

Utilisation et intérêts des escargots et des micromammifères pour la bioindication de la qualité des sols

A. de Vaufleury, C. Fritsch, F. Gimbert, B. Pauget, M. Cœurdassier, N. Crini et R. Scheifler

Laboratoire Chrono-Environnement, UMR CNRS/UFC UsC INRA 6241, Université de Franche-Comté, Place Leclerc, 25030 Besançon Cedex, France

RÉSUMÉ

Parmi les organismes de la faune terrestre, escargots et micromammifères vivent à l'interface sol-plantes-air et peuvent renseigner sur la qualité du sol que ce soit sur sa fonction de rétention ou sa fonction d'habitat. Pour les escargots, les approches classiques de bioindication passive peuvent être complétées par des essais de bioindication active (« snail watch »), basés sur l'exposition d'escargots en microcosme pendant une période donnée et qui permettent de caractériser la biodisponibilité et le transfert des contaminants (métaux notamment) par analyse des concentrations internes dans les tissus d'escargots. Ces analyses renseignent sur la contamination des milieux et également sur les quantités de contaminants potentiellement transférables dans les chaînes alimentaires terrestres impliquant les escargots et leurs divers consommateurs, dont certains micromammifères font partie. Ces vertébrés dont les modes de vie sont variés peuvent aussi aider à caractériser la contamination des milieux. Les modalités d'utilisation de ces organismes en bioindication restent à préciser car divers facteurs (espèces, régime alimentaire, âge...) sont à prendre en compte pour interpréter de façon fiable les données d'accumulation notamment.

Les résultats présentés illustrent les réponses que peuvent apporter les escargots et une espèce de micromammifère, le campagnol roussâtre en bioindication passive ou active. L'influence de paramètres du sol sur le transfert sol-escargot de métaux est abordée via une étude cinétique menée en laboratoire. La complémentarité des indicateurs invertébrés et vertébrés est discutée et des perspectives envisagées pour améliorer leur prise en compte dans l'étude des sols contaminés.

Mots clés

Biodisponibilité, bioaccumulation, cinétique de transfert, *Helix aspersa*, *Myodes glareolus*, écosystème terrestre.

SUMMARY**USE AND INTEREST OF LANDSNAILS AND SMALL MAMMALS AS BIOMONITORS OF SOIL QUALITY**

Among organisms of the soil fauna, land snails and small mammals live at the interface soil-plant-air and inform on soil quality, both on its retention function and its habitat function. For snails, classic biomonitoring using wild populations can be associated to active biomonitoring (« snail watch ») to characterize bioavailability and transfer of contaminants (metals particularly) by analysing internal concentrations of snails caged for fixed durations on the studied site. This approach informs about the contamination of the environment and the burden of contaminants that could be transferred in terrestrial food chains involving snails and their consumers, including small mammals. These vertebrates can also be used to characterise the contamination of the environment. Modalities of using these organisms for biomonitoring need to consider several parameters (species, age, gender, diets...) for an accurate interpretation of data, especially for bioaccumulation data. Presented results illustrate answers they can give biomonitoring with snail and bank vole. The influence of some soil parameters on the soil-snail transfer of metals is presented via a kinetic study performed under controlled conditions. Complementarities of invertebrate and vertebrate indicators and perspectives to improve their consideration for soil quality assessment are discussed.

Key-words

Bioavailability, bioaccumulation, kinetic of transfer, *Helix aspersa*, *Myodes glareolus*, terrestrial ecosystem.

RESUMEN**USO Y INTERESES DE LOS CARACOLES Y DE LOS MICROMAMÍFEROS PARA LA BIOINDICACIÓN DE LA CALIDAD DE LOS SUELOS**

Entre los organismos de la fauna terrestre, caracoles y micro-mamíferos viven a la interface suelo-plantas-aire y pueden informar sobre la calidad del suelo que sea sobre su función de retención o su función de hábitat. Para los caracoles, los enfoques clásicos de bioindicación pasiva pueden estar completados por ensayos de bioindicación activa ("snail watch"). Estos enfoques, basados sobre la exposición de los caracoles en microcosmo durante un periodo dado, permiten caracterizar la biodisponibilidad y la transferencia de contaminantes (metales en particular) por análisis de las concentraciones internas en los tejidos de los caracoles. Estos análisis enseñan sobre la contaminación de los medios y igualmente sobre las cantidades de contaminantes potencialmente transferibles en las cadenas alimenticias terrestres que implican caracoles y sus diversos consumidores, cuyos algunos micro-mamíferos hacen parte. Estos vertebrados cuyos modos de vida están variados pueden así ayudar a caracterizar la contaminación de los medios. Las modalidades de uso de estos organismos en bioindicación quedan por precisar en efecto diversos factores (especies, régimen alimenticio, edad...) están tomados en cuenta para interpretar de manera fiable los datos de acumulación en particular.

Los resultados presentados ilustran las contestas que los caracoles pueden aportar en bioindicación activa y en bioindicación pasiva para una especie de micro-mamífero, el campañol rojizo. Se aborda la influencia de parámetros del suelo sobre la transferencia suelo-caracol de metales vía un estudio cinético hecho en laboratorio. Se discute la complementariedad de los indicadores vertebrados y invertebrados y está evocado igualmente las perspectivas previstas para mejorar su toma en cuenta.

Palabras clave

Biodisponibilidad, bioacumulación, cinética de transferencia, *Helix aspersa*, *Myodes glareolus*, ecosistemas terrestres.

Le sol assure de nombreuses fonctions parmi lesquelles une fonction d'habitat (capacité du sol à servir d'habitat pour les micro-organismes, les plantes, les animaux du sol et leurs interactions) et une fonction de rétention (capacité du sol à adsorber des polluants de façon à ce qu'ils ne puissent être mobilisés, notamment par l'eau, puis transférés dans les chaînes alimentaires terrestres) sont généralement reconnues (ISO 17402, 2008). Parmi les organismes susceptibles d'apporter des informations sur ces fonctions du sol, les escargots et les micromammifères, moins directement inféodés au sol que les vers de terre ou les bactéries telluriques, constituent deux modèles renseignant sur les interactions à l'interface sol-plantes-air-organismes. Ces animaux présentent des modes de vie différents (régimes alimentaires, surfaces prospectées, durées de vie...) et intègrent de façon diverse et complémentaire les atteintes pouvant affecter le sol et en particulier ses contaminations.

PRÉSENTATION DES BIOINDICATEURS ÉTUDIÉS: ESCARGOTS - MICROMAMMIFÈRES

Bioaccumulation chez les escargots

Parmi les animaux utilisables comme bioindicateurs pour révéler et évaluer la contamination des sols, notamment par les métaux, les escargots (Mollusques gastéropodes pulmonés terrestres) vivent à l'interface sol-plantes-air et constituent une des composantes de la faune du sol (consommateurs primaires et décomposeurs). Pouvant présenter des densités élevées (Mason, 1970), ils appartiennent à des réseaux trophiques impliquant divers prédateurs invertébrés (larves de carabes, vers luisants...) et vertébrés (musaraignes, hérissons, oiseaux...). Cet indicateur peut être utilisé :

- **in situ** pour quantifier la biodisponibilité des métaux dans les sols par **bioindication active**, c'est-à-dire par encagement d'escargots sentinelles issus du laboratoire, et donc de passé biologique connu. L'espèce utilisée est habituellement l'escargot Petit gris, espèce très ubiquiste (*Helix aspersa* (O.F. Müller, 1774) = *Cantareus aspersus* (O.F. Müller, 1774) = *Cornu aspersum* (O.F. Müller, 1774)). L'analyse des concentrations internes en métaux des escargots peut être réalisée après une exposition de 28 jours (Gomot-de Vaufléury et Pihan, 2000; Scheifler *et al.*, 2003) pour mettre en évidence les transferts des métaux du sol, des plantes et de l'air vers l'escargot afin d'établir par exemple une cartographie des pollutions des sites étudiés. Si la plupart des études de bioindication active a porté sur des escargots juvéniles ou subadultes, l'utilisation d'*H. aspersa* adultes a été réalisée en Italie par Regoli *et al.* (2006) pour évaluer les effets écotoxicologiques des pollutions atmosphériques

urbaines. Leurs analyses révèlent notamment une accumulation marquée de métaux et de HAPs (en particulier de fluorène et de naphthalène) dans les animaux placés sur les sites les plus pollués. Des études cinétiques à plus long terme, basées sur l'analyse d'*H. aspersa* exposés 56 jours sur le terrain, ont permis d'affiner l'analyse temporelle des transferts sol-plante-escargots de métaux (Gimbert *et al.*, 2008b). Pour illustrer l'intérêt de cette approche cinétique, un exemple issu d'une étude de transfert sol-plantes-escargots de terrain est rappelé dans cet article ;

- **in situ** pour des études de contamination des milieux par analyse des concentrations internes d'escargots sauvages, d'âge inconnu, prélevés dans les populations naturelles des sites d'étude. Ces études, dites de **bioindication passive**, renseignent également sur les transferts du milieu aux escargots sans que l'on puisse dans ce cas dater précisément le lieu et le moment de leur contamination. Des cartographies précises des contaminations des milieux par les métaux ont ainsi été obtenues par exemple au Royaume-Uni avec *H. aspersa* (Cooke *et al.*, 1979), ou en Autriche avec *Arianta arbustorum* (Dallinger & Berger, 1992) ou *Cepaea hortensis* (Dallinger *et al.*, 2004)¹. Il convient donc de ne pas négliger l'utilisation des espèces autochtones en complément de la bioindication active. Elles peuvent en effet révéler des différences interspécifiques de bioaccumulation, comme l'a par exemple constaté Rabitsch (1996) avec des espèces comme *Helix pomatia*, *Arianta arbustorum*, *Aegonis verticillus* et *Bradybaena fructicum*. En France, peu de travaux ont été menés pour établir les niveaux de contaminations de diverses espèces sauvages. Pourtant, en complément des études de bioindication active où l'on maîtrise l'exposition et qui renseignent sur la disponibilité des contaminants, l'analyse des escargots autochtones peut apporter des informations sur les niveaux atteints après des expositions de plusieurs années (Gomot-de Vaufléury et Pihan, 2000; Pihan et de Vaufléury, 2000).

Ensemble, bioindication active et passive peuvent aider à établir des classes de contamination, comme cela a été proposé pour quelques métaux (Berger et Dallinger, 1993; Pihan et de Vaufléury, 2000), et qui demandent à être développées à l'aide de données provenant de sites et d'espèces variés et pour des contaminants divers, organiques notamment pour lesquels les données sont extrêmement rares.

- les escargots sont également utilisables **en laboratoire** pour estimer la biodisponibilité des contaminants du sol (Scheifler *et al.*, 2006; Gimbert *et al.*, 2006, 2008c) et/ou les effets induits par ces transferts (de Vaufléury *et al.*, 2006; ISO 15952, 2006; Gimbert *et al.*, 2008a). La biodisponibilité du Cd accumulé dans les tissus des escargots a également été démontrée dans des chaînes alimentaires expérimentales simples impliquant des prédateurs invertébrés (Scheifler *et al.*, 2002) ou vertébrés (Hispard *et al.*, 2008a et b). Ces travaux de laboratoire sont nécessaires, par exemple pour préciser quelles caractéristiques

¹ Pour plus de détails, on pourra se reporter à la synthèse bibliographique (de Vaufléury *et al.*, 2008).

du sol influencent les transferts sol-escargots de métaux et ainsi progresser dans la modélisation et la prédiction de ces transferts. Les résultats d'une expérience visant à déterminer l'influence de la matière organique et de la teneur en argile du sol sur le transfert sol-escargot du Pb sont présentés.

Bioaccumulation chez les micromammifères

Les micromammifères peuvent être utilisés *in situ* comme bioindicateurs de pollution des écosystèmes par des contaminants métalliques et organiques (Talmage et Walton, 1991; Cooke et Johnson, 1996; Rivière *et al.*, 1998; Toal *et al.*, 2001). En effet, leur position à différents niveaux trophiques, leur régime alimentaire varié, leur domaine vital restreint ainsi que leur large distribution géographique, en font des espèces pertinentes pour l'étude des mécanismes de transferts de polluants à différentes échelles spatiales (Appleton *et al.*, 2000). Les micromammifères n'ont pas bénéficié des mêmes efforts que les invertébrés en écotoxicologie en Europe (par rapport aux Etats-Unis notamment) bien que l'on assiste depuis peu au développement de ces recherches, en particulier pour les sites contaminés par des métaux dans plusieurs pays: Grande-Bretagne, Pays-Bas ou Espagne (Erry *et al.*, 2005; Hamers *et al.*, 2006; Schipper *et al.*, 2008; Sánchez-Chardi et Nadal, 2007; Sánchez-Chardi *et al.*, 2007). En France, le programme STARTT (Spatialisation des TrAnsferTs dans des Réseaux Trophiques Terrestres), coordonné par notre laboratoire, intègre des indicateurs vertébrés (micromammifères et oiseaux) qui renseignent à des échelles spatiales et temporelles complémentaires de celles d'indicateurs invertébrés (escargots, vers de terre entre autres). Ce programme, conduit sur le site de Métaeurop Nord (contamination par Pb, Cd, Zn majoritairement), étudie les populations de micromammifères sauvages herbivores ou omnivores (campagnols, mulots...) et carnivores (musaraignes) en termes de diversité, de densité de populations et de niveau de contamination. A notre connaissance, à part ce travail en cours (2005-2009), peu d'études françaises considèrent les micromammifères comme bioindicateurs de contamination et/ou d'effet. Ce déficit d'études et de données est encore plus important pour les contaminants organiques. Ainsi, à part les travaux de notre unité portant sur le devenir *in situ* de la bromadiolone et de son transfert chez le campagnol terrestre, le campagnol des champs et le renard roux (Giraudoux *et al.*, 2006; Sage *et al.*, 2007, 2008), les données sur des polluants tels que les HAPs, les PCBs, les LAS (linear alkylbenzene sulfonate) sont très rares sur des sites français ou européens. Nous présentons des résultats obtenus sur le campagnol roussâtre, une des espèces de micromammifères échantillonnées autour de l'ancien site métallurgique Métaeurop du Nord de la France étudié dans le cadre du programme STARTT.

MÉTHODOLOGIE

Bioindication active avec *Helix aspersa*

Avec les escargots, utilisés *in situ* en bioindication active, l'analyse des contaminants (métaux principalement, HAP, éventuellement pesticides) peut être réalisée dans les tissus après 28 jours d'exposition: mesures dites « statiques ». On peut également caractériser la cinétique de transfert sol-plante-escargots de métaux: dans ce cas, des escargots *H. aspersa* sont engagés et prélevés après différentes durées d'exposition (*photo 1*).

Dans ces microcosmes, les escargots sont exposés à l'air ambiant, au sol ainsi qu'aux végétaux (vivants ou en décomposition) ayant poussé sur le site; ils subissent les aléas climatiques réels. Les escargots engagés sont des juvéniles de 1 g issus de l'élevage du laboratoire. Pour l'étude des cinétiques de transfert (Gimbert *et al.*, 2008b), on a déposé sur chaque parcelle 3 microcosmes contenant 15 escargots chacun et 6 escargots (2 par microcosme) ont été prélevés pour chaque durée d'exposition: 0, 7, 17, 25, 40 et 56 jours d'exposition. Après 1 à 2 jours de jeûne post-exposition, les escargots sont congelés puis les tissus mous sont extraits de la coquille, séchés à l'étuve et minéralisés. Les métaux sont analysés en spectrophotométrie d'absorption atomique (SAA). Les cinétiques d'accumulation ont été analysées à l'aide d'un modèle à un compartiment considérant le corps de l'organisme comme une unité cinétiquement homogène où l'évolution des concentrations internes en fonction du temps est décrite par l'équation suivante (Eq. 1):

$$C_{esc}(t) = C_{esc}(0) + \frac{a}{k_2} (1 - e^{-k_2 t})$$

où $C_{esc}(t)$ est la concentration en métal dans l'escargot ($\mu\text{g}_{\text{m\u00e9tal}} \cdot \text{g MS}_{esc}^{-1}$) au temps t (j), a est le flux d'assimilation ($\mu\text{g}_{\text{ETM}} \cdot \text{g}_{esc}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) et k_2 le taux d'excr\u00e9tion (j^{-1}). $C_{esc}(0)$ est la concentration initiale mesur\u00e9e en Cd en Pb et en Zn. Ce pool de d\u00e9part sera consid\u00e9r\u00e9 comme constant au cours de l'exp\u00e9rience. Le flux d'assimilation a est \u00e9gal au produit du taux d'absorption ($k_1, \text{g}_{sol} \cdot \text{g MS}_{esc}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) et de la concentration externe suppos\u00e9e biodisponible ($C_e, \mu\text{g}_{\text{ETM}} \cdot \text{g}^{-1}_{sol}$) (Gimbert *et al.*, 2006, 2008b).

L'exemple pr\u00e9sent\u00e9 repose sur une \u00e9tude conduite sur des sols qui ont \u00e9t\u00e9 contamin\u00e9s entre 1988 et 1990 par apport de $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ (Dispositif AGIR- INRA Bordeaux-Aquitaine). La pr\u00e9sentation du site et de la m\u00e9thode a \u00e9t\u00e9 d\u00e9taill\u00e9e par Gimbert *et al.* (2008b). On se focalisera ici sur les r\u00e9sultats obtenus sur 2 parcelles contamin\u00e9es respectivement \u00e0 15,3 et 42,4 $\text{mgCd} \cdot \text{kg}^{-1}$ sol (MS), pH = 7,1, en d\u00e9gageant l'int\u00e9r\u00eat des \u00e9tudes cin\u00e9tiques pour r\u00e9v\u00e9ler et \u00e9valuer la contamination des sols.

Etude en laboratoire de l'effet de paramètres du sol (MO, argile) sur le transfert sol-escargot du Cd et du Pb

Afin d'analyser l'influence des caractéristiques du sol sur le transfert sol-escargots du Cd et du Pb, des *Helix aspersa* sub-adultes pesant $4,88 \pm 0,63$ g et provenant de notre élevage en conditions contrôlées ont été utilisés. Le *tableau 1* présente les principales caractéristiques physico-chimiques des matrices étudiées. La base de ces matrices est un sol agricole naturel prélevé en surface (0-15 cm) (sol C) et artificiellement contaminé en Cd (CdCl_2) et Pb (PbSO_4). Les taux d'argile et de matière organique (MO) de ce sol contaminé sont ensuite modifiés par ajout de kaolin (sol K, Lock et Janssen, 2001) ou par ajout de tourbe (sol P, OECD, 1984), respectivement.

Les escargots sont répartis dans des boîtes en polystyrène cristal de type « boîte à souris » (24x21x8 cm) dont le fond est recouvert par 100 g de sol sec, humidifié ensuite à 50 % de la capacité au champ. Pour chaque modalité, cinq boîtes contenant quatre escargots chacune sont suivies en conditions contrôlées: photopériode de 18 heures, température de $20 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$, humidité relative de 80-95 %. Les escargots sont nourris *ad libitum* avec de la laitue fraîche non contaminée ($8,3 \pm 0,7$ mg $\text{Pb.kg}_{\text{sol}}^{-1}$ MS et $0,7 \pm 0,3$ mg $\text{Cd.kg}_{\text{sol}}^{-1}$ MS) déposée dans des boîtes de Pétri. La source de contamination est donc le sol par diffusion cutanée à travers l'épithélium du pied et par ingestion de particules de sol (Gomot *et al.*, 1989; Cœurduassier *et al.*, 2002). Trois fois par semaine, les boîtes sont nettoyées, les fèces enlevées et la nourriture renouvelée. Après 0, 7, 14, 21 et 28 jours, cinq escargots par modalité sont échantillonnés aléatoirement dans cinq boîtes différentes. Les animaux sont sacrifiés par congélation à -70 °C après 48 heures de jeûne. Après décongélation, les tissus mous, sole pédieuse (pied) et masse viscérale sont séparés puis séchés à 60 °C , digérés à l'acide nitrique (HNO_3 50 %, Carlo Erba) à 60 °C pendant 48 heures et analysés par SAA en four (Varian 220 Z avec correcteur de fond Zeeman). L'évolution des concentrations internes en Cd et en

Pb dans les escargots a été décrite en utilisant un modèle à un compartiment (Eq. 1, page 206) (Gimbert *et al.*, 2006).

Utilisation des micromammifères en bioindication passive: bioaccumulation des ETMs chez le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*)

Les micromammifères sont échantillonnés sur site en utilisant des pièges-tapettes appâtés (*photo 2*) selon une méthode standard qui permet d'obtenir une image représentative et comparative du peuplement de micromammifères (Giraudoux *et al.*, 1994; Giraudoux *et al.*, 2002). L'exemple présenté ici porte sur le site de Metaleurop et ses alentours (zone d'étude de 40 km^2 ($5 \times 8 \text{ km}$) divisée en 160 mailles de $500 \times 500 \text{ m}$). Ce site présente une contamination importante des sols par des ETMs et en particulier par le Pb et le Cd (Sterckeman *et al.*, 2000; Douay *et al.*, 2001; Sterckeman *et al.*, 2004; Douay *et al.*, 2008a, 2008b, 2009).

Dans 32 mailles des 160 mailles de la zone d'étude, les micromammifères ont été échantillonnés à l'automne 2006 en maintenant constant l'effort d'échantillonnage sur chacune des mailles. Pour ce faire, 10 transects de 10 pièges espacés de 3 m sont posés dans des habitats ligneux (haies, bosquets, bordure de bois, buissons; *photo 3*) dont les sols ont été précédemment échantillonnés et dont les concentrations en ETMs ont été analysées (Douay *et al.*, 2009). Chaque ligne de piège est géoréférencée. Les pièges sont laissés sur site 3 nuits consécutives et relevés chaque matin. A chaque relevé, les pièges sont retendus, munis d'appât frais et remplacés en cas de casse ou de disparition.

Les micromammifères capturés sont placés dans des sacs étanches et congelés à -20 °C . Ils sont ensuite déterminés à l'espèce, sexés, pesés. Les reins et les foies sont prélevés, séchés en étuve puis minéralisés à l'acide nitrique (65 %) à l'étuve (65 °C , 72 heures). Des matériaux de référence TORT-2 (hépatopancréas de homard) et DOLT-3 (foie de roussette), ainsi

Tableau 1 - Caractéristiques physico-chimiques des sols utilisés.

Table 1 - Physicochemical characteristics of soils.

Sols	Paramètres des sols				Concentrations en Cd			Concentrations en Pb		
	pH_{eau}	MO	Arg.	CEC	Totale	$\text{CaCl}_2^{(a)}$	Dissoute ^(b)	Totale	$\text{CaCl}_2^{(a)}$	Dissoute ^(b)
		%	%	cmol.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	$\mu\text{g.L}^{-1}$	mg.kg^{-1}	mg.kg^{-1}	$\mu\text{g.L}^{-1}$
5C	4,75	1,42	12,70	5,19	17,9	$5,4 \pm 0,1$	261,35	1960,0	$51,2 \pm 6,9$	78,73
5K	4,56	1,30	16,30	5,14	17,9	$5,7 \pm 0,0$	344,82	1910,0	$79,3 \pm 1,8$	91,24
5P	5,61	9,96	12,50	14,80	20,5	$1,3 \pm 0,1$	24,63	2060,0	$12,7 \pm 1,1$	38,91

(a) Déterminée selon un protocole inspiré de Houba *et al.*, 1996

(b) Déterminée selon un protocole inspiré de Sauvé *et al.*, 2000

que d'autres procédures de qualité, sont utilisés pour assurer la meilleure qualité métrologique possible aux analyses. Les mesures de concentrations en Cd, Pb et Zn sont réalisées par SAA.

Les traitements statistiques sont réalisés avec le logiciel R (R 2007) à l'aide de modèles linéaires généraux après vérification de la normalité des données (test de Kolmogorov-Smirnov) et transformation logarithmique lorsque nécessaire. La significativité des variables est testée grâce à une analyse de variance (ANOVA).

Nous présentons ici les résultats de l'échantillonnage des différentes espèces de micromammifères sur le site et l'étude de la bioaccumulation d'une des espèces prélevées, le campagnol roussâtre *Myodes glareolus* (ex-*Clethrionomys glareolus*).

RÉSULTATS - DISCUSSION

Bioindication active avec *Helix aspersa*

Dans le cas de l'étude de la biodisponibilité de parcelles contaminées par 15,3 et 42,4 mg.kg⁻¹ de Cd, les escargots traduisent clairement dans leurs tissus la présence de Cd dans les sols. L'accumulation après 56 jours n'est pas significativement différente pour les deux concentrations d'exposition considérées. Par contre, les flux d'assimilation (a) sont contamination-dépendants (ANOVA, nlme, p < 0,05; *figure 1*) et permettent de discriminer les deux sols. Ils traduisent une vitesse d'entrée du métal plus élevée sur le sol le plus contaminé. L'extraction chimique au CaCl₂ met en évidence des différences de disponibilité environnementale entre les parcelles contaminées. Ces différences ne transparaissent pas dans les concentrations internes en Cd mesurées après 56 jours d'exposition (*figure 1*) mais sont reflétées par les flux d'assimilation. Ces flux paraissent donc pouvoir être utilisés comme indicateurs de la biodisponibilité environnementale du Cd pour l'escargot *H. aspersa*.

Si la réalisation d'études cinétiques des transferts de métaux du milieu chez l'escargot est techniquement relativement lourde (tant en nombre d'analyses qu'en contraintes de temps de prélèvement), cette approche est performante car elle renseigne sur l'évolution dans le temps des concentrations internes et peut éviter de sur ou sous-estimer la contamination des escargots vivants en milieux contaminés (*figure 2*). Selon les objectifs des mesures de bioindication (simples sondages de la contamination ou études approfondies des risques de transfert), les analyses de la bioaccumulation des ETMs dans les organismes peuvent être basées sur des observations statiques des concentrations internes après une durée d'exposition donnée à un environnement contaminé ou sur des analyses cinétiques.

Figure 1 - Cinétiques d'accumulation du Cd *in situ* chez *Helix aspersa* (juvéniles; tissus mous) sur deux parcelles présentant des contaminations différentes (pH sol: 7,1). Comparaison des flux d'absorption (a, µg Cd.g⁻¹ esc.j⁻¹) et des concentrations internes à 56 jours (C_{sn}(56), µg Cd.g⁻¹ esc). C_{sol tot.}: concentration totale en Cd du sol. C_{CaCl₂}: concentration extractible au CaCl₂ en Cd du sol. (Gimbert, 2006).

Figure 1 - Accumulation kinetics of Cd in soft tissues of juveniles *Helix aspersa* exposed in 2 sites (pH sol: 7,1). Comparison of uptake flux (a, µg Cd.g⁻¹ esc.j⁻¹) and internal concentrations after 56 days (C_{sn}(56), µg Cd.g⁻¹ esc). C_{sol tot.}: total concentration of Cd in soil. C_{CaCl₂}: CaCl₂ extractable concentration of Cd in soil. (Gimbert, 2006).

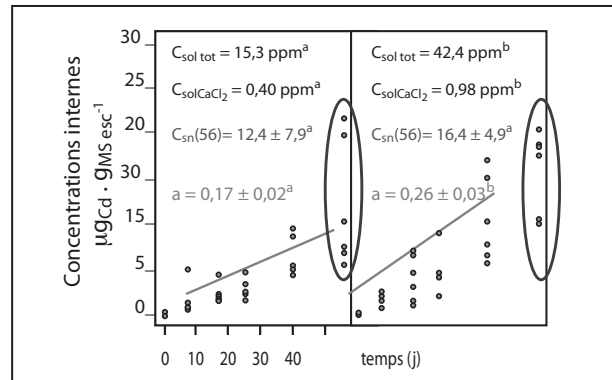
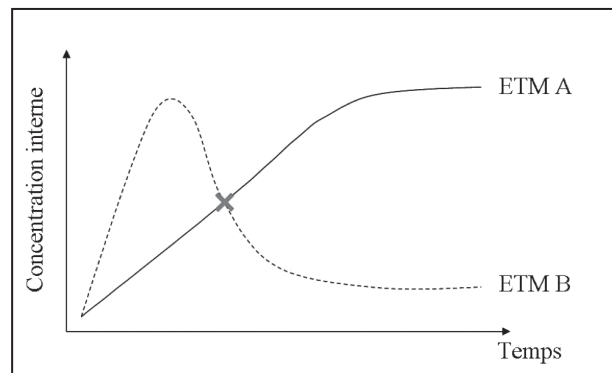


Figure 2 - Cinétiques d'accumulation imaginées pour deux ETMs (A et B) dans un organisme exposé à un environnement contaminé. X symbolise un exemple de la mesure ponctuelle des concentrations internes après un temps d'exposition t (d'après Gimbert, 2006). L'analyse à un seul temps d'exposition apporte une information partielle.

Figure 2 - Accumulation kinetics for two metals (A et B) in an organism exposed to a contaminated environment. X: example of a punctual measure of internal concentration at time t (from Gimbert, 2006). Analyses after one duration of exposure only give partial information.



Etude en laboratoire de l'effet de paramètres du sol (MO, argile) sur le transfert sol-escargot du Cd et du Pb

Deux types caractéristiques d'accumulation sont observés pour les deux métaux analysés (*figure 3*): pour le Cd, on observe une accumulation continue en relation avec des taux d'excrétion très faibles qui ne permettent pas toujours l'acquisition d'un état d'équilibre dans les concentrations internes après 28 jours d'exposition. Les concentrations internes à l'équilibre (C_{ss}) peuvent être calculées par le rapport du flux d'assimilation (a) sur le taux d'excrétion (k_2). Pour le Cd, ces valeurs sont de 156, 149 et 27 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ pour les sols 5C, 5K et 5P, respectivement. La comparaison de ces valeurs de concentrations prédites avec celles mesurées après 28 jours d'exposition (*tableau 2*) montre que seules les concentrations internes en Cd chez les escargots exposés au sol 5P ont atteint l'état d'équilibre. Pour le Pb, une accumulation rapide se produit, avec des taux d'excrétion significatifs conduisant à un état d'équilibre dans les concentrations internes après généralement 14 jours d'exposition.

Le modèle décrit convenablement les cinétiques du Cd et du Pb dans les escargots exposés aux différents sols, comme en témoignent les faibles différences entre les valeurs mesurées et modélisées à la fin de l'expérimentation (28 jours) et les coefficients de détermination (R^2) satisfaisants (*tableau 2*).

Les essais décrits, menés en laboratoire avec les escargots, soulignent qu'à la fois la disponibilité (mesures chimiques, *tableau 1*) et la biodisponibilité (taux d'assimilation, a , *tableau 2*) du Cd et du Pb sont influencées par les modifications des paramètres physico-chimiques du sol: une hausse du taux de MO provoque une forte diminution de l'accumulation de Cd et de Pb tandis qu'aucun effet du taux d'argile sur l'accumulation et la biodisponibilité n'a été mis en évidence (*figure 3*). Ces résultats montrent l'importance de la MO sur la partition des métaux entre les phases solide et liquide du sol et leur biodisponibilité pour l'escargot *H. aspersa*. Ils sont en accord avec de précédentes expérimentations conduites sur des sols naturels (Sauvé *et al.*, 2000) et avec d'autres invertébrés du sol (Peijnenburg *et al.*, 1997).

Figure 3 - Influence de l'argile (K) et de la MO (P) du sol sur les cinétiques d'accumulation du Cd et du Pb dans les viscères d'*Helix aspersa* (subadultes). Par rapport au sol non modifié (sol 5C), l'apport d'argile (sol 5K) ne modifie pas le transfert sol-escargot de Cd et Pb alors que l'ajout de MO (sol 5P) le réduit de façon significative (Pauget, 2006).

Figure 3 - Influence of clay (K) and organic matter (P) of soil on kinetic of accumulation of Cd and Pb in the viscera of *Helix aspersa*.

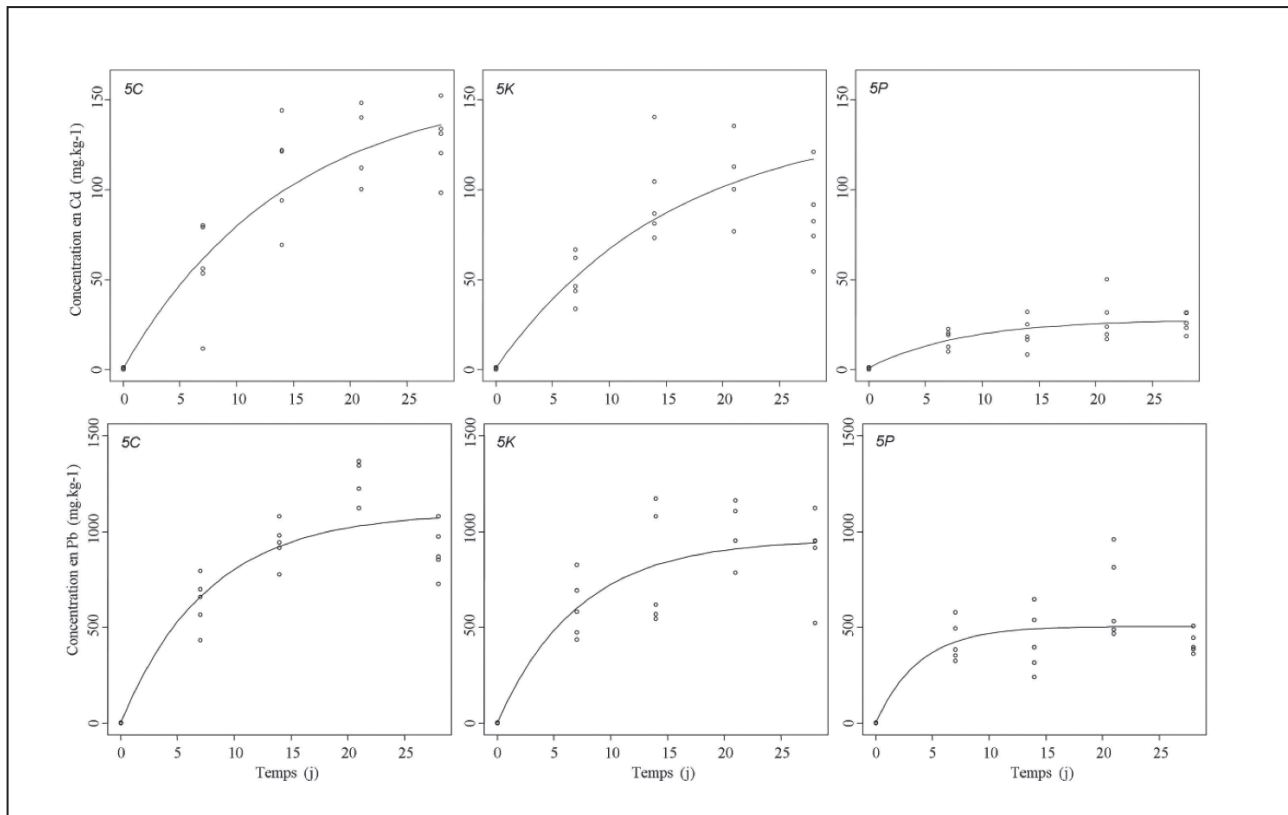


Tableau 2 - Estimations des paramètres cinétiques de l'accumulation du Cd et du Pb dans les escargots exposés aux différents sols.
Tableau 2 - Estimations of kinetic parameters of the accumulation in snails exposed to the different soils.

Sols	Concentrations mesurées	Paramètres du modèle						R	Concentration modélisées
		a	IC 95 %	p-value	k ₂	IC 95 %	p-value		
	C _{esc(28)}								C _{esc(28)}
	µg _{métal} .g ⁻¹	µg _{métal} .g ⁻¹ .esc.j ⁻¹			j ⁻¹				µg _{métal} .g ⁻¹
Cd									
5C	127,21	10,92 ^a	9,01/12,83	< 0,001	0,07 ^a	0,04/0,09	0,020	0,84	117
5K	84,75	8,95 ^a	7,82/10,07	< 0,001	0,06 ^a	0,04/0,09	0,045	0,71	89
5P	26,08	3,24 ^b	2,32/4,15	0,006	0,12 ^{ab}	0,07/0,17	0,040	0,62	26
Pb									
5C	900,26	142,81 ^a	121,21/164,39	< 0,001	0,13 ^a	0,10/0,16	< 0,001	0,86	1071
5K	892,65	133,71 ^{ac}	105,95/161,47	< 0,001	0,14 ^a	0,10/0,18	0,006	0,78	940
5P	419,59	130,63 ^{abc}	88,55/172,81	0,013	0,26 ^{ac}	0,15/0,36	0,039	0,64	504

Pour un paramètre et un métal, les valeurs qui présentent des lettres différentes diffèrent significativement. Les valeurs négatives ou non significatives doivent être biologiquement considérées comme nulles.

Utilisation des micromammifères en bioindication passive: bioaccumulation des ETMs chez le campagnol roussâtre (*Myodes glareolus*)

L'échantillonnage sur 32 mailles de 500 x 500 m à l'automne 2006 a permis la capture de plus de 1 300 individus. Les animaux capturés (photo 4) sont pour 64 % des mulots (*Apodemus sylvaticus*), pour 20 % des campagnols (très majoritairement des campagnols roussâtres *Myodes glareolus*) et pour 15 % des musaraignes appartenant à différentes espèces (*Crocidura russula* principalement).

Chez les 250 campagnols roussâtres les concentrations en ETMs dans le foie et les reins montrent une forte variabilité inter-individuelle avec des valeurs allant de 0,1 à 265,9 mg/kg pour le Cd, de 0,1 à 4555,9 mg.kg⁻¹ pour le Pb et de 6,6 à 173,4 mg.kg⁻¹ pour le Zn (tableau 3).

Les résultats révèlent un transfert des ETMs dans la chaîne alimentaire, avec un facteur de transfert sol-campagnol roussâtre évoluant dans l'ordre Cd > Zn > Pb. En effet, pour le foie et les reins respectivement, le rapport « concentration en ETM de l'organe/concentration en ETM du sol » est (valeur médiane) de 2,29 et 4,55 pour Cd, de 0,28 et 0,25 pour Zn et de 0,01 et 0,03 pour Pb. Les reins montrent des concentrations supérieures à celles du foie pour les métaux non essentiels (tableau 3, figure 4). Les concentrations en Cd et en Pb dans les deux organes sont positivement et significativement corrélées à leurs concentrations totales dans les sols. Les concentrations

en Zn dans le foie sont également significativement expliquées par la concentration totale en Zn dans le sol mais cette relation n'est pas significative pour les reins (figure 4). Pour les 3 ETMs étudiés, particulièrement pour le Cd (et le Zn dans le foie), les pourcentages d'explication sont faibles suggérant que d'autres paramètres (sexe, âge...) expliquent la variabilité des concentrations internes.

L'influence de ces paramètres biologiques a donc été étudiée en ajoutant les variables âge et sexe au modèle précédent. Les concentrations dans le foie et les reins ne sont pas dépendantes de l'âge pour le Pb tandis qu'elles le sont pour le Cd et le Zn, avec des pourcentages d'explication qui restent faibles (3 à 24 % selon le métal et l'organe considéré; figure 5). Les concentrations en Cd et Zn (dans le foie seulement) diffèrent significativement avec le sexe, les femelles présentant des concentrations plus élevées (p < 0,01, R² = 0,03). L'effet du sexe n'est pas significatif pour le Pb (figure 6).

Nos résultats suggèrent que l'accumulation du Pb n'est pas âge-dépendante (figure 5) contrairement à ce qui a parfois été noté dans la bibliographie (Milton et Johnson, 1999). Cependant, l'âge est souvent évalué avec des méthodes moins précises et fiables que celle de la masse du cristallin (Milton et al., 2003) ou bien les analyses ont été réalisées en laboratoire (Milton et Johnson, 1999) avec des expositions ne comportant pas un gradient aussi important que dans notre étude. L'accumulation du Cd, d'après les résultats préliminaires présentés ici, est âge-dépendante, comme l'avaient déjà rapporté Milton et al. (2003). Ce phénomène peut être lié à la durée d'exposition et/ou à des changements dans le régime alimentaire, la physiologie et le métabolisme des

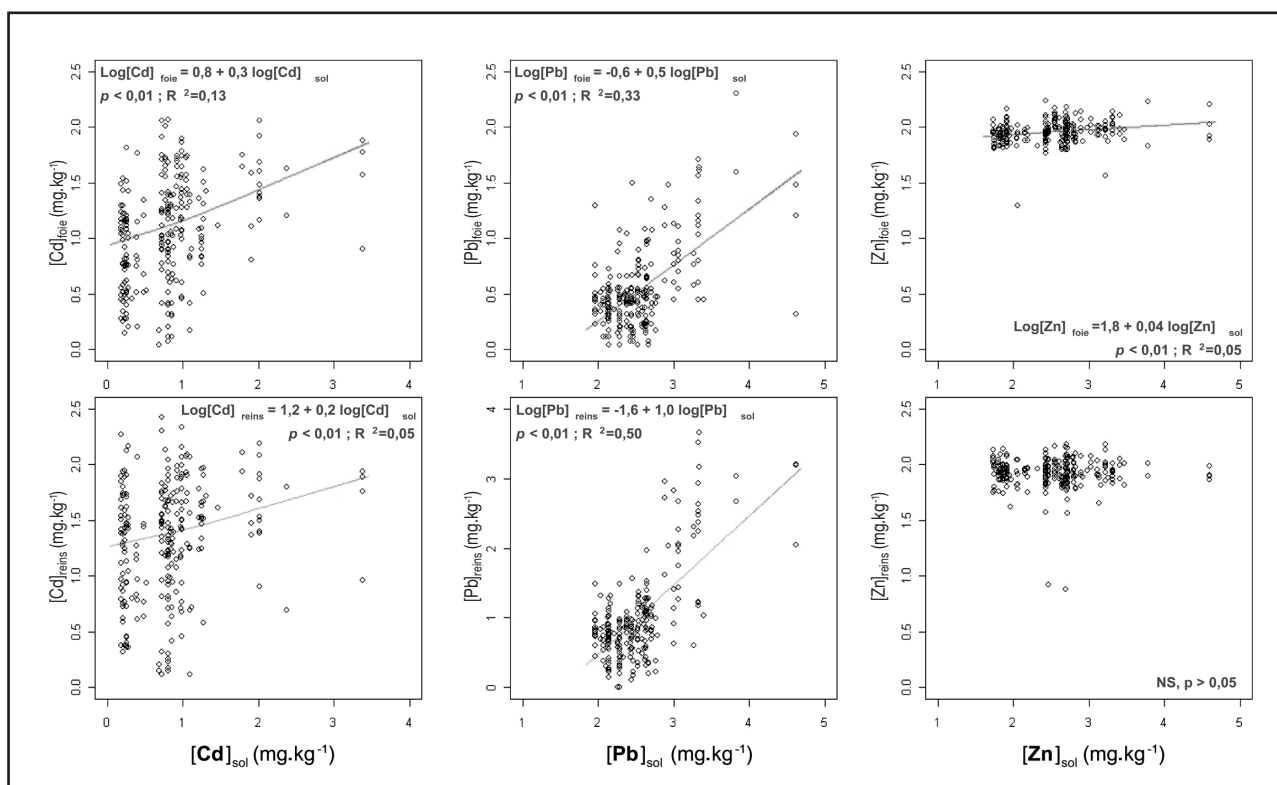
Tableau 3 - Concentrations en ETMs (mg.kg^{-1} masse sèche) dans les sols, dans les foies et les reins de campagnols roussâtres prélevés sur le site de Métaeurop Nord.

Table 3 - Metal concentrations (mg.kg^{-1} dry mass) in soils, livers and kidneys of bank voles sampled on the site of Métaeurop Nord.

		Sol	Foie	Reins
		$n = 140$	$n = 250$	
Cd	Minimum	0,5	0,1	0,3
	Médiane	5,3	11,0	25,8
	Maximum	2402,1	116,3	265,9
Pb	Minimum	89,0	0,1	0,1
	Médiane	273,0	1,8	5,8
	Maximum	41959,0	199,9	4555,9
Zn	Minimum	53,0	18,9	6,6
	Médiane	353,0	89,5	85,1
	Maximum	38763,0	173,4	151,5

Figure 4 - Concentrations internes en Cd, Pb et Zn dans le foie et les reins en fonction des concentrations en Cd, Pb et Zn dans les sols (mg.kg^{-1} , masse sèche).

Figure 4 - Internal concentrations of Cd, Pb et Zn in liver and kidney in function of concentrations Cd, Pb et Zn in soils (mg.kg^{-1} , dry mass).



métaux au cours de la vie des micromammifères (Swiergosz *et al.*, 1998; Wlostowski *et al.*, 2005).

Dans la bibliographie, de nombreux auteurs rapportent une augmentation significative des concentrations internes avec les concentrations environnementales (Swiergosz *et al.* 1998), ce qui est en accord avec nos résultats. La relation entre la contamination du sol et celle des individus dépend

du métal considéré. Si la relation est relativement forte pour le Pb, elle est significative mais plus faible dans le cas du Cd et du Zn (foie uniquement). Ceci peut s'expliquer par le fait que les micromammifères sont majoritairement exposés par leur régime alimentaire plutôt que par le sol (Smith *et al.*, 2007). La prise en compte de la contamination des items alimentaires est donc un facteur primordial pour mieux comprendre les

Figure 5 - Influence de l'âge sur les concentrations en Cd, Pb et Zn du foie et des reins de campagnols roussâtres prélevés sur le site de Métaleurop Nord.

Figure 5 - Influence of age on Cd, Pb and Zn concentrations in liver and kidney of bank voles sampled on Métaleurop Nord.

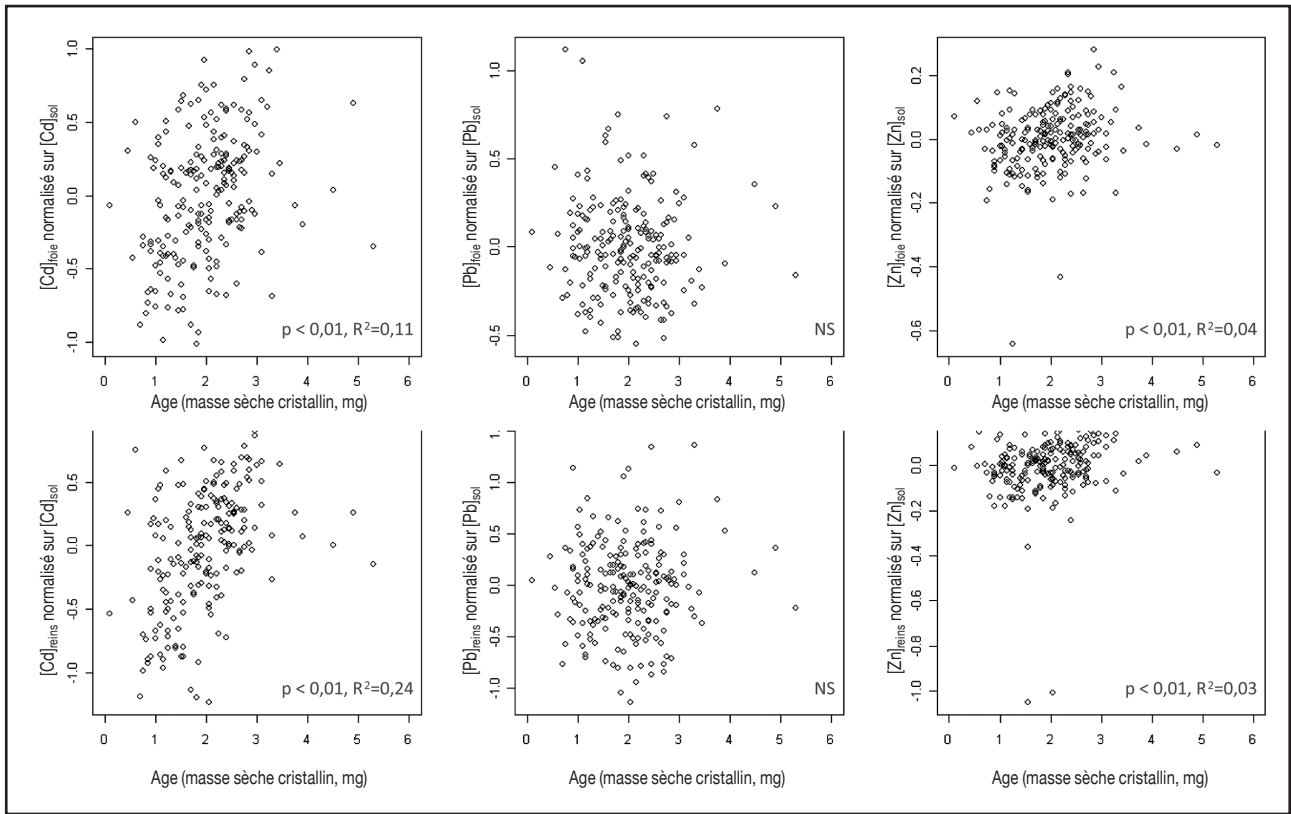


Figure 6 - Influence du sexe sur les concentrations en Cd, Pb et Zn du foie et des reins de campagnols roussâtres prélevés sur le site de Métaleurop Nord.

Figure 6 - Influence of gender on Cd, Pb and Zn concentrations of liver and kidney of bank voles sampled on Métaleurop Nord.

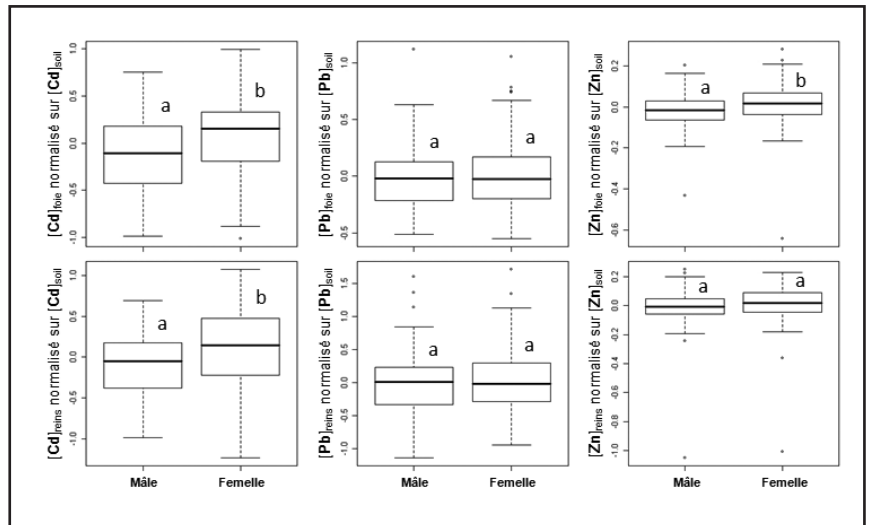
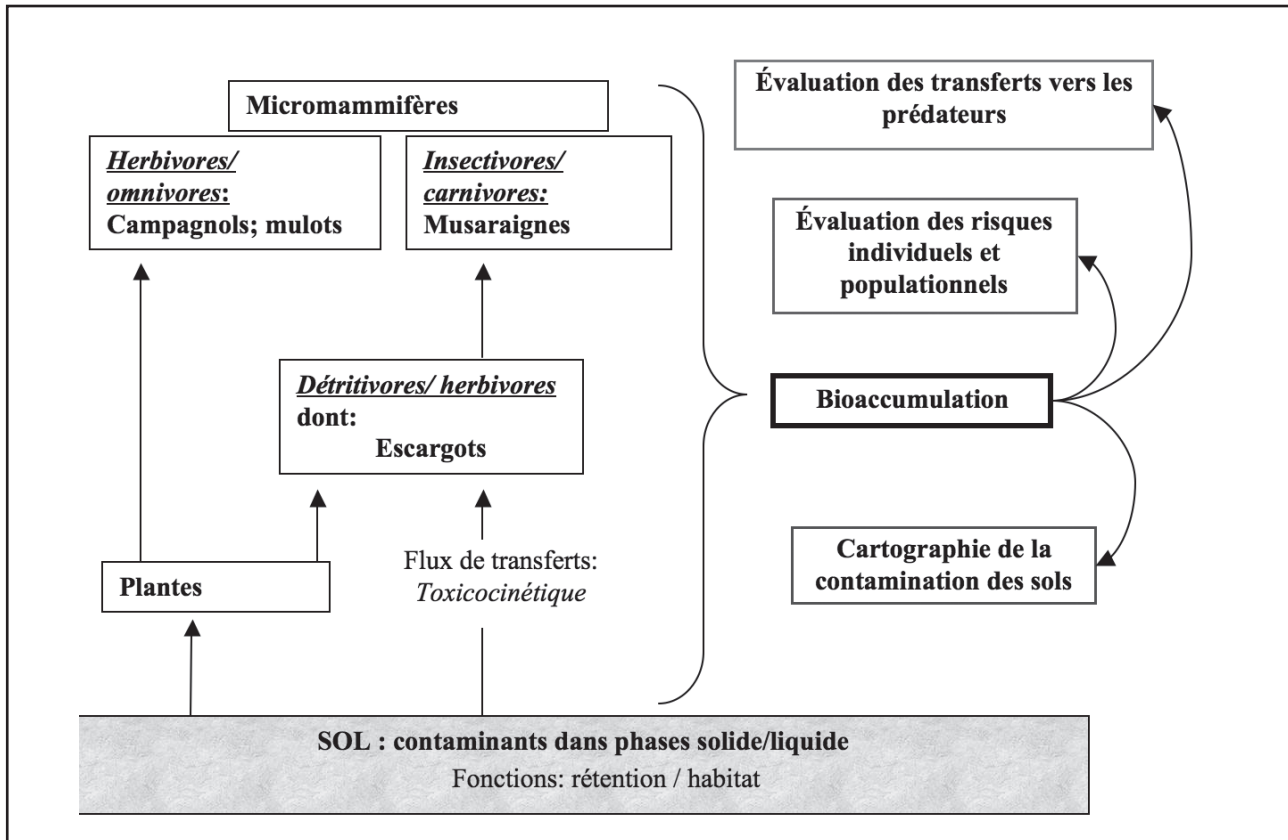


Figure 7 - Schéma général des approches développées avec les escargots et les micromammifères et intérêts en évaluation du risque environnemental lié à la contamination des sols par les contaminants persistants.

Figure 7 - General scheme of developed approaches with snails and small mammals and interests in environmental risk assessment of soils contaminated by persistent compounds.



variations de concentrations internes en ETMs chez des micromammifères sauvages (Veltman *et al.*, 2007). Ces études de régime alimentaire sont actuellement en cours sur les animaux capturés à Metaleurop Nord de même que l'évaluation des effets toxiques éventuels chez les micromammifères étudiés. Nous cherchons notamment à déterminer si les concentrations internes élevées trouvées dans certains campagnols (265 mg Cd.kg⁻¹, 4550 mg Pb.kg⁻¹ et 173 mg Zn.kg⁻¹ dans le foie) peuvent être mises en relation avec des paramètres de santé individuelle (indices morphométriques notamment), 7 à 10 % des individus analysés ici présentant des concentrations internes supérieures aux seuils de toxicité de la littérature (Shore et Douben, 1994a,b; Beyer *et al.*, 1996; AMAP, 2002; Milton *et al.*, 2003).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les escargots et les micromammifères fournissent des informations complémentaires sur la qualité des sols

car ils intègrent des sources et voies d'exposition variées (figure 7). Ils sont également complémentaires d'autres organismes bioindicateurs plus strictement inféodés au sol. La caractérisation de la biodisponibilité et du transfert des contaminants métalliques par analyse des concentrations internes dans des organismes sauvages ou transplantés est envisageable sur divers sites, contaminés ou non afin de disposer d'une base de données des niveaux d'accumulation des ETMs pour une grande diversité de milieux. Il est également important d'élargir la gamme des contaminants analysés : les polluants organiques persistants notamment demandent des investigations approfondies. Si certaines inconnues nécessitent encore des recherches complémentaires, par exemple sur la part de la contamination due directement au sol, aux items des régimes alimentaires de ces bioindicateurs vertébrés et invertébrés, ils peuvent néanmoins être dès à présent utilisés pour donner une image globale de la contamination des milieux.

La biodisponibilité est un concept qualitatif qui ne peut être simplement défini par quelques mesures chimiques ou biologiques isolées car celles-ci sont souvent obtenues pour des

organismes et des conditions spécifiques (Meyer, 2002). Plutôt que d'entreprendre de définir et d'évaluer la biodisponibilité des ETMs d'une manière générale, une stratégie intéressante consisterait à développer une série d'indicateurs, biologiques et chimiques, grâce auxquels les différentes composantes de la biodisponibilité (disponibilité environnementale, biodisponibilité environnementale, biodisponibilité toxicologique) pourraient être quantifiées d'une manière opérationnelle. McMillen *et al.* (2003) ont ainsi proposé que les mesures biologiques de la biodisponibilité (transfert et accumulation) fassent partie intégrante de la série d'indicateurs utilisables pour l'évaluation de la biodisponibilité. Certains des travaux envisagés dans le cadre du programme Bioindicateur II (2009-2011) piloté par l'ADEME permettront d'avancer en ce sens. Il est également nécessaire de progresser dans la compréhension de l'influence de la diversité des milieux sur les populations et donc de coupler les approches de bioindication classiques en écotoxicologie avec des études des biocénoses (diversité, abondance...). L'étude des transferts de contaminants chez des invertébrés et des vertébrés de divers biotopes constitue également l'amorce d'un programme de biosurveillance à conduire sur le long terme et pour lequel il est important de commencer à acquérir des données de référence sur divers sites, des études récentes rapportant parfois un déficit de telles valeurs pour des micromammifères pourtant très communs (van Gestel, 2008). Les résultats obtenus jusqu'à présent contribuent à une meilleure compréhension des mécanismes sous-jacents des transferts de métaux du sol aux organismes et pourront aboutir à la conception de modèles de transfert considérant notamment l'influence des paramètres édaphiques. La *figure 7* synthétise les principales approches développées ici sur des modèles biologiques qu'il nous paraît opportun de coupler pour apporter des informations complémentaires sur les risques liés à la contamination des sols.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient vivement Francis Raoul et Patrick Giraudoux pour leur participation aux travaux portant sur les micromammifères ainsi que Dominique Rieffel, Jean-Claude Lambert pour leur aide technique. Ces travaux ont bénéficié du soutien de l'ADEME qui a notamment cofinancé, avec le Conseil Régional de Franche-Comté, les thèses de C. Fritsch, de F. Gimbert et le programme STARTT (conventions ADEME n° 01 75037 et 0572 C0058) avec l'ANR (Agence Nationale de ANR-05-ECC0-004)

BIBLIOGRAPHIE

- AMAP, 2002 - Biological effects, Heavy Metals in the Arctic. Arctic monitoring and Assessment Programme, Oslo, Norway, p. 31.
- Appleton J., Lee K.M., Sawicka-Kapusta, Damek M., Cooke M., 2000 - The heavy metal content of the teeth of the bank vole (*Clethrionomus glareolus*) as an exposure marker of environmental pollution in Poland. Environ. Poll. 110:441-449.
- Berger B., et Dallinger R., 1993 - Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution. Environ. Monit. Assess. 25, 25, 65-84.
- Beyer WN, Heinz GH, Redmon-Norwood AW., 1996 - Environmental Contaminants in wildlife. Interpreting tissue concentrations. Society of Environmental Toxicology and Chemistry, 494 p.
- Coeurdassier M., Gomot-de Vauffleury A., Lovy C., Badot P.M., 2002 - Is the epidemic cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effect for snails? Ecotoxicol. Environ. Saf. 53, 425-431
- Cooke J.A., Johnson M.S, 1996 - Cadmium in small mammals. In: *Environmental Contaminants in Wildlife. Interpreting Tissue Concentrations*. Beyer N, Heinz GH, Redmon-Norwood AW. Eds. CRC Press, pp 377-388.
- Cooke M., Jackson A., Nickless G., Roberts D.J., 1979 - Distribution and speciation of cadmium in the terrestrial snail *Helix aspersa*. Bull. Environ. Contam.Toxicol., 23, 445-451.
- Dallinger R., Berger B., 1992 - Bio-monitoring in the urban Environment. In: Biological indicators for environmental monitoring. Bonotto S., Nobili R. & Revoltella R.P. (Eds). Ares-Serono Symposia n°27, Rome, Italy, 227-242.
- Dallinger R., Lagg B., Egg M., Schipflinger R., Chabicoovsky M., 2004 - Cd accumulation and Cd-metallothionein as a biomarker in *Cepaea hortensis* (Helicidae, Pulmonata) from laboratory exposure and metal-polluted habitats. Ecotoxicology, 13, 757-772.
- de Vauffleury A., Coeurdassier M., Pandard P., Scheifler R., Lovy C., Crini N., Badot P.-M., 2006 - How terrestrial snails can be used in risk assessment of soils. Environ. Toxicol. Chem., 25(3): 797-806.
- de Vauffleury A., Gimbert F., Gomot L., 2008 - Bioaccumulation, biomagnification des polluants dans la faune terrestre: un outil pour la biosurveillance des écosystèmes. Synthèse bibliographique réalisée dans le cadre de la convention Ademe-Université Franche-Comté n°0775C0041. 598p. En cours de publication par l'ADEME et QUAE eds.
- Douay F., Perdrix E., Fourrier H., Plaisance H., 2001 - Cartographie des teneurs en cadmium, plomb et zinc dans les horizons organo-minéraux des parcelles agricoles autour des sites métallurgiques de Noyelles-Godault et d'Auby. 27 p.
- Douay F., Roussel H., Pruvot C., Lorette A., Fourrier H., 2008a - Assessment of a remediation technique using the replacement of contaminated soils in kitchen gardens nearby a former lead smelter in Northern France. Sci. Tot. Environ. 401, 29-38.
- Douay F., Pruvot C., Roussel H., Ciesielski H., Fourrier H., Proix N., Waterlot C., 2008b - Contamination of urban soils in an area of Northern France polluted by dust emissions of two smelters. Water, Air Soil Poll. 188, 247-260.
- Douay F., Pruvot C., Waterlot C., Fritsch C., Fourrier H., Lorette A., Bidar G., Grand C., de Vauffleury A., Scheifler R., 2009 - Contamination of woody habitat soils around a former lead smelter in the North of France. Contamination of woody habitat soils around a former lead smelter in the North of France, Sci Total Environ, doi:10.1016/j.scitotenv.2009.06.015
- Erry B.V., Macnair, M. R., Meharg A., Shore R. F., 2005 - The distribution of arsenic in the body tissues of wood mice and bank voles. Arch. Environ. Contam.Toxicol.49, 569-576.
- Gimbert F. Cinétiques de transfert de polluants métalliques du sol à l'escargot. Thèse de l'université de Franche-Comté, n°1191, 7 décembre 2006.
- Gimbert F., de Vauffleury A., Douay F., Scheifler R., Coeurdassier M., Badot P.M., 2006 - Modelling chronic exposure to contaminated soil. A

- toxicokinetic approach with terrestrial snail *Helix aspersa*. Environ. Intern., 32: 866-875.
- Gimbert F., de Vaufléury A., Douay F., Coeurdassier C., Scheifler R., Badot P.-M., 2008a - Long-term responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment. Ecotox. Environ. Saf., 70 (138-146).
- Gimbert F., Mench M., Coeurdassier C., Badot P.-M. de Vaufléury A., 2008b - Kinetic and dynamic aspects of soil-plant-snail transfer of cadmium in the field. Environ. Poll., 152, 736-745.
- Gimbert F., Vijver M.G., Coeurdassier M., Scheifler R., Peijnenburg W.J.G.M., Badot P.M., de Vaufléury A., 2008c - How subcellular partitioning can help to understand heavy metal accumulation and elimination kinetics in snails. Environ. Toxicol. Chem., 27(6), 1284 - 1292.
- Giraudoux P., Delattre P., Quere J.P., Damange J.P., 1994 - Structure and kinetics of rodent populations in a region under agricultural land abandonment. Acta Oecologica 15(4):385-400.
- Giraudoux P., Delattre P., Takahashi K., Raoul F., Quéré J.-P., Craig P., Vuitton D., 2002 - Transmission ecology of *Echinococcus multilocularis* in wildlife: what can be learned from comparative studies and multi-scale approaches? In: P. C, Pawlowsky Z, editors. Cestode zoonoses: echinococcosis and cysticercosis, an emergent and global problem. London: IOS Press NATO Science Series, p 251-266.
- Giraudoux P., Tremollières C., Barbier B., Defaut R., Rieffel D., Bernard N., Lucot E., Bery P., 2006. Persistence of bromadiolone anticoagulant rodenticide in *Arvicola terrestris* populations after field control. Environ. Res., 102: 291-298
- Gomot A., Gomot L., Boukraa S., Bruckert S., 1989 - Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa*. An experimental study of the route for the stimulating factors. J. Moll. St. 55, 1-7.
- Gomot-de Vaufléury A., Pihan F., 2000 - Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. Chemosphere, 40: 275-284.
- Hamers T., van den Berg J.H.J., van Gestel C.A.M., van Schooten F.J., Murk A. J., 2006 - Risk assessment of metals and organic pollutants for herbivorous and carnivorous small mammal food chains in a polluted floodplain (Biesbosch, The Netherlands). Environ. Poll. 144
- Hispard F., de Vaufléury A., Cosson R.P., Devaux S., Scheifler R., Coeurdassier M., Gimbert F., Martin H., Richert L., Berthelot A. and Badot P.-M., 2008a - Comparison of transfer and effects of Cd on rats exposed in a short experimental snail-rat food chain or to CdCl₂ dosed food. Environ. Intern., 34, 381-389.
- Hispard F., de Vaufléury A., Martin H., Devaux S., Cosson R.P., Scheifler R., Richert L., Berthelot A., Badot P.-M., 2008b - Effects of subchronic digestive exposure to organic and inorganic cadmium on biomarkers in rat tissues. Ecotoxicol. Environ. Saf., 70, 490-498.
- Houba V.J.G., Lexmond T.M., Novozamsky I., van Der Lee J.J., 1996 - State of the art and future developments in soil analysis for bioavailability assessment. Sci. Total Environ. 178, 21-28.
- ISO 15952, 2006 - Soil quality - Effects of pollutants on juvenile land snails (*Helicidae*) - Determination of the effects on growth by soil contamination. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO 17402, 2008 - Soil quality - Guidance for the selection and application of methods for the assessment of bioavailability of contaminants in soil and soil materials. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.
- Lock K.et Janssen C.R., 2001 - Effect of clay and organic matter type on the ecotoxicity of zinc and cadmium to the potworm *Enchytraeus albidus*. Chemosphere 44, 1669-1672
- Mason C.F., 1970 - Snail populations, beech litter production and the role of snail in litter decomposition. Oecologia 5:215-239.
- McMillen S.J., van Gestel C.A.M., Lanno R.P., Linder G.L., Pauwels S.J., Stephenson G.L., 2003 - Biological measures of bioavailability. In: Lanno, R.P. (Ed.). Contaminated soils: from soil-chemical interactions to ecosystem management. Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Pensacola, p. 293-343.
- Meyer J.S., 2002 - The utility of the terms "bioavailability" and "bioavailable fraction" for metals. Mar. Environ. Res. 53, 417-423.
- Milton A., Cooke J.A., Johnson M.S., 2003 - Accumulation of Lead, Zinc, and Cadmium in a Wild Population of (*Clethrionomys glareolus*) from an Abandoned Lead Mine. Archives of Environ. Contam. Toxicol. 44, 405-411.
- Milton A. et Johnson M., 1999 - Biomonitoring of contaminated mine tailings through age accumulation of trace metals in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). J. Environ. Monit. 1(3):219-225.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), 1984 - Test N° 207: Earthworm acute toxicity test. *OECD Guidelines for Testing of Chemicals* 1, 1-9
- Pauget B., 2006 - Master 1 Ecologie fonctionnelle - Influence de paramètres physico-chimiques du sol sur le transfert de métaux vers l'escargot *Helix aspersa*. Université de Franche-Comté.
- Peijnenburg W.J.G.M., Posthuma L., Eijsackers H.J.P., Allen H.E., 1997 - A conceptual framework for implementation of bioavailability of metals for environmental management purposes. Ecotoxicol. Environ. Saf. 37, 163-172.
- Pihan F., Gomot-de Vaufléury A., 2000 - The snail as a target organism for the evaluation of the contamination and the efficiency of a THC remediation: interest of passive and active monitoring. Ecotoxicol. Environ. Saf., 46: 137-147.
- R Development Core Team, 2007 - R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- Rabitsch W.B., 1996 - Metal accumulation in terrestrial pulmonates at a lead / zinc smelter site in Arnoldstein, Austria. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 56, 734-741.
- Regoli F., Gorbi S., Fattorini D., Tedesco S., Notti A., Machella N., Bocchetti R., Benedetti M., Piva F., 2006 - Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: an integrated approach. Environ. Health Persp., 114, 63-69.
- Rivière J.-L., Fouchécourt M.O., Walker C.H., 1998 - Biomarqueurs d'exposition des oiseaux et des petits mammifères aux polluants. In: *Utilisation des biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement*. Lagadic L., Caquet T, Amiard J.-C., Ramade F. Eds. Tex & Doc Lavoisier, Paris, pp 135-163.
- Sage M., Coeurdassier M., Defaut R., Lucot E., Barbier B., Rieffel D., Bery P. Giraudoux P., 2007 - How environment and vole behaviour may impact rodenticide bromadiolone persistence in wheat baits after field controls of *Arvicola terrestris*? Environ. Poll., 148, 372-379.
- Sage M., Coeurdassier M., Defaut R., Gimbert F., Bery P., Giraudoux P., 2008 - Kinetics of bromadiolone in rodent populations and implications for predators after field control of the water vole, *Arvicola terrestris*. The Sci. Tot. Environ., 407, 211-222.
- Sánchez-Chardi A. et Nadal J., 2007 - Bioaccumulation of metals and effects of landfill pollution in small mammals. Part I. The greater white-toothed shrew, *Crocidura russula*. Chemosphere, 68, 703-711.
- Sánchez-Chardi A., Peñarroja-Matutano C., Alberto Oliveira Ribeiro C., Nadal J., 2007 - Bioaccumulation of metals and effects of landfill pollution in small mammals. Part II. The wood mouse, *Apodemus sylvaticus*. Chemosphere, 70, 101-109.
- Sauvé S., Hendershot W., Allen H.E., 2000 - Solid-solution partitioning of metals in contaminated soils: dependence on pH, total metal burden, and organic matter. Environ. Sci. Technol. 34, 1125-1131.
- Scheifler R., Benbrahim M., de Vaufléury A., Carnus J.-M., Badot P.M., 2003 - A field method using microcosms to evaluate transfer of Cd, Cu, Ni, Pb

- and Zn from sewage sludge amended forest soils to *Helix aspersa* snails. *Environ.Poll.*, 122: 343-350.
- Scheiffler R., de Vaufleury A., Cœurdassier M., Crini N, Badot P.M., 2006 - Transfer of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn in a "soil - plant - invertebrate" food chain: a microcosm study. *Environ.Toxicol.Chem.*, 25(3): 815-822
- Scheiffler R., Gomot-de Vaufleury A., Toussaint M.-L., Badot P.-M., 2002 - Transfer and effects of cadmium in an experimental food chain involving the snail *Helix aspersa* and the predatory carabid beetle *Chrysocarabus splendens*. *Chemosphere*, 48: 571-579.
- Schipper A.M., Loos M., Ragas Ad M.J., Lopes J.O P.C., Nolte B.T., Wijnhoven S., Leuven R.S.E.W, 2008 - Modeling the influence of environmental heterogeneity on heavy metal exposure concentrations for terrestrial vertebrates in river floodplains. *Environ.Toxicol.Chem.*, 27: 919-932.
- Shore R.F., Douben P.E., 1994a - Predicting ecotoxicological impacts of environmental contaminants on terrestrial small mammals. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 134, 49-89.
- Shore R.F., Douben P.E.T., 1994b - The ecotoxicological significance of cadmium intake and residues in terrestrial small mammals. *Ecotoxicol. Environ. Saf* 29, 101-112.
- Smith P.N., Cobb G.P., Godard-Codding C., Hoff D., McMurry S.T., Rainwater T.R., Reynolds K.D., 2007 - Contaminant exposure in terrestrial vertebrates. *Environ.Poll.*, 150: 41-64.
- STARTT (2005-2009) - Biodisponibilité, transferts et effets des éléments trace métalliques dans des réseaux trophiques terrestres: changements d'échelle spatiale et de niveau d'organisation biologique. STARTT (Spatialisation des TrAnsferts dans des Réseaux Trophiques Terrestres). Programme National coordonné ANR « ECOSPHERE COntinentale Risques environnementaux ». Cofinancement ANR - ADEME.
- Sterckeman T., Douay F., Proix N., Fourrier H., 2000 - Vertical distribution of Cd, Pb and Zn in soils near smelters in the North of France. *Environ. Poll.* 107:377-389.
- Sterckeman T., Douay F., Baize D., Fourrier H., Proix N., Schwartz C., 2004 - Factors affecting trace element concentrations in soils developed on recent marine deposits from northern France. *App.Geochem.*, 19:89-103.
- Swiergosz R., Zakrzewska M., Sawicka-Kapusta K., Bacia K., Janowska I., 1998 - Accumulation of cadmium in and its effect on bank vole tissues after chronic exposure. *Ecotoxicol.Environ.Saf.* 41(2):130-136.
- Talmage S., Walton B., 1991 - Small mammals as monitors of environmental contaminants. *Review of Environ.Contam.Toxicol.*, 119:47-145.
- Toal M.E., Copplestone D., Johnson M.S., Jackson D., Jones S.R., 2001 - A dynamic compartmental food chain model of radiocesium transfer to *Apodemus sylvaticus* in woodland ecosystems. *Sci.Tot.Environ.*, 267: 53-65.
- van Gestel C.A.M., 2008 - Physico-chemical and biological parameters determine metal bioavailability in soil. *Sci.Tot.Environ.*, 406, 385-395.
- Veltman K., Huijbregts M.A.J., Hamers T., Wijnhoven S., Hendriks A.J., 2007 - Cadmium accumulation in herbivorous and carnivorous small mammals: Meta-analysis of field data and validation of the bioaccumulation model Optimal Modeling for Ecotoxicological Applications. *Environ. Toxicol. Chem.*, 26, 1488-1496.
- Wlostowski T, Chwelatiuk E, Bonda E, Krasowska A, Zukowski J., 2005 - Hepatic and renal cadmium accumulation is associated with mass-specific daily metabolic rate in the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Comp.Biochem.Physiol.Part C: Toxicol.Pharmacol.* 141(1):15-19.

Photo 1 - Microcosmes utilisés pour la bioindication active (Scheifler et al., 2003) : cylindres en acier inoxydable alimentaire de 25 cm de diamètre sur 25 cm de hauteur, fermés par une grille de maille 0.5 ou 1cm, maintenue par 4 piquets.

Photo 1 - Stainless steel microcosms used for active bioindication (diameter 0.25 m, 0.25 m high) securely fitted over the top by a stainless steel maintained by 4 stakes (Scheifler et al., 2003).

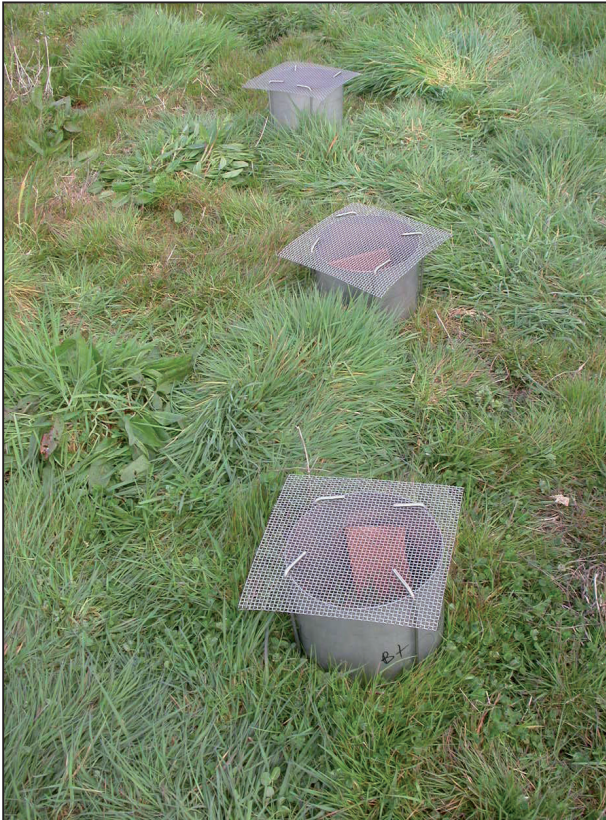


Photo 2 - Piège tapette appâté.

Photo 2 - Trap for small mammals.

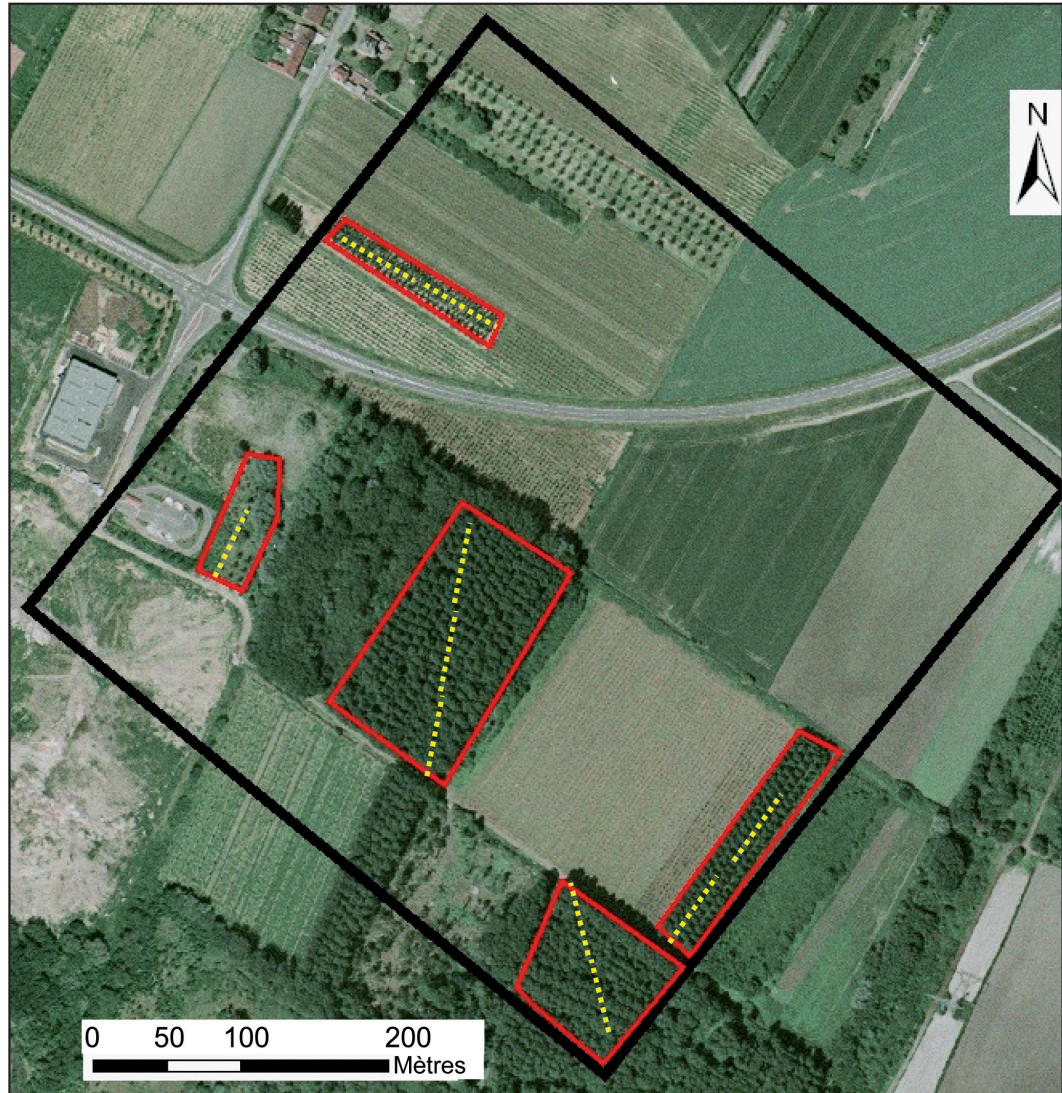


Photo 3 -

Localisation des lignes de pièges dans les différents habitats ligneux (numérotés dans les encadrés rouges) d'une maille du site d'étude. Les lignes tiretées représentent les lignes de 10 pièges.

Photo 3 -

Localisation of lines of traps in woody habitats. Yellow lines represent lines of 10 traps, each with a different letter.

**Photo 4 -** Principales espèces capturées.**Photo 4 -** Main trapped species.

Mulot sylvestre
Apodemus sylvaticus



Campagnol roussâtre
Myodes glareolus



Musaraigne musette
Crocidura russula