potentiellement le cours d'eau serait moins pollué. Enfin, les loutres provenant d'Allemagne pourraient aussi emprunter la Sûre ou l'Our pour arriver en Belgique. Cependant, ce couloir n'a pas été étudié dans ce mémoire.

Par conséquent, privilégier un couloir de dispersion, dans le cadre de ce travail, semble difficile puisque la loutre d'Europe ne pourra pas s'affranchir d'emprunter des cours d'eau détenant une forte contamination. Afin d'approfondir cette question, il serait judicieux d'entreprendre d'autres recherches afin d'étudier d'autres couloirs notamment celui à partir de l'Our et de la Sûre. Dans l'optique de comprendre le trajet réalisé par les loutres d'Europe provenant des populations allemandes, hollandaises voire françaises, la mise en place d'un projet pourrait être envisagé. Celui-ci consisterait à définir les préférences écologiques du mustélidé sur base de la littérature et de prendre en compte les données disponibles en Belgique par rapport aux barrages, aux grands axes routiers, à la biomasse en poisson disponible, à la pollution, etc. Ce, afin de modéliser l'habitat potentiel de l'espèce ainsi que les corridors écologiques de moindres coûts reliant ces habitats (Quiñónez et al., 2018; Riley et al., 2020).

Conclusion

L'étude réalisée visait à évaluer les contraintes chimiques que pourrait rencontrer la loutre d'Europe lors de son retour en Wallonie, en analysant la contamination en une sélection de polluants organiques présente dans quatre espèces de poissons de quatre cours d'eau wallons. Ce mémoire a permis d'obtenir des données supplémentaires, voire nouvelles, dans le cas de l'Amblève et de la Gueule au sujet de la loutre d'Europe, permettant d'élargir les perspectives quant à son retour.

Les résultats de cette étude ont démontré que les PCBs sont les composés les plus problématiques. En effet, les concentrations moyennes contenues dans les poissons de la Meuse et de l'Ourthe dépassent le seuil critique pouvant occasionner des problèmes de reproduction. De plus, la concentration moyenne des ablettes communes (Ourthe), en dépassant le seuil de 145 ng/g de P.F. semblerait peu propice à la survie de la loutre d'Europe. Les résultats ont également mis en évidence la présence d'o,p'-DDT dans les poissons de l'Ourthe et de la Meuse, ce qui indiquerait le relargage de DDT, encore à l'heure actuelle dans l'environnement. Concernant les poissons prélevés dans l'Amblève et la Gueule, leurs contaminations moyennes en polluants organiques se situaient toujours sous les seuils critiques.

Des solutions ont été proposées afin de limiter la pollution de ces cours d'eau et du biote, telles que réduire l'érosion des sols ou encore dépolluer un cours d'eau. Cette dernière reste la solution idéale, mais est difficile à mettre en œuvre. Notons aussi que privilégier certains couloirs de dispersion est complexe puisque que l'Ourthe occupe une position centrale, offrant un large choix de dispersion dans les Ardennes. Par conséquent, il semble peu probable que la loutre d'Europe puisse s'affranchir d'emprunter des cours d'eau contaminés.

Afin de déterminer l'impact réel des polluants sur la loutre d'Europe, il serait intéressant d'étudier davantage la biomagnification de ces composés ainsi que leurs effets cumulatifs. Cela permettrait d'une part d'estimer les concentrations en polluants retrouvées chez les super-prédateurs et d'autre part d'estimer l'effet synergique que pourrait avoir la combinaison de plusieurs polluants organiques. Enfin, de futures études pourraient approfondir la problématique de l'Ourthe et de la Meuse afin de cibler la cause de cette pollution mais également, modéliser les habitats potentiels ainsi que les corridors écologiques les reliant.

Bibliographie

- Abbes, K., Bizzozero, L., Jacqueline-boutros, K., & Jean, K. (2010). Les polychlorobiphényles. Un problème nouveau pour une pollution ancienne. *Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique*, 64.
- Agence parole de bois. (2004). La loutre, cette inconnue... *Panneaux Viazac*.
- 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), ¹³⁴Cs, and ¹³⁷Cs in the livers of the European otter (*Lutra lutra*), great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and European catfish (*Silurus glanis*), collec. *European Journal of Wildlife Research*, 62(6), 653-661. <https://doi.org/10.1007/s10344-016-1038-5>
- Alomar, H., Lemarchand, C., Rosoux, R., Vey, D., Berny, P., & 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*) , . *European Journal of Wildlife Research*, 62, 653-661. <https://doi.org/10.1007/s10344-016-1038-5>
- Barnosky, A. D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G. O. U., Swartz, B., Quental, T. B., Marshall, C., McGuire, J. L., Lindsey, E. L., Maguire, K. C., Mersey, B., & Ferrer, E. A. (2011). Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, 471(7336), 51-57. <https://doi.org/10.1038/nature09678>
- Beslagic, S., & Delaigue, O. (2017). La loutre (*Lutra lutra* Linnaeus , 1758) en Belgique : une espèce mal-aimée et malmenée (19e-début 20e siècles). *Anthropozoologica*, 52(2), 155-170.
- Biodiversité Wallonie. (2017). *Loutre d'europe (Lutra lutra)*. <http://biodiversite.wallonie.be/fr/lutra-lutra.html?IDD=50333781&IDC=326>
- Bisson, M., Bureau, J., Deyns, S., Lacroix, G., JOLIBOIS, B., Lefèvre, J. P., Strub, M. P., & Tissot, S. (2005). Polychlorobiphényles. *INERIS: Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques*, 1-70.
- Bisson, M., Bureau, J., Hulot, C., Lacroix, G., Lefevre, J. P., Mandin, C., Strub, M. P., & Pichard, A. (2005). Lindane. *Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances*

chimiques, DRC-02-255(DRC-12-126866-13678A), 58.

- Bitri, L., Dhaouadi, N., Ouertani, L., Maurel, D., & Ben Saad, M. (2007). Toxicité de l'hexachlorobenzène chez *Meriones unguiculatus* : effets sur la thyroïde et le foie. *Comptes Rendus - Biologies, 330(5)*, 410-418. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2007.03.001>
- Bleavins, M. R., Aulerich, R. J., & Ringer, R. K. (1984). Effects of chronic dietary hexachlorobenzene exposure on the reproductive performance and survivability of mink and European ferrets. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 13(3)*, 357-365. <https://doi.org/10.1007/BF01055287>
- Bonnomet, V., Bisson, M., Ghillebaert, F., Guillard, D., Strub, M. P., & Zdanevitch, I. (2011). Hexachlorobenzène. *Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques*, 113.
- Boscher, A., Gobert, S., Guignard, C., Ziebel, J., L'Hoste, L., Gutleb, A. C., Cauchie, H. M., Hoffmann, L., & Schmidt, G. (2010). Chemical contaminants in fish species from rivers in the North of Luxembourg: Potential impact on the Eurasian otter (*Lutra lutra*). *Chemosphere, 78(7)*, 785-792. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.12.024>
- Brand, A. F., Hynes, J., Walker, L. A., Glória Pereira, M., Lawlor, A. J., Williams, R. J., Shore, R. F., & Chadwick, E. A. (2020). Biological and anthropogenic predictors of metal concentration in the Eurasian otter, a sentinel of freshwater ecosystems. *Environmental Pollution, 266*. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115280>
- Brignon, J.-M. (2012). Les polychlorobiphenyles - PCB. *Drc-11-118962-11081a*, 89.
- Brignon, J.-M., & Gouzy, A. (2007a). DDT. *Ineris - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France*, 1-17.
- Brignon, J.-M., & Gouzy, A. (2007b). Hexachlorocyclohexane. *Données technico-économiques sur les substances chimiques en France*, 22. <https://doi.org/10.1201/b22045-10>
- Bruxelles environnement. (2019). *Environnement.brussels*. <https://environnement.brussels/thematiques/eau/leau-bruxelles/eaux-usees-et-pollution/cours-deau-et-pollution>
- Chauhan, A., & Singh, J. (2015). Biodegradation of DDT. *Journal of Textile Science & Engineering, 05(01)*. <https://doi.org/10.4172/2165-8064.1000183>

- Clavero, M., Prenda, J., & Delibes, M. (2003). Trophic diversity of the otter (*Lutra lutra* L.) in temperate and Mediterranean freshwater habitats. *Journal of Biogeography*, 30(5), 761-769. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2003.00865.x>
- Commission Européenne. (2017). RÈGLEMENT (UE) 2017/227 DE LA COMMISSION du 9 février 2017 modifiant l'annexe XVII du règlement (CE) no 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restr. *Journal officiel de l'Union européenne*, 3, 8-11.
- Conseil de l'union européenne. (2009). *Proposition de décision du conseil définissant la position à adopter au nom de la Communauté européenne, en ce qui concerne les propositions de modification des annexes A,B et C de la convention de Stockholm, lors de la quatrième conférence des parties* (4 (Vol. 13).
- Cooper, J. M. (2007). *Mise à jour, évaluation et rapport de situation du COSEPAC sur le faucon pèlerin, Falco peregrinus, sous-espèce pealei (Falco peregrinus pealei), anatum/tundrius (Falco peregrinus anatum/tundrius) au Canada.* (COSEPAC).
- Cornu, P. (2012). *Les polychlorobiphényles : enjeux environnementaux et sanitaires, et mycoremédiation.* 60.
- Covaci, A., Bervoets, L., Hoff, P., Voorspoels, S., Voets, J., Van Campenhout, K., Blust, R., & Schepens, P. (2004). PBDEs in freshwater mussels and fish from Flanders, Belgium. *Organohalogen Compounds*, 66(2004), 3848-3855.
- Deribe, E., Rosseland, B. O., Borgstrøm, R., Salbu, B., Gebremariam, Z., Dadebo, E., Norli, H. R., & Eklo, O. M. (2011). Bioaccumulation of persistent organic pollutants (POPs) in fish species from Lake Koka, Ethiopia: The influence of lipid content and trophic position. *Science of the Total Environment*, 410-411, 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.09.008>
- Deribe, E., Rosseland, B. O., Borgstrøm, R., Salbu, B., Gebremariam, Z., Dadebo, E., Skipperud, L., & Eklo, O. M. (2013). Biomagnification of DDT and its metabolites in four fish species of a tropical lake. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 95, 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.03.020>
- Derouiche, E., Aoun, B., & Kraiem, M. (2014). Composition en acides gras du tissu musculaire de l'anguille argentée femelle *Anguilla anguilla* dans trois lagunes du Nord Tunisien.

Journée Nationale sur la valorisation des résultats de la Recherche dans le domaine de la Pêche et de l'Aquaculture, 63-67.

Dufour, P., Pirard, C., Ortegat, G., Brouhon, J. M., & Charlier, C. (2021). Atmospheric deposition of polychlorinated dibenzo-dioxins/furans (PCDD/Fs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in the vicinity of shredding facilities in Wallonia (Belgium). *Atmospheric Pollution Research*, 12(1), 60-66. <https://doi.org/10.1016/j.apr.2020.08.014>

Eau de France. (2019). *Limiter l'érosion et ses conséquences*. <https://www.eaufrance.fr/limiter-lerosion-et-ses-consequences>

Environnement Canada. (2013). *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999) Recommandations fédérales pour la qualité de l'environnement Polybromodiphényléthers (PBDE)*.

Environnement Wallonie. (1999). *9 juillet 1986 - Arrêté royal réglementant les substances et préparations contenant des polychlorobiphényles et polychloroterphényles (M.B. 31.07.1986)*. <http://environnement.wallonie.be/legis/dechets/decat003.htm>

European Commission. (2000). *Programme d'action (CECA, Euratom, CEE) sur l'environnement, 1973-1976*. <https://cordis.europa.eu/programme/id/ENV-ENVAP-1C/fr>

Gascuel-Oudou, C., Merot, P., Dorioz, J. M., Masse, F., Grimaldi, C., & Poulenard, J. (2007). Rôle des prairies dans les pollutions diffuses. Effet de la localisation et des bordures (haies, dispositifs enherbés, berges). *Prairies, fourrages et impacts sur la qualité de l'eau*, 192, 409-422.

Gautam, S. K., & Suresh, S. (2006). Dechlorination of DDT, DDD and DDE in soil (slurry) phase using magnesium/palladium system. *Journal of Colloid and Interface Science*, 304(1), 144-151. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.08.052>

Gommery, D., & Ramanivosoa, B. (2011). Les lémuriers subfossiles dans le Nord-Ouest de Madagascar, du terrain à la diffusion des connaissances ou 15 ans de recherches franco-malgaches1. *Revue de primatologie*, 3. <https://doi.org/10.4000/primatologie.670>

Gouzy, A. (2013). Pentabromodiphényléthers. *Données technico-économiques sur les substances chimiques en France*, 1-43.

- Greenpeace. (2015). *Europe ' s Pesticide Addiction : How Industrial Agriculture Damages our Environment*.
- Gutleb, A. C., & Kranz, A. (1997). Estimation of polychlorinated biphenyl (PCB) levels in livers of the otter (*Lutra lutra*) from concentrations in scats and fish. *Water, Air, and Soil Pollution*, 106(3-4), 481-491. <https://doi.org/10.1023/a:1005016914051>
- Gwenn, F., Arnaud, M., & Mahy, G. (2011). *L'adaptation au changement climatique en région wallonne : la biodiversité*. 1-32.
- Hübschmann, H.-J. (2008). *Handbook of GC/MS : Fundamentals and Applications* (2ème édit). Wiley-VCH.
- Hugla, J.-L., Dohet, A., Thys, I., Hoffmann, L., & Thomé, J.-P. (1998). Contamination par les PCBs et les pesticides organochlorés des poissons du Grand-Duché de Luxembourg : incidence possible sur les populations de loutre (*Lutra lutra* L.). *Annales de Limnologie - International Journal of Limnology*, 34(2), 201-209. <https://doi.org/10.1051/limn/1998019>
- Hugula, J. L., Philippart, J. C., Kremers, P., Goffinet, G., & Thome, J. P. (1995). PCB contamination of the common barbel, *Barbus barbus* (pisces, cyprinidae), in the River Meuse in relation to hepatic monooxygenase activity and ultrastructural liver change. *Netherlands Journal of Aquatic Ecology*, 29(1), 135-145. <https://doi.org/10.1007/BF02061796>
- Hunter, L., & Barrett, P. (2012). *Guide des carnivores du monde* (D. et Niestlé (éd.)).
- Jacquet, F. (2007). *Etude de faisabilité du retour de la loutre d'Europe (Lutra lutra) en Haute-Savoie*.
- Jürgens, M. D., Johnson, A. C., Jones, K. C., Hughes, D., & Lawlor, A. J. (2013). The presence of EU priority substances mercury, hexachlorobenzene, hexachlorobutadiene and PBDEs in wild fish from four English rivers. *Science of the Total Environment*, 461-462(January 2009), 441-452. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.05.007>
- Kassambara, A. (2017). *Practical Guide to Principal Component Methods in R* (Edition 1). STHDA.
- Koelewijn, H. P., Pérez-Haro, M., Jansman, H. A. H., Boerwinkel, M. C., Bovenschen, J., Lammertsma, D. R., Niewold, F. J. J., & Kuiters, A. T. (2010). The reintroduction of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) into the Netherlands: Hidden life revealed by noninvasive genetic monitoring. *Conservation Genetics*, 11(2), 601-614.

<https://doi.org/10.1007/s10592-010-0051-6>

Krawczyk, A. J., Bogdziewicz, M., Majkowska, K., & Glazaczow, A. (2016). Diet composition of the Eurasian otter *Lutra lutra* in different freshwater habitats of temperate Europe: A review and meta-analysis. *Mammal Review*, 46(2), 106-113. <https://doi.org/10.1111/mam.12054>

Kuhn, R. (2009). *Plan national d'actions pour la loutre d'Europe (Lutra lutra), 2010-2015*.

La Direction des Eaux de surface. (2016). Fiche de caractérisation de la masse d'eau MV35R Meuse II. *Direction générale, 2.1*.

Lafontaine, L., & Felipe de Alencastro, L. (1999). Statut de la loutre d'Europe (*Lutra lutra*) et contamination des poissons par les polychlorobiphényles (PCBs) : éléments de synthèse et perspectives. *Pure and Applied Chemistry, Actes 23è*, 8.

Lafontaine, L., & Liles, G. (2005). Exemples d'ouvrages aménagés en faveur de la loutre en France et en Europe : Essai de synthèse et perspectives. *4e rencontres « Routes et faune sauvage » Infrastructure de transport et petite faune*, 1-27.

Lasalle, J.-L. (2005). *Conséquences sanitaires de la présence de lindane dans l'eau de distribution de la commune de Belgentier*. 20.

Legrand, J. (2019). *Nichoirs à rapaces en centre-ville (faucons pèlerin et crécerelle)*. Plan Communal de Développement de la Nature à Gembloux. <https://www.gembloux.be/mairie/commune/services-communaux/gembloux-nature/les-projets-pcdn/carto-projets/animaux/nichoirs-a-rapaces-en-centre-ville-faucon-pelerin-et-crecerelle>

Lemarchand, C. (2007). *Etude de l'habitat de la loutre d'Europe (Lutra lutra) en région Auvergne (France) [Texte imprimé] : relations entre le régime alimentaire et la dynamique de composés essentiels et d'éléments toxiques*. Université Blaise Pascal.

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(1-4), 55-62. <https://doi.org/10.1007/s11270-007-9462-5>

Lemarchand, C., & Bouchardy, C. (2010). *Etat de l'art sur la Loutre d'Eurasie (Loutre d'Europe) – Lutra lutra* (Numéro 8301096).

- Lemarchand, C., Boulade, Y., Esnouf, S., & Legrand, R. (2016). *Régime alimentaire de la loutre d'Europe en Auvergne : variations spatiales et saisonnières entre deux sites d'études*. 31.
- 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*(10), 1120-1124. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.026>
- Lemarchand, C., Rosoux, R., & Berny, P. (2011). Semi Aquatic Top-Predators as Sentinels of Diversity and Dynamics of Pesticides in Aquatic Food Webs: The Case of Eurasian Otter (*Lutra lutra*) and Osprey (*Pandion haliaetus*) in Loire River Catchment, France. *Pesticides in the Modern World - Risks and Benefits*. <https://doi.org/10.5772/17196>
- Leonards, P. E., van Hattum, B., Cofino, W. P., & Udo, U. A. (1994). Occurrence of non-ortho-, mono-ortho- and di-ortho-substituted PCB congeners in different organs and tissues of polecats (*Mustela putorius* L.) from the Netherlands. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *13*(1), 129-142. <https://doi.org/10.1002/etc.5620130118>
- Leonards, P.E.G., Zierikzee, Y., Brinkman, U. A. ., Cofino, W. P., van Straalen, N. M., & van Hattum, A. G. M. (1997). No Title. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *16*, 1807-1815.
- Leonards, Pim. 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*(9), 1807-1815. [https://doi.org/10.1897/1551-5028\(1997\)016<1807:TSDAOP>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(1997)016<1807:TSDAOP>2.3.CO;2)
- Levet, D., Le Hen, A., Jacques, S., Mouchelin, J., & Berly, A. (2008). *Guide pratiques des substances toxiques dans les eaux douces et littorales du bassin Seine-Normandie*.
- Libois, R., & Hallet, C. (1995). *Situation actuelle de la loutre, Lutra lutra, en Belgique et problématique de sa conservation*. *15*(2-3-4), 157-168.
- Life loutre. (2011). *Life loutre : bilan de 5 années d'actions en faveur d'une espèce emblématique de nos cours d'eau*.
- MacDonald, S. M., & Mason, C. F. (1994). *Statut et besoins de conservation de la loutre (Lutra lutra) dans le Paléarctique occidental*. Conseil de l'Europe. https://books.google.be/books?id=z%5C_KIS91oq3EC

- Malik, A., Alves, M., & Grohmann, E. (2014). Management of microbial resources in the environment. In *Management of Microbial Resources in the Environment*. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-5931-2>
- Martin, P. A., Mayne, G. J., Bursian, S. J., Tomy, G., Palace, V., Pekarik, C., & Smits, J. (2007). Immunotoxicity of the commercial polybrominated diphenyl ether mixture DE-71 in ranch mink (*Mustela vison*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, *26*(5), 988-997. <https://doi.org/10.1897/06-246R.1>
- 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*, *The*, *144*(1-3), 305-312. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(94\)90450-2](https://doi.org/10.1016/0048-9697(94)90450-2)
- Meganck, E. (2013). Un outil foncier à (re)découvrir : le remembrement agricole. *Les Cahiers nouveaux*, *85*, 36-39.
- Meyer, J. H., & Poncharal, B. (2012). L'eupéanisation de la politique environnementale dans les années 1970. *Vingtieme Siecle: Revue d'Histoire*, *113*(1), 117-126. <https://doi.org/10.3917/vin.113.0117>
- Mittermeier, R. A., & Wilson, D. E. (2009). *Handbook of the Mammals of the World, Vol. 1: Carnivores*. *1*, 727.
- Natagora. (2017). *Le loup*. 1-20. <https://www.natagora.be/download/39255>
- Nederlandt, N., Schmidt, G., Leclercq, C., Liégeois, S., Keulen, C., Motte, G., Libois, R., Schockert, V., & Celina, S. (2011). *Plan loutre 2011-2021 en Wallonie et au Grand-Duché de Luxembourg*.
- Nelson, C., Drouillard, K., Cheng, K., Elliott, J., & Ismail, N. (2015). Accumulation of PBDEs in an urban river otter population and an unusual finding of BDE-209. *Chemosphere*, *118*(1), 322-328. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.10.007>
- Olsen, L.-H. (2013). *Guide Delachaux des traces d'animaux* (Delachaux).
- Ozoliņš, J., Ornicāns, A., Stepanova, A., Lūkins, M., Dukule-Jakušenoka, K., Šuba, J., Pilāte, D., & Bagrade, G. (2018). Action Plan for Eurasian otter *Lutra lutra* Conservation. In *LSFRI Silava, Salaspils*. https://www.daba.gov.lv/upload/File/DOC_SAP/SAP_udrs_18_EN.pdf

- Parc Naturel Régional des Ballons des Vosges. (2012). Nom français : Faucon pèlerin Nom allemand : Wanderfalke. *Fiches descriptives des espèces de l'annexe I de la directive Oiseaux, Espèce d'i.*
- Parc naturel régional des Caps et Marais d'Opale. (2003). *Guide technique de la lutte contre l'érosion des sols en Caps et Marais d'Opale.* 10.
- Pigneur, L.-M., Michaux, J., & Jacob, G. (2018). Apport de la génétique pour l'étude de la dynamique des populations de Loutre d'Europe *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) en France. *naturae*, 6, 63-71.
- Poidevin, S., & Squilbin, C. (2005). Gisement des Polychlorobiphényles (PCB). *Les données de l'IBGE : Les déchets bruxellois : des données pour le plan, Fiche 1212*, 1-7.
- Poulenard, J., & Sabatier, P. (2016). *Le glyphosate ressuscite le DDT.* LaRecherche.
- Pountney, A., Filby, A. L., Thomas, G. O., Simpson, V. R., Chadwick, E. A., Stevens, J. R., & Tyler, C. R. (2015). High liver content of polybrominated diphenyl ether (PBDE) in otters (*Lutra lutra*) from England and Wales. *Chemosphere*, 118(1), 81-86. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.06.051>
- Quiñónez, C. A. L., Fuller, T. K., & Randhir, T. O. (2018). A review of otter distribution modeling: Approach, scale, and metrics. *IUCN/SSC Otter Specialist Group Bulletin*, 35(2), 97-127.
- Reuther, C. (1995). Habitat networking: a new chance for the otter in Europe? *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy*, 7(1-2), 229-238. <https://doi.org/10.4404/hystrix-7.1-2-4074>
- Reuther, C. (2004). *On The Way Towards an Otter Habitat Network Europe (OHNE) : Method and Results of an Area Assessment on the European and the German Level (HABITAT).*
- Riley, T., Waggitt, J. J., & Davies, A. J. (2020). Distribution modelling of the Eurasian Otter (*Lutra lutra*) on the Isle of Anglesey, Wales. *OTTER, Journal of the International Otter Survival Fund*, 30-39. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.24163.17444>
- Roe, D. (2019). Biodiversity loss — more than an environmental emergency. *The Lancet Planetary Health*, 3(7), e287-e289. [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(19\)30113-5](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(19)30113-5)
- Roos, A., Loy, A., de Silva, P., Hajkova, P., & Zemanová, B. (2015). *Lutra lutra*, Eurasian Otter. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 1-18. <https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7753->

- Roosens, L., Dirtu, A. C., Goemans, G., Belpaire, C., Gheorghe, A., Neels, H., Blust, R., & Covaci, A. (2008). Brominated flame retardants and polychlorinated biphenyls in fish from the river Scheldt, Belgium. *Environment International*, 34(7), 976-983. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.02.009>
- Rosoux, R., & Green, J. (2004). *La loutre* (Babelio (éd.); Belin).
- Rosoux, R., & Lemarchand, C. (2019). *La Loutre d'Europe* (Biotope).
- Schlessler, M., Agarad, M., Backeljau, T., & Baert, P. (2020). *Biodiversité 2020 : Actualisation de la stratégie nationale de la Belgique*. www.biodiv.be
- Schockert, V., Fichet, V., & Licoppe, A. (2020). *Plan d'action pour une cohabitation équilibrée entre l'homme et le loup en Wallonie*. 1-68.
- Shaw, S. D., & Kannan, K. (2009). Polybrominated diphenyl ethers in marine ecosystems of the American continents: Foresight from current knowledge. *Reviews on Environmental Health*, 24(3), 157-229. <https://doi.org/10.1515/REVEH.2009.24.3.157>
- Sigwart, J. D., Bennett, K. D., Edie, S. M., Mander, L., Okamura, B., Padian, K., Wheeler, Q., Winston, J. E., & Yeung, N. W. (2018). Measuring Biodiversity and Extinction-Present and Past. *Integrative and comparative biology*, 58(6), 1111-1117. <https://doi.org/10.1093/icb/icy113>
- Simmonet, F. (2008). *Statut de la Loutre d'Europe et risque de mortalité routière sur la Laita et les étangs du Loc'h et de Lannéec*. 1-122.
- Simmonet, F. (2013). L'épreinte du Réseau Loutre du Groupe Mammalogique Breton. *L'épreinte*, 4, 1-4.
- Singh, J. S. (2002). The biodiversity crisis: A multifaceted review. *Current Science*, 82(6), 638-647.
- Smit, M. D., Leonards, P. E. G., van Hattum, B., & de Jongh, A. W. J. . (1994). *PCBs in European otter (Lutra lutra) populations*.
- Šrédlová, K., Škrob, Z., Filipová, A., Mašín, P., Holecová, J., & Cajthaml, T. (2020). Biodegradation of PCBs in contaminated water using spent oyster mushroom substrate and a trickle-bed bioreactor. *Water Research*, 170. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.115274>

- UICN France. (2017). La Liste rouge des espèces menacées en France - Mammifères de France métropolitaine. In *UICN Comité Français*.
- Vrignon, A. (2012). Ecologie et politique dans les années 1970. *Vingtième siècle. Revue d'histoire*, 113, 179-190.
- Walker, K., Vallero, D. A., & Lewis, R. G. (1999). Factors influencing the distribution of lindane and other hexachlorocyclohexanes in the environment. *Environmental Science and Technology*, 33(24), 4373-4378. <https://doi.org/10.1021/es990647n>
- Wallonie. (2020). *Pollution de l'Escaut : Etat des lieux*. <https://www.wallonie.be/fr/actualites/pollution-de-lescaut-etat-des-lieux>
- WWF. (2020). *Rapport Planète Vivante 2020*. <https://f.hubspotusercontent20.net/hubfs/4783129/LPR/PDFs/ENGLISH-FULL.pdf>
- WWF Belgique. (2020). *Rapport planète vivante : la nature en Belgique*. https://adfinitas-statics-cdn.s3.eu-west-3.amazonaws.com/wwf/biodiversity-report/pdf/WWF_LPR+2019_FR_web.pdf
- Zoodyssée. (2021). *Loutre d'Europe*. <https://www.zoodysee.fr/decouvrir-le-parc/animaux/mammiferes/loutre-europe/>

Annexes

Annexe 1 : Les PCBs indicateurs

Structure	Substance	Congénères	N° CAS ¹	N° EINECS ²
-	Polychlorobiphényles	209 PCB	1336-36-3	215-648-1
PCB indicateurs				
mono-ortho PCB	2,4,4'-trichlorobiphényle	PCB28	7012-37-5	230-293-2
di-ortho PCB	2,2',5,5'-tétrachlorobiphényle	PCB52	35693-99-3	-
di-ortho PCB	2,2',4,5,5'-pentachlorobiphényle	PCB101	37680-73-2	-
di-ortho PCB	2,2',3,4,4',5'-hexachlorobiphényle	PCB138	35065-28-2	-
di-ortho PCB	2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphényle	PCB153	35065-27-1	-
di-ortho PCB	2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobiphényle	PCB180	35065-29-3	-

¹ n° CAS : Chemical Abstract Service number (numéro d'enregistrement unique)

² n° EINECS : numéro d'enregistrement d'une substance chimique dans l'Inventaire Européen des Substances chimiques Commerciales Existantes (EINECS)

Annexe 2 : Méthodes de préparation des échantillons

Site	Espèce	Préparation éch	Nombre d'éch total réalisé	Nombre d'éch utilisé
Amblève	Loches	1 individu/éch	6	5
	Vairons	2 individus/éch	5	5
Meuse	Gardons	1 tranche de 1,5 cm avant la nageoire dorsale/éch	6	5
Gueule	Gardons	0,5 individu/éch	10	5
Ourthe	Ablettes communes	0,5 individu/éch	12	5

Annexe 3 : Préparation du blanc procédure, blanc matrice et contrôle qualité (QC)

Pour chaque série d'analyse, un blanc procédé, un blanc matrice et un contrôle qualité était ajouté à la série d'échantillon. Ceux-ci permettent de contrôler les analyses réalisées sur le reste des échantillons mais également de repérer les potentielles contamination ayant eu lieu lors des manipulations.

Le blanc procédure (BP) permet de vérifier que les analyses se sont déroulées sans aucune contamination extérieure. En effet, le BP ne contient que du PCB 112 si l'on décèle un autre composé cela signifie qu'il y a eu une contamination durant les procédures. Notons qu'il y a des contaminations aux PCB 28, 51 et 101 dues à une utilisation historique du bâtiment. Par conséquent ce BP permet de supprimer ces contaminations de mes échantillons.

Le blanc matrice (BM) se différencie du précédent par la présence de poudre de cabillaud. En effet, de la poudre de cabillaud est ajoutée dans cet échantillon en lieu et place des échantillons de poissons secs. Par la suite le BM suit exactement le même protocole.

Enfin, le contrôle qualité (QC) contient le même substrat que le BM mais dans lequel on a inséré 50 µL d'une solution contenant les mix 3 et 14 et les PBDE 47-99 (à 100pg/ µL) . Cela permet de déceler les potentielles erreurs dans les analyses puisque lorsque l'on soustrait la valeur du BM, on obtient alors la quantité des composés (mix 3 et 14 et PBDE 47 et 99) ajoutés.

Annexe 4 : Paramètres de la méthode 20

- Pression 1 500 psi
- Température : 125°C
- Solvant :
Hexane/dichlorométhane
(90 :10)
- Chaleur : 6 minutes
- Statique : 5 minutes
- Rinçage : 60% vol
- Purge : 300 secondes
- Cycle : 1



Annexe 5 : Descriptif de la colonne utilisée pour la chromatographie en phase gazeuse

- Colonne OPTIMA 5MS
- Non polaire – basse polarité
- Longueur : 60 m
- Diamètre interne de la colonne : 0,25 mm
- Épaisseur de film : 25 µm

Technical data	Downloads
High performance GC capillary columns, ultra-low bleeding, polarity similar to 5 % diphenyl – 95 % dimethylpolysiloxane, nonpolar – low polar GC phase, meets USP G27 G36. Similar phases: DB-5 MS, HP-5 MS, Ultra-2, Equity-5, CP-Sil 8 CB low bleed/MS, Rtx-5SIL-MS, Rtx-5 MS, Rxi-5 MS, 007-5 MS, BPX5, MDN-5S, AT-5 MS, VF-5 MS	
Hazardous material	No
Method	Gas chromatography (GC)
Type	GC column
Brand	OPTIMA
Phase	OPTIMA 5 MS Accent
Composition	Silarylene phase with ultra-low bleeding – polarity similar to 5 % diphenyl – 95 % dimethylpolysiloxane
USP listing	G27, G36
Polarity	Nonpolar–low polar
Column inner diameter	0.25 mm
Film thickness	0.25 µm
Column length	60 m
Recommended application(s)	All-round phase for environmental analyses, EPA methods, Food and drug analyses, Gas chromatography, GC, PCB, Pesticides, Trace analyses
Tmax isotherm	340 °C
Tmax temp. program	360 °C
Housing type	Wall coated open tubular (WCOT) capillary column; internal wall of capillary is coated with a very fine film of liquid stationary phase
Hardware	Fused Silica coated with polyimide coiled/wound on metal cage
Cage size	7" (inch)
Integrated precolumn	No
Storage temperature	RT
Scope of delivery	1x GC column coiled/wound on metal cage, user manual, certificate of analysis

Annexe 6 : Descriptif du détecteur à capture d'électron (ECD)

Le détecteur à capture d'électron est composé d'une chambre d'ionisation avec une plaque de nickel sur laquelle est appliquée une couche de l'isotope Ni radioactif. Le gaz vecteur qui est généralement du diazote (N₂) ou de l'argon (Ar)/10% méthane est ionisé à l'aide d'un rayonnement beta. Les électrons vont migrer vers l'électrode et ainsi former un courant.

Lorsque des molécules contiennent des groupements électronégatifs, ceux-ci vont capter des électrons et former des ions négatifs réduisant ainsi le courant. Au final, plus les électrons se déplacent lentement et plus la capture sera facile.

Annexe 7 : Concentrations moyennes et écarts-types des différents groupes de polluants

	<i>Amblève (Vairon)</i>	<i>Amblève (Loche)</i>	<i>Gueule (Gardon)</i>	<i>Meuse (Gardon)</i>	<i>Ourthe (Alette commune)</i>
PCBs	33,363 +/- 5,025 ng/g	34,330 +/- 9,133 ng/g	32,713 +/- 4,803 ng/g	110,281 +/- 32,815 ng/g	224,261 +/- 110,283 ng/g
Pesticides	4,805 +/- 0,886 ng/g	3,928 +/- 0,819 ng/g	7,604 +/- 1,180 ng/g	6,776 +/- 1,635 ng/g	26,575 +/- 22,119 ng/g
BDEs	0,354 +/- 0,311 ng/g	0,862 +/- 0,204 ng/g	2,597 +/- 0,573 ng/g	0,808 +/- 0,586 ng/g	2,201 +/- 2,963 ng/g
DDTs	2,984 +/- 0,556 ng/g	2,277 +/- 0,421 ng/g	6,095 +/- 1,153 ng/g	5,290 +/- 1,467 ng/g	22,125 +/- 17,446 ng/g
HCB	0,044 +/- 0,062 ng/g	0,016 +/- 0,022 ng/g	0,057 +/- 0,047 ng/g	0,382 +/- 0,237 ng/g	1,567 +/- 0,720 ng/g
HCHs	1,713 +/- 0,362 ng/g	1,560 +/- 0,370 ng/g	1,403 +/- 0,442 ng/g	1,104 +/- 0,554 ng/g	2,883 +/- 4,533 ng/g

Annexe 8 : Corrélations entre les variables et les facteurs (composantes principales)

	F1	F2
PCB28	0,731	0,471
PCB52	0,797	0,034
PCB101	0,976	-0,150
PCB118	0,983	-0,133
PCB153	0,310	0,897
PCB138	0,885	0,404
PCB180	0,986	-0,108
HCB	0,786	0,479
DDE	0,931	-0,112
DDD	0,989	-0,053
DDT	0,965	-0,090
PPDDT	0,885	0,404
AHCH	-0,186	-0,364
BHCH	0,852	-0,496
GHCH	0,800	-0,566
BDE47	0,705	-0,527

Annexe 9 : Concentrations moyennes et écarts-types détaillés des différents polluants

	Ambième (Vairon)	Ambième (Loche)	Gueule (Gardon)	Meuse (Gardon)	Ourthe (Ablette commune)
PCB 28	3,847 +/- 0,408 ng/g	3,836 +/- 0,827 ng/g	2,727 +/- 0,774 ng/g	4,801 +/- 1,112 ng/g	9,929 +/- 3,268 ng/g
PCB 52	9,545 +/- 1,212 ng/g	10,665 +/- 2,677 ng/g	6,660 +/- 2,005 ng/g	8,977 +/- 1,123 ng/g	16,195 +/- 7,796 ng/g
PCB 101	5,101 +/- 1,210 ng/g	5,312 +/- 2,197 ng/g	4,851 +/- 0,933 ng/g	13,877 +/- 4,897 ng/g	36,015 +/- 34,608 ng/g
PCB 118	2,248 +/- 0,591 ng/g	2,411 +/- 0,866 ng/g	2,569 +/- 0,435 ng/g	7,083 +/- 2,162 ng/g	19,035 +/- 18,844 ng/g
PCB 138	3,954 +/- 0,663 ng/g	4,150 +/- 1,027 ng/g	5,074 +/- 0,778 ng/g	17,454 +/- 5,966 ng/g	31,438 +/- 12,916 ng/g
PCB 153	6,532 +/- 1,000 ng/g	6,015 +/- 1,536 ng/g	8,448 +/- 1,382 ng/g	37,645 +/- 11,472 ng/g	50,071 +/- 35,371 ng/g
PCB 180	2,136 +/- 0,204 ng/g	1,941 +/- 0,651 ng/g	2,389 +/- 0,449 ng/g	20,443 +/- 7,323 ng/g	61,579 +/- 60,141 ng/g
p,p'-DDE	2,711 +/- 0,463 ng/g	2,076 +/- 0,361 ng/g	5,543 +/- 0,987 ng/g	2,308 +/- 0,467 ng/g	14,143 +/- 10,725 ng/g
p,p'-DDD	0,221 +/- 0,071 ng/g	0,159 +/- 0,082 ng/g	0,494 +/- 0,192 ng/g	1,982 +/- 0,566 ng/g	5,332 +/- 4,647 ng/g
o,p'-DDT	0,011 +/- 0,023 ng/g	0 ng/g	0,006 +/- 0,009 ng/g	0,823 +/- 0,422 ng/g	2,332 +/- 2,428 ng/g
p,p'-DDT	0,040 +/- 0,007 ng/g	0,042 +/- 0,010 ng/g	0,051 +/- 0,008 ng/g	0,176 +/- 0,060 ng/g	0,317 +/- 0,130 ng/g
α-HCH	0,230 +/- 0,077 ng/g	0,162 +/- 0,086 ng/g	0,265 +/- 0,072 ng/g	0,223 +/- 0,121 ng/g	0,116 +/- 0,053 ng/g
β-HCH	0 ng/g	0 ng/g	0,006 +/- 0,012 ng/g	0 ng/g	0,051 +/- 0,115 ng/g
γ-HCH	1,484 +/- 0,291 ng/g	1,398 +/- 0,323 ng/g	1,132 +/- 0,380 ng/g	0,878 +/- 0,465 ng/g	2,715 +/- 4,386 ng/g
BDE 47	0,354 +/- 0,311 ng/g	0,862 +/- 0,204 ng/g	2,597 +/- 0,573 ng/g	0,808 +/- 0,586 ng/g	2,201 +/- 2,963 ng/g

Annexe 10 : Résultats du test de Mann-Whitney avec comme valeur seuil une p-value < 0,05

	AL - AV	AL - G	AL - M	AL - O	AV - G	AV - M	AV - O	G - M	G - O	M - O
PCB28	1,000	0,095	0,310	0,008	0,016	0,222	0,008	0,008	0,008	0,008
PCB52	0,421	0,032	0,548	0,310	0,056	0,548	0,151	0,032	0,095	0,151
PCB101	1,000	0,841	0,008	0,008	1,000	0,008	0,008	0,008	0,008	0,056
PCB118	0,690	0,841	0,008	0,008	0,421	0,008	0,008	0,008	0,008	0,095
PCB153	0,548	0,032	0,008	0,151	0,056	0,008	0,151	0,008	0,151	0,548
PCB138	0,690	0,222	0,008	0,008	0,056	0,008	0,008	0,008	0,008	0,095
PCB180	0,310	0,310	0,008	0,008	0,310	0,008	0,008	0,008	0,008	0,056
HCB	0,524	0,175	0,011	0,011	0,690	0,012	0,012	0,008	0,008	0,008
p,p'-DDE	0,032	0,008	0,421	0,008	0,008	0,421	0,008	0,008	0,056	0,008
p,p'-DDD	0,310	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,095
o,p'-DDT	<0,0001	0,444	0,007	0,007	1,000	0,010	0,010	0,011	0,011	0,421
p,p'-DDT	0,690	0,222	0,008	0,008	0,056	0,008	0,008	0,008	0,008	0,095
a-HCH	0,222	0,151	0,421	0,421	0,841	1,000	0,056	0,841	0,008	0,095
b-HCH	1,000	0,444	1,000	<0,0001	0,444	1,000	<0,0001	0,444	1,000	<0,0001
g-HCH	0,841	0,310	0,056	0,310	0,151	0,095	0,222	0,548	0,690	0,841
BDE47	0,056	0,008	0,690	0,690	0,008	0,310	0,032	0,008	0,151	0,310

Annexe 11 : Formule pour estimer la concentration moyenne en PCBs (mg/kg P.L.) dans les tissus de loutres à partir de celle retrouvée dans les tissus de poissons (mg/kg P.F.).

$$C_m = abRCf \frac{1 - e^{-kt}}{k} \quad (2)$$

where

C_m = the PCB content in otter tissue (mg kg⁻¹ lipid)

a = the assimilation efficiency of otters for PCBs (0.916, from Smit, 1990)

b = the conversion factor from fresh weight to lipid weight in liver (29.69 for otters, from Jefferies and Hanson, 1987)

R = the food ration, g food per day per g body weight (0.125, calculated from Wayre, 1979)

C_f = the content of PCB in food (fresh weight) equivalent to the calculated daily intake assuming 1 kg food is eaten per day (Mason and Macdonald, 1986)

k = the excretion constant (0.007, derived from a half life of PCBs in mink of ca. 98 days, Leonards *et al.*, 1994, using data from Hornshaw *et al.*, 1983)

t = the exposure of PCBs in days. In the present study 730 days were used, because the otter first breed at 2 yr of age (Mason and Macdonald, 1986) and it is the impact of PCBs on reproduction which is of most concern.