

Les micromammifères

M. Coeurdassier, R. Scheiffler & coll., /UMR 6249 Chrono-environnement, Besançon
Contact : michael.coeurdassier@univ-fcomte.fr



DESCRIPTION DE L'INDICATEUR

Nom de l'indicateur : Bioaccumulation des éléments métalliques par les micromammifères.

Rôle écologique de l'organisme testé : Les micromammifères constituent un rassemblement de petits mammifères morphologiquement proches mais taxonomiquement et écologiquement différents. En France, on distingue 2 sous-familles principales dans la famille des muridae (Ordre des rongeurs : Rodentia), les arvicolinae qui regroupent les campagnols et les murinae qui regroupent les rats, les souris et les mulots. Les musaraignes sont également des micromammifères appartenant à l'ordre des Soricomorpha (ex Insectivora) et ont un régime alimentaire plus carnivore que les rongeurs. Les micromammifères sont globalement présents dans tous les écosystèmes terrestres et pour certaines espèces sont les proies de nombreux prédateurs notamment des rapaces, tous protégés en France.



Type d'indicateur : Bioindicateurs d'accumulation : l'analyse des concentrations internes en éléments trace métallique (ETMs) est réalisée dans les organes cibles (reins) ou d'accumulation (foie) des micromammifères.

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

Normes et/ou protocoles de référence

Les protocoles d'échantillonnage et de traitements des échantillons sont publiés dans la revue Environmental Pollution (Fritsch *et al.* 2010) et dans la thèse de C. Fritsch :

http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/52/45/16/PDF/ThA_se_C_Fritsch.pdf

Plan et méthode d'échantillonnage : L'échantillonnage est réalisé à partir de méthodes standards qui permettent également de mesurer la structure des peuplements et des populations. Des lignes de 10 ou 34 pièges tapette, espacés de 3 m et appâtés sont disposées pendant 3 nuits consécutives dans les habitats à échantillonner et relevées quotidiennement. L'échantillonnage peut se faire du début du printemps à la fin de l'automne, l'automne étant généralement la saison qui permet d'obtenir les plus forts taux de capture.

Stockage et pré-traitement des échantillons :

Les micromammifères capturés peuvent être disséqués immédiatement après la capture ou être congelés à -20°C pendant plusieurs semaines voire mois. Les espèces sont pour la plupart facilement identifiables grâce à des critères morphologiques visibles à l'œil nu ou grâce à une loupe manuelle pour les critères dentaires. Au cours de la dissection, le genre de l'individu est noté, le foie et les reins sont prélevés puis séchés



à l'étuve à 60°C jusqu'à masse constante. Après dissection, les dosages peuvent être réalisés sous forme de prestation de service par des laboratoires certifiés (~ 50 € HT / échantillon pour 6 métaux). Afin d'évaluer l'âge relatif des rongeurs, les yeux sont prélevés et placés pendant au moins 2 semaines dans une solution de formaldéhyde 2%. Les cristallins sont ensuite extraits précautionneusement avec une pince fine puis séchés à l'étuve à 45°C jusqu'à masse constante. Leur masse sèche estimée au 1/10^e de mg donne une estimation de l'âge des individus.

Description simplifiée de la méthode de mesure : Matériel courant : tapettes à souris, appâts (mélange de beurre de cacahuètes et de farine), petits sacs plastiques à glissière, jalons, balance (précision : 0,1 mg), pinces fines et ciseaux de dissection, étuve pour séchage puis minéralisation des échantillons, tubes 50 ml ; acide pour minéralisations des tissus. Matériel spécifique : pour analyses des ETMs après minéralisation acide ; SAA, ICP (MS ou OES).

Estimation du temps : piégeage : 4 jours; préparation et analyses environ 6 j pour 50 individus = dissection 15 mn par individu; lyophilisation ou séchage à l'étuve 24 à 48h ; minéralisation 24h ; dosage 1/2 journée avec étalonnage de l'appareil (pour métaux).

Paramètres mesurés

Concentrations en ETMs (mg/kg masse sèche) du foie et/ou des reins.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Nécessité d'un référentiel global, faisant appel à une base de données

La publication de nombreuses études menées sur différentes espèces permet de disposer de concentrations en ETMs mesurées dans des micromammifères provenant de sites non contaminés (tableau 1). Ces valeurs peuvent servir de référence pour utiliser les concentrations internes mesurées dans un site donné en tant qu'indicateur de transfert intégrant exposition et biodisponibilité.

Espèces	ETMs	Concentrations (mg/kg MS)	Références
Mulot sylvestre (sous-famille Murinae)	As	0,03 – 1,75	1,2,3,4,5,6,7,
	Cd	0,26 – 3,87	1,3,4,8,9,10,11
	Pb	0,07 – 9	1,3,4,8,9,10,11
Campagnol agreste (sous-famille Arvicolinae)	As	0,03 – 1,8	1,2
	Cd	0,2 – 7,8	1,11,12,13
	Pb	0,54 – 6,1	1,11,12,13

Tableau 1 : Synthèse bibliographique des concentrations hépatiques (valeurs minimum et maximum) en ETMs mesurées chez le mulot sylvestre et le campagnol agreste dans des sites non contaminés.

[1] Sheffield *et al.* 2001 In Shore & Rattner ; [2] Erry *et al.* 2005 ; [3] Tersago *et al.* 2004 ; [4] Rogival *et al.* 2007 ; [5] Ismail & Roberts 1992 ; [6] Erry *et al.* 1999; [7] Erry *et al.* 2000 ; [8] Talmage et Walton 1991 ; [9] Fritsch *et al.* 2010 ; [10] Beernaert *et al.* 2007 ; [11] Sanchez-Chardi *et al.* 2007 ; [12] Ainsworth et Cooke 1991 ; [13] Beardsley *et al.* 1978

Par ailleurs, l'existence de concentrations internes critiques pour certains éléments (Cd, Pb...) dans des tissus cibles permet une interprétation toxicologique des concentrations mesurées et une évaluation en termes de risque pour les espèces de micromammifères concernées (tableau 2).

Element	Organe	Concentrations critiques répertoriées dans la littérature	
		Valeur la plus faible	Valeur médiane
Cd	Foie	0,9	15
	Rein	3,5	112
Pb	Rein	25	51

Tableau 2 : Exemple de concentrations internes critiques en Cd et Pb (mg/kg MS) dans le foie et les reins de micromammifères (d'après Wijnhoven *et al.* 2008)

Disponibilité/accès à la base de données

Les valeurs de références citées dans les tableaux 1 et 2 sont tirées d'articles scientifiques publiés dans des revues internationales (voir références citées).

Informations complémentaires nécessaires

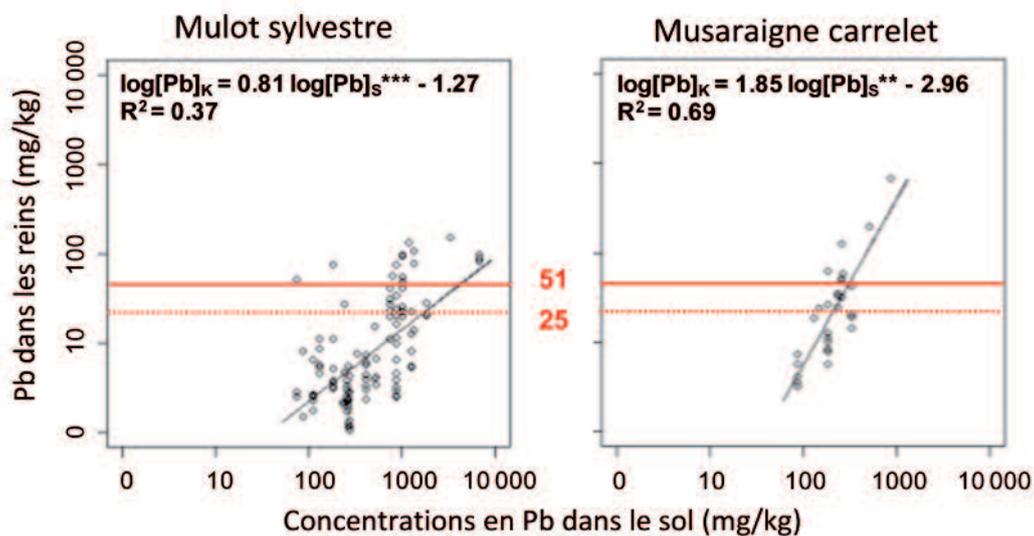
L'âge des individus est important à prendre compte car il influence les concentrations internes mesurées dans les tissus des micromammifères. Par ailleurs, les caractéristiques des habitats échantillonnés peuvent aider à l'interprétation des données de transfert (Fritsch 2010, Fritsch *et al.* 2011a).

EXEMPLE D'APPLICATION

Cas de l'ancienne fonderie de Metaleurop (programme STARTT - ADEME/ANR)

Les concentrations hépatiques et rénales en Cd et Pb ont été mesurées dans les populations de mulot sylvestre et de musaraigne carrelet le long d'un gradient de pollution par le Cd et le Pb à proximité de l'ancienne fonderie de Metaleurop (Nord-Pas de Calais). Dans tous les cas, les concentrations internes augmentent avec le niveau de contamination des sols, la figure 1 présente les résultats obtenus pour le Pb dosé dans les reins de 2 espèces de micromammifères. L'âge des individus et la composition paysagère à proximité des sites de captures sont des facteurs complémentaires pour expliquer les variations des concentrations internes (Fritsch *et al.* 2011a).

Figure 1 : Concentrations internes en Pb dans 2 espèces de micromammifères capturées le long d'un gradient de pollution des sols à proximité de l'ancienne fonderie de Metaleurop (d'après Fritsch *et al.* 2010). Les lignes rouges représentent les concentrations internes critiques pour le Pb dans les reins de micromammifères" (Cf tableau 2: valeur la plus faible (25 mg/kg) et médiane (51 mg/kg)).



Cas de la friche industrielle d'Auzon (programme Bioindicateurs II - ADEME)

La friche industrielle d'Auzon présente une contamination très localisée des sols par de l'arsenic. Des échantillonnages standardisés de rongeurs notamment de mulots (*Apodemus sp.*) ont été réalisés dans 3 sites le long d'un gradient de pollution par l'As, un site fortement contaminé (site F), un site moyennement contaminé (site M) et un site contrôle (site C) sans contamination avérée. Les densités relatives de mulots sont statistiquement plus élevées dans le site F que dans le site C ce qui suggère que cette réponse n'est pas un indicateur pertinent en biosurveillance puisque probablement plus fortement influencée par la structure et la qualité de l'habitat que par la contamination des sols.

Ici aussi, la mesure des concentrations hépatiques s'avère pertinente pour discriminer les sites en fonction de leur niveau de contamination (figure 2). Dans le secteur C, aucun individu ne dépasse la concentration maximale répertoriée dans le sol d'un site non contaminé, i.e. 1,75 mg/kg (tableau 1). Dans le secteur M, un seul individu dépasse cette valeur alors que près de 25% des mulots capturés dans le secteur F dépassent cette référence.

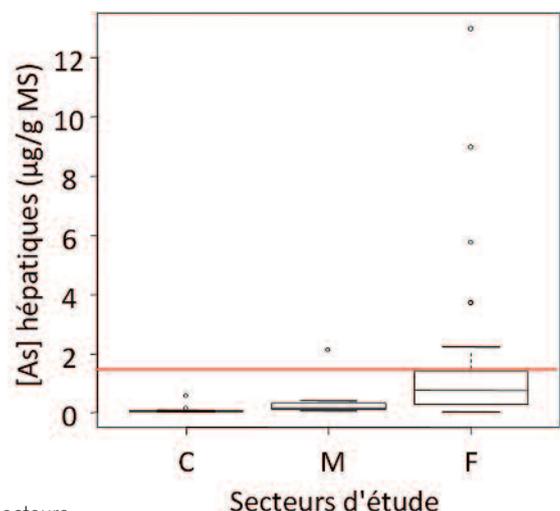


Figure 2 : Concentrations hépatiques en As dans des mulots capturés dans les secteurs étudiés du site d'Auzon. La ligne rouge indique une concentration de 1,75 mg/kg qui est la valeur la plus forte répertoriée dans la littérature pour un site non contaminé

INTÉRÊTS ET LIMITES DE L'INDICATEUR

L'utilisation des micromammifères suscite un intérêt récent en biosurveillance. Parmi les traits qui font des micromammifères des bioindicateurs potentiels, on peut citer :

- l'abondance de certaines espèces ubiquistes (mulots...) ou plus localement de certains campagnols.
- leur domaine vital vaste (quelques 10^{aine} à plusieurs 100^{aine} m² selon les espèces) comparé aux bioindicateurs invertébrés et leur faible migration. Ainsi, les espèces mobiles comme les mulots intègrent la contamination de l'environnement à des échelles vastes mais qui restent locales.
- les murinae ont un régime alimentaire omnivore, ce sont de bons intégrateurs de la contamination de différents compartiments de leur environnement. En tant que prédateurs, les musaraignes sont des bioindicateurs pertinents pour les substances à fort potentiel de biomagnification.
- l'utilisation de certaines espèces (rat et souris) comme modèles en toxicologie, pharmacologie et médecine fait que (i) leur élevage et les expérimentations en conditions contrôlées sont réalisables en routine ; (ii) leur physiologie est globalement bien connue.
- la possibilité d'utiliser les concentrations en ETMs dans le corps entier des micromammifères pour évaluer le risque pour leurs prédateurs.

A l'heure actuelle, les méthodes proposées nécessitent le sacrifice des animaux. Des moyens d'investigation non létaux et peu invasifs (concentrations des polluants dans les poils ou le sang, biochimie sanguine, indice de condition corporelle...) font l'objet de développements actuels qui ne sont pas encore pleinement opérationnels. D'autres réponses individuelles (biomarqueurs...) et/ou écologiques (structure de populations et communautés) doivent être testées et/ou validées pour que leur utilisation de routine en biosurveillance puisse être envisagée (Sheffield *et al.* 2001, Fritsch 2010, Fritsch *et al.* 2011b). Par ailleurs, les référentiels d'interprétation des concentrations internes ont besoin d'être redéfinis plus précisément.

Laboratoire Chrono-Environnement UMR 6249 CNRS/UFC. Place Leclerc – 25030 Besançon cedex.

Références citées – (1) Ainsworth & Cooke. 1991. *Water Air & Soil Pollution* 57: 193. (2) Beardsley *et al.* 1978. *Environmental Pollution* 16: 65. (3) Beernaert *et al.* 2007. *Environmental Pollution* 145: 443. (4) Erry *et al.* 1999. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 63: 567. (5) Erry *et al.* 2000. *Environmental Pollution* 110: 179. (6) Erry *et al.* 2005. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 49: 569. (7) Fritsch. 2010. *Utilisation intégrée de bioindicateurs pour la surveillance des sols et des écosystèmes terrestres*. Thèse de Doctorat. http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/52/45/16/PDF/ThA_se_C_Fritsch.pdf. (8) Fritsch *et al.* 2010. *Environmental Pollution* 158: 827. (9) Fritsch *et al.* 2011a. *PLoS ONE* 6: e20682. doi:10.1371/journal.pone.0020682. (10) Fritsch *et al.* 2011b. SETAC Europe 21ème Congrès, Milan. (11) Hendricks *et al.* 1995. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 29: 115-127. (12) Ismail & Roberts. 1992. *Environmental Technology* 13: 1091. (13) Le Louarn *et al.* 2003. *Les Rongeurs de France, Paris*. (14) Rogival *et al.* 2007. *Environmental Pollution* 145: 516. (15) Sanchez-Chardi *et al.* 2007. *Environmental Pollution* 145: 7. (16) Sanchez-Chardi *et al.* 2009. *Chemosphere* 76: 387. (17) Sheffield *et al.* 2001. *In Shore RF, Rattner BA. Ecotoxicology of Wild Mammals*. John Wiley & Sons, London. (18) Talmage & Walton. 1991. *Review of Environmental Contaminants and Toxicology* 119: 47. (19) Tersago *et al.* 2004. *Environmental Pollution* 132: 385 (20) Torres & Johnson. 2006. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20: 2617. (21) Wijnhoven *et al.* 2008. *The Science of the Total Environment* 406: 401.

CONTACT michael.coourdassier@univ-fcomte.fr

