



HAL
open science

LES ESCARGOTS BIO-INDICATEURS DE LA QUALITE DES SOLS - Snail watch : analyse en laboratoire ou in situ de la biodisponibilité des contaminants

Annette De Vaufleury, Frédéric Gimbert, Benjamin Pauget, Clémentine Fritsch, Renaud Scheifler, Michael Coeurdassier

► **To cite this version:**

Annette De Vaufleury, Frédéric Gimbert, Benjamin Pauget, Clémentine Fritsch, Renaud Scheifler, et al.. LES ESCARGOTS BIO-INDICATEURS DE LA QUALITE DES SOLS - Snail watch : analyse en laboratoire ou in situ de la biodisponibilité des contaminants. 2012, pp.4. hal-00670360

HAL Id: hal-00670360

<https://hal.science/hal-00670360v1>

Submitted on 15 Feb 2012

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

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

FICHE

LES ESCARGOTS BIO-INDICATEURS DE LA QUALITE DES SOLS Snail watch : analyse en laboratoire ou *in situ* de la biodisponibilité des contaminants

Annette de Vaufleury & coll., CNRS-UFC/UMR 6249 Chrono-environnement, Besançon
Contact : annette.devaufleury@univ-fcomte.fr

POURQUOI LES ESCARGOTS ?

Les escargots sont des macro-invertébrés vivant à l'interface sol-plantes-air. Ils peuvent présenter des densités importantes (Topp, 1981 ; Jeffery *et al.*, 2010). Ces mollusques gastéropodes sont phytophages, détritivores et se déplacent sur, pondent dans et ingèrent du sol. Ils intègrent donc de multiples sources et voies de contamination (*cf* figure 1). Les escargots participent aux échanges avec le sol et sont des proies pour de nombreux consommateurs (invertébrés : vers luisant, larves de carabes, ou vertébrés : oiseaux, petits mammifères comme les musaraignes, hérisson et l'homme).

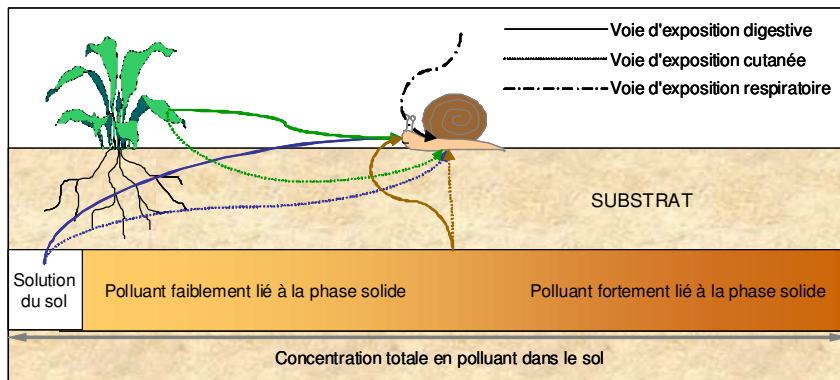


Figure 1 : Exposition des escargots dans l'écosystème terrestre.

Parmi les escargots, *Helix aspersa* ou *Cantareus aspersus*, est une espèce très largement répartie dans le monde (pour plus de détail, voir la norme ISO 15952, 2006). Son élevage étant possible, on peut disposer d'escargots de passé biologique connu pour :

- analyser en laboratoire la biodisponibilité des contaminants du sol par mesure des transferts sol-escargot (Fig.2a,b) ou sol-plante-escargot (Fig.2c).
- du biomonitoring actif en étudiant sur le terrain la biodisponibilité des contaminants du milieu (sol, plantes, air) par mesure de leur accumulation dans des escargots encagés pendant une durée déterminée (Fig.2d, e).

Dans les 2 cas on peut choisir de faire l'analyse des concentrations internes soit à la fin de l'exposition (étude statique) soit au cours de l'exposition (étude cinétique) : cette dernière nécessite plus d'animaux et de temps d'analyse mais elle apporte des informations plus précises (de Vaufleury *et al.*, 2009).

COMMENT SONT REALISEES LES EXPOSITIONS ET ANALYSES ?

Exposition en laboratoire. Pour mener des essais en laboratoire sous conditions contrôlées, des 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 (Fig. 2a,b). On utilise des escargots subadultes (4-6 g) élevés durant 7 à 9 semaines. Pour chaque sol étudié, cinq boîtes contenant six 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 (ou à défaut par une farine pour escargot) déposée dans des boîtes de Pétri. L'unique source de contamination est donc le sol. Le transfert des contaminants s'effectue alors par diffusion cutanée à travers l'épithélium du pied et par ingestion de particules de sol (Gomot *et al.*, 1989 ; Coeurdassier *et al.*, 2002). Trois fois par semaine, les boîtes sont nettoyées, les fèces enlevées et la nourriture renouvelée. A t 0, 6 escargots sont utilisés pour analyse des concentrations en contaminants avant exposition. Après 2, 5, 7, 14, 21 et 28 jours ou uniquement après 28 jours, pour chaque sol étudié un escargot est prélevé aléatoirement dans chaque boîte (de Vaufleury *et al.*, 2009 ; Gimbert *et al.*, 2006 ; Pauget 2008, Pauget *et al.*, 2011a). Si on souhaite étudier en laboratoire le transfert sol-plante-escargot, il est aussi possible de mettre en œuvre des microcosmes (Fig.2c ; voir Scheifler *et al.*, 2006, cette méthode n'étant pas détaillée ici).

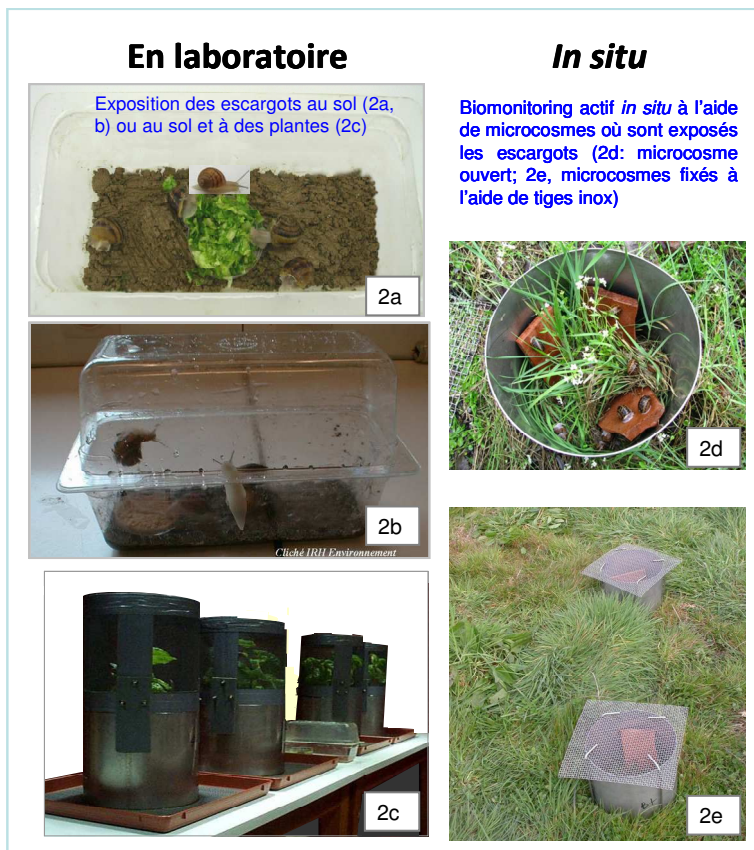


Figure 2 : Modalités d'exposition en laboratoire ou. *in situ*

Bioindication active *in situ*. Les essais *in situ* consistent à disposer des microcosmes (cylindres en acier inoxydable de 25 cm de diamètre sur 25 cm de hauteur fermés par une grille de maille 0,5 ou 1cm, maintenue par 3 à 4 tiges en inox) sur les différentes zones d'étude (Fig2d, e). Dans chaque microcosme on dispose 15 individus. Les escargots engagés sont des subadultes (4-6 g) élevés durant 7 à 9 semaines (ISO 15952 ou issus d'éleveurs locaux). Ils sont exposés au sol ainsi qu'aux végétaux (vivants ou en décomposition) ayant poussé sur le site et à l'air ambiant et subissent les aléas climatiques (Scheifler *et al.*, 2003 ; Gimbert *et al.*, 2008 ; Fritsch *et al.*, 2011 ; Pauget *et al.*, 2010 ; de Vaufleury *et al.*, 2011). A t 0, 6 escargots sont utilisés pour analyse des concentrations en contaminants avant exposition.

Pour une étude statique des transferts (de Vaufleury *et al.*, 2009) par mesure des concentrations internes en contaminants, au moins 6 escargots sont prélevés après 28

jours d'exposition sur le terrain. Les escargots restants peuvent être utilisés pour analyser d'autres contaminants. Pour l'étude des cinétiques de transfert il est nécessaire de disposer, par zone d'étude, au moins 3 microcosmes contenant chacun 15 individus. On prélève ensuite 2 individus par microcosme à chaque date de prélèvement (= 2, 5, 7, 14, 21 et 28 jours d'exposition) soit 6 escargots par date.

A l'issue de l'exposition, les escargots échantillonnés sont pesés, puis disposés dans une boîte en polystyrène cristal de type « boîte à souris » humidifiée (24x21x8 cm, ref. EIDBBAC001, Charles River IFFA-CREDO, 69 L'arbresle) en vue d'une période de jeûne de 48 heures pendant laquelle les fèces sont ôtées toutes les 24 heures. Puis les escargots sont sacrifiés par congélation à -80°C. Après décongélation, le corps mou est retiré de la coquille, les viscères et le pied sont séparés puis séchés à l'étuve à 60°C jusqu'à masse constante (pour les analyses d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP), les tissus doivent être séchés à 40°C). Les analyses sont généralement faites dans les viscères (Fig 3) car c'est l'organe où se concentrent la plupart des contaminants (métaux notamment).

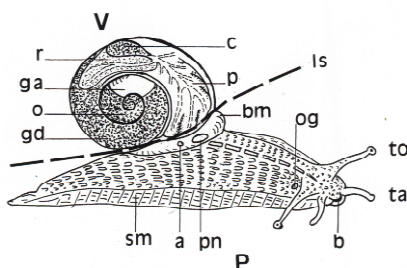


Figure 3: séparation des viscères (V) et du pied (P). a: anus, b: bouche, bm: bord du manteau, c: cœur, ga : glande à albumen, gd : glande digestive, o : ovotestis, og: orifice génital, p : poumon, pn : pneumostome, r : rein, sm : sole musculaire, ta : tentacule antérieur, to : tentacule oculaire .

PARAMETRES MESURES ?

Que ce soit en laboratoire ou *in situ* on détermine et on compare entre chaque sol étudié :

- les concentrations internes en métaux mesurées en fin d'exposition (28 jours). La distribution des données n'étant pas normale, un test non paramétrique de comparaison multiple de Kruskal-Wallis (kruskal multiple comparison, kruskalmc) est effectué pour les études réalisées sur plus de deux sols. Si on ne dispose pas de sol témoin, on comparera les concentrations post-exposition à celles des escargots avant exposition, ou quand elles sont connues à des concentrations de référence déterminées sur une large gamme de sites (Pauget *et al.*, 2010).
- si une étude cinétique d'accumulation est réalisée, l'évolution des concentrations en métaux dans l'escargot en fonction du temps est analysée au moyen d'un modèle à un compartiment (Figure 4) adapté aux escargots (Gimbert *et al.*, 2008) (Eq. 1) :

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

où $C_{esc}(t)$ est la concentration en métal dans l'escargot ($\text{mg}_{\text{métal}} \text{kg MS}_{\text{esc}}^{-1}$) au temps t (j), a est le flux d'assimilation ($\text{mg}_{\text{ETM}} \text{kg}_{\text{esc}}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$), k_2 le taux d'excrétion (j^{-1}) et t le temps (j). $C_{esc}(0)$ est la concentration initiale mesurée en métal dans l'escargot.

APPLICATION A UN CAS REEL

Question posée : les métaux de sols d'un ancien site minier sont ils biodisponibles et toxiques pour les escargots ?

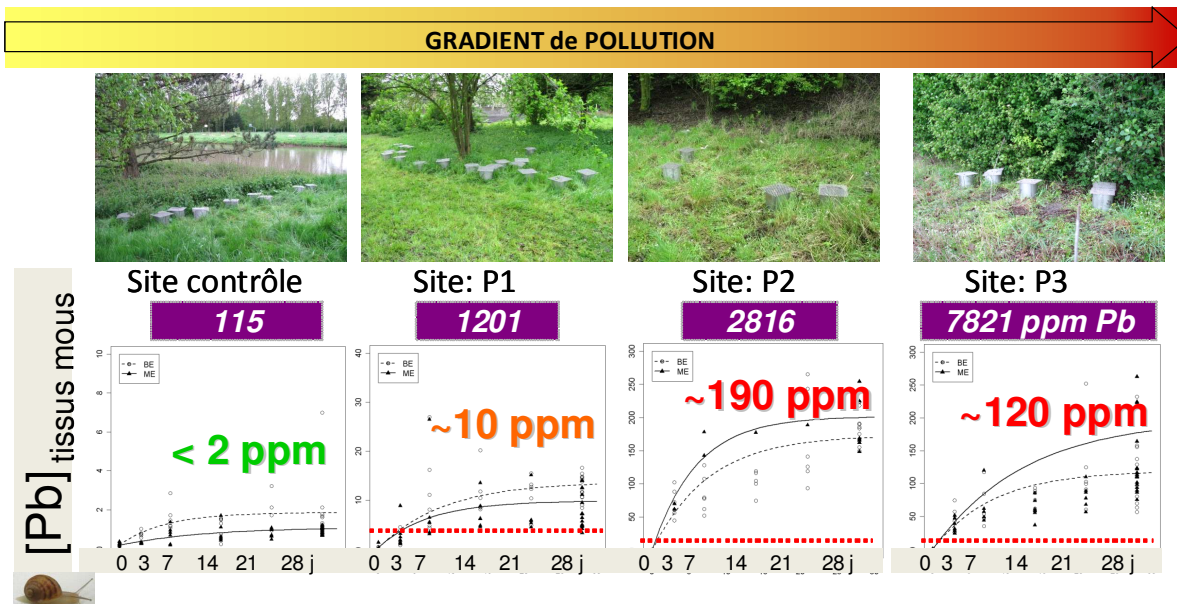


Figure 4- Biomonitoring (« snail watch » : bioindication active = transplantation d'animaux de passé biologique connu pendant 28 jours) sur un ancien site minier (Fritsch *et al.* 2011). En violet : concentration en Pb ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sol sec) ; en couleur sur les courbes : concentration interne en Pb en fin d'exposition.

In situ, le « snail watch » (Fig. 4) permet d'évaluer l'accumulation du plomb (Pb) dans des escargots implantés 28 jours en sentinelles. Cette mesure révèle la biodisponibilité du Pb du sol. Cette accumulation ne s'accompagne pas nécessairement d'effets toxiques (en terme de survie après 28 jours). La mise en relation de la bioaccumulation avec les paramètres du sol et/ou la disponibilité environnementale est complexe à analyser car les escargots sont exposés non seulement aux métaux par ingestion ou par contact direct avec le sol mais aussi par la chaîne trophique *via* les végétaux ingérés.

En laboratoire, les escargots sont exposés à des sols issus du même site selon la méthodologie présentée en Figures 2b et c. Ces expérimentations révèlent que des métaux du sol (exemple du Pb, fig. 5) sont biodisponibles pour l'escargot. Les cinétiques d'accumulation chez l'escargot sont variables selon les caractéristiques du sol (Pauget *et al.*, 2011a). Les flux d'assimilation (a ; en $\text{mgPb} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) peuvent être mis en relation avec les paramètres du sol (Pauget *et al.*, soumis). Cet exemple montre que ce n'est pas le sol le plus contaminé (Sol J) qui présente le transfert le plus rapide de Pb du sol vers l'escargot. A ces concentrations dans les sols et cette durée d'exposition aucun effet toxique n'est mis en évidence.

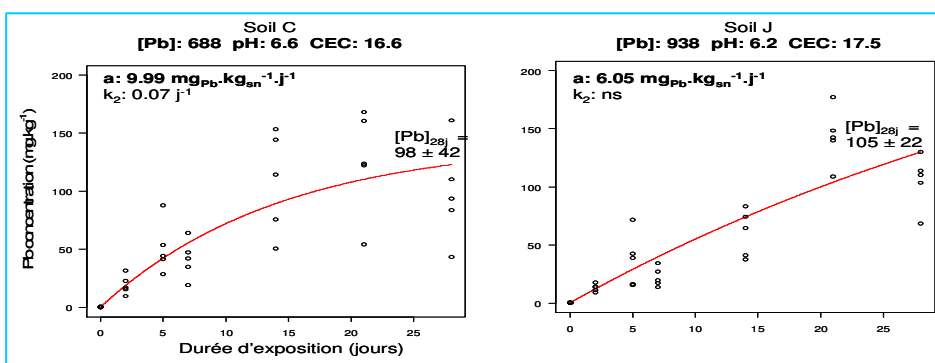


Figure 5 - Biodisponibilité (ex du Pb) pour l'escargot au cours d'une exposition de 28 jours en laboratoire à des sols d'un ancien site minier (Pauget, 2008 ; Pauguet *et al.*, soumis). Les concentrations internes à 28 jours sont similaires pour des 2 sols bien que le sol C soit moins contaminé que le sol J. Le flux d'assimilation (« vitesse » d'entrée) du Pb est plus élevé pour le sol le moins pollué.

D'autres travaux ont montré que le Cd accumulé dans l'escargot était biodisponible pour un prédateur vertébré (Hispard *et al.* 2008). L'absence d'effets toxiques pour l'escargot ne signifie pas l'absence d'effet dans les chaînes alimentaires en raison de la biodisponibilité trophique des contaminants.

L'utilisation des escargots comme bioindicateur s'est montrée pertinente dans le contexte des sols pollués par les métaux. On dispose de moins de données pour les contaminants organiques persistants (l'analyse des concentrations internes n'est adaptée que pour les polluants peu dégradés ou dont on connaît les métabolites). La combinaison des approches de laboratoire et de terrain permet d'approfondir les relations entre caractéristiques du sol et biodisponibilité des contaminants du sol pour l'escargot :

- l'approche de laboratoire constituant plutôt un outil d'évaluation des caractéristiques intrinsèques du sol.
- l'approche *in situ* renseigne sur la biodisponibilité actuelle des contaminants pour l'escargot et peut être utilisée également en évaluation des risques pour les écosystèmes et en évaluation de l'efficacité des méthodes de remédiation. Une méthode d'Évaluation des RISques de Transfert de MÉtaux (ERITME) basée sur l'utilisation de ce type d'outil permet de donner une note matérialisant la biodisponibilité (par comparaison des concentrations internes post-exposition et des concentrations de référence d'escargots exposés sur un sol non contaminé) (Pauget *et al.*, 2010, 2011b,c).

Bibliographie

- Coeurdassier M., Gomot-de Vaufleury A., Lovy C., Badot P.-M. 2002. Is the epithelial cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53, 425-431.
- de Vaufleury A., Bravin M., Ismert M., Grand C. 2011. Outils d'évaluation de la biodisponibilité des contaminants dans les sols. Recueil des contributions écrites préalables au séminaire ADEME-URS « Quels outils pour l'évaluation des risques pour les écosystèmes terrestres liés à des terrains contaminés ? », 27-28 septembre 2011, 12p.
- de Vaufleury A., Fritsch C., Gimbert F., Pauguet B., Coeurdassier M., Crini N., Scheifler R. 2009. Utilisation et intérêts des escargots et des micromammifères pour la bioindication de la qualité des sols. *Etude et gestion des sols*, vol.16, 3/4, 203-217.
- Fritsch C., Coeurdassier M., Gimbert F., Crini N., Scheifler R., de Vaufleury A. 2011. Investigations of responses to metal pollution in land snail populations (*Cantareus aspersus* and *Cepaea nemoralis*) from a smelter-impacted area. *Ecotoxicology*, 20, 739-759.
- Gimbert F., Mench M., Coeurdassier M., Badot P.-M., de Vaufleury A. 2008. Kinetic and dynamic aspects of soil-plant-snail transfer of cadmium in the field. *Environ. Poll.*, 152, 736-745.
- Gimbert F., de Vaufleury A., Douay F., Scheifler R., Coeurdassier M., Badot P.M., 2006. Modelling chronic exposure to contaminated soil: a toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environ. Int.* 32, 866-875.
- 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 absorption route for the stimulating factors. *Journal of Molluscan Studies*, 55, 1-7.
- Hispard F., de Vaufleury A., Cosson R.P., Devaux S., Scheifler R., Coeurdassier M., Gimbert F., Martin H., Richert L., Berthelot A. and Badot P.-M. 2008. Comparison of transfer and effects of Cd on rats exposed in a short experimental snail-rat food chain or to CdCl₂ dosed food. *Environment International*, 34, 381-389.
- 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).
- Jeffery S., Gardi C., Jones A., Montanarella L., Marmo L., Miko L., Ritz K., Peres G., Römbke J. and van der Putten W. H. (eds.), 2010, European Atlas of Soil Biodiversity. European Commission, Publications Office of the European Union, Luxembourg.
http://eusoiils.jrc.ec.europa.eu/library/maps/biodiversity_atlas/Documents/Biodiversity_Atlas.pdf
- Pauguet B., 2008. De la disponibilité environnementale à la biodisponibilité : impact des paramètres du sol sur le transfert de métaux vers l'escargot *Helix aspersa*. Master Sciences, Santé, Technologie, Université de Franche Comté.
- Pauguet B., Coeurdassier M., de Vaufleury A. 2010. Rapport du programme bioindicateurs 2 – Utilisation et intérêt des escargots pour la bioindication de la qualité des sols. <http://ecobiosoil.univ-rennes1.fr/page.php?10>
- Pauguet B., Gimbert F., Coeurdassier M., Scheifler R., de Vaufleury A. 2011a. Use of chemical methods to assess Cd and Pb bioavailability to the snail *Cantareus aspersus*: a first attempt taking into account soil characteristics. *Journal of Hazardous Materials*, 192, 1804- 1811.
- Pauguet B., Gimbert F., Scheifler R., Coeurdassier M., de Vaufleury A. soumis fin 2011. Soil parameters as key factor to predict metal bioavailability to snails using chemical extractants.
- Pauguet B., Gimbert F., Coeurdassier M., Alaphilippe A., Bispo A., Beguiristain T., Douay F., Faure O., Galsomies L., Grand C., Hedde M., Hitmi A., Houot S., Legras M., Peres G., Ulrich E., Vian J.F., de Vaufleury A. 2011b. Détermination de concentrations internes de référence (CIRef) en éléments traces métalliques de l'escargot Petit Gris sur divers sites français et essais de caractérisation biologique des sites contaminés. Colloque de la SEFA, Paris, MNHN, 22 juin 2011 (poster).
- Pauguet B., Coeurdassier M., Gimbert F., de Vaufleury A. 2011c. La bioindication active par l'escargot : un outil d'évaluation du risque de transfert de métaux intégrant leur biodisponibilité. Séminaire *Écotoxicologie INRA*, Saing-Lager, 7 novembre 2011.
- Scheifler R., de Vaufleury A., Coeurdassier 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. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(3): 815-822
- Scheifler R., Benbrahim M., de Vaufleury 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.
- Topp W. 1981. *Biologie der Bodenorganismen*. Quelle & Meyer, Heidelberg.