

Utilisation de *Gammarus pulex* (crustacé, amphipode) comme indicateur de la contamination en xénobiotiques hydrophobes et de l'impact reprotoxique du bassin versant de l'Orge

Khawla Tlili¹, Fabrice Alliot², Martine Blanchard², Catherine Bourges², Marc Chevreuil²,
Annie Desportes², Marie-Jeanne Teil², Pierre Labadie^{1*}

Olivier Geffard^{3*}, R. Tutundjian³

1 : UMR 7619 Sisyphe, CNRS/UPMC/EPHE, Tour 46/56 4^{ème} ét., 4 place Jussieu 75252 Paris cedex 05

2 : EPHE, Laboratoire Hydrologie Environnement, UMR 7619 Sisyphe, CNRS/UPMC/EPHE Tour 46/56 4^{ème} ét., 4 place Jussieu 75252 Paris cedex 05

3 : Cemagref, Laboratoire d'écotoxicologie, UR BELY, TR EXPER, 3, bis quai Chauveau, 69336 Lyon

* contact : pierre.labadie@upmc.fr, olivier.geffard@cemagref.fr

1 . Introduction

Un des axes de travail abordés dans le thème « Perturbateurs endocriniens » du programme PIREN-Seine est la bioaccumulation des contaminants organiques par les organismes aquatiques et les effets reprotoxiques associés à cette bioaccumulation. Dans ce cadre, des travaux sont réalisés depuis 2007 sur une chaîne trophique piscicole modèle, sur le site atelier de l'Orge Aval. Les travaux réalisés cette année avaient pour objectif d'étudier la bioaccumulation de xénobiotiques lipophiles par un autre type d'organisme, un macro-invertébré dulçaquicole : l'amphipode benthique *Gammarus pulex*. Cet organisme a été retenu en raison de son caractère ubiquiste et relativement sédentaire. Les gammares constituent en effet l'une des familles d'invertébrés les plus répandues dans les cours d'eau européens (Felten et al. 2008). Les gammares constituent par ailleurs une proie pour de nombreuses espèces de poissons d'eau douce ; ils représentent ainsi un maillon important dans la chaîne trophique dulçaquicole. De plus, en raison de son mode de vie benthique, le gammare est en contact quasi-permanent avec les sédiments, ce qui favorise son exposition aux micropolluants hydrophobes accumulés dans ce compartiment environnemental. Or, la bioaccumulation de ce type de contaminants chez les gammares est très peu documentée (Tilghman et al. 2009).

Trois familles de micropolluants lipophiles, étudiées par ailleurs dans le cadre du PIREN-Seine, ont ainsi été considérées :

- les éthers de biphényles polybromés (PBDE), qui sont des retardateurs de flamme employés pour réduire l'inflammabilité de nombreux matériaux et appareils électriques ou électroniques. Chez les vertébrés, les PBDE sont suspectés d'être des perturbateurs du système thyroïdien (de Wit, 2002).

- les polychlorobiphényles (PCB), composés utilisés massivement jusque dans les années 1980 pour de nombreuses applications (lubrifiants, diélectriques...). Les PCB, composés carcinogènes, sont également des perturbateurs endocriniens susceptibles d'agir aussi bien sur le système sexuel que sur la thyroïde (Brar et al. 2009). Les PCB sont ici considérés comme des composés d'un intérêt actuel certain dans le contexte

national (plan PCB), mais également comme des contaminants « historiques » dont le devenir (bioaccumulation, notamment) est encore largement mieux documenté que celui des PBDE, étudiés essentiellement depuis le début des années 2000.

- les phtalates, composés principalement utilisés comme plastifiants, présents dans de nombreux éléments de notre entourage immédiat (emballages, vêtements, surfaces des habitations). Ces composés possèdent des propriétés oestrogénomimétiques (Vethaak et al. 2005).

Parallèlement, en complément aux travaux réalisés en 2008, des organismes ont été prélevés dans le but d'évaluer l'impact toxique du milieu sur le succès reproducteur de cette espèce (nombre de jeunes normaux produits). En 2008, nous avons pu mettre en évidence un impact fort sur le site Amont STEP-Briis s/Forge (Prédecelle), avec un pourcentage d'embryons anormaux supérieur à 40% (Geffard et al. 2010).

2 . Matériel et méthodes

2.1 Sites expérimentaux

Deux campagnes d'échantillonnage ont été réalisées en avril-mai 2009 pour prélever des gammarès, des sédiments et de l'eau en différents points situés dans le bassin versant de l'Orge (site atelier du PIREN Seine depuis 2007) ou à proximité immédiate (Bièvre) (tableau 1).

Tableau 1. Sites d'étude

* : prélèvement en octobre 2008, analyse de micropolluants uniquement

Station	Cours d'eau	Impact anthropique estimé <i>a priori</i>
S ^t Yon	Renarde	X
Verrières-le-Buisson	Bièvre	XXX
Saint-Martin-de-Bréthencourt	Orge	X
Roinville	Orge	XX
Epinay s/Orge	Yvette	XXXX
Aval Limours*	Prédecelle	XXXX
Amont STEP Briis s/Forge*	Prédecelle	XX
Aval STEP Briis s/Forge	Prédecelle	XXXXXX
Aval étang Vaugrigneuse	Prédecelle	XXXXXX

Ces stations ont été choisies de manière à refléter la diversité des états de contamination observés précédemment (Prédecelle, Orge, Yvette) ou supposés (Bièvre, Orge amont). Ainsi, des stations ont été retenues en tête de bassin, en milieu rural (S^t Yon, S^t Martin), en milieu urbain dense (Verrières-le-Buisson et Epinay) ainsi qu'en amont et en aval de rejets ponctuels connus dans le cas des stations périurbaines de la Prédecelle (RUTP de Limours et STEP de Briis s/Forges).

Sur chaque station, nous avons procédé à l'échantillonnage d'eau (phases dissoute + particulaire), de sédiment de surface (0-2 cm) et à celui de gammarès (environ 5-10 g frais pour l'analyse des micropolluants).

Pour les marqueurs d'impact sur la reproduction, les prélèvements se sont focalisés sur des

organismes en couples, ceci dans le but de s'assurer que le développement des ovocytes et des embryons soit bien démarré. Selon la densité d'organismes présents sur les sites retenus, nous avons pu prélever des individus sur 6 des stations étudiées (S^t Yon, Verrières-le-Buisson, Epinay s/Orge, S^t Martin de Bréthencourt, Aval étang Vaugrigneuse et Roinville).

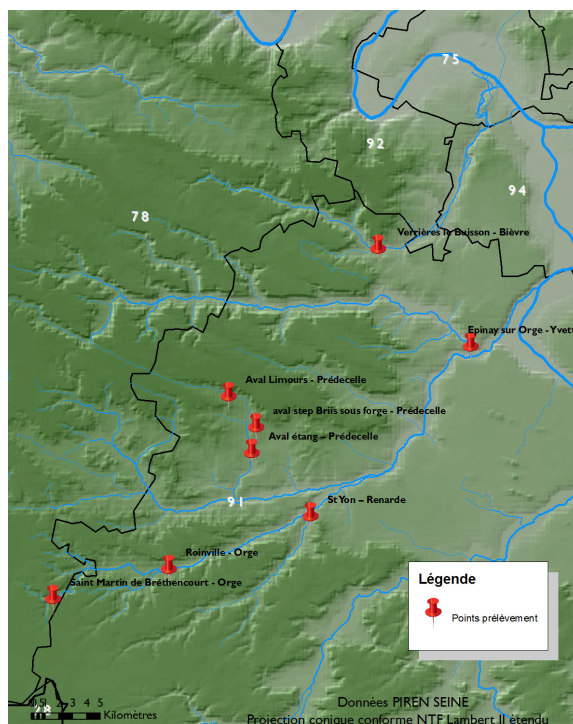


Figure 1. Localisation des stations d'échantillonnage

2.2 Analyse des PCB, des PBDE et des phtalates

Pour chaque famille, les composés ciblés sont les suivants :

- PCB dits « indicateurs » : 28, 52, 101, 118, 138, 153 et 180
- PBDE : 17, 28, 49, 66, 47, 71, 85, 99, 100, 119, 126, 138, 153, 154, 156, 183, 184, 191, 194, 195, 196, 197, 201, 202, 204, 205, 206, 207, 208 et 209
- Phtalates : DMP, DEP, DNBP, BBP, DEHP et DNOP

Le traitement des échantillons est similaire à celui décrit précédemment (Labadie et al. 2009). Brièvement, les échantillons d'eau sont filtrés et les composés présents en phase dissoute sont extraits par extraction liquide /liquide (hexane/dichlorométhane), les extraits étant ensuite fractionnés sur Florisil et purifiés sur cartouche multicouches (silice acide/silice/alumine) dans le cas des contaminants halogénés. Les échantillons solides (gammars, sédiment et phase particulaire des échantillons d'eau) sont traités par ultrasons, puis purifiés comme décrit précédemment. L'analyse des PBDE est ensuite réalisée par GC/MS/MS (impact électronique) tandis que les PCB sont analysés par GC-MS (ionisation chimique en mode négatif) et les phtalates par GC-ECD, selon des méthodes développées et validées au laboratoire en 2009. On notera que la quantification des analytes est réalisée par étalonnage interne, à l'aide des étalons internes suivants :

- BDE 77, ¹³C-BDE 153, BDE 181 et ¹³C-BDE 209 pour les PBDE
- CB 30 et CB 107 pour les PCB
- Dipentyl phtalate pour les phtalates

Par ailleurs, dans un souci d'assurance qualité, des blancs analytiques ont été réalisés pour chaque série d'échantillons (en moyenne un blanc pour 6 échantillons). En outre, différents paramètres d'accompagnement (taux de lipides chez *G. pulex*, carbone organique dissous particulaire, carbone organique sédimentaire) sont toujours en cours de détermination. Ces données seront utilisées sous peu afin d'approfondir les relations existant entre contamination du biotope et bioaccumulation des PCB, des phtalates et des PBDE par *G. pulex*.

2.3 Biomarqueurs de toxicité

2.3.1 Détermination du stade de mue

La détermination des stades de mue est effectuée sur la base des critères définis et proposés par Geffard et al. (2010) chez *Gammarus fossarum*. Cette méthode est basée sur l'observation microscopique des tissus à l'extrémité des périopodes (voir Fig. 2). Les extrémités des périopodes des 3^{èmes} et 4^{èmes} paires, sont sectionnées au niveau du carpopodite avec des ciseaux de Wecker et montées entre lame et lamelle. La stade de mue, caractérisé selon l'évolution des tissus du périopodite néoformé se fait sous microscope à des grossissements de 400 et 630 fois.

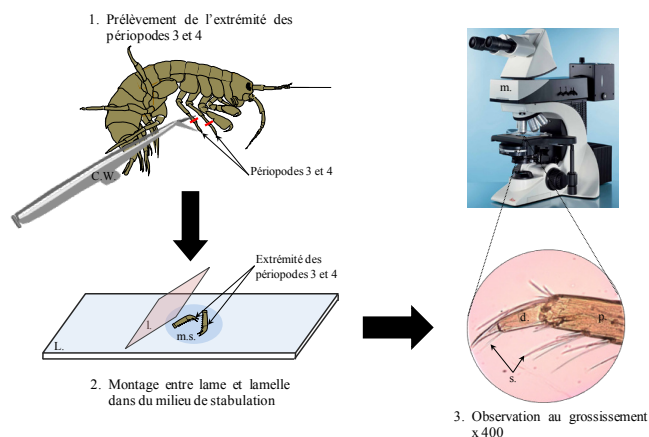


Figure 2 : Schéma de la procédure utilisée pour déterminer le stade de mue des organismes. c.w. : ciseaux de Wecker ; d. : dactilopodite ; L. : lame ; l. : lamelle ; m. : microscope ; m.s. : milieu

2.3.2 Détermination du nombre d'ovocyte et d'embryon

La figure 3 illustre la procédure utilisée pour mesurer le nombre d'ovocyte et d'embryon en cours de développement chez les femelles de *G. pulex* prélevées sur les différentes stations. Le nombre d'ovocytes présent dans chacune des gonades est déterminé par observation *in vivo* au travers de la cuticule (x 30) à l'aide d'une loupe binoculaire. Contrairement à ce qui est observé chez d'autres espèces de crustacés, la maturation des ovocytes se fait par « batch » et de façon synchronisée, ce qui permet aisément de déterminer le nombre d'ovocytes qui seront pondues à la fin du cycle de vitellogénèse. Les embryons sont retirés délicatement du marsupium et placés dans une goutte d'eau et ensuite dénombrés à l'aide d'une loupe binoculaire (x 30).

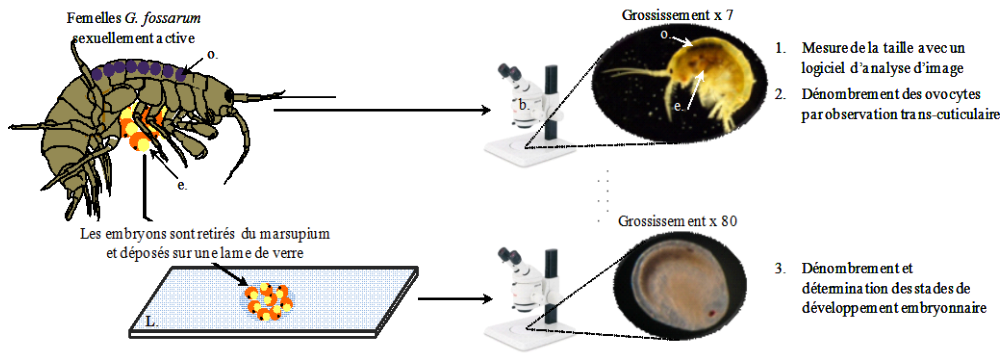


Figure 3. Procédure pour la détermination du nombre d'ovocytes et d'embryons chez le gammaride

2.3.3 Développement embryonnaire

Au cours de nos précédents travaux nous avons proposé une caractérisation et description du développement des embryons de gammaride au cours du cycle de reproduction (figure 4). Chaque stade de mue se caractérise par un stade embryonnaire avec une occurrence supérieure à 90%. Par conséquent, dans ces travaux, nous avons utilisé ces informations pour déterminer et mesurer sur chaque station, le pourcentage d'embryons anormaux. Est considéré comme anormal tout embryon présentant des malformations, mais également tout embryon étant en retard par rapport aux autres et par rapport au stade de mue dans laquelle se trouve la femelle.

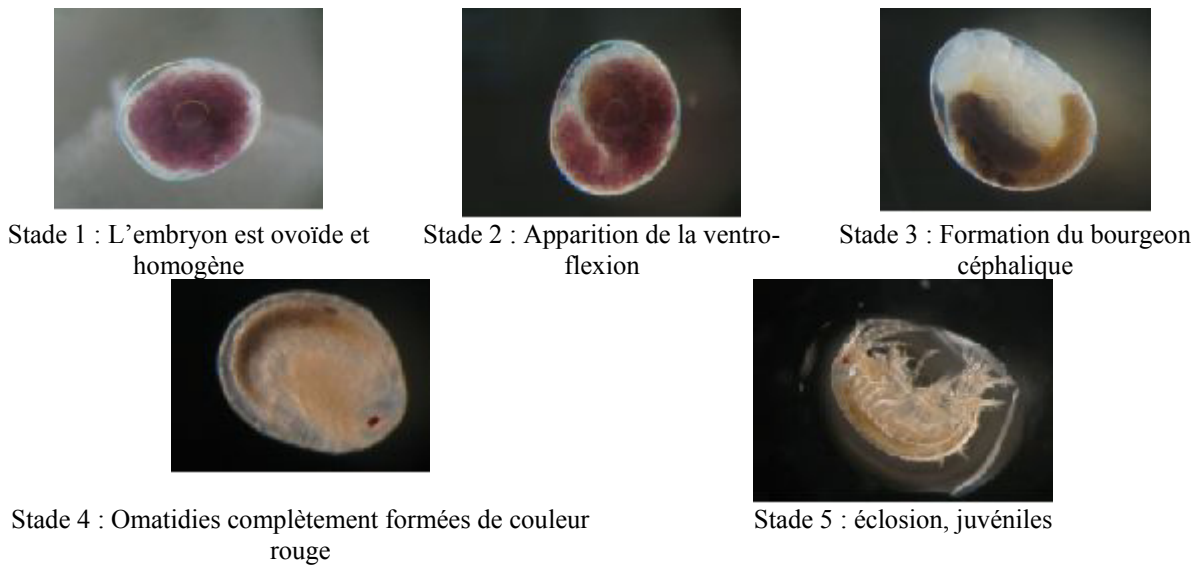


Figure 4 : Description des différents stades de développement embryonnaire chez *G. fossarum* au cours du cycle de reproduction.

3 Résultats et discussion

3.1 Teneurs en PBDE dans les sédiments

Les teneurs en PBDE observées dans les sédiments sont représentées sur la figure 5. Les résultats obtenus sont relativement conformes à l'état de contamination attendu *a priori*, sur la base des données collectées en 2008 et sur la base des sources suspectées. On remarquera néanmoins que deux sites périurbains (Verrières-le-Buisson et Roinville) présentent des teneurs en BDE 209 relativement élevées. Ces valeurs peuvent probablement être expliquées par l'existence de sources ponctuelles de PBDE dans ces secteurs : effluents domestiques ou RUTP. Une telle absence de corrélation a également été observée précédemment (Wang et al., 2009). Globalement, les teneurs observées sont assez faibles et se situent dans la limite basse des niveaux observés dans les milieux anthropisés en Europe (Law et al. 2008).

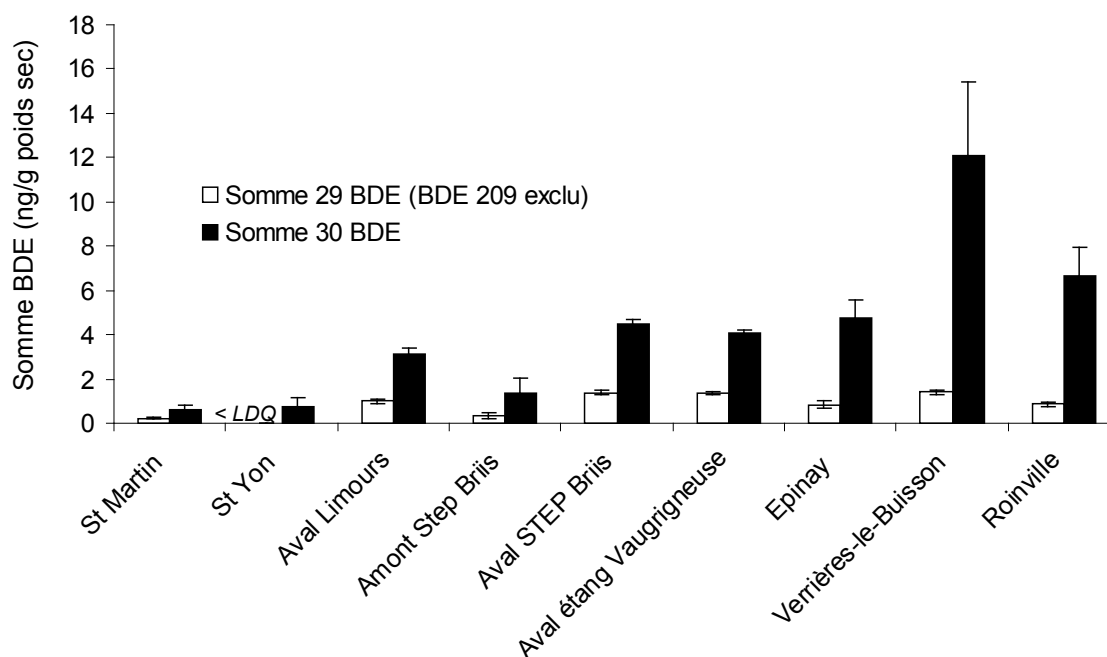


Figure 5. Teneurs moyennes en PBDE dans les sédiments étudiés (ng/g, poids sec) ; les barres d'erreur représentent l'écart-type (n=3). LDQ : limite de quantification

3.2 Bioaccumulation des PBDE par *G. pulex*

Les résultats présentés ci-après (figure 6) mettent en évidence la bioaccumulation des PBDE par *G. pulex*. Les niveaux observés (Σ PBDE) sont relativement faibles et varient entre 0,3 et 11,7 ng/g (poids sec). Sur la station de Roinville, les teneurs observées chez *G. pulex* sont ainsi 5 à 10 fois plus faibles que celles observées chez deux espèces de poissons, le gardon (*Rutilus rutilus*) et le goujon (*Gobio gobio*) (Labadie et al. 2009). Deux hypothèses peuvent expliquer cette différence : (i) le faible taux de lipides observé chez *G. pulex* (inférieur à 5 % du poids frais), inférieur à celui observé dans le muscle de gardon et de goujon et (ii) la position de *G. pulex* dans les premiers niveaux de la chaîne trophique, ce qui limite les possibilités de bioamplification (Yu et al. 2009).

Les teneurs observées sont inférieures à celles observées chez le gammaride *Echinogammarus stammeri* Karaman (Vigano et al. 2009), comprises entre 8 et 300 ng/g. Ceci peut s'expliquer par la différence de contamination du biotope entre les stations considérées. Vigano et al. (2009) ont en effet prélevé leurs échantillons dans un milieu plus fortement contaminé, puisque les niveaux de PBDE observés dans leurs échantillons de sédiment étaient compris entre 55 et 144 ng/g (poids sec). Or, les résultats de notre étude montrent qu'il existe un lien entre contamination du sédiment et contamination des gammarides (test de

Pearson, $p = 0,05$) et le rapport moyen des teneurs chez *G. pulex* et dans les sédiments est égal à 5,2 (BDE 209 exclu). Comme l'illustre la figure 3 pour le BDE 47, cette relation linéaire peut être décrite par l'équation suivante : $Teneur\ BDE\ G.\ pulex = 11 \times Teneur\ BDE\ sédiment - 0,4$ ($R^2=0,58$, $p < 0,05$). Une telle corrélation est également observée pour d'autres BDE tétra- (49) et penta-bromés (99 et 100), mais avec des rapports *G. pulex* / sédiment plus faibles que ceux observés pour le BDE 47, peut-être en raison de la formation de ce dernier par métabolisation *in vivo* (cf. ci-après).

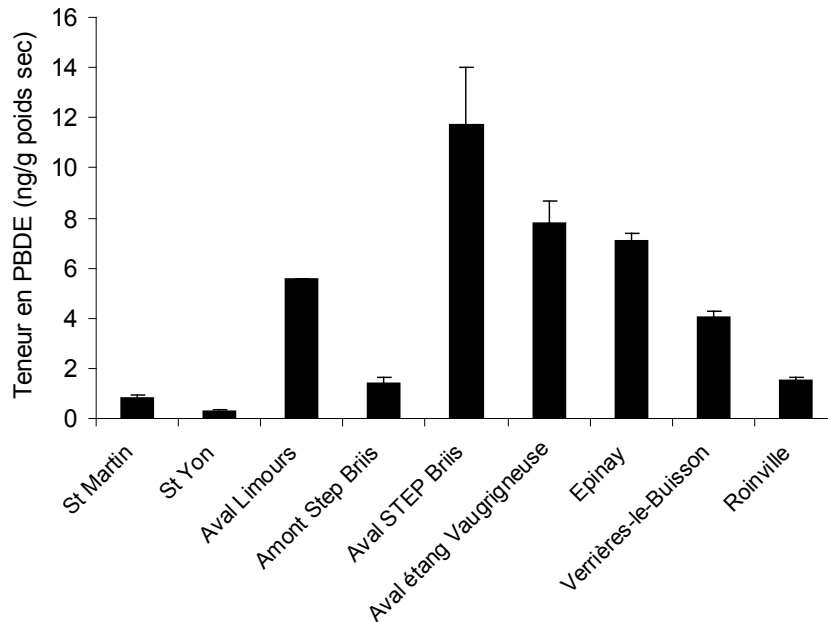


Figure 6. Teneurs moyennes en PBDE ($\Sigma 29$) chez *G. pulex* (ng/g, poids sec); les barres d'erreur représentent l'écart-type (n=3). * Aval Limours : n=1.

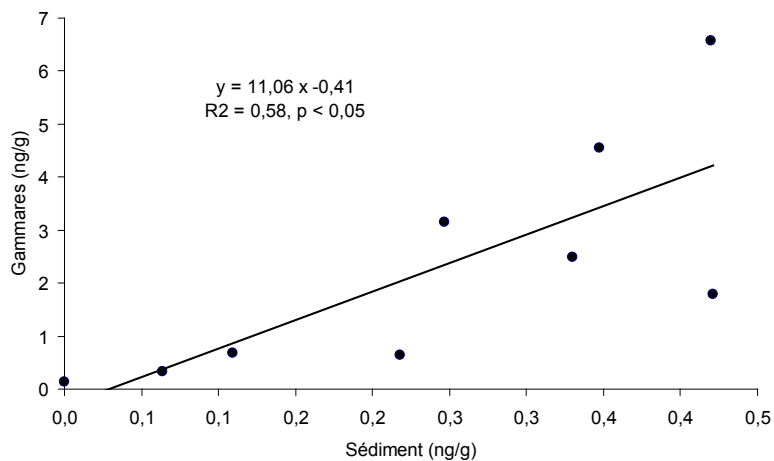


Figure 7. Relation entre la teneur en BDE-47 chez *G. pulex* et dans le sédiment

Le profil moléculaire des PBDE observé chez *G. pulex* est très différent de celui observé dans le sédiment (Figure 8). En effet, alors que le BDE 209 est largement majoritaire dans ce dernier compartiment, il n'est pas détecté chez *G. pulex*. Le BDE 209, seul BDE dont l'emploi était encore autorisé jusqu'en 2008 dans l'Union Européenne, est généralement considéré comme peu biodisponible en raison d'une hydrophobicité très marquée ($\log K_{OW} \sim 10$) et d'une taille moléculaire trop importante qui induit une gêne stérique et une moindre pénétration de ce BDE dans les cellules (Labandeira et al. 2007).

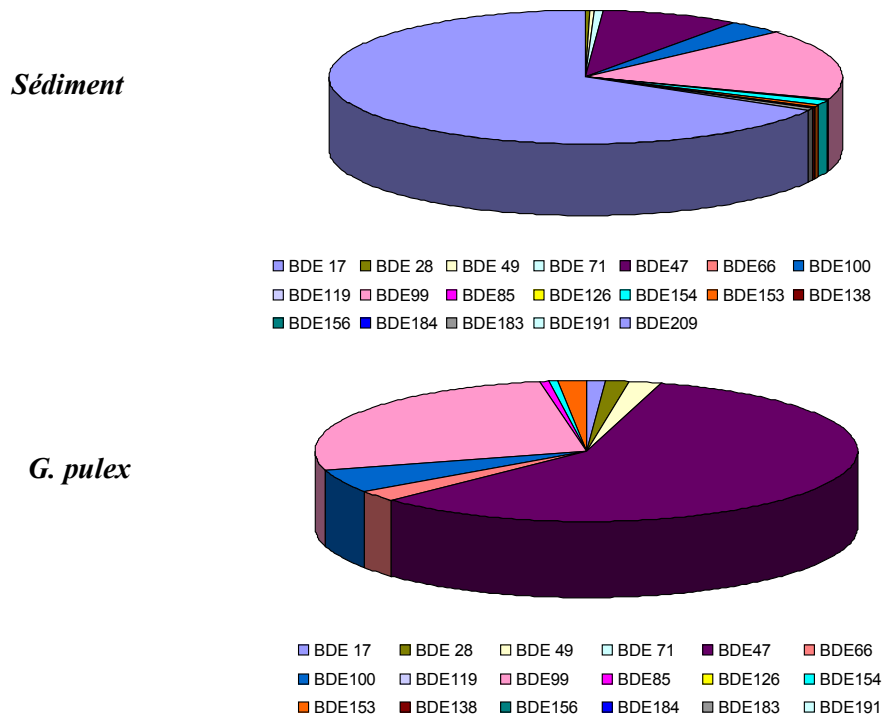


Figure 8. Profil moléculaire des PBDE dans le sédiment et les gammarès ; station « aval étang de Vaugrigneuse »

On observe chez *G. pulex* une bioaccumulation préférentielle des PBDE les plus légers (tri, tétra et penta-bromés), le composé majoritaire est le BDE 47 et (Figure 8). Cette accumulation préférentielle, communément observée chez les organismes aquatiques, est probablement liée à la métabolisation des congénères de degré de bromation plus élevé (Wang et al. 2009) (figure 9). On peut également remarquer que le rapport BDE 47 / BDE 99 est 2,1 fois plus faible chez *G. pulex* que dans le sédiment ($p = 0,01$, test de Mann-Whitney). Cette différence est en excellent accord avec celle observée chez un autre invertébré, le mollusque bivalve *Mytilus edulis*, par Wang et al. 2009 (valeur identique : 2,1), mais elle est plus faible que celle observée chez la plupart des poissons (Law et al. 2003). Ceci s'explique probablement par des différences dans les systèmes enzymatiques responsables du catabolisme des xénobiotiques chez ces différents organismes. Enfin, le rapport des teneurs en BDE 100 / BDE 99, les deux principaux congénères pentabromés, a également été étudié. Ce rapport est significativement plus élevé chez *G. pulex* que dans le sédiment (0,23 Vs 0,19, $p=0,01$), ce qui indique un catabolisme plus élevé du BDE 99. Ces résultats sont en bon accord avec ceux observés chez d'autres invertébrés aquatiques (Xiang et al. 2007 ; Wang et al. 2009).

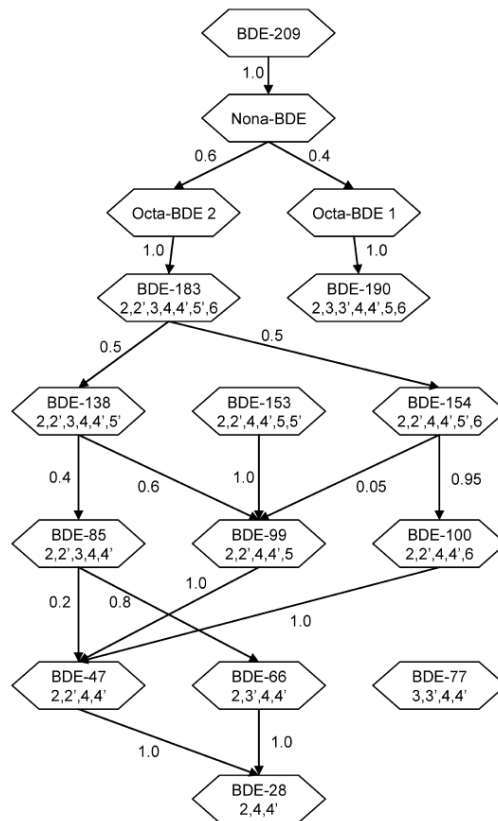


Figure 9. Voies de biotransformation des principaux PBDE (Bhavsar et al. 2008)

3.3 Bioaccumulation des phtalates et des PCB ; comparaison avec les PBDE

3.3.1 Phtalates

Les teneurs en phtalates ($\Sigma 7$) observées dans les sédiments sont comprises entre 10 et 136 ng/g (poids sec) et sont, en moyenne, 70 fois supérieures à celle observées pour les PBDE. Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre les teneurs sédimentaires en phtalates et en PBDE (figure 10), ce qui peut s'expliquer (i) par le fait que phtalates et PBDE n'ont pas rigoureusement les mêmes sources ou (ii) que les phtalates, de par leurs propriétés plus hydrophiles et leur caractère moins persistants ont une dynamique biogéochimique différente de celle des PBDE.

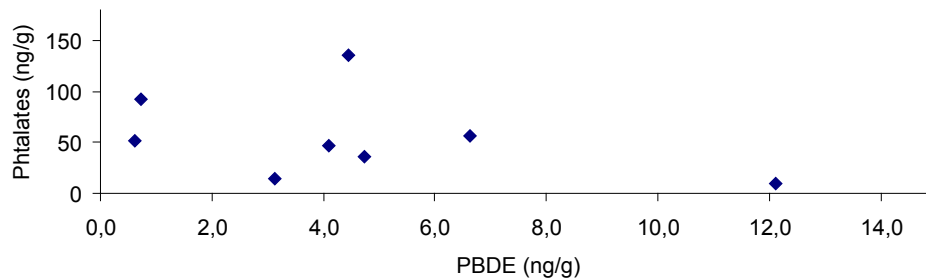


Figure 10. Teneurs sédimentaires en phtalates en fonction des teneurs en PBDE

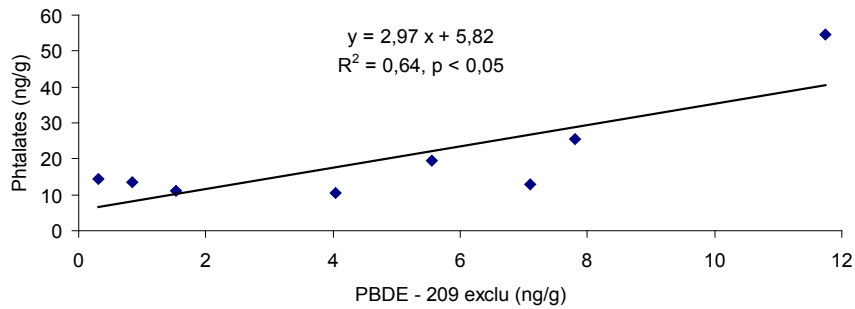


Figure 11. Teneurs en phtalates chez *G. pulex* en fonction des teneurs en PBDE (BDE-209 exclu)

De même que pour le sédiment, les teneurs en phtalates observées chez *G. pulex* sont supérieures aux teneurs en PBDE. Ces teneurs sont corrélées entre elles ($p < 0,05$) et le rapport moyen Σ phtalates / Σ PBDE est ici sensiblement plus faible que pour le sédiment (3 au lieu de 70) (Figure 11). Le rapport moyen *G. pulex* / sédiment (égal à 0,53) est environ 10 fois plus faible que pour les PBDE (BDE 209 exclu). La faiblesse de cette valeur (< 1) indique que la bioaccumulation des phtalates par *G. pulex* est peu importante, ce qui s'explique probablement par le fait que les phtalates sont susceptibles d'être métabolisés de manière importante *in vivo* sous l'action d'estérases (Staples et al. 1997).

On notera enfin que le profil moléculaire est largement dominé par le DnBP et le DEHP dans les sédiments, alors que chez *G. pulex* le BBP et le DEHP sont les deux composés majoritaires. On observe d'ailleurs pour le DEHP une corrélation significative entre teneurs chez *G. pulex* et teneur dans le sédiment (Figure 12). Le BBP, jamais détecté dans le sédiment, est systématiquement détecté chez *G. pulex*, ce qui confirme son fort potentiel de bioaccumulation. Un résultat similaire a été observé chez le gardon, chez qui les teneurs musculaires en BBP étaient plus importantes que les autres composés et sans relation avec celles du sédiment (Dargnat et al. 2008).

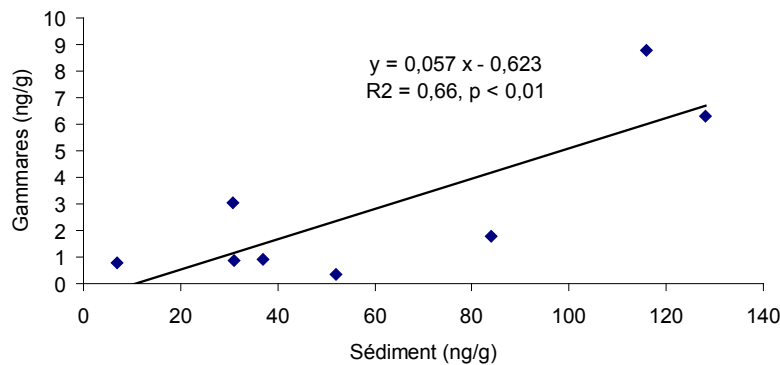


Figure 12. Relation entre la teneur en DEHP chez *G. pulex* et dans le sédiment

3.3.2 PCB

Les teneurs en PCB (Σ 7 PCB indicateurs) observées dans les sédiments sont comprises entre 0,05 et 285 ng/g (poids sec) et sont, en moyenne, 17 fois supérieures à celles observées pour les PBDE. Aucune corrélation n'a cependant été mise en évidence entre les teneurs sédimentaires en PCB et en PBDE (figure 13). Ceci s'explique peut-être par le fait que PCB et PBDE n'ont pas rigoureusement les mêmes sources et qu'une partie de la contamination en PCB est « historique », liée à des émissions passées.

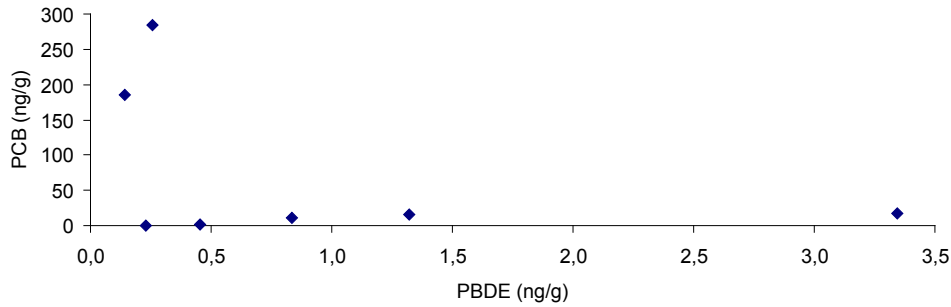


Figure 13. Teneurs sédimentaires en PCB en fonction des teneurs en PBDE

De même que pour le sédiment, les teneurs en PCB observées chez *G. pulex* sont supérieures aux teneurs en PBDE et ces teneurs sont faiblement corrélées ($0,05 < p < 0,1$). Alors que les PBDE sont susceptibles d'être plus rapidement métabolisés que les PCB, le rapport moyen des teneurs en PCB chez *G. pulex* et dans le sédiment est similaire à celui observé pour les PBDE ($3,4 \pm 1,5$ Vs $5,2 \pm 2,3$; $p > 0,05$) ; ceci est peut-être lié au fait que le métabolisme des PBDE semble être relativement faible chez *G. pulex*, comparativement à ce qui est communément observé chez les vertébrés.

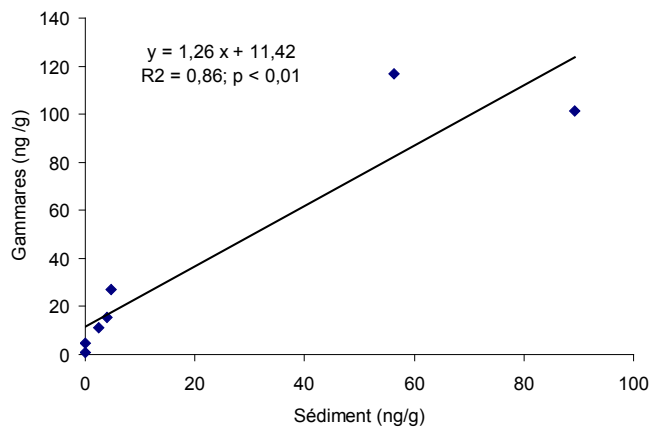


Figure 14. Relation entre la teneur en PCB-153 chez *G. pulex* et dans le sédiment

3.4 Impact des milieux étudiés sur la reproduction de *Gammarus pulex*

Les taux d'anomalies embryonnaires observés sont très faibles, avec des valeurs comprises entre 1 et 4 %, correspondant aux valeurs couramment rencontrés en milieux peu ou pas contaminés. Cependant, il faut être toujours très prudent lorsque l'on interprète des données d'anomalies embryonnaires, celles-ci étant conditionnées par la viabilité des individus anormaux. En effet, il est tout à fait envisageable, et nous avons pu l'observer lors de précédentes études, qu'un grand nombre d'organismes anormaux ne soit pas viable et disparaisse, ce qui fausse la lecture du pourcentage d'anomalie. Par conséquent, il est important de traduire ces données en fonction du succès reproducteur optimal connu chez cette espèce.

La figure 15 montre le nombre moyen d'ovocytes et d'embryons observé chez ces organismes. Nous pouvons observer qu'il y a très peu de différences entre les stations et ceci pour les deux paramètres biologiques mesurés. Ces résultats montrent qu'il ne semble pas y avoir d'impact des milieux sur le pouvoir reproducteur de cette espèce. Les niveaux plus faibles observés sur le site de S^t Martin et de S^t Yon s'expliquent par la taille des femelles qui était également plus faible. Chez les gammarus, comme pour un

grand nombre de crustacés, il y a une relation directe entre la taille des organismes et le nombre d'ovocytes et d'embryons produits.

Enfin, le rapport entre le nombre d'ovocyte produit et le nombre d'embryons normaux est un bon indicateur du succès reproducteur, car il permet d'intégrer en même temps le développement embryonnaire et le nombre d'embryons produits. Dans tous les cas, excepté pour la station de S^t Martin, on a observé un rapport compris entre 0,8 et 0,9, ce qui est tout à fait cohérent avec nos observations précédentes et les valeurs de références proposées (Geffard et al., 2010). Ces résultats confirment que la contamination des milieux étudiés n'induit pas d'impact sur le succès reproducteur de cette espèce. Seul pour le site de S^t Martin, pour lequel on obtient un rapport de 0,7, il peut être suspecté un effet au cours du développement embryon et donc sur la production d'embryons.

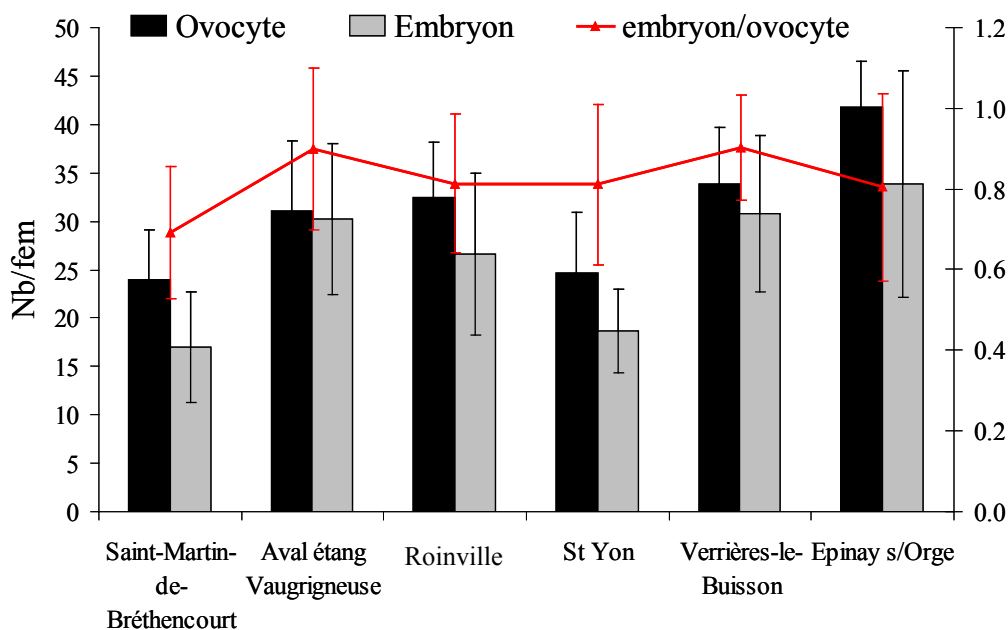


Figure 15 : Nombre d'ovocytes et d'embryon et rapport du nombre d'embryon sur le nombre d'ovocyte (Moy ± E.T, n = 10) observés chez les femelles de *G. pulex* prélevées sur chacune des stations étudiées.

4 Conclusions et perspectives

Les travaux réalisés cette année ont permis de mettre en évidence la bioaccumulation de trois familles de contaminants par le crustacé amphipode *G. pulex* : phtalates, PCB et PBDE. Cette bioaccumulation est liée à la contamination du biotope, appréhendée ici via le sédiment. Un fort gradient de contamination a ainsi été observé entre les gammars prélevés dans les stations les moins contaminées, le plus souvent en milieu rural, et ceux prélevés dans les stations les plus contaminées (Prédecelle et aval du bassin versant de l'Yvette). Ces observations préliminaires suggèrent que *G. pulex* puisse être employé comme organisme bioindicateur de l'état de contamination du milieu, notamment dans le cas des micropolluants hydrophobes et relativement rémanents comme les contaminants aromatiques halogénés. L'exploitation, en 2010, de l'ensemble des données obtenues en 2009 permettra également d'estimer les contributions relatives du sédiment et de la colonne d'eau dans l'exposition de *G. pulex* à ces xénobiotiques hydrophobes.

Par ailleurs, ces travaux n'ont pas permis de mettre en évidence d'effets reprotoxiques chez *G. pulex* sur les stations étudiées. Cette absence d'effets est peut-être liée au fait que les niveaux de contamination

observés sur ces sites sont relativement faibles et se situent dans la limite basse des niveaux observés dans les milieux anthropisés en Europe. Pour observer de tels effets, il sera sans doute nécessaire de travailler sur des sites plus contaminés, sur lesquels les niveaux de contamination dépassent les concentrations effectrices.

Des travaux complémentaires, réalisés *in situ* et en milieu contrôlé (laboratoire), seront donc nécessaires pour mieux caractériser le lien entre l'exposition de *G. pulex* aux xénobiotiques hydrophobes et les effets reprotoxiques associés. De tels travaux permettraient, en outre, d'étudier les facteurs de contrôle de la cinétique d'induction d'effets reprotoxiques et de celle de l'accumulation et de l'élimination de ces micropolluants.

Remerciements

Nous tenons à remercier le programme PIREN-Seine pour le financement de ce projet, ainsi que le conseil Régional Ile-de-France pour le financement de l'allocation de recherche de K. Tlili (R2DS).

Références

- Bhavsar S. P., Gandhi N., Gewurtz S. B. et Tomy G. T. (2008). "Fate of PBDEs in juvenile lake trout estimated using a dynamic multichemical fish model." *Environmental Science & Technology* 42 : 3724-3731.
- Brar N., Waggoner C., Reyes J., Fairey R. et Kelley K. (2009). "Evidence for thyroid endocrine disruption in wild fish in San Francisco Bay, USA. Relationships to contaminant exposures." *Aquatic Toxicology* 96: 203-215.
- Dargnat C., Teil M. J., Guigon-Moreau E., Labadie P. et Chevreuil M. (2008). Développement d'une méthodologie d'analyse multi-résidus sur organismes vivants : Application à la contamination du Gardon dans l'Orge. . Rapport d'activité PIREN-Seine.
- Felten V., Charmantier G., Charmantier-Daures M., Aujoulat F., Garric J. et Geffard O. (2008). "Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* exposed to acid stress." *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 147: 189-197.
- Geffard, Xuereb B., Chaumot A., Geffard A., Biagianti A., Noël C., Abbaci K., Garric J., Charmantier G. et Charmantier-Daures M. (2010). "First description of the reproduction cycle of *Gammarus fossarum*: a suitable species for reprotoxic chemicals assessment." *Environmental Toxicology and Chemistry* sous presse.
- Labadie P., Blanchard M., Dargnat C., Desportes A., Teil M. J., Tlili K. et Chevreuil M. (2009). "Bioaccumulation des phtalates et des éthers de biphényles polybromés par le gardon et le goujon." Rapport d'activité PIREN-Seine.
- Labandeira A., Eljarrat E. et Barcelo D. (2007). "Congener distribution of polybrominated diphenyl ethers in feral carp (*Cyprinus carpio*) from the Llobregat River, Spain." *Environmental Pollution* 146: 188-195.
- Law R., Herzke D., Harrad S., Morris S., Bersuder P. et Allchin C. R. (2008). "Levels and trends of HBCD and BDEs in the European and Asian environments, with some information for other BFRs." *Chemosphere* 73: 223-241.
- Law R. J., Alae M., Allchin C. R., Boon J. P., Lebeuf M., Lepom P. et Stern G. A. (2003). "Levels and trends of polybrominated diphenylethers and other brominated flame retardants in wildlife." *Environment International* 29: 757- 770.
- Staples C. A., Peterson D. R., Parkerton T. F. et Adams W. J. (1997). "The environmental fate of phtalates esters : a literature review. ." *Chemosphere* 35: 667-749.
- Tilghman A., Garric J. et Coquery M. (2009). La mesure des contaminants dans le biote : avantages et inconvénients pour la surveillance chimique du milieu continental., Cemagref: 49 p.
- Vethaak A. D., Lahr J., Schrap S. M., Belfroid A. C., Rijs G. B. J., Gerritsen A., de Boer J., Bulder A. S., Grinwis G. C. M., Kuiper R. V., Legler J., Murk T. A. J., Peijnenburg W., Verhaar H. J. M. et de Voogt P. (2005). "An integrated assessment of estrogenic contamination and biological effects in the

aquatic environment of The Netherlands." *Chemosphere* 59: 511-524.

- Vigano L., Roscioli C., Erratico C., Guzzella L. et Farkas A. (2009). "Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) in Gammarids, Caddisflies, and Bed Sediments of the Lowland River Po." *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 82: 200-205.
- Wang Z., Ma X., Lin Z., Na G. et Yao Z. (2009). "Congener specific distributions of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in sediment and mussel (*Mytilus edulis*) of the Bo Sea, China." *Chemosphere* 74: 896-901.
- Xiang C. H., Luo X. J., Chen S. J., Yu M., Mai B. X. et Zeng E. Y. (2007). "Polybrominated diphenyl ethers in biota and sediments of the Pearl River Estuary, South China." *Environmental Toxicology & Chemistry* 26: 616-623.
- Yu M., Luo X.-J., Wu J.-P., Chen S.-J. et Mai B. X. (2009). "Bioaccumulation and trophic transfer of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in biota from the Pearl River Estuary, South China." *Environment International* 35: 1090-1095.