

ANNEE : 2023-2024

N° D'ORDRE : 109

CANDIDAT

Nom : **N'GUESSAN**

Prénoms : **N'guessan Olivier**

THESE DE DOCTORAT

Pour l'obtention du grade de Docteur

L'Université Jean Lorougnon GUEDE

Mention : Ecologie, Biodiversité et Evolution

Spécialité : Biologie et Ecotoxicologie Animale

Evaluation de l'impact des polluants chimiques sur la croissance et la qualité sanitaire des escargots du genre *Achatina* de la région de la Nawa, sud-ouest de la Côte d'Ivoire

JURY

Président : ASSEMIAN N'guessan Emmanuel, Professeur Titulaire, Université Jean LOROUGNON GUEDE

Directeur : KOUASSI Kouadio Daniel, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUEDE

Rapporteur : MEMEL Jean Didié, Maître de Conférences, Université NANGUI ABROGOUA

Examineurs : DIARRA Moussa, Maître de Conférences, Université Jean LOROUGNON GUEDE

ADOU Coffi Franck Didier, Maître de Conférences, Ecole Normale Supérieure

Soutenue publiquement

Le 29/11/2024

TABLE DES MATIERES

	Page
DEDICACE	v
REMERCIEMENTS	vi
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES FIGURES.....	xi
INTRODUCTION.....	1
PREMIERE PARTIE : GENERALITES	6
1.1 Milieu d'étude	7
1.1.1 La ferme achatinicole	7
1.1.2 Région de la Nawa	8
1.1.2.1 Situation géographique.....	8
1.1.2.2 Relief	9
1.1.2.3 Sol	9
1.1.2.4 Végétation	9
1.1.2.5 Réseau hydrographique	10
1.1.2.6 Climat	10
1.1.2.7 Activités socio-économiques.....	11
1.1.2.7.1 Activités agricoles	11
1.1.2.7.2 Activité touristique	12
1.2 Généralités sur les escargots géants d'Afrique.....	12
1.2.1 Classification	12
1.2.2 Déplacement des escargots.....	14
1.2.3 Données morphologiques des escargots.....	14
1.2.3.1 Coquille	14
1.2.3.2 Masse viscérale.....	15
1.2.4 Reproduction et croissance des escargots.....	16
1.2.5 Facteurs de régulation de la croissance et de la reproduction	17
1.2.6 Performance de la croissance	17
1.2.7 Valeur nutritionnelle des escargots géants africains	17
1.2.8 Aliments des escargots	18
1.2.9 Eléments d'écologie	19
1.2.10 Utilisation des escargots	20

1.2.10.1	Dans l'alimentation animale.....	20
1.2.10.2	Dans la pharmacopée.....	21
1.2.10.3	En médecine moderne et traditionnelle	21
1.2.10.4	Dans l'art	22
1.2.11	Prédateurs des escargots	23
1.2.12	Parasites des escargots.....	23
1.2.13	Maladies des escargots	23
1.2.14	Escargots et transmission de maladies	24
1.2.15	Espèces étudiées	24
1.2.15.1	<i>Achatina achatina</i> (Linné, 1758).....	24
1.2.15.2	<i>Achatina fulica</i> (Bowdich 1822).....	24
1.2.15.3	<i>Archachatina ventricosa</i> (Gould, 1850).....	25
1.3	Généralités sur les polluants.....	25
1.3.1	Polluants inorganiques : les métaux lourds	25
1.3.1.1	Origine des métaux lourds.....	26
1.3.1.2	Effets des métaux lourds sur la santé humaine.....	26
1.3.1.2.1	Effets du cadmium.....	26
1.3.1.2.2	Effet du cuivre	27
1.3.1.2.3	Effet du plomb.....	27
1.3.1.2.4	Effets du Zinc	27
1.3.2	Polluants organiques : produits phytosanitaires	28
1.3.2.1	Définitions	28
1.3.2.2	Classification des produits phytosanitaires (PPS).....	28
1.3.2.3	Devenir des pesticides dans l'environnement	29
1.3.2.3.1	Contamination des eaux par les pesticides	29
1.3.2.3.2	Contamination du sol par les pesticides	29
1.3.2.3.3	Contamination de l'atmosphère.....	29
1.3.2.4	Voies d'expositions chez l'homme	30
1.3.2.5	Effet des pesticides sur la santé humaine	30
1.3.3	Usage des pesticides	31
1.3.3.1	Utilisation des insecticides en agriculture	31
1.3.3.2	Utilisation des fongicides dans l'agriculture	31
1.3.3.3	Utilisation des herbicides en agriculture	32
1.3.4	Cas du glyphosate et son impact sur la santé humaine.....	32

1.3.4.1	Mode d'action et toxicité du glyphosate	33
1.3.5	Voies de contamination des escargots par les substances toxiques.....	34
1.3.6	Devenir des polluants chez l'escargot	35
1.3.7	Evaluation des risques	35
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES		37
2.1	Matériel	38
2.1.1	Fiche d'enquête	38
2.1.2	Matériel biologique	38
2.1.3	Bac d'expérimentation	39
2.1.4	Produits chimiques d'expérimentation	40
2.1.5	Matériel de mesure	41
2.1.6	Matériel de collecte des escargots	42
2.1.7	Matériel de laboratoire	42
2.1.7.1	Produits et solvants.....	42
2.1.7.2	Matériel technique	42
2.2	Méthodes	44
2.2.1	Méthode d'enquête	44
2.2.2	Méthode d'échantillonnage	45
2.2.2.1	Des escargots	45
2.2.2.2	Des sols.....	45
2.2.3	Méthode d'expérimentation	45
2.2.4	Méthode d'analyse des métaux	46
2.2.4.1	Préparation des échantillons d'escargots.....	46
2.2.4.2	Cuisson des escargots	47
2.2.5	Minéralisation des échantillons et dosage des métaux lourds.....	47
2.2.6	Méthode d'analyse de glyphosate dans les échantillons de sol.....	48
2.2.6.1	Extraction et purification.....	48
2.2.6.2	Dérivation.....	48
2.2.6.3	Quantification du glyphosate dans les échantillons.....	49
2.2.7.	Dosage du glyphosate dans les organes des escargots	49
2.2.7.1	Extraction et purification.....	49
2.2.7.2	Dérivation.....	50
2.2.7.3	Quantification du glyphosate dans les échantillons.....	50
2.2.8	Evaluation du risque sanitaire	50

2.2.8.1	Evaluation du risque sanitaire lié à la consommation des escargots.....	50
2.2.8.2	Evaluation de l'Excès de risque individuel (ERI).....	52
2.3.9	Analyse statistique.....	53
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION		55
3.1	Résultats	56
3.1.1	Effet du glyphosate sur les escargots.....	56
3.1.1.1	Glyphosate et activité des escargots	56
3.1.1.2	Glyphosate et mortalité des escargots <i>A. achatina</i> et <i>A. fulica</i>	57
3.1.1.3	Glyphosate et croissance coquillière de <i>Achatina achatina</i>	57
3.1.1.4	Glyphosate et croissance pondérale de <i>Achatina achatina</i>	59
3.1.1.5	Glyphosate et croissance coquillière de <i>Achatina fulica</i>	60
3.1.1.6	Glyphosate et croissance pondérale de <i>Achatina fulica</i>	62
3.1.1.7	Effets comparés du glyphosate sur la croissance coquillière des escargots <i>A. achatina</i> et <i>A. fulica</i>	63
3.1.1.8	Effets comparés du glyphosate sur la croissance pondérale des escargots <i>A. achatina</i> et <i>A. fulica</i>	64
3.1.2	Evaluation des polluants dans les escargots de la région de la Nawa	65
3.1.2.1	Escargots consommés par les populations de la Nawa	65
3.1.2.2	Herbicides (substance active) utilisés dans la zone d'étude.....	67
3.1.2.3	Teneurs en polluants dans les échantillons de sol	68
3.1.2.4	Teneur de polluants dans les différentes parties des escargots	69
3.1.2.5	Teneurs des polluants dans la chair des escargots des différentes localités	72
3.1.2.6	Concentrations des polluants dans la chair en fonction de la masse	76
3.1.3	Effet de la température sur les polluants et évaluation du risque sanitaire	79
3.1.3.1	Effet de la température sur les polluants	79
3.1.3.2	Effet du temps de cuisson sur les polluants.....	82
3.1.3.3	Evaluation du risque sanitaire liés à la consommation de l'escargot <i>Achatina achatina</i> dans la région de la Nawa.....	85
3.2	Discussion	86
CONCLUSION ET PERSPECTIVES		98
REFERENCES		101
ANNEXES		123

DEDICACE

Je dédie ce travail

A ma défunte mère qui m'a toujours soutenu, mais malheureusement qui est partie dans l'au-delà à un mois de la soutenance merci à toi maman pour avoir œuvré pour ma réussite.

Ton encouragement, ton soutien et tes précieux conseils m'ont été bénéfiques.

Merci pour l'éducation et le soutien permanent.

J'espère que je serais à la hauteur de ce que tu as toujours voulu que je sois.

REMERCIEMENTS

Au terme de notre étude, nous tenons à témoigner notre reconnaissance aux personnes dont le soutien, la disponibilité et la contribution à divers degrés nous ont aidé à la réalisation du présent mémoire. Qu'il nous soit permis de remercier les membres du personnel administratif avec à leur tête le Professeur ADOHI Krou Viviane, Présidente de l'Université Jean Lorougnon GUEDE (UJLoG) pour ses efforts dans la formation des étudiants.

C'est avec une grande appréciation que nous exprimons notre gratitude au Professeur KONE Issiaka, Vice-Président en charge de la Recherche, de l'Innovation Technologique et des Relations Extérieures de l'Université Jean Lorougnon GUEDE (UJLoG). Son engagement indéfectible envers la valorisation des résultats de recherche, ainsi que pour l'amélioration des conditions de travail et de recherche des étudiants, est un véritable atout pour notre institution.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude au Professeur SORO Dognimeton, Vice-Président chargé de la pédagogie, de la vie universitaire, de la recherche et de l'innovation technologique. Ses actions en faveur du bien-être des étudiants, notamment en facilitant l'accès à des stages de fin d'études et en promouvant l'insertion professionnelle des diplômés, sont inestimables.

Nous tenons à remercier le Professeur KOUASSI Kouakou Lazare, Directeur de l'UFR Environnement à l'Université Jean Lorougnon GUEDE qui œuvre pour l'avancement de l'UFR Environnement et l'insertion des étudiants de ladite UFR.

Nous témoignons notre gratitude au Professeur KOFFI Bené Jean-Claude, Directeur du Laboratoire de Biodiversité et Ecologie Tropicale (BioEcoTrop) pour sa disponibilité envers les étudiants.

Nos remerciements vont à l'endroit du Docteur KOUASSI Kouadio Daniel, Maître de Conférences, Directeur scientifique de cette thèse. Il a été le conducteur parfait que tout apprenant souhaite avoir et a apporté son expertise sur tous les plans à la réalisation de ce travail. Il a su, avec enthousiasme et compétence guider mes pas dans la recherche. Ses précieux conseils, remarques et critiques pertinentes et constructives m'ont guidé tout au long de cette thèse. Je lui suis particulièrement reconnaissant de m'avoir assuré de son soutien et la confiance totale depuis le début en se rendant disponible à chaque sollicitation.

Nous remercions les membres du jury de nous avoir fait l'honneur d'accepter de juger ce mémoire.

Que les planteurs des départements de Buyo, Soubré et Méagui trouvent ici l'expression de notre reconnaissance pour leur hospitalité et leur collaboration au cours de notre campagne

d'enquête et d'échantillonnage particulièrement messieurs AHOUTTOU Guillaume et YAO Konan Cédric qui nous ont aidé à faire cette collecte la nuit sous les vergers de cacaoyers.

Nous exprimons notre reconnaissance à la famille KOFFI pour l'hospitalité et l'amour manifesté durant tout notre parcours universitaire.

Nous remercions également les étudiants KOUASSI Kouamé Sylvestre Baudelaire étudiants en Master de biodiversité et Gestion Durable des Ecosystèmes étudiante, GNAZALE Carlos et N'DRE Sérébou tous deux en Master de Protection de l'Environnement et Gestion des Risques pour leur aide dans l'exécution des travaux d'échantillonnage et d'enquête.

Nous pensons aux parents, notamment à notre defunte très chère mère KOUASSI Amenan Rosalie sans qui rien n'aurait pu être fait avec ses nombreuses prières et bénédictions. Nous n'oublions pas notre grand frère N'GUESSAN Kouassi Stéphane, la famille SAHOULE pour leur soutien moral, social, financier et leurs encouragements dont j'ai bénéficié tout au long de mon parcours.

Que notre oncle BROU Kouakou Nestor trouve ici l'expression de notre sincère gratitude pour son soutien sans faille sur tous les plans durant les moments les plus difficiles.

Nous tenons à remercier nos amis de la promotion 2017-2018 de Protection de l'Environnement et Gestion des Risques (PEGR) avec qui nous formons une famille unie et solidaire.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à SAHI Florence et BEBO Grace pour leur soutien spirituel dont j'ai bénéficié tout au long de mon parcours Universitaire.

A ma fille Yedyda Adjoua N'GUESSAN, ta venue m'a encore redonné la force et le courage nous obligeant à nous surpasser puisque c'est à toi de prendre la relève et faire mieux que ton père.

A notre belle-famille, merci pour vos soutiens et assistance pendant ces moments difficiles. Vous nous avez aidé à nous rétablir. Trouvez ici l'expression de notre profonde reconnaissance. Nous profitons également de ces mots de fin pour encourager les nouveaux thésards, espérant que malgré ces quelques périodes de latence ou d'errance, qui jalonnent souvent la vie d'un doctorant, ne sauraient vous briser ce beau rêve et que vous trouverez le même plaisir que nous avons eu tout au long de ce travail.

Enfin, que toutes les personnes qui ont contribuées à améliorer ce travail trouvent ici l'expression de notre reconnaissance.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ACTA	: Accord Commercial Anti-Contrefaçon
ADEME	: Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie
AFSSET	: Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail
AMPA	: Aminométhylphosphonique
ANSES	: Agence Nationale de Sécurité Sanitaire
AOAC	: Association of Official Agricultural Chemists
BDO	: Demande Biologique en Oxyène
CEE	: Communauté Economique Européenne
CIRC	: Centre International de Recherche du Cancer
CJLSS	: Comité Permanent Inter-Etats de Lutte Contre la Sécheresse au Sahel
CPP	: Comités de Protection des Personnes
DCO	: Demande Chimique en Oxygène
EDTA	Ethylène Diamine Tétra Acétique
ERI	: Excès de Risque Individuel
ERU	: Excès de Risque Unitaire
DJA	: Dose Journalière Admise
DJE	: Dose Journalière d'Exposition
EPA	: Environmental Protection Agency
FAO	: Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'agriculture
FMOc	: Fluorénylméthoxycarbonyle
Gly	: Glyphosate
GM	: Génétiquement Modifié
HAPs	: Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
HCl	: Acide
HNO ₃	: Acide Nitrique
IARC	: International Agency for Research On Cancer
INERIS	: INERIS : Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques
INS	: Institut National des Statistiques
INSERM	: Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
Min	: Minute

NC	: Non Cancérogène
pH	: Potentiel d'Hydrogène
POPs	: Polluants Organiques Persistants
PPP	: Produits Phytopharmaceutiques
PPS	: Produits Phytosanitaires
QD	: Quotient de Danger
S/P	: Sous-Préfecture
Tac	: Trichloroacetic Acid
TD ₅₀	: Temps demi-vie
VTR	: Valeurs Toxicologiques de Référence

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau I : Quelques aliments consommés par les escargots.....	19
Tableau II : Différentes dilutions du glyphosate	46
Tableau III : Valeurs toxicologiques de référence	52
Tableau IV : Taux de mortalité de <i>A. achatina</i> et <i>A. fulica</i> durant les soixante jours de traitement par le glyphosate.....	57
Tableau V : Longueurs des coquilles de <i>Achatina achatina</i> soumise à différentes doses de glyphosate	59
Tableau VI : Poids vif de <i>Achatina achatina</i> soumise à différentes doses de glyphosate	60
Tableau VII : Longueur coquillère de <i>Achatina fulica</i> soumises à différentes doses de glyphosate	61
Tableau VIII : Poids vif de <i>Achatina fulica</i> soumis à différentes doses de glyphosate	63
Tableau IX : Teneur des polluants dans les échantillons des sols.....	69
Tableau X : Risques sanitaires liés à la consommation de <i>Achatina achatina</i> contaminés par le Plomb, cadmium, cuivre, zinc et glyphosate en fonction du temps de cuisson	86

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : Site d'expérimentation	7
Figure 2 : Région de la Nawa.....	8
Figure 3 : Variation interannuelle des paramètres climatiques de Soubré.....	11
Figure 4 : Classification des Achatinidae géants d'Afrique.....	13
Figure 5 : Morphologie et anatomie générale des escargots géants	16
Figure 6 : Instrument de musique datant de 18000 ans.....	22
Figure 7 : Cycle de vie de <i>Alluaudihella flavicornis</i>	23
Figure 8 : Différentes voies de contamination d'escargot (La Rocca, 2004).....	34
Figure 9 : Notion de risque d'intoxication aux polluant (Batsch, 2011).....	35
Figure 10 : <i>Achatina Achatina</i> (linné, 1758).....	38
Figure 11 : <i>Achatina fulica</i> (Bowdich, 1720).....	39
Figure 12 : <i>Archachatina ventricosa</i> (Gould, 1850).....	39
Figure 13 : Escargotière	40
Figure 14 : Herbicide Kalach 360 SL.....	41
Figure 15 : Balance électronique.....	41
Figure 16 : Pied à coulisse.....	42
Figure 17 : Sachets stomacker contenant différents organes des escargots	43
Figure 18 : Collecte des spécimens d' <i>Achatina achatina</i>	44
Figure 19 : Prise de mesure des échantillons	47
Figure 20 : Escargots exposés au glyphosate	56
Figure 21 : Croissance coquillère de <i>Achatina achatina</i> en fonction de la dose d'exposition au glyphosate.....	58
Figure 22 : Croissance pondérale de <i>Achatina achatina</i> en fonction de la dose d'exposition au glyphosate	60
Figure 23 : Croissance coquillère du poids moyen des escargots <i>Achatina fulica</i> sous l'effet du glyphosate en fonction du temps	61
Figure 24 : Effet du glyphosate sur le poids moyen des escargots <i>Achatina fulica</i> exposés au glyphosate en fonction du temps	62
Figure 25 : Comparaison de la croissance coquillère de <i>A. achatina</i> et <i>A. fulica</i> sous l'effet du glyphosate	64

Figure 26 : Comparaison de la croissance pondérale de <i>A. achatina</i> et <i>A. fulica</i> sous l'effet du glyphosate	65
Figure 27 : Espèces d'escargots prisées par les populations interrogées	66
Figure 28 : Effectif des personnes consommant <i>A. fulica</i> en fonction de l'âge.....	67
Figure 29 : Proportion des herbicides utilisés	68
Figure 30 : Concentration du glyphosate dans les différentes parties de l'escargot <i>A. achatina</i>	70
Figure 31 : Concentration de plomb dans les différentes organes de l'escargot <i>A. achatina</i> .	70
Figure 32 : Concentration de cuivre dans les différentes organes de l'escargot <i>A. achatina</i> ...	71
Figure 33 : Concentration de zinc dans les différentes organes de l'escargot <i>A. achatina</i>	71
Figure 34 : Concentration de cadmium dans les différentes organes de l'escargot <i>A. achatina</i>	72
Figure 35 : Taux de cuivre dans la chair des escargots <i>A. achatina</i> échantillonnées.....	73
Figure 36 : Taux de cadmium dans la chair des escargots <i>A. achatina</i> échantillonnées.....	74
Figure 37 : Taux de plomb dans la chair des escargots <i>A. achatina</i> échantillonnées	74
Figure 38 : Taux de glyphosate dans la chair des escargots <i>A. achatina</i> échantillonnées	75
Figure 39 : Taux de zinc dans la chair des escargots <i>A. achatina</i> échantillonnées	75
Figure 40 : Teneur en zinc en fonction du poids des escargots <i>A. achatina</i>	76
Figure 41 : Teneur en cadmium en fonction du poids des escargots <i>A. achatina</i>	77
Figure 42 : Teneur en glyphosate en fonction du poids des escargots <i>A. achatina</i>	77
Figure 43 : Teneur en cuivre en fonction du poids des escargots <i>A. achatina</i>	78
Figure 44 : Teneur en Plomb en fonction du poids des escargots <i>A. achatina</i>	78
Figure 45 : Effet de la température sur la teneur en zinc dans la chair de l'escargot <i>A. achatina</i>	79
Figure 46 : Effet de la température sur la teneur en cadmium dans la chair de l'escargot <i>A. achatina</i>	80
Figure 47 : Effet de la température sur la teneur en cuivre dans la chair de l'escargot <i>A. achatina</i>	80
Figure 48 : Effet de la température sur la teneur en plomb dans la chair de l'escargot <i>A. achatina</i>	81
Figure 49 : Effet de la température sur la teneur en glyphosate dans la chair de l'escargot <i>A. achatina</i>	81
Figure 50 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en glyphosate dans la chair de l'escargot <i>A. achatina</i>	82

Figure 51 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en cuivre dans la chair de l'escargot A.	
<i>achatina</i>	83
Figure 52 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en cadmium dans la chair de l'escargot A.	
<i>achatina</i>	83
Figure 53 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en zinc dans la chair de l'escargot A.	
<i>achatina</i>	84
Figure 54 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en plomb dans la chair de l'escargot A.	
<i>achatina</i>	84

INTRODUCTION

Depuis des décennies, la quasi-totalité des méthodes modernes de protection des végétaux reposent sur l'utilisation des produits phytosanitaires (PPS). L'utilisation intensive de ces produits est gage d'un accroissement rapide de la production (Soro *et al.*, 2018), surtout celles des cultures destinées à l'exportation. Les pertes de rendements des productions agricoles dues aux maladies, aux ravageurs et aux mauvaises herbes pourraient atteindre des proportions importantes (Oerke & Dehn, 1997). Ainsi, l'usage de ces produits a permis le développement de l'agriculture de contribuer à l'augmentation des rendements et, après la Seconde Guerre mondiale, de contribuer à la régulation de la production agricole (Bourbia-Ait, 2013). Parmi les PPS, les herbicides (46,9%) sont les plus utilisés dans le monde, devant les fongicides (25,9%), les insecticides (24,1%) et les autres produits (UIPP, 2009). Au nombre des consommateurs des pesticides, figure la Côte d'Ivoire. A titre d'exemple, pour la seule année 2016, elle a importé 20 000 tonnes de pesticides, dont les deux tiers étaient des herbicides (Traoré & Haggblade, 2017). Selon Soro *et al.* (2019), les matières actives d'herbicides les plus utilisées sont le glyphosate et le nicosulfuron. En effet, cette méthode de contrôle est très courante dans les grandes cultures et peut réduire le temps de désherbage et optimiser les rendements agricoles (Adamou *et al.*, 2019 ; Mangara *et al.*, 2014). Par ailleurs, l'un des principaux en jeu était la croissance démographique de plus en plus croissante qu'il faut satisfaire en besoin alimentaire ce qui à favoriser l'utilisation importante des pesticides. Par rapport au désherbage manuel, le temps de lutte contre les mauvaises herbes peut être réduit de 40 à 60 % et la production peut être augmentée de 10 à 20 % (Ndabalishye, 1995). Cette méthode est citée par certains auteurs comme une pratique économique dans les plantations industrielles de palmiers à huile (Hornus 1990 ; Hornus *et al.*, 1990). Aujourd'hui, la main d'œuvre se fait rare ou lorsqu'elle existe, elle revient très chère. Hamel (1986) et Ecobichon, (2001) ont montré que les désherbages manuels pratiqués dans les palmeraies reviennent plus chers que les traitements chimiques. En revanche, ces PPS sont fréquemment mis en cause dans la dégradation des eaux douces, des eaux côtières et dans la réduction de la biodiversité constatée dans les zones agricoles (Casabé *et al.*, 2007). Des effets cancérigènes neurotoxiques ou de types perturbation endocrinienne des pesticides ont été mis en évidence chez les animaux (Thany, 2013). La question des risques pour l'homme reste donc posée tant au niveau professionnel que celui du consommateur. En Côte d'Ivoire, l'usage des insecticides, des fertilisants, des engrais et autres PPS se répandent de plus en plus avec le développement des activités industrielles et les pratiques agricoles utilisant les intrants sans cesse croissantes. L'usage des pesticides se fait généralement pour parer l'urgence sans se soucier des conséquences environnementales directes et sanitaires sur le long terme. Tout ce processus aboutit à l'infiltration de ces substances non biodégradables dans le sol, dans les

sources d'eau et les nappes souterraines puis vers les écosystèmes végétaux et animaux (Bouziani, 2007). Les substances actives présentes dans ces produits sont capables de pénétrer directement dans la chaîne alimentaire et se concentrer dans certains organismes vivants, exposant l'homme à une intoxication lente mais certaine. Il est indéniable de nos jours que, dans les pays en voie de développement, les ressources alimentaires disponibles à l'état naturel jouent un rôle assez substantiel dans l'alimentation des populations (Sodjinou *et al.*, 2002). Ces ressources comprennent les escargots géants africains (ou achatines), qui appartiennent à la famille des Achatinidae. Leur viande a été consommée depuis la période préhistorique et elle reste l'une des viandes la plus prisée par les populations européennes, africaines et américaines (Dafem *et al.*, 2008). En Afrique de l'Ouest, la chair d'escargot est un aliment essentiel du régime alimentaire des habitants de la forêt dense (Cobbinah, 1993 ; Mbétid-Bessane, 2006). Elle est la viande la plus consommée au Sud du Bénin devant l'aulacode, le poulet, l'ovin ou le caprin, le bœuf et le porc (Sodjinou *et al.*, 2002 ; Adamou *et al.*, 2019). En Côte d'Ivoire, la population consomme environ 7,9 millions de kg d'escargots par an, tandis qu'au Ghana, la demande dépasse largement la capacité de production (Cobbinah & Kankan, 2000). En effet, au cours d'une étude menée en Côte d'Ivoire par Otchoumou (2005), la partie consommée de l'escargots représente 30 % du poids vif de l'escargot. Il est très riche en eau (80 %) et contient 62 à 75 % de matière sèche de protéine brute. Il contient très peu de matières grasses mais possède un pouvoir calorifique très intéressant (341-358 Kcal/100 g) et une teneur élevée en calcium (1,3 g/100g MS) et en fer (491 mg/Kg MS). Naturellement, le fer fait partie des remèdes efficaces dans le traitement de l'anémie. Il est également recommandé pour combattre les ulcères et les asthmes (Cobbinah *et al.*, 2008). En conséquence, l'escargot est une probable source d'apport en fer pour l'organisme. À la cour romaine de l'époque, la viande d'escargot était souvent consommée en fin de nuit, car on lui prêtait des propriétés aphrodisiaques (Cobbinah *et al.*, 2008). Presque tous les acides aminés essentiels que l'homme a besoin sont présents chez l'escargot ainsi que les vitamines A, D3 et E (Otchoumou, 2005). Cet engouement croissant de la population pour la viande se heurte au déclin important des ressources naturelles, gravement menacées par une intense pression de ramassage, la destruction des habitats et de l'utilisation des PPS (Dafem *et al.*, 2008). Or les escargots sont par ailleurs des espèces bioaccumulatrices. Ils peuvent absorber et concentrer certains produits chimiques (Adamou *et al.*, 2019) toxiques comme les métaux lourds. Ces éléments métalliques font partie des polluants les plus dangereux, car ils ne peuvent pas être dégradés et leurs concentrations augmentent régulièrement dans les différents compartiments des écosystèmes (Zorrig, 2004, Lupi *et al.*, 2015). Le sol, qui représente la couche superficielle de la croûte terrestre, est un écosystème

qui concentre plusieurs organismes vivants remplissant des fonctions écologiques essentielles. Il est caractérisé par divers facteurs microbiologiques, physiques, chimiques et mécaniques ; il soutient donc une activité biologique intense. Bien que la présence de contaminants dans les sols ne soit pas dangereuse en soi, la mobilisation de ces contaminants crée rapidement des risques, affectant les plantes, les animaux, voire les humains (Dubey *et al.*, 1993). L'utilisation des invertébrés pour l'évaluation des écosystèmes a une longue histoire (Eijsackers, 2010). Les mollusques gastéropodes terrestres pulmonés sont reconnus comme indicateurs biologiques appropriés (Berger & Dallinger, 1993 ; Cortet *et al.*, 1999 ; Van Straalen *et al.*, 2005) par leur grande capacité d'accumulation des éléments-traces métalliques (ou ETM) dont les plus fréquents sont le cadmium (Cd), le cuivre (Cu), le plomb (Pb) et le zinc (Zn). Cette propriété a été mise à profit pour utiliser les escargots terrestres comme bioindicateurs de pollution par les éléments traces métalliques (Pringle *et al.*, 1968 ; Walker *et al.*, 1975 ; Coughtrey & Martin, 1976 ; Berger & Dallinger, 1993 ; Gomot-de Vaufleury & Pihan, 2000 ; Beeby & Richmond, 2002 ; Viard *et al.*, 2004 ; Notten *et al.*, 2005). De plus, les effets toxiques des substances organiques et inorganiques sur les escargots ont été étudiés par plusieurs chercheurs (Viard *et al.*, 2004 ; Regoli *et al.*, 2006 ; Achuba, 2008 ; Godet, 2010 ; Beeby & Richmond, 2011). En raison de sa sédentarité sur les sols et de son régime omnivore, l'escargot est aisément contaminé par les divers polluants présents dans le sol et la flore d'où l'intérêt de son utilisation comme organisme pour étudier sa capacité à accumuler les polluants (Dallinger & Weiser, 1984 ; Gomot & Pihan, 1997 ; Gomot de Vaufleury & Pihan, 2002 ; Viard *et al.*, 2004 ; Grara, 2012). Il représente un élément de la chaîne trophique et contribue au transfert des contaminants du sol et/ou des plantes vers les prédateurs (Laskowski & Hopkin, 1996 ; Scheifler *et al.*, 2002). Les escargots survivent donc bien sur des sites contaminés en métaux. Ainsi, ils sont considérés comme l'un des accumulateurs de métaux des habitats terrestres pollués (Grara, 2012). Cette résistance découle de la capacité de ces invertébrés terrestres à retenir et à neutraliser les métaux toxiques par compartimentation et excrétion intracellulaires ou par liaison à des protéines telles que les métallothionéines (Grara, 2012) qui se lient fortement aux métaux et permettent leurs stockages durant de longues périodes (Le Bras, 2007). Les polluants, nullement indestructibles dans l'environnement (Miquel, 2001), peuvent affecter l'homme indirectement au travers de la chaîne alimentaire du fait de la consommation des escargots qui occupent une place de choix dans les assiettes en Côte d'Ivoire. La pollution par les PPS est actuellement un problème majeur dans la gestion et la préservation des ressources alimentaires. À la suite d'une prise de conscience des effets dégradant et alarmant de cette pollution sur l'écosystème, plusieurs études ont été menées dans le but de comprendre ce phénomène et de trouver les moyens adéquats

pour limiter les contaminations des ressources. En effet, plusieurs chercheurs sont parvenus à l'élaboration des outils et des méthodes d'évaluation des risques liées aux produits phytosanitaires. Ces dernières années, d'importants outils d'évaluation ont été élaborés allant de simple indication à des méthodes de simulations demandant plus d'informations pour fonctionner. La contamination des escargots par les PPS créerait un véritable problème de santé publique. Cependant, même si certaines études ont montré une contamination des poissons par des métaux lourds (Yehouenou *et al.*, 2006a et 2006b ; Youssao *et al.*, 2011a et 2011b ; Hounkpatin *et al.*, 2012 ; N'guessan *et al.* 2022) en Côte d'Ivoire, très peu ont été consacrées à l'évaluation des risques de pollution des escargots. De plus, l'utilisation croissante des produits phytosanitaires se répand largement dans de nombreux domaines notamment dans l'agriculture. Or, dans ces zones existent des animaux en l'occurrence les escargots qui font partie du régime alimentaire des populations. Pourtant, les PPS et certains éléments chimiques sont accumulés dans les organes des escargots d'où un problème de santé publique. Aussi, note-t-on une absence de données du risque encourus par les consommateurs ainsi que l'impacts des PPS sur les escargots. C'est pourquoi l'objectif général de la présente étude vise à évaluer la contamination des escargots par des polluants chimiques en vue d'une meilleure conservation de l'escargot et une contribution à la santé humaine. Plus spécifiquement il s'agit pour nous :

- d'évaluer l'effet du glyphosate sur la croissance des escargots géants *Achatina achatina* et *Achatina fulica* ;
- de déterminer la teneur de polluants dans les différents organes comestibles et non des escargots *Achatina achatina* échantillonnés dans la région de la Nawa ;
- d'évaluer l'effet de la température et du temps de cuisson sur les différents polluants des escargots ainsi que le risque sanitaire lié à la consommation de ces animaux.

Les résultats obtenus sont présentés dans un mémoire articulé autour de trois parties. Une synthèse bibliographique qui retrace les connaissances actuelles sur les escargots du genre *Achatina*, les métaux lourds et le glyphosate. Une autre partie matériel et méthode, où sont décrits le matériel biologique utilisé, le protocole expérimental et les techniques d'analyse. La troisième partie présente les résultats obtenus suivie d'une discussion générale. Enfin ce document s'achève par une conclusion assortie de recommandations et de perspectives.

PREMIERE PARTIE : GENERALITES

1.1 Milieu d'étude

Le milieu milieu d'étude est constitué de deux sites en Côte d'Ivoire : la ferme achatinicole de l'Université Jean Lorougnon Guédé et la région de la Nawa (N'guessan *et al.* 2022).

1.1.1 La ferme achatinicole

L'Université de Daloa (figure 1) est située à Daloa, une ville du centre centre-ouest de la Côte d'Ivoire, chef-lieu de la région du haut Sassandra. Géographiquement, la ville est localité à $6^{\circ}52'38''$ de latitude nord et $6^{\circ}27'00''$ de longitude ouest. En 2012, le décret n°2012-986 du 10 octobre 2012 érige l'URES de Daloa en université de plein exercice avec pour dénomination «Université». Elle est installée au Nord-Est de la ville. Cette institution universitaire se situe entre les longitudes $6^{\circ}26.186'$ et $6^{\circ}26.604'$ Ouest et $6^{\circ}54.323'$ et $6^{\circ}54.844'$ Nord. La ferme achatinicole (figure 1) ayant servi de cadre pour évaluer l'effet du glyphosate sur la croissance des escargots géants d'Afrique est logée au Nord-Est ($6^{\circ}54'02.8''$ N et $6^{\circ}26'40.3''$ W) de l'Université Jean LOROUGNON GUEDE (UJLoG), dans un site d'expérimentation. Elle est située derrière le bâtiment abritant le groupe de recherche eau-climat-environnement et le laboratoire d'hydrogéologie.

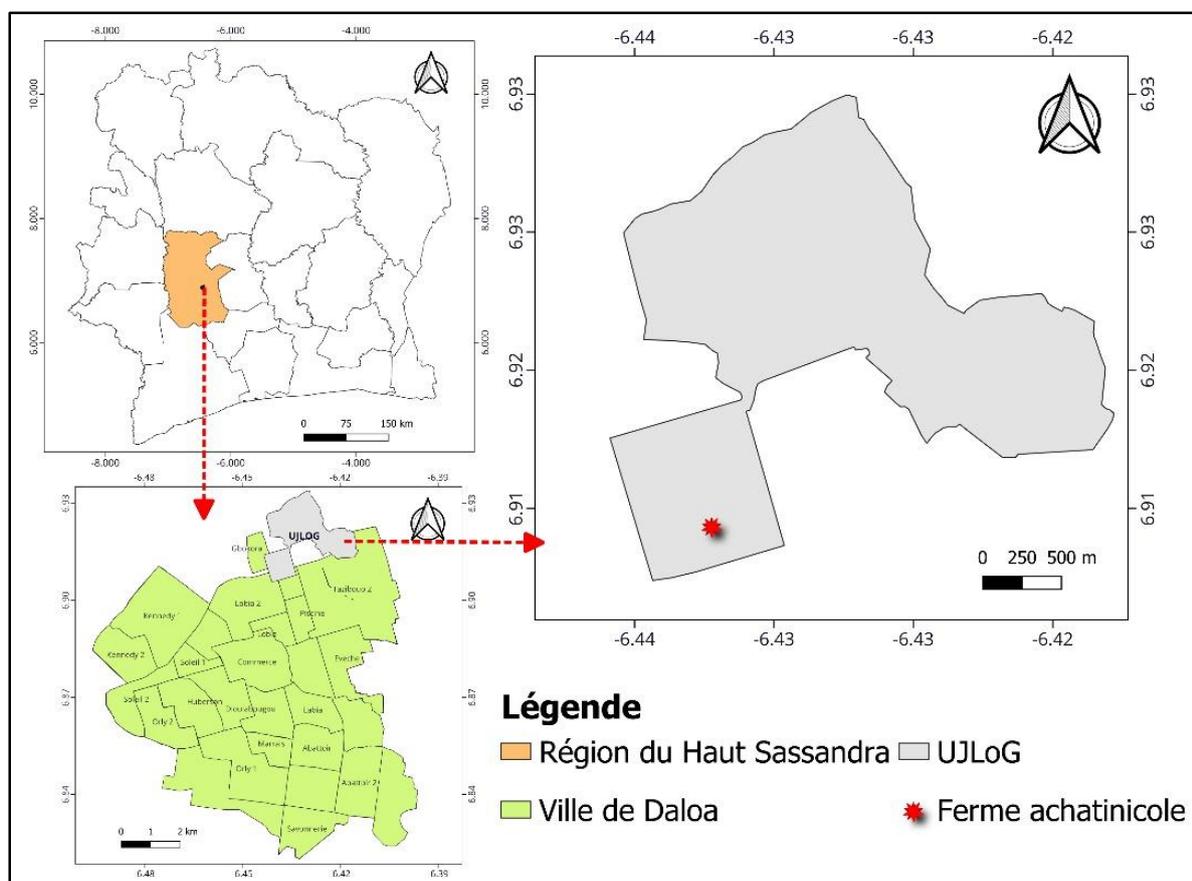


Figure 1 : Site d'expérimentation

1.1.2 Région de la Nawa

Le choix de cette région se justifie par son rang de première région productrice de cacao ainsi que par sa forte production en escargot ; lesquels escargots approvisionnent plusieurs marchés par le biais des commerçants de différentes grandes villes du pays.

1.1.2.1 Situation géographique

La région de la Nawa est située dans la partie sud-ouest de la Côte d'Ivoire à 480 km d'Abidjan, dans le district du Bas-Sassandra (Figure 2). Elle est logée entre 5°60' et 9°50' de latitude nord et 6°0' et 8°20' de longitude ouest. Elle a une superficie de 9193 km² avec une population estimée à 314 192 habitants (INS, 2021). Elle est bordée par les régions de Gboklè et de San Pedro au sud, par la région de Cavaly à l'ouest, par les régions de Guémon et du haut Sassandra au nord, ainsi que par les régions de Gôh et du Lodjibua à l'est. C'est une circonscription administrative composée de quatre départements (Soubré, Méagui, Guéyo, Buyo) et d'une collectivité territoriale ayant pour chef-lieu, la ville de Soubré. La région dispose en outre de six (06) communes et dix (10) sous-préfectures.

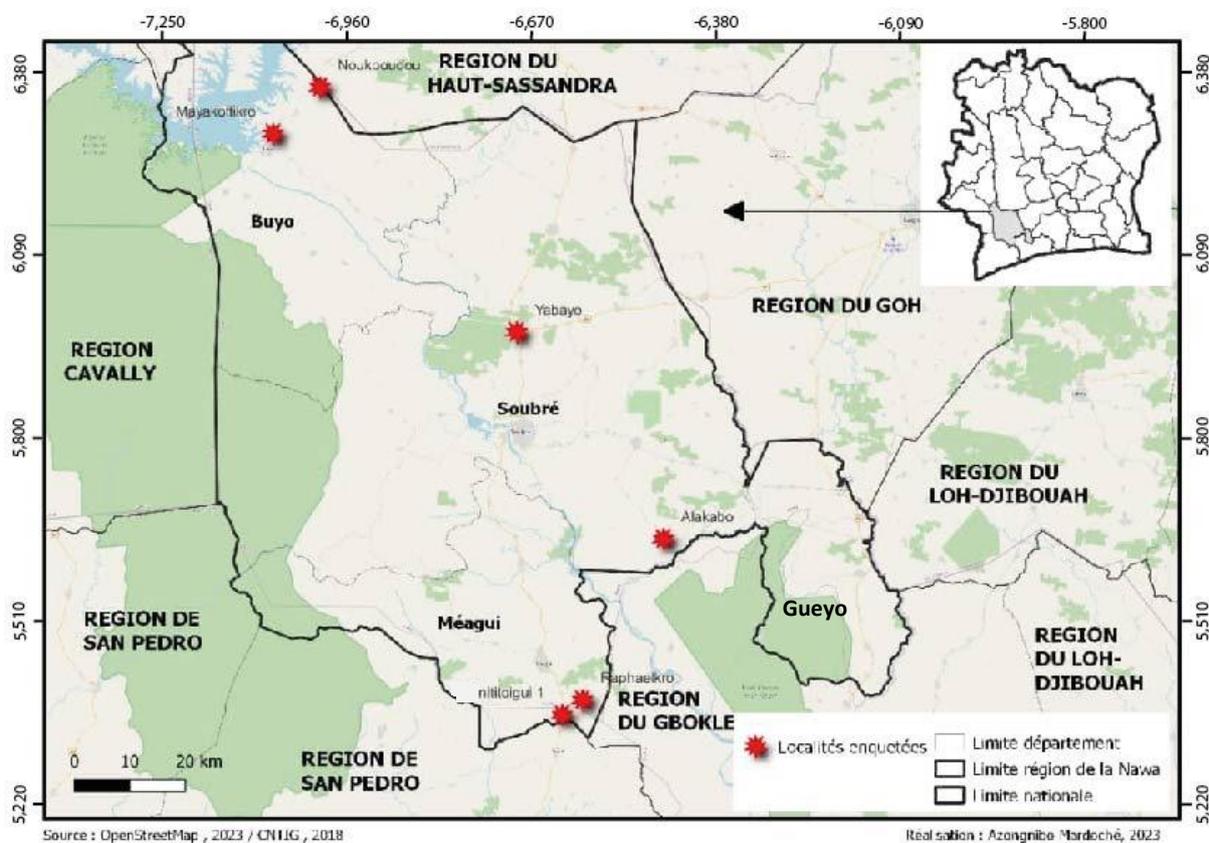


Figure 2 : Région de la Nawa

1.1.2.2 Relief

Le modèle numérique de terrain de la Nawa met en évidence trois domaines en matière de relief. Il s'agit des vallées, des Bas Plateaux et des Hauts Plateaux. Le relief de la zone d'étude appartient aux Bas Plateaux. Au-dessus de 150 à 170 m d'altitude, le relief de ladite zone est formé par des bas plateaux dans lesquels naissent et s'entaillent les principaux affluents du Sassandra au nord de la ville de Soubré (Gboko, 2022).

1.1.2.3 Sol

La région de la Nawa est couverte par des sols ferrallitiques fortement désaturés, des sols bruns tropicaux, et des complexes de sols hydromorphes, représentés le long des rivières et du fleuve Sassandra. Ces sols propices à la culture inondée et irriguée sont très nombreux dans le département (Sorokoby *et al.*, 2013). La plupart des sols de texture argileuse et limoneuse sont en général des sols ferrallitiques fortement à moyennement désaturés selon Sorokoby *et al.* (2013). Ces sols sont bien adaptés à la production agricole (café, cacao, hévéas, palmier à huile, cocotier, bananier etc.). En ce qui concerne la structure géologique de la région, elle s'intègre dans celle de la dorsale de Man qui se subdivise en deux grands domaines : le domaine archéen à l'Ouest et le domaine protérozoïque à l'Est (Yao, 2009). Les formations géologiques du bassin versant du Sassandra appartiennent aux deux domaines et regroupent deux grandes entités géologiques que sont les roches magmatiques et les roches métamorphiques.

La composition des roches magmatiques du bassin versant du Sassandra varie du granite au granodiorites. Les principales roches magmatiques rencontrées sur l'ensemble de ce bassin sont les granitoïdes telles que les granitos hétérogènes biotites localisées en grande partie au Centre, à l'Est et au Nord du bassin versant. Les granodiorites quant à elles sont localisées en grande partie à l'Est et au Sud du bassin versant.

Quant aux roches métamorphiques du bassin versant du Sassandra, elles sont en grande partie composées de migmatites, mylonites, gneiss et schistes. Les migmatites sont présentes majoritairement à l'Est, à l'Ouest et au Sud-Ouest du bassin. Le lit du cours d'eau principal baigne dans les mylonites. Les formations schisteuses sont plus intenses au Centre-Ouest du bassin versant du Sassandra (Ardoin, 2004).

1.1.2.4 Végétation

Le bassin versant du fleuve Sassandra à Soubré est couvert par deux types de végétation. Il s'agit d'un paysage forestier et d'un paysage de savane (Jourda, 2009). Toutefois, la classification des régions agro-climatiques permet de faire les distinctions suivantes. Le Bas Sassandra forestier occupe les massifs forestiers du Sud auxquels se rattache le massif

montagneux de Man. La végétation est limitée au Nord par la ligne Guitry-Soubré-Duékoué qui remonte le long du fleuve Sassandra à l'Ouest jusqu'au niveau du massif de Man. La végétation est couverte d'une forêt dense humide sempervirente (secteur hyperombrophile et secteur ombrophile) (Jourda, 2009). La végétation est couverte d'une forêt dense semi-décidue (secteur mésophile). Le Sassandra occupe une bande centrale située au-dessus de la forêt mésophile et limitée au Nord par la ligne Nassian-Kani.

1.1.2.5 Réseau hydrographique

Le réseau hydrographique de la région est essentiellement dominé par le fleuve Sassandra et ses affluents. La partie du bassin versant du fleuve Sassandra sur le territoire ivoirien se limitant à Soubré, couvre une superficie d'environ 54 670 Km². Long de 442 km avec un débit estimé à 350 m³/s, le fleuve Sassandra reçoit deux affluents importants en rive droite : le Bafing (280 km) et le N'Zo (255 km). Les premiers affluents en rive gauche sont le Boa (180 km) et le Tiemba (182 km). Après le confluent du Bafing, le lit du Sassandra est parsemé d'îlots et présente de nombreux méandres jusqu'à la localité de Guessabo (Girard *et al.*, 1970). Au-delà de cette localité, le fleuve Sassandra reçoit, en rive droite, le N'Zi puis en rive gauche, la Lobo qui est le dernier affluent avant la localité de Soubré (Touchebeuf & Girard, 1962 ; Camus, 1969 ; Girard *et al.*, 1970).

1.1.2.6 Climat

La partie sud-ouest de la Côte d'Ivoire bénéficie d'un climat équatorial, également connu localement sous le nom de « climat Attiéen ». Ce climat se caractérise par des précipitations plus élevées (Figure 3), une humidité plus élevée et une variabilité annuelle d'amplitude thermique (Yao, 2009). Il est caractérisé par quatre saisons : deux saisons sèches et deux saisons de pluie (Trochain, 1980). La première saison des pluies s'étend de mars à la mi-juin, avec un pic en juin, suivie d'une courte saison sèche en juillet (Yao, 2009). La deuxième saison humide part de septembre à octobre et la grande saison sèche s'étend de novembre à février (Trochain, 1980).

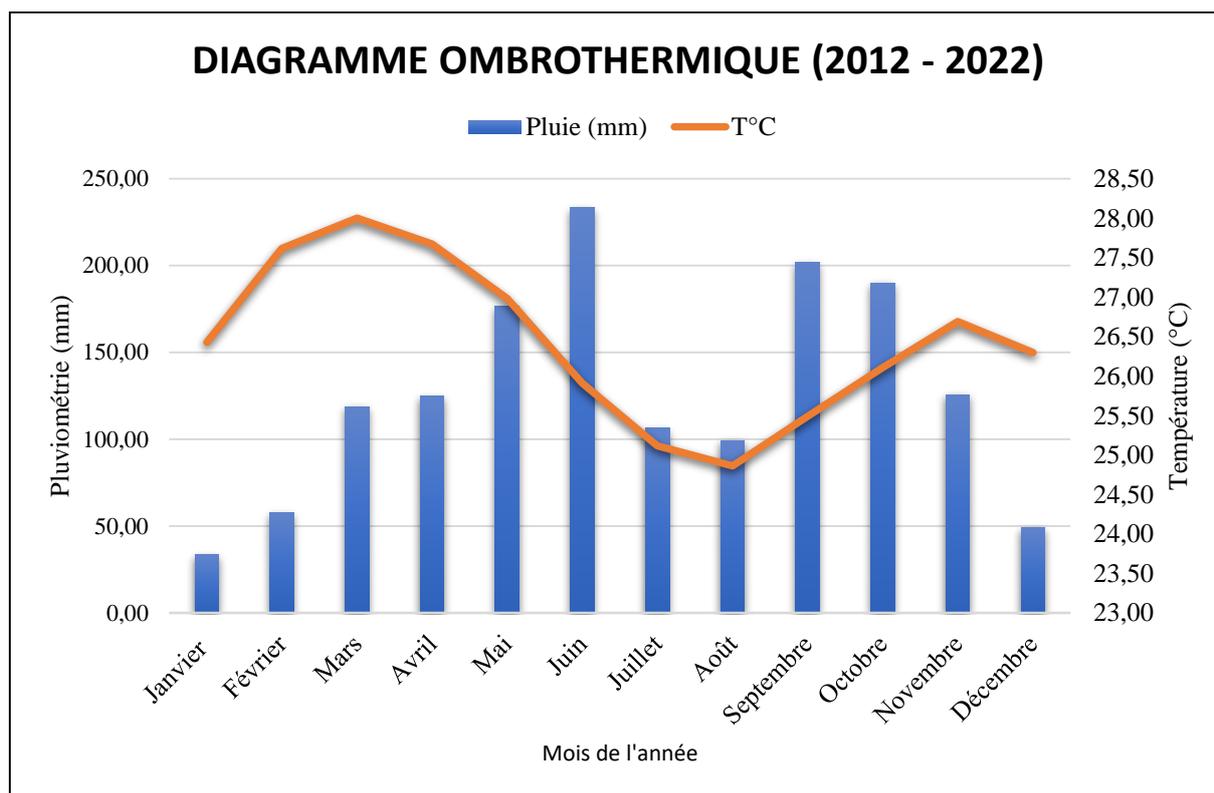


Figure 3 : Variation interannuelle des paramètres climatiques de Soubré sur la période 2012-2022 (source : Tutiempo)

1.1.2.7 Activités socio-économiques

1.1.2.7.1 Activités agricoles

La Région de la Nawa est une zone favorable aux cultures de rente notamment le cacao, le café, l'hévéa et le palmier à huile auxquels l'économie de la localité est fortement liée. Dans le cadre de la campagne 2013-2014, la région a produit environ 300 000 tonnes selon le Conseil Café-Cacao (2014), soit près de 20 % de la production nationale. A ces cultures de rente, s'ajoutent les cultures vivrières que sont le riz, le maïs, le manioc, la banane plantain et l'igname. Elles sont essentiellement destinées à l'autoconsommation et à la commercialisation. Quant aux ressources halieutiques, elles proviennent essentiellement de la pêche artisanale pratiquée par les pêcheurs. Plusieurs activités relatives à l'élevage sont exercées dans la zone. Il s'agit entre autre de l'élevage de bœufs, de moutons et de cabris ; à cela s'ajoutent plusieurs types de commerces. Ces commerces s'exercent en forme d'étalage sous des hangars de fortune, dans des magasins ou dans les marchés. Divers types de produits y sont généralement commercialisés (Sorokoby *et al.*, 2010).

1.1.2.7.2 Activité touristique

La région dispose de plusieurs sites attrayants comme le Parc national de Taï inscrit dans le patrimoine de l'humanité de l'UNESCO. Ce parc offre une diversité naturelle, les singes de la forêt sacrée à Grebouho II (sous-Préfecture d'Okrouyo) cohabitent avec les villageois. Les habitants de ce village pensent qu'ils sont les ancêtres des espèces de chimpanzés et de petits singes, malheureusement en voie d'extinction. Située sur la rivière Sassandra, il est un symbole de la région de la Nawa (Aphing, 2001). Pour certains c'est un lieu de pèlerinage et de retraite spirituelle. Pour d'autres, c'est un lieu de loisirs et de divertissement. Il s'agit non seulement des cascades pittoresques, mais aussi de la magnifique végétation environnante et de la faune diversifiée, en particulier la chaîne de montagnes Tolokoy (Okrouyo), déclarée réserve de flore et de faune, les barrages de Buyo et de Soubré, le lac artificiel de Buyo (900 km²) et les Rapides Grah dans le Bakwé (Méagui) (Aphing, 2001).

1.2 Généralités sur les escargots géants d'Afrique

Les escargots sont des animaux à sang froid, c'est-à-dire qu'ils ne contrôlent pas leur propre température. Un mécanisme leur permet de s'adapter aux variations de l'humidité et de la température. En cas de situation trop défavorable (froid ou sécheresse), les escargots peuvent se mettre en situation de vie ralentie et se rétracter dans leur coquille, en sécrétant une membrane calcaire (épiphragme) protectrice du péristome. Cette période de vie ralentie est appelée estivation en pays tropicaux et hibernation au niveau des pays européens.

1.2.1 Classification

Les escargots géants africains sont des mollusques Gastéropodes Pulmonés de l'ordre des Stylommatophores appartenant à la famille des Achatinidae. Ce sont des Invertébrés à corps mou non segmenté, se déplaçant par reptation grâce aux ondes musculaires parcourant la sole pédieuse et aussi grâce à un abondant mucus sécrété par l'animal (Aubert, 1992 ; Chevalier, 1992). Ils ont des cavités pulmonaires et deux paires de tentacules rétractables (Codjia & Noumonvi, 2002). Leur taxonomie est complexe et différemment abordée selon les auteurs. Selon Abotte (1989), il existe 12 genres avec un total de 67 espèces (figure 4).

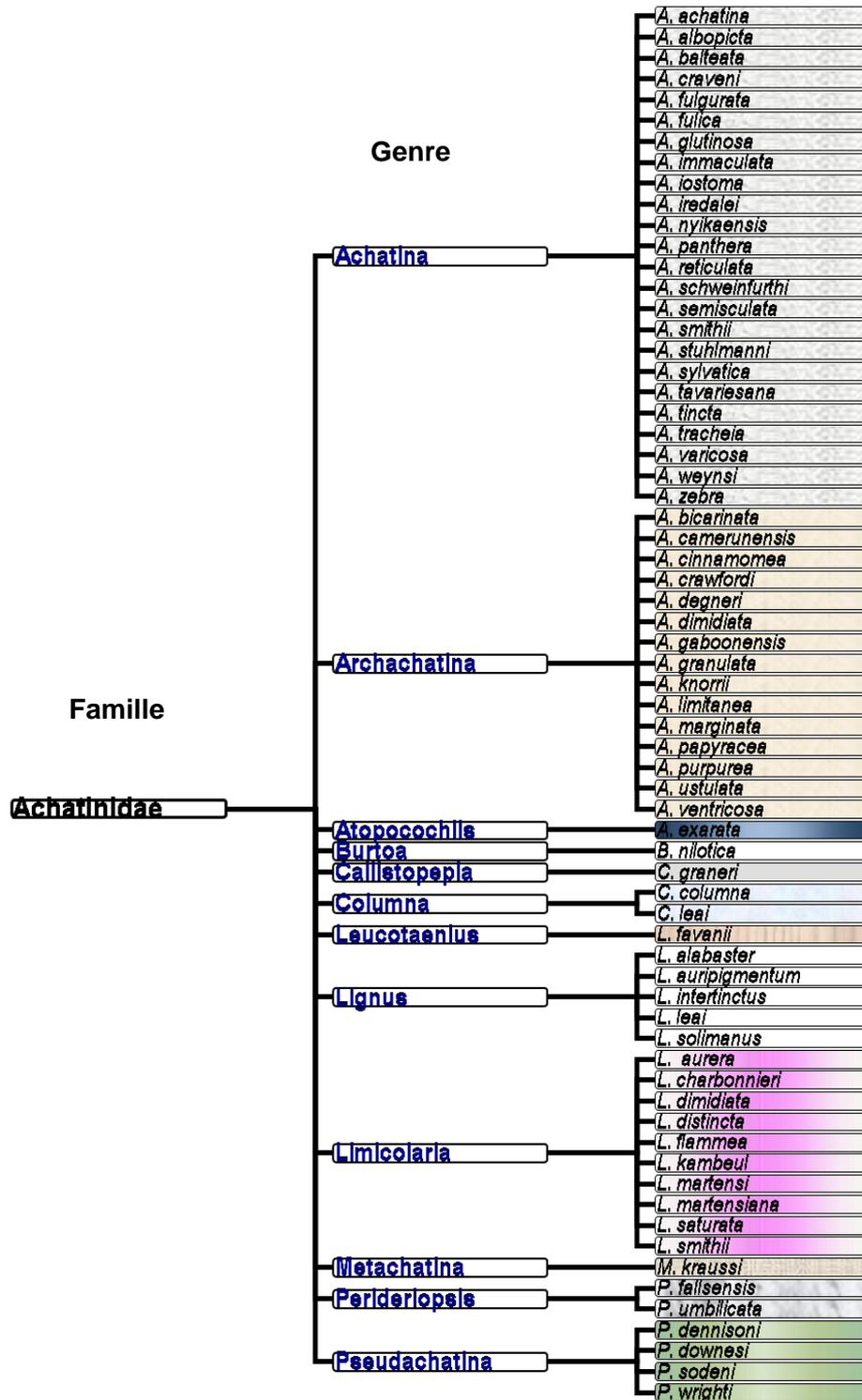


Figure 4 : Classification des Achatinidae géants d'Afrique

Source : Abott (1989)

En Côte d'Ivoire, les escargots géants comestibles prisés pour leur chair et qui font l'objet d'un commerce florissant appartiennent essentiellement aux genres *Achatina* et *Archachatina* (Ochtoumou, 2005).

La position systématique de ces escargots selon Thiele (1963) est présentée comme suit :

Règne	:	Animal
Embranchement	:	Mollusques
Classe	:	Gastéropodes
Sous-classe	:	Pulmonés
Ordre	:	Stylommatophores
Super famille	;	Achatinicae
Famille	:	Achatinidae

1.2.2 Déplacement des escargots

L'escargot du genre *Achatina* se déplace uniquement grâce à son pied. Il est constitué de gros muscles qui se contractent et s'étendent à plusieurs reprises. Sa vitesse moyenne pour un adulte est de 1 mm/s soit 3,6 m/h. L'escargot arrive à déplacer 170 fois son poids. Ses glandes sécrètent différents types de mucus. Elles contiennent un certain nombre de composés (allantoïne, collagène, élastine) qui permettent de glisser sur les obstacles et d'avancer plus facilement, et même de se fixer verticalement sur certains murs (Charles, 2012). Le mucus sert également à éliminer certaines toxines et fait partie de la composition de la coquille. Il est épais, durcit et sèche lorsqu'il est exposé à l'air, laissant des traces brillante à la lumière.

1.2.3 Données morphologiques des escargots

1.2.3.1 Coquille

Le corps de l'animal est recouvert d'une coquille de forme conique et spiralée. Cette coquille s'enroule autour d'un axe : la columelle. Elle est essentiellement constituée de carbonate de calcium (98 %) imprégnée d'une substance organique : la conchyoline (Stievenart & Hardoin, 1990). Généralement, la coquille est dextre (coquille enroulée vers la droite) chez la plupart des escargots géants africains. Cependant, des cas de coquille senestre (coquille enroulée vers la gauche) ont été signalés chez *Archachatina ventricosa* (Ochtoumou, 1997). Les escargots du genre *Archachatina* sont caractérisés par un sommet en dôme et par le bord externe ou péristome réfléchi de la coquille. Quant aux escargots du genre *Achatina*, comprenant notamment *A. achatina* et *A. fulica*, ils sont caractérisés par un sommet pointu de la coquille et par le bord externe de la coquille non réfléchi (Stievenart, 1996 ; Codjia & Noumonvi, 2002).

L'ultrastructure de la coquille montre trois couches sécrétées par le manteau : le périostracum, l'ostracum moyen et l'hypostracum.

Le périostracum est une mince pellicule de conchyoline élaborée par les cellules glandulaires du manteau. Il est externe. Quant à l'ostracum moyen, il est constitué de prismes calcaires cristallisés dans la matière protéique. Il est élaboré dans la région marginale du manteau. En fin, l'hypostracum est un ensemble de lamelles superposées de façon alternative. Il est formé de carbonate de calcium et de conchyoline. Il est interne (Rousselet, 1982 ; Stievenart, 1996).

1.2.3.2 Masse viscérale

Lorsqu'il est en extension, l'escargot repose sur le sol, par une masse musculaire large et épaisse (le pied), s'étendant en arrière et en avant de la coquille (figure 5). C'est cette sole pédieuse qui permet à l'animal de se déplacer. La partie antérieure du pied se termine par la tête. Cette tête présente une paire de grands tentacules oculaires portant les yeux à leurs extrémités, deux petits tentacules tactiles et gustatifs et une bouche munie d'une « mâchoire » cornée et d'une langue (la radula) couverte de petites dents. Un peu en arrière de la bouche, du côté droit, s'ouvre l'orifice génital. Le reste de la masse viscérale est contenue dans la coquille. Le bord épais du manteau constitue le bourrelet palléal (Rousselet, 1982 ; Chevalier, 1985 ; Stievenart & Hardouin, 1990 ; Chevalier, 1992). L'animal retiré de sa coquille, présente deux parties distinctes. Une partie recouverte par le manteau, constituant la cavité palléale, dont le plafond richement vascularisé correspond au poumon. Elle comprend également le pneumostome (orifice qui donne accès à la cavité palléale) en dessous duquel s'ouvrent l'anus et l'orifice urinaire. Une partie postérieure enroulée en spirale comprend le rein, l'hépatopancréas et la glande à albumine (Chevalier, 1985 ; Aubert, 1992, Stievenart, 1996).

L'appareil génital de l'escargot occupe une grande partie de la masse viscérale. Il est très complexe du fait de l'hermaphrodisme de l'escargot. Cet appareil génital comprend une partie initiale hermaphrodite, une partie intermédiaire qui comprend les voies mâle et femelle et une partie terminale où ces voies se rejoignent pour aboutir à un orifice génital commun. La partie initiale regroupe la glande hermaphrodite (ovotestis) dans laquelle se forment les ovules et les spermatozoïdes, le canal hermaphrodite et la glande à albumine.

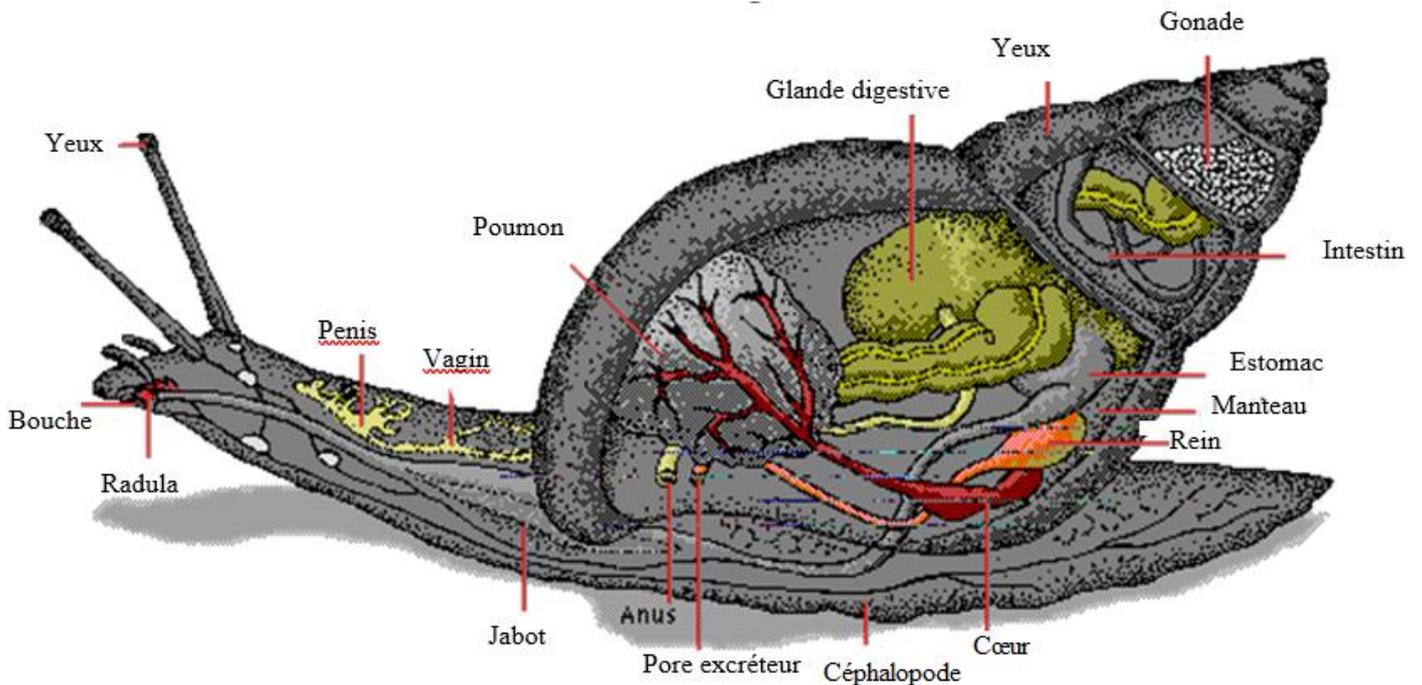


Figure 5 : Morphologie et anatomie générale des escargots géants

Source : (Anonyme, 2006)

1.2.4 Reproduction et croissance des escargots

L'escargot est un animal ovipare et hermaphrodite, c'est-à-dire mâle et femelle à la fois. Il s'agit d'un hermaphrodisme protandre. En effet dans une même lignée de cellules souches, les spermatogonies évoluent rapidement en spermatozoïdes par rapport aux ovogonies qui donneront plus tard les ovules (N'da *et al.*, 2004 ; Otchoumou, 2005). L'accouplement est nécessaire pour la reproduction naturelle ; il s'agit de reproduction croisée (Stievenart & Hardouin, 1990 ; Codjia & Noumonvi, 2002). L'âge de la maturité sexuelle est l'âge auquel les individus deviennent capables de produire des gamètes mâles et femelle féconds et fécondables. Cette phase de la vie de l'escargot est influencée par l'espèce, le climat, l'alimentation et l'époque de l'éclosion (Rousselet, 1979 ; Zongo *et al.*, 1990).

Au moment de l'accouplement, chaque partenaire introduit son pénis dans le vagin de l'autre y dépose des spermatozoïdes qui vont ensuite gagnés le réceptacle séminal où ils sont stockés jusqu'à la maturité des ovules (Stievenart & Hardouin, 1990). Après l'accouplement qui peut durer plusieurs heures (10 à 12 heures), la glande hermaphrodite va peu à peu se modifier (Aubert, 1992 ; Chevalier, 1992). La fécondation a finalement lieu dans le canal godronné de chaque partenaire. Les ovules fécondés seront entourés de couche d'albumine sécrétée par la glande albumine puis par une couche de calcaire. La ponte a lieu 15 à 30 jours après l'accouplement selon les espèces dans un nid de 2 à 5 cm de profondeur dans le sol.

L'incubation (période qui sépare la fin de la ponte du début de l'éclosion) varie suivant les espèces et les conditions climatiques (10 à 32 jours) et se passe sans intervention de l'escargot ayant pondu (Aubert, 1992). Les jeunes escargots de taille variable selon les espèces et selon la taille des œufs, demeurent quelques jours (2 à 5) dans leur nid avant de sortir à la surface. La fréquence des accouplements et celle des pontes sont en relation avec les conditions du milieu.

1.2.5 Facteurs de régulation de la croissance et de la reproduction

La croissance et la reproduction des escargots sont, comme pour la plupart des Mollusques et des Invertébrés, assujetties aux conditions climatiques. Elles s'arrêtent durant les périodes d'estivation et d'hibernation. Les différents facteurs qui influencent la croissance et la reproduction sont : l'alimentation, la densité de peuplement, la température, l'humidité relative de l'air, la pluviométrie, l'éclairement, la nature du sol et la charge biotique.

1.2.6 Performance de la croissance

Il est indispensable, pour l'éleveur, de chiffrer les performances de croissance et de reproduction des escargots mis en culture.

La croissance d'un animal est estimée à partir du taux de croissance ou du rendement écologique de croissance. Le taux de croissance est la variation de la croissance par rapport au temps. Quant au rendement écologique de croissance, c'est le taux de production par rapport à la quantité d'aliment ingérée (Chevalier, 1985 ; Mioulane, 1989). *Achatina achatina* met environ 15 mois à mûrir. Sa croissance n'est donc pas rapide par rapport à la quantité de nourriture qu'il consomme et à la quantité de viande qu'il produit. Des études d'alimentation et de croissance ont montré qu'ils favorisent une croissance de 5 à 20 g de poids vif par mois. Cela équivaut à environ 2 à 8 g de chair d'escargot comestible par mois.

1.2.7 Valeur nutritionnelle des escargots géants africains

La chair des escargots géants possède une excellente valeur nutritive. Sa teneur en protéine est variable selon les auteurs. Elle est supérieure à 40 % et celle en lipide est moins de 3 % selon Aboua (1995), Brescia (2002) et Diomandé *et al.* (2008). Göhl (1985) estime que *Achatina fulica* séchée, présente un taux de protéines de 51 g pour 100 g de matière sèche. Creswell & Kompang, (1981) ont trouvé 60,9 % de protéines dans la matière sèche de *Achatina fulica* ébouillantée et décoquillée. En outre, l'escargot géant africain, constitue une importante source de macro-éléments (fer, calcium, phosphore, magnésium, potassium et sodium). Les escargots séchés puis broyés représentent un excellent substitut aux farines importées de poissons ou de viande (Diomandé *et al.*, 2008).

1.2.8 Aliments des escargots

Il correspond à l'ensemble des substances qui ont pour fonction de nourrir un individu. Ce terme permet de déterminer les apports nutritionnels dont un corps a besoin. Les aliments peuvent être jugés comme étant de « riche » ou de « faible » valeur nutritive. Les escargots sont végétariens et admirent toutes sortes de plantes. Ils évitent les plantes aux feuilles velues et qui produisent des produits chimiques toxiques, comme le noyer méditerranéen (*Jathropa curcas*). Les jeunes escargots préfèrent les feuilles et les pousses tendres et mangent environ deux fois plus que les escargots adultes. À mesure que l'escargot grandit, il mange plus de déchets, notamment des feuilles mortes, des fruits pourris et de l'humus. Cependant, les escargots adultes doivent recevoir la même nourriture que les jeunes escargots. Lorsque des changements surviennent dans le régime alimentaire, de nouveaux aliments doivent être introduits progressivement (Cobbinah *et al.*, 2008). Les escargots ont besoin de glucides pour leur énergie et de protéines pour leur croissance. De plus, leur coquille a besoin de calcium (Ca), ainsi qu'autres minéraux et vitamines. La viande d'escargot est pauvre en fibres et en graisses. Ces éléments ne sont donc pas très importants dans l'alimentation de l'escargot. *Achatina Achatina* se nourrit principalement de feuilles, de fruits, de tubercules et de fleurs. Contrairement aux autres escargots, cette espèce préfère les feuilles et les fruits tombés de plantes. Le développement progressera plus rapidement si l'on donne aux enfants une alimentation variée plutôt qu'un ou deux aliments. Quelques aliments dont ont besoins les escargots pour leur croissance sont énumérés dans le tableau I (Cobbinah *et al.*, 2008).

Il semble également préférer le feuillage humide au feuillage sec et profite grandement des plantes cultivées. Pour une meilleure alimentation de cette espèce, vous devez lui donner un aliment appétissant, comme la papaye, ou un aliment contenant des stimulants nutritionnels. L'escargot mange alors beaucoup et prend rapidement du poids. Les petits escargots *A. achatina* bénéficient le plus de la consommation de légumes et de feuilles (Cobbinah *et al.*, 2008).

Tableau I : Quelques aliments consommés par les escargots

Aliments	Valeurs nutritives
Taro	Les feuilles de taro contiennent de grandes quantités de protéines (2,9 %), de calcium (60 mg/kg), de phosphate (52 mg/kg) et des quantités modérées de thiamine (vitamine B 1) et de riboflavine (vitamine B2).
La papaye	Il fournit une quantité modérée de glucides et une quantité importante d'acide ascorbique (un stimulant alimentaire chez de nombreux animaux végétariens, y compris les escargots). Les feuilles de papaye (ainsi que ses fruits et sa peau) sont mentionnées dans de nombreuses observations comme étant une bonne nourriture pour les escargots.
Palmier à huile	Le mésocarpe (partie pulpe) du palmier à huile est riche en glucides, en graisses et en palmitate (vitamine A).
Supplément en vitamines	Si le sol est pauvre en calcium, l'aliment peut être enrichi en calcium. Vous pouvez saupoudrer la poudre de coquille d'huître, la poudre de coquille d'escargot ou de citron vert sur vos légumes à feuilles. D'autres cultures comestibles contenant des quantités adéquates de vitamines D, E et K doivent également être ajoutées, comme le tournesol et la farine de coprah (vitamine D), le germe de blé, la laitue et autres légumes (vitamine E), le chou et les épinards africains (vitamine K).
Les tubercules	Les tubercules sont faibles en protéines mais constituent une bonne source de glucides. Ce sont : Taro, manioc (choisissez du manioc à faible teneur en cyanure), igname, patate douce, plantain.
Les fleurs	Fleurs : Opron (Mansonia altissima), Oduma (Musanga cecropoides), Papaye. Déchets ménagers : écorces de fruits et tubercules comme les bananes, plantains, ananas, ignames et surtout papayes, restes de riz, haricots, fougou et gruau de maïs.

1.2.9 Éléments d'écologie

En milieu naturel, les escargots géants d'Afrique colonisent les forêts denses et faiblement anthropisées. Ils sont très souvent rencontrés sur des sols riches en calcium (Johannessen & Solhoy, 2001). Leur contact avec le sol semble indispensable à une bonne croissance. Cette terre leur fournit des sels minéraux notamment du calcium ainsi que des substances diverses présentes dans la matière organique (Gomot *et al.*, 1989). Comme certaines espèces, *Achatina fulica* est ubiquiste et peut s'adapter à des sols ou à des climats diversifiés. Tout comme les fruits, divers types de feuilles de cultures vivrières sont consommées par les escargots (Otchoumou *et al.*, 1990 ; Imevbore & Ajayi, 1993 ; Hodasi, 1995 ; Otchoumou *et al.*, 2005). Il n'est pas rare d'observer également des escargots consommant des cadavres d'autres

escargots. En milieu d'élevage, ils développent un véritable cannibalisme quand le milieu manque de source calcium.

Lorsque les conditions de température (25 à 26°C) et d'hygrométrie (85 à 90%), sont optimales, notamment en périodes pluvieuses. Lorsque les conditions de température (25-26°C) et d'humidité (85-90%) sont optimales, notamment en période de pluie, les escargots sortent de leur coquille dès la nuit (Stievenart & Hardouin, 1990) et à l'aube. Ils profitent pour manger, déféquer, se reproduire et pondre. Par temps humide, les escargots sont actifs (locomotion, alimentation, reproduction) (Otchoumou *et al.*, 1989 ; Aubert, 1992 ; Chevalier, 1992). Les rythmes biologiques des escargots sont basés sur des rythmes saisonniers. Il y a deux périodes d'inactivité dans la vie d'un escargot en dehors d'une période favorable pendant laquelle il mène une vie active composée de mouvement, de nutrition, de croissance et de reproduction. Une période d'estivation correspondant à une période de repos physiologique pour un animal dans des conditions d'absence prolongée de pluie, d'humidité relative inférieure à 60 % et de température supérieure à 27 °C. L'animal ferme ensuite l'ouverture de la carapace avec un voile de mucus solidifié (l'épiphragme). Cette estivation ne dure que lors des sécheresses et redevient actif après les premières pluies (Otchoumou *et al.*, 1989). En Afrique sub-équatoriale, les escargots hibernent et vivent dans leurs réserves lorsque les températures moyennes descendent en dessous de 15 °C pendant la période de l'harmattan (décembre, Janvier et février), l'escargot hiberne et vit sur ses réserves. Ce processus d'hibernation peut s'effectuer dans une atmosphère humide et à une température inférieure à 5°C. En Europe, l'hibernation débute à la fin du mois d'octobre et se termine vers la fin du mois de mars (Otchoumou *et al.*, 1989 ; Aubert, 1992 ; Chevalier, 1992).

1.2.10 Utilisation des escargots

1.2.10.1 Dans l'alimentation animale

En alimentation animale, l'utilisation des escargots géants est encore peu pratiquée et se réduit à l'utilisation des coquilles dans l'alimentation des poules pondeuses. Toutefois, la volaille et les porcs élevés en divagation consomment souvent les escargots qu'ils rencontrent dans la nature, couvrant ainsi une bonne partie de leurs besoins en protéines animales et en acides aminés (Sodjinou *et al.*, 2002). Au Bénin, par exemple le Centre de Recherche et de Diffusion des Achatines (CREDAC) est spécialisé dans la valorisation et la fabrication de poudre d'Achatines. En effet, ce centre a mis au point diverses farines d'achatines notamment la farine de coquille (Sodjinou *et al.*, 2002). Il s'agit peut-être d'une voie à retenir puisque la production de farines similaires permettrait de valoriser les parties non consommées (farine de tortillon,

farine de viscères, ...) (Diomande, 2008). Les porcs les consomment vivants avec leur coquille. Aussi, les déchets des escargots notamment l'hépatopancreas sont aussi valorisables comme aliment pour les porcs et les poissons (Aboua, 1990 ; Hardouin *et al.*, 1995).

1.2.10.2 Dans la pharmacopée

Diverses parties des achatines sont utilisées dans la pharmacopée pour la guérison de certaines maladies. C'est le cas du liquide contenu dans la coquille d'achatines, après extraction de la chair, qui serait utilisé pour la cicatrisation des blessures fraîches et l'arrêt des hémorragies. Il en est de même pour la coquille calcinée et mise en poudre (Cobbinah *et al.*, 2008). Le mucus quant à lui, entre dans la réalisation de certaines potions qui serviraient au traitement du tétanos et surtout des morsures de serpent (Sodjinou, 2002). L'escargot entier entrerait aussi dans d'autres potions qui servent d'une part à dénouer certaines grossesses compliquées et d'autre part à guérir l'épilepsie (Sodjinou, 2000). Cette version contredit celle selon laquelle l'escargot ne devrait pas être consommé par la femme enceinte ou encore l'affirmation selon laquelle l'escargot causerait l'épilepsie (Sodjinou, 2002). Ainsi, on pourrait dire qu'en réalité, ce sont ceux qui maîtrisent le mieux les vertus de l'achatine qui en interdisent la consommation, à une frange de la population afin de l'utiliser et en faire ainsi leur chasse gardée (Sodjinou, 2002).

1.2.10.3 En médecine moderne et traditionnelle

Les escargots ont été très utilisés depuis l'Antiquité. Aujourd'hui encore, ils sont présents dans certaines spécialités pharmaceutiques et font l'objet de nombreuses études (Hammoud, 2013). Cette bave, contient des substances très efficaces et reconnues pour leurs propriétés de régénération, guérison et de protection de la peau (Bonnemain, 2003). Les sécrétions de l'escargot, contiennent de l'allantoïne, du collagène, de l'élastine, de l'acide glycolique, des peptides qui sont des antibiotiques naturels et des vitamines A, C et E (Zaafour, 2014).

En médecine traditionnelle les escargots comestibles occupent aussi une place importante dans la médecine populaire. Chez les enfants en bas âge présentant des symptômes d'infection respiratoire, il est recommandé de leur donner à manger des escargots cuits dans de l'huile d'Argan (Radi, 2003). Au Ghana, le liquide bleuâtre qui reste dans la coquille une fois la chair retirée aurait un effet particulier sur le développement des nourrissons. Le fer, abondant dans la viande, est l'un des moyens les plus efficaces pour traiter l'anémie. Précédemment recommandé pour lutter contre l'ulcères et l'asthme (Cobbinah *et al.*, 2008). Les mêmes auteurs signalent qu'une étude récente a démontré que les substances glandulaires présentes dans la chair de l'escargot comestible, provoquent l'agglutination de certaines bactéries, un phénomène qui permet de lutter contre toutes les maladies, dont la coqueluche.

1.2.10.4 Dans l'art

La coquille d'escargot a de multiples usages mais l'usage le plus courant est le métier de nacrier. La nacre est la substance calcaire qui forme la couche interne de certaines coquilles et qui a la propriété de décomposer et de réfracter la lumière. Depuis la préhistoire, il est également utilisé comme instrument à vent, car les coquilles spiralées, sont percées de plusieurs trous (CNRS, 2021). Travaillant dans l'industrie du luxe, ces artisans de nacre créent des bijoux et des objets de décoration, des petites pièces à des parements muraux. Ils collaborent avec des potiers et des menuisiers et utilisent leur savoir-faire pour restaurer des pièces exceptionnelles. Certains luthiers l'utilisent également pour fabriquer des violons et des guitares, transformant ainsi ces instruments en véritables œuvres d'art (Figure 5). La nacre gagne à nouveau une grande popularité dans le monde des bijoux comme décoration pour les objets du quotidien tels que les stylos et les couteaux

Depuis la préhistoire, les coquillages ont également été largement utilisés comme instruments de musique à vent grâce à quelques trous percés notamment dans des coquillages spiralés (CNRS, 2021). Ces nacriers travaillant pour l'industrie de luxe, créent des bijoux ou des objets décoratifs allant de petites pièces à des parements muraux. Par ailleurs, ils collaborent avec des céramistes ou des ébénistes ou mettent leur savoir-faire au service de la restauration de pièces d'exception. Aussi, certains luthiers la travaillent également pour ennoblir violons et guitares, transformant dès lors ces instruments en véritables œuvres d'art (figure 6). La nacre utilisée pour décorer les objets du quotidien comme les stylos et les couteaux, gagne à nouveau en popularité dans le monde de la haute joaillerie et de l'horlogerie de luxe spiralés (CNRS, 2021).



Figure 6 : Instrument de musique datant de 18000 ans

Source : Fritz *et al.* (2021)

1.2.11 Prédateurs des escargots

Les escargots ont de multiples prédateurs. Les plus courants sont les mulots, les rats, les musaraignes, les grenouilles, les crapauds, les grives, les canards, les dindes, les lézards et les serpents. On peut également citer certains coléoptères, lampyres, staphylins, sylphides, carabidés, Carabidae, millepattes et centipèdes (Aubert, 1992 ; Chevalier, 1992). Les grenouilles cherchent uniquement à attraper les jeunes escargots tant disque que les escargots (tout âge confondu et même les œufs) sont consommés par les reptiles.

1.2.12 Parasites des escargots

Cobbinah *et al.* (2008) ont prouvé que le principal parasite pour les escargots est une mouche : *Alluaudihella flavicornis* dont le cycle d'infection est décrit à la figure 7. Cette espèce appartient à la même famille que la mouche commune *Musca domestica* et l'adulte lui ressemble.

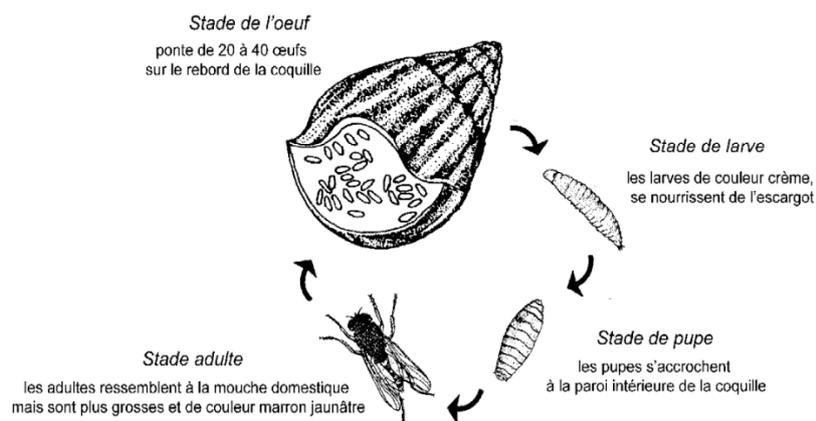


Figure 7 : Cycle de vie de *Alluaudihella flavicornis*

A. flavicornis pond 20 à 40 œufs dans ou sur des coquilles d'escargots. Les œufs éclosent en une semaine et les petits vers de couleur crème commencent à se nourrir des tissus des escargots. Les adultes émergent après 10 jours d'incubation. Des nématodes attaquent également des espèces européennes d'escargots comestibles. Cependant, cela ne semble pas être le cas pour les escargots géants comme *Achatina achatina*.

1.2.13 Maladies des escargots

Il est vrai que les informations sur les maladies affectant *Achatina achatina* en Afrique de l'Ouest sont limitées. La maladie fongique se propage par contact physique, notamment lorsque les escargots entrent en contact avec la bave d'autres escargots infectés. En ce qui concerne les

maladies affectant les espèces européennes, il est plausible qu'elles puissent également affecter les espèces africaines, étant donné que les agents pathogènes responsables sont présents dans l'environnement naturel d'*A. achatina* (Cobbinah *et al.*, 2008). Les infections causées par la bactérie *Pseudomonas* et le *Fongus fusarium* chez les escargots peuvent être préoccupantes, surtout dans les populations denses où la propagation est rapide. *Pseudomonas* peut provoquer des infections intestinales, tandis que *Fusarium* parasite les œufs de l'escargot *Helix aspersa*, entraînant un arrêt de leur développement.

1.2.14 Escargots et transmission de maladies

Des maladies parfois mortelles telles que la méningo-encéphalite à éosinophiles ainsi que des radiculomyélo-encephalites dont *Achatina fulica* serait le vecteur en qualité d'hôte intermédiaire du nématode *Angiostrongylus cantonensis*, ont été signalées chez l'homme (Upatham *et al.*, 1988). La consommation d'escargots sauvages non cuits ou insuffisamment cuits pourrait conduire à des infections chez l'homme.

1.2.15 Espèces étudiées

1.2.15.1 *Achatina achatina* (Linné, 1758)

Originnaire d'Afrique de l'Est, l'espèce *Achatina achatina* se rencontre dans les zones forestières ouest africaines notamment en Côte d'Ivoire, au Ghana et en Afrique centrale (Hodasi, 1984). Cette espèce impressionnante a une taille pouvant atteindre une longueur de 30 cm pour le corps et la coquille pouvant atteindre 25 cm de hauteur et un corps de 30 cm de longueur. Cependant, la taille moyenne est généralement plus modeste, avec une coquille adulte mesurant environ 18 cm de longueur et 9 cm de diamètre. Ces escargots sont connus pour leur coquille conique distinctive, souvent de couleur marron avec des motifs de bandes (Cobbinah *et al.*, 2008). C'est l'espèce la plus consommée en Côte d'Ivoire et probablement dans toute l'Afrique de l'Ouest (Otchoumou, 2005). Le corps de l'animal est pigmenté de noir (Otchoumou, 1997). Le poids vif de l'animal adulte peut atteindre 680 g (Zongo *et al.*, 1990). Cette espèce pond pendant la saison des pluies à la tombée de la nuit ou pendant la nuit et comporte entre 30 et 500 œufs (Hodasi, 1979). Les œufs éclosent généralement deux (2) semaines après ponte et incubation. *A. achatina* a un taux d'éclosion élevé de plus de 90% et atteint la maturité sexuelle quatorze (14) et vingt (20) mois d'âge.

1.2.15.2 *Achatina fulica* (Bowditch 1822)

L'espèce est originaire du Kenya et de la Tanzanie et s'est propagée au XIXe siècle dans le sud de l'Ethiopie, la Somalie et le nord du Mozambique. Elle mesure 20 cm de long avec une couleur

coquillère brune et des traits transversaux plus foncés. En fonction de son alimentation, sa couleur peut varier (Cobbinah, 2008). Environ 250 grammes pour un escargot adulte (Cobbinah, 1993). Cette espèce s'adapte à toutes sortes d'environnement. Elle modifie son cycle biologique en fonction des conditions locales. S'il n'est pas retardé par l'estivation ou l'hibernation, cet escargot peut dans des conditions de laboratoire, atteindre la maturité sexuelle en moins d'un an voire 5 mois. Il faut une fécondation croisée entre 6 et 8 heures pour que les œufs soient viables (Cobbinah, 2008). De petits œufs blancs jaunâtres de 4 mm de diamètre sont pondus par groupes de 10 à 400 œufs, 8 à 20 jours après la copulation dans des nids faits dans le sol. Les pontes répétées peuvent être créées par une seule copulation, chaque escargot ayant une réserve de sperme. La fréquence des pontes dépend des paramètres climatiques notamment la saison des pluies. A titre d'exemple cette espèce pond 500 reprises par an au Sri Lanka, à 300 reprises par an à Hong Kong et à 1000 reprises par an au Calcutta (Cobbinah, 1993 ; Cobbinah, 2008).

1.2.15.3 *Archachatina ventricosa* (Gould, 1850)

Archachatina ventricosa est connue sous le nom de "gros noir". Compte tenu de la coloration noire de sa sole pédieuse, elle est l'objet de tabou dans certaines régions de la Côte d'Ivoire (Otchoumou, 1997). Sa coquille plus globuleuse que celle de *Achatina achatina* et de *Achatina fulica*, présente un renflement sur un côté. Elle possède de nombreuses stries d'accroissement perpendiculaires aux spires. L'ornementation de sa coquille présente des bandes vert clair sur un fond vert foncé (Otchoumou, 1997). Son cycle de développement dure 12 à 15 mois en milieu naturel (Zongo, 1994 ; Cobbinah & Kankam, 2000). Elle pond 2 à 9 fois par an de 2 à 14 œufs de 14 à 19 mm de grand diamètre (Zongo, 1995 ; Kouassi *et al.*, 2008). Le poids de l'animal adulte peut atteindre 250 g (Zongo *et al.*, 1990). Cette espèce est très appréciée des populations forestières du Bénin et du Nigéria (Omole *et al.*, 2000).

1.3 Généralités sur les polluants

Il existe de nombreuses substances toxiques, soit des simples ions soit des molécules susceptibles de perturber les systèmes biologiques.

1.3.1 Polluants inorganiques : les métaux lourds

Le terme « métaux lourds » désigne les éléments métalliques naturels caractérisés par une masse volumique supérieure à 5 g/cm³ (Adriano, 2001). Le terme « éléments traces métalliques » est aussi utilisé pour décrire ces mêmes éléments, car ils se retrouvent souvent en très faibles quantités dans l'environnement (Baker & Walker, 1989).

D'un point de vue biologique, deux types de métaux lourds peuvent être distingués en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques : les métaux essentiels et les métaux toxiques.

Les métaux essentiels sont des éléments indispensables pour de nombreux processus cellulaires et qui se trouvent en proportion très faible dans les tissus biologiques (Loué, 1993). Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre (Cu), du nickel (Ni), du zinc (Zn), du fer (Fe) (Kabata-Pendias, 2001).

Quant aux métaux toxiques ils ont un caractère polluant avec des effets toxiques liés aux organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg) et du cadmium (Cd) (Loué, 1993).

1.3.1.1 Origine des métaux lourds

Les métaux lourds ont d'une part une origine naturelle liée à la nature géochimique des roches qui forment les sols (Maanan *et al.*, 2004 ; Glasby *et al.*, 2004). D'autre part, ils ont aussi une origine anthropique à travers les activités industrielles, le transport, l'agriculture, l'exploitation minière, les décharges et les boues urbaines. Ces activités anthropiques peuvent ainsi conduire à une augmentation des concentrations de métaux lourds dans la nature (Boucheseiche *et al.* 2002).

1.3.1.2 Effets des métaux lourds sur la santé humaine

1.3.1.2.1 Effets du cadmium

Très toxique sous toutes ses formes, le cadmium est l'un des rares éléments n'ayant aucune fonction bénéfique connue dans le corps humain ou chez l'animal. Le cadmium est d'origine naturelle et anthropique. Il est présent dans toutes les roches et plus abondant dans les roches sédimentaires que dans les roches magmatiques. L'origine anthropique du cadmium se fait par les émissions atmosphériques (émission industrielle/urbaines générales), contamination directe (engrais phosphatés et boues d'épuration) et contamination accidentelle (décharges de déchets minier) (INERIS, 2011). Chez l'Homme, il provoque notamment des problèmes rénaux et l'augmentation de la tension (PlumLee & Ziegler, 2003). Le cadmium présente des risques chez le consommateur ; même à de faibles concentrations, il tend à s'accumuler dans le cortex rénal sur de très longues périodes où il entraîne une perte anormale de protéines par les urines (protéinurie) et provoque des dysfonctionnements urinaires chez les personnes âgées (Belabed, 2010). Il a été démontré qu'une intoxication au cadmium, chez la femme enceinte, peut être à l'origine d'une diminution de la durée de la grossesse et du poids du nouveau-né. Les effets toxiques du Cd ne le sont pas seulement pour l'homme mais aussi pour les animaux et les végétaux (Benito *et al.*, 1999). L'IARC a classé le cadmium dans le groupe 1, soit celui

regroupant les agents cancérigènes reconnus pour l'homme (IARC, 2012a). A l'état naturel le cadmium est présent dans toutes les roches mais plus abondant dans les roches sédimentaires. Les émissions atmosphériques (émission urbaine et industrielles, incinération des déchets solides municipaux solides) la contamination directe (engrais phosphatés et boues de station d'épuration...) et contamination accidentelle (décharge de déchets miniers) sont les principales sources anthropiques.

1.3.1.2.2 Effet du cuivre

Le cuivre fait partie des oligo-éléments indispensables dans de nombreux processus biologiques. Cependant, à dose plus élevée et sous forme oxydée, le cuivre devient un puissant poison pour l'Homme causant la maladie de wilson (PlumLee & Ziegler, 2003). Cette maladie se manifeste quand l'organisme humain reçoit des quantités importantes de cuivre et que le foie devient incapable de les stocker. Le cuivre s'accumule ensuite dans le cerveau et dans la cornée de l'œil (Karl *et al.*, 2011 ; Chris *et al.*, 2006).

1.3.1.2.3 Effet du plomb

Le plomb fait partie également des métaux dont aucun effet bénéfique n'est connu pour les organismes vivants. Il se trouve principalement dans les gisements primaires dans les roches éruptives et métamorphiques où il est présent essentiellement sous forme de sulfure (Marchand & Kantin, 1997). Il possède un caractère toxique bien connu (Nriagu & Pacyna, 1978). Les formes organiques et inorganiques du Pb ont des effets toxiques chez l'homme. L'IARC a classé le plomb comme étant probablement cancérigène pour l'homme (IARC, 2012b). Son passage privilégié chez l'homme l'est par la chaîne alimentaire (Grandjean, 1984). Les effets pathologiques d'une intoxication au Pb sont nombreux et peuvent être des effets physiologiques ou des effets neurologiques (PlumLee & Ziegler, 2003). Les effets physiologiques produisent une augmentation de la tension artérielle et l'apparition de dommages vasculaires et intestinaux, ainsi que des troubles au niveau des reins (néphropathie saturnine). Les troubles neurologiques sont des affections des systèmes centraux et périphériques, les symptômes le plus fréquents sont les pertes de mémoire et des perturbations des fonctions cognitives et comportementales (Fergusson, 1990 ; Goyer & Clarkson, 2001 ; PlumLee & Ziegler, 2003).

1.3.1.2.4 Effets du Zinc

Le zinc joue un rôle crucial dans la vie de tous les êtres vivants, y compris l'homme. Le zinc joue un rôle essentiel dans tous les processus du métabolisme, notamment dans la réplication et la traduction du matériel génétique (Meister & Alton, 1984). La carence en zinc chez l'homme

se manifeste principalement par un retard de croissance, un hypogonadisme, une anorexie, une léthargie, des changements cutanés et une cécité nocturne (Prasad & Lloyd, 1983).

1.3.2 Polluants organiques : produits phytosanitaires

1.3.2.1 Définitions

Le mot « pesticides » désigne de manière générale toutes les substances ou produits qui éliminent les organismes nuisibles, qu'ils soient employés dans le domaine agricole ou dans le domaine industriel. Dans la réglementation européenne, on distingue les produits phytopharmaceutiques appelés « produits phytosanitaires » et les biocides, substances actives contenant une ou plusieurs substances actives. Les produits phytosanitaires sont utilisés principalement pour la protection des végétaux en agriculture ou dans d'autres secteurs tels que la sylviculture, l'aménagement des paysages, l'entretien des abords d'axes de transport. Les biocides sont utilisés dans des applications comme la conservation du bois, la désinfection ou la lutte antiparasitaire, pour détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles (Chubilleau *et al.*, 2011).

1.3.2.2 Classification des produits phytosanitaires (PPS)

Les PPS présents sur le marché sont caractérisés par diverses variétés de structures chimiques et de groupes fonctionnels. Ils peuvent être classés selon la cible, leur nature chimique, leur persistance dans le milieu ou selon leur formulation. On distingue trois grandes familles de pesticide selon la nature de la cible : les insecticides, les herbicides et les fongicides (Regnault-Roger, 2005 ; Merhi, 2008 ; ACTA, 2010). Selon la nature chimique, les pesticides sont principalement composés de substances actives telles que les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates et les pyréthriinoïdes de synthèse. Selon la persistance des pesticides dans l'environnement l'on a d'une part, les pesticides persistants ou conservatifs et les pesticides non persistants ou non conservatifs d'autre part. Les pesticides conservatifs (DDT, aldrine, heptachlore, chlordane...) ne sont pas éliminés du milieu, qu'ils soient dissous dans l'eau ou fixes sur le matériel particulaire. Ce sont des pesticides organiques non biodégradables (Belhaouchet, 2014). La fabrication et l'utilisation de ces pesticides ne sont pas autorisées par plusieurs conventions internationales à cause de leur risque sur l'homme et l'environnement (Toumi, 2013 ; Utip *et al.*, 2013). Les pesticides non conservatifs (sulfosulfuron, simazine, atrazine, chlorothalonil, diuron) disparaissent dans l'environnement à cause de leur biodégradabilité (Belhaouchet, 2014). Dans ce groupe, on a les pyréthriinoïdes, les néonicotinoïdes et les biopesticides. Au moment de leur mise en œuvre, seul un pourcentage des produits utilisés atteint ses objectifs, tandis que le reste (30 à 50 %) finit à la surface du sol

et se disperse ensuite par divers processus abiotiques tels que la volatilisation et l'érosion éolienne, le lessivage ou le ruissellement (Riedo, 2021). Relativement à la formulation, on a les pesticides secs ou granulés et les pesticides liquides (Riedo *et al.*, 2021).

1.3.2.3 Devenir des pesticides dans l'environnement

1.3.2.3.1 Contamination des eaux par les pesticides

L'une des principales répercussions de l'agriculture intensive est la détérioration de la qualité des eaux. Les eaux de surface et souterraines sont affectées par cette dégradation, ce qui entraîne une pollution causée par la propagation des intrants agricoles tels que les produits phytosanitaires, les engrais minéraux azotés et phosphatés, ainsi que les produits chimiques ou encore les effluents d'élevage. Plusieurs études scientifiques ont montré que les pesticides peuvent pénétrer dans les eaux de surface et profondes (Schiavon & Jacquin, 1973 ; Lennartz *et al.*, 1997 ; Louchard *et al.*, 2001 ; Mazin *et al.*, 2020). Au cours de leur application, on constate des pertes en matières actives vers des endroits non ciblés qui se retrouvent dans les trois compartiments d'un écosystème : le sol, l'air et les eaux. Les processus responsables de ces transferts sont la volatilisation, la dérive, la rétention et le ruissellement. Il convient de noter que les concentrations maximales sont souvent observées plusieurs heures après une pluie (Schulz, 2001 ; Neumann *et al.*, 2003), et que la contamination des eaux de surface est d'autant plus élevée (Schrack *et al.*, (2009).

1.3.2.3.2 Contamination du sol par les pesticides

La disponibilité des produits phytosanitaires dans le sol est la résultante de l'ensemble des processus de dégradation, de rétention et de transport qui contribuent à leur dissipation (Barriuso *et al.*, 2008). Le comportement global des pesticides dans le sol est complexe car il dépend d'une multitude de processus interconnectés et de la diversité des molécules actives (Barussio *et al.*, 1996 ; Calvet *et al.*, 2005). La vitesse d'infiltration des pesticides dans le sol dépend de la qualité du sol notamment son humidité, son taux de matière organique et son pH ainsi que de la nature du pesticide. Certains processus tendent à fixer le pesticide ou ses métabolites sur la phase organo-minérale du sol. On parle de rétention du pesticide. D'autres en revanche, l'entraînent à se concentrer dans la phase liquide du sol, c'est la persistance du produit. Ainsi, les risques de pollution des eaux sont alors plus grands (Barriuso *et al.*, 1996).

1.3.2.3.3 Contamination de l'atmosphère

Au cours de leur utilisation, une partie des pesticides ne parvient pas sur la surface ciblée. La technique de pulvérisation, la formulation des produits ainsi que la météorologie influencent la

contamination du compartiment aérien. Les dérives observées peuvent ainsi atteindre jusqu'à 50 % des produits émis dans l'atmosphère lors des traitements (Mari, 2018, INERIS, 2001).

1.3.2.4 Voies d'expositions chez l'homme

L'exposition aux pesticides se caractérise par différentes voies d'exposition, ces substances peuvent pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation (CPP, (2002). La grande variété des produits rend difficile l'évaluation de l'exposition des populations qu'il s'agisse des populations exposées professionnellement ou de la population en générale.

1.3.2.5 Effet des pesticides sur la santé humaine

Par l'effet toxique inhérent à leur fonction, les pesticides peuvent constituer une menace pour la santé humaine. En effet, les métabolites des pesticides et solvants requis pour leur utilisation sont parfois plus toxiques que les pesticides eux-mêmes (Cox *et al.*, 2006). Les intoxications par des pesticides peuvent résulter d'une ingestion accidentelle ou d'un contact avec la peau ou les muqueuses lors de la fabrication, de la formulation ou de l'application, par voie essentiellement respiratoire ou transcutanée. (Viala & Botta., 2005). Par ailleurs, elles peuvent provenir d'une ingestion d'aliments contaminés, de l'accumulation de certains pesticides dans la chaîne alimentaire et de leur présence dans l'air ou dans l'eau. Plusieurs études se sont intéressées aux effets des pesticides sur la reproduction, en particulier sur la fertilité masculine. Les pesticides ont la capacité d'influencer la spermatogénèse en modifiant les hormones ou en provoquant des effets génotoxiques (Toppari *et al.*, 1996). Prenons l'exemple d'une étude qui a démontré une diminution notable du nombre et de la qualité des spermatozoïdes chez des travailleurs exposés au chlordécone, un pesticide neurotoxique (Shelby *et al.*, 1996 ; Taylor *et al.*, 1978). D'autres études ont souligné l'effet des métabolites d'un fongicide, la Vinchlozoline, sur la reproduction chez les rats (Monosson *et al.*, 1999 ; Anway *et al.*, 2005). De plus, des études de type cas-témoins chez des hommes consultants pour infécondité du couple montrent que l'exposition aux pesticides constitue un facteur de risque significatif pour la qualité du sperme (Bigelow *et al.*, 1998 ; Oliva *et al.*, 2001). L'exposition à de faibles doses de pesticides semble également dangereuse à long terme (Testud *et al.*, 2001). Par ailleurs, la toxicité d'une substance dépend de la dose du toxique, la durée d'exposition, des facteurs environnementaux physiologiques et pathologiques. L'effet toxique peut être modifié lors de l'ADME (absorption, distribution, métabolisme, élimination) du toxique ou bien à travers son mécanisme d'action (Bounias, 1999). En effet, de nombreuses enquêtes épidémiologiques, réalisées dans le monde entier montrent que l'exposition professionnelle ou environnementale à ces pesticides est associée à un risque accru de développer certains types de cancer, à une baisse de la fertilité

masculine, à des perturbations du système hormonal, à des problèmes immunitaires et des malformations congénitales (Oliva *et al.*, 2001). Même si les relations entre une exposition aux pesticides et certaines pathologies paraissent difficiles à établir, les effets chroniques des pesticides sur la santé humaine est certaine, au point où ils sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens, et d'avoir un effet sur l'évolution de la spermatogénèse humaine observée depuis plusieurs décennies (Chubilleau *et al.*, 2011). Ils seraient responsables d'autres pathologies comme des troubles ophtalmologiques, des pathologies cardiovasculaires, des pathologies respiratoires et des troubles cutanés (Baldi, 1998) ; Multigner 2005 ; Ferragu *et al.*, 2010 ; Béranger, 2017). En outre, les pesticides pourraient être impliqués dans la survenue de presque tous les cancers identifiés comme ayant un lien avec l'environnement (AFSSET, 2008).

1.3.3 Usage des pesticides

1.3.3.1 Utilisation des insecticides en agriculture

Les insecticides en temps que des biocides regroupent différentes familles massivement utilisées partout dans le monde comme substance pour lutter contre les espèces animales nuisibles (Farahat *et al.*, 2003). D'une part, les organochlorés et Organophosphorés perturbent le système nerveux centrale et les jonctions neuromusculaires. L'accumulation qui en découle est responsable d'un déséquilibre dans la neurotransmission et des symptômes observés (hyperexcitation, convulsion paralysie) qui se termine par la mort de l'insecte (Bloomquist, 1996). D'autre part, les pyréthrine et les néonicotinoïdes sont des insecticides botaniques naturels issus respectivement de la fleur de chrysanthème (Testud & Grillet, 2007) et du dérivé de la nicotine (Jeschke *et al.*, 2011). Les pyréthrine provoquent des convulsions chez les insectes en désorganisant l'influx nerveux des neurones sensitifs et moteurs et blocage des canaux sodiques entraînant une perte d'excitabilité du neurone (Bloomquist, 1996). Les néonicotinoïdes sont des neurotoxiques. Leur cible est le récepteur post-synaptique à l'Ach dont le blocage induit paralysie et mort de l'insecte (Bourbia, 2013).

1.3.3.2 Utilisation des fongicides dans l'agriculture

Les fongicides sont des substances chimiques utilisées pour éliminer ou inhiber les champignons qui causent certaines maladies. Après avoir été appliqués sur une plante ou dans le sol, ils restent à la surface de la plante ou entrent dans la plante (Le Roux *et al.*, 2000). Il existe une distinction entre les fongicides de surface (contact) qui ne sont pas absorbés par la plante et les fongicides pénétrants qui sont absorbés par la plante soit par pénétration systémique local ou trans-laminaire, soit par pénétration systémique à diffusion ascendante soit par pénétration systémique complet (diffusion ascendante et descendante) (Le Roux *et al.*, 2000).

Ils ont un effet préventif (fongicides 'antigerminatif) le champignon est tué avant qu'il ne pénètre dans la plante. Certains peuvent aussi agir de manière curative en tuant le champignon une fois qu'il a pénétré dans la plante. Cependant, certains ont un effet anti sporulant en détruisant la reproduction du champignon à la suite d'une infection.

1.3.3.3 Utilisation des herbicides en agriculture

Les herbicides non sélectifs (glyphosate) tuent à la fois les insectes et les plantes cultivées. Cela explique pourquoi ils sont utilisés avant la création des cultures. En général, ces produits sont employés afin de préparer les champs avant le labour. De nos jours, le Glyphosate demeure la substance active la plus couramment employée dans cette catégorie (Gorse & Rivard, 2011 ; Gorse, 2006). Les herbicides sélectifs sont composés des herbicides de pré-levé et des herbicides de post-levée. Les pré-levés sont des herbicides spécifiques (selectif) pour les cultures qui contiennent une ou plusieurs substances actives. Ils sont utilisés avant l'apparition des cultures et des insectes. Ils sont utilisés immédiatement après les semis et sur un sol propre. La culture est autorisée, mais les mauvaises herbes sont interdites. On utilise des herbicides de post-levée pour éliminer les insectes présents dans un champ après la levée de la culture. L'herbicide agit en fonction physiologique altérée, du site actif et du lieu d'activité cellulaire de l'herbicide (ACTA, 2009). Les principaux effets des herbicides sont la photosynthèse, l'inhibition de la synthèse des lipides, de la division cellulaire à la métaphase des acides aminés et de la synthèse des caroténoïdes. A cela, s'ajoute la perturbation de la régulation de l'auxine AIA (acide indol-acétique), Les différences de pH entre les différents compartiments cellulaires entraînent une perturbation de la croissance en général. La pénétration peut être effectuée soit par les feuilles ou par les racines (ACTA, 2010).

1.3.4 Cas du glyphosate et son impact sur la santé humaine

Dérivé de la glycine, le glyphosate est un herbicide non sélectif à action systémique (TomLin *et al.*, 2009). Il se métabolise naturellement par dégradation en acide aminométhylphosphonique (AMPA). Le glyphosate est répandu dans le monde entier. Il était surtout utilisé comme désherbant en agriculture, notamment dans les cultures de maïs, de soja et de coton ainsi que dans les pâturages (TomLin *et al.*, 2009 ; Brookes, 2014). Actuellement, c'est la matière active la plus utilisée dans les champs de palmier à huile, hévéa, café, cacao et les alentours des maisons. Il peut également servir de régulateur de croissance, ainsi que de desséchant pour accélérer certaines récoltes de céréales et légumineuses (Jaskulski & Jaskulska, 2014).

Chez l'humain, des chercheurs universitaires soupçonnent que le glyphosate perturbe le système endocrinien (Benachour & Seralini, 2009; Romano *et al.*, 2010 ; Guyton *et al.*, 2015 ;

Gore *et al.*; 2015 ; Bouchard *et al.*, 2010), provoque le cancer (Bellé, 2015 ; WHO, 2019), augmente le risque d'avortement spontané (Bolognesi *et al.*, 1997 ; Benachour & Séralini, 2009 ; Arbuckle *et al.*, 2001), cause des malformations congénitales (Paganelli *et al.*, 2010) et affecte le système nerveux (Niemann, 2015 ; Anadon *et al.*, 2008). Chez les mères, l'utilisation du glyphosate dans les trois mois précédant la conception a été associée à une augmentation du risque d'avortements tardifs (Arbuckle *et al.* 2001). D'autres scientifiques s'inquiètent de sa toxicité chez le fœtus (Leon *et al.*, 2019 ; Stavros *et al.*, 2011). Swanson *et al.* (2014) ; Thongprakaisang *et al.*, (2013) ; Mesnage *et al.*, (2015) ; Myers *et al.*, 2016 ; Jayasumana, (2015) ont établi une corrélation entre l'utilisation du glyphosate et plusieurs problèmes de santé humaine tels que l'hypertension, les crises cardiaques, le diabète, l'obésité, l'Alzheimer, la démence sénile, le Parkinson, la sclérose en plaques, l'autisme, les maladies inflammatoires du système digestif, les infections intestinales, les maladies rénales, les cancers de la thyroïde, du foie, de la vessie, du pancréas, des reins et les leucémies. Des malformations sont observées dans la descendance des femmes exposées de façon chronique au glyphosate durant leur grossesse (Paganelli *et al.*, 2010). En outre, Selon Vincent & Davidson (2015), certains produits chimiques associés au glyphosate présentent une toxicité supérieure à celle du glyphosate (Defarge, 2016 ; Tush & Meyer, 2016). La cytotoxicité de ce dernier est observée à des doses supérieures à 10 000 ppm, tandis que la cytotoxicité de « Round-up » se manifeste à des doses inférieures à des doses 1 000 fois moindre (> 20 ppm) (Mesnage *et al.*, 2013).

1.3.4.1 Mode d'action et toxicité du glyphosate

En effet, le glyphosate est systémique et foliaire, ce qui signifie qu'il est absorbé par les feuilles atteignant la sève et transporté à travers la plante, affectant ainsi tous ses organes, y compris les racines. Cela le rend particulièrement efficace contre une large gamme de plantes, y compris les mauvaises et les cultures, ce qui en fait un herbicide non sélectif (Marc, 2004).

Concernant sa toxicité, elle est fonction des espèces (animales et végétales). Par ailleurs, les zones non traitées aux pesticides permettent de maintenir un écosystème plus équilibré, offrant des ressources alimentaires et des abris pour les perdrix. Pourtant, la dose critique pour les plantes terrestres non-cibles, notamment la tomate, est de 0,146 kg de glyphosate par hectare. La toxicité du glyphosate pour les animaux est généralement considérée comme faible. En effet, les valeurs de DL50 (dose létale pour 50 % des sujets testés) sont supérieures à 2000 mg/kg de masse corporelle pour des espèces comme le canard colvert et la caille (Junghans & Aicher, 2017). Cela signifie que ces animaux peuvent tolérer une exposition relativement élevée au glyphosate sans subir d'effets mortels immédiats. Aussi, la CL50 (concentration létale pour 50

% des sujets testés dans l'eau) pour les poissons d'eau douce se situe entre 24 et 140 mg/l. Cela indique que les poissons peuvent être affectés par des concentrations de glyphosate dans leur habitat aquatique, ce qui suggère un risque pour la faune aquatique lorsque cet herbicide est utilisé.

1.3.5 Voies de contamination des escargots par les substances toxiques

Il est possible que les organismes terrestres possèdent plusieurs voies d'absorption, principalement en fonction de l'écologie de l'organisme en question (Peijnenburg *et al.*, 2000 ; Heikens *et al.*, 2001 ; La Rocca, 2004). Cependant, la plupart des invertébrés terrestres, y compris les gastéropodes, consomment les éléments essentiels ou toxiques par la nourriture via l'épithélium digestif (Gomot *et al.*, 1989), ou par la sole pédieuse (Marigomez, *et al.*, 2002 ; Scheifler, *et al.*, 2003). Ils pourraient également être contaminés par la voie respiratoire ou par inhalation de gaz et /ou de particules atmosphériques (Ismert *et al.*, 2002 ; Regoli *et al.*, 2006). Une fois les différentes barrières biologiques passées (épithélium cutané et digestif) les composés métalliques circulent dans l'organisme par l'intermédiaire de l'hémolymphe et sont répartis entre les divers organes où ils peuvent être conservés dans le foie et le tube digestif (La Rocca, 2004). La durée d'exposition (figure 8) aux toxiques et la vitesse à laquelle l'organisme est capable de reprendre son état d'origine ou réversibilité une fois que le toxique est éliminé, inactivé ou transformé déterminent les risques encourus par les organismes (Van Straalen, 1994).

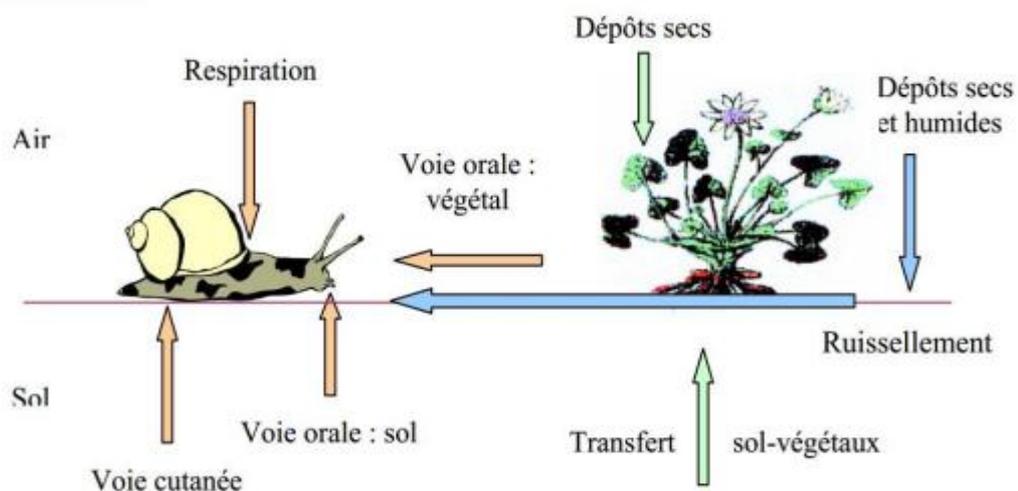


Figure 8 : Différentes voies de contamination d'escargot (La Rocca, 2004)

1.3.6 Devenir des polluants chez l'escargot

Il est nécessaire de distinguer les métaux essentiels des métaux non essentiels. En ce qui concerne les métaux essentiels tels que le zinc et le cuivre, les invertébrés ont pu développer des mécanismes de régulation qui leur permettent de maintenir leur concentration interne à un niveau constant, pour une certaine plage de concentrations rencontrées dans les sols (Heikens, *et al.*, 2001 ; van Straalen, *et al.*, 2001 ; La Rocca, 2004). En revanche, la régulation des polluants non essentiels est très faible voire inexistante, ce qui entraîne leur accumulation dans les organismes (Jess & Marks, 1998). Les hémocytes jouent un rôle crucial dans le métabolisme des métaux et leur répartition dans les divers tissus (Suresh & Mohandas, 1990 ; La Rocca, 2004), en raison de leur capacité à absorber les corps étrangers par phagocytose (Bulla & Cheng, 1997 ; Marigomez *et al.*, 2002). Dès lors, inductibles lors d'exposition aux ETM, les métallothionéines interviennent non seulement dans la détoxification des substances toxiques également importante pour maintenir le métabolisme et l'équilibre des éléments essentiels tels que le cuivre ou le zinc, afin de les préserver pour d'autres métalloprotéines telles que l'hémocyanine (Dallinger, 1993 ; Hamza Chaffai *et al.*, 2000 ; Scheifler, 2002 ; La Rocca, 2004). L'une des isoformes d'une métallothionéine joue un rôle dans l'accumulation, la fixation et la détoxification du cuivre dans la glande digestive des escargots. Dans le manteau, le deuxième isoforme est uniquement lié au cuivre et permet de contrôler la concentration intracellulaire en cuivre (Dallinger *et al.*, 2000 ; Hamza-Chaffai *et al.*, 2000). Lorsque les métallothionéines ont des capacités de liaison limitées, soit des effets toxiques se manifestent dans les cellules, soit une autre méthode de détoxification, telle que l'excrétion, intervient (Berger *et al.*, 1997 ; La Rocca, 2004).

1.3.7 Evaluation des risques

Selon Batsch, (2011) le risque d'intoxication pour l'homme résulte à la fois du danger lié à la toxicité du polluant (toxicité aiguë et chronique), et de son exposition (dose journalière absorbée, quantité de résidus présents) (Figure 9).

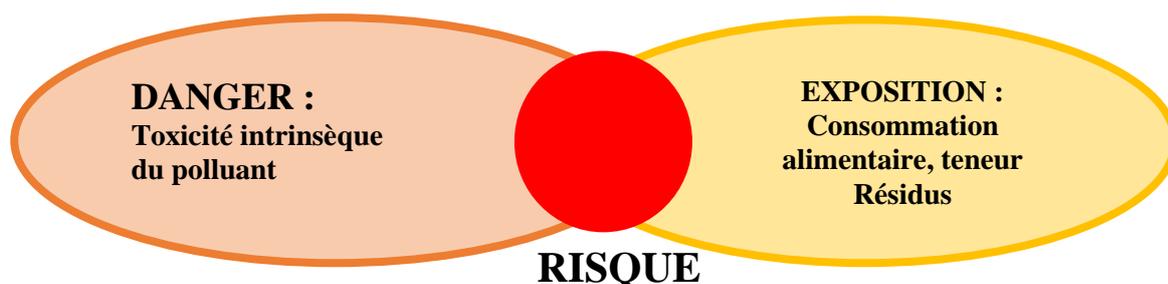


Figure 9 : Notion de risque d'intoxication aux polluant (Batsch, 2011)

D'après, le Centre d'Expertise en analyse Environnementale du Québec (1998), la génération des valeurs d'exposition et des valeurs toxicologiques de référence s'effectue pour chaque paramètre d'évaluation. Pour ce faire, il faut d'abord déterminer les valeurs d'exposition qui reposent sur les niveaux de contact établis entre le récepteur et le polluant en fonction de sa biodisponibilité. Ensuite, choisir les valeurs toxicologiques de référence représentant le niveau d'effet néfaste jugés acceptable. Enfin, interpréter les résultats obtenus en les comparant au quotient de danger.

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

2.1 Matériel

2.1.1 Fiche d'enquête

Une enquête descriptive a été menée en vue de recueillir les informations auprès des cacaoculteurs et des consommateurs d'escargots tout sexe confondu selon trois tranches d'âge définis ; notamment les enfants, les jeunes et les adultes. Cette technique a été utilisée afin de donner à l'enquêté la liberté de donner les informations nécessaires sur ses pratiques. Le questionnaire utilisé comprenait trois (03) principaux volets. D'abord, les informations sur les personnes interrogées. Ensuite, des questions d'ordre générale sur les escargots et les spéculations (sous les vergers de cacaoyers, jachères et dans les forêts) dans lesquelles sont collectées les espèces d'escargots ont été obtenues. Enfin, les données sur les principaux produits du désherbage sont fournies (Cf annexe 1).

2.1.2 Matériel biologique

Cette étude a porté sur trois espèces d'escargot du même genre *Achatina* appartenant à la famille des Achatinidae. Il s'agit de *Achatina achatina* (linné, 1758) (Figure 10), *Achatina fulica* (Bowdich, 1720) (Figure 11) et *Archachatina ventricosa* (Gould, 1850) (Figure 12).



1,5 cm



Figure 10 : *Achatina Achatina* (linné, 1758)



1,5 cm

Figure 11 : *Achatina fulica* (Bowdich, 1720)

2,5 cm

Figure 12 : *Archachatina ventricosa* (Gould, 1850)

2.1.3 Bac d'expérimentation

Le dispositif expérimental choisi dans cette étude est la fosse (Cobbinah, 2008). En effet, les fosses sont constituées de parcs à escargots juxtaposés de 1×1×0,5 m chacun creusés dans le sol et surélevés à 50 cm au-dessus du sol. Les parois extérieures et les compartiments intérieurs sont montés avec des briques (figure 13) dans lesquelles les escargots sont soumis aux différents traitements. Les fosses contiennent une couche de 10 à 15 cm d'humus, fournissant un substrat nutritif pour les escargots. La fermeture avec un châssis métallique et un grillage, associé à un filet en nylon, protège les escargots des prédateurs tout en permettant une certaine aération. Les

parcs ont également été protégés de la chaleur et des fortes pluies. Pour ce faire, des abris ont été fournis aux escargots en construisant le dispositif sous un arbre (manguier) qui à servir d'ombrage. Deplus, cet ombrage a été renforcé par une haie en feuille de palmier dans lesquelles les escargots sont soumis aux différents traitements, d'un arrosoir pour arroser l'enceinte en cas de manque d'humidité.



Figure 13 : Escargotière

2.1.4 Produits chimiques d'expérimentation

Il est essentiellement composé de l'herbicide dénommé sur le marché national Kalach 360 SL (Solution Liquide) et le glyphosate comme substance active appartenant à la famille chimique des aminophosphate. Sous la forme liquide, c'est la substance active la plus utilisée par les cultivateurs pour le labour des parcelles avant semis ou le désherbage dans les plantations des cultures pérennes (Figure 14). C'est un herbicide total systémique non sélectif c'est-à-dire il élimine toutes les mauvaises herbes de la parcelle et ne doit pas être en contact avec la culture au risque de la brûler. Il pénètre dans la plante par les feuilles et est véhiculé jusqu'au racine par la sève en quelques jours. Par ailleurs, son efficacité s'obtient après dix (10) à quinze (15) jours après application.



Figure 14 : Herbicide Kalach 360 SL

2.1.5 Matériel de mesure

Le matériel ayant servi de mesure au cours des soixante (60) jours d'expérience est constitué d'une balance (OHAUS) de précision pour les pesées (Figure 15) et d'un pied à coulisse (GT-DC-01) (Figure 16) pour les mensurations des longueurs de coquille.



Figure 15 : Balance électronique



Figure 16 : Pied à coulisse

2.1.6 Matériel de collecte des escargots

Le matériel ayant servi à la collecte des escargots sous les vergers de cacaoyers est constitué de chaussures de sécurité, de torches pour l'éclairage, des sachets stomacker dans lesquels sont mis les spécimens d'escargots, de machettes pour se frayer des chemins, d'un GPS pour la prise des coordonnées des plantations dans lesquelles les spécimens d'escargots ont été pris et d'une glacière ayant servi de contenant pour transporter les échantillons au laboratoire.

2.1.7 Matériel de laboratoire

2.1.7.1 Produits et solvants

Ils sont essentiellement constitués d'Acétonitrile (Acétonitrile 100% 5 mn ; Acétonitrile 80% + Eau 20% 45 mn 100% 6 mn), d'hexane, de méthanol et d'Acétone pure pour l'analyse de résidus. Aussi, la soude (NaOH) à 0,5N, l'ortho-phthaldéhyde à 1,0 g/L et L'EDTA ont également servir à l'analyse des échantillons.

2.1.7.2 Matériel technique

Il est composé d'un ensemble d'appareillage à savoir des creusets en porcelaines dans lesquels les échantillons ont été mis avant d'être placés dans le four, un dessiccateur pour refroidir les échantillons enlevés du four. A ceux-ci s'ajoutent, des lames de bistouris stériles à usage unique pour séparer les différentes parties des escargots, un mortier en porcelaine pour le broyage de la coquille, des sachets Stomacker stérilisés pour conserver les échantillons (Figure 17), un mixeur industriel de laboratoire pour mixer les différents organes.

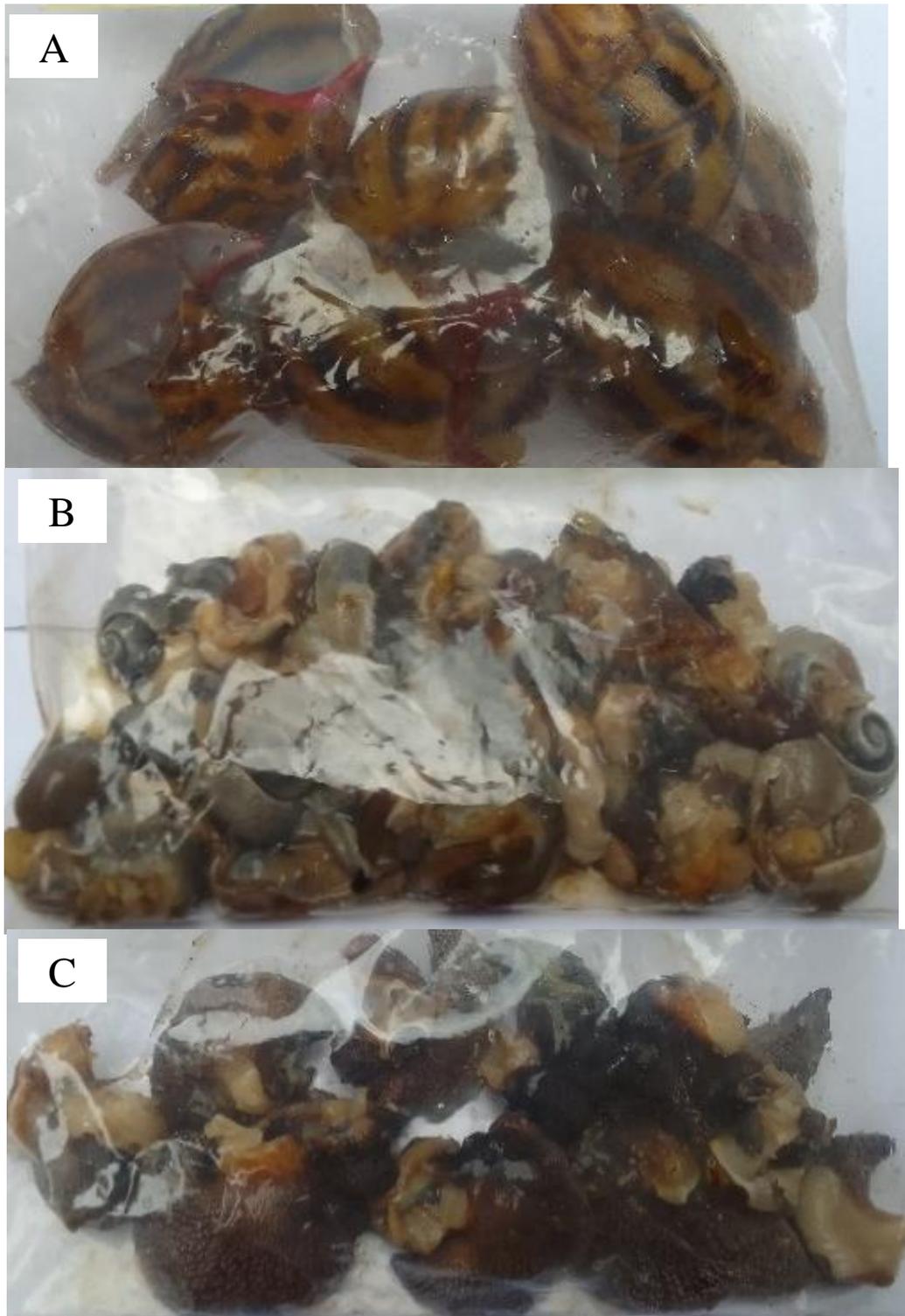


Figure 17 : Sachets stomacker contenant différents organes des escargots

(A) Coquilles ; (B) Viscères ; (C) Chair

De plus, des tubes en téflons et des fioles jaugées ont été utilisés comme contenants d'échantillons, un bain marie pour la digestion des échantillons et une hotte pour l'évacuation des gaz. Quant aux matériels de dosage des polluants, il est composé de diverses verreries, des

solutions chimiques, d'un spectrophotomètre à absorption atomique (ICP OES AVIO 200) et de HPLC.

2.2 Méthodes

2.2.1 Méthode d'enquête

Avant l'échantillonnage des escargots une enquête de terrain a été menée auprès des producteurs de cacao de la zone d'étude. Ce sondage a pour but de faciliter le choix de la substance active à analyser en tenant compte de celle des herbicides auxquelles les escargots du site d'échantillonnage sont susceptibles d'être exposés. Pour ce faire cent quatre-vingts (180) planteurs de cacao ont été interrogés en raison de trente (30) cacaoculteurs par sites d'échantillonnage (campement). Aussi, cent quarante-quatre (144) personnes ont été sondées en raison de vingt-quatre personnes par campement. Le but de cette enquête est de connaître non seulement les espèces et les parties d'escargots (viscères ou céphalopode) les plus appréciées par les populations mais également de savoir si leur consommation est fonction de l'âge du consommateur ou de la localité. Pour ce faire, trois tranches d'âge ont été choisies notamment les enfants, les jeunes adultes et les adultes dont l'âge est respectivement compris entre [0-14 ans [, [15-25 ans [et supérieur ou égale à 35 ans (≥ 25) (ONU, 1981) en raison de huit (8) personnes par tranche d'âge.

La collecte des escargots a été faite in situ dans une zone homogène (sous les vergers de cacaoyers). Les escargots ont été collectés après une pluie, temps favorable pour ces animaux pour leurs activités (Figure 18). Les échantillons ont été mis dans une glacière avant leur acheminement au laboratoire.



Figure 18 : Collecte des spécimens d'*Achatina achatina*

2.2.2 Méthode d'échantillonnage

2.2.2.1 Des escargots

Trois départements à savoir Soubre, Buyo et Meagui dans la région de la Nawa, sud-ouest de la Côte d'Ivoire ont été sélectionnés comme zone de collecte des escargots en vue de s'assurer de la qualité des escargots de cette région. Deux sites (campements) ont été choisis dans chaque département, à savoir Allakabo et Yabayo à Soubre ; Nonkpoudou et Mayakoffikro à Buyo et Gnititouagui et Raphaelkro à Méagui en raison de huit (8) escargots par localité. Le choix de ces localités a été motivé au cours d'une mission de prospection dans les marchés de ces différentes localités où l'on a observé une disponibilité en quantité suffisante de spécimens d'escargots. A cela s'ajoute les résultats d'entrevue avec les collecteurs d'escargots des différentes localités des trois départements. Au total quarante-huit (48) escargots ont été utilisés pour évaluer le niveau de contamination du glyphosate et quelques éléments trace métalliques dans les différentes parties de l'escargot *Achatina achatina*.

2.2.2.2 Des sols

Au cours de l'échantillonnage des escargots, des échantillons de sol ont été prélevés dans huit différents endroits de la même parcelle de vergers de cacaoyers. A chaque fois qu'un spécimen d'escargot est pris, le sol sur lequel la sole pédieuse de l'escargot était en contact est directement prélevé et mis dans le sachet stomaker. En somme, huit échantillons de sol par parcelle ont été prélevés et analysés.

2.2.3 Méthode d'expérimentation

Un total de 210 spécimens d'*Achatina achatina* et 210 spécimens d'*Achatina fulica* avec un poids moyen respectif de $19,49 \pm 0,80$ g et $19,88 \pm 4,33$ g pour une longueur moyenne de coquille de $52,66 \pm 2,1$ mm et $50,64 \pm 2,97$ mm ont été acclimatés pendant quatre (4) semaines dans des bacs d'élevage de $0,5 \text{ m}^3$ de surface construite en briques. Ces escargots proviennent d'une ferme d'élevage, tous issus de la première génération et âgées d'environ 6 mois. Trente (30) escargots chacun ont été constitués et disposés dans sept (07) lots d'escargotières. Les feuilles de laitue qui ont été consommées de préférence pendant la période d'acclimatation des escargots ont servi de nourriture pour l'expérimentation. Les animaux ont été arrosés tous les jours sauf en cas de pluie. Ils ont été nourris tous les deux (2) jours avec des feuilles sans exposition au glyphosate pendant soixante (30) jours. Ces animaux ont été par la suite soumis à des feuilles de laitue saines c'est-à-dire non contaminées initialement (Cf. annexe 2A) trempées dans une solution de glyphosate à différentes doses tous les six (6) jours pendant soixante (60) jours. Sept

(7) doses de dilution (D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄) ont été utilisées conformément au tableau II. Afin de reproduire l'exposition des escargots au glyphosate, ainsi, les concentrations étudiées devraient illustrer parfaitement et les concentrations sur l'étiquette de l'emballage du produit chimique et les concentrations de glyphosate égale ou inférieure à celle utilisées en cultures. De ce fait, comme indiquée sur la notice de l'emballage (KALACH 360 SL) : dose 80 à 150 mL de substance active pour 15L d'eau, ce qui implique que 1L d'eau contient 5,33 mL de glyphosate pour la plus faible dose soit 80L et 10 mL de glyphosate pour la plus forte dose soit 150L. La faible dose (D₄) inférieure à la dose prescrite par le fabricant peut effectivement s'expliquer par plusieurs facteurs. En premier lieu, la dilution de la solution peut être justifiée par une faible densité des mauvaises herbes, ce qui signifie qu'une application moins concentrée pourrait suffire à contrôler leur croissance. Cela pourrait également permettre d'économiser des ressources tout en maintenant une efficacité acceptable dans le traitement. D'autre part, le manque de moyens financiers ou de ressources pour acquérir la quantité suffisante de produit peut également inciter les applicateurs à réduire la dose. La longueur de la coquille et le poids des escargots ont été déterminés chaque deux semaine soit tous les 15 jours.

Tableau II : Différentes dilutions du glyphosate

Glyphosate en g/L	Dilutions
D ₀	Escargots témoins 0 g(glyphosate/L(eau))
D ₄	Escargot traité avec 4 g(glyphosate/L(eau))
D ₆	Escargot traité avec 6 g(glyphosate/L(eau))
D ₈	Escargot traité avec 8 g(glyphosate/L(eau))
D ₁₀	Escargot traité avec 10 g(glyphosate/L(eau))
D ₁₂	Escargot traité avec 12 g(glyphosate/L(eau))
D ₁₄	Escargot traité avec 14 g(glyphosate/L(eau))

2.2.4 Méthode d'analyse des métaux

2.2.4.1 Préparation des échantillons d'escargots

Une fois les échantillons d'escargots au laboratoire (Laboratoire Central d'Analyse de l'université de man), ils ont été mis à jeun pendant deux jours (48 heures) afin d'éliminer la nourriture non absorbée et les fèces de leur tractus digestif (Adamou *et al.*, 2019 ; N'guessan *et al.*, 2022). Ensuite, plusieurs mesures des huit escargots ont été prises (figure 19). Il s'agit de la longueur, le diamètre des coquilles et le poids des escargots. En outre, les escargots ont été

soigneusement lavés à l'eau distillée puis disséqués sur une paillasse stérile. Le céphalopode, les viscères et la coquille ont été extraits. La coquille a été brisée à l'aide d'un marteau et le corps a de nouveau été lavé à l'eau distillée puis mixés par la suite avant d'être conservé à -18°C avant l'analyse selon Chukwujindu *et al.*, (2009). Pour faciliter le broyage des différents organes des escargots ; ceux-ci ont été découpés en petits morceaux à l'aide de lame de bistouri.



Figure 19 : Prise de mesure des échantillons

2.2.4.2 Cuisson des escargots

Pour connaître l'effet de la température sur les polluants (plomb, cuivre, zinc, cadmium, glyphosate) quatre lots d'échantillons notamment la chair des escargots *A. achatina* sont placés dans les creusets en porcelaine. Ils sont par la suite mis dans le four puis celui-ci est réglé en fonction de la température (60°C, 90°C et 120°C) pendant trente (30) minutes puis analysés. Ensuite, le temps de cuisson du céphalopode sur les polluants a été évalué en maintenant la cuisson à 100°C pendant 0, 30 et 60 minutes. Le dosage des polluants dans la chair soumis à différentes variations de température et de temps de cuisson a permis d'apprécier leur effet sur les métaux lourds et le glyphosate.

2.2.5 Minéralisation des échantillons et dosage des métaux lourds

La minéralisation pour le dosage du plomb, cuivre, zinc et du cadmium a été effectuée selon la méthode AOAC, 999.10 (2003). Pour la digestion de chaque échantillon, une prise d'essai de 0,5 g de broyat est placée dans un tube en téflon sous une hotte. Ensuite 5 mL d'acide nitrique concentré (HNO₃) à 65 % et 15 mL d'acide chlorhydrique (HCl) à 37 % sont successivement

ajoutés au broyat. Un autre tube en téflon contenant de l'eau bidistillée est utilisée comme témoin neutre des éléments à rechercher ou traiter. A ce tube blanc, les mêmes réactifs qui ont servi à la digestion de la matrice sont ajoutés dans le même cadre. Les téflons sont portés au bain marie pendant 1 heure à une température de 90°C pour la digestion du contenu. Les tubes en téflons sont retirés et disposés sur la paille pour leur refroidissement. Trente minutes (30) après, une décompression de 5 min est faite sous la hotte en ouvrant les téflons pour laisser s'échapper le gaz. Après le refroidissement, le mélange est filtré dans une fiole jaugée de 100 mL et complété avec de l'eau bidistillée jusqu'au trait de jauge puis homogénéisé par agitation manuelle. Les solutions obtenues après la minéralisation sont transvasées dans un tube propre portant les références des échantillons et conservées à 4°C jusqu'à l'analyse (Adamou *et al.*, 2019 ; N'guessan *et al.*, 2022 ; N'guessan *et al.*, 2023).

La détection des métaux lourds s'est faite à l'aide de Spectrophotomètre d'absorption atomique à four à graphite, piloté par le logiciel LC solution équipée d'un correcteur de fond non spécifique (lampe au Deutérium) et d'un passeur automatique d'échantillons.

Un calibrage a été fait avant de préparer les solutions étalons pour chaque métal de concentrations croissantes de 10 µg/L, 800 µg/L, et 1500 µg/L. Le coefficient de détermination de chaque élément choisi est compris entre 0,995 et 1. Les métaux lourds en mg/kg (ppm) ont été obtenues à partir des concentrations lues directement sur le spectromètre (N'guessan *et al.*, 2022).

2.2.6 Méthode d'analyse de glyphosate dans les échantillons de sol

2.2.6.1 Extraction et purification

Chaque échantillon de sol (200 g) prélevé dans chaque localité a été séché à l'air libre, à l'abri du soleil durant 4 à 5 jours. Après séchage, l'échantillon a été trié, puis broyé finement au mortier. A 25 g du broyat, 100 mL d'une solution d'acide phosphorique à 0,1 M (dans de l'eau bidistillée) ont été ajoutés. Cette mixture a été homogénéisée sur un agitateur pendant 5 heures. Ensuite, le mélange a été centrifugé à 5000 rpm pendant 20 minutes, puis le surnageant a été filtré sur du Whatman n°1 et concentré à 10 mL à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait concentré (10 mL) a été filtré sur un filtre à disque de 0,2 µm de diamètre afin de procéder à la dérivation (Jahnke *et al.*, 2015 ; Kpan *et al.*, 2015).

2.2.6.2 Derivation

La solution de dérivation est un mélange de O-phthaldialdéhyde (OPA) et de 2-mercaptoéthanol (2-MCE). La réaction conduisant à la formation du complexe OPA 2MCE a lieu en milieu

baisique (pH = 9). Pour créer ce milieu, le tampon de tétraborate de sodium a été utilisé. Ce tampon a été préparé en dissolvant 3,8 g de tétraborate dans 100 mL d'eau bidistillée. La solution obtenue a été filtrée sur du papier filtre Whatman afin d'éliminer d'éventuels cristaux non dissous. Ensuite, 120 mg d'OPA ont été dissouts dans 3 mL de méthanol dans une fiole ambrée de 50 mL, puis 15 mL de la solution tampon y ont été ajoutés. Sous une hotte, 179 µl de 2-mercaptoéthanol ont été ajoutés à la solution d'OPA. Cette solution de dérivation a été conservée à 24 °C à l'abri de la lumière (Kpan *et al.*, 2015).

2.2.6.3 Quantification du glyphosate dans les échantillons

A 1 mL de la solution de dérivation, 1 mL de la solution de tétraborate (5 %) et 1 mL de la solution de FMOC sont successivement ajoutées. La solution obtenue est agitée à l'agitateur magnétique pendant 1 heure à l'abri de la lumière, à la température ambiante, puis centrifugée à 4500 tr/min pendant 5 min. Le surnageant est recueilli dans un vial et prêt pour la détection et la quantification au HPLC C18 à polarité en phase inverse. Le glyphosate a été détecté à une longueur d'onde de 205 nm. Quant aux limites de détection et de quantification, elles sont respectivement 0,009 mg/kg et 0,027 mg/kg.

2.2.7. Dosage du glyphosate dans les organes des escargots

2.2.7.1 Extraction et purification

Chaque échantillon d'escargot (200 g) prélevé dans chaque localité a été séché à l'air libre, à l'abri du soleil durant 4 à 5 jours. Après séchage, l'échantillon a été trié, puis broyé finement au mortier. A 25 g du broyat, 100 mL d'une solution d'acide phosphorique à 0,1 M (dans de l'eau bidistillée) ont été ajoutés. Cette mixture a été homogénéisée sur un agitateur pendant 5 heures. Ensuite, le mélange a été centrifugé à 5000 rpm pendant 20 minutes, puis le surnageant a été filtré sur du Whatman n°1 et concentré à 10 mL à l'aide d'un évaporateur rotatif. L'extrait concentré (10 mL) a été filtré sur un filtre à disque de 0,2 µm de diamètre afin de procéder à la dérivation (Jahnke *et al.*, 2015 ; Kpan *et al.*, 2015).

En ce qui concerne la purification, elle a été effectuée en pipetant une aliquote de 10 mL de la phase organique (phase supérieure) dans un ballon de 100 mL, puis évaporer à sec à une température comprise entre 40-70°C au rotavapor. Par la suite, la solution obtenue est dissoute complètement avec 5,0 mL d'acétone puis l'extrait acétonique est filtré sur un filtre de 0,2 µm monté sur une seringue de 5 mL. Par ailleurs, la cartouche C18 est conditionner avec 5 mL du mélange de 10 % d'acétone dans l'hexane (v/v) suivi de 5 mL d'hexane. L'échantillon est redissoud complètement dans 2 mL d'hexane et transvasé dans la cartouche de florisil pré

conditionnée puis éluer par gravité. Le ballon est rincé avec 5 mL du mélange de 10% d'acétone dans l'hexane (v/v) et passer à travers le florisil de la cartouche. Tous les éluants sont collectés dans un tube conique de 15 ML. L'éluant est par la suite évaporer à sec sous un courant doux d'air. Enfin, l'échantillon est redissoud dans 5,0 mL d'hexane pour analyse sur chromatographe à phase gazeuse.

2.2.7.2 Dérivation

Elle a été réalisée dans un tube à fond conique de 50 mL contenant 5 mL d'extrait. À cet extrait, une solution tampon Borate-Na (50 mM préparée dans de l'eau ultrapure) a été ajoutée, suivie d'une agitation. Par la suite, 1 mL d'EDTA-Na₂ a été ajouté pour libérer le glyphosate des complexes formés avec les cations bivalents. Aussi, 4,5 mL d'acétonitrile sont ajoutés et le mélange obtenu a été homogénéisé. De plus, 0,6 mL de FMOC-Cl (solution à 50 mg·mL⁻¹ préparée dans l'acétonitrile) a été ajouté, puis le mélange agité à nouveau. En outre, pour garantir une réaction optimale, le mélange obtenu a été laissé reposer pendant 30 minutes dans l'obscurité à une température ambiante comprise entre 20 et 25 °C. Le surnageant est recueilli dans un vial et prêt pour la détection et la quantification au HPLC avec une détection UV sur RP-C18 (colonne).

2.2.7.3 Quantification du glyphosate dans les échantillons

A 1 mL de la solution de dérivation, 1 mL de la solution de tétraborate (5 %) et 1 mL de la solution de FMOC sont successivement ajoutées. La solution obtenue est agitée à l'agitateur magnétique pendant 1 heure à l'abri de la lumière, à la température ambiante, puis centrifugée à 4500 tr/min pendant 5 min. Le surnageant est recueilli dans un vial et prêt pour la détection et la quantification au HPLC C18 à polarité en phase inverse. Le glyphosate a été détecté à une longueur d'onde de 205 nm. Quant aux limites de détection et de quantification, elles sont respectivement 0,009 mg/kg et 0,027 mg/kg.

2.2.8 Evaluation du risque sanitaire

2.2.8.1 Evaluation du risque sanitaire lié à la consommation des escargots

Le risque sanitaire correspond à la probabilité que survienne un événement nuisible à la santé d'un individu ou d'un groupe d'individus. Trois étapes principales ont été suivies dans l'évaluation des risques sanitaires associés à la consommation d'escargots contaminés par des éléments traces métalliques (Adamou *et al.*, 2019) : l'identification du danger, la sélection des valeurs toxicologiques de référence et l'évaluation de l'exposition de la population (Bisson *et al.*, 2009). Elle a conduit à la détermination de la dose journalière d'exposition (DJE). D'après

Bassey *et al.* (2014), il est plus judicieux de calculer la DJE en prenant en considération les produits cuits plutôt que les produits frais. Les scénarios d'exposition où l'individu est le plus exposé (Yapi *et al.*, 2019) (hypothèse maximaliste) ont été utilisés. En effet, par hypothèse, il a été considéré que la quantité journalière moyenne d'escargot dans un ménage est la même chez tous les individus (Adamou *et al.*, 2019 ; N'guessan *et al.*, 2022). Cette quantité a été déterminée par une enquête de terrain auprès des foyers de la zone d'étude. L'enquête réalisée auprès des populations des six localités des trois départements susmentionnés a révélé que les populations consomment en moyenne 6 escargots *Achatina achatina* par repas une (1) fois par semaine.

❖ Dose journalière d'exposition (DJE)

La quantité (interne ou externe) de substance absorbée par l'organisme rapportée au poids de l'individu et au nombre de jours d'exposition (pour une substance non cancérigène) ou au nombre de jours de vie entière (pour une substance cancérigène).

$$\text{DJE} = \text{C.Q. F/P}$$

Avec

DJE=dose journalière d'exposition aux polluants (mg/kg/j

C= concentration en éléments traces dans les escargots (mg/kg)

F=fréquence d'exposition (F=1) sans unité

P=poids corporel de la cible (kg)

Q= quantité d'escargot ingérés par jour soit $Q=P*6*30/100$ (kg/j)

La quantité Q d'escargots ingérés par jour a été calculée (Adamou *et al.*, 2019 ; N'guessan *et al.*, 2022) en considérant que la chair (la partie consommée de l'escargot) représente, d'après une étude réalisée en Côte d'Ivoire par Otchoumou (2005), 30% du poids vif de l'escargot et en tenant compte du nombre (6) escargots *Achatina achatina* consommés par repas puis de la mesure du poids des escargots.

❖ Dose journalière admise (DJA)

C'est la quantité de substance chimique présente dans les aliments ou dans l'eau potable qui peut être consommée quotidiennement pendant toute la durée d'une vie sans présenter de risque appréciable pour la santé. Ce sont des valeurs toxicologiques de référence (VTR) des différents polluants fixés par l'INERIS, (2009) et ANSES, (2019) (tableau III).

Tableau III : Valeurs toxicologiques de référence

Éléments traces Métalliques	Valeurs Toxicologiques
Cadmium	0,0002 mg/kg/j
Cuivre	0,140 mg/kg/j
Zinc	0,3 mg/kg/j
Plomb	0,0036 mg/kg/j
Glyphosate	0,5 mg/kg/j

Source : INERIS (2009) et ANSES (2019)

❖ Quotient de Danger (QD)

C'est le rapport de la dose d'exposition d'un individu ou d'un groupe d'individus par la dose sans effet estimé.

$$QD = DJE / DJA$$

Si

QD > 1 L'effet toxique peut se déclencher sans qu'il soit possible de prédire la probabilité de survenue de cet événement

QD < 1 la population exposée est théoriquement hors de danger c'est-à-dire cette population exposée n'est pas susceptible de développer les effets sanitaires.

❖ Calcul du taux des mortalités (Tm) chez les escargots

$$Tm = EFF_{mo} * 100 / EFF_{to}$$

mo : Mortalité

EFF : Effectif

to : Total

2.2.8.2 Evaluation de l'Excès de risque individuel (ERI)

C'est la probabilité pour un individu exposé à un polluant de développer l'effet inhérent à cet élément. Un ERI positif (>0,01) indique que l'exposition est associée à une augmentation du risque de polluant étudié. Il est considéré comme identique pour chaque individu dans une population. Il est utilisé pour évaluer l'impact des facteurs de risques sur la santé publique.

Par ailleurs, l'enquête a révélé que les populations consomment en moyenne 6 escargots *Achatina achatina* par repas une (1) fois par semaine. Ce qui résulte donc qu'elles consomment 0,86 escargots par jour. Pourtant, le poids moyen des escargots analysés est de 129,87g. Il en

résulte donc que le poids des 0,86 escargots est 112g. Or selon Otchoumou (2005), la chair représente 30% du poids vif de l'escargot. Ainsi, les populations de la zone d'étude consomment 0,0336g de céphalopode par jour. Par ailleurs, selon INS (2021), le nombre moyen de personne par ménage des départements de Méagui, Soubré et Buyo est 5,3. En somme, la quantité de céphalopode ingérée par jour par individu est de 0,0064g.

$$ERI=ERU.D_{vie}. \quad \text{Avec } D_{vie}=I.C.F_e.T_e/P.T_{vie}$$

Où :

ERU=Excès de Risque Unitaire correspond aux valeurs toxicologiques de référence (VTR).

D_{vie} est la dose journalière d'exposition vie-entière (mg de polluant par unité de poids corporel et par jour) ;

I=la quantité journalière d'escargot ingérées (kg/j) ;

C=la concentration d'escargot ingérée (mg/kg) ;

F_e =la fréquence d'exposition (j/an) ;

T_e =la durée d'exposition (an) ;

P= le poids corporel (kg) ;

T_{vie} =l'espérance de vie (j).

Aussi, l'US EPA fixe à 10^{-2} (Dor & Zmirou, 2005) l'excès de risque individuel au-delà duquel l'ERU n'est plus dans son domaine de validité.

2.3.9 Analyse statistique

Pour comparer les concentrations des différents échantillons, les données ont été d'abord soumises au test de normalité de Shapiro-Wilk afin de vérifier si leur distribution suit la loi normale. Lorsque la distribution est normale alors le test paramétrique ANOVA à un facteur a été utilisé pour comparer les différentes moyennes. Lorsqu'il y a une différence significative entre les différentes moyennes obtenues, $p(\text{same})$ de ANOVA un facteur est inférieur à 0,05 ($p < 0,05$), le test de Dunn post-hoc a été utilisé pour la comparaison deux à deux des moyennes des polluants. Cependant, lorsque le test de Shapiro-Wilk indique un $P(\text{same})$ inférieur à 0,05 ($p < 0,05$) alors le test non paramétrique de Kruskal wallis a été appliqué pour vérifier une possible différence entre les différentes valeurs des polluants obtenues. A chaque différence significative entre les valeurs des différents échantillons alors le test de Mann-wilthney a été

employé pour une comparaison deux à deux des échantillons. Les différences ont été considérées comme significatives au seuil de 0,05. Ces différents tests sont réalisés à l'aide du logiciel Past 4.11.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Résultats

3.1.1 Effet du glyphosate sur les escargots

3.1.1.1 Glyphosate et activité des escargots

Les escargots exposés au glyphosate ont montré plusieurs symptômes dont le premier est la perte de chimiorécepteur. En effet, les escargots n'étaient plus attirés par la nourriture de façon dose-dépendante comparé aux escargots témoins. Aux concentrations élevées (D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄) de glyphosate, les escargots restent fixés sur les parois des bacs ou sur leur fermeture sans montrer une activité locomotrice et nutritionnelles (Figure 20). Certains se sont enfouis dans le sol après la première quinzaine d'expérience. Ce mode de vie concerne aussi les escargots témoins à la différence que ces derniers sortent de temps en temps pour se nourrir. A ces concentrations élevées de glyphosate, les escargots refusent de consommer les feuilles de laitue après les douze premiers jours d'expérience correspondant à deux propositions de feuilles de laitue trempées dans les différentes solutions à différentes doses de dilutions. Les escargots exposés aux concentrations 4 et 6 g/L de glyphosate sont sensiblement en activité comparativement aux escargots exposés aux doses plus élevées de glyphosate durant les huit (08) semaines d'expériences.



Figure 20 : Escargots exposés au glyphosate

3.1.1.2 Glyphosate et mortalité des escargots *A. achatina* et *A. fulica*

Le glyphosate entraîne la mortalité chez les deux espèces. Toutefois, elle est plus élevée chez l'espèce *A. achatina* par rapport à celle de *A. fulica* (Tableau IV). Le taux de mortalité cumulée de *A. achatina* varie entre 0% à la dose D₀ et 83,33% à la dose D₁₄. Quant à l'espèce *A. fulica* la mortalité oscille entre 0% (D₀) et 56,67% (D₁₄). La mortalité semble respectivement plus faible chez les escargots *A. fulica* par rapport à celle *A. achatina* avec respectivement 57 individus sur 210, soit 27,14% et 71 individus sur 210 soit 33,8% de mortalité. Chez les escargots *A. achatina*, elle est de 0, 3, 5, 10, 12, 16 et 25 morts aux doses D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄ respectivement. Quant aux *A. fulica*, elle est de l'ordre de 0, 3, 4, 8, 11, 14 et 17 respectivement chez les escargots exposés aux doses D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄.

Tableau IV : Taux de mortalité de *A. achatina* et *A. fulica* durant les soixante jours de traitement par le glyphosate

	Taux de mortalité chez <i>A. achatina</i>					Mortalité cumulée à soixante jours (%)
	T ₀	%Mort T ₁₅	%Mort T ₃₀	%Mort T ₄₅	%Mort T ₆₀	
D₀	0	0	0	0	0	0,00
D₄	0	3,34	3,44	3,58	0	10
D₆	0	6,68	6,9	3,84	0	16,67
D₈	0	20	6,9	4,54	0	30
D₁₀	0	3,34	13,8	5,27	0	40
D₁₂	0	36,67	15,78	12,5	0	53,34
D₁₄	0	53,34	42,86	13,64	0	83,34

Taux de mortalité chez <i>A. fulica</i>						
	T ₀	%Mort T ₁₅	%Mort T ₃₀	%Mort T ₄₅	%Mort T ₆₀	Mortalité cumulée à soixante jours (%)
D₀	0	0	0	0	0	0,00
D₄	0	3,34	3,44	3,58	0	10
D₆	0	3,34	3,44	3,58	3,7	13,34
D₈	0	16,67	4	4,17	4,34	26,67
D₁₀	0	20	16,67	5	0	36,67
D₁₂	0	26,67	13,64	10,53	5,89	46,67
D₁₄	0	40	50	7,15	0	56,67

3.1.1.3 Glyphosate et croissance coquillière de *Achatina achatina*

Les résultats obtenus montrent que le glyphosate a un effet négatif sur la croissance coquillière de *Achatina achatina* (Figure 21). L'analyse des histogrammes révèle un effet inhibiteur du glyphosate sur la croissance coquillière des escargots *Achatina achatina*. Ainsi, un faible taux de croissance de la longueur de coquilles des escargots soumis aux différentes doses de

glyphosate a été noté. Au bout de 60 jours d'expérimentation, les longueurs de coquille sont passées de 54,58 à 55,99 mm, de 54,15 à 54,78 mm, de 56,96 à 57,48 mm, de 56,03 à 56,27 mm, de 52,66 à 52,78 et de 54,81 à 54,92 mm, respectivement pour les doses D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄. En revanche, les escargots témoins connaissent une augmentation importante de la longueur de coquille passant de 56,52 à 62,53 mm. Le test de Man-Whitney montre qu'il n'y a aucune différence significative ($p < 0,05$) entre la longueur de coquilles des escargots témoins et celle des escargots soumis aux différentes doses de glyphosate à partir du 45^{ème} jour d'expérimentation (Tableau V). Enfin, à l'exception des escargots témoins (D₀) qui ont enregistré une croissance coquillière de 6,01 mm à la fin de l'étude, les escargots soumis aux doses D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄ ont connu une croissance coquillière respective de 1,84 mm ; 0,63 mm ; 0,52 mm ; 0,24 mm ; 0,12 mm et 0,11 mm de croissance. Par ailleurs, il n'y a aucune différence significative entre les longueurs de coquilles des escargots soumis aux différentes doses de glyphosate.

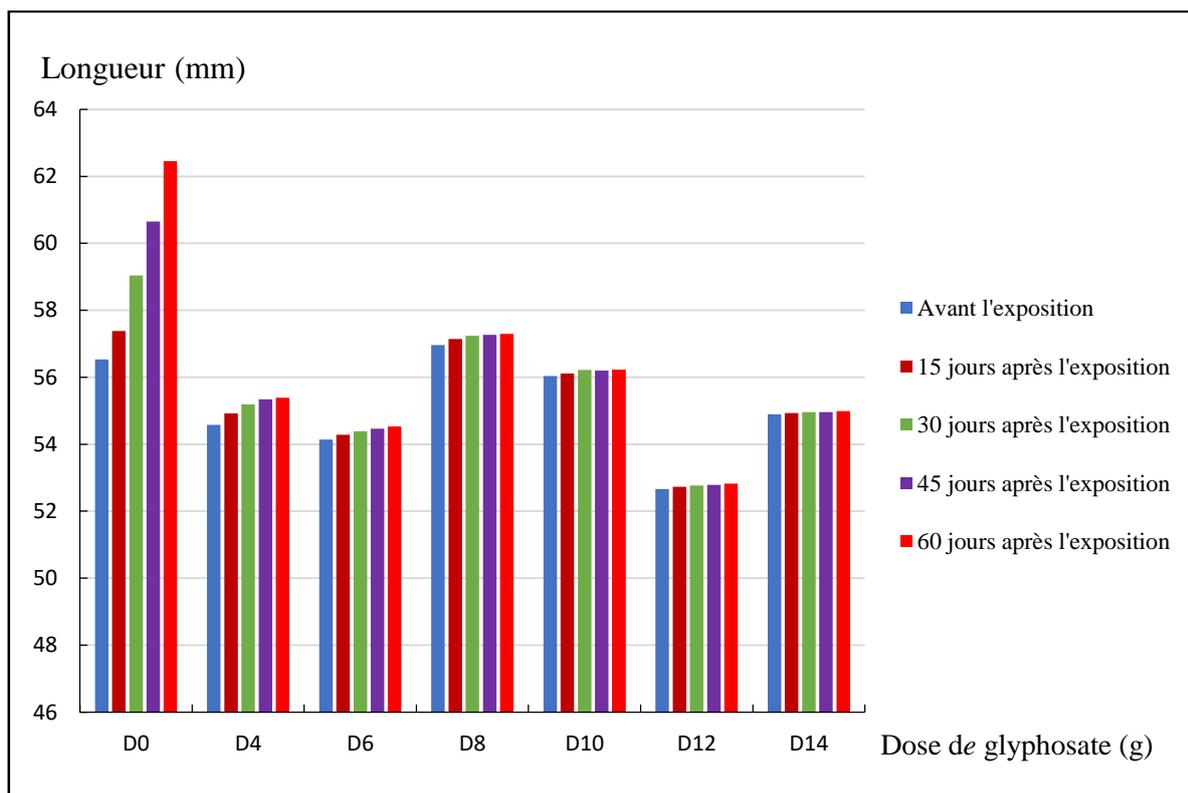


Figure 21 : Croissance coquillière de *Achatina achatina* en fonction de la dose d'exposition au glyphosate

Tableau V : Longueurs des coquilles de *Achatina achatina* soumise à différentes doses de glyphosate

Temps	D ₀	D ₄	D ₆	D ₈	D ₁₀	D ₁₂	D ₁₄
T ₀	56,52 ±4,04 ^b	54,58±1,30 ^a	54,15±4,40 ^a	56,96±1,52 ^a	56,03±4,47 ^a	52,66±2,1 ^a	54,81±0,86 ^a
T ₁₅	57,59±3,52 ^b	54,62±1,75 ^a	55,14±3,40 ^a	57,31±3,09 ^a	56,05±1,96 ^a	52,72±2,14 ^a	54,93±4,72 ^a
T ₃₀	58,50±3,52 ^b	54,87±1,75 ^a	55,14±1,1 ^a	57,40±1,40 ^a	56,09±1,08 ^a	52,77±2,07 ^a	54,96±5,17 ^a
T ₄₅	60,66±2,12 ^a	54,97±2,04 ^a	55,14±,25 ^a	57,46±1,17 ^a	56,21±1,66 ^a	52,78±0,86 ^a	54,96±6,08 ^a
T ₆₀	62,53±1,44 ^a	55,09±1,85 ^a	55,16±1,20 ^a	57,48±0,72 ^a	56,25±1,4 ^a	52,78±0,70 ^a	54,96±1,20 ^a
F	3,93	2,3	0,65	0,4	0,06	0,00	<0.01
P	<0.001	0,51	0,70	0,82	1	1	1

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$).

Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

Hautement significative : $p \leq 0,001$; très significative : $p \leq 0,01$; p : % de probabilité ; F : test de la Plus Petite Différence Significative ; D₀ : bac témoin, D₄ : dose de 4 g, D₆ : dose de 6g, D₈ : dose de 8g, D₁₀ : dose de 10, D₁₂ : dose de 12g, D₁₄ : dose de 14g.

3.1.1.4 Glyphosate et croissance pondérale de *Achatina achatina*

Le glyphosate impacte négativement la croissance pondérale de l'escargot *Achatina achatina* (Figure 22). L'analyse des histogrammes de croissance pondérale montre que la masse de tous les escargots soumis au glyphosate a diminuée au cours de l'exposition. Les escargots soumis aux doses D₄, D₆ et D₈ enregistrent une perte de masse moins importante que ceux soumis aux doses 10, 12 et 14 g/L. Ces derniers ont enregistré de fortes pertes de poids passant respectivement de 19,65 à 13,98 g, de 19,80 à 11,84 g et de 19,59 à 10 g. En outre, seuls les escargots témoins connaissent une augmentation remarquable de poids, passant de 19,49 à 27,88 g. Ainsi, le test Man-Whitney effectuée sur l'ensemble des données du poids vif des lots d'escargots regroupés selon différentes doses de glyphosate montre qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre le poids vif des témoins et celui des escargots exposés au glyphosate (Tableau VI). Cette perte de masse augmente aussi bien avec le temps d'exposition qu'avec dose d'exposition. En somme, hormis les escargots témoins (D₀), qui ont vu leur poids augmenté de 8,39 g à la fin de l'expérience, tous les escargots soumis aux doses D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄ ont subi une perte pondérale respective de 0,45g ; 2,86 g ; 4,01 g ; 5,67 g ; 7,96 g et 9,59 g.

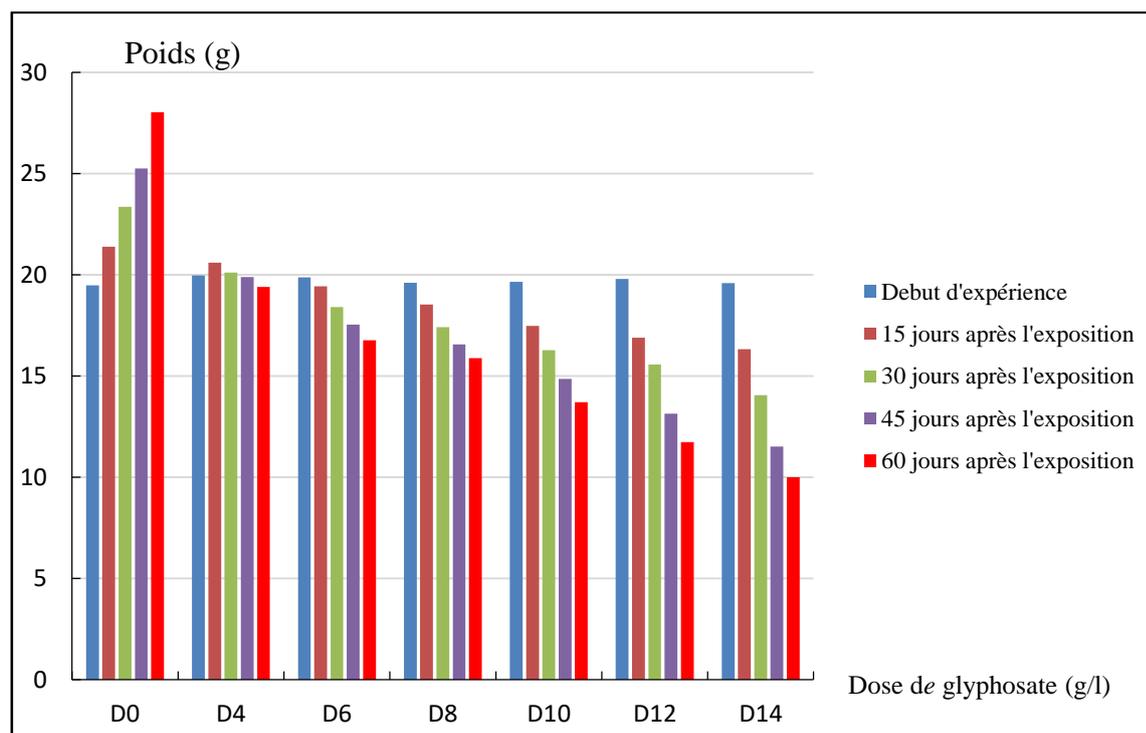


Figure 22 : Croissance pondérale de *Achatina achatina* en fonction de la dose d'exposition au glyphosate

Tableau VI : Poids vif de *Achatina achatina* soumise à différentes doses de glyphosate

Temps	D ₀	D ₄	D ₆	D ₈	D ₁₀	D ₁₂	D ₁₄
T ₀	19,49±0,80 ^d	19,83±4,09 ^a	19,88±4,33 ^a	19,62±5,25 ^a	19,65±4,47 ^a	19,80±6,77 ^a	19,59±5,76 ^a
T ₁₅	21,31±1,1 ^{cd}	20,65±1,39 ^a	19,45±2,64 ^a	18,5±1,7 ^{ab}	17,54±1,7 ^{ab}	16,9±2,75 ^b	16,33±2,62 ^b
T ₃₀	23,27±1,9 ^{bc}	20,05±1,3 ^a	18,22±2,62 ^b	17,06±2,06 ^{bc}	16,41±2,57 ^b	15,57±1,6 ^{bc}	14,05±2,17 ^c
T ₄₅	25,03±2,89 ^b	20,01±2,94 ^a	17,46±1,64 ^c	15,98±2,5 ^c	15,03±3,72 ^{bc}	13,35±2,57 ^{cd}	11,51±1,9 ^d
T ₆₀	27,88±4,01 ^a	19,44±3,8 ^a	17,02±2,32 ^c	15,61±2,31 ^c	13,98±3,35 ^c	11,84±2,08 ^d	10,00±1,72 ^d
F	52,31	0,53	4,22	7,3	11,18	16,04	31,94
P	<0,01	0,72	<0,01	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$).

Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

Hautelement significative : $p \leq 0,001$; très significative : $p \leq 0,01$; p : % de probabilité ; F : test de la Plus Petite Différence Significative ; D₀ : bac témoin, D₄ : dose de 4 g, D₆ : dose de 6g, D₈ : dose de 8g, D₁₀ : dose de 10, D₁₂ : dose de 12g, D₁₄ : dose de 14g.

3.1.1.5 Glyphosate et croissance coquillère de *Achatina fulica*

Le glyphosate a un effet négatif sur la croissance coquillière de *Achatina fulica*, en témoigne la figure 23. L'analyse temporelle de cette figure montre que le glyphosate a un effet inhibiteur sur la croissance coquillière de *Achatina fulica*. En effet, les escargots soumis aux différentes doses de glyphosate présentent tous des courbes de croissance stationnaire hors-mis la courbe témoin (D₀) qui se démarque des autres par une croissance positive. La comparaison des croissances par l'analyse de variance montre qu'il y a une différence statistique entre la

croissance des escargots témoins (D0) et celles des escargots soumis au glyphosate. Le test de Man-Whitney effectuée sur l'ensemble des données des longueurs des lots d'escargots regroupés selon différentes doses de glyphosate montre qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre le poids vif des témoins et celui des escargots exposés au glyphosate (Tableau VIII).

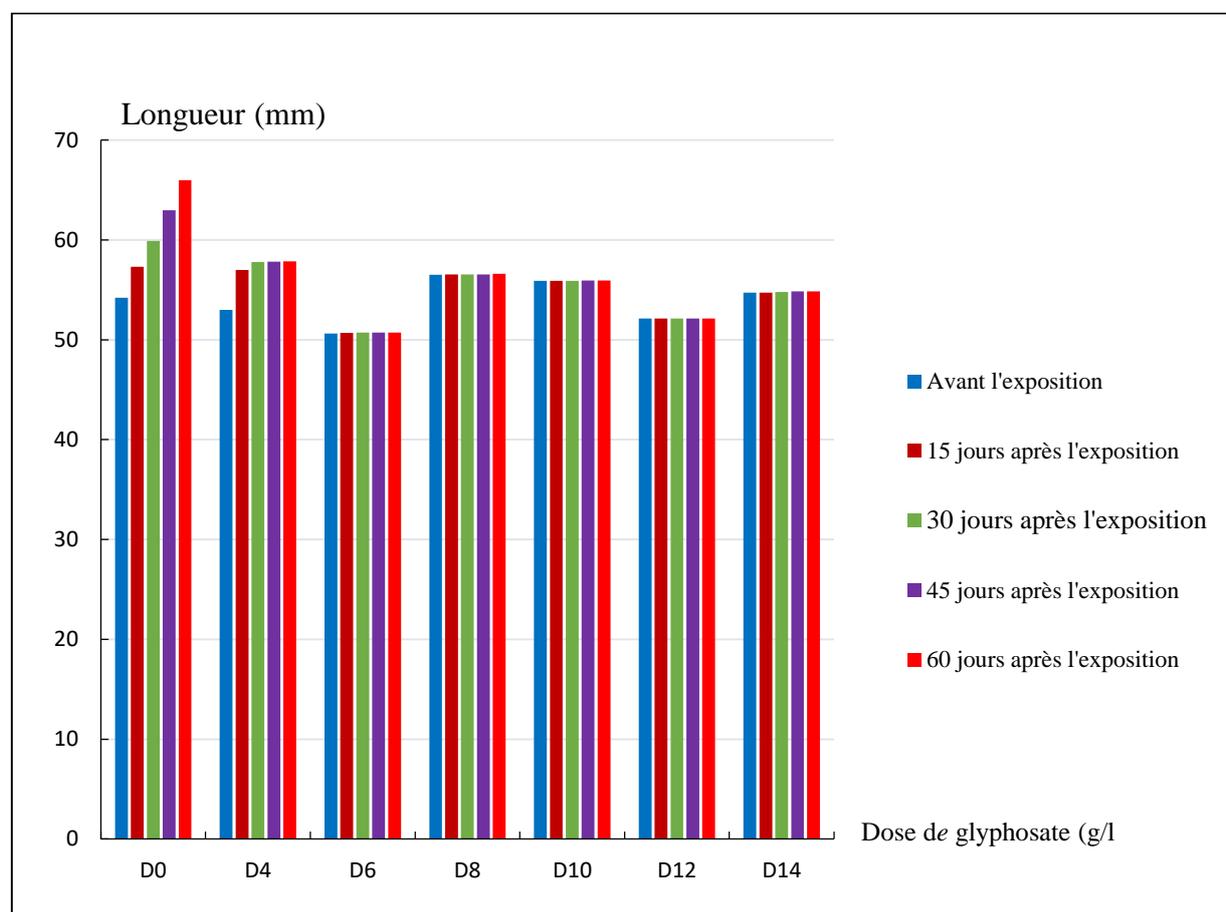


Figure 23 : Croissance coquillère du poids moyen des escargots *Achatina fulica* sous l'effet du glyphosate en fonction du temps

Tableau VII : Longueur coquillère de *Achatina fulica* soumises à différentes doses de glyphosate

TIME	D ₀	D ₄	D ₆	D ₈	D ₁₀	D ₁₂	D ₁₄
T ₀	54,2±3 ^a	53±1,86 ^a	50,64±2,97 ^a	56,50±1,94 ^a	55,9±3,16 ^a	52,12±1,87 ^a	54,72±1,95 ^a
T ₁₅	57,57±3,52 ^b	56,98±1,46 ^b	50,69±2,06 ^a	56,56±3,3 ^a	55,92±1,83 ^a	52,13±1,3 ^a	54,72±4,2 ^a
T ₃₀	59,01±2,46 ^b	57,8±1,39 ^b	50,72±2,8 ^a	56,58±1,53 ^a	55,92±1,05 ^a	52,13±1,87 ^a	54,72±4,95 ^a
T ₄₅	62,78±2,35 ^c	57,83±2,3 ^b	50,73±1,28 ^a	56,63±1,54 ^a	55,93±1,61 ^a	52,13±1,06 ^a	54,72±4,59 ^a
T ₆₀	66,34±2,28 ^d	57,85±2,1 ^b	50,74±1,57 ^a	56,65±1,22 ^a	55,93±1,42 ^a	52,13±1,28 ^a	54,72±1,46 ^a

F	77,87	38,5	0,34	0,47	0,11	0,1	0,00
P	<0,01	<0,01	0,85	0,76	0,98	1	1

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$).
 Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.
 Hautement significative : $p \leq 0,001$; très significative : $p \leq 0,01$; p : de probabilité ; F : test de la Plus Petite Différence Significative ; D₀ : bac témoin, D₄ : dose de 4 g, D₆ : dose de 6g, D₈ : dose de 8g, D₁₀ : dose de 10, D₁₂ : dose de 12g, D₁₄ : dose de 14g.

3.1.1.6 Glyphosate et croissance pondérale de *Achatina fulica*

Le glyphosate inhibe la croissance pondérale des escargots *Achatina fulica*. En effet, les escargots témoins (D₀) connaissent une croissance régulière normale pendant les huit semaines d'expérience passant de 20,6 g à 28,89 g soit 8,28 g de plus. Cependant, ceux soumis à une alimentation infestée à différentes doses de glyphosate connaissent une régression en fonction de la dose (Figure 24). Les animaux soumis aux doses D₄, D₆ et D₈ subissent une légère perte de poids. Les courbes D₄, D₆ et D₈ présentent la même allure, elles sont stationnaires avec une légère perte de poids pour les escargots soumis au D₈. En revanche, ceux des escargots soumis aux laitues infestées aux doses D₁₀, D₁₂ et D₁₄, subissent une régression importante de poids vif passant respectivement de 20,1 à 15,98 ; de 20,56 à 14,13 et de 20,09 à 12,05. La perte de poids semble être fonction de la dose de glyphosate. Ainsi, à la fin de l'expérimentation, la perte de poids est de l'ordre de 0,2g ; 0,67g ; 1,65g ; 4,12g ; 6,43g et 8,04 g respectivement pour les doses D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄. Le test Man-Whitney effectuée sur l'ensemble des données du poids vif des lots d'escargots regroupés selon différentes doses de glyphosate montre qu'il existe une différence significative ($p < 0,05$) entre le poids vif des témoins et celui des escargots exposés au glyphosate (Tableau VII).

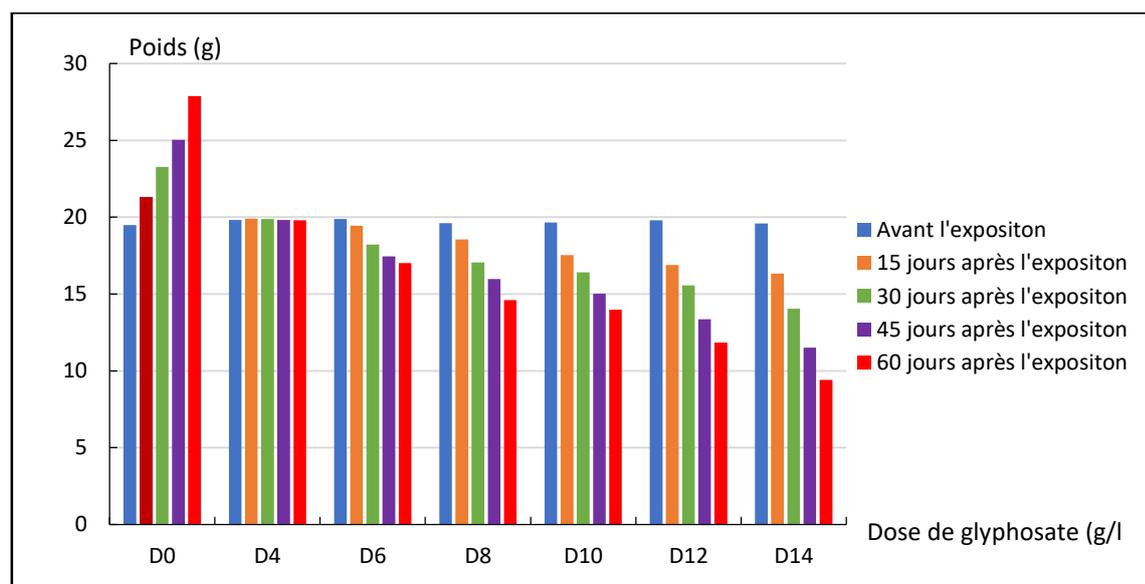


Figure 24 : Effet du glyphosate sur le poids moyen des escargots *Achatina fulica* exposés au glyphosate en fonction du temps

Tableau VIII : Poids vif de *Achatina fulica* soumis à différentes doses de glyphosate

TIME	D ₀	D ₄	D ₆	D ₈	D ₁₀	D ₁₂	D ₁₄
T ₀	20,6±1,01 ^a	19,88±4,33 ^a	20,11±15 ^a	20,3±4,05 ^c	20,1±3,82 ^{cd}	20,56±1,39 ^c	20,09±4,18 ^{de}
T ₁₅	22,69±0,82 ^b	19,96±1,65 ^a	20,21±1,2 ^a	20,12±1,43 ^c	19,75±1,46 ^{bc}	19,12±1,1 ^c	18,36±1 ^{de}
T ₃₀	24,85±2,2 ^c	19,98±2,79 ^a	20,26±1,06 ^a	19,52±0,57 ^{abc}	18,81±2,6 ^b	17,78±2,07 ^b	16,26±2,11 ^c
T ₄₅	26,97±1,25 ^d	19,92±2,43 ^a	19,95±2,2 ^a	19,01±2,67 ^{abc}	17,2±3,04 ^b	16,12±2,56 ^b	14,21±2,33 ^b
T ₆₀	28,89±3,12 ^e	19,86±3,43 ^a	19,44±0,8 ^a	18,65±0,93 ^a	15,98±0,8 ^a	14,13± ^a	12,05±1,18 ^a
F	81,74	0,14	0,82	1,27	11,48	46,78	37,6
P	<0.01	0,97	0,52	0,29	<0.01	<0.01	<0.01

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$).

Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

Hautement significative : $p \leq 0,001$; très significative : $p \leq 0,01$; p : % de probabilité ; F : test de la Plus Petite Différence Significative ; D₀ : bac témoin, D₄ : dose de 4 g, D₆ : dose de 6g, D₈ : dose de 8g, D₁₀ : dose de 10, D₁₂ : dose de 12g, D₁₄ : dose de 14g.

3.1.1.7 Effets comparés du glyphosate sur la croissance coquillère des escargots *A. achatina* et *A. fulica*

La croissance coquillère des escargots *Achatina achatina* et *Achatina fulica* non exposés au glyphosate montre des similitudes entre les deux espèces d'escargot au cours des huit (8) semaines d'expérience (Figure 25). Dans le milieu témoin, la croissance de *Achatina achatina* et *Achatina fulica* est sensiblement identique avec une légère avance de *Achatina fulica* jusqu'à la fin de l'expérimentation. Ainsi, la taille des escargots *Achatina achatina* a augmenté de 6,1 mm contre 9,3 mm chez *Achatina fulica*. Aux concentrations D₄, D₆, D₈, une légère croissance coquillère des deux espèces d'escargots a été enregistrée entre T₀ et T₁₅. Après 15 jours d'expérimentation, la croissance coquillère est restée stationnaire jusqu'à la fin de l'expérience. Le glyphosate a donc un effet inhibiteur sur la croissance coquillère de *Achatina achatina* et *Achatina fulica*. En revanche, les doses D₁₀, D₁₂, D₁₄ semblent plus toxiques. En effet, les diagrammes traduisant la croissance coquillère des deux escargots (*Achatina achatina* et *Achatina fulica*) sont restés stationnaires du début à la fin de l'expérimentation exprimant ainsi une absence quasi-totale de croissance coquillères.

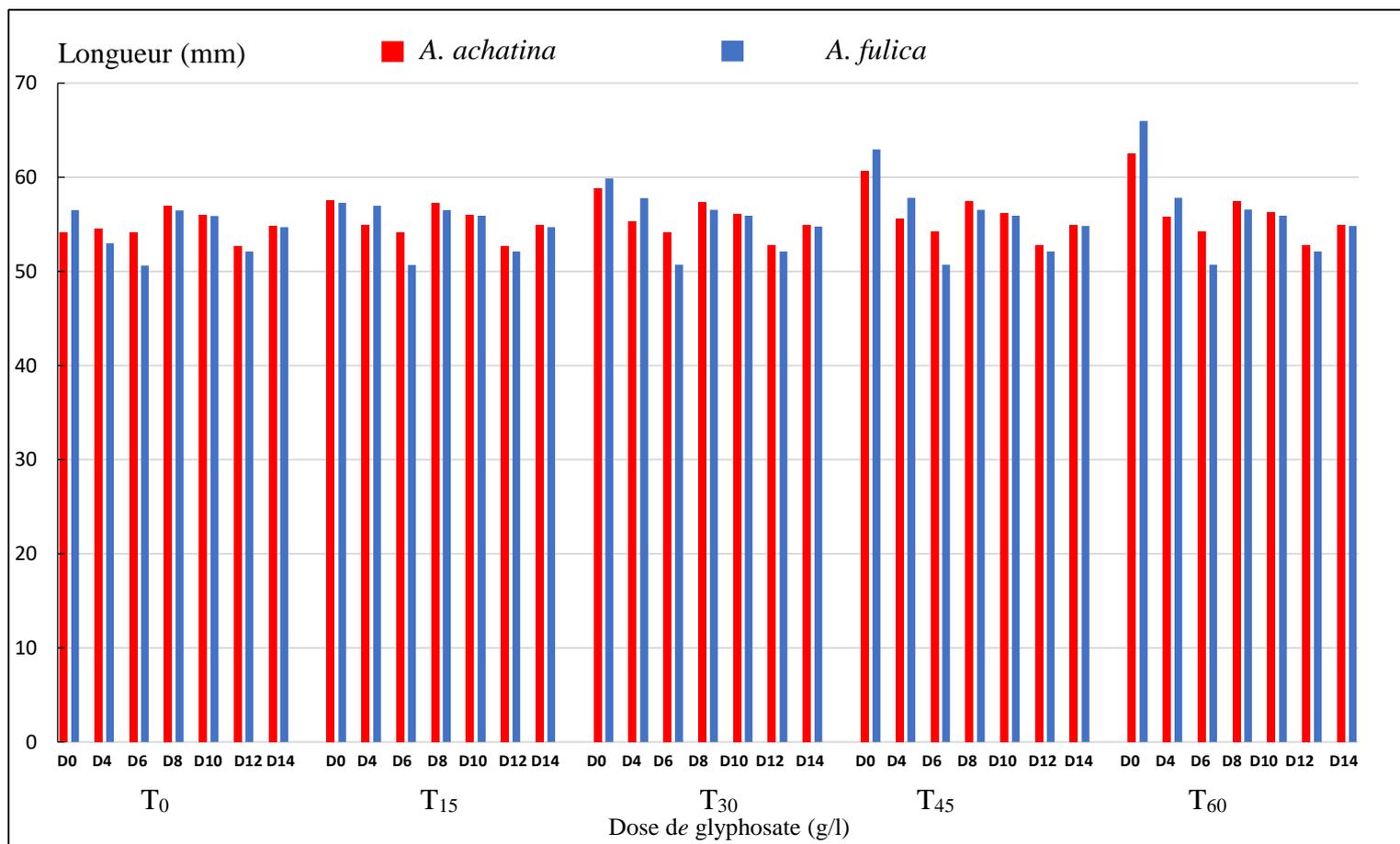


Figure 25 : Comparaison de la croissance coquillère de *A. achatina* et *A. fulica* sous l'effet du glyphosate

3.1.1.8 Effets comparés du glyphosate sur la croissance pondérale des escargots *A. achatina* et *A. fulica*

La croissance pondérale des escargots témoins *Achatina achatina* et *Achatina fulica* montre des similarités entre les deux espèces d'escargots au cours des soixante jours d'exposition (Figure 26). Mais les escargots exposés au glyphosate à différentes doses de dilution, révèlent une grande différence à l'issue de l'expérience. Dans le milieu témoin (escargots non exposés au glyphosate), les croissances pondérales des deux espèces d'escargots sont très remarquables pour les deux espèces au cours de l'expérience. Toutefois, *A. fulica* connaît une croissance plus rapide au cours des quarante-cinq premiers jours d'expérience.

Aux doses D₄, *A. achatina*, subit d'abord une légère hausse de la date T₀ à T₃₀ par rapport à *A. fulica* avant de chuter de T₃₀ à T₆₀. Aux concentrations D₆ et D₈ de glyphosate, aucun gain de poids n'est observé, il a même été observé une légère perte de poids du début à la fin de

l'expérience. Sur la base de ces doses de glyphosate, *Achatina achatina* est plus sensible au glyphosate en témoigne une perte de poids plus accrue.

Aux concentrations D₁₀, D₁₂ et D₁₄, les croissances pondérales des deux espèces d'escargots semblent régulièrement négatives. Toutefois, les diagrammes traduisent une perte de poids plus prononcée chez l'espèce *Achatina achatina* que chez *Achatina fulica*.

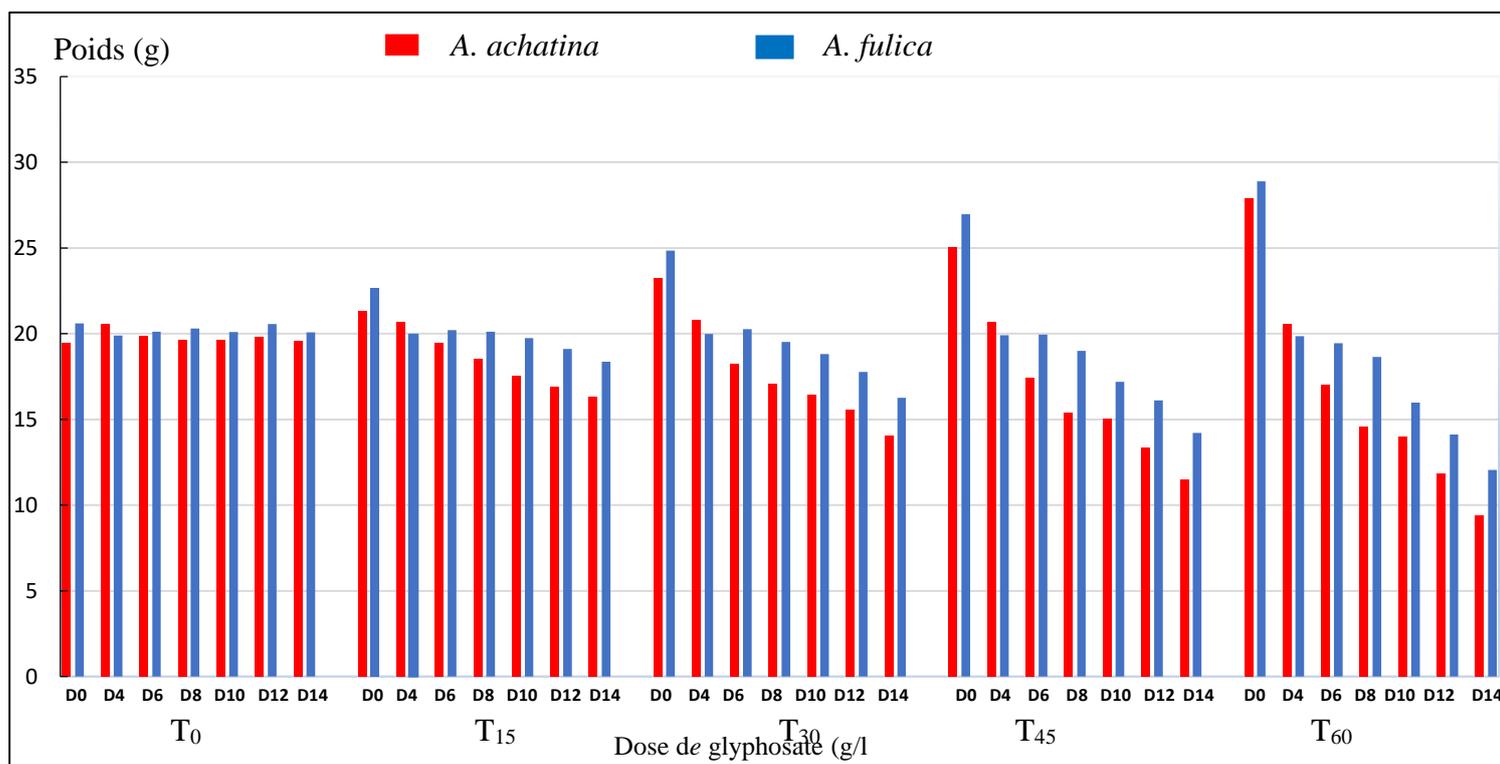


Figure 26 : Comparaison de la croissance pondérale de *A. achatina* et *A. fulica* sous l'effet du glyphosate

3.1.2 Evaluation des polluants dans les escargots de la région de la Nawa

3.1.2.1 Escargots consommés par les populations de la Nawa

Trois espèces d'escargots à savoir *Achatina achatina*, *Achatina fulica* et *Archachatina ventricosa* sont consommées par les populations de la Nawa. Les espèces *Achatina achatina* et *Archachatina ventricosa* sont les plus prisées par les populations des trois départements de cette région. En effet, toutes les personnes interrogées consomment les deux espèces (Figure 27). En revanche, *Achatina fulica* est certes consommée dans les trois départements, mais elle n'est pas consommée par toutes les personnes. Les consommateurs de cette espèce représentent 47,91 % de la population interrogée. Selon les résultats d'enquête la consommation des escargots *Achatina achatina* et *Archachatina ventricosa* n'est ni fonction des départements ni de l'âge

des individus interrogés. En effet, 100% des personnes des trois départements raffolent ces deux espèces.

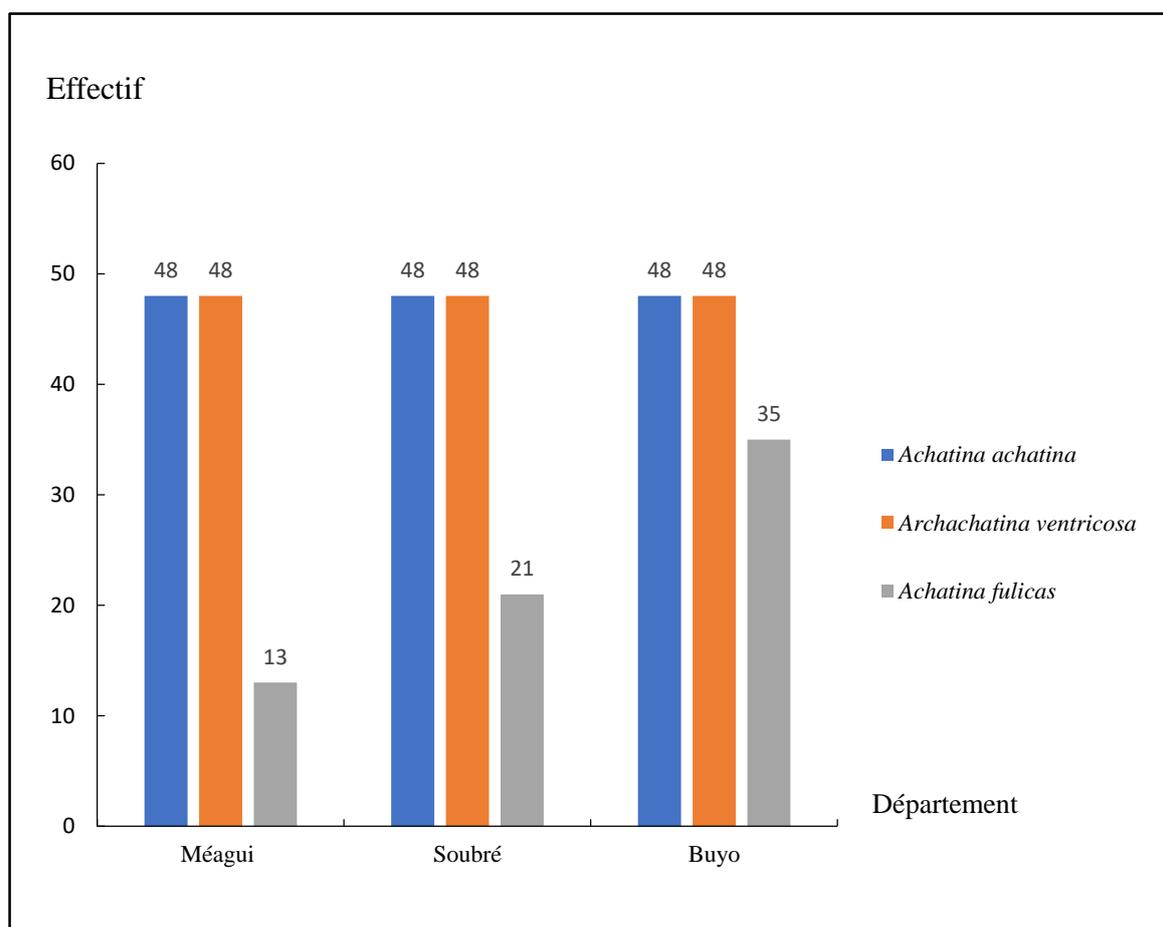


Figure 27 : Espèces d’escargots prisées par les populations interrogées

En ce qui concerne les différents organes des gastéropodes terrestres consommées, toutes les personnes interrogées ne consomment que la chair. Les viscères ne sont pas du tout consommés mais sont rejetés comme des déchets.

Quant à l’espèce *Achatina fulica* sa consommation est liée à l’âge ([5-17 ans], [18-34 ans] ; ≥ 35 ans) et est fonction des départements. Elle est plus appréciée chez les enfants et les jeunes (Figure 28). En effet, 100% soit seize (16) enfants du département de Buyo interrogés en consomment, suivi des enfants des départements de Soubré et Meagui avec respectivement 62,5% (10/16) et 43,75% de taux de consommation. Il est à noter que les jeunes des trois départements de Méagui, Buyo, et Soubré consomment l’escargot *Achatina fulica* avec des proportions respectives de 25% (4/16) ; 50% (8/16) et 68,75% (11/16). Contrairement aux enfants et aux jeunes, les adultes accordent moins d’intérêt gastronomique à cette espèce. Un

faible taux de consommation soit 6,25% (1/16), 18,75% (3/16) et 43,75% (7/16), a été enregistré chez les adultes respectivement à Méagui, Soubré et Buyo.

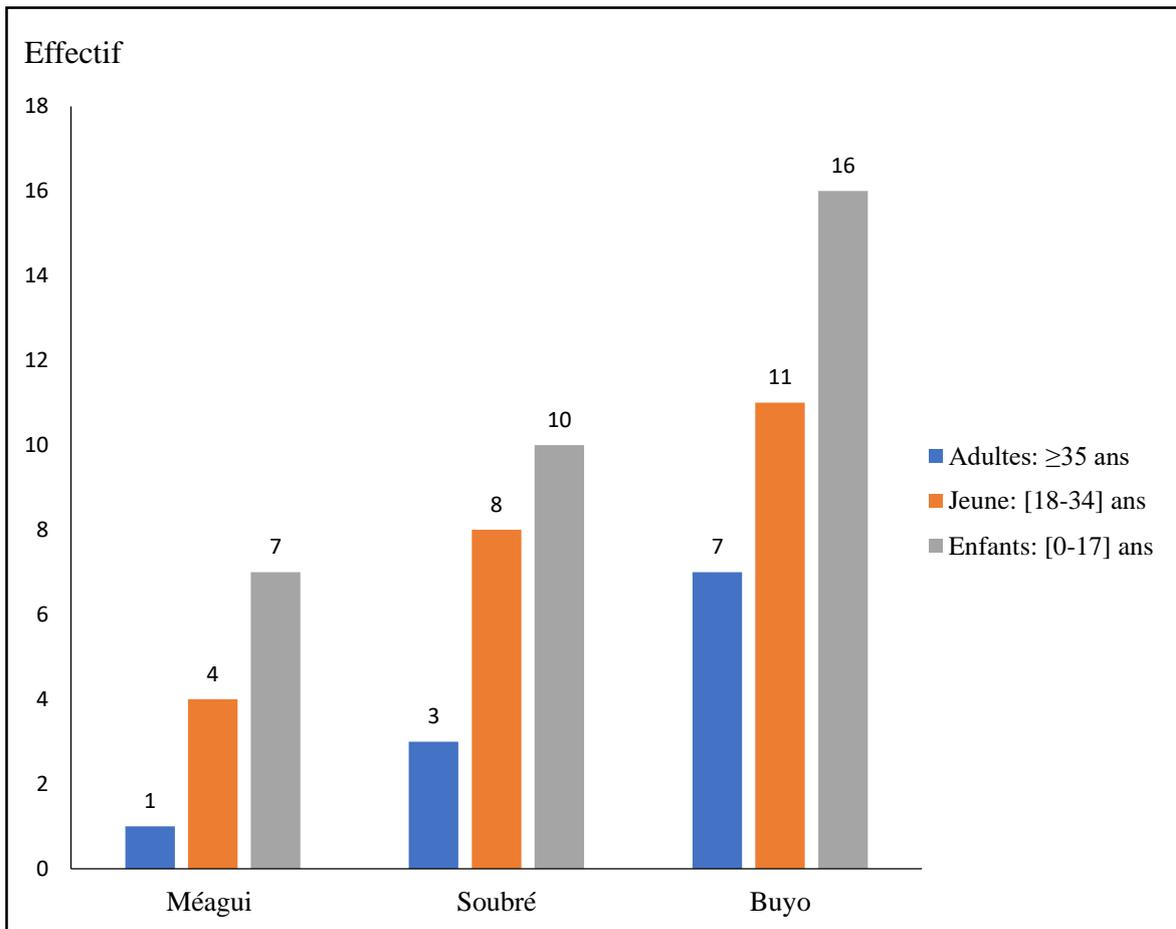


Figure 28 : Effectif des personnes consommant *A. fulica* en fonction de l'âge

3.1.2.2 Herbicides (substance active) utilisés dans la zone d'étude

Huit (8) variantes d'herbicides sous deux formulations (solide et liquide) ayant pour substance active le glyphosate ont été répertoriées comme herbicides utilisés par les paysans de la zone d'étude. Les noms commerciaux de ces herbicides sont : Glyphomax, Glyphader, Bombara, Ladaba, Tasman, Bibanan, Tête rouge et la machette. Ces herbicides sont d'avantage utilisés dans l'ordre de 32% (ladaba), 17% (glyphader), 13% (tasouman), 11% (tête rouge), 10% (bombara), 8% (la machette), 7% (bibana) et de 2% glyphomax (Figure 29). Ladaba est l'herbicide, le plus utilisé dans cette localité.

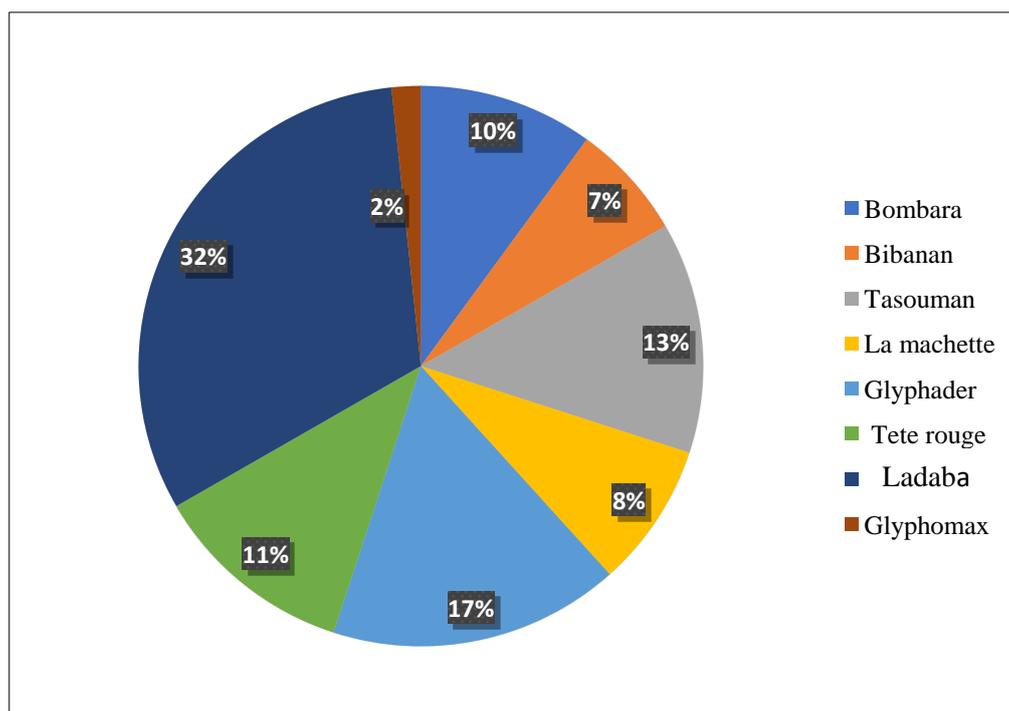


Figure 29 : Proportion des herbicides utilisés

3.1.2.3 Teneurs en polluants dans les échantillons de sol

Lors de l'échantillonnage des escargots, des échantillons de sol ont été prélevés sur les six (06) sites d'échantillonnage. Les résultats (tableau IX) des analyses des six (06) échantillons de sols révèlent que le zinc est l'élément trace métallique dont la teneur est la plus élevée. Il est suivi par le plomb. L'élément métallique qui enregistre la plus faible teneur dans les échantillons des sols analysés est celui du cadmium dont les valeurs sont inférieures à 0,001 mg/kg. En outre, de tous les polluants chimiques analysés seul la substance active (glyphosate) enregistre la teneur la plus élevée dans tous les échantillons de sols. Cependant, les valeurs les plus fortes en glyphosate ont été enregistrées à Gnititouagui (2,84 mg/kg) et à Mayakoffikro (1,82 mg/kg). Le classement des polluants dans les échantillons de sol suit l'ordre suivant Gnititoigui>Mayakoffikro>YabayoRaphaelkro>Noukpoudou>Allakabo>.

Tableau IX : Teneur des polluants dans les échantillons des sols

Localités	Paramètres en mg/kg				
	Zinc	Cuivre	Cadmium	Plomb	Glyphosate
Mayakoffikro	0,0253	0,0017	<0,001	0,0123	1,82
Noukpoudou	0,0219	0,0023	<0,001	0,01145	0,180
Alakabo	0,0481	0,0164	<0,001	0,0226	0,113
Yabayo	0,0524	0,0175	<0,001	0,0193	0,501
Raphaëlkro	0,0502	0,0231	<0,001	0,0098	0,175
Gnititouagui	0,0431	0,0189	<0,001	0,0186	2,84

3.1.2.4 Teneur de polluants dans les différentes parties des escargots

Les polluants sont présents dans la chair, les viscères et la coquille de *A. achatina* ramassées dans la région de la Nawa (Figure 30, 31, 32, 33 et 34). La teneur en plomb varie entre $0,27 \pm 0,02$ mg/kg (céphalopode) et $0,64 \pm 0,27$ mg/kg (coquille). La concentration en plomb dans la coquille ($0,64 \pm 0,27$ mg/kg) de l'escargot est largement supérieure à celles trouvées dans la chair ($0,27 \pm 0,02$ mg/kg) et dans les viscères ($0,31 \pm 0,3$ mg/kg). Le test de Man-wihtney montre une différence en concentration entre la coquille et les viscères puis entre la coquille et le céphalopode. La concentration de cadmium dans les différentes parties de l'escargot varie entre $0,10 \pm 0,07$ mg/kg obtenue dans la coquille et $0,14 \pm 0,07$ mg/kg enregistrée dans les viscères. La valeur moyenne obtenue dans la chair est $0,13 \pm 0,06$ mg/kg. Les viscères et la chair semblent accumuler plus de cadmium que la coquille de l'escargot. Toutefois, le test de Kruskal Wallis ne révèle aucune différence significative de concentrations en cadmium entre les trois parties. Au niveau du zinc, la teneur est de $0,73$ mg/kg, $1,06$ mg/kg et $1,16$ mg/kg respectivement dans le céphalopode, les viscères et la coquille. Le test de Kruskal Wallis révèle une différence de concentration en zinc entre les trois (3) parties de l'escargot. Relativement au cuivre, la concentration mesurée dans les différentes parties de l'escargot varie entre $0,19 \pm 0,18$ mg/kg dans la chair et $0,45 \pm 0,33$ mg/kg dans la coquille. La teneur en cuivre dans la coquille de l'escargot *Achatina achatina* est plus élevée que celle obtenue dans la chair et les viscères. Toutefois, le test de Kruskal Wallis ne révèle aucune différence significative de concentration en cuivre entre les trois parties. Quant au glyphosate, la valeur enregistrée varie entre $0,07 \pm 0,03$ mg/kg dans la coquille et $1,03 \pm 0,1$ mg/kg dans le céphalopode. Il ressort que le glyphosate s'accumule plus dans la chair et les viscères que dans la coquille. L'analyse statistique révèle une différence significative entre la teneur en glyphosate dans la coquille et celles du céphalopode et des viscères.

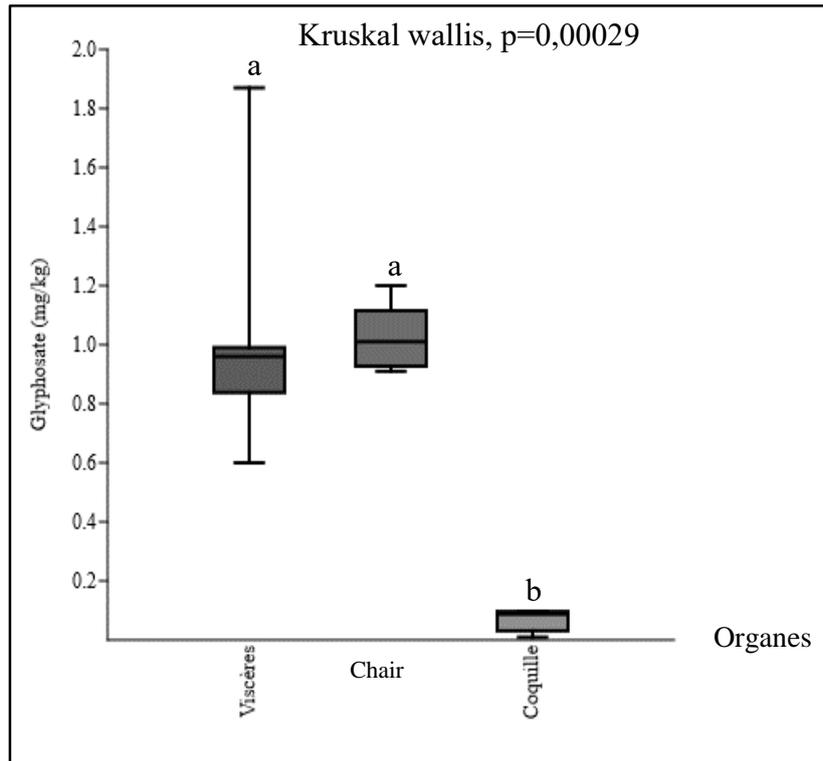


Figure 30 : Concentration du glyphosate dans les différentes parties de l'escargot *A. achatina*

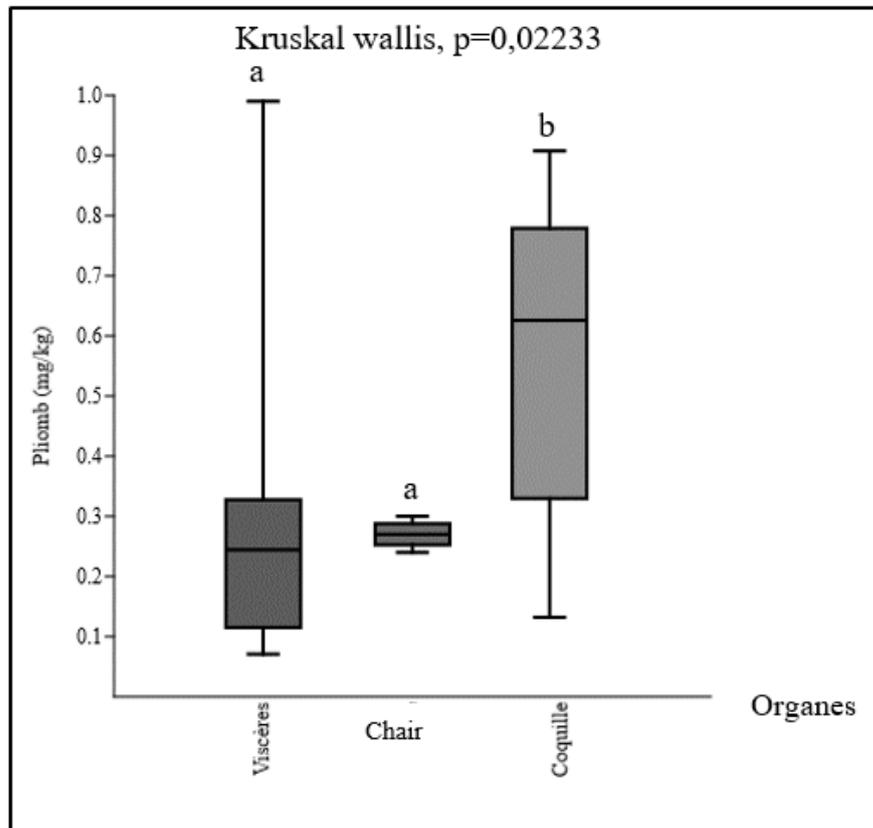


Figure 31 : Concentration de plomb dans les différents organes de l'escargot *A. achatina*.

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p>0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issu du classement des doses.

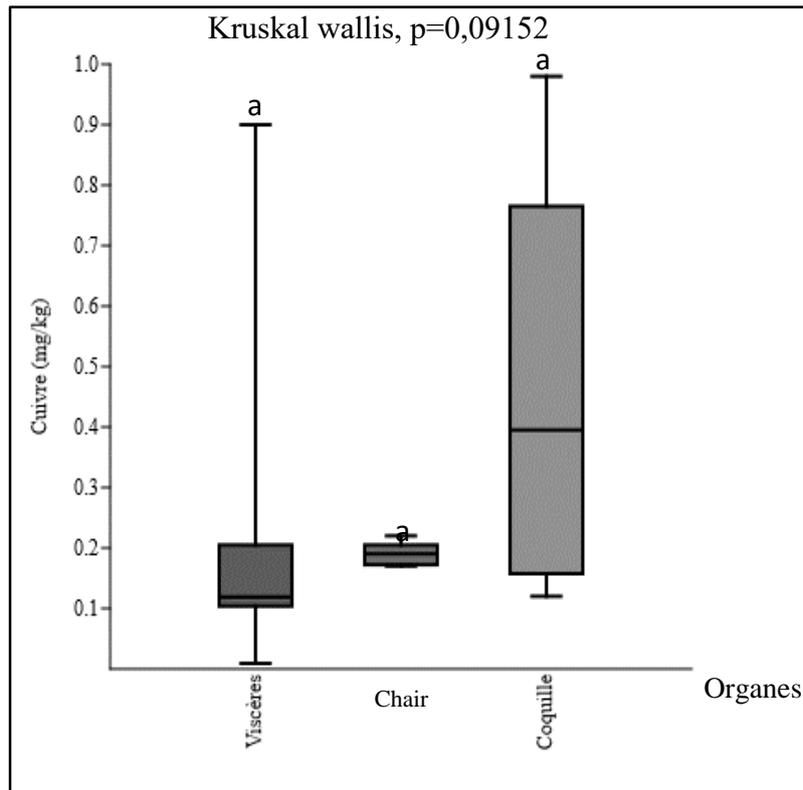


Figure 32 : Concentration de cuivre dans les différentes organes de l'escargot *A. achatina*.

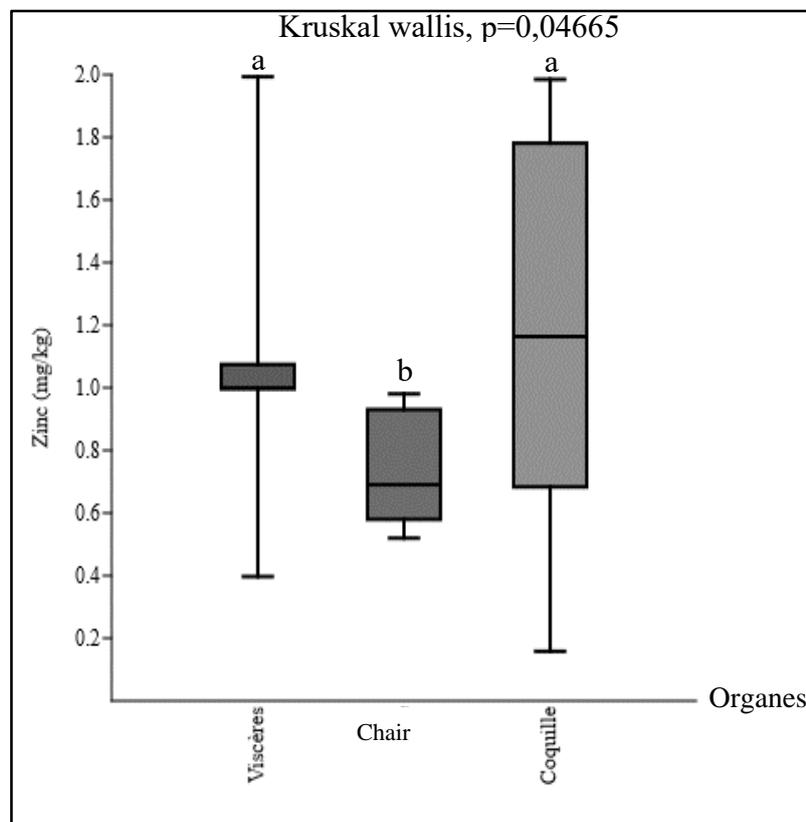


Figure 33 : Concentration de zinc dans les différentes organes de l'escargot *A. achatina*

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p>0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

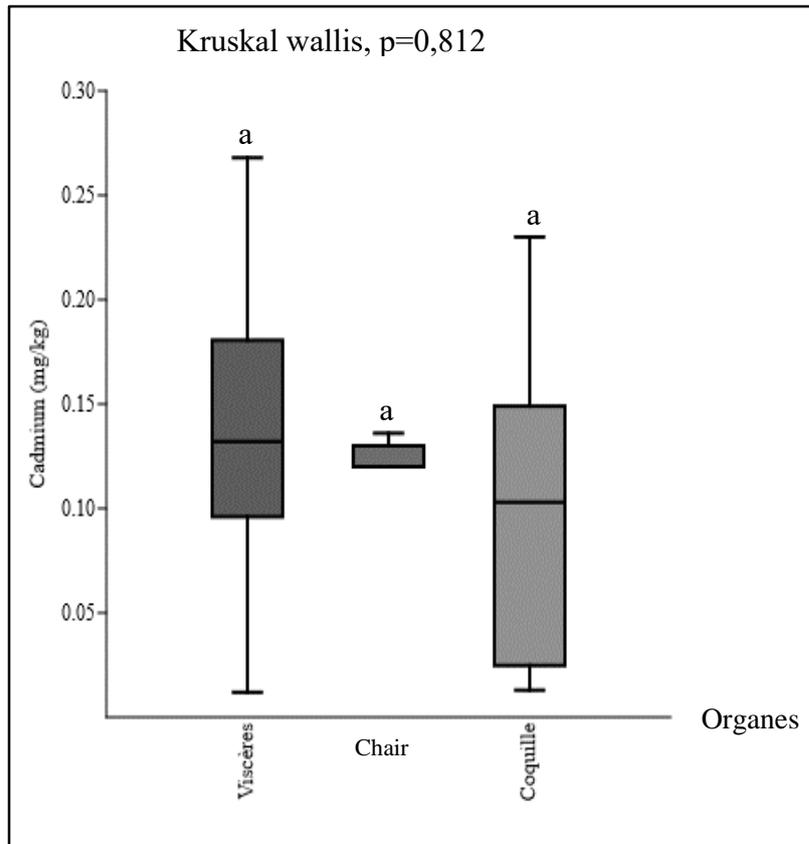


Figure 34 : Concentration de cadmium dans les différentes organes de l'escargot *A. achatina*.

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

3.1.2.5 Teneurs des polluants dans la chair des escargots des différentes localités

Les résultats du dosage de la chair de *Achatina achatina* des différentes localités sont représentés par les figures 35, 36, 37, 38 et 39. La teneur de plomb varie entre 0,0007 mg/kg (Mayakoffikro) et 0,27 mg/kg (Allakabo). La localité de Allakabo enregistre la plus forte teneur de plomb dans la chair de l'escargot *A. achatina*. Par ailleurs, la plus faible teneur est enregistrée dans la localité de Mayakoffikro. Le test de Krustal Wallis montre qu'il y a une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre les teneurs de plomb des différentes localités des départements. Les concentrations de cuivre dans la chair oscillent entre $0,0011 \pm 0,00$ mg/kg (Mayakoffikro) et $0,19 \pm 0,02$ mg/kg (Allakabo). La teneur de cuivre dans la chair de l'escargot le plus élevé est obtenu à Allakabo. Mayakoffikro enregistre la plus faible teneur de cuivre. Le test de Krustal Wallis, révèle une différence hautement significative ($p < 0,001$) de concentration en cuivre entre les localités des trois départements. La concentration de cadmium dans la chair de l'escargot *Achatina achatina* varie de $0,001 \pm 0,00$ mg/kg (Mayakoffikro) à $0,127 \pm 0,011$ mg/kg (Allakabo). La teneur de cadmium dans la chair est élevée dans la localité de Allakabo

(0,127 mg/kg) que dans le reste des zones échantillonnées. L'analyse statistique montre qu'il y a une différence hautement significative ($p < 0,001$) de cadmium dans la chair entre les différentes localités. La concentration de zinc dans la chair de l'escargot varie entre 0,002 mg/kg (Nonkpoudou) et 0,135 mg/kg (Allakabo). La teneur de zinc dans la chair de l'escargot *Achatina achatina* est plus élevée dans la localité de Allakabo que ceux des cinq autres localités. Le test one-way ANOVA montre qu'il y a une différence hautement significative ($p < 0,001$) en zinc dans les différentes localités.

La concentration du glyphosate dans la chair de l'escargot *Achatina achatina* varie entre 0,73 mg/kg (Yabayo) et 1,03 mg/kg (Allakabo). L'analyse des polluants a montré une forte présence de glyphosate dans toutes les localités échantillonnées. Les céphalopodes des escargots échantillonnés dans la localité de Allakabo enregistrent la teneur de glyphosate la plus élevée soit 1,03 mg/kg. La plus faible teneur est obtenue dans la localité de Yabayo (0,73 mg/kg). Le test de Kruskal Wallis révèle une différence hautement significative ($p < 0,001$) de concentration en glyphosate entre les localités des trois départements.

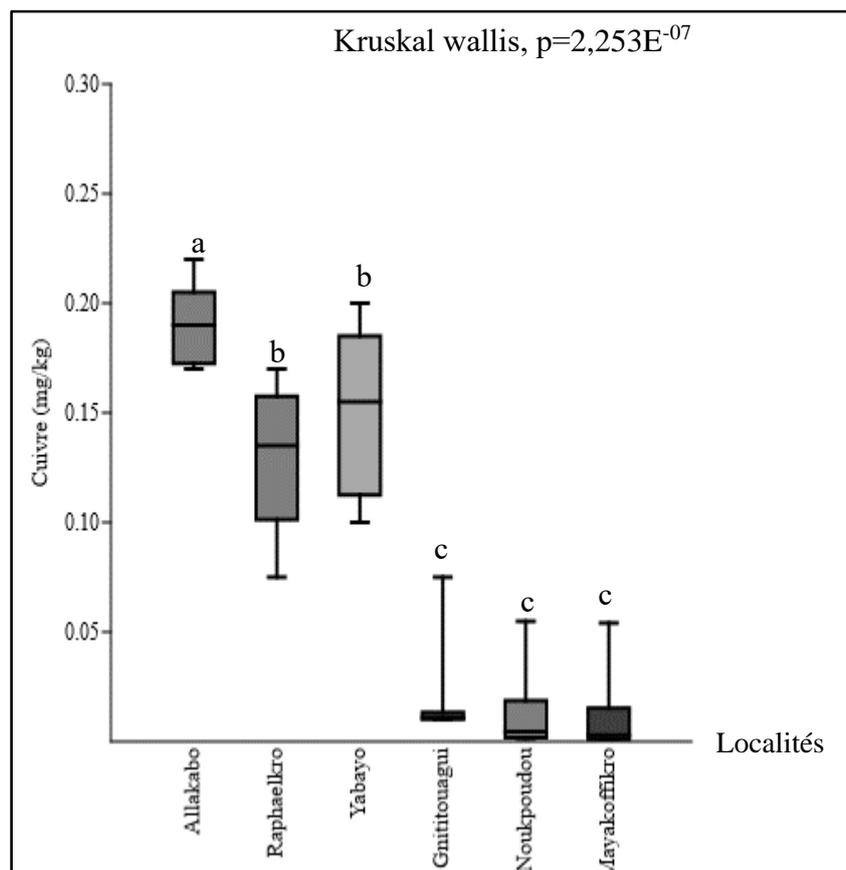


Figure 35 : Taux de cuivre dans la chair des escargots *A. achatina* échantillonnées

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

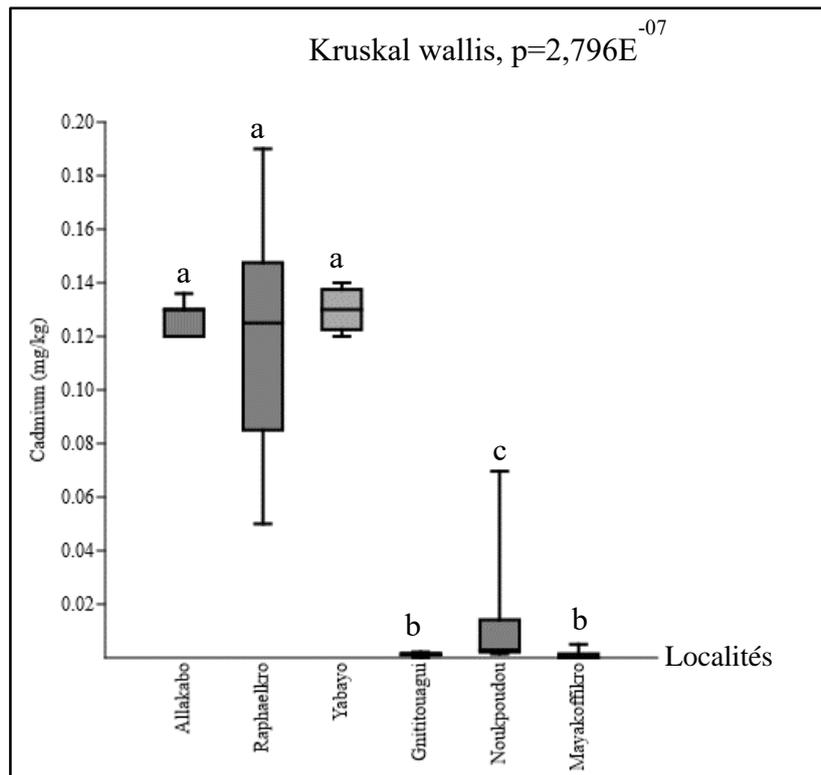


Figure 36 : Taux de cadmium dans la chair des escargots *A. achatina* échantillonnées

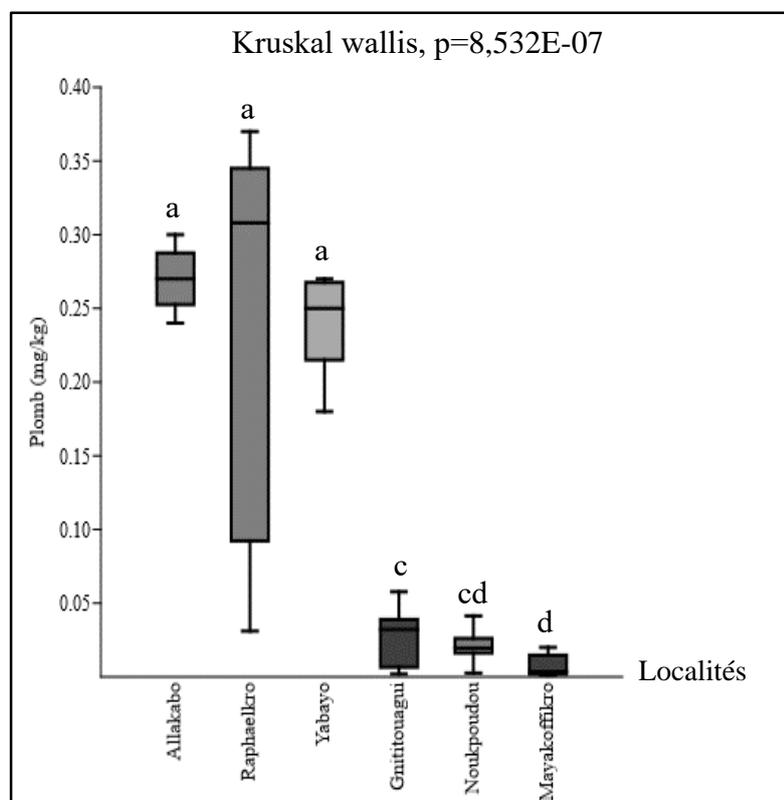


Figure 37 : Taux de plomb dans la chair des escargots *A. achatina* échantillonnées

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p>0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

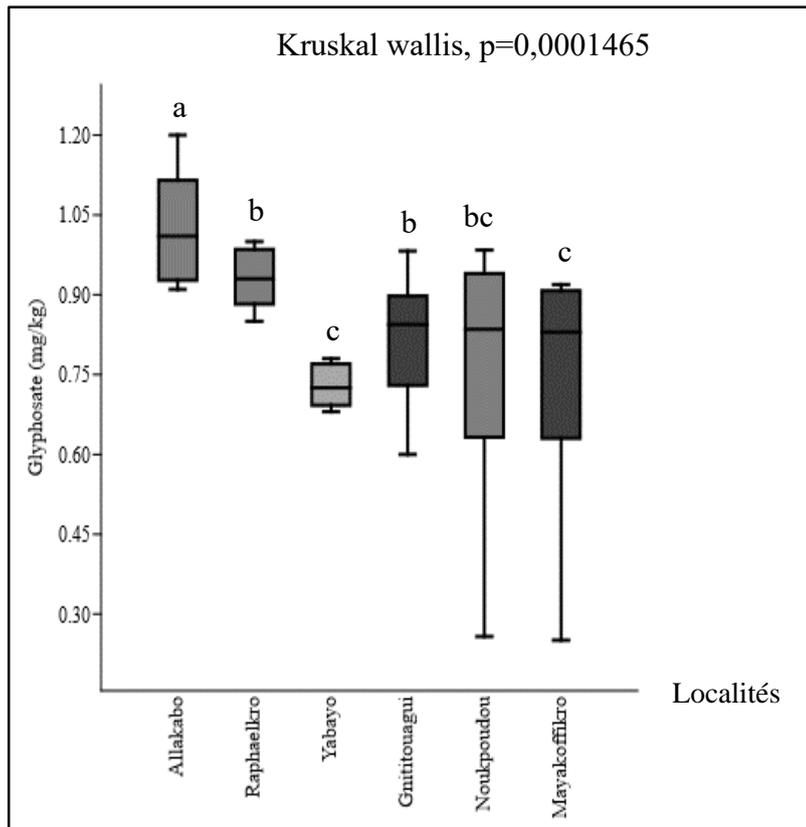


Figure 38 : Taux de glyphosate dans la chair des escargots *A. achatina* échantillonnées

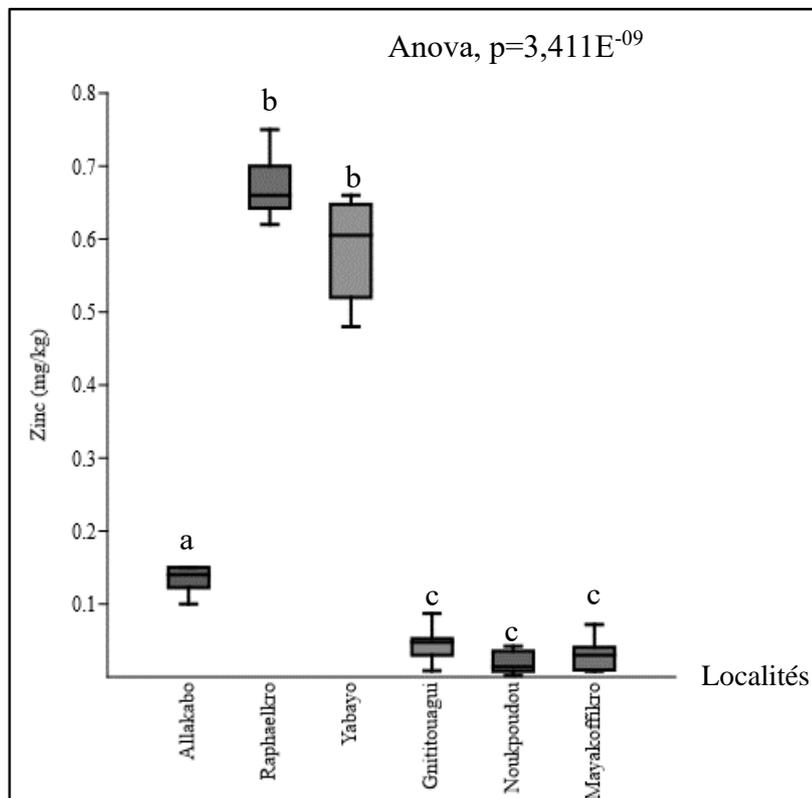


Figure 39 : Taux de zinc dans la chair des escargots *A. achatina* échantillonnées

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p>0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

3.1.2.6 Concentrations des polluants dans la chair en fonction de la masse

L'analyse des teneurs des polluants dans la chair des escargots suivant un gradient de masse ne semble pas être lié à la masse des animaux (Figure 40, 41, 42, 43 et 44). De façon générale, les escargots de moins de 60g et ceux de plus de 200g ont quasiment les mêmes teneurs d'accumulation des polluants. Selon les résultats du test de Kruskal wallis, les concentrations du plomb et du glyphosate dans ces escargots sont sensiblement les mêmes. Ensuite, les escargots ayant un poids $P < 60g$ et $P > 200g$ ont les mêmes teneurs en cadmium (0,0011 mg/kg) et en cuivre (0,023) mg/kg. Cependant, les escargots aux poids $P > 200g$ semblent accumuler plus de plomb dans leur organisme par rapport à ceux ayant un poids $P < 60g$. Quant aux escargots ayant un poids compris entre 60 et 150g, ils accumulent moins de plomb dans leur céphalopode. Cependant, le test de Kruskal wallis montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les teneurs accumulées. Le niveau d'accumulation du cuivre dans la chair pour ce groupe d'escargot est 0,033 mg/kg. L'analyse statistique ne montre aucune différence ($p > 0,05$) entre les teneurs de polluants en fonction du poids des escargots. En fin, les teneurs en zinc semblent inégalement réparties dans la chair en fonction du poids des escargots passant de 0,01 mg/kg ($P < 60g$) à 0,03 mg/kg ($60g < P < 150g$) avant de chuter à 0,02 mg/kg ($P > 200g$). L'analyse statistique ne révèle aucune différence très significative ($p \leq 0,01$).

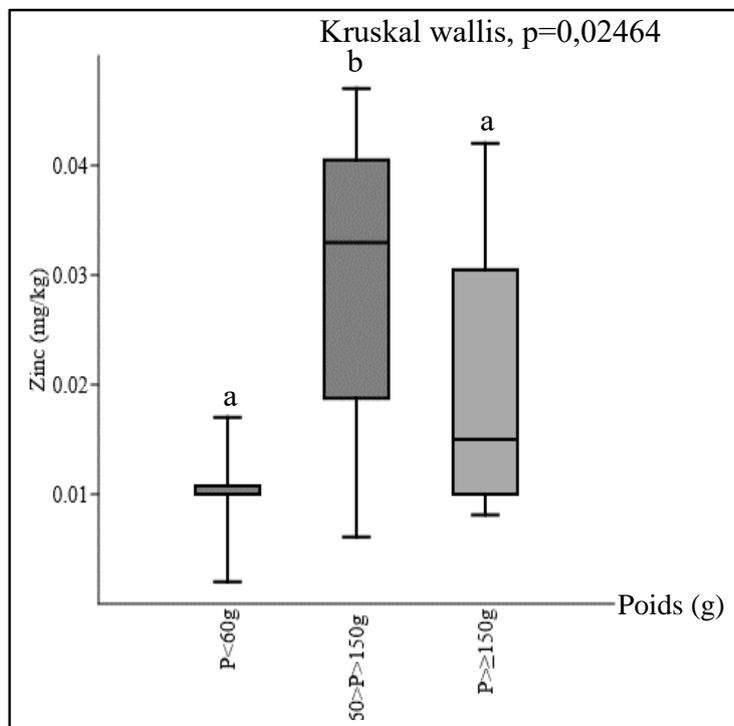


Figure 40 : Teneur en zinc en fonction du poids des escargots *A. achatina*

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

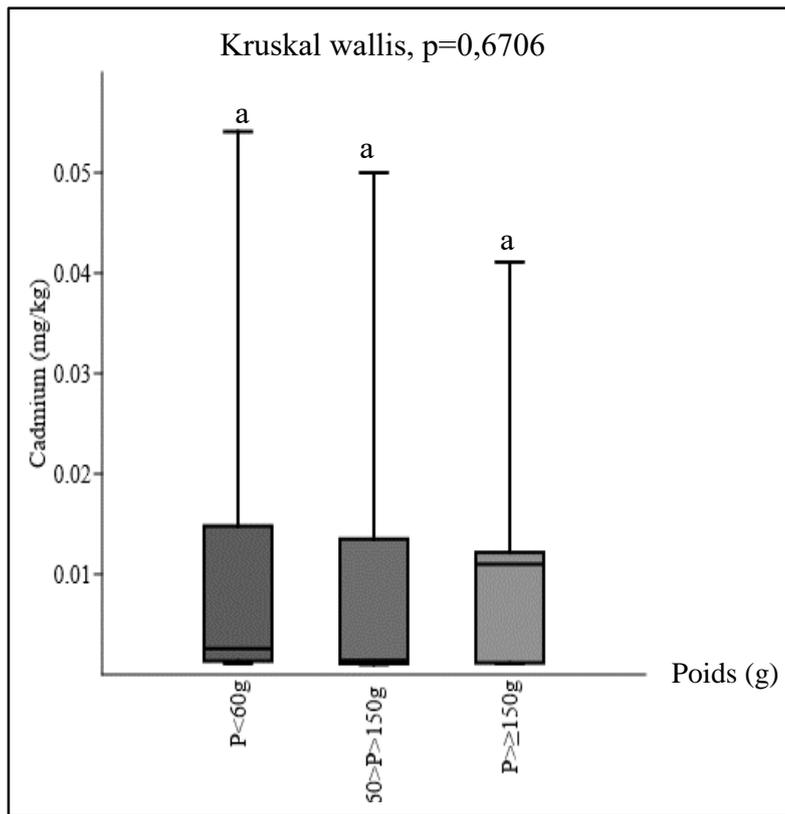


Figure 41 : Teneur en cadmium en fonction du poids des escargots *A. achatina*

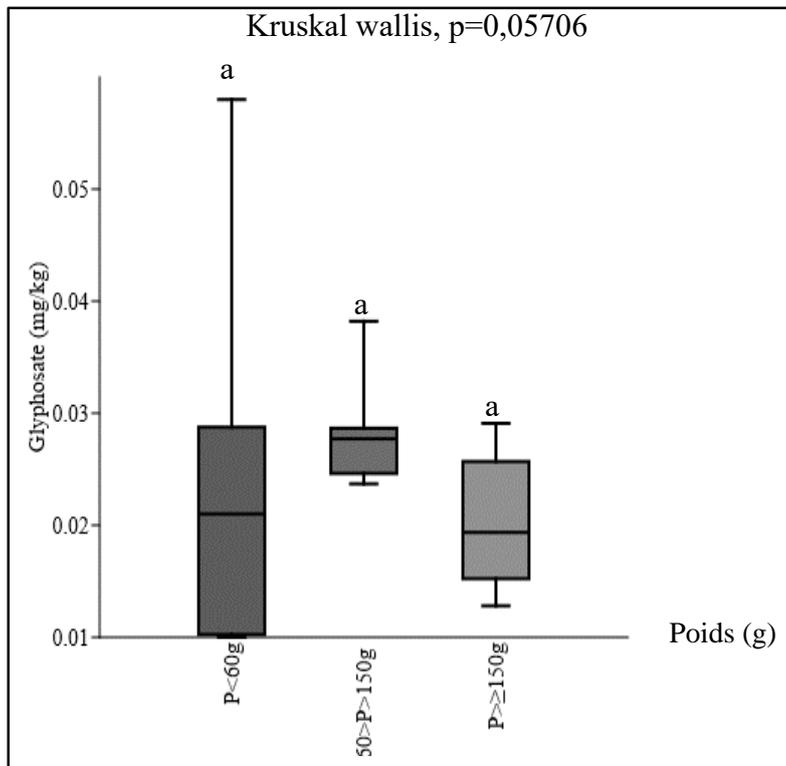


Figure 42 : Teneur en glyphosate en fonction du poids des escargots *A. achatina*

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

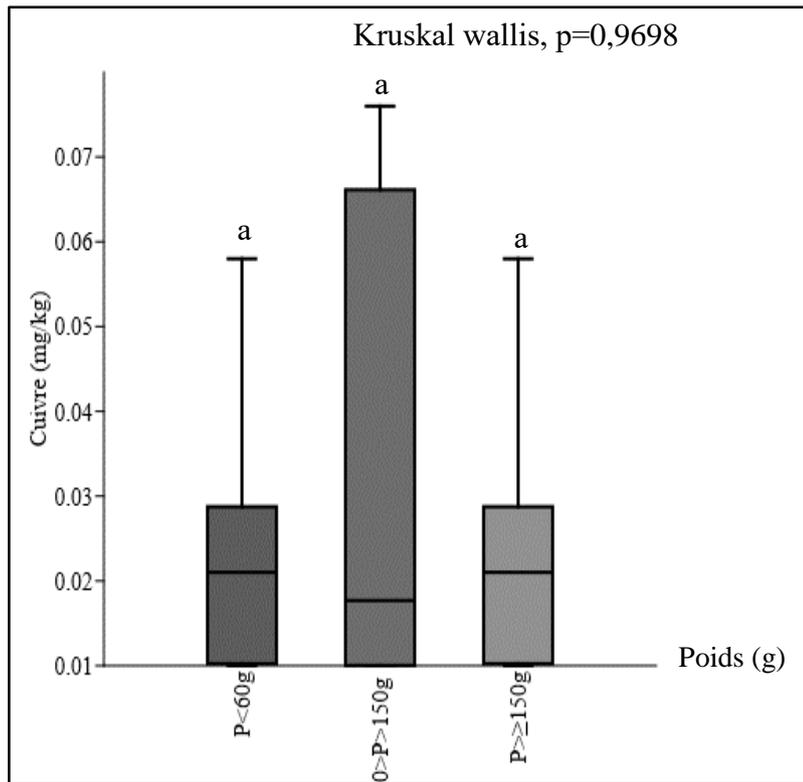


Figure 43 : Teneur en cuivre en fonction du poids des escargots *A. achatina*

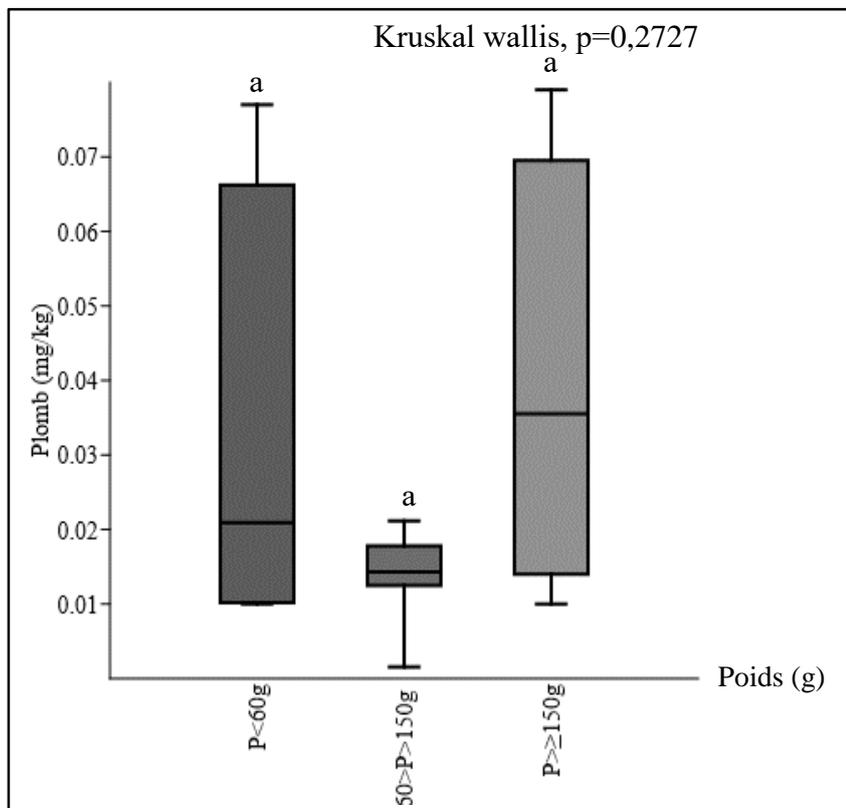


Figure 44 : Teneur en Plomb en fonction du poids des escargots *A. achatina*

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

3.1.3 Effet de la température sur les polluants et évaluation du risque sanitaire

3.1.3.1 Effet de la température sur les polluants

Les figures 45, 46, 47, 48 et 49, révèlent que la température agit différemment selon la nature du polluant. Elle fait baisser la teneur de certains polluants ; c'est le cas du plomb, du cuivre et du glyphosate. En revanche, la teneur d'autres polluants augmente avec l'élévation de la température ; c'est le cas du zinc et du cadmium. Ainsi, sous l'action de la température la teneur du plomb baisse de 0,034 mg/kg (poids frais) à 0,01 mg/kg à la température de cuisson de 120°C. L'analyse statistique montre une différence significative ($p > 0,05$) entre les teneurs de plomb mesurés dans la chair fraîche et ceux obtenus dans la chair soumis aux différentes températures de cuisson. La teneur en cuivre baisse également avec la température de 0,023 mg/kg (frais) à 0,004 mg/kg à 120°C. Il y a également une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre la teneur de cuivre enregistré aux différentes températures de cuisson. La teneur de zinc augmente avec l'élévation de la température de 0,013 (frais) à 0,07 mg/kg à (90°C) puis baisse à 0,03 à 120°C. La concentration en cadmium du céphalopode diminue de 0,01 mg/kg (poids frais) à 0,003 mg/kg à 60°C puis augmente à 0,005 mg/kg à la température de 90°C avant d'augmenter de nouveau à 0,02 mg/kg à 120°C. Quant au glyphosate, sa teneur dans la chair baisse significativement ($p < 0,01$) avec l'élévation de la température de 0,037 mg/kg (frais) à 0,0017 mg/kg (120°C). Le test de Krustal wallis montre une différence de concentration en polluants de tous les paramètres chimiques soumis à différentes températures de cuisson.

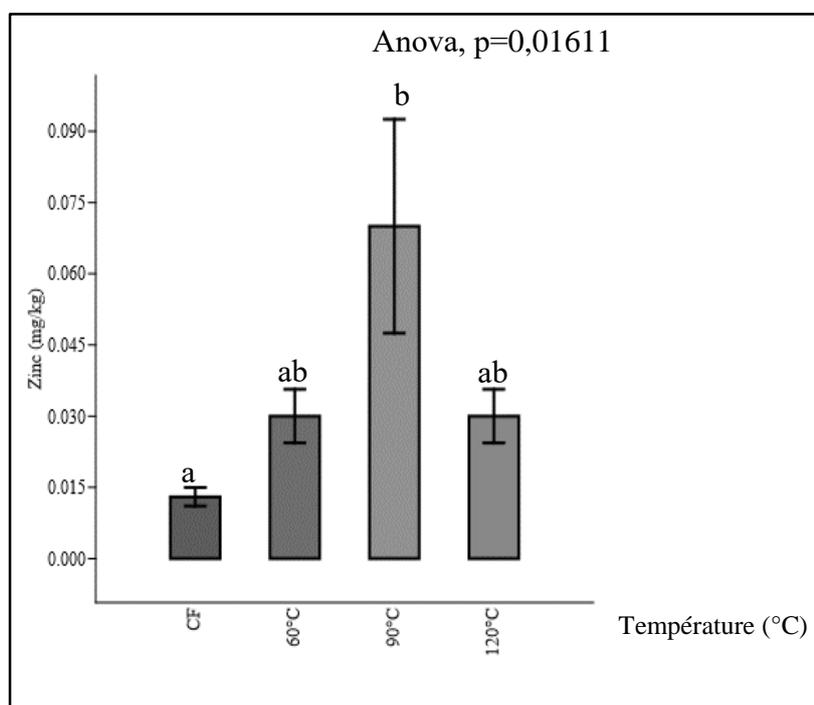


Figure 45 : Effet de la température sur la teneur en zinc dans la chair de l'escargot *A. achatina*

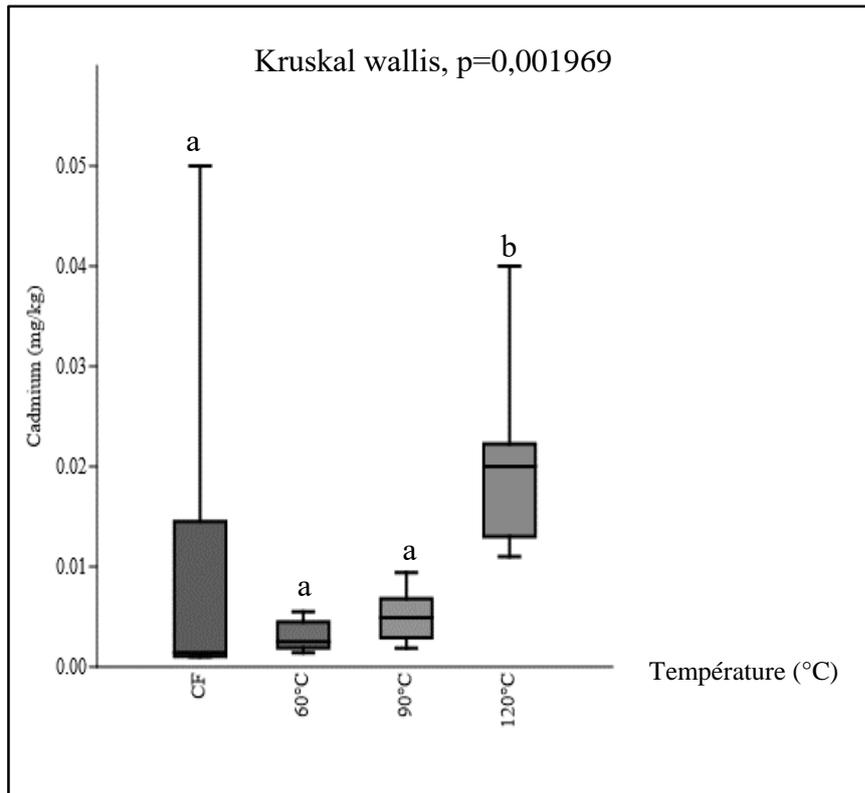


Figure 46 : Effet de la température sur la teneur en cadmium dans la chair de l'escar-got *A. achatina*

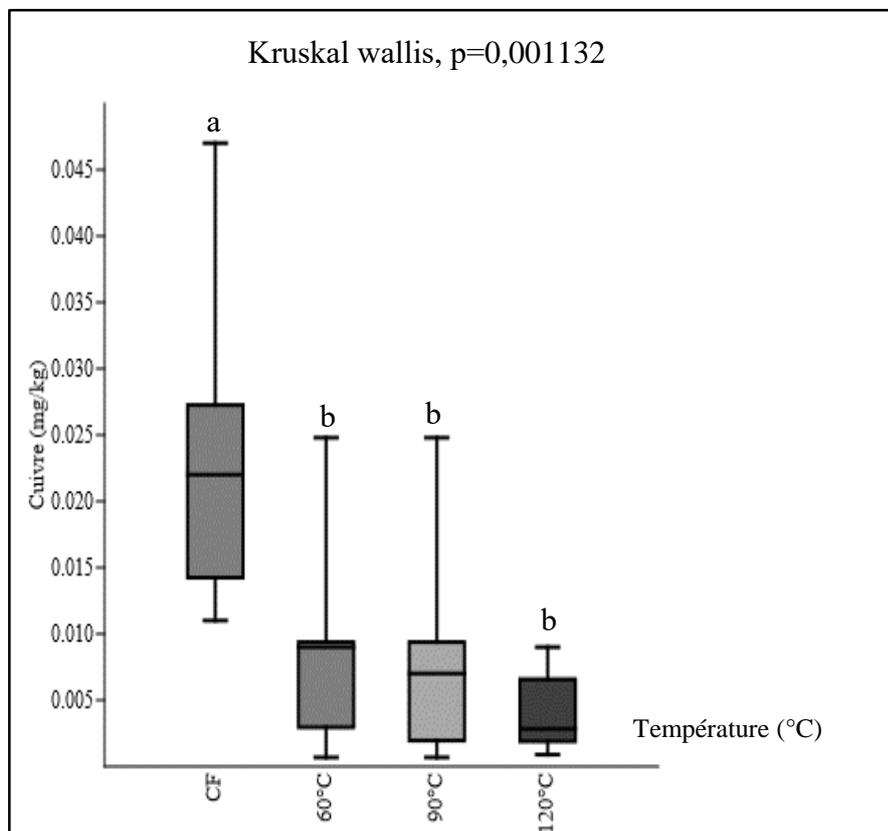


Figure 47 : Effet de la température sur la teneur en cuivre dans la chair de l'escar-got *A. achatina*

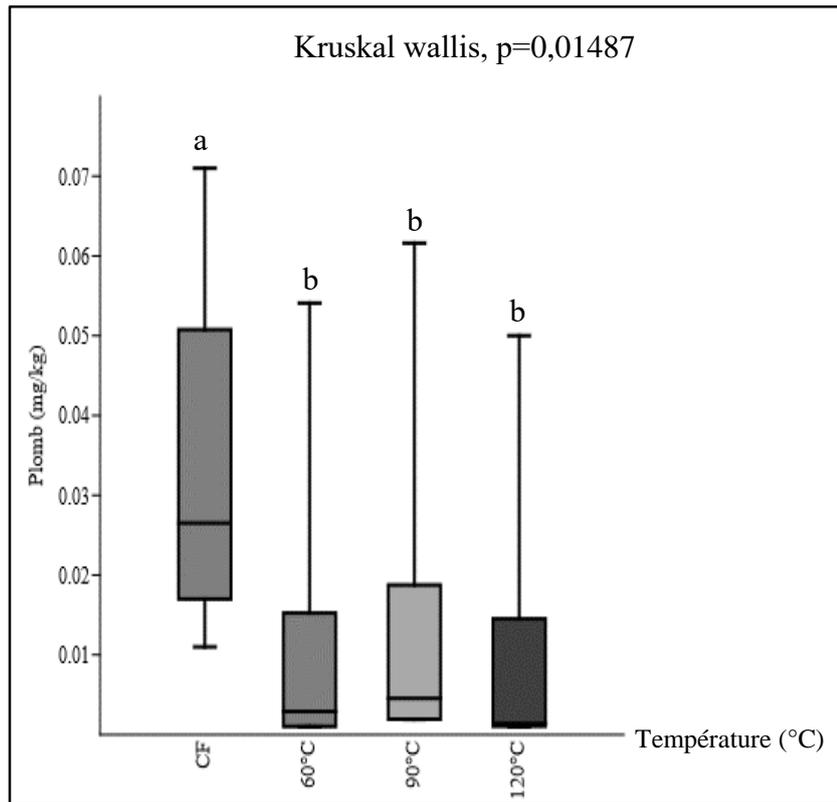


Figure 48 : Effet de la température sur la teneur en plomb dans la chair de l'escargot *A. achatina*

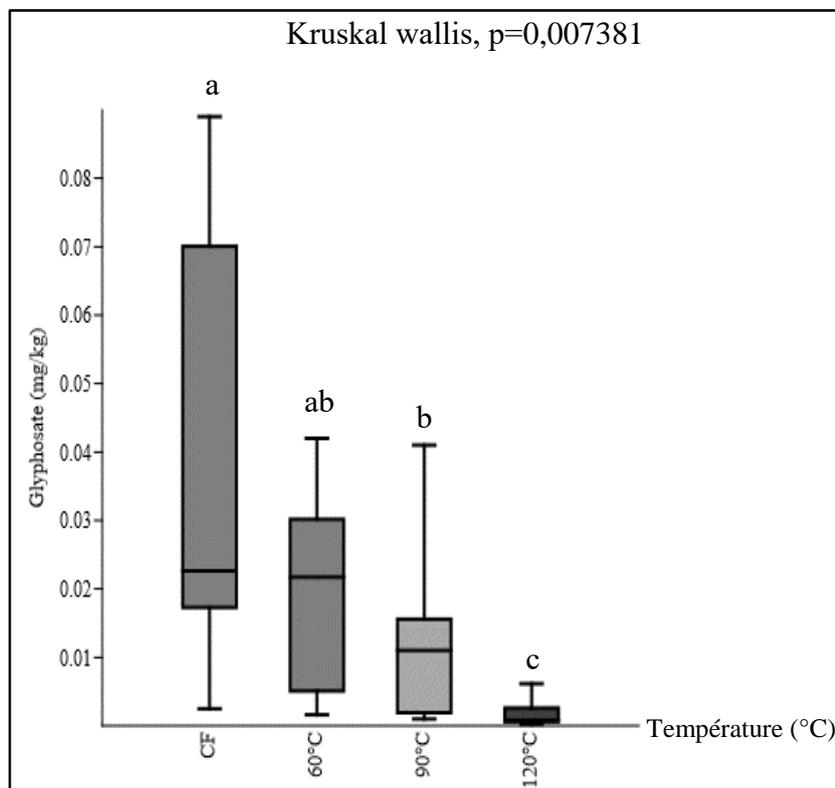


Figure 49 : Effet de la température sur la teneur en glyphosate dans la chair de l'escargot *A. achatina*

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$).
Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

3.1.3.2 Effet du temps de cuisson sur les polluants

La concentration des différents polluants dans la chair diminue avec la durée de cuisson à la température de 100°C (Figure 50, 51, 52, 53 et 54). Ainsi, la teneur en glyphosate, la teneur passe de 0,85 mg/kg) dans la chair fraîche à 0,06 mg/kg dans la chair cuit pendant 60 min. Le test de one way ANOVA révèle une différence dans les échantillons d'escargot crue et ceux soumis à différents temps de cuisson. En effet, la teneur du glyphosate dans l'escargot cru est différente des échantillons de céphalopode traités pendant 30 et 60 minutes de cuisson.

La concentration du cuivre baisse de 0,2 mg/kg (frais) à 0,02 mg/kg (60 min) en passant par 0,09 mg/kg (30 min). Le test de Kruskal wallis révèle une différence significative ($p < 0,05$) entre la teneur en cuivre dans la chair cuit pendant 30 min et 60 min. En revanche, la teneur de cuivre dans la chair frais est statistiquement identique à celui dans la chair cuit pendant 30 min. Les teneurs du cadmium et du zinc diminuent avec l'augmentation du temps de cuisson. La teneur de ces polluants dans la chair varie respectivement de 0,08 mg/kg (frais) à 0,07 mg/kg (60 min) et de 0,64 mg/kg (frais) à 0,45 mg/kg (60 min). Toutefois, selon le test de One-way ANOVA cette diminution du cadmium ($p = 0,917$) et du zinc ($p = 0,939$) n'est pas statistiquement significative. En ce qui concerne la teneur en plomb dans la chair, elle varie selon le temps de cuisson de 0,29 mg/kg (frais) à 0,1 mg/kg après 60 minutes de cuisson en passant par 0,14 mg/kg en 30 minutes de cuisson soit 100% de réduction. Le test de Kruskal wallis ne révèle pas de différence entre la teneur en plomb des escargots cru et celles soumises à différents temps de cuisson.

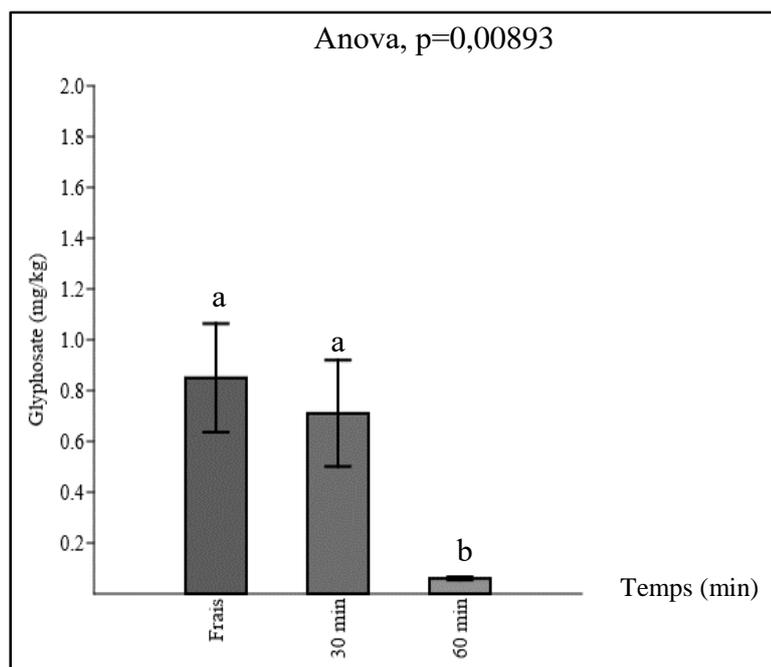


Figure 50 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en glyphosate dans la chair de l'escargot *A. achatina*

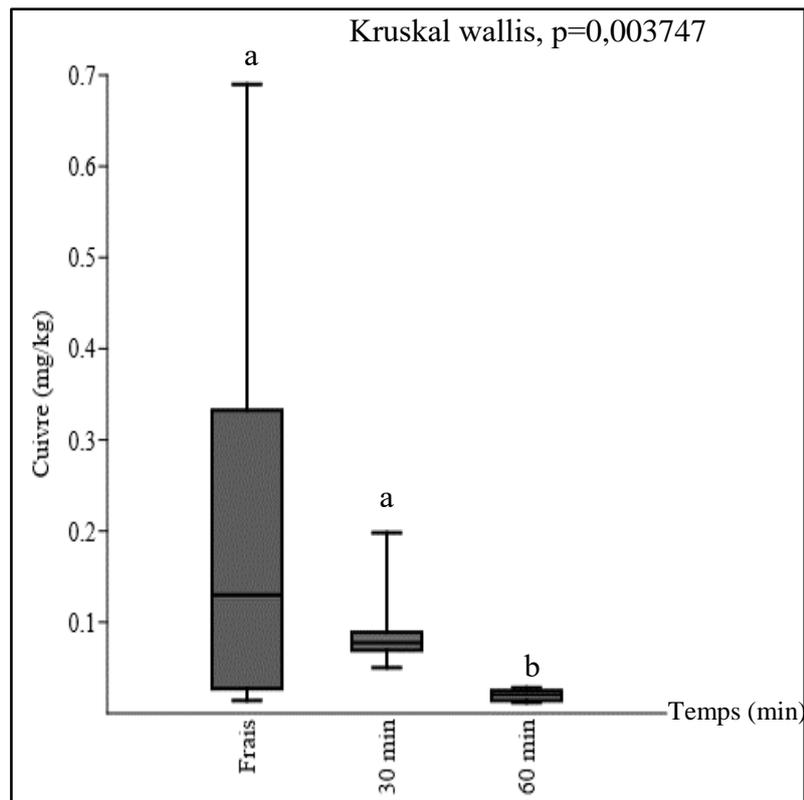


Figure 51 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en cuivre dans la chair de l'escargot *A. achatina*

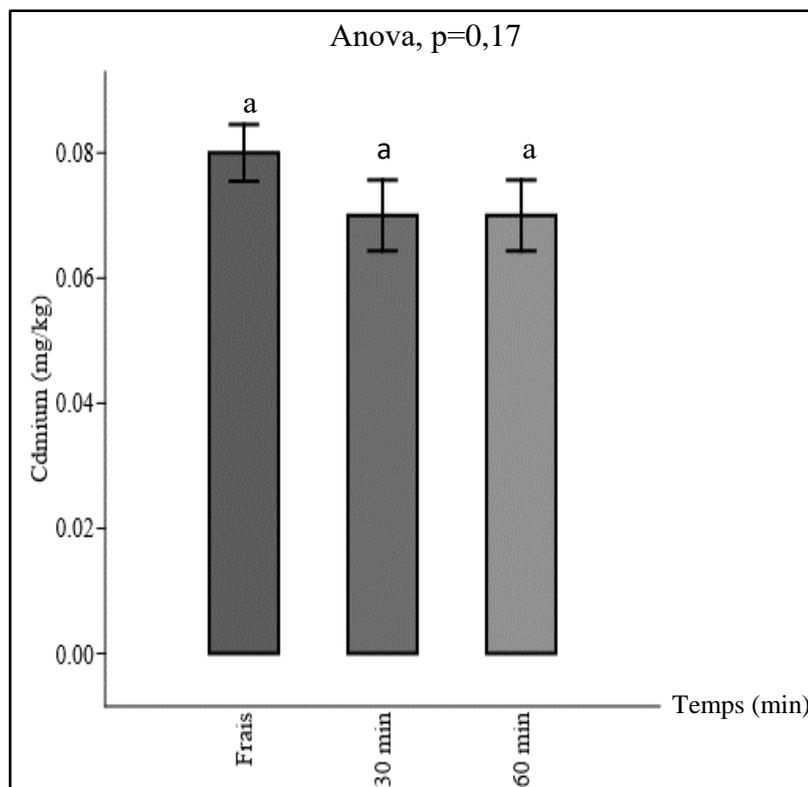


Figure 52 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en cadmium dans la chair de l'escargot *A. achatina*

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$).
 Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issu du classement des doses.

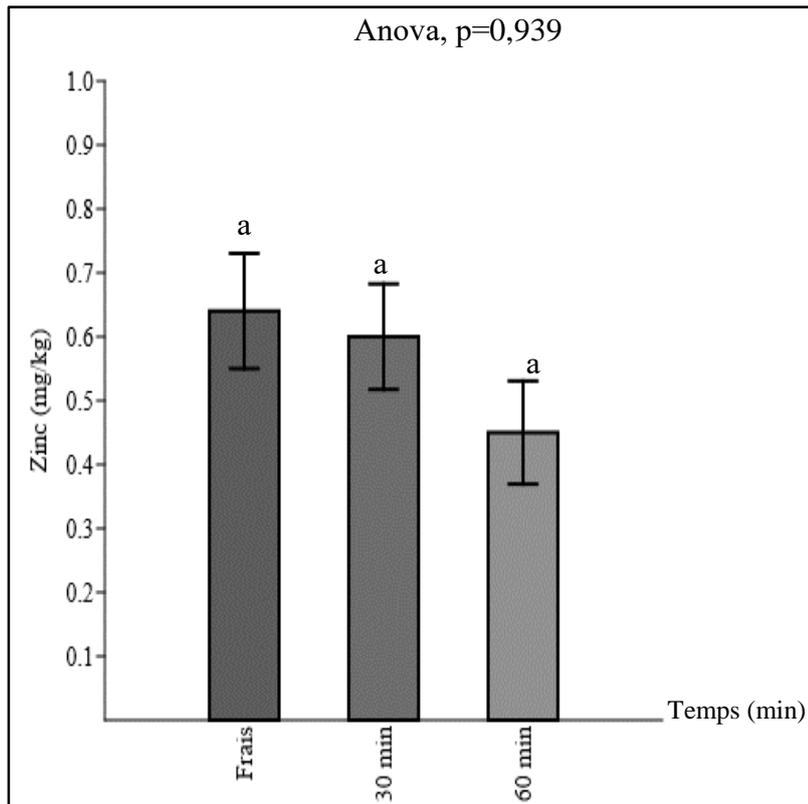


Figure 53 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en zinc dans la chair de l'escargot *A. achatina*

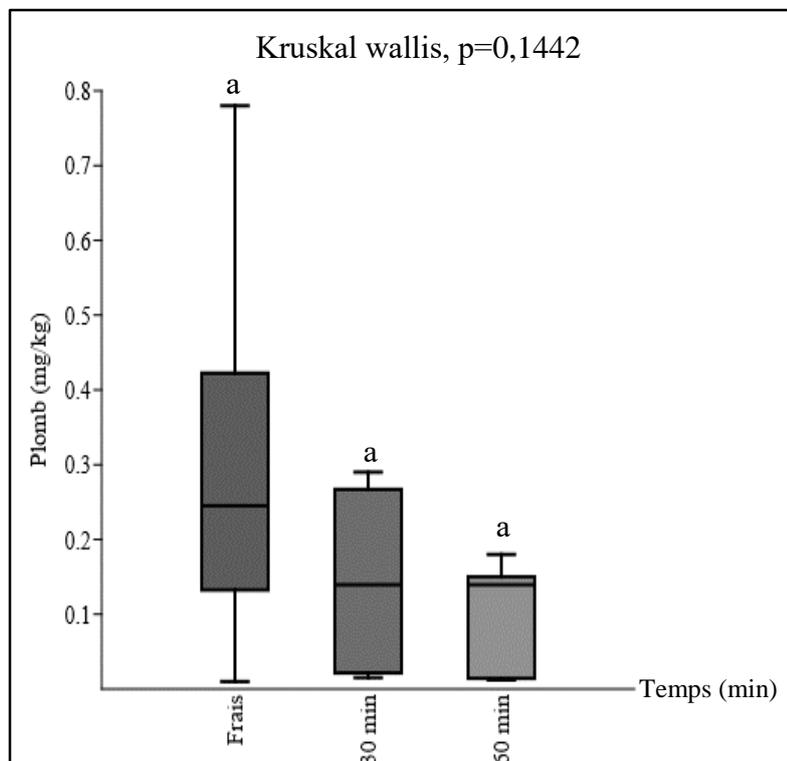


Figure 54 : Effet du temps de cuisson sur la teneur en plomb dans la chair de l'escargot *A. achatina*

NB : Sur une même colonne, les valeurs moyennes indexées des mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p>0,05$). Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issue du classement des doses.

3.1.3.3 Evaluation du risque sanitaire liés à la consommation de l'escargot *Achatina achatina* dans la région de la Nawa

Les résultats de l'évaluation de l'exposition au Cd, Pb, Zn, Cu et glyphosate liés à l'ingestion des escargots cuits à différents temps de cuisson ainsi que leur quotient de danger (QD) correspondants chez les adultes et les enfants sont présentés dans le tableau X.

L'analyse du tableau révèle que l'excès de risque individuel (ERI) de tous les polluants déterminés dans les échantillons d'escargots sont tous inférieur à la valeur toxicologique de référence (0,01). Par ailleurs, la dose journalière d'exposition (DJE) du Pb dans les escargots *A. achatina* diminue autant chez les adultes que chez les enfants lorsque le temps de cuisson augmente passant respectivement de $9,7 \cdot 10^{-4}$ mg/kg/j (crue) à $3,4 \cdot 10^{-4}$ /kg/j (60 min) et de $2,5 \cdot 10^{-3}$ à $8,4 \cdot 10^{-4}$ /kg/j (60 mn). Les quotients de danger (QD) du plomb chez les adultes passent de 0,27 à frais à $9,5 \cdot 10^{-2}$ pendant 60 minutes de cuisson. Chez les enfants, le QD passe de 0,69 à 0,23.

La DJE du cadmium des adultes évolue de $2,7 \cdot 10^{-4}$ mg/kg/j (crue) à $2,4 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j (30 et 60 min) et de $6,7 \cdot 10^{-4}$ mg/kg/j (crue) à $5,9 \cdot 10^{-4}$ mg/kg/j (30 et 60 min) chez les enfants. Quant au QD, il oscille entre 1,35 (crue) et 1,2 (30 et 60 min) chez les adultes et entre 3,35 (crue) et 2,95 (30 et 60 min) chez les enfants.

L'analyse du tableau révèle une DJE en cuivre qui varie de $6,7 \cdot 10^{-4}$ mg/kg/j (frais), à $7 \cdot 10^{-5}$ mg/kg/j (60 min) chez les adultes. Toutefois, son QD est nul tant à frais que pendant 30 et 60 minutes de cuisson. Chez les enfants, la DJE varie de $2 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j (frais) à $2 \cdot 10^{-4}$ mg/kg/j (60 mn). Le QD des enfants est de 0,1 à frais puis s'annule pendant différents temps de cuisson (30 et 60 minutes).

La DJE du zinc chez les adultes est de $2 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j à frais et pendant 30 mn de cuisson avant de chuter à 0,001 mg/kg/j lors des 60 mn de cuisson. Elle reste constante ($5 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j) à frais et à 30 min de cuisson puis décroît à $3 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j à 60 minutes de cuisson. Ces deux tranches d'âge ont tous leur QD inférieur à 1.

La DJE du glyphosate décroît autant chez les adultes que chez les enfants. Elle part de $3 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j (frais) à $2 \cdot 10^{-4}$ mg/kg/j (60 mn) chez les adultes avec un QD inférieur à 1. Chez les enfants elle évolue de $7 \cdot 10^{-3}$ mg/kg/j (frais) à $5 \cdot 10^{-4}$ mg/kg/j (60 minutes de cuisson). Le quotient de danger des enfants reste constant (0,01) à frais et pendant 30 min de cuisson avant de s'annuler à 60 min de cuisson.

Tableau X : Risques sanitaires liés à la consommation de *Achatina achatina* contaminés par le Plomb, cadmium, cuivre, zinc et glyphosate en fonction du temps de cuisson

Polluants	Temps de cuisson	Concentrat ion moyenne en métaux lourds (mg/kg) C	Dose journalière d'exposition DJE (mg/kg/j)		Dose journalière admissible DJA (mg/kg/j)	Risques sanitaires (Quotient de danger)		ERI
			Adulte	Enfant		Adulte	Enfant	
Plomb	Frais (0 min)	0,29	0,00097	0,0025		0,27	0,69	$3,4 \cdot 10^{-8}$
	30 min	0,14	0,00047	0,0017	0,0036	0,13	0,47	$1,65 \cdot 10^{-8}$
	60 min	0,10	0,00034	0,00084		0,095	0,23	$1,18 \cdot 10^{-8}$
Cadmium	Frais (0 min)	0,08	0,00027	0,00067		1,35	3,35	$5,25 \cdot 10^{-10}$
	30 min	0,07	0,00024	0,00059	0,0002	1,2	2,95	$4,6 \cdot 10^{-10}$
	60 min	0,07	0,00024	0,00059		1,2	2,95	$4,6 \cdot 10^{-10}$
Cuivre	Frais (0 min)	0,2	0,00067	0,002		0,00	0,01	
	30 min	0,09	0,0003	0,0008	0,14	0,00	0,00	NC
	60 min	0,02±	0,00007	0,0002		0,00	0,00	
Zinc	Frais (0 min)	0,64	0,002	0,005		0,00	0,00	
	30 min	0,60	0,002	0,005	0,3	0,00	0,00	NC
	60 min	0,45	0,001	0,003		0,00	0,00	
Glyphosate	Frais (0 min)	0,85	0,003	0,007		0,00	0,01	$1,65 \cdot 10^{-5}$
	30 min	0,71	0,002	0,006	05	0,00	0,01	$1,39 \cdot 10^{-5}$
	60 min	0,06	0,0002	0,0005		0,00	0,00	$1,96 \cdot 10^{-6}$

NC : Non Cancérogène ; NB : le Poids moyen des escargots est de 0,12987 kg ; la quantité Q d'escargots ingérés à chaque repas d'escargot est de 0,233766 kg/j ; le Poids d'un adulte est 70 kg et celui de l'enfant est 28 kg

3.2 Discussion

En effet, le poids vif et la longueur de coquilles des escargots témoins de ces deux espèces augmentent, tandis que ceux des escargots soumis à différentes doses de contamination alimentaire au glyphosate diminuent de manière significative. Cette inhibition de la croissance pondérale et coquillère des escargots est fonction de la dose de glyphosate qui induit une toxicité plus grande en fonction de sa concentration. Ce qui explique la faible perte de poids observée chez les escargots (*Achatina achatina*, *Achatina fulica*) soumis aux doses D₄, D₆ et D₈ g/L contrairement à la forte perte de poids observée chez les escargots soumis aux doses D₁₀, D₁₂ et D₁₄ g/L. Ces résultats corroborent ceux obtenus par Bourbia (2013). En effet, au cours de ses travaux sur les escargots *Helix aspersa* exposés respectivement par ingestion au thiaméthoxame, à la téfluthrine et de leurs mélanges, les animaux ont connu une réduction de la longueur et du diamètre de coquille ainsi que la masse pondérale en condition de laboratoire. Aussi, au cours de leurs travaux sur l'effet des herbicides utilisés en horticulture (2,4-D, Glyphosate et nicosulfuron) sur les escargots *Achatina fulica*, Phaceli *et al.* (2021) ont montré que les herbicides utilisés ont entraîné un ralentissement de la croissance des escargots juvéniles

après 28 jours d'exposition. Ce blocage de la croissance pourrait être dû à une réduction des réserves d'énergie, allouées à la reproduction dans les cellules de stockage des tissus d'escargots. Cette réduction est probablement causée par la mobilisation des ressources pour l'initiation des processus de désintoxication. Des études menées par Lawrence *et al.* (2003) ont révélé que le coût énergétique du stress environnemental entraîne une diminution de la quantité d'énergie disponible pour la croissance et la reproduction et par conséquent, une inhibition. Nos résultats concordent avec ceux de Schuytema *et al.* (1994) ainsi que de Laskowski & Hopkin (1996) qui ont observé une réduction significative du poids des escargots traités avec l'aminocarbe, le méthyl parathion et le paraquat ; laquelle réduction est associée à la nature et à la quantité de pesticide utilisée. De plus, Coeurdassier (2001) a constaté une baisse "dose-dépendante" de la croissance et de la survie des escargots par le diméthoate. Ce qui explique la croissance de la longueur de coquille des escargots témoins (non exposés au glyphosate) au détriment des escargots exposés au glyphosate. En revanche, tous les résultats obtenus sur *Achatina achatina* et *Achatina fulica*, sont contraires à ceux obtenus par Druart *et al.* (2011). Selon ces auteurs, le glyphosate n'a pas eu d'impact inhibiteur sur la croissance des escargots exposés à 2,8 mg.kg⁻¹ de matières actives mais, une croissance coquillère rapide durant les 56 premiers jours d'expérience. La différence entre les résultats obtenus par ces auteurs et les nôtres pourrait s'expliquer par le grand écart de la teneur de concentration de la matière active utilisée. En effet, dans notre étude, la solution la moins concentrée en glyphosate est celle de 4 g/L soit 4000 mg.Kg⁻¹ largement supérieur à la teneur de 2,8 mg.kg⁻¹ utilisé par cet auteur. Le choix des fortes doses (12 et 14 mL) dans cette étude s'expliquerait par le fait que l'applicateur ou le paysan pourrait décider de doser (12 mL) ou surdoser (14 mL) sa solution à appliquer du fait de la densité des mauvaises herbes.

La réduction dose dépendante du poids et l'absence de croissance coquillère liée au glyphosate d'après nos résultats pourraient aussi s'expliquer par une interférence du glyphosate dans le métabolisme du calcium (Ca). En effet, le calcium joue un rôle essentiel dans le développement du corps entier de l'escargot et en particulier celui de la coquille. Ce fait a été montré avec *Helix aspersa* (Gomot, 1989) et avec *Achatina fulica* (Irland, 1991).

La coquille est constituée principalement de carbonate de calcium et d'une matrice organique appelé le conchyoline (Heller, 1983). En réalité, il est difficile de déterminer le mécanisme qui inhibe la croissance des escargots nourris avec de la nourriture contaminée (Gomot & Pihan, 2000). C'est peut-être une inhibition de la production d'une hormone indispensable à la croissance des escargots. Par ailleurs, ce blocage pourrait aussi s'expliquer par le caractère répulsif du glyphosate. En effet, nous avons constaté que les escargots refusaient de se nourrir

après les premières prises de nourriture ce qui les contraint au dépérissement. Sandrini *et al.* (2013) ont constaté que le glyphosate élimine l'activité d'un enzyme chez la moule *Perna perna* et ainsi que certains poissons (Gluszczak *et al.*, 2006 ; Gluszczak *et al.*, 2007 ; Cattaneo *et al.*, 2011). De plus, les escargots refusaient les laitues saines déposées tous les deux jours avant que les laitues traitées au glyphosate ne soient proposées le sixième jour. Simkiss & Watkins (1990) suggéraient déjà que la présence de concentrations élevées de zinc dans la nourriture de *H. aspersa* entraîne une réduction de la teneur de consommation de la nourriture contaminée. Cependant, cette inhibition de développement peut également être causée par un phénomène de toxicité (La Rocca, 2004). Ezzughayyar & Eswaileh (2000) ont montré chez *Helix engaddensis* que, si pendant quatre semaines, les escargots réduisaient leur consommation ou refusaient totalement de se nourrir avec un aliment contaminé en cuivre et en cadmium, dès qu'ils disposaient de saine nourriture la cinquième et sixième semaine, les escargots qui étaient intoxiqués au cadmium persistaient à refuser de manger. Cependant, à l'inverse, les escargots qui ont été intoxiqués au cuivre ont immédiatement repris leur régime alimentaire normal et ont retrouvé leur poids habituel. On note donc que, pour le contaminant en question, le refus de se nourrir est le résultat d'un phénomène soit de toxicité, soit de répulsion (Ezzughayyar & Eswaileh, 2000). Bibic *et al.* (2019) stipulent que dans un environnement pollué, l'animal se met dans un état de jeûne prolongé, ce qui concorde avec les résultats de Gomot de Vaufleury & Bispo (2000). Ceux-ci ont observés les effets du pentachlorophénol, du trichlorophénol et du naphtalène sur la croissance du *Helix aspersa* et *Helix maxima* où l'on a montré une inhibition de la croissance chez *Helix aspersa*. Au cours des huit semaines d'expérimentation une grande sensibilité chez *A. achatina* exposé au glyphosate par rapport à *A. fulica* a été constaté. En effet, dès la première semaine on a dénombré des morts chez l'espèce *A. achatina* tandis qu'un taux de mortalité chez *A. fulica* a été inventorié qu'à la fin de la deuxième semaine de l'étude. La légère résistance de *A. fulica* au glyphosate pourrait s'expliquer par la production de grande quantité de bave qui caractérise cette espèce qui renfermerait des substances capables de digérer sur un laps temps des substances toxiques ; ce qui n'est pas le cas de l'espèce *A. achatina*. Le mucus sécrété par les escargots renforce l'activité microbienne (Brown *et al.*, 2000) qui est elle-même connue pour augmenter la dégradation, par exemple, du glyphosate (Accinelli *et al.*, 2004). Par ailleurs, hormis les escargots, le glyphosate a un impact négatif sur d'autres espèces animales et végétales. Lors d'une étude menée en argentine, Paganelli (2010) a montré que des doses d'utilisation de concentrations faibles d'herbicides à base de glyphosate (0,02 % de concentrations) entraînait des changements dans le squelette des têtards, ainsi que d'autres effets sur leur développement tels que la réduction de la taille du corps, des têtes plus petites et des

yeux diminués (Anonyme, 2013). Effectivement, des recherches ont également mis en évidence des résultats préoccupants concernant les conséquences des PPS contenant du glyphosate sur la croissance et le développement des amphibiens. De même, des grenouilles adultes exposées au contenant du glyphosate aussi bien dans l'environnement que dans des conditions contrôlées, ont démontré que le glyphosate entraîne également une augmentation de la mortalité pendant la croissance des têtards de la grenouille *Rhinella arenarum* (Gunarathna *et al.*, 2018). En outre, des études ont démontré que le glyphosate entraîne également une augmentation de la mortalité pendant la croissance des têtards, même dans des conditions contrôlées (Relyea *et al.*, 2005b, Paganelli *et al.*, 2010). Une étude sur les têtards nord-américains a montré des taux de mortalité allant jusqu'à 100% lorsque le glyphosate était administré à la dose recommandée par le gouvernement (Relyea, 2005a ; Anonyme, 2013). En plus des grenouilles, les oiseaux seraient sensibles au glyphosate. Une étude de trois ans portant sur des coupes à blanc âgées de quatre à cinq ans dans une maine aux États-Unis, plantées avec des semis d'épinettes et pulvérisées avec du glyphosate a révélé que la densité totale des oiseaux diminuait de 36 % (Eggestad *et al.*, 1988 ; Santillo *et al.*, 1989). En outre, selon Eeva *et al.* (2010) et Druart (2011), la diminution ou l'extinction des escargots en milieu naturel entraîne une baisse importante de la densité et de la population d'oiseaux. D'après ces auteurs, les escargots sont essentiels pour l'alimentation des oiseaux car ils leur offrent un apport nutritionnel une source de calcium nécessaire pour la construction de la coquille des œufs. En somme, des liens peuvent exister entre le glyphosate et des perturbations endocriniennes dans des lignées de cellules animales et humaines à des concentrations plus faibles que celles utilisées dans l'agriculture (Walsh *et al.*, 2000 ; Hokanson *et al.*, 2007 ; Gasnier *et al.*, 2009 ; Romano *et al.*, 2010 ; Romano *et al.*, 2012). En effet, des résidus de glyphosate ont été trouvés dans certains végétaux cultivés un an après l'application du produit. De plus, sa persistance augmente la probabilité de contamination des cultures dans les champs et donc un danger pour la biodiversité en générale (Araujo *et al.*, 2003 ; Wang, 2016). Aucune espèce n'est épargnée par l'impact de ce produit chimique (WHO, 1994 ; Yousef *et al.*, 1995).

Nos résultats d'enquête ont révélé que les producteurs de cacao préfèrent l'herbicide sous la dénomination commerciale de "la daba" pour le désherbage. Le fort taux d'utilisation de ce produit pourrait s'expliquer par sa teneur en fertilisants élevé par rapport aux autres. A cela s'ajoute, le marketing autour du produit. Le nouvel emballage sur les contenants des produits fait croire à de nombreux paysans en majorité analphabète de la sortie d'un nouveau produit très efficace sur le marché.

Aussi, note-on deux espèces d'escargots majoritairement prisées par la population de la zone d'étude notamment *Achatina achatina* et *Archachatina ventricosa*. La consommation de ces deux espèces par les populations de la Nawa, pourrait s'expliquer par la forte appréciation de leur sapidité ; ce qui ferait d'elles les plus prisées dans plusieurs régions d'Afrique. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Sodjinou *et al.* (2002) et O'Dji (1998). Par ailleurs, l'intérêt gastronomique accordé à l'espèce *Achatina fulica* est fonction des départements. Il s'expliquerait d'une part, par son caractère élastique et son goût souvent 'vaseux' (Cobbinah *et al.*, 2008) et d'autre part, par la rareté des espèces *Achatina achatina* et *Archachatina ventricosa* mieux connues et largement consommées. Cette rareté des escargots pourrait être lié à l'utilisation incontrôlée du glyphosate persistant dans la nature et capable de perturber leur reproduction et leur disponibilité.

Par ailleurs, les enfants et les jeunes dont l'âge varie entre 5 et 17 ans et 18 et 34 ans respectivement tout sexe confondu sont les plus gros consommateurs d'*Achatina fulica*. La forte consommation de cette espèce par cette tranche d'âge pourrait s'expliquer par le fait que ces personnes ont grandi à une époque où la quantité des deux autres espèces notamment *Achatina achatina* et *Archachatina ventricosa* disponibles en milieu naturel a drastiquement diminué. Aussi, l'éducation des enfants pourrait également expliquer cette appétence aux *A. fulica*.

Quant aux viscères, ils ne sont pas pris en compte dans le régime alimentaire des populations de la Nawa qui les considèrent comme non comestibles. Certains avancent que les viscères seraient des vecteurs de maladies notamment la tuberculose (Sodjinou *et al.*, 2002). Pourtant d'autres populations en Côte d'Ivoire en raffolent notamment celles des régions du Loh Djiboua et montagne (observation personnelle). Par ailleurs, dans les départements de l'Atlantique et du Littoral au Sud-Bénin, les populations ne manquent pas d'intérêt dans la consommation des viscères (Sodjinou *et al.*, 2002). Le faible taux de consommation de l'escargots *Achatina fulica* par les adultes est dû au fait que seuls les escargots *Achatina achatina* et *Archachatina ventricosa* font partie de leur alimentation depuis leur enfance. A cela s'ajoute le caractère ubiquitaire d'*Achatina fulica*. En effet, cette espèce semble être plus à l'aise dans les endroits les plus dégoûtants que l'on puisse imaginer (sur les excréments, dans les décharges, autour des maisons) avec une prolifération record. De plus, la consommation de cette espèce par les adultes semble susciter quelques jugements voire des critiques chez les personnes qui la trouvent impropre. Au contraire, les espèces *Achatina achatina* et *Archachatina ventricosa* font l'objet d'une consommation consensuelle et unanime dans les repas hebdomadaires du plus grand au plus petit de la maison. Ce qui n'est pas le cas pour *Achatina fulica* qui est cuisinée séparément. Ainsi, les foyers interrogés se scindent en deux clans : ceux qui consomment les trois espèces

et ceux qui en consomment deux (*A. achatina* et *A. ventricosa*). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Kouassi (2008). En effet, au cours de ses travaux, cet auteur soutient que ce sont principalement trois espèces d'escargots géants qui sont vendus vifs sur les marchés d'Abidjan notamment *Achatina achatina*, *Archachatina ventricosa* et *Archachatina marginata*. De plus, il révèle que *Achatina fulica*, espèce des jardins est absente dans la commercialisation à l'état vif.

Au regard des résultats de l'impact du glyphosate sur les escargots, une analyse en polluants de cette ressource tant prisée par les populations serait la bienvenue. Les résultats du dosage des métaux lourds et du glyphosate ont montré que ces polluants s'accumulent dans toutes les parties des escargots, notamment dans l'espèce *Achatina achatina*. On observe une accumulation plus importante du glyphosate et du cadmium dans la chair et les viscères que dans la coquille. Le plomb, le cuivre et le zinc sont en revanche plus accumulés dans la coquille. Les interactions entre cet animal et son milieu de vie pourraient expliquer la concentration élevée de glyphosate dans la chair et les viscères (N'guesan *et al.*, 2022). Ce macro-invertébré réside en effet à l'interface entre le sol, la plante et l'air (Gomot *et al.*, 2000 ; N'guesan *et al.*, 2022). Il consomme à la fois des plantes, des déchets et ingère le sol sur lequel il se déplace et y pond. Par conséquent, De ce fait, ils intègrent plusieurs sources de contamination (sol, atmosphère, végétaux) par voies digestive, respiratoire et/ou cutanée (Ismert *et al.*, 2002 ; Regoli *et al.*, 2006). Or, nos échantillons sont prélevés sous les vergers de cacao où le site d'échantillonnage et les voisins directs n'utilisent que du désherbant au glyphosate. C'est donc à juste titre que le contact direct avec le sol et la flore traitée, fasse du céphalopode et des viscères, un site privilégié de stockage du glyphosate. Tout comme les métaux lourds, le glyphosate pourrait être absorbé par l'épithélium cutané (Van Straalen & van Rijn, 1998) où, ils finissent souvent par être stockés dans l'hépatopancréas, parfois après avoir traversé plusieurs tissus. Les cellules environnantes telles celles du rein, sont responsables de l'absorption, de la phagocytose, de l'accumulation et de l'excrétion des polluants pendant le processus de digestion (Grara *et al.*, 2012). Quant aux plomb et zinc, la coquille serait le site privilégié de leur accumulation. Ces résultats sont contraires de ceux obtenus par Dallinger & Wieser (1984) et Gomot (1998). Ces auteurs, soutiennent que chez les espèces de mollusques étudiées à ce jour, l'hépatopancréas contient systématiquement les plus fortes concentrations en Cd, Pb et Zn. Cook & wall, (1979) soutenaient que les coquilles des escargots ne sont pas un important lieu de stockage des ETM. Pendant leur recherche, ils ont découvert des niveaux de Cd et de Zn d'environ 1 mg/g dans les coquilles d'*Helix aspersa* prélevées dans des zones très contaminées. Le zinc, quant à lui, fait partie des oligo-éléments indispensables à tous les êtres vivants. Les concentrations en Cd, Cu

et Pb augmentent avec l'augmentation des concentrations dans les sols pour la plupart des groupes taxonomiques d'invertébrés en ce qui concerne la bioaccumulation des ETM, tandis que les concentrations en Zn, généralement régulées, sont indépendantes de celles du sol (Heikens *et al.*, 2011 ; N'guessan *et al.*, 2022). Selon Horowitz (1985), et N'guesan *et al.* (2022) il est possible que la présence de zinc dans l'escargot *Achatina achatina* soit liée au couvert forestier du site d'échantillonnage, car la forêt est l'une des principales sources de cet élément chimique dans l'environnement. Par ailleurs, les résultats de sols analysés dans cette étude le confirment. En effet, de tous les échantillons de sol analysés, seuls les teneurs en zinc sont les plus élevées dans toutes les localités. Quant à la teneur en cuivre dans la coquille, elle est deux fois plus élevée que celle observée dans les viscères et le céphalopode. Ainsi, la coquille serait l'organe de stockage principal. Ces résultats sont contraires de ceux obtenus par Druat (2011). Toutefois, le cuivre étant un élément essentiel dans l'organisme de ces animaux notamment le constituant de l'hémocyanine (pigment respiratoire des mollusques terrestres) (Rabitsch, 1996 ; Grara *et al.*, 2012) il est également présent dans les autres parties. Tous les éléments chimiques analysés se retrouvent dans les trois parties de l'escargots. La présence de ces polluants dans ces parties pourrait s'expliquer par l'exposition aux différentes sources de pollution présentes dans les sols (Modrzewska & Wyszowski, 2014).

La bioaccumulation des polluants (métaux lourds et glyphosate) dans les escargots *Achatina achatina* n'est pas fonction du gradient d'âge ou du poids des escargots. Par ailleurs, ces polluants sont concentrés autant chez les juvéniles, jeunes adultes que chez les adultes. Ces résultats pourraient s'expliquer d'une part, par des facteurs endogènes notamment la capacité des escargots à accumuler les métaux lourds et le glyphosate, le régime alimentaire (omnivore) et le caractère sédentaire de ces bestioles (*Achatina achatina*). D'autre part, par des facteurs environnementaux (exogènes) notamment l'humidité qui favoriseraient la persistance des polluants dans le milieu. Or les escargots étudiés ont été collectés sous des vergers de cacao ayant une canopée importante conservant une forte humidité. L'écotoxicité d'une substance peut varier d'une substance peut différer non seulement entre les espèces, mais également en fonction des caractéristiques du sol, ce qui peut avoir un impact sur la bioconcentration en métaux en modifiant leur biodisponibilité (Lock & Janssen, 2001 ; La Rocca, 2004). Aussi, la minéralisation étant le processus ultime de dégradation d'un pesticide, la diminution de la température ralentit l'élimination des herbicides dans le milieu récepteur et augmente les risques de dispersion dans l'environnement (Mamy *et al.*, 2013). De plus, la vitesse de dégradation diminue avec la température et par conséquent la persistance dans les sols

augmente (Baer & Calvet, 1999 ; Eberbach, 1999 ; Beulke & Malkomes, 2001 ; Stenrod *et al.*, 2005 ; Borggaard & Gimsing, 2008 ; Mamy *et al.*, 2013).

L'étude ayant été réalisée dans la région de la Nawa singulièrement dans trois (3) départements une comparaison des résultats en polluant obtenu dans les escargots desdits départements s'avère nécessaire. Les escargots échantillonnés dans la région de la Nawa sont contaminés par les métaux lourds (plomb, cadmium, zinc et cuivre) et le glyphosate. Les concentrations de métaux lourds les plus élevées ont été enregistrées à Allakabo, Yabayo et Raphaelkro et les plus faibles dans les trois autres localités (Gnititouagui, Mayakoffikro et Noukpoudou). La présence (faibles ou forte quantité) de ces métaux dans les escargots échantillonnés dans toutes les localités s'expliquerait par le caractère sédentaire de ces animaux sur le sol car la principale voie de contamination est le sol (Heikens *et al.*, 1985 ; (Marchand et Kantin, 1997 ; Mehoul, 2020). En revanche, celles du glyphosate sont toutes élevées dans les localités échantillonnées. Le fort taux de glyphosate enregistré pourrait s'expliquer par le fait que cet herbicide est le plus utilisée (soit 100% cacaoculteurs) dans la zone d'étude selon les résultats de nos enquêtes de terrain. Il pourrait s'expliquer par une utilisation concomitante et répétée du glyphosate par les planteurs de cacao. En effet, le désherbage chimique en milieu agricole singulièrement le traitement des cultures pérennes (café cacao,) se fait pratiquement à la même période. L'utilisation importante des herbicides aurait pour corolaire la contamination chronique de tous les compartiments de l'écosystème notamment la matrice sol ce qui aboutirait à la percolation de cette substance active dans le sol comme le confirme l'analyse des sols. Cette thèse est soutenue par Arias-Estevez *et al.*, (2008). Selon ces auteurs, les herbicides sont émis dans l'environnement lors des applications en zones agricoles (protection des cultures) et urbaines (entretien des jardins, parcs...). Bien que les principales cibles des herbicides soient les végétaux, ils ont estimé que c'est seulement 0,1% des quantités appliquées qui atteignent leurs cibles. Par ailleurs, le sol constitue pour les escargots une source de nourriture dans laquelle ils ingurgitent les ressources nécessaires pour leur croissance, un habitat et un support dont ils sont fortement inféodés. Or le sol est la matrice qui reçoit tous types (physique, chimique et biologique) de pollution. Aussi, Pirrko *et al.*, (2007) ont mis en exergue la capacité du glyphosate à passer de la plante au sol. Ces chercheurs ont détruit un couvert contenant une quantité standard de glyphosate à diverses étapes de la culture. Le sol est protégé lors de la pulvérisation afin d'éviter toute contamination directe. Une heure, 8 jours et 44 jours après l'application, des prélèvements de sol ont été réalisés afin de mesurer les échanges de glyphosate dans le sol. Globalement, 1 heure après aucun glyphosate n'est retrouvé dans le sol 8 jours après l'application, 4 % de la dose appliquée se retrouvent dans le sol et 12 % sont stockés dans les

racines. Un mois après la mise en œuvre, entre 8 % et 12 % de la dose est présente dans le sol en fonction du stade du couvert au moment de l'élimination. De ce fait, l'escargot est donc exposé à toutes les formes de pollution.

Après avoir quantifié les teneurs des polluants dans les escargots collectés dans la région de la Nawa, il est nécessaire de savoir si la variation de la température ou le temps de cuisson pourrait réduire les concentrations de ces polluants dans les escargots. La réduction des polluants (métaux lourds et glyphosate) est fonction de l'élément chimique et de la température. Nos résultats indiquent que l'élévation de la température est inversement proportionnelle aux doses du glyphosate dans la chair de l'escargot *Achatina achatina*. En d'autres termes, plus la température augmente, la concentration du glyphosate diminue. La forte dégradation du glyphosate passant de 0,037 mg/kg (crue) à 0,02 mg/kg (60°C) puis à 0,012 mg/kg (90°C) et à 0,0017 mg/kg (120°C) correspondant à des taux de réduction respectifs de 46 %, 67,57% et 95,4 % pourrait s'expliquer par la forte variation de température étudiée. A cela s'ajoute l'accélération du processus de rupture de liaison entre molécules due au traitement thermique ainsi qu'à d'autres processus tels que la solubilisation dans l'eau (Diaz *et al.*, 2004 ; INRS, 2019). Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par Mamy *et al.* (2013). En effet, ces auteurs ont observé un effet significatif de la température sur la concentration de glyphosate dans les extraits de trois types de sols (Rendzine, le Cambisol calcaire et le Cambisol désaturé) après cinq mois d'incubation.

D'après nos résultats la température semble avoir un impact positif sur la diminution de la teneur du plomb. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Ersoy *et al.* (2006) et Atta *et al.* (1997) qui ont révélé que la cuisson au four entraînait une diminution de la concentration en plomb. Frias-Espericueta *et al.* (2010) abordent dans le même sens en observant une diminution de 32,6% de la concentration de Pb dans *Chrysichtys nigrodigitatus*, après ébullition. Aussi, au cours de leurs travaux portant sur l'effet de la méthode de traitement sur la teneur en métaux lourds, Lee *et al.* (2019) ont conclu que les métaux lourds présents dans les substances alimentaires sont solubles dans l'eau et que leurs taux diminuent pendant le traitement ou la cuisson en milieu aqueux. Ils ont attribué la diminution de la teneur en métal à la perte d'eau à haute température. Aussi, la teneur du cuivre décroît considérablement lorsque la température augmente de 60°C, 90°C et 120°C diminuant respectivement la concentration de 60,8 à 65,22% puis à 82,6%. Ces résultats sont opposés de ceux obtenus par Bassey *et al.* (2014). En fait, ces auteurs soutiennent que les trois modes de cuisson (friture, grillage et ébullition) ont entraîné une augmentation significative des concentrations de Cu dans les

poissons *Polydactylus quadratifilis* (33,3-42,9%), *Cynoglossus senegalensis* (17,2-162,2%) et *Chrysichtys nigrodigitatus* (38-82%).

La teneur de Cd semble augmentée avec l'élévation de la température (0,01 à frais et 0,02 à 120°C mg/kg). Ces résultats corroborent ceux obtenus par Bassey *et al.* (2014) qui ont observé que l'ébullition, la friture et le grillage entraînent une augmentation de la concentration en Cd. Toutefois, nos résultats sont contraires de ceux obtenus par Jorhem *et al.* (1994) qui ont mené une recherche dans laquelle ils ont signalé que la teneur en cadmium des écrevisses diminuait à la cuisson. Cette augmentation de la concentration du cadmium quant à elle pourrait être due selon Gheisari & Albeaino, (2016) et Kalogeropoulos *et al.* (2012) à la perte d'eau résultant de la friture et de l'ébullition. Adamou *et al.* (2019) ont obtenus des résultats similaires lors d'une étude portant sur deux modes de cuisson (ébullition et friture) du céphalopode des escargots *Archachatina marginat* et *Limicolaria* spp. Les méthodes de cuisson (ébullition, cuisson à la vapeur, friture et autres) peuvent modifier les concentrations de métaux toxiques par divers moyens, dont l'évaporation de l'eau et des composants volatils, la solubilisation de l'élément, et/ou également par liaison métallique à d'autres macronutriments présents dans l'aliment comme les hydrates de carbone, les lipides et les protéines (Kobia *et al.*, 2016). En somme, la perte d'eau et du poids pendant le traitement thermique entraîne une modification des substances chimiques et des contaminants inorganiques (Cabanero *et al.*, 2004) et organiques comme le glyphosate.

L'effet du temps de cuisson sur la teneur en polluants diffère d'un élément à l'autre. Concernant le cuivre et le glyphosate diminuent fortement avec l'augmentation du temps de cuisson. L'augmentation du temps de cuisson est inversement proportionnelle aux concentrations de cuivre et de glyphosate dans l'escargot *Achatina achatina*. En effet, des réductions de 90% et 92,95% de concentration en cuivre et en glyphosate sont respectivement obtenues après soixante minutes de cuisson contre 55% et 16,47% pendant trente minutes de cuisson. La forte dégradation du glyphosate pourrait s'expliquer par la sensibilité des liaisons des atomes constituant la molécule de glyphosate par rapport à l'allongement du temps de cuisson conduisant à la rupture de ces liaisons. En d'autres termes, plus le temps de cuisson est long, plus la réduction de la teneur en glyphosate est importante. Quant au cuivre, il est composé d'un seul type d'atome et se combine donc avec de nombreux éléments. La transformation du cuivre en oxyde sous forme d'ions cuivriques de formule Cu^{2+} pourrait expliquer la forte diminution de cet atome. Quant au plomb, l'augmentation de la température et le temps de cuisson réduit sa teneur dans la chair de l'escargot *A. achatina*. Le temps de cuisson a un faible effet sur la

diminution des teneurs de cadmium et de zinc. Ce relatif effet pourrait s'expliquer par une insuffisance de temps pour diminuer la teneur de ces métaux.

Les effets de la température et du temps de cuisson diffèrent d'un polluant étudié à l'autre. Il est donc impératif pour nous de connaître le niveau de risque sanitaire lié à la consommation de ces escargots analysés.

Vu la présence des polluants dans les organes des escargots analysés, une évaluation des risques liée à leur consommation est donc impératif. Les résultats de l'excès de risques individuel des polluants (plomb, cadmium et glyphosate) cancérigène étudiés est inférieure à la VTR (0,01). Cette absence pourrait s'expliquer d'une part par la faible fréquence de consommation de l'escargot et d'autre part, la faible teneur de ces polluants en grandeur nature. L'analyse du danger pour la santé en cas de consommation d'escargots contaminés au plomb, zinc cuivre et au glyphosate ne montre aucun danger pour les populations consommatrices. Par ailleurs, ces quatre polluants ont tous un quotient de danger inférieur à 1. Toutefois, malgré le faible quotient de danger du plomb enregistré autant chez les enfants que les adultes, les consommateurs ne sont pas exempts à l'exposition à ces substances chimiques notamment les enfants du fait que ce métal lourd n'a aucun effet bénéfique pour tout organisme vivant même à très faible quantité (Foster *et al.*, 1996 ; Testud, 2005 ; ATSDR, 2008 ; Robert-Nadeau, 2012). Il est dangereux et toxique pour les êtres humains, avec des effets très nocifs sur les voies urinaires, les nerfs et les organes reproducteurs (Bello *et al.*, 2015 ; Assi *et al.*, 2016 ; Ishaq *et al.*, 2016). En effet, dans la mise à jour de la publication de l'Organisation Mondiale de la Santé (WHO, 2019) consacrée aux substances chimiques, il est estimé que près de la moitié des deux (2) millions de décès enregistrés à travers le monde en 2019 étaient dus à l'exposition aux produits chimiques, en particulier à l'exposition au plomb.

Contrairement aux autres polluants, le quotient de danger du cadmium est supérieur à 1 chez les deux tranches d'âge (adultes et enfants) lors des différents temps de cuisson du céphalopode de l'escargot *Achatina achatina*. Par ailleurs, les enfants sont les plus exposés car ils ont des QD les plus élevés, soit le double de ceux des adultes. Ces résultats s'apparentent de ceux obtenus par Adamou *et al.*, (2019). Hounkpatin *et al.*, (2012) soutiennent que cela s'expliquerait par leur faible poids corporel et leur vulnérabilité physiologique, car les contaminants sont facilement absorbés dans leur corps (Adamou *et al.*, 2019). Effectivement, les enfants peuvent absorber davantage de contaminants et ne peuvent pas les éliminer aussi facilement que les adultes, car leurs systèmes d'élimination sont moins développés (Hounkpatin *et al.*, 2012). Depuis 1950, on connaît chez l'homme la toxicité excessive du cadmium sous le nom de

syndrome d'Itaï-Itaï, qui se caractérise par l'association d'une insuffisance rénale avec l'ostéoporose (déminéralisation et fragilisation des os) et l'ostéomalacie (déminéralisation et déformation des os) avec des douleurs osseuses intenses (Bliefert & Perraud, 2008). Le cadmium est cancérigène et tératogène (Sato *et al.*, 2002 ; Banerjee & Flores-Rozas, 2005). De plus, lorsqu'il pénètre dans le placenta pendant la grossesse, il endommage la membrane et l'ADN (Maobe *et al.*, 2012 ; Kadanga, 2015). Des niveaux élevés du quotient de dangers du Cd obtenu peut induire un dysfonctionnement rénal, des lésions squelettiques et un déficit de reproduction chez les consommateurs (Bujan, 1998 ; Bénoffs *et al.*, 1997 ; Agusa *et al.*, 2005, Ishaq *et al.*, 2016).

Quant au glyphosate, l'apparition d'un effet toxique est très peu probable car son quotient de danger est inférieur à 1. Cependant, il demeure une potentielle menace pour la santé publique. En effet, le glyphosate est cancérigène lorsqu'il est utilisé de façon répétitive même à faible dose (Schinasi & Leon, 2014). A titre d'exemple, le jardinier Dewayne Johnson a fait condamner la firme Monsanto (groupe producteur du glyphosate) à payer 78,5 millions de dollars Américain responsable de son cancer (N'guessan *et al.*, 2022). Par ailleurs, au regard de ce qui précède les localités les plus en danger sont celles de Alakabo, Raphaelkro, et Yabayo. Tandis que celles de Gnititouagui, Noukpodou et Mayakofikro sont les moins exposées.

La réduction des teneurs en métaux lourds et de la substance active au cours des différents modes de cuisson n'est qu'un transfert ou une migration de ces substances chimiques d'un milieu vers un autre notamment de la matière organique (céphalopode) vers le bouillon (sauce) où elles sont directement consommées. Cette assertion corrobore celle de Gheisari & Albeaino, 2016 ; Chang & Delzell, 2016). Selon ces auteurs les métaux lourds ne s'évaporent pas et ne se désintègrent pas en substances inoffensives, mais lorsqu'ils se détachent pendant la cuisson et migrent dans les aliments.

Les résultats d'évaluation des risques révèlent que le cuivre, le zinc le plomb et le glyphosate ne présentent aucun danger pour le consommateur. En revanche le cadmium présente un risque majeur pour les consommateurs. Ainsi, pour réduire le risque de contamination au cadmium par le biais de la consommation d'escargot ; il est impératif que les populations en générale privilégient la consommation des animaux en milieux contrôlés pour ceux qui ne peuvent s'en passer ou réduisent la fréquence de leur consommation.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'objectif général de cette étude est d'évaluer la contamination des escargots par les quelques éléments traces métalliques et le glyphosate. A cet effet, la contamination des escargots comestibles par les polluants a été évaluée à deux niveaux. Il s'est agi de déterminer l'impact du glyphosate sur les escargots *A. achatina* et *A. fulica* à partir d'expérimentation et d'évaluer la contamination par les métaux lourds de l'espèce *Achatina achatina* vivant dans le milieu agricole. Les risques sanitaires liés à la consommation de *A. achatina* contaminé ont été également déterminés. Les résultats de ce travail révèlent que le glyphosate entraîne des altérations comportementales des escargots en occurrence, la réduction de la prise alimentaire aux plus fortes concentrations. Cette molécule perturberait les performances individuelles en modifiant l'acquisition de l'énergie. Ces altérations ont entraîné une diminution significative des paramètres physiologiques tels que le poids vif des escargots et une limitation de la croissance coquillère. Par ailleurs, la comparaison des deux escargots exposés au glyphosate a montré que l'escargot *A. achatina* est plus sensible au glyphosate que *A. fulica*. Relativement à la contamination de *A. Achatina* par les polluants, le Cadmium, le Zinc, le Cuivre, le Plomb et le glyphosate sont présents dans toutes les parties (céphalopode, coquille et viscères) quel que soit l'âge des escargots collectés dans la région de la Nawa. La concentration du glyphosate (1,03 mg/kg) est la plus élevée parmi les polluants analysés. Les plus fortes concentrations sont obtenues dans les escargots prélevés dans le département de Soubré. La chair et les viscères sont des principaux sites de stockage de glyphosate et de cadmium. Quant à la coquille, elle est le lieu d'accumulation du plomb, du cuivre et du zinc.

La température de cuisson a un effet sur tous ces polluants. Les teneurs de glyphosate, de cuivre et de plomb dans la chair des escargots *A. Achatina* sont inversement proportionnels à l'élévation de la température. Quant au cadmium et au zinc, les teneurs augmentent dans la chair avec l'élévation de la température. Dans l'ensemble, le temps de cuisson ne semble pas avoir d'effet sur la réduction des teneurs des métaux lourds analysés. En revanche, la teneur en glyphosate dans la chair des escargots diminue avec le temps de cuisson. Au niveau des risques sanitaires, le cuivre, le zinc, le plomb et le glyphosate ne présentent aucun danger pour les consommateurs d'escargots *A. achatina*. Seul le cadmium présente un risque sanitaire pour tout consommateur, les enfants étant les plus exposés.

Cette étude a permis de mettre en exergue le niveau de contamination des escargots et leur capacité à accumuler différents types de substances actives et métaux lourds. Néanmoins, d'autres études complémentaires s'avèrent nécessaires afin d'explorer d'autres aspects de la

contamination des polluants par ces animaux. Les perspectives de ces travaux sont donc nombreuses et concernent les points suivants :

- ❖ Etendre cette étude aux autres espèces notamment *Archachatina ventricosa*, *Archachatina marginata* ;
- ❖ Elargir l'étude (impacts des produits phytosanitaires...) à d'autres substances actives et métaux lourds ainsi que des cocktails de substances actives sur la croissance et la reproduction des escargots géants. Par exemple une étude comparative entre le 2,4, D et le glyphosate puis leur cocktail ;
- ❖ Mener des études complémentaires afin de déterminer la température exacte à laquelle la concentration du cadmium augmente. Des études futures pourraient également envisager d'identifier le phénomène responsable de cette augmentation.
- ❖ L'hépatopancréas est l'organe important du métabolisme, de l'accumulation, de la biotransformation et de l'excrétion de nombreux xénobiotiques. Il est donc important de mener des recherches afin de déterminer la composition en métabolite (protéines, lipides, glucides) de l'hépatopancréas et les indicateurs du stress oxydants.
- ❖ Elargir l'analyse des polluants dans les escargots à d'autres régions productrices d'escargot.
- ❖ Proposer des méthodes pour la gestion des risques liés à la consommation des escargots ;

REFERENCES

- Abbott R.T. (1990). Compendium of Landshells. A color guide to more than 2.000 of the world's terrestrial shells, 240 p.
- Aboua F. (1990). Chemical composition of *Achatina fulica*. *Tropicultura*, 8(3) : 121-122.
- Aboua F. (1995). Proximate analysis and mineral content of two giant African snails consumed in the Ivory Coast. *Tropical Science*, 35(3) : 220-222.
- Accinelli C., Screpanti C., Vicari A. & Catizone P. (2004). Influence of Insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on the degradation of glyphosate and glufosinate-ammonium in soil samples." *Agriculture Ecosystems & Environment*. 103(3) : 497-507.
- Achuba F.I. (2008). African land snail *Archachatina marginata*, as bioindicator of environmental pollution. *North-Western Journal of Zoology*, 4(1) : 1-5.
- Adamou M.R., Yehouenou P.A. & Edoth P. (2019). Effets de deux méthodes de cuisson sur la concentration des métaux lourds dans la chair des escargots géants Africains. *Bulletin de la Recherche Agronomique du Bénin*, 83 : 33-40.
- Adriano D.C. (2001). Trace Elements in Terrestrial Environments Biogeochemistry, Bioavailability, And Risks. Springer-verlag new york berlin heidelberg 2nd édition. 866 p.
- AFSSET. (2008). Cancer et environnement. Expertise collective. Inserm. France, 871 p.
- Agusa T., Taro M., Tokutaka I., Yasumi A., Reiji K., Genta Y., Takashi K., Shinsuke T., Haruo O. & Yasuyuki S. (2005). Body distribution of trace elements in black-tailed gulls from Rishiri Island, Japan: *Age-dependent accumulation and transfer to feathers and eggs*, 24(9) : 2107–2120.
- Anadón A., Javier P., Martínez M.A., Caballero V., Ares I., Nieto I. & Martínez-Larrañaga M. R. (2008). Neurotoxicological effects of the herbicide glyphosate. *Toxicology Letters* 180 : 32-246.
- Anonyme (2002). Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Comité de la Prévention et de la Protection. 47 p.
- Anonyme (2006). Escargot. Encyclopédie Encarta, Microsoft® corporation 2005.
- Anonyme (2013). Glyphosate : Impacts sur l'environnement. 13 p.
- Anway M.D., Cupp A.S., Uzumcu M. & Skinner M.K. (2005). Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science*. 308(5727) : 1466-1469.
- AOAC. 2003. Official method 999. Lead, cadmium, zinc, copper and iron in foods.

- Aphing K.N.G. (2001). Le tourisme litoral dans le sud-ouest ivoirien, thèse de doctorat de géographie, U.F.R./SHS, (Université de Cocody, Abidjan), 363 p.
- Araujo A.S.F., Monteiro R.T.R. & Abarkeli R.B. (2003). Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere*, 52 : 799–804.
- Arbuckle J.L., Fauss L.J., Simpson R., Ptaszek L.M. & Rodgers K.K. (2001). Identification de deux domaines topologiquement indépendants dans RAG1 et leur rôle dans les interactions macromoléculaires pertinentes pour la recombinaison. *Journal of Biological Chemistry*, 276(40) : 37093-37101.
- Ardoin B.S. (2004). Variabilité hydroclimatique et impacts sur les ressources en eau de grands bassins hydrographiques en zone soudano-sahélienne. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II (France), 440 p.
- Arias-Estévez M., López-Periago E., Martínez-Carballo E., Simal-Gándara J., Mejuto J.C. & García-Río L. (2008). The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture Ecosystems & Environment* 123(4) : 247-260.
- Assi M.A., Hezmee M.N., Haron A.W., Sabri M.Y. & Rajion M.A. (2016). The detrimental effects of lead on human and animal health. *Veterinary World*, 9(6) : 660-671.
- ATSDR (2008). Draft Toxicological Profile for Cadmium. In ATSDR. *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, [En ligne].<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp5.pdf> (Page consultée le 3/07/2024).
- Atta M., El-Sebaie L., Noaman M. & Kassab H. (1997). The Effect of Cooking on the Content of Heavy Metals in Fish (*Tilapia nilotica*), *Food Chemistry*, 58(1) : 1-4.
- Aubert C. (1992). Memento de l'élevage d'escargots. Institut Technique de l'éleveur d'escargots éditeurs (3^{ème} édition) Paris 174p.
- Baer U. & Calvet R. (1999). Fate of soil applied herbicides experimental data and prediction of dissipation kinetics. *Journal of Environmental Quality*, 28 : 1765-1777.
- Baise D. (1997). Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols. France Edition Quea, 408, pages
- Baker M.J.A. & Walker P.L. (1989). Physiological responses of plants to heavy metals and the quantification of tolerance and toxicity, *Chemical Speciation & Bioavailability*, 1(1) : 7-17.
- Baldi I., Mohammed-Brahim B., Brochard P., Dartigues J-F. & Salamon R. (1998). Effets retardés des pesticides sur la santé : état des connaissances épidémiologiques. *Revue d'épidémiologie et Santé Publique*, 46 : 134-142.

- Banerjee S. & Flores-Rozas H. (2005). Cadmium inhibits mismatch repair by blocking the ATPase activity of the MSH2-MSH6 complex. *Nucleic Acids Research*, 33 : 1410–1419.
- Barriuso E., Benoit P. & Dubus I.G. (2008). Formation of pesticide nonextractable (bound) residues in soil magnitude, controlling factors and reversibility. *Environmental Science and Technology*, 42 : 1845- 1854.
- Barriuso E., Calvet R., Schiavon M. & Soulas G. (1996). Les pesticides et les polluants organiques des sols : Transformations et dissipation. *Etudes et Gestion des Sols* : 3(4) : 279-295.
- Batsch. D. (2011). L'impact des pesticides sur la santé humaine. Mémoire de Doctorat, Université de Henri Poincare -Nancy 1 (France), 184 p.
- Bassey F.I., Oguntunde F.C., Iwegbue C.M.A., Osabor V.N. & Edem C.A. (2014). Effects of processing on the proximate and metal contents in three fish species from Nigerian coastal waters. *Food Science & Nutrition*, 2(3) : 272-281.
- Beeby A. & Richmond L. (2002). Evaluating *Helix aspersa* as a sentinel for mapping metal pollution. *Ecological Indicators*, 1(4) : 261-270.
- Beeby A. & Richmond L. (2011). Magnesium and the deposition of lead in the shell of three populations of the garden snail *Cantareus aspersus*. *Environmental Pollution*, 159(6) : 1667-1672.
- Belabed B.E. (2010). La pollution par les métaux lourds dans la région de Annaba "sources de contamination des écosystèmes aquatiques". Thèse de doctorat, Département des Sciences de la Mer, Université Badji Mokhtar (Annaba, Algérie), 180 p.
- Belhaouchet N. (2014). Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution *Helix aspersa* thèse de Doctorat, faculté des sciences département de biologie, Université Badji Mokhtar (Annaba, Algérie), 178 p.
- Bellé N. (2015). Performance-Related Pay and the Crowding Out of Motivation in the Public Sector: A Randomized Field Experiment. *Public Administration Review*, 75(2) : 230-241.
- Bello O., Naidu R., Rahman M.M., Liu Y. & Dong Z. (2015). Lead concentration in the blood of the general population living near a lead-zinc mine site, Nigeria: exposure pathways. *Science of the Total Environment*, 542(Pt A) : 908-914.

- Benachour N. & Séralini G. (2009). Les formulations de glyphosate induisent l'apoptose et la nécrose dans les cellules ombilicales, embryonnaires et placentaires humaines. *Chemical Research in Toxicology*, 22(1) : 97-105.
- Bénoffs S., Hurley I.R., Barcia M., Mandel F.S. & Cooper G.W. (1997). A potential role for cadmium in the etiology of varicocele associated infertility. *Fertility and Sterility*, 67(2) : 336-347.
- Béranger R. (2017). Prématurité et facteurs environnementaux. *Revue de médecine périnatale*, 9(2) : 81-86.
- Berger B. & Dallinger R. (1993). Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, 25 : 65-84.
- Beulke S. & Malkomes H-P. (2001). Effects of the herbicides metazachlor and dinoterb on the soil microflora and the degradation and sorption of metazachlor under different environmental conditions. *Biology and Fertility of Soils*, 33 : 467-471.
- Bibic L., Herzig V., King G.F. & Stokes L. (2019). Development of highthroughput fluorescent-based screens to accelerate discovery of P2X inhibitors from animal venoms. *Journal of Natural Products*. 82 : 2559-2567.
- Bigelow D.S., Slusser J.R., Beaubien A.F. & Gibson J.H. (1998). The USDA Ultraviolet Radiation Monitoring Program, *Bulletin of the American Meteorological Society*, 79 : 601-615.
- Bisson M., Diderich R., Houeix N., Hulot C., Lacroix G., Lefevre J.P., Leveque S., Magaud H., Morin A., Pepin G. & Pichard A. (2011). Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : Cadmium et ses Dérivés. Paris (France) 82 p.
- Bliefert C. & Perraud R. (2008). Chimie de l'environnement : eau air, sol déchets. 2 eme édition France, 478 p.
- Bloomquist J.R. (1996). Chemistry and characteristics. In E. B. RadcliffeHutchison (ED) and W.D. Radcliffe's IPM World textbook. Consulté le 25/09/2024 <http://Ipmworld.umu.edu>, University of Minnesota, St. Paul; MN
- Bolognesi C., Abbondandolo A., Barale R., Casalone R., Dalpr L., De Ferrari M., Degrassi F., Fomi A., Lamberti L., Lando C., Migliore L., Padovani P., Pasquini R., Puntoni R., Shrana I., Stella M. & Bonassi S. (1997). Age-related increase of baseline frequencies of sister chromatid exchanges. chromosome aberrations, and

- micronuclei in human lymphocytes. *Cancer Epidemiology, Biomarkers prevention*, 6 : 149-256.
- Bonnemain B. (2003). "Hélices et médicaments: l'escargot au service de la santé depuis l'Antiquité jusqu'à nos jours.", *Revue d'Histoire de la Pharmacie*, 338 : 211-218.
- Borggaard O.K. & Gimsing A.L. (2008). Fate of glyphosate in soil and the possibility of leaching to ground and surface waters a review. *Pest Management Science*, 64(4) : 441-456.
- Bouchard M.F., Bellinger D.C., Wright R.O. & Weisskopf M.G. (2010). Attention-deficit/hyperactivity disorder and urinary metabolites of organophosphate pesticides, *Pediatrics*, 125(6) : 1270-1277.
- Boucheseiche C., Cremille E., Pelte T. & Pojer K. (2002). Guide technique n°7, pollution toxique et écotoxicologie : notion de base. Lyon, Agence de l'eau Rhône – Méditerranée-Corse, (France) 83 p.
- Bounias M. (199). *Traité de toxicologie générale : du niveau Moléculaire a l'échelle planétaire*. Springer Science & Business Media. pp. 68–70. ISBN 978-2-287-59663.
- Bourbia-Ait H. (2013). Evaluation de la toxicité de la mixture de pesticides sur un biondicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*. Mémoire de doctorat, faculté des sciences département de biologie, Université Badji-Mokhtar (Annaba, Algérie), 177 p.
- Bouziani M. (2007). L'usage immodéré des pesticides. De graves conséquences sanitaires. Le guide de la médecine et de la santé, *Santémaghreb*. (Algérie) (santemaghreb.com) Consulté le 15/04/2023.
- Brescia F., Chardonnet P., de Garine Wichatitsky M. & Jori F. (2002). Les élevages non conventionnels. Mémento de l'agronome, CIRAD-GRET, Montpellier (France), 1617-1646.
- Brookes G. (2014). Weed control changes and genetically modified herbicide tolerant crops in the USA 1996–2012. *GM Crops & Food*, 5(4) : 321–332.
- Brown G.G., Barois I. & Lavelle P. (2000). Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *European Journal of Soil Biology*, 36(3) : 177-198.
- Bujan L. (1998). Environnement et spermatogénèse, *Andrologie* 10(3) : 254-270.
- Bulla L.A. & Cheng T.C. (1997). Biochemical and ultrastructural evidence for the double role of phagocytosis in molluscs: defense and nutrition. *Comparative pathobiology*, 3 : 21-30.

- Cabañero AI, Madrid, Y. & Cámara, C. (2004). Selenium and Mercury Bioaccessibility in Fish Samples: an in vitro digestion method. *Analytica Chimica Acta*, ; 526(1) : 51-61.
- Calvet L-J. & Pierozak I. (1999). Pour une écologie des langues du monde. Paris, Plon, 304 p.
- Calvet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P. & Coquet Y. (2005). Les pesticides dans le sol : Conséquences agronomiques et environnementales. Editions France Agricole, 637 p.
- Camus H. (1969). Hydrologie du bassin du Sassandra. Adiopodoumé : ORSTOM, 61 p.
- Casabé N., Piola L., Fuchs J., Oneto L.M., Pamparato L., Basack S., Giménez R., Massaro R., Papa Juan C. & Kesten E. (2007) Ecotoxicological Assessment of the Effects of Glyphosate and Chlorpyrifos in an Argentine Soya Field. *Journal of Soils and Sediments*, 7 : 232-239.
- Cattaneo R., Clasen B., Loro V.L., de Menezes C.C., Pretto A., Baldisserotto B., Santi A. & De Avila L.A. (2011). Toxicological responses of *Cyprinus carpio* exposed to a commercial formulation containing glyphosate. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 87 : 597-602.
- Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec. (1998). Procédure d'évaluation du risqué écotoxicologique pour la réhabilitation des terres contaminées. Ministère de l'Environnement et de la faune, Gouvernement du Québec, 139 p.
- Chang E.T. & Delzell E. (2016). Systematic review and meta-analysis of glyphosate exposure and risk of lymphohematopoietic cancers. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51 : 402–434.
- Charles F. (2012). Découvrir le monde de la nature et des objets avant six ans à l'école maternelle. Thèse de doctorat, Université Paris, 489p.
- Chevalier H. (1985). L'élevage des escargots : production et préparation du petit gris. Edition du Point Vétérinaire, Paris, 128 p.
- Chevalier H. (1992). L'élevage des escargots : production et préparation du petit gris. Edition du Point Vétérinaire, Paris 128 p.
- Cheng T.C. & Sullivan J.T. (1984). Effets of heavy metals on phagocytosis by molluscan hemocytes. *Marine Environmental Research*, 14 : 305-315.
- Chris M., Cater M.A., Mercer J.F.B. & Sharon la fontaine. (2006). Copper deppent interaction of glutaredoximwith the Ntermini of the copperATpases (ATP7A and ATP7B) defective in Menkes and wilsonsdiseases. *Biochemical and biophysical research communication*, 348(2) : 428-436.

- Chubilleau C., Comte J., Ben-Brik E., Pubert M., Hulin A., Leonard S., Giraud J. & Ingrand P. (2012). Étude écologique du lien entre pesticides et mortalité en Poitou-Charentes entre 2003 et 2007. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 73(3) : 553-554.
- Chukwujindu M.A., Iwegbue., Francis O., Arimoro., Godwin E., Nwajei. & Osa Eguavoen. (2009). Heavy metal content in the african giant snail *archachatina marginata* (swainson, 1821) (gastropoda: Pulmonata : Achatinidae) in southern nigeria. *Folia Malacologica*. 16(1) : 31–34.
- Cobbinah J.C., Adri V. & Ben O. (2008). L'élevage d'escargots : Production, transformation et commercialisation. *Fondation Agromisa*, Première édition, Wageningen, (Pays-Bas), 84 p.
- Cobbinah J.R. & Kankam B.O. (2000). Rearing of the giant African snail for food. In : acte du séminaire international sur l'élevage intensif de gibier à but alimentaire en Afrique, Libreville (Gabon) 89-96.
- Cobbinah J.R. (1993). Snail Farming in West Africa: A Practical Guide. ISBN 9789290811022, 56 p.
- Codjia J.T.C. & Noumonvi R.C.G. (2002). Les escargots géants. Guide technique d'élevage n°2, 21 p.
- Coeurdassier M. (2001). Utilisation de mollusques gastéropodes pulmonés terrestres (*Helix aspersa*) et aquatiques (*Lyminia stagnalis* et *Lyminia palustris*) comme indicateurs de pollution par les éléments métalliques et les xénobiotiques. Thèse Université Franche Comté, France, 281 p.
- Cook W.T. & Wall K. (1979). Scales for measurement of some work attitudes and aspects of psychological well-being. *Journal of Occupational Psychology*, 52 : 129-148.
- Cortet J., Gomot de Vaufleury A., Poinot-Balaguer N., Gomot L., Texier C. & Cluzeau D. (1999). The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35 (3) : 115-134.
- Coughtrey P.J.M. & Martin M.H. (1976). The distribution of Pb, Zn, Cd and Cu within the pulmonate mollusc *Helix aspersa* müller, *Oecologia* 23(4) : 315-322.
- Cox A., Watson G., Lonsdale C. & Sanderson J. (2006). Managing appropriately in power regimes: relationship and performance management in 12 supply chain cases. "Managing appropriately in power regimes: relationship and performance management in 12 supply chain cases", *Supply Chain Management: An International Journal*, 9(5) : 357-371.

- CPP (2002). Risque sanitaire liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Rapport du ministère de l'environnement Paris. 47 p.
- Creswell D.C. & Kompang I.P. (1981). Studies on Snail Meal as a Protein Source for Chickens.: 1. Chemical Composition, Metabolizable Energy, and Feeding Value for Broilers. *Poultry Science*, 60(8) : 1854-1860.
- Dafem R., Ngoula F., Tegua A., Kenfack A. & Tchoumboue J. (2008). Performances de reproduction de l'escargot géant africain *Archachatina marginata* en captivité au Cameroun. *Tropicultura*, 26(3) : 155-158.
- Dallinger R. & Wieser W. (1984). Patterns of accumulation, distribution and liberation of Zn, Cu, Cd, and Pb in different organes de l'escargot terrestre *Helix pomatia*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 79 : 117-124.
- Dallinger R. (1993). Strategies of metal detoxification in terrestrial invertebrates. In *Ecotoxicology of metals in invertebrates*, Lewis Publishers, 245-289.
- Dallinger R., Berger B., Triebkorn-Köhler R. & Köhler., H. (2001). Soil biology and ecotoxicology, in: Barker, G.M. (Ed.), and the biology of terrestrial molluscs. CABI, Wallingford, Royaume Uni 489-525.
- Defarge N. (2016). Co-Formulants in Glyphosate-Based Herbicides Disrupt Aromatase Activity in Human Cells below Toxic Levels, International. *Journal of Environmental Research and Public Health*, 13(3) : 264.
- Diaz O.P.I., Leyton O., Munoz N., Nunez V., Devesa M.A., Suner D., Velez D. & Montoro R. (2004). Contribution of Water, Bread, and Vegetables (Raw and Cooked) to Dietary Intake of Inorganic Arsenic in a Rural Village of Northern Chile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6) : 1773-1779.
- Diomande M., Kipre A.V., Koussemon M. & Kamenan A. (2008). Substitution de la farine de poisson par celle d'escargots *Achatina fulica* dans l'alimentation des poules pondeuses en Côte d'Ivoire. *Livestock Research for Rural Development*, 20(2) pp.2023 ref.19<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd20/1diom20002.htm>
- Dor F. & Zmirou D. (2005). Estimation de l'impact sanitaire d'une pollution environnementale et évaluation quantitative des risques sanitaires. Rapport final, InVS/Afsse, 170 p.
- Druart C. (2011). Effets des pesticides de la vigne sur le cycle biologique de l'escargot dans divers contextes d'exposition. Thèse de Doctorat, UFR sciences et techniques, Université de Franche-Comté, (France) 327 p.

- Druart C., Millet M., Scheifler R., Delhomme O., Raappel C. & De Vaufleury A. (2011). Snails as indicators of pesticide drift, deposit, transfer and effects in the vineyard. *Science of The Total Environment* 409 : 4280-4288.
- Dubey B.L., Dwivedi P., Cassell W.A. & Sahay M. (1993). Projective Value of Somatic Inkblot Series-II in a Case of Stammering. *Journal of Personality and Clinical Studies*, 8: 173-176.
- Eberbach P.L. (1999). Influence of incubation temperature on the behavior of triethylamine-extractable glyphosate (N-phosphonomethylglycine) in four soils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2459-2467.
- Ecobichon D.J. (2001). Utilisation de pesticides dans les pays en développement. *Toxicology*, 160 : 27-33.
- Eeva T., Rainio K. & Suominen O. (2010). "Effects of pollution on land snail abundance, size and diversity as resources for pied flycatcher, *Ficedula hypoleuca*." *Science of the Total Environment*, 408(19) : 4165-4169.
- Eggestad M., Ange E., Hjeilord O. & Shlgaard V. (1988). Glyphosate application in forest-ecological aspects. VIII. The effect on Black Grouse (*Tetrao tetrix*) summer habitat. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 3 : 129-135.
- Eijsackers H. (2010). Earthworms as colonisers: Primary colonisation of contaminated land, and sediment and soil waste deposits. *Science of the Total Environment*. 408 : 1759-1769.
- Ersoy B., Yanar Y., Kucukgulmez A. & Celik M. (2006). Effects of four cooking methods on heavy metal concentrations of sea bass fillets (*Dicentrarchus labra* finne, 1785) *Food Chemistry*, 99(4) : 748-751.
- Ezzughayyar A. & Swaileh K. (2000). Effets du Cd et du Cu alimentaires sur les taux d'alimentation et de croissance de l'escargot *Helix engaddensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47(3) : 253-260.
- Farahat M.T., Abdelrasoul G.M., Amr M.M., Schebl M.M., Farahat F.M. & Anger W.K. (2003). Neurobehavioural effect among workers occupationally exposed to organophosphorous pesticides. *Occupational and Environmental Medicine*. 60 : 279-86.
- Fergusson J.E. (1990) *The Heavy Elements: Chemistry, Environmental Impact, and Health Effects*. Pergamon Press, Oxford, .614 p.

- Ferragu C., Tron I. & Bompays S. (2010). Pesticides et santé : état des connaissances sur les effets chronique en 2009. ORS Bretagne, 120 p.
- Folmar L.C., Sanders H.O. & Julin A.M. (1979). Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 8 : 69-278.
- Foster W.G., McMahon A. & Rice D.C. (1996). Subclinical changes in luteal function in cynomolgus monkeys with moderate blood lead levels. *Toxicology Health*, 16 : 159-163.
- Frias-Esperricueta M.C.O., Quintero-Alvarez J.M., Osuna-Lopez J.I., Sanchez-Gaxiola C.M., Liopez-Lopez G. & Izaguime-Fierro G. (2010). Metal contents of four commercial fish species of NW Mexico. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 85 : 334-338.
- Fritz C., Tosello G., Fleury G., Kasarhérou E., Walter P., Duranthon F., Gaillard P. & Tardieu J. (2021). First record of the sound produced by the oldest Upper Paleolithic seashell horn. *Science Advances*. 7 (7), eabe9510. doi: 10.1126/sciadv.abe9510
Consulté le 05/07/2023
- Gasnier C., Dumont C., Benachour N., Clair E., Chagnon M.C. & Seralini G.E. (2009). Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. *Toxicology* 262 : 184-191.
- Gboko D A., Aka N., Keumean K.N. & Soro N. (2022). Suivi de la qualité physico-chimique des eaux du Sassandra à la station hydrométrique de Gaoulou, Sud-ouest de la Côte d'Ivoire Afrique. *Science* 21(3) (2022) 127 : 127-141.
- Gheisari M. & Albeaino G. (2016). Trends, benefits, and barriers of unmanned aerial systems in the construction industry: a survey study in the United States. *Journal of Information Technology in Construction*. 26 : 1874-4753.
- Girard G., Sircoulon J. & Touchebeuf P. (1970). Aperçu sur les régimes hydrologiques de Côte d'Ivoire. *Office de la Recherche Scientifique et Technique d'Outre-Mer* : 56 p.
- Glasby G.P., Szefer P., Geldon J. & Warzocha J. (2004). Heavy-metal pollution of sediments from Szczecin lagoon and the Gdansk Basin, Poland. *Science of the Total Environment*, 330 : 249-269.
- Gluszczak L., Dos Santos M.D., Crestani M., Da Fonseca M.B., De Araújo P.F., Duarte MF. & Vieira V.L.P. (2006). Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase

- activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 65 : 237-241.
- Gluszczak L., Dos Santos M.D., Moraes B.S., Simões R.R., Schetinger M.R.C., Morsch V.M. & Loro V.L. (2007). Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*) *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 146 : 519-524.
- Godet J.P. (2010). Intérêt des isopodes terrestres dans l'évaluation de la qualité des sols : recherche de paramètres indicateurs de la pollution par des éléments traces métalliques et contribution à la mise au point d'un outil écotoxicologique de terrain. Thèse de Doctorat, Université de Lille 1, France, 231 p.
- Gohl B.O. (1985). Tropical feeds. F.A.O. (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 433.
- Gomot A. & Pihan F. (1997). Comparaison of the bioaccumulation capacities of copper and zinc among two snail's subspecies (*Helix*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 38 : 85-94.
- Gomot A. & Pihan F. (2002). Methods for toxicity assessment of contamination soil by oral or dermal uptake in land snails: metal bioavailability and bioaccumulation. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 21 : 820-827.
- Gomot A. (1998). Biochemical composition of helix snails: influence of genetic and physiological factors. *Journal of Molluscan Studies*, 64(2) : 173–181.
- 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.
- Gomot-de Vaufleury A. & Bispo A. (2000). Methods for Toxicity Assessment of Contaminated Soil by Oral or Dermal Uptake in Land Snails. 1. Sublethal Effects on Growth. *Environmental Science and Technology*, 34(9) : 1865-1870.
- Gomot-de Vaufleury A. & Pihan F. (2000). Growing snails used as sentinels to evaluate terrestrial environment contamination by trace elements. *Chemosphere*, 40(3) : 275–284.
- Gore A.C., Chappell V.A., Fenton S.E., Flaws J.A., Nadal A., Prins G.S., Toppari J. & Zoeller R.T. (2015.) Executive Summary to EDC-2, The Endocrine Society Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals, *Endocrine Reviews*, 36(6) : 593-602.

- Gorse I. & Rivard L. (2011). Bilan des ventes de pesticides au Québec pour l'année 2008, Québec, rapport du Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 85 p.
- Gorse I. (2006). Bilan des ventes de pesticides au Québec pour l'année 2002, Québec, rapport du Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, 70 p.
- Goyer R. A. (1990). Transplacental transport of lead. *Environmental Health Perspectives*, 89: 101–105.
- Goyer R.A. & Clarkson T.W. (2001) Toxic Effects of Metals. In: Klaasen, C.D., Ed., Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 6th Edition, McGraw-Hill, New York, pp 861-867.
- Grandjean E., Hunting W. & Pidermann M. (1983). "VDT Workstation Design: Preferred Settings and their Effects." *Human Factors*, 25 (2) : 161–175.
- Grara N., Atailia A., Boucenna M., Khaldi F., Berrebbah H. & Djebbar M.R. (2012). Effects of heavy metals on the snail *Helix aspersa* bioindicators of environmental pollution for human health. *International Conference on Applied Life Sciences*, 7(12) : 4733-4741.
- Grara N., Boucenna M., Atailia A., Berrebbah H. & Djebbar M.R. (2012). Etude expérimentale de la bioaccumulation des éléments traces métalliques (Cu, Pb, Cd et Zn) chez l'escargot *Helix Aspersa*. *Journal of Materials and Environmental Science* 34 (2) : 183-187.
- Grara N., Atailia A., Boucenna M., Berrebbah H. & Djebbar M. (2016). Etude biochimique et histopathologique de la toxicité des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord- Est Algérien) chez *Helix aspersa* (Biochemical and Histopathology study of the toxicity of metal dust emitted by the Annaba steel complex in Northeastern Algeria in the snail *Helix aspersa*) *Journal Mater Environment Sciences*. 7 (12) : 4733-4741.
- Gunarathna S., Gunawardana B., Jayaweera M., Manatunge J. & Zoysa K. (2018). Glyphosate and AMPA of agricultural soil, surface water, groundwater and sediments in areas prevalent with chronic kidney disease of unknown etiology, Sri Lanka. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 53(11) : 729-737.
- Guyton K.Z., Loomis Da., Grosse Y., El G., Fatihah., Benbrahim-Talla L.; Guha N., Scoccianti C., Mattock H. & Straif K. (2015). Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate. *The Lancet Oncology*, 16(5) : 490-491.

- Hamel P. (1986). Une technique de lutte chimique contre *Eupatorium odoratum* pour les replantations de palmier à huile. *Oléagineux*. 41(6) : 263-267.
- Hammoud R. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne de l'homogénat du gastéropode *Hilex aspersa*. Thèse de Magister : microbiologie Appliquée et Biotechnologie Microbienne. Université de Constantine1, 81p.
- Hamza-Chaffai A., Amiard J.C., Pellerin J., Joux L. & Berthet, B. (2000). The potential use of metallothionein in the clam *Ruditapes decussatus* as a biomarker of in situ metal exposure. *Comparative biochemistry and physiology Part C*, 127 : 185-197.
- Hardouin J, Stievenart C. & Codjia J.T.C. (1995). L'achatiniculture. *Revue Mondiale de Zootechnie*, 83 : 29-39.
- Heikens A., Peijnenburg W. & Hendriks J. (2001). Bioaccumulation of heavy metals in terrestrial invertebrates. *Environmental Pollution*, 113(3) : 385-930.
- Heller T. (1983). The effects of involuntary residential relocation: A review. *American Journal of Community Psychology*, 10 : 471-492.
- Hodasi J.K.M. (1979). Life history studies of *Achatina achatina*. *Journal of Molluscan Studies*, 45 : 328-339.
- Hodasi J.K.M. (1984). Some observations on the edible giant snails of West Africa. *Word Animal Review*, 52 : 24-28.
- Hodasi J.K.M. (1979). Effects of different types of food on the growth of *Achatina achatina*. Abstracts 12th International Malacological Congress, Vigo 1995 (Guerra A., Rolan E. & Rocha F., Eds.): pp 488-489.
- Hokanson R., Fudge R., Chowdhary R. & Busbee D. (2007). Alteration of estrogen-regulated gene expression in human cells induced by the agricultural and horticultural herbicide glyphosate. *Human and Experimental Toxicology*, 26 : 747-752.
- Hornus P. (1990). Désherbage chimique des ronds de palmiers adultes : Technique de bas volume. *Oléagineux*. 45(6) : 295-299.
- Hornus P., Nguimjeu E., Kouotou M. & Kanga E. (1990). Entretien chimique des ronds de palmier à huile. Essais herbicides: glyphosate/ glufosinate, *Oléagineux*. 45(2) : 57-61.
- Horowitz D. (1985). Ethnic Groups in Conflict. *The Journal of Asian Studies* , 47 (4) : 839-841.
- Hounkpatin A.S.Y., Edorh A.P., Salifou S., Gnandi K., Koumolou L., Agbandji L., Aissi K.A., Gouissi M. & Boko M. (2012). Assessment of exposure risk to lead and cadmium

- via fish consumption in the lacustrine village of Ganvié in Benin republic. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 4(1) : 1-10.
- IARC (2012a). Cadmium and Cadmium Compounds. In IARC. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, [En ligne]. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mono100C-8.pdf> (Page consultée 21/07/2024).
- IARC. (2012b). Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–105. In IARC. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans*, [En ligne]. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf> (Page consultée le 14 février 2012).
- Imevbore E.A. & Ajayi S.S. (1993). Food preference of the African giant snail (*Archachatina marginata*) in captivity. *African Journal of Ecology*, 31(3) : 265-267.
- INERIS. (2011). Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : Cadmium et ses dérivés. Ineris-DRC-01-25590-V1, Version N°3.2septembre.
- INRS (2019). Base de données fiches toxicologiques. Paris 3ème édition. www.inrs.fr/fichetox
- INS (2021). Recensement General de la Population et de l’Habitat résultats globaux: régions de la Nawa, 37 p.
- Inserm. (2013). Pesticides : effets sur la santé. Expertise collective, Paris, (France), 1014 p.
- Ireland M.P. (1991). The effect of dietary calcium on growth, shell thickness and tissue calcium distribution in the snail *Achatina fulica*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A : Physiology*, 98 (1) : 111–116.
- Ishaq S.E., Raymond A.W. & Utibe J.A. (2016). Trace Metals Levels in African Giant Land Snails (*Achatina achatina*) from Selected Local Government Areas in Akwa Ibom State, Nigeria. *Open Access Library Journal*. Volume 3 | e2244 doi
- Ismert M., Oster T. & Bagrel D. (2002). Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in the snail *Helix aspersa*. *Chemosphere*, 46 : 273-280.
- Jahnke B., Frank C., Fernández J.F. & Niemeyer B. (2015). A sequential injection analysis method for the determination of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in water samples. *American Chemical Science Journal*, 5(2) : 163-173.
- Jaskulski D. & Jaskulska I. (2014). The effect of pre-harvest glyphosate application on grain quality and volunteer winter wheat. *Romanian Agricultural Research*, 31: 283-289.

- Jayasumana C. (2015). Drinking well water and occupational exposure to Herbicides is associated with chronic kidney disease, in Padavi-Sripura, Sri Lanka, *Environmental Health*, 14:6. [En ligne]
- Jeschke P., Nauen R., Schindler M. & Elbert A. (2011). Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of agriculture of food chemistry*, 59(2) : 897-908.
- Jess S. & Marks R.J. (1998). Effect of temperature and photoperiod on growth and reproduction of *Helix aspersa* var. maxima. *Journal of Agricultural Science*, 130 : 367-372.
- Johannessen L.E. & Solhoy T. (2001). Effects of experimental increased calcium levels in the litter on terrestrial snail populations. *Pedobiologia* 45(3) : 234-242.
- Jorhem L. Engman J., Sundstrom B. & Thim A.M. (1994). Traces elements in crayfish: regional differences and changes induced by cooking *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 26(2) : 137-142.
- Jourda J.P.R. (2009). Etude de faisabilité des forages manuels en Côte d'Ivoire : collecte, organisation et analyse des données en vue de la définition des zones favorables. Rapport Préliminaire, UFR-STRM, Laboratoire de Télédétection et de l'Analyse spatiale Appliquée à l'Hydrogéologie (Abidjan, Côte d'Ivoire), 54 p.
- Junghans M. & Aicher L. (2017). Évaluation (éco)toxicologique du glyphosate – un produit phytosanitaire fait débat. Fiche d'information consulté le 21/01/2021. 3p.
- Kabata-Pendias A. (2001). Trace elements in soils and plants. Third edition. Floride USA. 432 p.
- Kadanga B. (2015). Determination of some heavy metals and investigation of nutritional composition in three species of snails (*Achatina fulica*, *Archachatina marginata*, *Limicolaria flammea*). M.Sc. Thesis at Open Access Institutional Repository at Ahmadu Bello University (Niger), p 36-47.
- Kalogeropoulos N.S., Karavoltzos A., Sakellari S., Avramidou N., Dassenakis M. & Scoulla. (2012). Heavy metals in raw, fried and grilled Mediterranean finfish and shellfish. *Food and Chemical Toxicology*. 50 : 3702-3708.
- Karl H., Summera J.L. & Nathan B.M. (2011). The biogenic methanobactin is an affective chelator for copper in a rat model for Wilson disease. *Journal of trace element in medicine and biology*. 25 : 36-41.

- Kobia J., Emikpe B.O., Asare D.A., Asenso T.N., Yeboah R., Jarikre T.A. & Afusat J-J. (2016). Effects of Different Cooking Methods on Heavy Metals Level in Fresh and Smoked Game *Journal of Food J Processing & Technology*, 7(9).
- Kolb D.A. (1984). Experiential Learning: Experience As The Source Of Learning And Development. *Journal of Business Ethics* (1) : 256 p.
- Kouassi K.D., Otchoumou A. & Gnakri D. (2008). Le commerce des escargots (*Achatina achatina*), une activité lucrative en Côte d'Ivoire. *Livestock Research for Rural Development*, 20 (4), 2009. Consulté le 04/07/2023
- Krüger M., Schledorn P., Schrödl W., Hans-Wolfgang H., Lutz W. & Shehata A.A. (2014). Detection of Glyphosate Residues in Animals and Humans. *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*. 4 : 210.
- La Rocca B.V. (2004). Mise au point et validation, sur sites contaminés, (ETM-HAP) d'un test de biosurveillance en microcosme : croissance et bioaccumulation par le gastéropode terrestre *Helix aspersa aspersa*. Thèse de doctorat, l'université de Metz, 266 p.
- Laskowski R. & Hopkin, S.P. (1996 a). Effect of Zn, Cu, Pb, and Cd on Fitness in Snails (*Helix aspersa*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34 : 59-69.
- Laskowski R. & Hopkin S.P. (1996 b). Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd in the garden snail *Helix aspersa*: implications for predators. *Environmental Pollution*, 9 : 289-297.
- Lawrence A.J., Arukwe A., Moore M., Sayer M. & Thain J. (2003) Molecular/Cellular Processes and the Physiological Response to Pollution. Oxford, England: 83-133.
- Le Bras G.J. (2007). Ecotoxicologie et méthodes d'investigation : bio-indicateurs, mémoire de master, Université de Lille, 87 p.
- Le Roux L., Manceau O., Viannay H., Diverrès R., Falchier M. & De Rouvre. (2000). La protection fongicide des céréales d'hiver. Chambres d'Agriculture de Bretagne, France, 20 p.
- Lee J., Hwang J., Lee H., Kim T., Choi J. & Gang G. (2019). Effects of food processing methods on migration of heavy metals to food. *Applied Biological Chemistry*, 62(1) : 64
- Lennartz B., Kamra S. & Meyer-Windel S. (1997). Field scale variability of solute transport parameters and related soils properties. *Hydrology and earth system Sciences*. 4 : 801-811.
- Leon M.E., Schinasi L.H., Lebailly P., Beane F., Laura E., Nordby K-C., Ferro G., Monnereau A., Brouwer M., Tual S., Baldi I., Kjaerheim K., Hofmann J.N., Kristensen P., Koutros S., Straif K., Kromhout H. & Schüz J. (2019). Pesticide use and risk of

- non-Hodgkin lymphoid malignancies in agricultural cohorts from France, Norway and the USA: a pooled analysis from the AGRICOH consortium). *International Journal of Epidemiology*, 48(5) : 1-17.
- Lock K. & Janssen C.R. (2001). Cadmium toxicity for terrestrial invertebrates: Taking soil parameters affecting bioavailability into account. *Ecotoxicology*, 10 : 315-322.
- Louchard X., Voltz M., Andrieux P. & Moussa R. (2001). Herbicide transport to surface waters at field and watershed scales in a Mediterranean vineyard area. *Journal of Environmental Quality*, 30(3) : 982-990.
- Loué A. (1993). Oligo-éléments en agriculture. 2e éd. Paris : SCPA : Nathan, (France), 577p
- Lupi F., Gentile L., Gabriele D., Mazzulla S., Badino N. & Cindio B. (2015). Olive oil and hyperthermal water bigels for cosmetic uses. *Journal of Colloid and Interface Science* 459 : 70-78.
- Maanan M., Zourarah B., Carruesco C., Aajjane A. & Naud J. (2004). The distribution of heavy metals in the Sidi Moussa lagoon sediments (Atlantic Moroccan Coast). *Journal of African Earth Sciences* 39 : 473-483.
- Mamy L., Barriuso E. & Gabrielle B. (2013) : Effet de la température sur le devenir des pesticides dans les sols et conséquences pour l'évaluation des risques environnementaux : Cas du glyphosate et des herbicides sélectifs. *Etude et Gestion des Sols*, 20 (2) : 39-54.
- Mamy S. & Didier B. (2004). Gestion spatiale de la diversité variétale en réponse à la diversité écosystémique : le cas du sorgho (*Sorghum bicolor* Moench) au Mali. *Cahiers Agricultures*, 13 (6) : 480-487.
- Mangara A., Kouame N. M.T., Soro K., N'da A.A., Gnahoua G.M. & Soro D. (2014). Test d'efficacité d'un herbicide en culture d'ananas et de production d'Anguédedou en Côte d'Ivoire. *Journal of Applied Biosciences* (80) :7161-7172.
- Maobe M., Gatebe E., Gitu L. & Rotish H (2012). Profile of heavy metals in selected medicinal plants used for the treatment of diabetes, malaria and pneumonia in Kisii region, Southwest Kenya. *Global Pharmacology*, 6(3) : 245-251.
- Marc J. (2004). Effets toxiques d'herbicides à base de glyphosate sur la régulation du cycle cellulaire et le développement précoce en utilisant l'embryon d'oursin. Thèse de doctorat, Université de Rennes 1, 149 p.
- Marchand, M. & Kantin, R. (1997). Les métaux traces en milieu aquatique. *Océanis*. 23(4) : 595-629.

- Mari N. (2018). Les pesticides dans l'air ambiant : Synthèse des résultats 2012-2015, rapport d'observatoire des Résidus de Pesticides en Provence-Alpes-Côte d'Azur, 18 p.
- Marigomez J.A., Angulo E. & Moya, J. (1986). Copper treatment of the digestive gland of the slug *Arion ater* L. 1. Bioassay conduction and histochemical analysis. *Bulletin of Environmental Toxicology*, 36 : 600-608.
- Marigomez I., Soto M., Cajaraville M.P., Angulo E. & Giamberini L. (2002). Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microscopy Research and Technique*, 56(5) : 358-392.
- Martin P. (2008). Influence de la fragmentation forestière sur la régénération des espèces arborées dans le Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire. Thèse de doctorat, Université Genève, Suisse), 320 p.
- Massilia GR., schinina M.E. & Ascenzi P. (2001). <<Contriphan Vn. A novel peptide from the venom mediterranean snail *conus ventricosus*>>. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 288(4) : 908-913.
- Mazin V., Cuniasse B. & Le Borgne G. (2020). Polluants organiques persistants. Rapport Secten- Citepa, Édition 2020, 28 p.
- Mbétid-Bessane E. (2006). Analyse de la filière des escargots comestibles dans la Région de l'Equateur en République Centrafricaine. *Tropicultura*, 24(2) : 115-119.
- Mehouel F. (2020). Contamination de la sardine et de l'espadon par les métaux lourds et évaluation du risque d'exposition, Thèse de Doctorat, Université SAAD Dahlab Blida 1, Institut des scences vétérinaires, 232 p.
- Meister A. & Alton. (1984). The metallobiochemistry of zinc enzymes. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 5 : 283-430.
- Merhi M. (2008). Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faible dose : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorat de Toulouse, France, 140 p.
- Mesnager R., Bernay B. & Seralini G.E. (2013). Ethoxylated adjuvants of glyphosate-based herbicides are active principles of human cell toxicity. *Toxicology*, 313 (2-3) : 122-128.
- Mesnager R.N. Defarge J., Spiroux de Vendômois. & Seralini G.E. (2015). Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits – Review, *Food and Chemical Toxicology*, 84 : 133-153. 16.
- Mioulane A. (1989). L'élevage des escargots : manuel pratique. Edition de Vecchi, Milan, Italie, 111 p.

- Miquel M.G. (2001). Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport 261, Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques, paris France, 365 p.
- Modrzewska B. & Wyszowski M. (2014). Trace metals content in soils along the state road 51 (northeastern Poland). *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(4): 2589-2597.
- Monosson E., Kelce W.R., Lambright C., Ostby J. & Gray L.E.J. (1999). Peripubertal exposure to the antiandrogenic fungicide, vinclozolin, delays puberty, inhibits the development of androgen-dependent tissues, and alters androgen receptor function in the male rat. *Toxicology and Industrial Health* 5(2) : 65-79.
- Multigner L. (2005). Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, Risques et Santé*, 4(3) :187-194.
- Myers A. (2016). Concerns over use of glyphosate-based herbicides and risks associated with exposures: a consensus statement, *Environmental Health*, 15(19) : 1-13.
- N'da K., Otchoumou A. & Koffi K.J-C. (2004). Alimentation à base de produits du papayer et maturation ovocytaire chez *Achatina fulica* (Bowdich, 1820) en Côte d'Ivoire. *Tropicultura*, 22(4) : 168-172.
- N'guessan O., Kouassi D., Yapi A.C. & Kouamé.V. (2022). Evaluation de la bioaccumulation des métaux lourds et du glyphosate chez l'escargot *Achatina achatina* (LINNE 1758) collecté sous les cacaoyers dans la localité de Soubré (sud-ouest de la Cote d'Ivoire). *Agronomie Africaine* 34 (1) : 93-100.
- N'Guessan N. Kouassi K.D., Kouamé K.V., Yapi D.A.C. & Kouadio K.N. (2023). determination of heavy metals and glyphosate in *achatina achatina*(snails) collected in nawa region (south western côte d'ivoire) and evaluation of the health risks with their consumption. *International Journal of Current Advanced Research*, 12(01) : 1802-1807.
- Ndabalishye I. (1995). Agriculture vivrière Ouest-Africaine à travers le cas de la Côte d'Ivoire. Monographie, IDESSA, Bouaké, Côte d'Ivoire, 384 p.
- Neumann M., Liess M. & Schulz R. (2003). A qualitative sampling method for monitoring water quality in temporary channels or point sources and its application to pesticide contamination. *Chemosphere*. 51(6) : 509-513.
- Niemann L. (2015). A critical review of glyphosate finding in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumer. *Journal Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 10 : 3-12

- Notten M.J.M., Oosthoek A.J., Rozema J. & Aerts R. (2005). Heavy metal concentrations in a soil-plant-snail food chain along a terrestrial soil pollution gradient. *Environmental Pollution*, 138 : 178-190.
- Nriagu J.O. & Pacyna J. (1988). Quantitative assessment of worldwide contamination of air, water and soils by trace metals. *Nature*, 333 : 134-139.
- Nriagu J.O. (1978). Lead in soils sediments and major rock types. (Ed.), *The Biogeochemistry of Lead in the Environment*, Biomedical Press, Amsterdam Hollande p 15-72.
- O'Dji. (1998). La “gastéropoudre” d'escargot enrichit les sauces. SYFIA: Bulletin de presse. Décembre 1998, 12 p.
- Oerke E. & Dehne H. (1997). Global crop production and the efficacy of crop production current situation and futures trends. *European Journal of Plant Pathology*. 103 : 203-215.
- Oliva A., Spira A. & Multigner L. (2001). Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Human Reproduction*, 16(8) : 1768-1776.
- Omole A.J., Saka J.O., Sansi J.A.A., Ogundola F.I. & Adebawale E.A. (2000). Management practices in snail farming in Ibadan. *Oyo State*, 1(1) : 86.
- ONU. (1981). Année Internationale de la jeunesse : participation, développement, paix. Rapport du Secrétaire général, Assemblée générale, 57 p.
- Otchoumou A. (1997). Etude de trois espèces d'escargots comestibles de forêts hygrophiles humides de l'Est de la Côte d'Ivoire *Achatina achatina* (Linné), *Achatina fulica* (Bowdich) et *Archachatina marginata* (Swainson) variété *ventricosa*: reproduction et croissance en milieu naturel et en élevage. Thèse de Doctorat de 3e cycle, Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire), 110 p.
- Otchoumou A. (2005). Effet de la teneur en calcium d'aliments composés et de la photopériode sur les performances biologiques chez trois espèces d'escargots Achatinidae de Côte d'Ivoire élevées en bâtiment. Thèse de Doctorat d'Etat ES-Sciences Naturelles en Biologie et Ecologie Animales, Université d'Abobo Adjamé, (Abidjan, Côte d'Ivoire), 171 p.
- Paganelli A., Gnazzo V., Acosta H., López S.L. & Carrasco A.E. (2010). Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signalling. *Chemical Research in Toxicology*, 23 : 1586-1595.
- Peijnenburg W., Baerselman R., de Groot A., Jager T., Leenders D., Posthuma L. & Van Veen, R. (2000). Quantification of metal bioavailability for Lettuce (*Lactuca sativa* L.) in

- field soils. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39 : 420-430.
- Phaceli A.E.D., Koné M., Dembele A., Haba J.F. & Yao E.K. (2021). Effect of Herbicides Used in Horticulture (2,4-D, Glyphosate and Nicosulfuron) on Snails *Achatina fulica* (Bowdich, 1720). *Journal of Agricultural Chemistry and Environment*, 10 : 402-414.
- Pirkko L., Sari R. & Katri S. (2007). Glyphosate translocation from plants to soil - Does this constitute a significant proportion of residues in soil? *Plant Soil*. 300 :51-60.
- PlumLee G.S. & Ziegler T.L. (2003) The medical geochemistry of dusts, soils and other earth materials. In: *Treatise on Geochemistry*, 2e edition pp Sciences direct, USA, 263-310.
- Prasad A. & Lloyd G.G. (1983). Attempted suicide by jumping. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 68 : 394-396.
- Pringle B.H., Hissong D.E., Katz E.L. & Mulawka S.T. (1968). Trace metal accumulation by estuarine mollusks. *Journal of the Sanitary Engineering Division*, 94: 455-475
- Rabitsch W.B. (1996). Metal accumulation in terrestrial pulmonates at a Lead/zinc smelter site in Arnoldstein, Austria. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 56 :734-741.
- Radi N., 2003. L'Arganier arbre du sud-ouest Marocain, en péril, à protéger. Thèse de doctorat. Université de Nantes, (France), 59p.
- Regnault-Roger. (2005). Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement, *Biochemistry*, 9 : 263-310.
- 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 Effect of Urban. Pollution: *An Integrated Approach. Environmental Health Perspectives*, 114 : 63-69.
- 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. *Environmental Health Perspectives* .114: 63-69.
- Relyea R.A. (2005a). The lethal impact of roundup on aquatic and terrestrial amphibians. *Ecological Applications*, 15 : 1118-1124.
- Relyea R.A. (2005b). The impact of insecticides and herbicides on the biodiversity and productivity of aquatic communities, *Ecological Applications*, 15 : 618-627.

- Riedo J., Wettstein F.E., Rösch A., Herzog C., Banerjee S., Büchi L., Charles R., Wächter D., Martin-Laurent F., Bucheli T.D., Walder F. & Heijden M.G.A. (2021). Widespread Occurrence of Pesticides in Organically Managed Agricultural Soils-the Ghost of a Conventional Agricultural Past? *Environmental Science & Technology*, 55(5) : 2919-2928.
- Robert-Nadeau F. (2012). Évaluation des risques toxicologiques et écotoxicologiques d'un terrain contaminé par des métaux. Centre universitaire de formation en environnement, Université de Sherbrooke (Canada), 76 p.
- Romano R.M., Romano M.A., Bernardi M.M., Furtado P.V. & Oliveira C.A. (2010). Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Archive of Toxicology*, 84 : 309-317.
- Romano M.A., Romano R.M., Santos L.D., Wisniewski P., Campos D.A., De Souza P.B., Viau P., Bernardi M.M., Nunes M.T., & De Oliveira C.A. (2012). Glyphosate impairs male offspring reproductive development by disrupting gonadotropin expression. *Archive of Toxicology*. 86(4) : 663-673.
- Rousselet M. (1979). L'élevage des escargots. Edition du point vétérinaire, Alfort France, 102 p.
- Sandrini J.Z., Rola R.C., Lopes F.M., Buffon H.F., Freitas H.F., Freita M.M., Martins C.D. & Da Rosa C.E. (2013). Effects of glyphosate on cholinesterase activity of the mussel *Perna perna* and the fish *Danio rerio* and *Jenynsia multidentata*. *Aquatic Toxicology* (130-131) : 171-173.
- Santillo D.J., Brown P.W. & Leslie D.M. (1989). Réponse des oiseaux chanteurs aux changements d'habitat induits par le glyphosate sur les coupes à blanc. *The Journal of Wildlife Management* 53(1) : 64-71.
- Sato M., Maeba H., Watari J. & Takashio M. (2002). Analyse d'un gène Lg-FLO1 inactivé présent dans la levure de fermentation basse. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 93(4) :395-398.
- Scheifler R., Brahim M.B., Gomot-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. *Environmental Pollution*, 122(3) : 343-350.
- Scheifler R., Gomot-de Vaufleury A. & Badot, P.M. (2002). Transfer of cadmium from plant leaves and vegetable flour to the snail *Helix aspersa*: bioaccumulation and effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 53 : 148-153.

- Schiavon M. & Jacquin F. (1973). Studies on the migration of two triazines as influenced of precipitation. Symposium on herbicides and the soil. 80-90.
- Schinasi L. & Leon M.E. (2014). Lymphome non hodgkinien et exposition professionnelle aux groupes chimiques et aux ingrédients actifs des pesticides agricoles : revue systématique et méta-analyse, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11 : 4449-4527.
- Schrack D., Coquil X., Ortar A. & Marc B. (2009). Rémanence des pesticides dans les eaux issues de parcelles agricoles récemment converties à l'Agriculture Biologique. *Innovations Agronomiques*, 4 : 259-268.
- Schulz W. (2004). Reconstructing Mediatization as an Analytical Concept. *European Journal of Communication*, 19(1) :87–101.
- Schuytema G.S., Nebeker A.V. & Griffis W.L. (1994). Toxicité du Guthion et du Guthion 2S pour *Xenopus laevisembryos*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 27(2) : 250-255.
- Schuytema G.S., Nebeker A.V. & Griffis W.L. (1994). Effects of Dietary to Forest Pesticides on the Brown Garden Snail *Helix aspersa* Müller. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 26 : 23-28.
- Shelby M.D., Newbold R.R., Tully D.B., Chae K. & Davis V.L. (1996). Assessing environmental chemicals for estrogenicity using a combination of in vitro and in vivo assays. *Environmental Health Perspectives*. 104(12) : 1296-1300.
- Simkiss K. & Watkins B. (1990). The Influence of Gut Microorganisms on Zinc Uptake in *Helix aspersa*. *Environmental Pollution*, 66 : 263-271.
- Sodjinou E. (2000). Analyse économique des filières des Ressources Alimentaires Non Conventionnelles au Bénin : cas de la filière des escargots géants africains dans les départements de l'Atlantique et du Littoral. Thèse d'Ingénieur Agronome, FSA/UNB, Ab-Calavi. 181 p.
- Sodjinou E., Biaou G. & Codjia J-C. (2002). Caractérisation du marché des escargots géants africains (achatines) dans les départements de l'Atlantique et du Littoral au Sud-Bénin. *Tropicultura*, 20(2) : 83-88.
- Soro G., N'guessan M., Brama K., Kouassi R., M'Bra P., Dramane S. & Nagnin S. (2018). « Use of pesticides in the market gardens around the drinking water reservoir in Korhogo (northern Côte d'Ivoire). *risks to public health*, 17 (2) : 155-63.

- Soro G., Wahabi S.A., Adjiri O.A. & Soro N. (2019). Risques sanitaires et environnementaux liée à l'usage des produits phytosanitaire dans l'horticulture à Azaguié (sud Côte d'Ivoire). *Journal Applied Biosciences*, 138 : 14072-14081.
- Sorokoby M.V., Saley M.B., Kouamé K.F., Djagoua M.V., Bernier M., Kouadio A. & Biémi J. (2010). Utilisation des images landsat ETM+ et du sirs pour la cartographie linéamentaire et thématique de soubre-meagui (sud-ouest de la Côte d'ivoire): contribution à la gestion des ressources en eau souterraine. *Revue Télédétection*, 9(3-4) : 209-223.
- Sorokoby V.M., Saley M.B, Kouame K.F., Djagoua M.V., Affian K. & Biemi J. (2013). Spatial and temporal variability of climatic parameters and its effect on drying up in Débo and Bô catchments (Department of Soubré, south-western of Ivory Coast). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 2(3) : 287-299.
- Stavros A. Antoniou., George A., Antoniou., Robert L., Frank A. Granderath., Athanasios I. & Antoniou. (2011). The Rod and the Serpent: History's Ultimate Healing Symbol. *Journal of vascular surgery*, 35(1) ; 217-221.
- Stenrod M., Eklo O.M., Charnay M-P. & Benoit P. (2005). Effect of freezing and thawing on microbial activity and glyphosate degradation in two Norwegian soils. *Pest Management Science*, 61 : 887-898.
- Stievenart C. & Hardouin J. (1990). Manuel d'élevage des escargots Géants Africains sous les tropiques. Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale (CT A) Pays-Bas, 38 p.
- Stievenart C. (1996). Morphologie coquillière, croissance, reproduction & estivation chez les escargots géants africains : observation au laboratoire sur *Archachatina marginata* suturalis, *Achatina achatina* et *Achatina fulica*. PhD, Institut de Médecine Tropicale, Prince Léopold, Antwerpen, Belgique, 204 p.
- Suresh, K. et Mohandas, A. (1990). Effect of sublethal concentrations of copper on hemocyte number in bivalves. *Journal of Invertebrate Pathology*, 55 : 325-331.
- Swanson N.L., Leu A.F., Abrahamson J. & Wallet B. (2014). Genetically engineered crops, glyphosate and the deterioration of health in the United States of America. *Journal of Organic Systems*, 9(2) : 6-32.
- Taylor J.R., Selhorst J.B., Houff S.A. & Martinez A.J. (1978). Chlordecone intoxication in man. I. Clinical observations. *Neurology*. 28(7) : 626-630
- Testud F. & Grillet J.P. (2007). Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes de synthèse et divers. *EMC-Toxicologie-Pathologie Professionnelle*, 2(2) :1-24.

- Testud F. (2005). *Pathologie Toxique Professionnelle et Environnement* (3ème éd). Eska Paris, 672 p.
- Testud F., Garnier R. & Delemotte B. (2001). *Toxicologie humaine des produits phytosanitaires*. Tome 1. Ed: EDKA. 272 p.
- Thany S.H., Reynier P. & Lenaers G. (2013). Neurotoxicité des pesticides. *Médecine/sciences*, 29(3) : 273-278.
- Thiele J. (1963). *Handbuch der systematischen werchtierkunde In Mémento de l'éleveur d'escargots*. ITAVI Edition : 10
- Thongprakaisang S. (2013). Glyphosate induces human breast cancer cells growth via estrogen receptors, *Food and Chemical Toxicology*, 59 : 129-136.
- TomLin A.M., Sturm L. & Steven M.K. (2009). Observe, listen, wonder, and respond: a preliminary exploration of reflective function skills in early care providers. *Infant Mental Health Journal*, 30(6) : 634-647.
- Toppari J., Larsen J.C., Christiansen P., Giwercman A., Grandjean P., Guillette L.J.Jr., Jegou, B., Jensen T.K., Jouannet P., Keiding N., Leffers,H., McLachlan J.A., Meyer O., Muller J., Rajpert-De Meyts E., Scheike T., Sharpe R., Sumpter J. & Skakkebaek N.E. (1996). Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environmental Health Perspectives*, 104 :741-803.
- Touchebeuf P. & Girard G. (1962). Données sommaires sur les régimes hydrologiques de Côte d'Ivoire. Annexe au rapport général sur les possibilités hydroélectriques en Côte d'Ivoire, IRD, 52 p.
- Toumi S. (2013). *Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de Daphnia magna*. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, France. 208 p.
- Traoré H. & Haggblade S. (2017). *Mise en œuvre des politiques régionales sur les pesticides en Afrique de l'ouest : Rapport de l'étude de cas en Côte d'Ivoire ; Food Security Policy*, Rome, Italie 60 p.
- Trochain J. L. (1980). *Ecologie végétale de la zone intertropicale non désertique*. Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, France, 468 p.
- Tush D. & M.T. Meyer. (2016). Polyoxyethylene Tallow Amine, a Glyphosate Formulation Adjuvant: Soil Adsorption Characteristics, Degradation Profile, and Occurrence on Selected Soils from Agricultural Fields in Iowa, Illinois, Indiana, Kansas, Mississippi, and Missouri. *Environmental Science & Technology*., 50(11) : 5781-5789.

- UIPP. (2009). Secteur phytopharmaceutique en 2008 : le reflet d'un environnement qui change
Rapport d'activité 2008-2009, Boulogne, France, 2 p.
- Upatham E.S., Kruatrachue M. & Baidikul V. (1988). Cultivation of the giant African snail, *Achatina achatina*. *Journal scientifique Thaïlandais*, 14 : 25-40.
- Utip B., Young B., Ibiang E., Victor I., Basse E. & Francis A. (2013). Effect of deltamethrin and ridomil on sperm parameters and reproductive hormones of male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 5(1) : 9-14.
- Van Straalen N.M. (1994). Biodiversity of Ecotoxicological Responses in Animals. *Netherlands Journal of Zoology*, 44(1-2) : 112-129.
- Van Straalen N.M. & van Rijn J.P. (1998). Ecotoxicological risk assessment of soil fauna recovery from pesticide application. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 154 : 83-141.
- Van Straalen N.M., Butovsky R.O., Pokarzhevskii A.D., Zaitsev A.S. & Verhoef S.C. (2001). Metal concentrations in soil and invertebrates in the vicinity of a metallurgical factory near Tula (Russia). *Pedobiologia*, 45(5) : 451-466.
- Van Straalen N.M., Donker M., Vijver M.G. & Van Gestel C.A.M. (2005). Biodisponibilité des contaminants estimés à partir des taux d'absorption dans les invertébrés du sol. *Environmental Pollution*, 136 : 409-441.
- Viala A. & Botta A. (2005). Autres métaux et non métaux. In Toxicologie. Lavoisier. Tec & Doc. EMI. 2ème édition, Université de France, 1094 p.
- Viard B., Maul A. & Pihan J.C. (2004). Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*, 6 : 103-107.
- Vincent K. & Davidson C. (2015). The toxicity of glyphosate alone and glyphosate-surfactant mixtures to western toad (*Anaxyrus boreas*) tadpoles. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 34(12) : 2791-2795.
- Walker G., Rainbow P.S., Foster P. & Crisp D.J. (1975). Barnacles: possible indicators of Zinc pollution? *Marine Biology* 30 : 57-65.
- Walsh L.P., McCormick C., Martin C. & Stocco D.M. (2000). Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environmental Health Perspectives*, 108 : 769-776.
- Wang S., Seiwert, B., Kastner M., Miltner A., Schaffer A., Reemtsma T., Yang Q. & Nowak K.M. (2016). Biodegradation of glyphosate in water sediment microcosms: A stable isotope co-labeling approach. *Water Research*, 99: 91-100.

- WHO. (1994). Glyphosate. Environmental Health Criteria 159: Glyphosate. Bilthoven, Netherlands, 181p.
- WHO. (2019). IARC Monographs on the identification of carcinogenic hazards to humans. Lyon, France. 44 P.
- WHO. (2019). Lead Poisoning and Health. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoningand-health#:~:text=Lead%20also%20causes%20long%2Dterm,birth%20and%20low%20birth%20weight>
- Yao K.T. (2009). Hydrodynamisme dans les aquifères de socle cristallin et cristallophyllien du Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire : cas du département de Soubré : apports de la télédétection, de la géomorphologie et de l'hydrogéochimie. Océan, Atmosphère. Conservatoire national des arts et métiers-CNAM. Thèse de Docteur, Université de Cocody (Abidjan, Côte d'Ivoire), 338 p.
- Yapi Y.H.A., Amadou K., Irié M., Gouli Bi., Dongui B.K. & Trokourey A. (2019). Evaluation quantitative des risques sanitaires et estimation de l'impact sanitaire liés à l'ingestion d'une pollution métallique des eaux de consommation en milieu rural (Ivry, Côte d'Ivoire). *International Journal Advances Research*. 7(11) : 100-110.
- Yehouenou E.A.P., Laleye P., Michel B., Cornelis A.M.V.G., Hyacinthe A., Simon A., Bert V.H., Kees S. & Nico M.V.S. (2006). Contamination of fish organochlorine pesticide residues in the Ouémé River catchment in the Republic of Benin. *Environment International*. 32 : 594-599.
- Yousef M.I., Salem M.H., Ibrahim H.Z., Helmi S., Seehy M.A. & Bertheussen K. (1995). Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 30 (4) : 513-534.
- Zaafour M. (2014). Étude écophysiological de la reproduction de l'escargot terrestre Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa*, Gastropoda : Stylommatophora; Helicidae) dans la région Nord-Est d'Annaba (Algérie). 109 p.
- Youssao A, Soclo HH, Bonou C, Vianou K, Gbaguidi M, Dovonon L. (2011a). Evaluation de la contamination de la faune ichthyenne dans le complexe lagunaire Nokoué – chenal de Cotonou par le plomb : cas des espèces *Sarotherodon melanocheilus*, *Tilapia guineensis* et *Hemichromis fasciatus* (Bénin). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(2): 595-602.
- Youssao A, Soclo HH, Bonou C, Fayomi B. (2011b). Evaluation de la bioaccumulation du plomb dans les espèces animales marines et identification des sources de

- contamination métallique par une analyse multiélémentaire en métaux (Al, Cd, Cr, Cu, Pb) dans les eaux côtières du Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 5(1) : 188- 195.
- Zongo D., Coulibaly M., Diambra O.H. & Adjiri E. (1990). Note sur l'élevage de l'escargot géant africain *Achatina achatina*. *Nature et Faune*, 6(2) : 32-44.
- Zorrig W., Rouached A., Shahzad Z., Abdelly C., Davidian JC. & Berthomieu P. (2010) Identification of three relationships linking cadmium accumulation to cadmium tolerance and zinc and citrate accumulation in lettuce. *Journal of Plant Physiology* 167 : 1239-1247.
- Zongo D. (1990). L'élevage des escargots, une source insoupçonnée de protéines de hautes valeurs nutritionnelles. Fiche technique n°2 ENSA/LACENA, 5-9
- Zongo D. 1994. L'élevage des escargots, une source insoupçonnée de protéines de hautes valeurs nutritionnelles. Fiche technique n°2 ENSA/LACENA, 5-9
- Zongo D. 1995. Les escargots géants africains. Conférence à l'Institut de Géographie Tropicale d'Abidjan, 15p

ANNEXES

Annex 1 : Questionnaire

Généralités

Localité :

Age (année) : [5-17] [18-34] [35-59] ≥60

Niveau d'étude : Primaire secondaire supérieur Illettré

Questions

1 Connaissez-vous les escargots ? oui Non

2 Combien de types d'escargots connaissez-vous ? 1 2 3 4

3 Consommez-vous l'escargot ? oui non

4 Quelle partie consommez-vous ? : chair viscères chair+ viscères

5 A quelle période consommez-vous ? saison des pluies saison sèche

Occasionnellement

6 Combien d'escargot mangez-vous par repas

7 Fréquence de consommation de l'escargot.....

8 Durée de cuisson 30 min 60 min 90 min

9 Ou ramassez-vous les escargots que vous consommez

10 Spécifications dans lesquelles sont collectées les espèces

Sous les vergers de cacaoyers

Jachères

Dans la forêt

Dans d'autres champs

11 Traitez-vous les champs ?

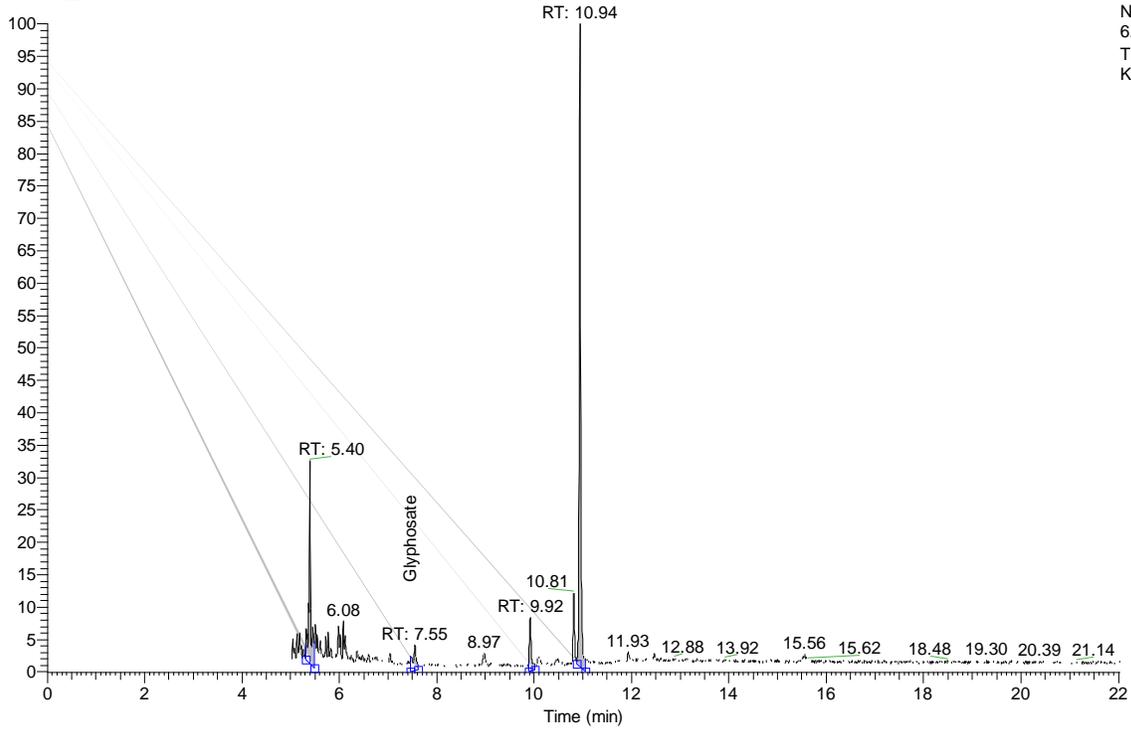
12 Quel produit utilisez-vous ?

13 Combien de fois par an ?

ANNEXE 2 : CHROMATOGRAPHES

ECHANTILLON 1: MAY

RT: 0.00 - 22.04

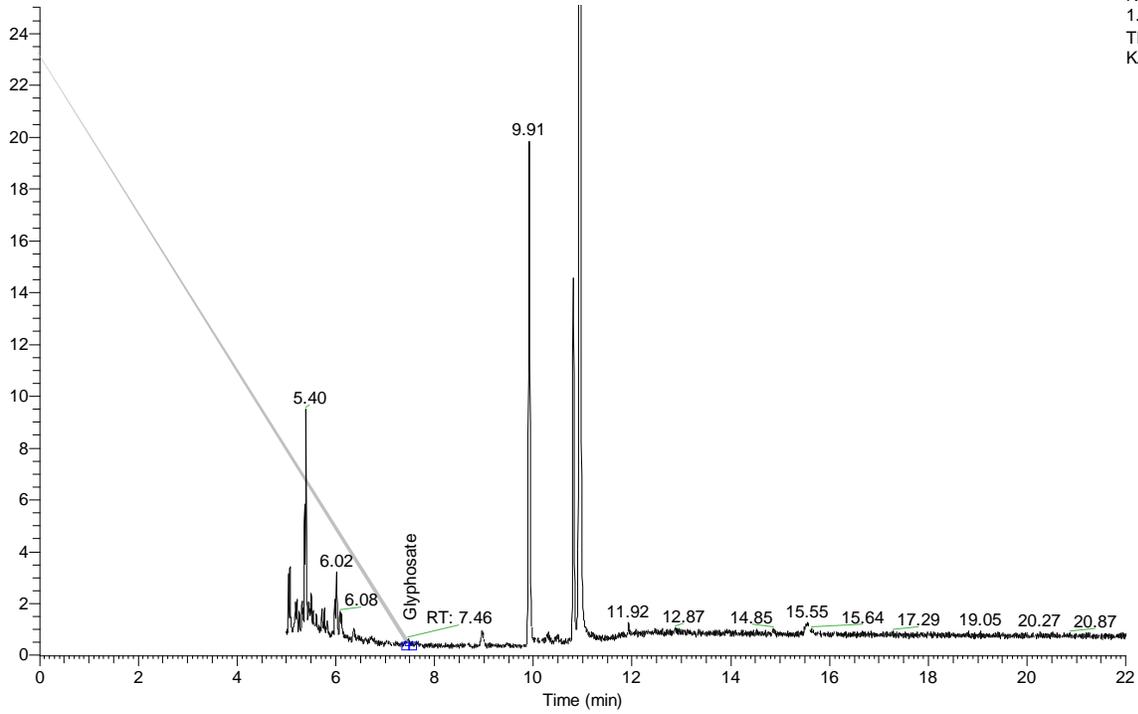


NL:
6.74E7
TIC MS
KAT04T

PEAK LIST						
Echantillon - 1.raw						
RT: 0.00 - 22.04						
Number of detected peaks: 4						
Glyphosate RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height
7.55	7.47	7.62	12323025	100	2656093	100
Concentration	1,82 mg/kg					

ECHANTILLON 2: NOU

RT: 0.00 - 22.00

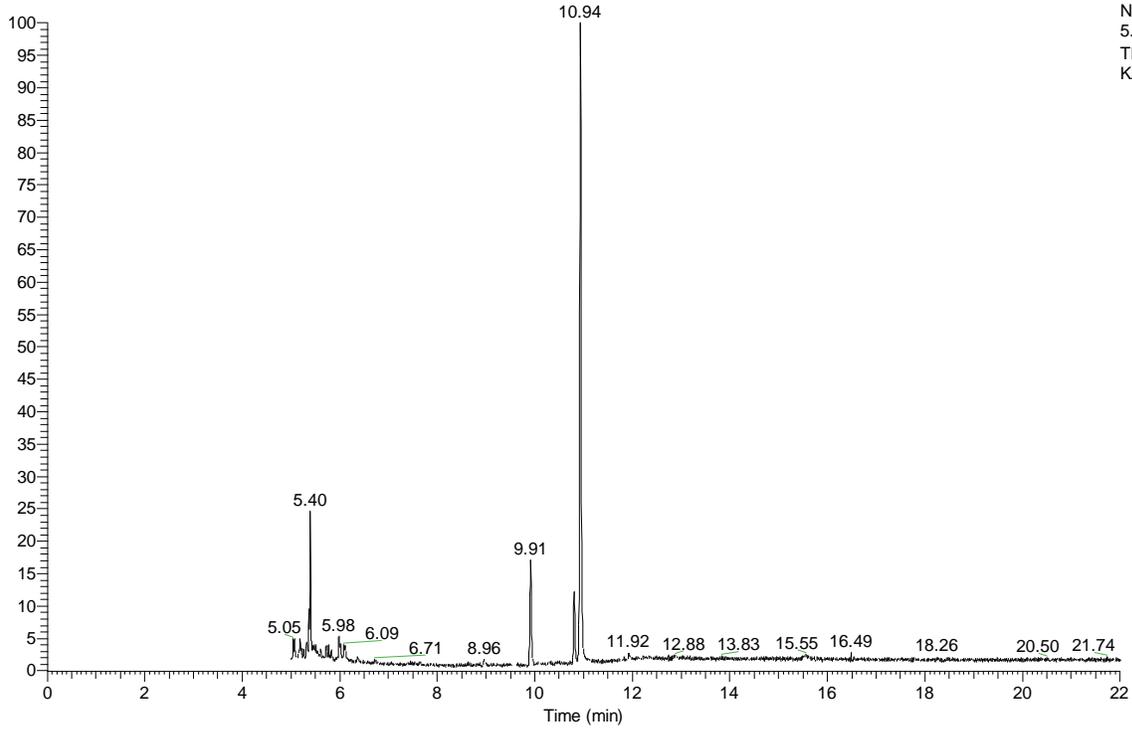


NL:
1.18E8
TIC MS
KAT07T

PEAK LIST						
Echantillon - 2.raw						
RT: 0.00 - 22.04						
Number of detected peaks: 1						
Glyphosate RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height
7.46	7.41	7.54	1220670	100	328921.3	100
Concentration	0,180 mg/kg					

ECHANTILLON 3:ALA

RT: 0.00 - 22.00

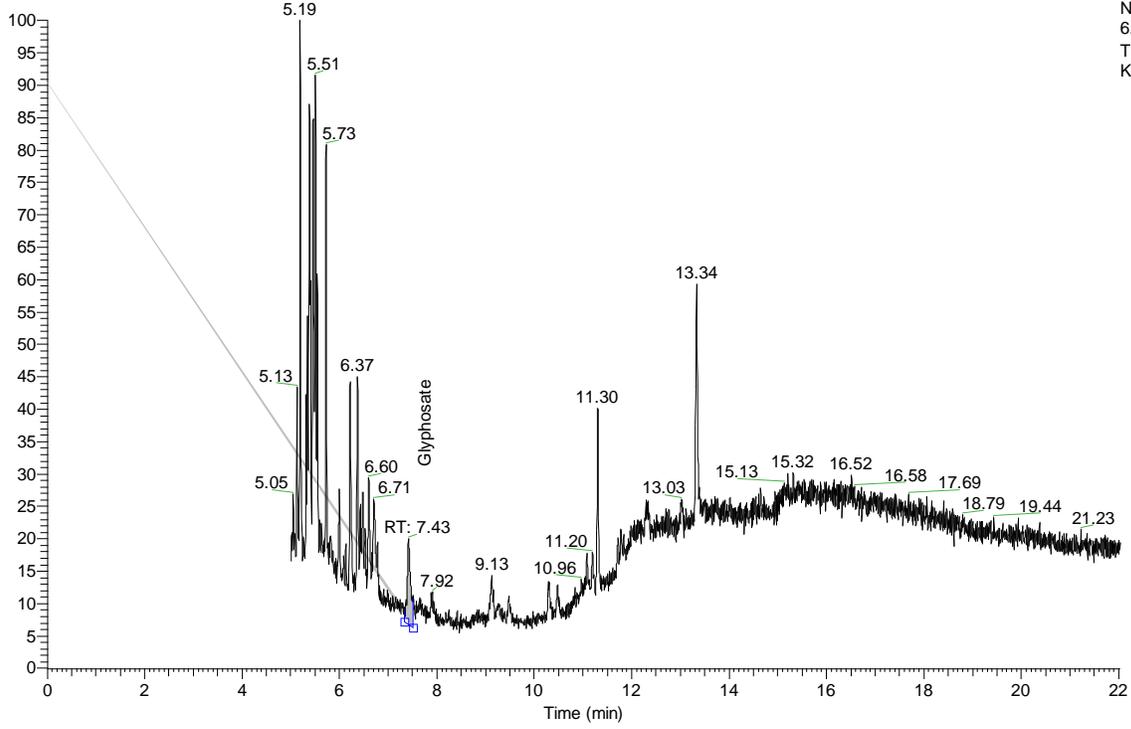


NL:
5.05E7
TIC MS
KAT09T

PEAK LIST						
Echantillon - 3.raw						
RT: 0.00 - 22.04						
Number of detected peaks: 0						
Glyphosate RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height
No peaks detected						
Concentration	N.D.					

Echantillon – 4 : YA

RT: 0.00 - 22.03

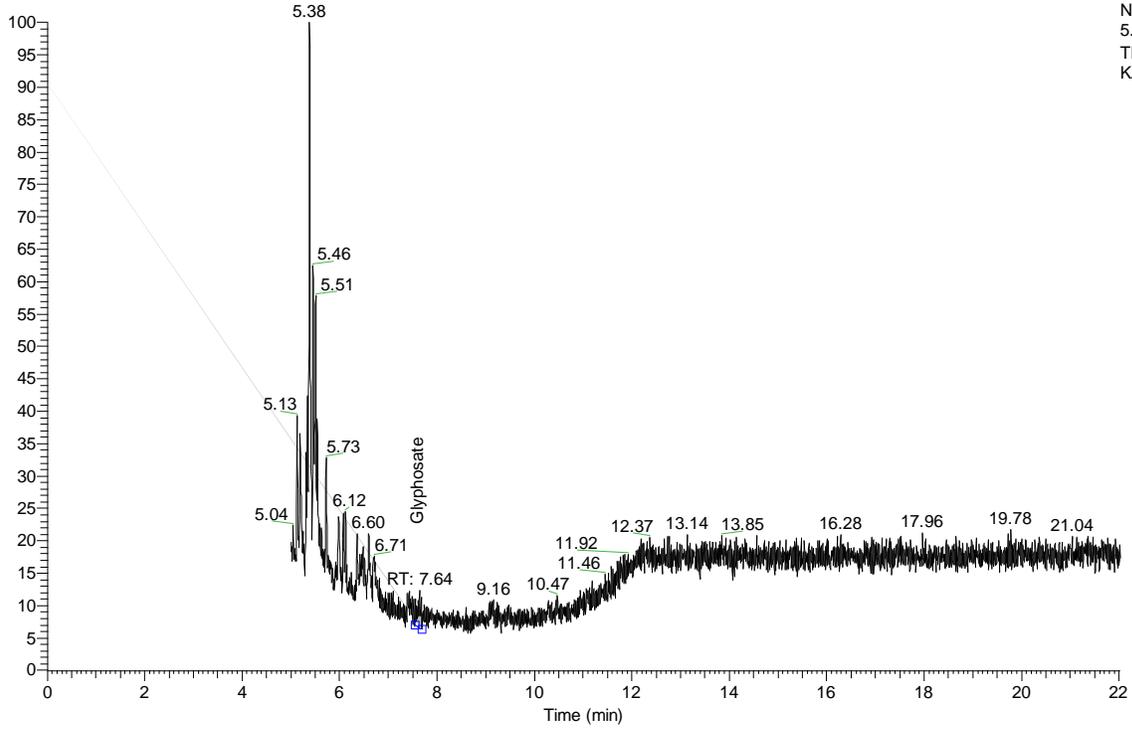


NL:
6.60E6
TIC MS
KAT02T

PEAK LIST						
Echantillon-4.raw						
RT: 0.00 - 22.04						
Number of detected peaks: 1						
Glyphosate RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height
7.47	7.45	7.52	4428632.416	100	874308.03	100
Concentration	0,501 mg/kg					

Echantillon – 5 : RAP

RT: 0.00 - 22.02

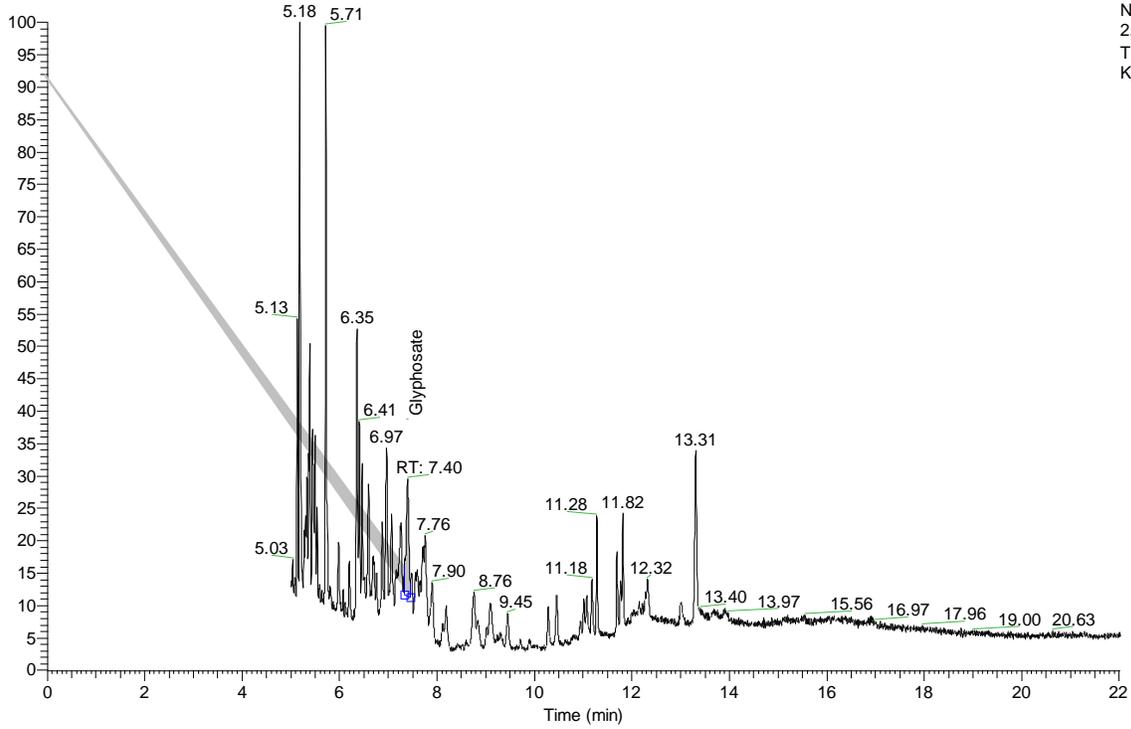


NL:
5.25E6
TIC MS
KAT05T

PEAK LIST						
Echantillon - 5.raw						
RT: 0.00 - 22.04						
Number of detected peaks: 1						
Glyphosate RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height
7.64	7.54	7.69	1219553.154	100	298675.174	100
Concentration	0,175 mg/kg					

Echantillon – 6 :GNI

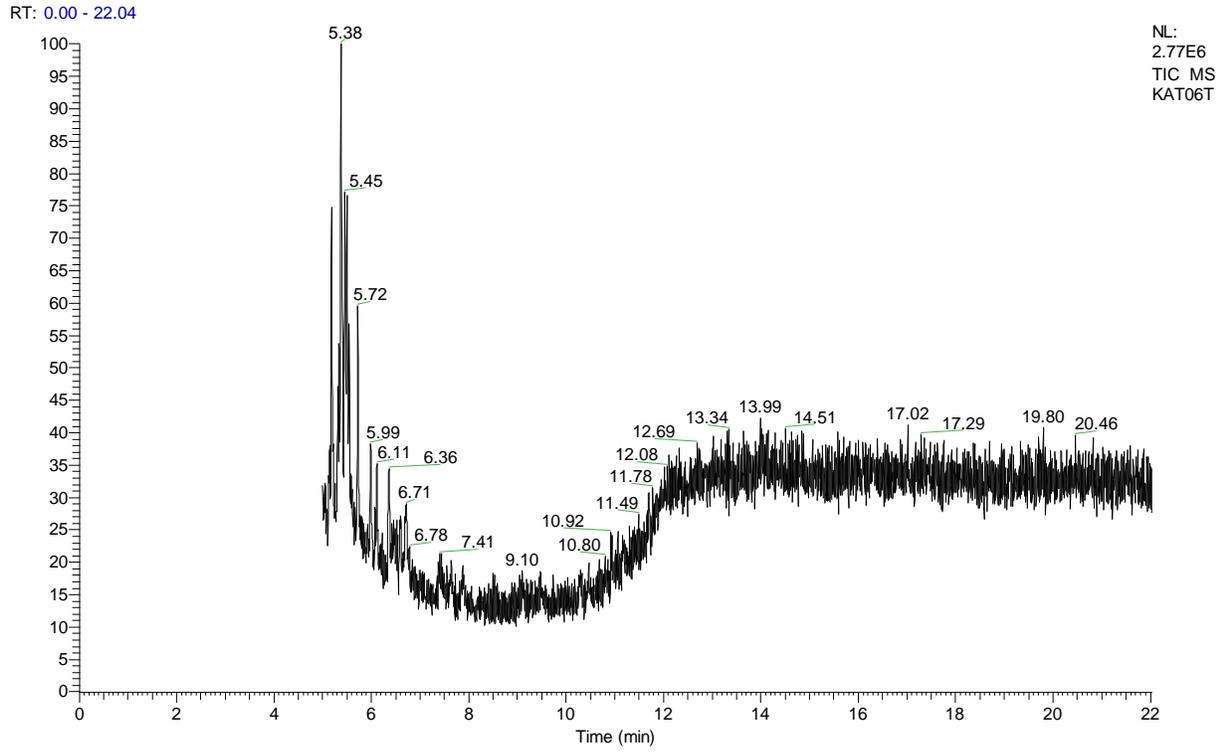
RT: 0.00 - 22.02



NL:
2.77E7
TIC MS
KAT01T

PEAK LIST						
Echantillon - 6.raw						
RT: 0.00 - 22.04						
Number of detected peaks: 1						
Glyphosate RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height
7.46	7.40	7.50	19251884.4	100	5001468.777	100
Concentration	2,84 mg/kg					

Echantillon-7: SALADE



PEAK LIST						
Echantillon - 7.raw						
RT: 0.00 - 22.04						
Number of detected peaks: 0						
Glyphosate RT	Start RT	End RT	Area	%Area	Height	%Height
No peaks detected						
Concentration	N.D.					

ANNEXE 3

1-Articles publiés dans des revues à comité de lecture (6)

2-Chapitre de livre

ARTICLE 1

EVALUATION DE LA BIOACCUMULATION DES METAUX LOURDS ET DU GLYPHOSATE CHEZ L'ESCARGOT *Achatina achatina* (LINNE 1758) COLLECTE SOUS LES CACAOYERS DANS LA LOCALITE DE SOUBRE (SUD-OUEST DE LA COTE D'IVOIRE)

O. N'GUESSAN¹, D. KOUASSI², A. C. YAPI³, V. KOUAMÉ⁴

^{1, 2, 3, 4} Laboratoire de Biodiversité et Écologie Tropicale (BioEcoTrop), UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa Côte d'Ivoire, oliviernguessan@gmail.com, 05 04 28 69 38
prdanielkouassi@yahoo.com dopearmel@yahoo.fr / kvictor2@yahoo.fr

RESUME

Les escargots géants d'Afrique appartenant au genre *Achatina* sont très prisés par les populations Africaines et celles de la Côte d'Ivoire en particulier. Dans certaines régions du pays, seul le céphalopode est consommé alors que dans d'autres, en plus du céphalopode, les viscères sont consommés. L'objectif de cette étude est d'évaluer la concentration des métaux lourds (Plomb, Cadmium, Mercure, Zinc, Cuivre) et du glyphosate dans le céphalopode, les viscères et la coquille chez l'espèce d'escargot *Achatina achatina* afin de connaître les parties où les polluants s'accumulent le plus. Les méthodes analytiques utilisées pour la détermination des métaux lourds et du glyphosate dans les échantillons d'*Achatina achatina* sont respectivement la spectrophotométrie d'absorption atomique et la Chromatographie en phase liquide à haute performance. Les résultats montrent que c'est dans la coquille où s'accumulent plus le plomb (0,64 mg/kg), le cuivre (0,45 mg/kg) et le zinc (1,165 mg/kg). En revanche, le glyphosate et le cadmium s'acculent plus dans le céphalopode (1,03 et 0,13 mg/kg respectivement) et dans les viscères (1,01 et 0,14 mg/kg respectivement).

Mots clé : escargots, métaux lourds, glyphosate, Nawa

ABSTRACT

EVALUATION OF THE BIOACCUMULATION OF HEAVY METALS AND GLYPHOSATE IN THE SNAIL *ACHATINA ACHATINA* (LINNÉ 1758) COLLECTED UNDER COCOA TREES IN THE LOCALITY OF SOUBRE (SOUTH-WEST OF IVORY COAST)

The giant snails of Africa belonging to the genus *Achatina* are highly prized by African populations and those of the Ivory Coast in particular. In some regions of the country, only the cephalopod is consumed while in others, in addition to the cephalopod, the viscera are consumed. The objective of this study is to evaluate the concentration of heavy metals (Lead, Cadmium, Mercury, Zinc, Copper) and glyphosate in the cephalopod, viscera and shell of the snail species *Achatina achatina* in order to know the parts where the pollutants accumulate the most. The analytical methods used for the determination of heavy metals and glyphosate in *Achatina achatina* samples are atomic absorption spectrophotometry and high-performance liquid chromatography respectively. The results show that lead (0.64 mg/kg), copper (0.45 mg/kg) and zinc (1.165 mg/kg) accumulate most in the shell. On the other hand, glyphosate and cadmium accumulate more in the cephalopod (1.03 and 0.13 mg/kg respectively) and in the viscera (1.01 and 0.14 mg/kg respectively).

Keywords: snails, heavy metals, glyphosate, Nawa

INTRODUCTION

L'accumulation des métaux par les organismes invertébrés est le résultat des processus d'absorption-assimilation, de distribution, de stockage et d'excrétion (Dallinger 1993). Ces processus sont possibles grâce à la disponibilité de ces métaux en milieu naturel. Plusieurs polluants sont déversés quotidiennement dans l'environnement. Les éléments traces métalliques (ETM) sont des polluants engendrés pour la plupart du temps par l'activité humaine (Banque mondiale, 2003 ; Public Eye investigation, 2016 ; N'Guessan, 2010). Ils ont un impact toxicologique sur les végétaux, les produits de consommation courante et sur l'homme (Gove *et al.*, 2001). Ces polluants sont considérés comme graves sur l'environnement de par leur rémanence et leur tendance à la bioaccumulation dans les organismes vivants (Schuurmann et Markert, 1998). Dans cet environnement subissant ces polluants, les ressources alimentaires disponibles à l'état naturel jouent un rôle assez substantiel chez les populations (Sodjinou *et al.*, 2002). Au nombre de ces ressources, les escargots géants africains (ou achatines) appartenant à la famille des Achatinidae s'y trouvent. Ces escargots sont très appréciés par de nombreuses populations africaines (Zongo, 1995). La chair de l'escargot contient un taux de protéines compris entre 37 et 51 % de la matière sèche et représenterait la « viande de brousse » la plus prisée et la plus consommée en Côte-d'Ivoire après l'aulacode (Cobbinah *et al.*, 2008). En effet, le céphalopode (la partie la plus consommée de l'escargot) représente, d'après une étude réalisée en Côte d'Ivoire par Otchoumou (2005) 30 % du poids vif de l'escargot. Il est très riche en eau (80 %) et renferme en matière sèche, 62 à 75 % de protéines brutes. Bien que pauvre en matière grasse, il possède une valeur calorifique variant entre 341 et 358 Kcal/100g avec une teneur élevée en calcium (1,3 g/100g MS) et en fer (491 mg/Kg MS). Presque tous les acides aminés essentiels dont l'homme a besoin y sont représentés. Les vitamines A, D3 et E sont également présentes. La population ivoirienne consommerait 7,9 millions de kg d'escargots par an (Cobbinah *et al.*, 2008). Au Ghana, la demande dépasse clairement la ressource disponible (Cobbinah *et al.*, 2008). La viande d'achatine est la plus consommée au Sud-Benin devant l'aulacode, le poulet, l'ovin ou le caprin, le bœuf et le porc (Sodjinou *et al.*, 2002). Selon

ces auteurs, 57,5 % de la population du Sud-Benin consomme seulement le céphalopode contre 42,5 % qui consomme à la fois le céphalopode et les viscères. Tout comme certains peuples Africains, certaines populations ivoiriennes consomment le corps entier (pied, tête et masse viscérale) de l'escargot. Pourtant, les escargots sont des espèces bioaccumulatrices, capables d'absorber et de concentrer dans leur organisme certaines substances chimiques. Il est donc important de connaître la capacité d'absorption en polluants de certaines parties de l'escargot. L'objectif de cette étude est de déterminer la concentration des métaux lourds (Plomb, Cadmium, Mercure, Zinc, Cuivre) et du glyphosate dans le céphalopode, les viscères et la coquille chez l'espèce d'escargot *Achatina achatina* afin de connaître les parties susceptibles d'accumuler les polluants.

MATERIEL ET METHODES

PRESENTATION DE LA ZONE D'ETUDE

La présente étude s'est déroulée dans la région de la Nawa au Sud-Ouest de la Côte d'Ivoire. Située entre 5°60' et 9°50' de latitude Nord et 6°0' et 8°20' de longitude Ouest, cette région couvre une superficie de 9193 km² avec une population estimée à 314 192 d'habitants (INS, 2014). Le site d'échantillonnage est situé dans le département de Soubré plus précisément dans la localité d'Alakabo. Géographiquement, il est situé entre la latitude 5°35'17,052 N et la longitude 6°22'25,14 O. Le choix de cette région est justifié par sa forte production en escargots et l'approvisionnement de plusieurs marchés ivoiriens par le biais des commerçants.

MATERIEL ANIMAL

Cette étude a porté sur une seule espèce d'escargots appartenant à la famille des Achatinidae. Il s'agit de *Achatina achatina*. C'est l'espèce la plus prisée par les populations de la zone d'étude.

METHODOLOGIE D'ENQUETE SUR L'UTILISATION DES TYPES D'HERBICIDES UTILISES DANS LA ZONE D'ETUDE

Avant l'échantillonnage, une enquête de terrain a été menée auprès de trente cacaoculteurs. Cette enquête vise à faciliter le choix de la

substance active à analyser en tenant compte des herbicides auxquels les escargots du site d'échantillonnage sont susceptibles d'être exposés au voisinage de celui-ci. Le propriétaire du champ dans lequel les échantillons ont été collectés a été la première personne interrogée. Ensuite, les six autres personnes avec lesquelles le champ de celui-ci fait limite. Enfin, les vingt-trois autres cacaoculteurs ont été interrogés dans un rayon d'un kilomètre à partir du site d'échantillonnage.

ECHANTILLONNAGE ET PRELEVEMENT DES ESCARGOTS

Huit escargots ont été collectés *in situ* dans une zone homogène (sous les vergers de cacaoyers) après une pluie survenue tôt dans la soirée. L'échantillonnage s'est fait après la pluie. Les escargots sont vus après la pluie du fait que c'est grâce à l'eau qu'ils peuvent fabriquer leur bave, appelée mucus. Cette bave est particulièrement importante pour eux puisqu'elle leur permet de se déplacer tout en glissant sur d'éventuels obstacles. Les échantillons prélevés ont été mis dans un sachet stomacher puis conservés dans une glacière avant acheminement au laboratoire le lendemain tôt le matin.

PREPARATION DES ECHANTILLONS D'ESCARGOTS

Une fois au laboratoire, les escargots ont été mis à jeun pendant deux jours (48h) afin d'éliminer la nourriture non absorbée et les fèces de leur tractus digestif. Ensuite, plusieurs mesures des huit escargots ont été prise. Il s'agit du poids de l'escargot, de la longueur et du diamètre de sa coquille. En fin, la dissection des échantillons s'est faite selon la méthode décrite par Chukwujindu *et al.*, (2009).

MINERALISATION ET DOSAGE DES MÉTAUX LOURDS

Les analyses des métaux ont été réalisées selon des modes opératoires parfaitement maîtrisés et validés. La minéralisation pour le dosage du plomb, cuivre, zinc et du cadmium a été effectuée selon la méthode AOAC, 999.10 (2003). D'abord, pour la digestion de chaque échantillon, une prise d'essai de 0,5 g de broyat est placée dans un tube en téflon sous une hotte, Ensuite 5 mL d'acide nitrique concentré (HNO_3) à 65 % et 15 ml d'acide chlorhydrique (HCL) à

37 % sont successivement ajoutés au broyat dans le rapport ($\text{HNO}_3/\text{HCL}1/3$). Un autre tube en téflon contenant de l'eau bidistillée est utilisée comme blanc (témoin neutre des éléments à rechercher ou traités). A ce tube blanc, les mêmes réactifs qui ont servi à la digestion de la matrice sont ajoutés dans le même cadre. Les téflons sont portés au bain marie pendant 1 heure (1H) à une température de 90°C pour la digestion du contenu. Les tubes en téflons sont retirés et disposés sur la paille pour leur refroidissement. Trente minutes (30) après, une décompression de 5 mn est faite sous la hotte en ouvrant les téflons pour laisser s'échapper le gaz. Après le refroidissement, le mélange est filtré dans une fiole jaugée de 100 ml et complété avec de l'eau bidistillée jusqu'au trait de jauge puis homogénéisé par agitation manuelle. Les solutions obtenues après la minéralisation sont transvasées dans un tube propre portant les références des échantillons et conservées à 4°C jusqu'à l'analyse.

QUANTIFICATION DES ELEMENTS TRACES METALLIQUES

La détection des éléments traces métalliques s'est faite à l'aide de Spectrophotomètre d'absorption atomique four à graphite, piloté par le logiciel LC solution équipée d'un correcteur de fond non spécifique (lampe au Deutérium), d'un passeur automatique d'échantillons.

Un calibrage a été fait avant de préparer des solutions étalons pour chaque métal de concentrations croissantes de 10 ug/l, 800 ug/l, et 1500 ug/l. Le coefficient de détermination de chaque élément choisi est compris entre 0,995 et 1. Les teneurs métalliques en mg/kg (ppm) ont été obtenues à partir des concentrations lues directement sur le spectromètre,

DETERMINATION DE LA TENEUR EN GLYPHOSATE

Préparation de l'échantillon

D'abord, 25 g d'échantillons de chaque organe broyé sont prélevés et pesés dans un tube conique de 50 ml. Ensuite, de l'eau déminéralisée est ajoutée jusqu'à la jauge de 50 ml, le tout est agité au vortex pendant 3 min. La solution V_2 obtenue est filtrée dans un autre tube conique de 50 ml. Enfin, un volume correspondant de TAC (trichloroacetic acid ou acide trichloroacétique) à 10 % est ajouté au V_2

jusqu'à la jauge de 50 ml puis vortexé pendant 3 min le tout filtré dans un autre tube conique gradué de 50 ml pour obtenir le volume V_3 .

Préparation des échantillons pour la quantification

A 1 ml de la solution V_3 diluée ; on ajoute dans l'ordre 1 ml de la solution de tétraborate (5 %) et 1 ml de la solution de FMOC. La solution obtenue est agitée pendant 1 heure à l'abri de la lumière, à la température ambiante, puis centrifugée à 4500 tr/min pendant 5 min. Le surnageant est recueilli dans un vial et prêt pour la détection et la quantification au HPLC.

ANALYSE STATISTIQUE

Les concentrations obtenues ont été d'abord soumises aux tests de normalité de Shapiro-

Wilk et d'homogénéité de Bartlett afin de vérifier leur distribution et l'égalité des variances. Ensuite, des analyses de variances à un critère de classification (ANOVA 1) suivies des tests de LSD de Fisher ont été appliquées pour comparer les différentes moyennes. Les différences ont été considérées comme significatives au seuil de $\alpha = 0,05$ ($p < 0,05$). Ces tests ont été réalisés à l'aide du logiciel STATISTICA 7.1

RESULTATS

ENQUETE AUPRES DES CACAOULTEURS SUR L'UTILISATION D'HERBICIDES

Le tableau 1 montre les herbicides utilisés par les cacaoculteurs dans un rayon d'un kilomètre du site d'échantillonnage.

Tableau 1 : liste des herbicides utilisés par les trente cacaoculteurs.

List of herbicides used by the thirty cocoa producers.

Herbicides	Substance active
Glyphomax	Glyphosate
Glyphader	
Bonbara	
Ladaba	
Tasman	
Bibanan	
Tête rouge	
La machette	

Le glyphosate communément appelé « tout brûlé » dans la zone d'étude est la substance active utilisée par les cacaoculteurs du site d'échantillonnage.

DETERMINATION DES METAUX LOURDS ET DU GLYPHOSATE DANS LE CEPHALOPODE,

LES VISCERES ET LA COQUILLE DE L'ESPECE D'ESCARGOT *Achatina achatina*

La figure 1 montre les concentrations moyennes des métaux lourds et du glyphosate enregistrées dans le céphalopode, les viscères et la coquille chez l'espèce d'escargot *Achatina achatina*.

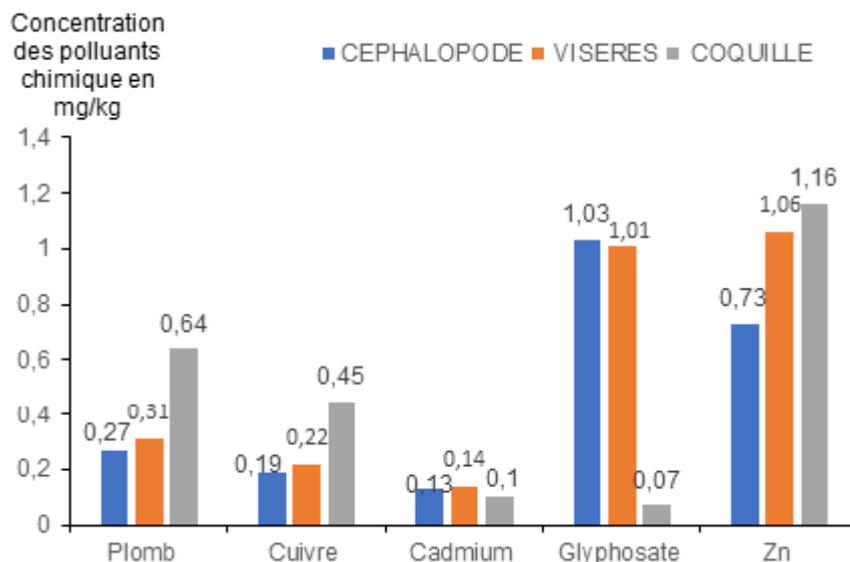


Figure 1 : Concentration de métaux lourds et de glyphosate dans les différentes parties de l'escargot *Achatina*.

Concentration of heavy metals and glyphosate in different parts of the Achatina achatina snail.

COMPARAISON DES CONCENTRATIONS MOYENNES DES METAUX LOURDS ET DU GLYPHOSATE DANS LE CEPHALOPODE, LES VISCERES ET LA COQUILLE CHEZ L'ESPECE D'ESCARGOT *Achatina achatina*

Le tableau 2 montre les différences entre les niveaux de métaux lourds et de glyphosate dans les viscères, le céphalopode et la coquille d'*Achatina achatina*.

Tableau 2 : Test LSD de Fisher : analyse des différences entre le céphalopode, les viscères et la coquille de *Achatina achatina*.

Fisher LSD test: analysis of the differences between cephalopods, viscera and Achatina achatina shell.

Différentes parties	Paramètres chimiques				
	Pb (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Gly (mg/kg)
Viscère	0,31±0,3 ^b	0,22±0,28 ^a	0,14±0,07 ^a	1,06±0,44 ^a	1,01±0,37 ^a
Céphalopode	0,27±0,02 ^b	0,19±0,18 ^a	0,13±0,06 ^a	0,73±0,18 ^a	1,03±0,1 ^a
Coquille	0,64±0,27 ^a	0,45±0,33 ^a	0,10±0,07 ^a	1,16±0,62 ^a	0,07±0,03 ^b
<i>F</i>	6,4	2,6	0,7	14,9	48,25
<i>P</i>	< 0,01	0,1	0,5	< 0,17	< 0,001

NB : Sur une même colonne, pour le paramètre, les compartiments dont les valeurs moyennes portent des lettres différentes sont statistiquement différentes ($p < 0,05$).

Les lettres correspondent aux rangs obtenus à l'issu du classement des localités.

Hautement significative : $p \leq 0,001$; très significative : $p \leq 0,01$; p : % de probabilité ; *F* : test de la Plus Petite Différence Significative ; Pb : plomb ; Cu : cuivre ; Cd : cadmium ; Zn : zinc ; Gly : glyphosate

*In the same column, for the parameter, compartments with different letter averages are statistically different ($p < 0.05$). p : % probability; *F*: Test for the smallest significant difference. copper, lead, zinc, glyphosate, cadmium*

La concentration du plomb dans les différentes parties de l'escargot *A. achatina* varie entre 0,27 mg/kg (céphalopode) et 0,64 mg/kg (coquille). Le taux de plomb dans la coquille de l'escargot *A. achatina* est largement supérieur à celui du céphalopode et des viscères. L'analyse statistique montre qu'il y a une différence significative entre le taux de plomb dans la coquille de l'escargot *A. achatina* et celui dans le céphalopode et des viscères qui sont tous deux (2) statistiquement identiques

La concentration de cadmium dans les différentes parties de l'escargot *A. achatina* varie de 0,10 mg/kg (coquille) et de 0,14 mg/kg (viscère) en passant par 0,13 mg/kg. Les viscères et le céphalopode accumulent plus le cadmium que la coquille de l'escargot. Toutefois, l'analyse statistique ne révèle aucune différence significative de concentrations en cadmium entre les trois parties.

La concentration de zinc dans la coquille de

l'escargot *A. achatina* varie entre 0,73 mg/kg (céphalopode) et 1,16 mg/kg (coquille). L'analyse statistique montre qu'il n'y a aucune différence significative de concentration en zinc entre les trois (3) parties.

La concentration du cuivre dans les différentes parties de l'escargot *A. achatina* étudiées varie entre 0,19 mg/kg (Céphalopode) et 0,45 mg/kg (coquille). Le taux de cuivre dans la coquille de l'escargot *A. achatina* est élevé que dans le céphalopode et les viscères. L'analyse statistique montre qu'il y a une aucune différence significative de concentration en cuivre entre les trois parties. La concentration de glyphosate varie entre 0,07 mg/kg (dans la coquille) et 1,03 mg/kg (dans le céphalopode). Le glyphosate s'accumule plus dans le céphalopode et les viscères que dans la coquille. En témoignent les résultats de l'analyse statistique qui révèlent une différence significative entre le taux de glyphosate dans la coquille et ceux dans le céphalopode et dans les viscères.

Le tableau 3 : Résultats de la statistique descriptive des teneurs en métaux lourds et en glyphosate de trois compartiments d'*Achatina achatina* analysées.

Descriptive statistics of heavy metal and glyphosate levels in three compartments of Achatina achatina.

Compartiments	Métaux	Min	1 ^{er} quartile	Médiane	3 ^{ème} quartile	Max	Moy
Viscères	Pb	0,07	0,14	0,24	0,33	0,99	0,31
	Cu	0,01	0,11	0,12	0,20	0,90	0,22
	Cd	0,01	0,10	0,13	0,17	0,27	0,14
	Zn	0,40	1	1	1	1,99	1,06
	Gly	0,60	0,86	0,96	0,99	1,87	1,01
Céphalopode	Pb	0,24	0,26	0,27	0,29	0,30	0,27
	Cu	0,17	0,18	0,19	0,20	0,22	0,19
	Cd	0,12	0,12	0,13	0,13	0,14	0,13
	Zn	0,52	0,58	0,69	0,90	0,98	0,73
	Gly	0,91	0,95	1,01	1,11	1,20	1,03
Coquille	Pb	0,21	0,43	0,70	0,83	0,99	0,64
	Cu	0,12	0,17	0,40	0,69	0,98	0,45
	Cd	0,01	0,03	0,10	0,15	0,23	0,10
	Zn	0,16	0,73	1,17	1,65	1,99	1,16
	Gly	0,01	0,04	0,09	0,10	0,10	0,07

Pb : Plomb ; Cu : Cuivre ; Cd : Cadmium ; Zn : Zinc ; Gly : Glyphosate ; Min : minimum ; Max : maximum et Moy : moyenne.

DISCUSSION

Les métaux lourds et le glyphosate s'accumulent dans les différentes parties des escargots en particulier dans l'espèce *Achatina achatina*. Le glyphosate et le cadmium semblent s'accumuler plus dans le céphalopode et les viscères que dans la coquille. En revanche, le plomb, le cuivre et le zinc s'accumule plus dans la coquille. La forte concentration de glyphosate dans le

céphalopode et dans les viscères pourrait s'expliquer par les interactions entre cet animal et son milieu de vie. En effet, ce macro-invertébré vit à l'interface sol – plante – air. Il est à la fois phytophage, détritivore et ingère le sol sur lequel il se déplace et y pond. Ainsi, il est confronté à plusieurs voies d'exposition aux éléments traces métalliques et aux pesticides : voie digestive, cutanée, et voie respiratoire. Or, nos échantillons sont prélevés dans des vergers de cacao où le

site d'échantillonnage et les vingt-neuf premiers voisins directs n'utilisent que du désherbant au glyphosate. C'est donc à juste titre que, le contact direct avec le sol et la flore traitée fasse du céphalopode et des viscères, un site privilégié de stockage du glyphosate. Tout comme les métaux lourds, le glyphosate pourrait être absorbé par l'épithélium cutané (Van Straalen et Van Gestel, 1998) ; ou, ils finissent souvent par être stockés dans l'hépatopancréas, parfois après avoir traversé plusieurs tissus. Les cellules environnantes telles celles du rein sont responsables de l'absorption, de la phagocytose, de l'accumulation et de l'excrétion des polluants pendant les processus de digestion (Grara *et al.*, 2012).

Le test LSD de Fisher montre qu'il n'y a pas de différence significative entre les concentrations de cadmium et de plomb dans les trois parties d'*Achatina achatina*. Par contre, la concentration du Pb enregistrée dans la coquille est deux fois supérieures aux concentrations enregistrées dans les viscères et le céphalopode. Ces résultats sont contraires de ceux obtenus par Dallinger & Wieser 1984, Gomot (1998). En effet, ces auteurs, soutiennent la thèse selon laquelle dans toutes les espèces de mollusques étudiées à ce jour, l'hépatopancréas contient systématiquement les plus fortes concentrations en Cd, Pb et Zn. Par ailleurs, ces résultats sont opposés de ceux obtenus par Cook *et al* (1979). Selon ces derniers, les coquilles des escargots ne semblent pas être un site de stockage important des ETM. Au cours de leurs travaux ils ont obtenu les concentrations de Cd et de Zn de l'ordre de 1mg.g^{-1} dans les coquilles d'*Helix aspersa* prélevées dans des zones hautement contaminées.

Le zinc par contre, est l'un des oligo-éléments essentiels pour tous les organismes vivants. Pour la plupart des groupes taxonomiques d'invertébrés en matière de bioaccumulation des ETM, les concentrations en Cd, en Cu et en Pb augmentent avec l'augmentation des concentrations dans les sols alors que les concentrations en Zn, en général régulées, sont indépendantes de celles du sol (Heikens *et al.*, 2001). La présence du zinc dans l'escargot *A. achatina* pourrait être liée au couvert forestier du site d'échantillonnage, car, la végétation est l'une des sources principales de cet élément

chimique dans l'environnement selon les études menées par Horowitz (1985).

La concentration en cuivre au niveau de la coquille est deux fois supérieure à celle enregistrée au niveau des viscères et du céphalopode. La coquille est donc le principal organe de stockage de cuivre. Les concentrations de cuivre statistiquement égales observées dans les trois parties d'*A. achatina* peut s'expliquer par son rôle essentiel comme constituant de l'hémocyanine, le pigment respiratoire des mollusques terrestre (Grara *et al.*, 2012).

Le test LSD de Fisher effectué sur les paramètres chimiques a révélé que les trois parties concentrent statiquement les mêmes quantités de polluants à l'exception du plomb et du glyphosate. Cette égale répartition pourrait être expliquée par l'exposition aux sols aux diverses sources de pollution (Modrzewska & Wyszowski, 2014). Aussi, les échantillons ont été collectés sur un terrain agricole caractérisé par une forte utilisation de produits phytosanitaires (fongicides, insecticides et herbicides) ce qui expliquerait les fortes concentrations de ces éléments chimiques dans les trois parties de l'escargot *Achatina achatina*. Ces molécules chimiques peuvent contenir plusieurs métaux toxiques comme Cu, Cd, et le Zn et peuvent donc contribuer à la contamination du sol (He *et al.*, 2005).

CONCLUSION

Les escargots *Achatina achatina* collectés à Allakabo dans la localité de Soubre accumulent certains polluants chimiques comme le cuivre, le plomb, le zinc, le Cadmium et le glyphosate. Le céphalopode et les viscères sont des principaux sites de stockage de glyphosate et du cadmium. Quant à la coquille, elle est le lieu d'accumulation du plomb, du cuivre et du zinc. La contamination de l'escargot par les métaux lourds et le glyphosate provoqueraient certainement des effets préjudiciables sur la santé humaine et l'environnement. Le risque d'exposition lié à la consommation d'*Achatina achatina* n'a pas été pris en compte dans cette étude. Les travaux futurs seront consacrés à cet aspect.

REFERENCES

- AOAC. 2003. Official method 999. Lead, cadmium, zinc, copper and iron in foods.
- Banque mondiale, 2003. Initiative sur la qualité de l'air dans les villes d'Afrique sub-saharienne. Rapport d'avancement 1998 -2002. Document de travail numéro 11. [En ligne] réf. du 13 - 03 - 2007.
- Chukwujindu I., Eguavoen S. & Arimoro F.O. 2009. Heavy metal content in the African giant snail *Archachatina marginata* (Swainson, 1821) (Gastropoda: Pulmonata: Achatinidae) in southern Nigeria. *Folia Malacologia*, 16(1) : 31-34
- Cobbinah J.C., Adri V. & Ben O. 2008. L'élevage d'escargots : Production, transformation et commercialisation. Première édition, Wageningen, (Pays-Bas), 84p.
- Cooke M., Jackson A., Nickless G. & Roberts D.J. 1979. Distribution and speciation of cadmium in the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Bulletin. Environmental. Contamination. Toxicology*, 23: 445-451.
- Dallinger R & Wieser W. 1984. Molecular fractionation of Zn, Cu, Cd and Pb in the midgut gland of *Helix pomatia* L. *Comparative. Biochemical. Physiology*, 79: 125-129.
- Dallinger R. 1993. Strategies of metal detoxification in terrestrial invertebrates. In: Dallinger E. & Rainbow R. (eds) - Ecotoxicology of metals in Invertebrates. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA, pp. 245-289.
- Gomot A. 1998. Biochemical composition of *Helix* snails: influence of genetic and physiological factors. *Journal of Molluscan Studies*, 64: 173-181.
- Gove L., Cooke C.M., Nicholson F.A. & Beck A.J. 2001. Movement of water and heavy metals (Zn, Cu, Pb and Ni) through sand and sandy loam amended with biosolids under steady-state hydrological conditions. *Bioresource Technol.*, 78, 2, 171-179.
- Grara N., Boucenna M., Atalia A., Berrebba H. & Djebar M.R. 2012. Etude expérimentale de la bioaccumulation des éléments traces métalliques Cd, Cu, Zn et Pb chez l'escargot *Helix aspersa*. *Bulletin de l'institut scientifique*, n° 34 (2), p 183-187.
- He Z.L., Yang X.E. & P.J. Stoffella. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts. *Journal of Trace Element in Medicine and Biology* 19 (3): 125-140.
- Heikens A., Peijnenburg W. & Hendriks A.J. 2001. Bioaccumulation of heavy metals in terrestrial invertebrates. *Environmental. Pollution*, 113 : 385-393.
- Horowitz A. 1985. A primer on Trace Metal Sediment Chemistry. United States Geological Survey, USA, 62 p.
- INS. 2014. Recensement General de la Population et de l'Habitat : régions de la Nawa 29 p.
- Modrzewska B. & Wyszowski M. 2014. Trace metals content in soils along the state road 51(northeastern Poland). *Environmental Monitoring Assessment*, 186 : 2589-2597.
- N'Guessan H.J.K. 2010. « L'invasion des véhicules d'occasion en transit par le port d'Abidjan : le dynamisme ambivalent d'une activité en plein essor », Les Cahiers d'Outre-Mer, 251 : 365390.
- Otchoumou A. 2005. Effet de la teneur en calcium d'aliments composés et de la photopériode sur les performances biologiques chez trois espèces d'escargots Achatinidae de Côte d'Ivoire élevées en bâtiment. Thèse de Doctorat d'Etat ES-Sciences Naturelles en Biologie et Ecologie Animales, Université d'Abobo Adjamé, Abidjan, Côte d'Ivoire, 171 p.
- Public Eye investigation, 2016. DIRTY DIESEL - How Swiss Traders Flood Africa with Toxic Fuels, September 2016, 162 p.
- Schuurmann G & Markert B. 1998. Ecotoxicology, Ecological Fundamentals, Chemical Exposure and Biological Effects. John Wiley & Sons Inc. and Spektrum Akademischer Verlag, 900.
- Sodjinou E., Biau G. & Codjia J-C. 2002. Caractérisation du marché des escargots géants africains (achatines) dans les départements de l'Atlantique et du Littoral au Sud-Bénin. *Tropicultura*.
- Van Straalen N.M. & Van Gestel C. A. M. 1998. Soil invertebrates and micro-organisms. In: Handbook of Ecotoxicology. Calow P. (Eds), pp. 251-277.
- Zongo D. 1995. Les escargots géants africains. Conférence prononcée à l'institut de géographie tropicale d'Abidjan dans le cadre du module de formation «Valorisation des produits du cuit et développement auto centré». ENSA-Côte-d'Ivoire, Abidjan, 15p.

ARTICLE 2

Evaluation of the effect of herbicides on African giant snails: Case of glyphosate on *Achatina achatina*

N'guessan Olivier N'GUESSAN ^{1,*}, Kouadio Daniel KOUASSI ¹ and Jean Baptiste AMAN ²

¹ Jean Lorougnon GUEDE University, UFR Environment, Biodiversity and Tropical Ecology Laboratory, Daloa, Côte d'Ivoire.

² Nangui Abrogoua University, UFR Science of nature, laboratory of animal biology and cytology. Abidjan Côte d'Ivoire.

World Journal of Advanced Research and Reviews, 2022, 16(01), 383–388

Publication history: Received on 28 August 2022; revised on 06 October 2022; accepted on 09 October 2022

Article DOI: <https://doi.org/10.30574/wjarr.2022.16.1.0991>

Abstract

The study carried out on the snail *Achatina achatina* at the achatinicole farm of the Université Jean Lorougnon guédé aimed to evaluate the effect of glyphosate on the weight and shell growth of this snail. After acclimatization in the breeding tanks for four (4) weeks, 210 snails were divided into seven (7) batches of 30 snails each. These snails are regularly watered and fed every other day with fresh lettuce leaves soaked or not in a diluted solution of glyphosate at different doses: D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ and D₁₄. The weight and shell measurement is done every two weeks. The results obtained show that the weight and linear growth of snails are inhibited according to the dose of glyphosate. All snails exposed to the product are directly impacted. The use of this product by farmers could reduce the availability of snails in orchards and consequently lead to a shortage of snail meat on the markets. In order to anticipate this ecological and environmental problem, this study must be extended to all giant snails consumed in Côte d'Ivoire.

Keywords: Giant snails; Glyphosate; *Achatina achatina*; Herbicides

1. Introduction

The forest is a privileged habitat for all animal and plant species. Its area was estimated in Côte d'Ivoire at more than fifteen million hectares before the country's independence. But today, the forest covers less than three million hectares of area [6]. This significant drop in Ivorian forest cover is justified by the fact that Côte d'Ivoire's economy is based on agriculture. Thus, several hectares of forest have been decimated in favor of perennial crops. Animal species including snails, which reside there, are doomed to extinction in the face of this disappearance. The snails are forced to find refuge in the fields (cocoa, rubber, coffee fields...) which serve as shelters. However, losses in agricultural yields related to diseases, pests but also and especially weeds [19] will lead to the increased use of phytosanitary products (PPS). Indeed, this method of control, very common in field crops, makes it possible to reduce weeding time and optimize farm yields. In addition, chemical control can reduce weeding time by 40 to 60% and increase production by 10 to 20% compared to manual weeding [18]. This method is cited [12, 13] as an economic practice in industrial oil palm plantations. Today, labor is becoming increasingly scarce and when it exists, is very expensive [10] Pesticides have thus allowed the development of agriculture and contributed to the increase in yields and the regulation of agricultural production in the world. Based on product targets, herbicides are the most used worldwide (46.9%) ahead of fungicides (25.9%) insecticides (24.1%) and others (rondenticides, molluscides, etc.). [21]. In developing countries, even highly toxic products banned in developed countries are still widely used [2]. About 30% of pesticides marketed in developing countries do not comply with international quality standards, as they contain a lot of very toxic impurities [1]." The use of plant protection products has also limited or eradicated a number of highly lethal parasitic diseases. However, today these products are suspected of causing a risk to human health and his environment. They are frequently implicated in the degradation of fresh and coastal waters and in the reduction of terrestrial biodiversity observed in agricultural

* Corresponding author: N'guessan Olivier

Jean Lorougnon GUEDE University, UFR Environment, Biodiversity and Tropical Ecology Laboratory, Daloa, Côte d'Ivoire.

areas. Neurotoxic carcinogenic effects or endocrine disruption of pesticides have been demonstrated in humans [1]. The question of the risks for the snails that reside there therefore remains raised both at the level of their growth and at the level of their reproduction. In Côte d'Ivoire, 1 snail is a highly valued commodity [16]. Its tender, tasty flesh, very rich in proteins, minerals and especially iron, represents an alternative source of animal protein in both rural and urban areas [5]. On the other hand, the use of glyphosate-based herbicides continues to grow especially in the agricultural field where large quantities of active ingredients are used in the treatment of orchards and / or weeding areas. According to [17] glyphosate commonly known as "all burned" in peasant environments is the most used active ingredient in the Nawa region (south-west of Côte d'Ivoire). On the one hand, the purpose of that increased use of that herbicide is justified by the fact that it contains agricultural fertilisers. On the other hand, it contributes to a better agricultural yield by limiting the human or animal motive power. However, snails that now have as their gite only the fields following the destruction of their natural environment are exposed to this same herbicide. Also, no study to our knowledge has been devoted in Côte d'Ivoire to the evaluation of the contamination of the snails so prized under our orchards. This is why the overall objective of this study is to assess the impact of a glyphosate-based herbicide with a broad spectrum of use on African giant snails. More specifically, it is a question of evaluating the effect of this phytosanitary product on weight and shell growth in the snail *Achatina achatina*.

2. Material and methods

2.1. Hardware

The site of the Jean Lorougnon Guédé University of Daloa served as a framework to evaluate the effect of pesticides on the growth of the giant African snail. This study focused on a single species of snail belonging to the Achatinidae family: *Achatina achatina*.

The herbicide Kalach 360 with glyphosate as the active ingredient, is the chemical material used during the experiment. According to [17] glyphosate is the most widely used herbicide in the Nawa region (Ivory Coast).

2.2. Methods

A total of 210 *Achatina achatina* specimens with an average weight of 19.48 g and an average shell length of 52.66 mm were acclimatized for 4 weeks in tanks of 1 m² of area built of bricks and used in this study which lasted sixty (60) days. Seven (07) lots of thirty (30) snails each were formed and arranged in snail snails. Lettuce leaves were best consumed during the snail acclimatization period and served as food for experimentation. The animals were regularly watered and fed every two (2) days with fresh lettuce leaves. Seven (7) dilution doses (D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ and D₁₄) were used in accordance with Table I. Animals are subjected to lettuce leaves soaked in glyphosate solution in different doses only every 6 days. Every 15 days, the live weight and shell length of the snails were determined using a precision scale and an electronic caliper, respectively.

Table 1 Dilution of herbicide used

Glyphosate in mL/L	Dilutions
D ₀	Control snails 0 mL/L glyphosate
D ₄	Snail treated with 4 mL/L glyphosate
D ₆	Snail treated with 6 mL/Lde glyphosate
D ₈	Snail treated with 8 mL/L glyphosate
D ₁₀	Snail treated with 10 mL/L glyphosate
D ₁₂	Snail treated with 12 mL/L glyphosate
D ₁₄	Snail treated with 14 mL/L glyphosate

2.3. Statistical analysis

The various measurements obtained were statistically analysed using statistica 7.1 software. They were first subjected to Shapiro-Wilk normality and Bartlett homogeneity tests to verify their distribution and the equality of variances. Then, analyses of variance to a classification criterion (ANOVA 1) followed by Fisher's LSD tests were applied to compare the different means. The differences were considered significant at the 5% threshold ($p < 0.05$).

3. Results

3.1. Effect of glyphosate on shell growth

The results of our study show that glyphosate has a negative effect on shellfish growth (Figure I). Analysis of histograms reveals an inhibitory effect of glyphosate on the shell growth of *Achatina achatina* snails. Thus, there is a low or no growth rate of the length of shells of snails subjected to different doses of glyphosate. After 60 days of experimentation, shell lengths increased from 54.58 to 55.99 mm, from 54.15 to 54.78 mm, from 56.96 to 57.48 mm, from 56.03 to 56.27 mm, from 52.66 to 52.77 and from 54.81 to 55.02 mm, respectively for doses D₂, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ and D₁₄. In contrast, control snails experience a significant increase in shell length from 56.52 to 62.53 mm. Analysis of the data through Statistica 7.1 shows that there is a significant difference ($p < 0.05$) between the shell length of control snails and that of snails subjected to different doses of glyphosate from the 60th day of experimentation (Table II). On the other hand, there is no statistical difference between the shell lengths of snails subjected to different doses of glyphosate.

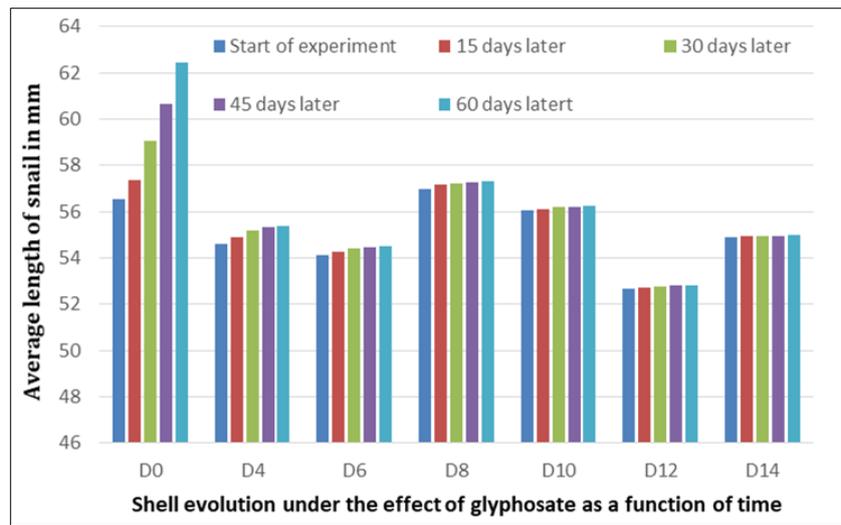


Figure 1 Effect of glyphosate on the shell growth of *Achatina achatina*

Table 2 Fisher's LSD test: analysis of differences between the sizes of *Achatina achatina* at T₀, T₁₅, T₃₀, T₄₅ and T₆₀ subjected to glyphosate

Time	D ₀	D ₄	D ₆	D ₈	D ₁₀	D ₁₂	D ₁₄
T ₀	56.52±4.04 ^b	54.58±1.30 ^a	54.15±4.40 ^a	56.96±1.52 ^a	56.03±4.47 ^a	52.66±2.1 ^a	54.81±0.86 ^a
T ₁₅	57.59±3.52 ^b	54.92±1.75 ^a	55.14±3.40 ^a	57.31±3.09 ^a	56.05±1.96 ^a	52.72±2.14 ^a	54.93±4.72 ^a
T ₃₀	58.50±3.52 ^b	54.87±1.75 ^a	54.3±1.11 ^a	57.40±1.40 ^a	56.09±1.08 ^a	52.77±2.07 ^a	54.96±5.17 ^a
T ₄₅	60.66±2.12 ^a	55.83±2.04 ^a	54.78±1.25 ^a	57.46±1.17 ^a	56.21±1.66 ^a	52.78±0.86 ^a	54.96±6.08 ^a
T ₆₀	62.53±1.44 ^a	55.99±1.85 ^a	54.78±1.20 ^a	57.48±0.72 ^a	56.27±1.4 ^a	52.78±0.70 ^a	55.02±1.20 ^a
F	3,93	2,3	0,65	0,4	0,06	0,00	<0.01
P	<0.001	0,51	0,70	0,82	1	1	1

NB: On the same column, the indexed average values of the same letters are not statistically different ($p < 0.05$); The letters correspond to the ranks obtained at the end of the classification of the doses; Highly significant: $p \leq 0.001$; very significant: $p \leq 0.01$; p: % probability; F: Smallest Significant Difference test; Gly: glyphosate, D₀: control tank, D₄: 4g gly dose, D₆: 6g gly dose, D₈: 8g gly dose, D₁₀: 10g gly dose, D₁₂: 12g gly dose, D₁₄: 14g gly dose; The average values of the rows indexed by the same letters are not statistically different at the 5% threshold according to the Fisher LSD test

3.2. Effect of glyphosate on the weight growth of snails

The results obtained show that glyphosate negatively impacts the weight growth of treated snails, as shown in Figure 2. Analysis of weight growth histograms shows that all snails subjected to glyphosate lost weight. Snails subjected to doses D₄, D₆ and D₈ mL/L record less weight loss unlike those subjected to doses 10, 12 and 14 mL/L which record significant weight losses from 19.65 to 13.98 g, from 19.80 to 11.84 g and from 19.59 to 10g respectively. In addition,

only control snails experience a remarkable increase in weight, from 19.48 to 25.26 g. Thus, Fisher's LSD test performed on all live weight data of snail batches grouped according to different doses of glyphosate shows that there is a significant difference ($p < 0.05$) between the live weight of controls and that of snails treated over time.

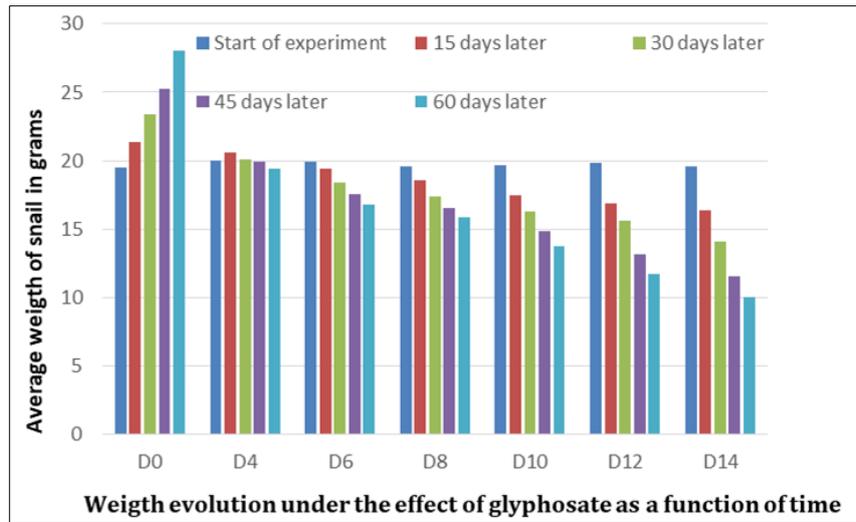


Figure 2 Effect of glyphosate on the average weight of *Achatina achatina* snails

Table 3 Fisher's LSD test: analysis of differences between the weights of *Achatina achatina* at T0, T15, T30, T45 and T60 subjected to glyphosate

TIME	D ₀	D ₄	D ₆	D ₈	D ₁₀	D ₁₂	D ₁₄
T ₀	19.49±0.80 ^d	19.83±4.09 ^a	19.88±4.33 ^a	19.62±5.25 ^a	19.65±4.47 ^a	19.80±6.77 ^a	19.59±5.76 ^a
T ₁₅	21.31±1.1 ^{cd}	20.65±1.39 ^a	19.45±2.64 ^a	18.5±1.7 ^{ab}	17.54±1.7 ^{ab}	16.9±2.75 ^b	16.33±2.62 ^b
T ₃₀	23.27±1.9 ^{bc}	20.05±1.3 ^a	18.22±2.62 ^b	17.06±2.06 ^{bc}	16.41±2.57 ^b	15.57±1.6 ^{bc}	14.05±2.17 ^c
T ₄₅	25.03±2.89 ^b	20.01±2.94 ^a	17.46±1.64 ^c	15.98±2.5 ^c	15.03±3.72 ^{bc}	13.35±2.57 ^{cd}	11.51±1.9 ^d
T ₆₀	27.88±4.01 ^a	19.44±3.8 ^a	17.02±2.32 ^c	15.61±2.31 ^c	13.98±3.35 ^c	11.84±2.08 ^d	10.00±1.72 ^d
F	52,31	0,53	4,22	7,3	11,18	16,04	31,94
P	<0.01	0,72	<0.01	<0.001	<0.001	<0.001	<0.01

NB: On the same column, the indexed average values of the same letters are not statistically different ($p < 0.05$); The letters correspond to the ranks obtained at the end of the classification of the doses; Highly significant: $p \leq 0.001$; very significant: $p \leq 0.01$; p: % probability; F: Smallest Significant Difference test; D₀: control tank, D₄: 4 g dose, D₆: 6g dose, D₈: 8g dose, D₁₀: 10g dose, D₁₂: 12g dose, D₁₄: 14g dose; The average values of the rows indexed by the same letters are not statistically different at the 5% threshold according to the Fisher LSD test

4. Discussion

The weight loss and consistency observed in the shell lengths of snails subjected to different doses of incorporation of the feed to glyphosate; highlight the influence of glyphosate on the weight and shell growth of snails (*Achatina achatina*). The live weight of control snails is growing in contrast to the live weights of snails subjected to different doses of food contamination with glyphosate, which are regressing. This regression of the live weight of snails is a function of the dose of glyphosate which induces a greater toxicity depending on its concentration. This explains the low weight loss observed in snails subjected to doses D₄, D₆ and D₈ mL/L unlike the high weight loss observed in snails subjected to doses D₁₀, D₁₂ and D₁₄ mL/L. These results corroborate those obtained by authors who show that the evolution of the fresh weight of snails under the effect of pesticides is regressing compared to that of the control [1]. Also, others have reported that the significant reduction ($p < 0.05$) in weight (total, shell and soft tissue) of snails treated with aminocarb, methyl parathion and paraquat is related to the nature and dose of pesticide administered [20]. For their part Coeurdassier *et al.* [3] observed a dose-dependent decrease in snail growth and survival induced by dimethoate. Therefore, exposure of snails through the epithelial route induces greater toxicity. This explains the growth in shell

length of control snails, not exposed to glyphosate compared to the inhibition of shell growth of snails exposed to glyphosate.

On the other hand, all these results obtained on *Achatina achatina*, go against those obtained by Druart *et al.*, [4]. Indeed, during his work, this author showed that glyphosate had no effect on the growth (total mass and shell diameter) of snails exposed to 2.8 mg.kg⁻¹. This resulted in shell maturation and rapid growth during the first 56 days of experience. This difference between the results obtained could be explained by the large difference in the concentration rate of the active ingredient used. Indeed, in our study, the lowest glyphosate solution is 4 ml / l or 4g. Kg-1 much higher than the rate of 2.8 mg.kg⁻¹ used by this author.

The weight-dependent dose decrease and the absence of glyphosate-related shell growth in our results could also be explained by a possible interference of glyphosate in calcium (Ca) metabolism. Indeed, calcium plays an essential role in the development of the entire body of the snail and in particular that of the shell. This has been shown in *Helix aspersa* [9] and *Achatina fulica* [14]. These authors explain this effect by an increase in thickness and shell mass. The shell consists mainly of calcium carbonate and an organic matrix called chonchiolin [11]. Thus, it has been shown a 30% decrease in the mass of the shell of snails exposed to artificial soil contaminated with calcium [7]. However, Jordan *et al.* [15] did not find a significant relationship between soil pollution by ETMs (Cd, Cr, Pb and Zn) and the strength of shells of *Cepea nemoralis* snails collected in situ.

In fact, the mechanism involved in inhibiting the growth of snails fed contaminated food is difficult to identify [8]. It could be a synthetic inhibition of a growth hormone essential for the growth of snails. In addition, this blockage could also be explained by the repellent nature of glyphosate. Indeed, we found that the snails refused to feed, after the first intake of food which forced them to dieback.

5. Conclusion

The present study, which evaluated the effect of glyphosate on the growth of the *Achatina achatina* snail, concludes that glyphosate has a definite effect on shell length and live weight of snails. This active substance causes weight loss of snails and limits the shell growth of them. In addition, it could be a source of toxicity for snails exposed to the herbicide both in the laboratory and in farmers. The inhibition of the weight and linear growth of snails is a function of the concentration of glyphosate in the solution. One of the main limitations of our study is that it was only circumscribed around *Achatina achatina*. However, the species *Achatina fulica* and *archachatina ventricosa* are also marketed in the different markets of the country. In the interest of food self-sufficiency, the impact of this herbicide on their growth could reduce their availability and consequently lead to a shortage of snail meat on the markets. Thus, in order to anticipate this problem, this study must be extended to all giant snails consumed in Côte d'Ivoire.

Compliance with ethical standards

Acknowledgments

We would like to thank our students who were able to follow the experiment and defend their master memory with the results of the said experiment.

Disclosure of conflict of interest

There is no conflict of interest

References

- [1] Bourbia-Ait H.S. Evaluation of the toxicity of pesticide mixtures on a soil pollution bioindicator *Helix aspera*. 2013. PhD thesis, Badji Mokhtar University-Annaba (Morocco), 110 p.
- [2] Bouziani M. Immoderate use of pesticides. Serious health consequences. The guide of medicine and health. 2007. Santémaghreb, <http://www.santetropicale.com/santemag/algerie/poivue51.htm> (Accessed September 2021).
- [3] Coeurdassier M, Saint-Denis M, Gomot de Vaufleury A, Ribera D. & Badot PM. The garden snail (*Helix aspera*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: effect of dimethoat of survival growth an acetylcholinesterase activity. 2001. *Environmental toxicology and chemistry*. 20 (9): 1951-1957.

- [4] Druart C, Delhomme O, De Vaufleury A, Ntchoe E. & Millet M. Optimization of extraction procedure and chromatographic separation of glyphosate, glufosinate and aminomeylphosphonic acid in soil. 2011. *Journal of Analytical and Bioanalytical chemistry*, 29 :1725-1732.
- [5] Fagbuaro O, OSO JA, Edward JB. & Ogunleye RF. Nutritional status of four species of giant land snails in Nigeria. 2006. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, 7(9): 686-689.
- [6] FAO. The state of food insecurity in the world. 2005. Economic and social Department, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, <http://www.fao.org/docrep/008/a0200e/a0200e00.htm> (consulté le 01/09/2021)
- [7] Gimber F, Menche M, coeurdassier C, Badot P, M. de Vaufleury A. Kinetic and dynamic aspect sol-plant-snail transfert of cadmium in the field. 2008. *Environmental pollution* 152: 736-745.
- [8] Gomot A. Dose dependant effect of camdium on the growth the snail in toxcity bioassays. 1997a. *Archives of environmental contamination and toxicity*. 33: 209-216.
- [9] Gomot A, Gomot, L., Boukraa, S., Bruckert S. Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa*. An experimental study of the absorption route for the stimulating factors.1989. *J. Molluscan Stud.* 55, 1-7.
- [10] [9] Hamel P. A chemical control technique against *Eupatorium odoratum* (L.) for oil palm replanting. *Oléag.* 1986. 41 (6) : 263-267.
- [11] Heller J, Margaritz M. From where do land snail obtain the chemicals to build their shell? 1983. *Journal of molluscans studie*, 49: 116-121.
- [12] [11] Hornus Ph. Chemical weed control of adult palm rounds: Low volume technique. *Oléag.* 1990. 45 (6) : 295-299 .
- [13] Hornus Ph, Nguimjeu E, Kouotou M and Kanga E. Entretien chimique des ronds de palmier à huile. Essais herbicides: glyphosate/ glufosinate; 1- Résultats. *Oléag.* 1990. 45(2): 57-61.
- [14] Irland MP. The effect of diatery calcium on growth shellthickness and tissue calcium distribution in the snail *Achatina fulica*. 1991. *Comparative biochemistry and physiology*. 98 A111-116.
- [15] Jordan K., Wolf H., VandecasteeleB, Blust R., Backeljau T. Associant between shell strenght, shell morphology and heavy metal in the land snail *Cepaea memoralis* (Gasteropoda Helicidae). 2006. *Science of the total environmental* 363: 285-293.
- [16] Kouassi K.D, Otchoumou A. & Gnakri D. The *Achatina achatina* trade, a lucrative activity in Côte d'Ivoire. 2008. *Livestock Research for Rural Development*,
- [17] N'guessan O., Kouassi D., Yapi A. C., Kouamé V. Evaluation de la bioaccumulation des métaux lourds et du glyphosate chez l'escargot *Achatina achatina* (linne 1758) collecte sous les cacaoyers dans la localité de Soubré (sud-ouest de la cote d'ivoire).2022. *Agronomie Africaine* 34 (1): 93-100.
- [18] Ndabalishye I. Agriculture vivrière Ouest-africaine à travers le cas de la Côte d'Ivoire. 1995. IDESSA, Bouaké, 383.
- [19] Oerke E. & Dehne H. Global crop production and the efficacy of crop production current situation and futurs trends. 1997. *European Journal of Plan Pathology*, 103: 203-215.
- [20] Schuytema GS, Nebeker AV & Griffis W.L. Effets of dietary exposure to forest pesticides on the brown garden snail *Helix aspera* Muller. 1994. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 26(1): 23-28.
- [21] UIPP La culture ne vit que de progrès. Rapport d'activité. 2009. 36 p.
- [22] Zongo D, Coulibaly M, Diambra OH & Adjiri E. Note sur l'élevage de l'escargot géant africain (*Achatina achatina*). 1990. *Nature et faune*, 6(2): 32-44

ARTICLE 3



Research Article

DETERMINATION OF HEAVY METALS AND GLYPHOSATE IN ACHATINA ACHATINA(SNAILS) COLLECTED IN NAWA REGION (SOUTH WESTERN CÔTE D'IVOIRE) AND EVALUATION OF THE HEALTH RISKS WITH THEIR CONSUMPTION***N'Guessan N. O¹, Kouassi K. D², Kouamé K. V³, Yapi D. A. C⁴ and Kouadio K. N⁵**^{*1,2,3,4}Laboratoire Biodiversité et Ecologie Tropicale (BioEcoTrop)^{*}Doctorant à Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire, Ivoirien⁵Laboratoire d'Environnement et de Biologie Aquatique, Université de Man. Ivoirien**ARTICLE INFO****Article History:**Received 12th October, 2022Received in revised form 23rd

November, 2022

Accepted 7th December, 2022Published online 28th January, 2023**Key words:**

Snails, heavy metals, exposure, Nawa.

ABSTRACT

Due to their herbivorous and scavenger diet, snails are contaminated by various pollutants present in the soil and flora. However, the edible part of Achatine is one of the most consumed meats in some regions of Africa, particularly in Côte d'Ivoire. This study aims to determine the concentrations of mercury, cadmium, lead, copper, zinc and glyphosate in *Achatina achatina* and evaluate risks of exposure associated to their consumption. Analytic methods used for the determination of heavy metals and glyphosate are respectively atomic absorption spectrophotometry and HPLC. The results revealed the presence of heavy metals and glyphosate in the cephalopod *Achatina Achatina*. The hazard quotient assessment of exposure to chemical pollutants revealed that consumers are most exposed to cadmium because hazard quotient is greater than 1 in all locations for both children and adults. The remaining chemical pollutants have hazard quotients below 1. However, consumers are not exempt from the remaining chemical pollutants. So, people should consume Achatine meat in moderation.

Copyright© the all authors 2023. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

INTRODUCTION

Trace metals and active substances are pollutants generated in general by human activity (Naert *et al.*, 2017). They have everyday a toxicological impact on plants, consumer products, and humans (Ben Ghnaya *et al.*, 2013). These pollutants are considered as serious environmental pollutants because of their persistence and tendency to bioaccumulate in living organisms (Schuurmann and Markert, 1998). However, naturally available food resources play an important role in the diet of populations (Sodjinou *et al.*, 2002). Among these resources, we have African land snails or achatines which belong to the Achatinidae family. Snails have been consumed throughout the world since prehistoric times and remain one of the most popular meats in Europe, Africa and the Americas (Dafem *et al.*, 2008). Unfortunately, they are bio-accumulative animals of trace metals. Metal concentration in invertebrate tissues varies considerably not only between taxa, but also between individuals of the same species (Tyler *et al.* 1989). The form in which the pollutant appears is probably related to the physiological properties of the species and not the trophic level (Spurgeon & Hopkin 1999). Metal content in invertebrates depends on ingestion conditions, the physiological characteristics of the species, and especially the type of food (Lindqvist & Block 1997, Purchart & Kula 2007). The giant African snail feeds on detritus that may be contaminated with heavy metals and organic pollutants. Thus, this

animal could accumulate these pollutants in its organs or tissues at varying levels (Viard *et al.*, 2004). Also, bioaccumulation involves a food web (Scheifler, 2002). Thus, it goes up to the consumer of higher level such as the man, more exposed than any other link of the chain (Miquel, 2001). In Côte d'Ivoire several studies have shown the contamination of fish by heavy metals (Coulibaly *et al.*, 2018; Coulibaly *et al.*, 2013; Coulibaly *et al.*, 2012; Kouamé, 2020). On the other hand, very little work has been done to assess the risks of heavy metal and glyphosate contamination by snails. Moreover, very little research has been conducted on the bioaccumulation of metals and glyphosate in the giant African snail consumed in Côte d'Ivoire. The purpose of this study is to determine the concentrations of mercury, cadmium, lead, copper, zinc and glyphosate in the flesh of the *Achatina achatina* snail and to assess the health risks associated with its consumption.

MATERIALS AND METHODS**Study area**

The present work was carried out in the Nawa region of southwestern Ivory Coast (Figure 1). This region is located between 5°60' and 9°50' North latitude and 6°0' and 8°20' West longitude and covers an area of 9193 km² with a population of 314,192 inhabitants (INS, 2014). Three localities (Yabayo, Soubré, Meagui) were selected for this

*Corresponding author: N'Guessan N. O

Laboratoire Biodiversité et Ecologie Tropicale (BioEcoTrop)

study. The Yabayo site is located between 5°35'17.052 N and 6°22'25.14 W. The Soubré site is located between 5°57'19.93 N and longitude 6°37'56.57 W. As for the Meagui site, it is located between 5°21'38.75 N and longitude 6°28'75 W. The choice of these sites is justified by the fact that these three localities are supply areas for the Ivorian markets in snails.

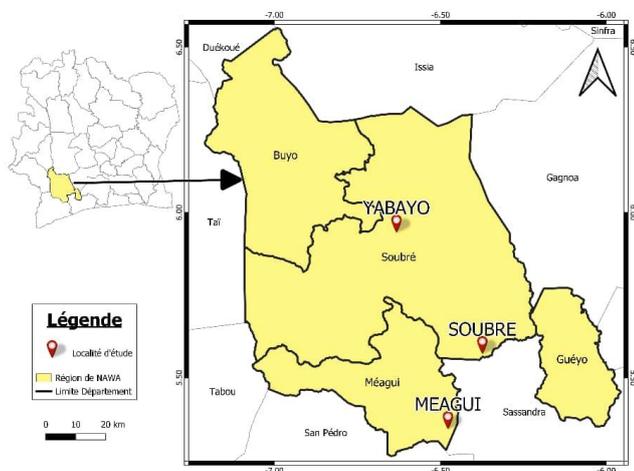


Figure 1 location of the study area

Biological material

This study focused on a species of land snail belonging to the family Achatinidae. It is *Achatina achatina* (Fig.2). It is the most prized species in Ivory Coast in general and by the populations of the study area in particular.



Figure 2 *Achatina achatina*

Eight (8) snails were collected from under the cocoa orchards after a rainfall in each of the three locations. The collected samples were placed in a stomacher bag and stored in a cooler before being transported to the laboratory the next morning.

Preparation of snail samples

Once in the laboratory, snails were fasted for two days (48 hours) to remove unabsorbed food and feces from their digestive tract. The live weight, shell length and shell diameter of each snail were determined before dissection. This was done according to the method described by Chukwujindu *et al.*, (2009).

Mineralization and determination of heavy metals

Mineralization for the determination of lead, copper, zinc and cadmium was performed according to AOAC method 999.10 (2003). For mercury, the official AOAC method No. 977.13 was adopted (AOAC, 1978). For the digestion of each sample, a 0.5 g test sample of shredded material is placed in a Teflon tube under a fume hood. Then 5 mL of 65% concentrated nitric acid (HNO₃) and 15 mL of 37% hydrochloric acid (HCL) are successively added to the shredded material in the

ratio (HNO₃/HCL1/3). Another Teflon tube containing bidistilled water is used as a blank (neutral control of the elements to be investigated or treated). To this blank tube, the same reagents that were used for the matrix digestion are added in the same order. The Teflon tubes are put in a water bath for 1 hour (1H) at a temperature of 90°C for the digestion of the content. The Teflon tubes are removed and placed on the bench for cooling. Thirty minutes (30) later, a decompression of 5 minutes is done under the hood by opening the Teflon tubes to let the gas escape. After cooling, the mixture is filtered into a 100 mL volumetric flask and supplemented with bidistilled water up to the mark and then homogenized by manual stirring. Then, the solutions obtained after the mineralization are transferred into a clean tube bearing the references of the samples and kept at 4°C until the analysis.

Quantification of metallic trace elements

The detection of the metallic trace elements was done with the help of the Atomic Absorption Spectrophotometer with graphite furnace, controlled by the LC solution software equipped with a non-specific background corrector (Deuterium lamp), an automatic sample changer. A calibration was done before the preparation of the standard solutions for each metal with increasing concentrations of 10ug/l, 800ug/l, and 1500ug/l. The coefficient of determination of each element chosen is between 0.995 and 1. The metal contents in mg/kg (ppm) were obtained from the concentrations read directly on the spectrometer.

Determination of glyphosate content

Twenty-five (25) g of snail meat samples are taken and weighed into a 50ml conical tube. Then, demineralized water is added up to the 50ml gauge, the whole is vortexed for 3 min. The resulting solution V₂ is filtered into another 50ml conical tube. At the end, a corresponding volume of 10% TCA (trichloroacetic acid) is added to V₂ up to the 50 ml gauge and then vortexed for 3 min. The whole is filtered into another 50 ml graduated conical tube to obtain the volume V₃.

Preparation of samples for quantification

To 1 ml of the diluted V₃ solution, 1 ml of the tetraborate solution (5%) and 1 ml of the FMOC solution are added in order. The resulting solution is stirred for 1 hour in the dark at room temperature, then centrifuged at 4500 rpm for 5 min. The supernatant is collected in a vial and ready for HPLC detection and quantification.

Method for assessing the health risks associated with the consumption of snails contaminated with heavy metals

The assessment of health risks related to the consumption of snails contaminated by trace metals followed three main steps: the identification of the hazard, the choice of toxicological reference values (TRV) and the assessment of population exposure (Bisson *et al.*, 2009). This leads to the calculation of the daily exposure dose. By assumption, it was considered that the average daily quantity of snail ingested by a child is the same as that ingested by an adult. This quantity is determined by a field survey of households in the study area. This interview revealed that people consume an average of 6 *Achatina achatina* snails per meal every two weeks.

Metal concentrations in cephalopods

$$C = \frac{Cs \cdot Vf \cdot Fd \cdot 0,001}{P}$$

With

C= final concentration in mg/kg,

Cs=concentration of the element in the solution

Vf= final volume of the sample,

Fd= dilution factor

P= sample weight in g

Daily Exposure Dose (DEL)

$$DEL=C \cdot Q \cdot F/P$$

With

TDI=daily exposure to trace elements (mg/kg/d)

C=trace element concentration in snails

F=frequency of exposure (F=1) without unit

P=body weight of the target

Q= amount of snails ingested per day (kg/d)

The quantity Q of snails ingested per day was calculated by considering that the cephalopod (the consumed part of the snail) represents, according to a study carried out in Ivory Coast by Otchoumou (2005), 30% of the live weight of the snail and by taking into account the 6 *Achatina achatina* snails consumed per meal then the measurement of the weight of the snails in the laboratory. Table I presents the toxicological reference values of acceptable daily intake (ADI) of the heavy metals and glyphosate analyzed.

Table 1 Toxicological reference values of acceptable daily doses (ADI) of the heavy metals and glyphosate analyzed.

Trace elements Metallic	Sources	Toxicological Reference Values
Cadmium	Bisson (2009)	0,0002 mg/kg/day
Copper		0,140 mg/kg/day
Zinc		0,3 mg/kg/day
Lead		0,0036 mg/kg/day
Glyphosate	ANSES (2019)	0,5 mg/kg/day
Mercury	Bisson (2018)	0.00066 mg/kg/day

Table 3 Health risks of eating lead contaminated *Achatina achatina* snails in the sampled localities

Lead	Average heavy metal concentration C (mg/kg)	Average weight of snails (Kg)	Quantity of snails eaten per day Q (kg/day)	Target weight (kg)		Daily exposure dose TDI (mg/kg/day)		Acceptable Daily Intake ADI (mg/kg/day)	Healthrisks (Hazard Quotient)	
				Adulte	Child	Adulte	Child		Adulte	Child
Soubre	0,27	0,096875	0,174375			0,00068	0,002		0,19	0,57
Meagui	0,25	0,16275	0,29295	70	28	0,001	0,003	0,0035	0,29	0,85
Yabayo	0,24	0,1745	0,3141			0,001	0,003		0,29	0,85

Table 4 Health risks of eating cadmium contaminated *Achatina achatina* snails in the sampled localities

Cadmium	Average heavy metal concentration C (mg/kg)	Average weight of snails (Kg)	Quantity of snails eaten per day Q (kg/day)	Target weight (kg)		Daily exposure dose TDI (mg/kg/day)		Acceptable Daily Intake ADI (mg/kg/day)	Healthrisks (Hazard Quotient)	
				Adulte	Child	Adulte	Child		Adulte	Child
Soubre	0,127	0,096875	0,174375			0,0003	0,0008		1,5	4
Meagui	0,12	0,16275	0,29295	70	28	0,0005	0,0012	0,0002	2,5	6
Yabayo	0,13	0,1745	0,3141			0,0006	0,0014		3	7

Hazard Quotient (HQ)

$$HQ= DEL/TDI$$

If

HQ >1 the appearance of a toxic effect cannot be excluded

HQ <1 the appearance of a toxic effect is very unlikely

Statistical analysis

RESULTS

Concentrations of TMEs and glyphosate in the flesh of the snail *A. achatina*

Figure 3 below shows the content of chemical pollutants in the flesh of *Achatina achatina*.

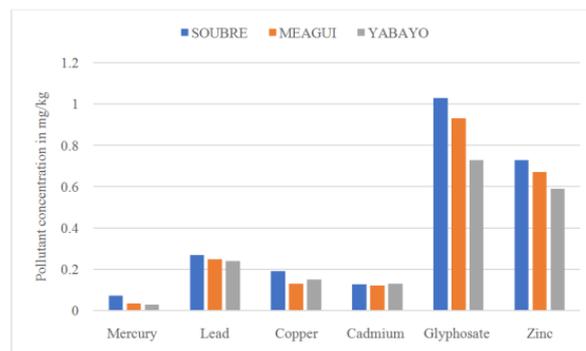


Figure 3 Heavy metal and glyphosate levels in the snail *A. achatina*

Results obtained after analysis of snail samples collected in the Nawa region reveal the presence of heavy metals and glyphosate in the cephalopod (Fig. 3). The average values of these toxic substances in snail meat vary from one locality to another and from one element to another. The lowest values are recorded in the order mercury, cadmium, copper and lead. Zinc and glyphosate levels are relatively higher in snail meat. Mercury levels ranged from 0.029 mg/kg (Yabayo) to 0.072 mg/kg (Soubre), while lead levels ranged from 0.27 mg/kg (Yabayo) to 0.24 mg/kg (Soubre). Copper levels ranged from 0.13 mg/kg (Meagui) to 0.19 mg/kg (Soubre), while cadmium levels ranged from 0.12 mg/kg (Meagui) to 0.3 mg/kg (Yabayo). Glyphosate concentrations range from 0.73 mg/kg

(Yabayo) to 1.03 mg/kg (Soubre). Zinc levels ranged from 0.59 mg/kg (Yabayo) to 0.73 (Soubre).

Population exposure assessment

The results of the exposure assessment for heavy metals and glyphosate related to snail ingestion and the corresponding hazard quotient (HQ) for adults and children are presented in Tables 3 to 8.

The hazard quotients of lead and mercury are less than 1. However, since they have no beneficial activity in living organisms, a harmful effect cannot be excluded even at very low concentrations because there is no threshold below which

Table 5 Health risks of eating copper contaminated *Achatina achatina* snails in the sampled localities

Copper	Average heavy metal concentration C (mg/kg)	Average weight of snails (Kg)	Quantity of snails eaten per day Q (kg/day)	Target weight (kg)		Daily exposure dose TDI (mg/kg/day)		Acceptable Daily Intake ADI (mg/kg/day)	Healthrisks (Hazard Quotient)	
				Adulte	Child	Adulte	Child		Adulte	Child
Soubré	0,19	0,096875	0,174375			0,00048	0,0011		0,0032	0,008
Meagui	0,13	0,16275	0,29295	70	28	0,0005	0,0014	0,15	0,004	0,009
Yabayo	0,15	0,1745	0,3141			0,0007	0,0017		0,0045	0,011

Table 6 Health risks of eating zinc contaminated *Achatina achatina* snails in the sampled localities

Zinc	Average heavy metal concentration C (mg/kg)	Average weight of snails (Kg)	Quantity of snails eaten per day Q (kg/day)	Target weight (kg)		Daily exposure dose TDI (mg/kg/day)		Acceptable Daily Intake ADI (mg/kg/day)	Healthrisks (Hazard Quotient)	
				Adulte	Child	Adulte	Child		Adulte	Child
Soubré	0,73	0,096875	0,174375			0,002	0,004		0,007	0,013
Meagui	0,67	0,16275	0,29295	70	28	0,003	0,007	0,3	0,01	0,023
Yabayo	0,59	0,1745	0,3141			0,003	0,007		0,01	0,023

Table 7 Health risks of eating glyphosate contaminated *Achatina achatina* snails in the sampled localities

Glyphosate	Average heavy metal concentration C (mg/kg)	Average weight of snails (Kg)	Quantity of snails eaten per day Q (kg/day)	Target weight (kg)		Daily exposure dose TDI (mg/kg/day)		Acceptable Daily Intake ADI (mg/kg/day)	Healthrisks (Hazard Quotient)	
				Adulte	Child	Adulte	Child		Adulte	Child
Soubré	1,03	0,096875	0,174375			0,002	0,006		0,004	0,012
Meagui	0,93	0,16275	0,29295	70	28	0,004	0,010	0,5	0,008	0,020
Yabayo	0,73	0,1745	0,3141			0,003	0,008		0,006	0,016

Table 8 Health risks of eating mercury contaminated *Achatina achatina* snails in the sampled localities

Mercure	Average heavy metal concentration C (mg/kg)	Average weight of snails (Kg)	Quantity of snails eaten per day Q (kg/day)	Target weight (kg)		Daily exposure dose TDI (mg/kg/day)		Acceptable Daily Intake ADI (mg/kg/day)	Healthrisks (Hazard Quotient)	
				Adulte	Child	Adulte	Child		Adulte	Child
Soubré	0,072	0,096875	0,174375			0,00018	0,00045		0,28	0,68
Meagui	0,035	0,16275	0,29295	70	28	0,00015	0,00037	0,00066	0,28	0,56
Yabayo	0,029	0,1745	0,3141			0,00013	0,00033		0,2	0,5

Analysis of Tables 3, 4, 5, 6, 7 and 8 reveals that the hazard quotient (HQ) for cadmium in adults and children in all localities is greater than 1. In fact, in all localities, the hazard quotients for children are four, six and seven times higher respectively in Soubré (HQ =4), Meagui (HQ =6), and Yabayo (HQ =7). We also note that the hazard quotient is greater than 1 for adults in Soubré (DQ=1.5), Meagui (HQ =2.5) and Yabayo (HQ =3). The hazard quotients for lead and mercury are less than 1 for all three sites sampled, for both children and adults. Copper, zinc, and glyphosate all have hazard quotients strictly below 1 at all sites for both adults and children.

DISCUSSION

Heavy metals and glyphosate were observed in *Achatina achatina* samples after analysis. The mean concentrations of lead, mercury and cadmium in the snail cephalopod from the three sampled localities were all above the toxicological reference values set by WHO, INERIS and ATSDR (daily standards) for oral exposure to these metals, respectively.

these three metals (Hg, Pb, Cd) do not produce undesirable effects (WHO 2005).

The average lead concentrations in snails sampled at the three sites exceeded sixty-six (66) times the WHO standard. However, the positive effect of boiling on the flesh of achatine could reduce the risk of lead contamination. In their study on the effect of two cooking methods (frying and boiling) on the concentration of lead and cadmium, Adamou *et al* (2019) showed that the concentration of lead decreased by 2 to 78% after boiling, depending on the location. Lead (Pb) is also a powerful poison to the nervous system and can cause irreversible damage to a child's development (Roeckx, 1986).

As for cadmium, its average concentrations in the snails sampled in the three localities exceed six hundred (600) times the toxicological reference value set by ATSDR (daily standards), i.e. 0.0002 mg/kg/day for exposure to this metal by the oral route. The health risk related to the consumption of this species of snail is very high because of its cumulative toxicity whose biological half-life is about 20 to 30 years

(Loubna, 2009). Furthermore, this result is very alarming because of the negative effect of cooking temperature on cadmium. Adamou *et al* (2018) highlighted the negative effect of cooking on cadmium. According to these authors, the concentration of cadmium in the flesh of *Archachatina marginata* species increases from 0% to 119% after boiling and from 144 to 219% after frying. Children are the most exposed. These results are similar to those obtained by Adamou *et al.* (2018). This is confirmed by Hounkpatin *et al.* (2012) who justify it to their low body weight and their physiological fragility since contaminants are easily absorbed in their body. Indeed, children's bodies potentially absorb more contaminants and remain unable to eliminate them as easily as adults since their elimination systems are less developed (Hounkpatin *et al.*, 2012). Mariam *et al.* (2004) reported average levels of 0.33 ppm, 0.37 ppm and 0.31 ppm Cd in beef, sheep and poultry, respectively. Saviperumal *et al.* (2007) found concentrations ranging from below the detectable level to 0.98 mg/kg Cd in some mollusc species in India. Wegwu and Wigwe (2006) further observed a cadmium concentration of 0.60 to 0.84 mg/kg. The cadmium levels found in this study are lower than those reported by the above authors, but lower than the 5.7 mg kg⁻¹ of cadmium reported by Viard *et al.* (2004) on land snails collected near a highway in France.

Average mercury concentrations differ from one locality to another. In fact, the mercury content of snails in Soubré is one hundred and nine (109) times higher than the norm. The level in Méagui is fifty-three (53) times higher than the standard. The locality of Yabayo also records a high concentration, forty-three (43) times higher than the toxicological reference value. It is considered by the WHO as one of the ten chemicals of extreme concern for public health and especially a threat to the development of children at an early age. Its slight liposolubility allows it to easily cross the placental barrier (Palkovicova *et al.*, 2008) as well as the pulmonary alveoli and to pass into the bloodstream through which it is distributed in different organs (Cercy and Wankmuller, 2008) where it is able to induce oxidative stress by affecting intracellular levels of reduced GSH (Sener G *et al.*, 2007).

The average concentrations of glyphosate in Méagui, Soubré and Yabayo are all above the ANSES (2019) guideline. The high concentration of glyphosate recorded in Soubré could be explained by the fact that the samples were taken under cocoa trees that are only treated with the herbicide GLYPHADER, of which glyphosate is the active substance. The occurrence of a toxic effect from glyphosate is very unlikely because its hazard quotient is less than 1. However, it still remains a potential threat to public health. Indeed, the gardener Dewayne Johnson had the firm Monsanto (group producer of glyphosate) condemned to pay 78.5 million American dollars responsible for his cancer.

With respect to copper, only the average concentration in the Méagui locality is below the standard. The values of the other two localities are higher than the standard. As for zinc, its average concentration in the snails of the three sites was found to be two (2) times higher than the standards established by INERIS (2009). Having a role in the metabolism of living beings, and a hazard quotient lower than 1, the occurrence of a toxic effect related to copper and zinc is very unlikely.

CONCLUSION

This study assesses population exposure to heavy metals and glyphosate in the flesh of *Achatina achatina* edible by people in the Nawa region. *Achatina achatina* snail is one of the heavy metal and glyphosate accumulating species. The snails studied all concentrate cadmium above the accepted standards. Consumption of snails from the Nawa region presents a probable hazard to human health. All these results require that additional measures have to be taken to preserve human health, biodiversity and integrate sustainable development to ensure the nutritional quality of snails, an important source of protein to be developed in this century where food security is on the agenda. We only recommend the consumption of snails from controlled breeding conditions.

References

1. Adamou, M. R., Yehouenou. P, A., Edoth. P., 2019. Effets de deux méthodes de cuisson sur la concentration des métaux lourds dans la chair des escargots géants Africains. *Institut National des Rec herches Agricoles du Bénin*, 33-40.
2. ANSES., 2010. Phytopharmacovigilance-Synthèse des données de surveillance- glyphosate. 16p.
3. Ben Ghnaya. A., Hamrouni. L., Mastouri Y., Hanana M., Charles G., 2013, Impacts des métaux toxiques sur la végétation de la mine de Djebel Hallouf dans la région de Sidi Bouaouane à Bou Salem dans le Nord-Ouest de la Tunisie. *Geo-Eco-Trop.*, 2013, 37, 2 : 243 - 254.
4. Bisson M., Marlière, M., 2018, Bilan des choix de VTR disponibles sur le portail des substances chimiques de l'INERIS. Rapport d'étude, 24/01/2018. N° DRC-17-163632-11568A, INERIS 62 p.
5. Bisson M., Vivier S., La rocca B., Gourland C., 2009, Point sur les valeurs toxicologiques de références (VTR). Rapport d'étude 17/03/2009 N° DRC-08-94380-11776C, INERIS 62 P.
6. Cercy SP., Wankmuller M, M., 2008, Cognitive dysfunction associated with elemental mercury ingestion and inhalation: a case study. *Appl. Neuropsychol.* 15: 79-91.
7. Chukwujindu I., Eguavoen S., Arimoro F, O., 2009, Heavy metal content in the African giant snail *Archachatina marginata* (Swainson, 1821) (Gastropoda: Pulmonata: Achatinidae) in southern Nigeria. *Folia Malacologia.* 16(1) : 31-34
8. Coulibaly S. 2013. Bioaccumulation des métaux lourds et effets biologiques induits chez *Saratherodon melanotheron rüppell*, 1852 pêché dans la Baie de Bietri en Lagune Ebrié (Côte d'Ivoire). Thèse de Doctorat, Université Felix Houphouët Boigny d'Abidjan (Côte d'Ivoire), 214 p.
9. Coulibaly S., Atse B, C., Koffi, K, M., Sylla S., Konan K, J and Kouassi N, J., 2012, Seasonal Accumulations of Some Heavy Metal in Water, Sediment and Tissues of Black Chinned Tilapia *Sarotherodon melanotheron* from Bietri Bay in Ebrié Lagoon, Ivory Coast. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 10 : 512 - 522.
10. Coulibaly S., Atse B, C., Koffi K, M., 2018, Contamination aux métaux lourds de la matrice eau-sédiment et muscle du tilapia *oreochromis niloticus* de

- trois fermes piscicoles en Côte d'Ivoire. *Agronomie Africaine* 30 (3) : 249 – 259.
11. Dafem R., Ngoula, F., Tegua, A., Kenfack A., Tchoumboué, J., 2008, Performance de reproduction de l'escargot géant Africain (*Archachatina marginata*) en captivité au Caméroun. *Tropicicultura*, 2008, 26, 3, 155-158.
DOI :10.12657/folmal.016.005
 12. Houmkipatin A, S, Y., Edorh P, A., Salifou, S., Gnandi, K., Komoulou, L., Agbandji, L., Aissi A. K., & Guoissi M., 2012, Assessment of exposure risk to lead and cadmium via fish consumption in the lacustrine village of Ganviè in Benin Republic. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology* 4(1):1-10.
 13. Iard B., Pihan, F., Promeyrat, C., Pihan, J., 2004, Integrated assessment of heavy metals (Pb, Zn, Cu) highway pollution; bioaccumulation in soil, Gramineae and land snails. *Chemosphere* 55 : 1349–1359.
 14. Kouamé L. B.C., Aka N., Bolou-Bi, E., Bi A, T, G., Livet, A., 2020, Determination of Source and Control Factors of Trace Metals (Cd, Zn, Cu, Cr, Ni and Pb) Bioaccumulation in Tilapia Fish of the Ebrié Lagoon (Côte d'Ivoire). *International Journal of Sciences*, Alkhaer, UK, 10.18483/ijSci.2276. hal-02524536. 18 p.
 15. Kouamé L. B.C., Aka N., Bolou-Bi, E., Bi, A, T, G., Livet A., 2020, Determination of Source and Control Factors of Trace Metals (Cd, Zn, Cu, Cr, Ni and Pb) Bioaccumulation in Tilapia Fish of the Ebrié Lagoon (Côte d'Ivoire). *International Journal of Sciences*, Alkhaer, UK, 10.18483/ijSci.2276. hal-02524536. 18 p.
 16. Lindqvist L., Block M., 1997, Influence of life and history of metal accumulation in two beetle species (Insecta: Coleoptera). *Bull. Environm. Contamin. Toxicol.* 58 : 518–522.
 17. Loubna E, I., 2009. Cytotoxicité du cadmium, du plomb et du mercure et caractérisation du transport membranaire de cadmium dans les cellules alvéolaires (A549) et bronchiolaires (H441). Mémoire de maîtrise, université du Québec à Montréal. 101 p.
 18. Mariam I., Iqbal, S., Nagra, A, S., 2004, Distribution of some trace and macrominerals in beef, mutton and poultry. *Int. J. Agricult. Biol.* 6 : 816-820.
 19. Miquel MG., 2001. Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport 261, Office Parlementaire d'Evaluation des Choix Scientifiques et Technologiques, 365 p.
 20. Naert., Nathan., 2017, Étude de la contamination des sols par les éléments traces métalliques : influence de la profondeur de la contamination sur la croissance de plantes indigènes et évaluation de la mobilité du zinc. Master, ULG, Belgique. 113 p.
 21. OMS., 2005. Mercure et soins de santé 2 P.
 22. Otchoumou A., 2005. Effet de la teneur en calcium d'aliments composés et de la photopériode sur les performances biologiques chez trois espèces d'escargots Achatinidae de Côte d'Ivoire élevées en bâtiment. Thèse de Doctorat d'Etat ES-Sciences Naturelles en Biologie et Ecologie Animales, Université d'Abobo Adjame, Abidjan, Côte d'Ivoire, 171 p.
 23. Palkovicova L., Ursinyova M., Masanova, V., Yu, Z., Hertz-Picciotto., 2008, Maternal amalgam dental fillings as the source of mercury exposure in developing fetus and newborn. 1. *Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 18: 326-331.
 24. Purchart L., Kula, L., 2007, Content of heavy metals in bodies of field ground beetle (Coleoptera: Carabidae) with respect to selected ecological factors. *Pol. J. Ecol.* 35: 305–314.
 25. Scheifler, R., Gomot-de Vaufleury, A., et Badot, P, M., 2002, Transfer of cadmium from plant leaves and vegetable flour to the snail *Helix aspersa*: bioaccumulation and effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 53, 148-153.
 26. Schuurmann G & Markert B., 1998. *Ecotoxicology, Ecological Fundamentals, Chemical Exposure and Biological Effects.* John Wiley & Sons Inc. and Spektrum Akademischer Verlag, 900.
 27. Sener G., Sehirlı O., Tozan, A., Velioglu-Ovunç, A., Gedik, N., Omurtag, G, Z., 2007, Ginkgo biloba extract protects against mercury (II)-induced oxidative tissue damage in rats. *Food. Chem. Toxicol.* 45: 543-550.
 28. Sivaperumal P., Sankar V. T., Viswanathan Nai, G, P., 2007, Heavy metal concentrations in fish, shellfish and fish products from internal markets of India vis-a-vis international standard. *Food Chem.* 102: 612–630.
 29. Sodjinou E., Biauou, G, Codjia J-C., 2002, Caractérisation du marché des escargots géants africains (achatines) dans les départements de l'Atlantique et du Littoral au Sud-Bénin. *Tropicicultura* 20(2) : 83-88. DOI : <http://www.bib.fsagx.ac.be/tropicultura/pdf/v20n2>.
 30. Spurgeon S. J., Hopkin, P, S., 1999, Comparison of metal accumulation and excretion kinetic in earthworms (*Eisenia fetida*) exposed to contaminated field and laboratory soils. *Appl. Soil Ecol.* 11: 227–243.
 31. Tyler G., Balsber-Pahisson A, M., Bengissong, G., Boath, E., Tranvik, L., 1989, Heavy metal ecology of terrestrial plants, micro-organisms and invertebrates. *Water Air Soil Poll.* 47: 189–215.
 32. Viard B., Pihan, F., Promeyrat, S., Pihan, J, C., 2004, Integrated assessment of heavy metals (Pb, Zn, Cu) highway pollution; bioaccumulation in soil, Gramineae and land snails. *Chemosphere* 55 : 1349–1359.
 33. Wegwu M, D., Wigwe, A, I., 2006, Trace metal contamination of the escargot géant africain (*Archachatina marginata*) du sud du Nigeria. *southern Nigeria. Chem. Biodivers.* 3 : 88-93

How to cite this article:

N'Guessan N. O *et al* (2023) 'Determination of Heavy Metals And Glyphosate In *Achatina Achatina* (Snails) Collected In Nawa Region (South Western Côte D'ivoire) And Evaluation of The Health Risks With Their Consumption ', *International Journal of Current Advanced Research*, 12(01), pp.1802-1807. DOI: <http://dx.doi.org/10.24327/ijcar.2023.1807.0400>

ARTICLE 4



IJSRM

INTERNATIONAL JOURNAL OF SCIENCE AND RESEARCH METHODOLOGY

An Official Publication of Human Journals



Human Journals

Research Article

October 2023 Vol.:25, Issue:4

© All rights are reserved by N'GUESSAN N'guessan Olivier et al.

Glyphosate Use in Agriculture: Declining Africans Giants Snails Populations




N'GUESSAN N'guessan Olivier*¹, KOUASSI Kouadio Daniel²

^{1,2}Laboratory of Biodiversity and Tropical Ecology (BioEcoTrop), UFR Environment, Jean Lorougnon Guédé University, Daloa BP 150 Côte d'Ivoire

Submitted: 17 September 2023

Accepted: 23 September 2023

Published: 30 October 2023

Keywords: agriculture, giant snails, glyphosate

ABSTRACT

The study carried out on the snails *Achatina fulica* and *Achatina achatina* at the Jean Lorougnon GUEDE University achatinicole farm aimed to evaluate the effect of glyphosate on the growth and survival of these animals. After a month of acclimatization where the snails were regularly watered and fed every other day with fresh lettuce leaves, the 210 juvenile snails of each species were divided into seven (7) batches of 30 snails each. The experiment consisted in modifying the diet of the snails by adding every 6 days, lettuce leaves soaked in glyphosate diluted at different concentrations: D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂, and D₁₄, for 60 days. Live weight and shell length were measured on each individual and the number of deaths from each batch was recorded every 15 days. The results reveal a negative effect of glyphosate on both weight growth and shell growth. Thus, a weight loss of the order of 0,2g (0,06%); 0,67g (2,23%); 1,65g (5,5%); 4,12g (13,73%); 6,43g (21,43%) and 8,04g (26,8%) is noted in *A. fulica*. In contrast, in *A. achatina*, it is 0,39 g (1,3%); 2,86 g (9,53%); 4,01 g (13,46%), 5,72 g (19,06%), 7,82 (20,06%) and 9,59 g (31,96%) respectively in subjects exposed to doses D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ and D₁₄. As for the shell length, that of *A. achatina* increased by 20.33%; 4.7%; 2.1%; 1.73%; 0.8%; 0.4%, and 0.66% respectively in snails subjected to doses D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄, versus 31% 2,4%; 1,96%; 1,03%, 0,83%; 0,76% and 0,53% in *Achatina fulica* for the same doses. The cumulative mortality rate is 27,14% in *A. fulica* and 33,8% in *Achatina*. Plant protection products, namely glyphosate, could be one of the causes of the decline of snails in the wild. Therefore, these results may help the conservation of these animals by limiting the misuse of plant protection products.



HUMAN JOURNALS

ijsrm.humanjournals.com

INTRODUCTION

Yield losses of agricultural production due to diseases, pests, and weeds have reached significant proportions [1]. This is why several researchers as well as decision-makers and many international organizations such as the FAO have implemented modernization strategies since 1947 to increase agricultural production [2]. These strategies focus on encouraging farmers to use fertilizers, agricultural machinery and pesticides [3]. Therefore, the use of pesticides is considered the preferred route to the rapid increase in production [4]. Indeed, this method allowed the development of agriculture and contributed to the increase in yields and the regulation of agricultural production after the Second World War [5]. In terms of variants of these products, herbicides are the most widely used worldwide (46,9%) ahead of fungicides (25,9%), insecticides (24,1%), and other products [6]. Côte d'Ivoire has not remained on the sidelines of this practice based on the use of agricultural inputs. Thus, in 2016 alone, the quantity of pesticides imported by the country was estimated at 20,000 tons, two-thirds of which were herbicides [7]. This control method, very common in large areas, reduces weeding time and optimizes farm yields. It can reduce weeding time by 40-60% and increase production by 10-20% compared to manual weeding [8]. This method is cited by some authors as an economic practice in industrial oil palm plantations [9,10]. Today, labor is scarce or when it exists, it is very expensive. [11] and [12] have shown that manual weeding in palm groves is more expensive than chemical treatments. However, these pesticides are frequently implicated in the degradation of freshwaters, and coastal waters and the reduction of biodiversity observed in agricultural areas [13]. Neurotoxic carcinogenic or endocrine-disrupting effects of pesticides have been demonstrated in animals [14,15]. The active substances present in these products are able to enter directly into the food chain and concentrate in certain living organisms. However, in some developing countries, some naturally available food resources play a fairly substantial role in feeding populations [16]. These resources include African giant snails (or achatines) belonging to the Achatinidae family. According to [17] although the main targets of herbicides are plants, only 0,1% of the quantities applied reach their targets. Unlike earthworms, which are mainly exposed to soil and decaying organic matter, terrestrial snails can be exposed to 3 sources of contamination: air, soil and plants. The soil is therefore the matrix that receives all forms and types (physical, chemical and biological) of pollution. However, the soil is a source of food for snails in which they ingest the resources necessary for their growth, a habitat, and a support to

which they are strongly subject. Thus, because of their sedentary lifestyle, these species are good indicators of environmental pollution. Today, in snail-producing regions whose main activity is based on agriculture, there is a strong and record proliferation of garden snails (*A. fulica*) [18,19] which are not very popular because of their muddy taste to the detriment of *A. achaina*, the most prized species on the markets by the Ivorian populations [20]. It seems important to us to assess the resistance of these two species to the uncontrolled use of pesticides. The objective of this study is to compare the impact of glyphosate on giant snails. More specifically, it is a question of evaluating the impact of glyphosate on the shellfish and weight growth of *A. achaina* and *A. fulica* and determining the related mortality rates.

Study environment

The city of Daloa is located in the center-west of Côte d'Ivoire, the capital of the region of Haut Sassandra between 6°52'38" north latitude and 6°27'00" of the western nozzle. The site of the Jean Lorougnon Guédé University Purchase Farm served as a framework for evaluating the effect of pesticides on the growth of African giant snails.

Biological material

This study focused on two species of snail of the same genus *Achatina* belonging to the family Achatinidae. These are *Achatina achatina* and *Achatina fulica* (Figure 1 and 2).



1.5 cm

Figure 1: *Achatina achatina*



2,5 cm

Figure 2: *Achatina fulica*

Chemical material

It is essentially composed of the herbicide (glyphosate) in the liquid form called on the market Kalach 360 SL (Figure 3) widely used by growers for plowing plots before sowing or weeding in plantations of perennial crops.

METHODOLOGY

Impacts of plant Protection products on Snail Growth

A total of 210 specimens of *Achatina achatina* and 210 specimens of *Achatina fulica* with an average weight of $19,49 \pm 0,80$ g and $19,88 \pm 4,33$ g for an average shell length of $52,66 \pm 2,1$ mm and $50,64 \pm 2,97$ mm were acclimatized for four (4) weeks in breeding tanks of 1 m² of surface built of bricks and used in this study which lasted sixty (60) days. The snails come from a breeding farm, all from the first generation aged about 6 months. Seven (07) lots of thirty (30) snails each were formed and arranged in these snails. Lettuce leaves that were consumed preferably during the period of acclimatization of the snails served as food for the experiment. The animals were watered every day, except in case of rain. The animals were subjected to lettuce leaves soaked in glyphosate solution at different doses every six (6) days. According to the results of the survey of lettuce growers, no herbicides were used during plowing. Watering and frequency of exposure lasted eight (8) weeks. Seven (7) dilution doses D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀,

D₁₂ et D₁₄, were used in accordance with Table 1. Every 15 days, the live weight and shell length of the snails were determined.

Table 1: Different dilutions of glyphosate

Glyphosate g/L(water)	Dilutions
D0	Control snails 0 g _{gly} /L _{water}
D4	Snail treated with 4 g _{gly} /L _{water}
D6	Snail treated with 6 g _{gly} /L _{water}
D8	Snail treated with 8 g _{gly} /L _{water}
D10	Snail treated with 10 g _{gly} /L _{water}
D12	Snail treated with 12 g _{gly} /L _{water}
D14	Snail treated with 14 g _{gly} /L _{water}

Data processing

Descriptive statistics were mainly used for data analysis. It consisted of calculations of averages and percentages. The calculations and figures were performed with Excel 2019 software.

RESULTS

Effect of Glyphosate on the feeding behavior of *A. achatina* and *A. fulicas snails*

Snails exposed to glyphosate showed several symptoms, the first of which is the loss of chemoreceptors. Indeed, snails were no longer attracted to food in a dose-dependent way compared to control snails. Very often, they remain fixed on the walls of the bins or on the closure of the bins without showing locomotor and nutritional activity and others become embedded in the ground. This way of life also concerns the control snails with the difference that they go out from time to time to feed. Snails exposed to concentrations 4 and 6 of glyphosate are significantly active compared to snails exposed to higher doses of glyphosate during the eight (08) weeks of experiments.

Effect of glyphosate on mortality of *A. achatina* and *A. fulica* snails subjected to different doses

During the experiment, the mortality was a function of the species and distributed as follows. In *A. achatina* snails, it is 0; 03;05; 09; 12; 16 and 25 dead at doses D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ and D₁₄, respectively. As for *A. fulica*, it is of the order of 0; 3; 4; 8; 11; 14 and 17 respectively in snails exposed to doses D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ and D₁₄. Mortality is relatively lower in snails of *A. fulica* species compared to that of *A. achatina* (Table 2) with respectively 57 individuals out of 210 or 27,14% and 71 individuals out of 210 or 33,81%.

Table 2: Mortality rate of *A. achatina* and *A. fulica* during sixty days of glyphosate treatment

Dose (g/l)	Number of deaths per fortnight in <i>A. achatina</i>					Sixty-day cumulative mortality (%)
	T ₀	T ₁₅	T ₃₀	T ₄₅	T ₆₀	
D₀	0	0	0	0	0	0,00
D₄	0	1	1	1	0	10
D₆	0	2	2	1	0	16,66
D₈	0	6	2	1	10	30
D₁₀	0	7	4	1	0	40
D₁₂	0	11	3	2	0	53,33
D₁₄	0	16	6	3	0	83,33
Number of deaths per fortnight in <i>A. fulica</i>						
D₀	0	0	0	0	0	0,00
D₄	0	1	1	1	0	10
D₆	0	2	1	1	1	13,33
D₈	0	5	2	1	1	26,66
D₁₀	0	6	4	1	0	36,66
D₁₂	0	8	3	2	1	46,66
D₁₄	0	12	4	1	0	56,66

Effect of the herbicide glyphosate on the evolution of the shell of *A. achatina* and *A. fulica* snails

The shellfish growth of snails *Achatina achatina* and *Achatina fulica* not exposed to glyphosate shows similarities between the two snail species during the eight (8) weeks of exposure (Figure 4). In the control medium, the growth of *Achatina achatina* (D0a) and *Achatina fulica* (D0f) is substantially identical with a slight advance of *Achatina fulica* until the end of the experiment. Thus, the size of *Achatina achatina* snails increased by 20,33%; 4,7%; 2,1%; 1,73%; 0,8%; 0,4%, and 0,66% respectively in snails subjected to doses D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ and D₁₄ against 31% 2,4%; 1,96%; 1,03%, 0,83%; 0,76% and 0,53% in *Achatina fulica* corresponding to D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ and D₁₄. Glyphosate therefore has an inhibitory effect on the shellfish growth of *Achatina achatina* and *Achatina fulica*. On the other hand, doses D₁₀, D₁₂, D₁₄ seem more toxic. Indeed, the curves (reflecting the shellfish growth of the two snails (*Achatina achatina* and *Achatina fulica*)) remained substantially static from the beginning to the end of the experiment thus expressing an almost total absence of shell growth.

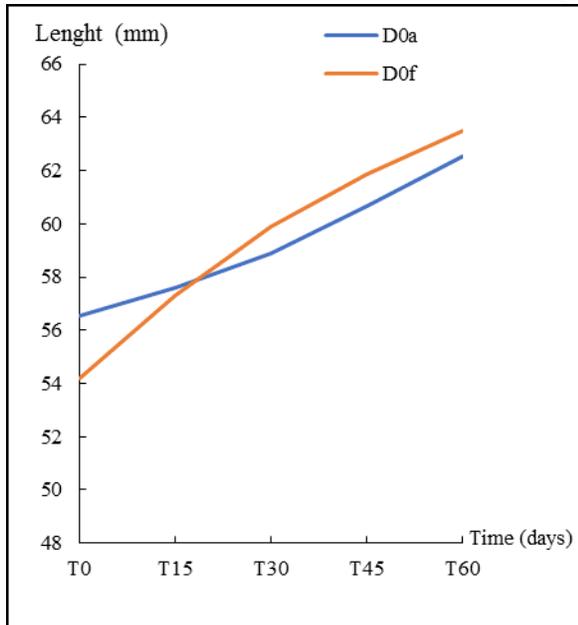


Figure 3 : Shell growth of A. Achatina and A. fulica controls

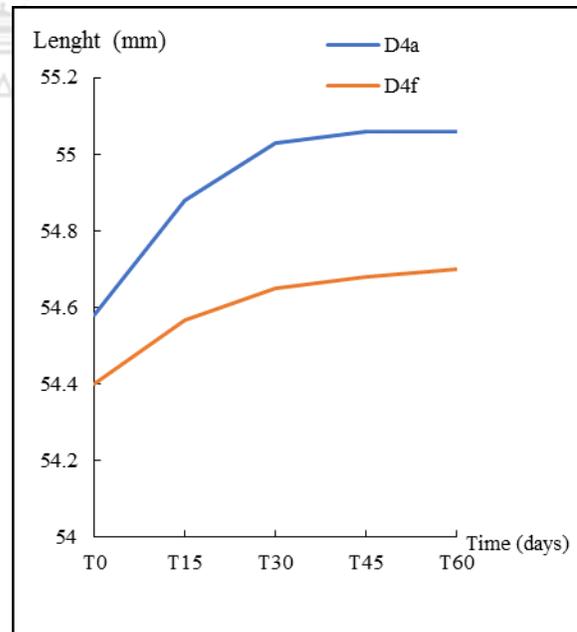


Figure 4: Shell growth of A. Achatina and A. fulica treated with 4g/l

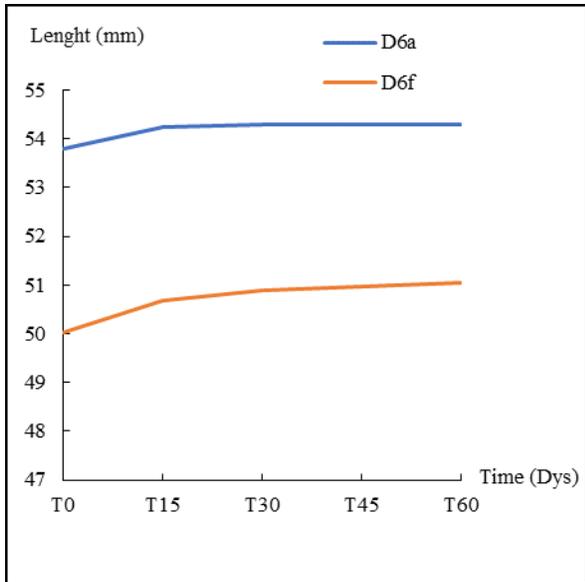


Figure 5 : Shell growth of A. Achaina and A. fulica treated with 6g/l

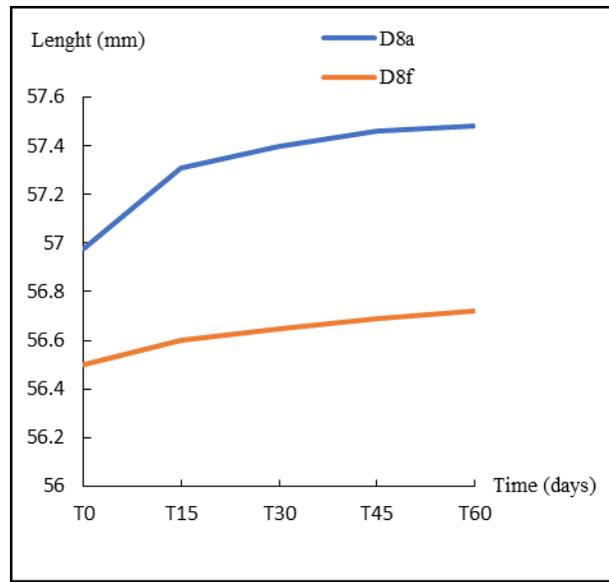


Figure 6 : Shell growth of A. Achaina and A. fulica treated with 8g

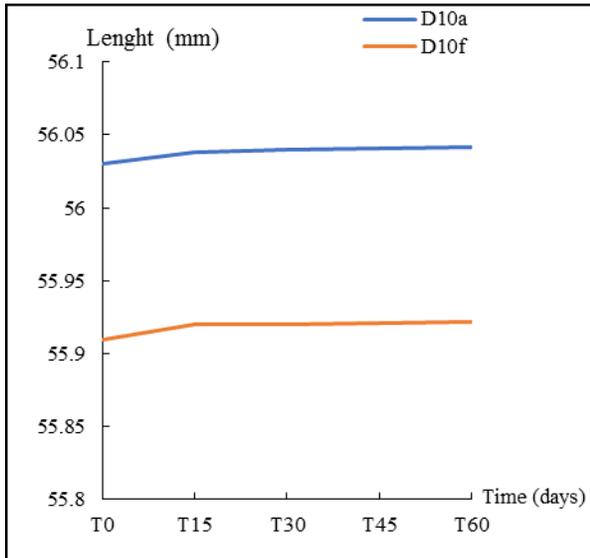


Figure 7 : Shell growth of A. Achaina and A. fulica treated with 10g/l

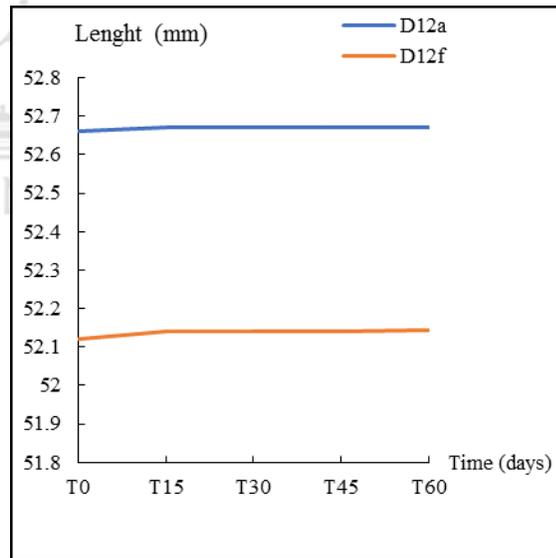


Figure 8 : Shell growth of A. Achaina and A. fulica treated with 12g/l

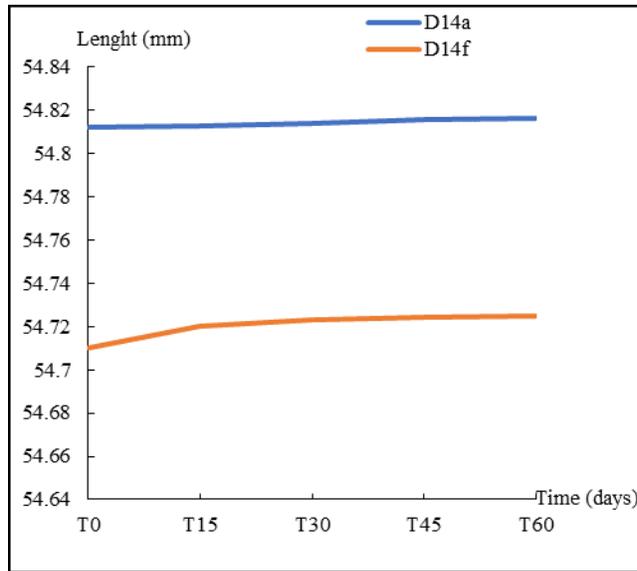


Figure 9 : Shell growth of *A. Achaina* and *A. fulica* treated with 14g/l

Effect of the herbicide glyphosate on the weight evolution of *A. achatina* and *A. fulica* snails

The weight growth of the control *Achatina achatina* and *Achatina fulica* snails shows similarities between the two snail species during the sixty days of exposure (Figure 11). As for snails exposed to glyphosate at different doses, they reveal large differences in their growth. In the control medium (snails not exposed to glyphosate), the weight growth of the two snail species remains the same with a strictly linear growth for *Achatina fulica* throughout the experiment. In contrast, the weight growth of *Achatina achatina* is linear until the date T₄₅, from which date its growth undergoes a slight increase compared to that of *A. fulica*. At doses D₄ *A. achatina*, first undergoes a slight increase in date T₀ to T₃₀ compared to *A. fulica* before falling from T₃₀ to T₆₀. At glyphosate concentrations D₆ and D₈, no weight gain is observed, there was even a slight weight loss from the beginning to the end of the experiment. Based on these doses of glyphosate, *Achatina achatina* is more sensitive to glyphosate as evidenced by increased weight loss. At concentrations D₁₀, D₁₂, and D₁₄, the weight growth of both snail species appears to be consistently negative. However, the curves show a more pronounced weight loss in the species *Achatina achatina* than in *Achatina fulica*.

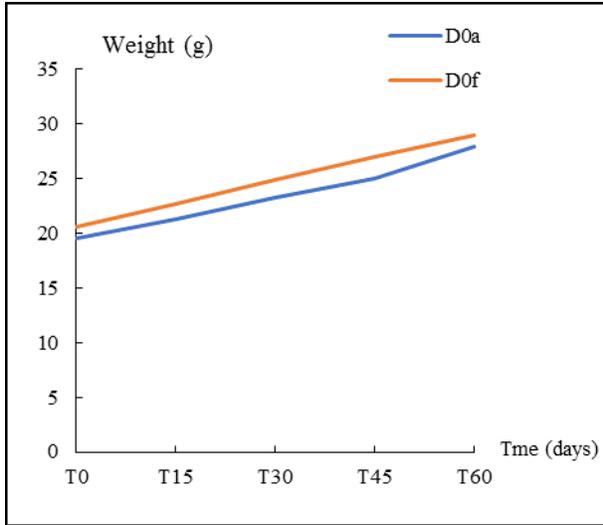


Figure 10 : Weight growth of *A. Achaina* and *A. fulica* controls

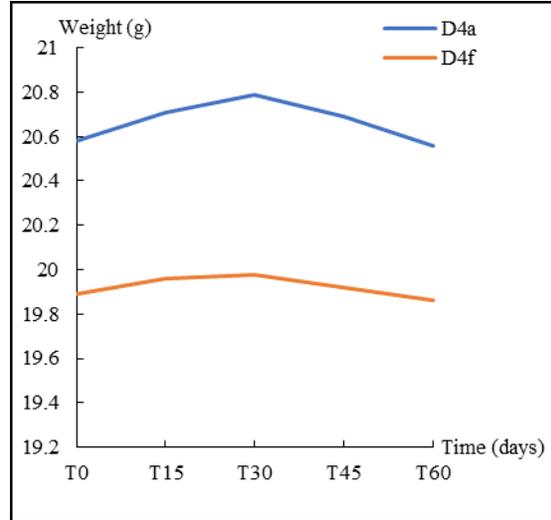


Figure 11 : Weight growth of *A. Achaina* and *A. fulica* treated with 4g/l

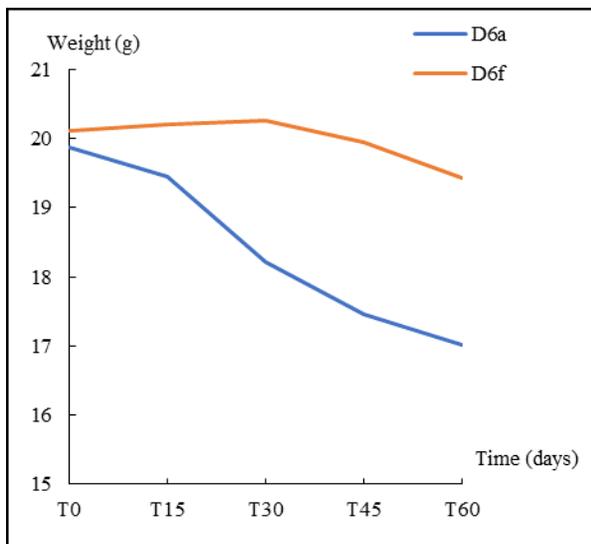


Figure 12 : Weight growth of *A. Achaina* and *A. fulica* treated with 6g/l

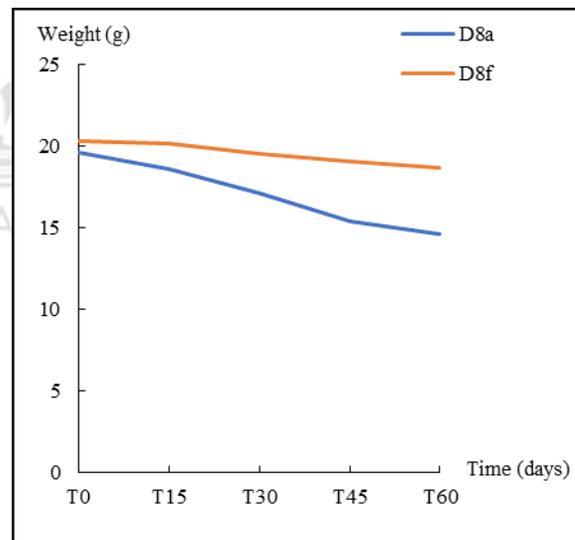


Figure 13 : Weight growth of *A. Achaina* and *A. fulica* treated with 8g/l

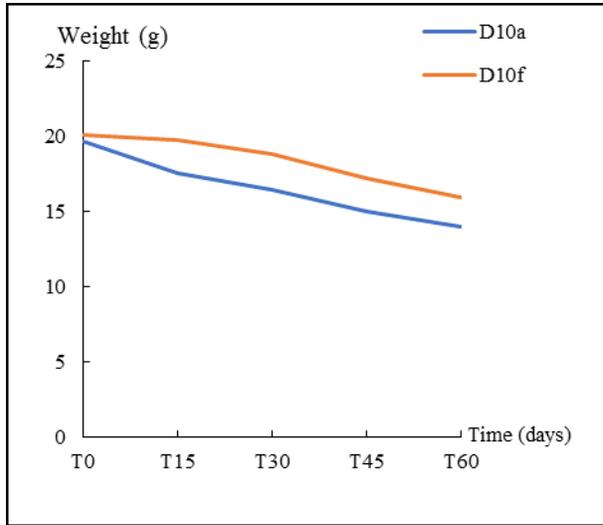


Figure 14: Weight growth of *A. Achaina* and *A. fulica* treated with 10g/l

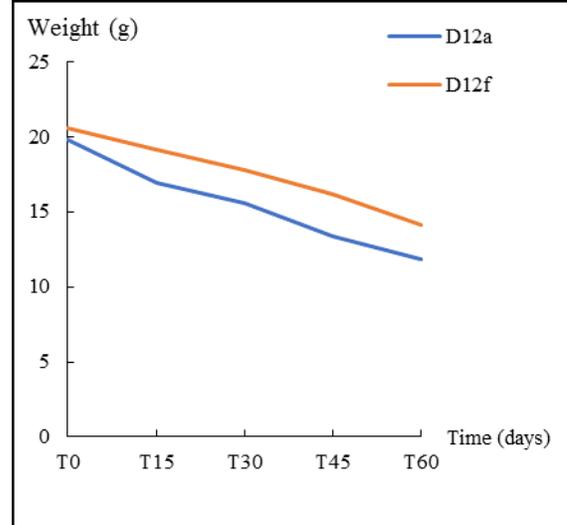


Figure 15: Weight growth of *A. Achaina* and *A. fulica* treated with 12g/l

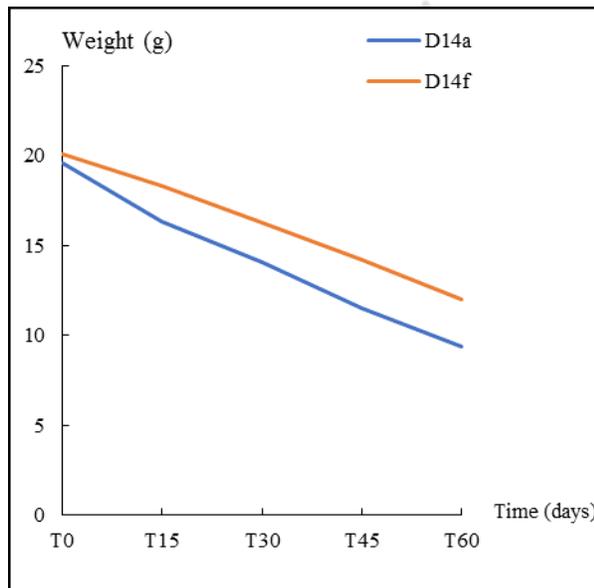


Figure 16: Weight growth of *A. Achaina* and *A. fulica* treated with 14g/l

DISCUSSION

During the eight weeks of experimentation, high sensitivity in *A. achatina* and *A. fulica* exposed to glyphosate was found. It is observed as much on the shell length of snails as on the weight. Glyphosate acts negatively on the weight and shellfish growth of African giant snails (*Achatina*

achatina, *Achatina fulica*). Indeed, the live weight and shell length of control snails of these two species increase, while those of snails subjected to different doses of food contamination with glyphosate decrease significantly. This inhibition of the weight and shell growth of snails is a function of the dose of glyphosate which induces greater toxicity depending on its concentration. This explains the low weight loss observed in snails subjected to doses D₄ and D₆ g/l unlike the strong weight loss observed in those subjected to doses D₈, D₁₀, D₁₂, and D₁₄ g/l. Our results are consistent with those of [21], [22] and [23] who observed a significant reduction in the weight of snails treated with aminocarb, methyl parathion, paraquat, and glyphosate; this reduction is related to the nature and dose of pesticide administered. In addition, [24] observed a "dose-dependent" decrease in snail growth and survival by dimethoate. On the other hand, all our results go against those obtained by [25]. These authors showed that glyphosate did not have an inhibitory effect on the shell and weight growth of snails exposed to 2,8 mg.kg⁻¹ of active ingredients but rapid shell growth during the first 56 days of the experiment. However, a 43% decrease in albumin gland mass in exposed snails. Glyphosate has been described as an endocrine disruptor in some vertebrates [14,15]. Thus, this growth blockage could be due to a reduction in energy reserves, allocated to reproduction in snail tissue storage cells. In addition, it could be caused by the mobilization of resources for the initiation of detoxification processes. Studies conducted by [26] have found that the energy cost of environmental stress leads to a decrease in the amount of energy available for growth and reproduction and consequently inhibition.

The high mortality rates (27,4% in *A. fulica* and 33,8% in 5) of our results could be explained by the high dilution doses. These results are opposite to those obtained by some authors. For example, [25] showed that after 60 days of exposure to glyphosate and glufosinate at concentrations up to 30 mg kg⁻¹ recorded respectively 20% versus 4% mortality in subjects. Also, he pointed out that no effects on mortality or growth were observed, either through exposure to soil or from food. In addition, [5] recorded a mortality rate of 9,61% in *Helix aspersa* exposed to thiamethoxam, tefluthrin, and their mixtures. As for [21], it obtained 13% mortality after exposure of *Helix aspersa* snails to 5mg/kg carbaryl for 14 days. The large difference in mortality between our results and those of the aforementioned authors could be explained by the difference between dilution doses, the lowest of which is 4000 mg/kg. This study showed that the *A. achatina* snail is more sensitive to glyphosate. The low resistance

capacity of *A. fulica* to glyphosate is explained by the large amount of slime that characterizes this species which would contain substances capable of digesting toxic substances over a period of time; which is not the case of species *A. achatina*. The mucus secreted by snails enhances microbial activity [27,28] which is itself known to increase the degradation, for example, of glyphosate [29]. This major impact of glyphosate on snails could indirectly impact other zoological species of animals such as birds [30]. The decrease or extinction of snails in the wild would result in a significant decrease in bird density and abundance. According to these authors, snails are essential to the diet of birds because they provide them with a source of calcium necessary for the construction of eggshells.

CONCLUSION

At the end of this work, we retain that glyphosate is an inhibitor to the growth of snails *A. achatina* and *A. fulica*. Weight loss and lack of shell growth are proportional to dilution doses. *A. achatina* is the most sensitive species to this active substance. Glyphosate is thought to be one of the main causes of snail extinction in the wild. The rarity of these snails could act on other zoological species. Appropriate measures should be taken to limit the uncontrolled use of this herbicide.

RÉFÉRENCES

1. Oerke E. & Dehne H. Global crop production and the efficacy of crop production current situation and futures trends. *European Journal of Plant Pathology*. 1997; 103: 203- 215.
2. FAO. Situation mondiale pour 1947 de l'alimentation et de l'agriculture. 1947 ; 16 p.
3. FAO. Bilan de la deuxième décennie de l'après-guerre. La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture 1965. 1965 ; 295 p
4. Fleischer G., Andoli V. Coulibaly M. & Randolph T. Analyse socio-économique de la filière des pesticides en Côte d'Ivoire. Rapport du Ministère de l'Agriculture et des Ressources Animales, Abidjan, 1998 ; 112 p.
5. Bourbia-Ait H. Evaluation de la toxicité de la mixture de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*. Mémoire de Doctorat, Université Badji-Mokhtar-Annaba (Algerie), 2013 ; 177 p.
6. UIPP. Secteur phytopharmaceutique en 2008 : le reflet d'un environnement qui change Rapport d'activité 2008-2009, Boulogne, France, 2009. 2p.
7. Traoré H. & Haggblade S. Mise en œuvre des politiques régionales sur les pesticides en Afrique de l'ouest : Rapport de l'étude de cas en Côte d'Ivoire ; Food Security Policy, Rome, Italie. 2017, 60 p.
8. Ndabalishye I. Agriculture vivrière Ouest-Africaine à travers le cas de la Côte d'Ivoire. Monographie, IDESSA, Bouaké, Côte d'Ivoire. 1995, 384 p.
9. Hornus P. Désherbage chimique des ronds de palmiers adultes : Technique de bas volume. *Oléagineux*. 1990a, 45(6) : 295-299.
10. Hornus P., Nguimjeu E., Kouotou M. & Kanga E. Entretien chimique des ronds de palmier à huile. Essais herbicides: glyphosate/ glufosinate, *Oléagineux*. 1990b ; 45(2): 57-61.

11. Hamel P. Une technique de lutte chimique contre *Eupatorium odoratum* pour les replantations de palmier à huile. *Oléagineux*. 1986, 41(6): 263-267.
12. Ecobichon D.J. Utilisation de pesticides dans les pays en développement. *Toxicology*, 2001, 160: 27-33
13. Casabé N., Piola L., Fuchs J., Oneto L.M., Pamparato L., Basack S., Giménez R., Massaro R., Papa Juan C. & Kesten E. Ecotoxicological Assessment of the Effects of Glyphosate and Chlorpyrifos in an Argentine Soya Field. *Journal of Soils and Sediments*. 2007, 7: 232-239.
14. Richard S, Moslemi S, Sipahutar H, Benachour N et Seralini GE. "Differential effects of glyphosate and roundup on human placental cells and aromatase." *Environmental Health Perspectives*. 2005. 113(6): 716-720.
15. Soso AB, Barcellos LJG, Ranzani-Paiva MJ, Kreutz LC, Quevedo RM, Anziliero D, Lima M, Silva LBd, Ritter F, Bedin AC et Finco JA. "Chronic exposure to sub-lethal concentrations of a glyphosate-based herbicide alters hormone profiles and affects reproduction of female Jundiá (*Rhamdia queen*)." *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2007, 23(3): 308-313.
16. Sodjinou E. Analyse économique des filières des Ressources Alimentaires Non Conventionnelles au Bénin: cas de la filière des escargots géants africains dans les départements de l'Atlantique et du Littoral. Thèse d'Ingénieur Agronome, FSA/UNB, Ab-Calavi. 2000, 181p.
17. Arias-Estévez M., López-Periago E., Martínez-Carballo E., Simal-Gándara J., Mejuto J.C. & García-Río L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 2008, 123(4): 247-260.
18. Mioulane A. L'élevage des escargots : manuel pratique. Edition de Vecchi, Milan, Italie, 1989, 111 p.
19. Otchoumou A. Effet de la teneur en calcium d'aliments composés et de la photopériode sur les performances biologiques chez trois espèces d'escargots Achatinidae de Côte d'Ivoire élevées en bâtiment. Thèse de Doctorat d'Etat ES-Sciences Naturelles en Biologie et Ecologie Animales, Université d'Abobo Adjamé, Abidjan, Côte d'Ivoire, 2005. 171 p.
20. Kouassi K.D., Otchoumou A. & Gnakri D. Le commerce des escargots (*Achatina achatina*), une activité lucrative en Côte d'Ivoire. *Livestock Research for Rural Development*. 2008, 20 (4), 2009. Consulté le 04/07/2023
21. Schuytema G.S., Nebeker A.V. & Griffis W.L. Toxicité du Guthion et du Guthion 2S pour *Xenopus laevisembryos*. 1994, 27(2): 250-255.
22. Laskowski R. & Hopkin S.P. Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd in the garden snail *Helix aspersa*: implications for predators. *Environmental Pollution*. 1996b, 9:289-297.
23. N'guessan N.O., Kouassi K.D & Aman J.B. Evaluation of the effect of herbicides on African giant snails: Case of glyphosate on *Achatina achatina*. *World Journal of Advanced Research and Reviews*. 2022; 16(01): 383-388.
24. Coeurdassier M, Saint-Denis M, Gomot de Vaufleury A, Ribera D et Badot PM "The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: Effects of dimethoate on survival, growth, and acetylcholinesterase activity." *Environmental Toxicology and Chemistry*. 2001 20(9): 1951-1957.
25. Druart C. Effets des pesticides de la vigne sur le cycle biologique de l'escargot dans divers contextes d'exposition. Thèse de Doctorat. Université de Franche-Comté, (France), 2011, 327p.
26. Lawrence A.J., Arukwe A., Moore M., Sayer M. & Thain J. *Molecular/Cellular Processes and the Physiological Response to Pollution*. Oxford, England. 2003, 83-133
27. Brown GG, Barois I & Lavelle P. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains." *European Journal of Soil Biology*. 2000, 36(3): 177-198.
28. Dallinger R, Berger B, Triebskorn-Köhler R et Köhler H. Soil biology and ecotoxicology. The biology of terrestrial mollusks. Barker GM. Oxon, CABI. 2001, 489- 525.
29. Accinelli C, Screpanti C, Vicari A et Catizone P. Influence of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* on the degradation of glyphosate and glufosinate-ammonium in soil samples." *Agriculture Ecosystems & Environment*. 2004, 103(3): 497-507
30. Eeva T., Rainio K. & Suominen O. ("Effects of pollution on land snail abundance, size and diversity as resources for the pied flycatcher, *Ficedula hypoleuca*." *Science of the Total Environment*. 2010; 408(19): 4165-4169.

ARTICLE 5

**COOKING, A FACTOR INFLUENCING HEAVY METAL AND
HERBICIDE CONCENTRATIONS IN FOOD: CASE OF THE SNAIL
CEPHALOPOD *ACHATINA ACHATINA***

**N'GUESSAN N'guessan Olivier*¹, KOUASSI Kouadio Daniel¹ and KOUAME Kouamé
Victor²**

Laboratoire Biodiversité Et Ecologie Tropicale (BioEcoTrop), Doctorant à Université Jean
Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire, Ivoirien.

Article Received on
14 August 2023,

Revised on 04 Sept. 2023,
Accepted on 25 Sept. 2023

DOI: 10. 20959/wjpr202317-29597

***Corresponding Author**

**N'GUESSAN N'guessan
Olivier**

Laboratoire Biodiversité Et
Ecologie Tropicale
(BioEcoTrop), Doctorant
Université Jean Lorougnon
Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire,
Ivoirien.

ABSTRACT

Meat, the main source of protein, is used to improve health and well-being through the reform and construction of body tissues as well as the production of antibodies. The purpose of this study is to determine the effect of temperature on certain heavy metals such as Pb, Cd, Cu, Zn as well as the glyphosate-based herbicide in the cephalopod in order to evaluate the effect of cooking time on pollutants as well as the effect of variation in cooking temperature on these pollutants. Analytic methods used for the determination of heavy metals and glyphosate absorption spectrophotometry and HPLC. The results show that temperature significantly degrades glyphosate concentrations (0,037 mg/kg (raw) to 0,02 mg/kg (60°C); 0,012 mg/kg (90°C) and 0,0017 mg/kg (120°C)) and copper (0,0023 mg/kg (raw) to 0,0009 (60°C), 0,0008 mg/kg (90°C) and 0,0004 mg/kg (120°C)). But cadmium

increases enormously when the temperature exceeds 120°C. As for time, it greatly depletes the concentrations of copper (0.2 mg/kg (raw) to 0,09 (30 min) and 0,02 (60 min) and that of glyphosate (0,85 mg/kg (raw), 0,69 (30 min) and 0,06 (60 min)). These results could help consumers to take greater care when cooking food.

KEYWORDS: food, cooking, *Achatina achatina*.

INTRODUCTION

It is undeniable nowadays that the food resources available in their natural state are dwindling day by day. Meat, the main source of protein, is used to improve health and well-being through the reform and construction of body tissues as well as the production of antibodies.^[1,2] The giant snail is part of this very rich and comfortable source of nutrients. Its meat has been consumed by humans around the world since prehistoric times and remains one of the most prized meats by European, African and American populations.^[3] Indeed, the cephalopod (the consumed part of the snail) represents, according to a study carried out in Côte d'Ivoire by^[4] 30% of the live weight of the snail. It is very rich in water (80%) and contains 62 to 75% crude protein in dry matter. Although low in fat, it has a very interesting calorific value (341 to 358 Kcal/100g), a high content of calcium (1,3g/100g DM) and iron (491 mg/Kg DM). Naturally, iron is one of the effective remedies in the treatment of anemia, cephalopod is also recommended to fight ulcers and asthma.^[5] As a result, the cephalopod is a likely source of iron intake for the body. At the time of the Roman Imperial Court, snail flesh, believed to have aphrodisiac virtues, was often offered in the late evening to visiting dignitaries.^[5] Almost all the essential amino acids that humans need are present in snails as well as vitamins A, D3 and E.^[4] In addition, snails are macro invertebrates that colonize dense and poorly anthropized forests. They are found on soils rich in calcium.^[6] The soil is a food source for snails in which they ingest the resources necessary for their growth, a habitat and a support to which they are strongly subject. This soil provides them with mineral salts including calcium as well as various substances present in the organic matter.^[7] However, the environment in which these critters thrive receives all kinds of pollutants: heavy metals and active substances. These toxic chemicals are constantly prevalent in the environment; they are bioaccumulative and non-biodegradable in food series.^[8] As a result, most people come into contact with them through contaminated food.^[9] To exceed their flavor, taste, palatability and to make them tender; various cooking processes are used to treat these meats and these methods consist of barbecuing, boiling, grilling, frying, stir-frying, and roasting.^[10,11] However, with the different cooking methods and their effects on palatability, there is a paucity of information on the impact of cooking time and/or temperature on the concentration of heavy metals and active substances in snail meat. Consequently, the aim of this study is to assess the contamination of the snail cephalopod *Achatina achatina* by metallic elements and herbicides. More specifically, it is a matter of evaluating the effect of the duration and the variation of the cooking temperature on the Pb, Cd, Cu, Zn and the glyphosate in the snail cephalopod.

Study site

The present study took place in the Nawa region of south-western Ivory Coast. Located between 5°60' and 9°50' north latitude and 6°0' and 8°20' west longitude, this region covers an area of 9193 km² with an estimated population of 314,192 inhabitants (INS, 2014). The sampling site is located in the department of Méagui, precisely in the locality of Raphaelkro. Geographically, it is located between latitude 5°21'38,7534 N and longitude 6°28'38,7534 W. The choice of this region is justified not only by its high production of cocoa beans but also of snails.

Biological material

This study focused on a species of land snail belonging to the family Achatinidae. It is *Achatina achatina* (Fig. 1). It is the most prized species in Ivory Coast in general and by the populations of the study area in particular.



Figure 1: *Achatina achatina*.

Preparation of snail samples

Once in the laboratory, snails were fasted for two days (48 hours) to remove unabsorbed food and feces from their digestive tract. The live weight, shell length and shell diameter of each snail were determined before dissection. This was done according to the method described by.^[12]

Mineralization and determination of heavy metals

Mineralization for the determination of lead, copper, zinc and cadmium was performed according to AOAC method 999.10 (2003). For mercury, the official AOAC method No.

977.13 was adopted (AOAC, 1978). For the digestion of each sample, a 0,5 g test sample of shredded material is placed in a Teflon tube under a fume hood. Then 5 mL of 65% concentrated nitric acid (HNO₃) and 15 mL of 37% hydrochloric acid (HCL) are successively added to the shredded material in the ratio (HNO₃/HCL1/3). Another Teflon tube containing bidistilled water is used as a blank (neutral control of the elements to be investigated or treated). To this blank tube, the same reagents that were used for the matrix digestion are added in the same order. The Teflon tubes are put in a water bath for 1 hour (1H) at a temperature of 90°C for the digestion of the content. The Teflon tubes are removed and placed on the bench for cooling. Thirty minutes (30) later, a decompression of 5 minutes is done under the hood by opening the Teflon tubes to let the gas escape. After cooling, the mixture is filtered into a 100 mL volumetric flask and supplemented with bidistilled water up to the mark and then homogenized by manual stirring. Then, the solutions obtained after the mineralization are transferred into a clean tube bearing the references of the samples and kept at 4°C until the analysis.

Quantification of metallic trace elements

The detection of the metallic trace elements was done with the help of the Atomic Absorption Spectrophotometer with graphite furnace, controlled by the LC solution software equipped with a non-specific background corrector (Deuterium lamp), an automatic sample changer. A calibration was done before the preparation of the standard solutions for each metal with increasing concentrations of 10ug/l, 800ug/l, and 1500ug/l. The coefficient of determination of each element chosen is between 0,995 and 1. The metal contents in mg/kg (ppm) were obtained from the concentrations read directly on the spectrometer.

Determination of glyphosate content

Twenty-five (25) g of snail meat samples are taken and weighed into a 50ml conical tube. Then, demineralized water is added up to the 50ml gauge, the whole is vortexed for 3 min. The resulting solution V₂ is filtered into another 50ml conical tube. At the end, a corresponding volume of 10% TCA (trichloroacetic acid) is added to V₂ up to the 50 ml gauge and then vortexed for 3 min. The whole is filtered into another 50 ml graduated conical tube to obtain the volume V₃.

Preparation of samples for quantification

To 1 ml of the diluted V₃ solution, 1 ml of the tetraborate solution (5%) and 1 ml of the FMOC solution are added in order. The resulting solution is stirred for 1 hour in the dark at

room temperature, then centrifuged at 4500 rpm for 5 min. The supernatant is collected in a vial and ready for HPLC detection and quantification.

Effect of temperature and cooking time on pollutants in the cephalopod of snails *Achatina achatina*

On the one hand, to know the effect of temperature on pollutants (lead, copper, zinc, cadmium, glyphosate) snail cephalopods were brought to different temperatures including 60°C, 90°C and 120°C for thirty (30) minutes. As for the evaluation of cooking time on pollutants in cephalopods, it was carried out at different cooking times. The concentrations were determined in the cool state then thirty (30) minutes and sixty (60) minutes at 100°C.

Statistical analysis

The concentrations obtained were first subjected to the Shapiro-Wilk normality and homogeneity tests to verify their distribution and equality of variances. Next, ANOVA 1 followed by the post hoc test were used to compare the different means for parametric tests. For non-parametric tests, the Kruskal Wallis test followed by the Mann-withtney test were applied to compare the different means. Differences were considered significant at the = 0,05 threshold ($p < 0,05$). Finally, these tests were performed using PAST4.11 software.

RESULTS

Comparison of pollutant concentrations in cephalopods as a function of temperature

The variation pollutants concentration in cephalopods as a function of cooking temperature is shown in Fig. 2, 3, 4, 5 and 6. These figures show that temperature acts differently on pollutants. It reduces the levels of some pollutants, such as lead, copper and glyphosate. On the other hand, the levels of other pollutants, such as zinc and cadmium, rise with temperature. For example, lead levels dropped from 0,034 mg/kg fresh cephalopod to 0,01 mg/kg at a cooking temperature of 120°C. Statistical analysis shows a significant difference ($p > 0,05$) between lead levels measured in fresh cephalopods and those obtained in cephalopods subjected to the different cooking temperatures. Copper levels drop with temperature from 0,023 mg/kg (fresh) to 0,004 mg/kg at 120°C. There was also a highly significant difference ($p < 0,001$) between copper levels recorded at different cooking temperatures. Zinc levels rise with increasing temperature from 0,013 (fresh) to 0,07 mg/kg at (90°C), then fall to 0,03 at 120°C. Cephalopod cadmium concentration decreases from 0.01 mg/kg (fresh cephalopod) to 0,003 mg/kg at 60°C, then increases to 0,005 mg/kg at 90°C,

before rising again to 0,02 mg/kg at 120°C. Glyphosate levels in cephalopods fell significantly ($p < 0,01$) with increasing temperature.

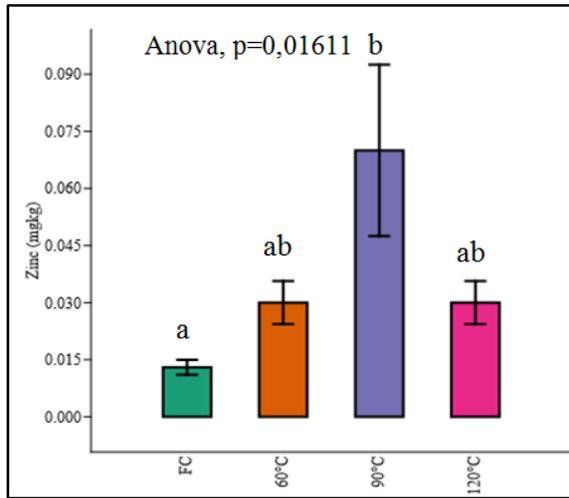


Figure 2: Effect of temperature on zinc content in *A. achatina* snail meat

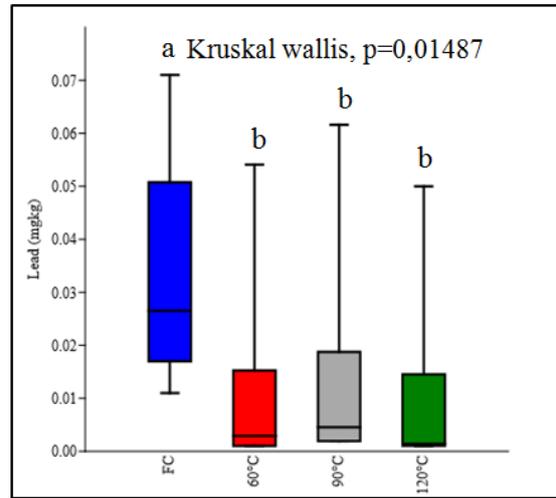


Figure 3: Effect of temperature on lead content in *A. achatina* snail meat

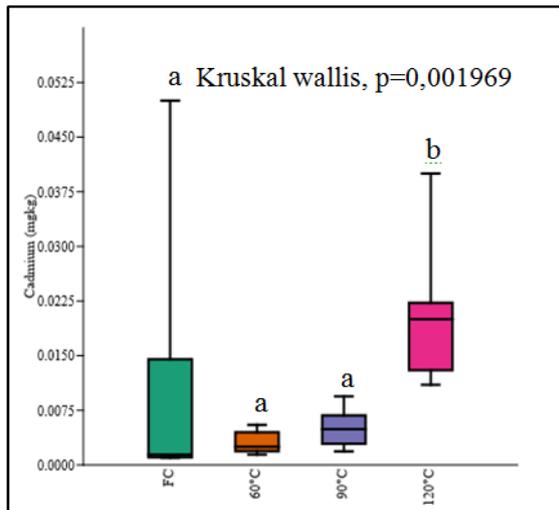


Figure 4: Effect of temperature on cadmium content in *A. achatina* snail meat.

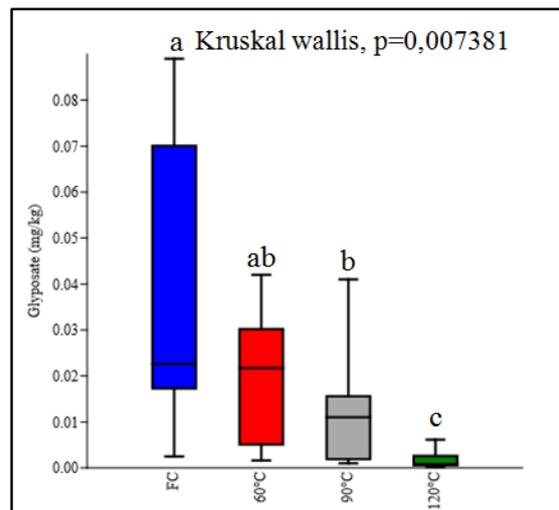


Figure 5: Effect of temperature on glyphosate content in *A. achatina* snail meat

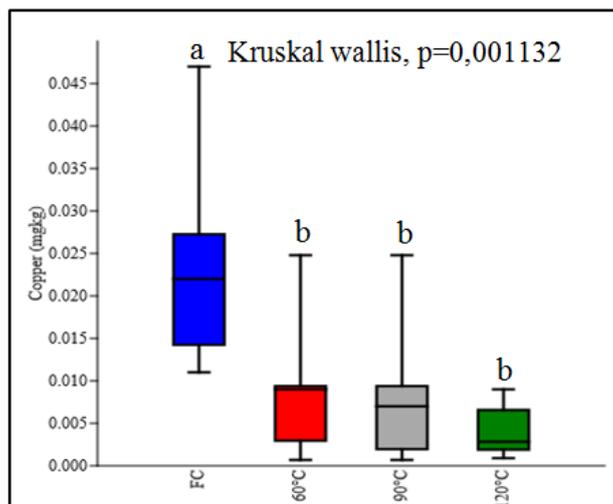


Figure 6: Effect of temperature on copper content in *A. achatina* snail meat.

Comparison of pollutant concentrations in cephalopods as a function of cooking time

The concentration of various pollutants in cephalopods decreases with cooking time at a temperature of 100°C (Fig. 7, 8, 9, 10 and 11). For example, lead levels in cephalopods vary according to cooking time, from 0.29 mg/kg (fresh) to 0,1 mg/kg after 60 minutes of cooking, via 0,14 mg/kg after 30 minutes of cooking, i.e. a 100% reduction. The Kruskal wallis test revealed no difference between the lead content of raw snails and those subjected to different cooking times. Copper concentration fell from 0,2 mg/kg (fresh) through 0,09 mg/kg (30 min) to 0,02 mg/kg (60 min). The Kruskal wallis test reveals a significant difference ($p < 0,05$) between copper levels in cephalopods cooked for 30 min and 60 min. In contrast, copper levels in fresh cephalopods were statistically identical to those in cephalopods cooked for 30 min. Cadmium and zinc levels decreased with increasing cooking time. Levels of these pollutants in cephalopods varied respectively from 0,08 mg/kg (fresh) to 0,07 mg/kg (60 min) and from 0,64 mg/kg (fresh) to 0,45 mg/kg (60 min). However, according to the One-way ANOVA test, this decrease in cadmium ($p=0,917$) and zinc ($p=0,939$) was not statistically significant. Glyphosate levels fell from 0,85 mg/kg in fresh cephalopods to 0,06 mg/kg in cephalopods cooked for 60 min. The one-way ANOVA test revealed a difference between raw snail samples and those subjected to different cooking times. In fact, the glyphosate content in raw snail is different from those treated for 30 and 60 minutes of cooking. NB, FC: Fresh Cephalopod.

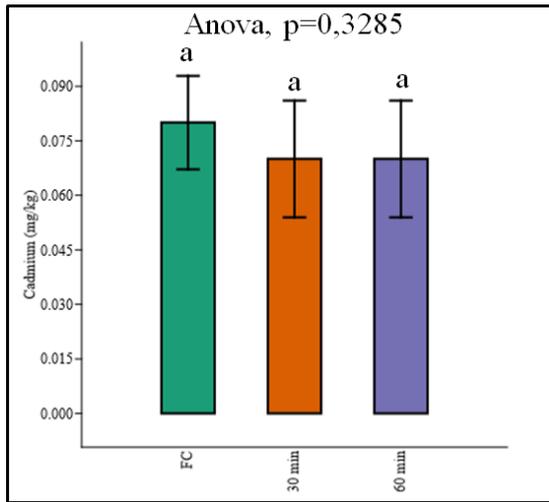


Figure 7: Effect of cooking time on cadmium content in *A. achatina* snail meat.

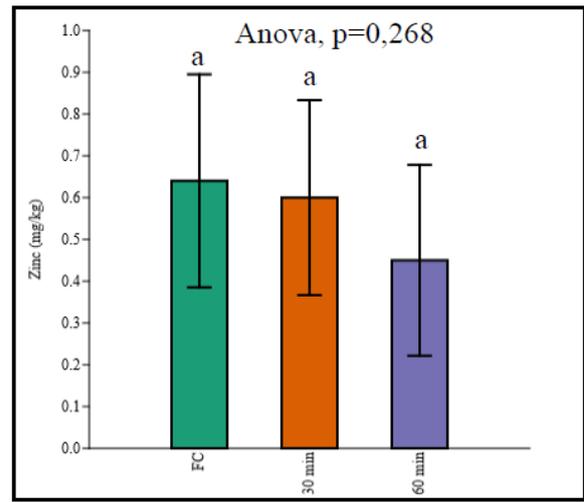


Figure 8: Effect of cooking time on zinc content in *A. achatina* snail meat.

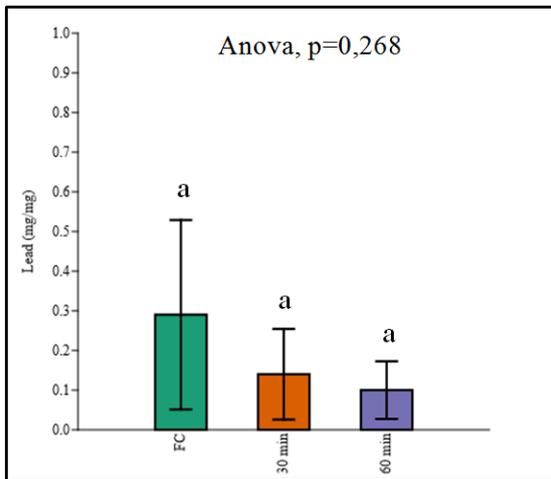


Figure 9: Effect of cooking time on lead content in *A. achatina* snail meat.

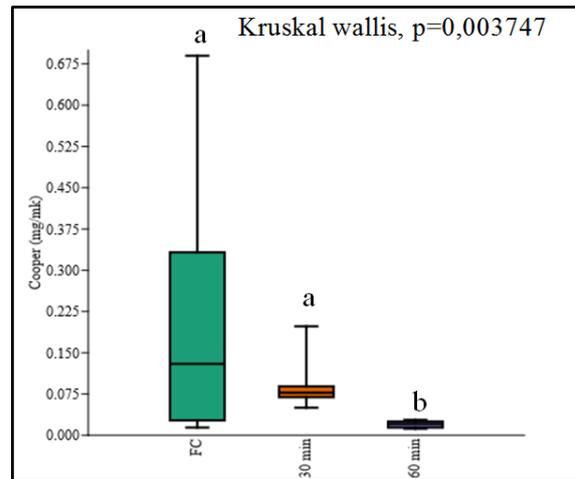


Figure 10: Effect of cooking time on copper content in *A. achatina* snail meat.

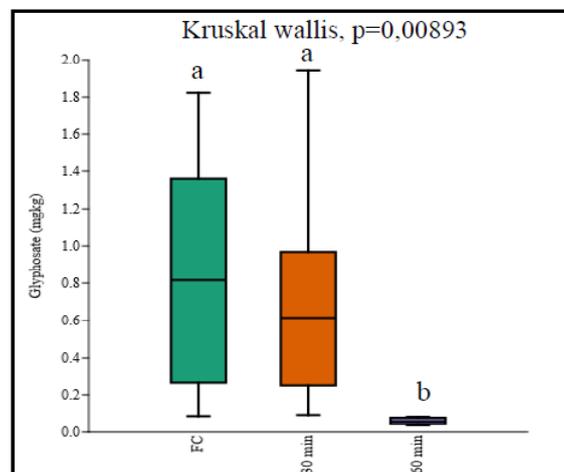


Figure 11: Effect of cooking time on glyphosate content in *A. achatina* snail meat.

DISCUSSION

The cadmium concentration decreases by 70% at 60°C and 50% at 90°C. On the other hand, this concentration exceeds that initially recorded (flood) from 120°C onwards, i.e. a 100% increase. These results corroborate those obtained by.^[22] Indeed, during their research on the effects of processing on the proximity and metal content of three species of fish, these authors concluded that boiling and frying lead to a 100% increase in the concentration of Cd, while roasting increased the concentration of Cd by two times. We deduce from these obtained results that the high temperature increase would not only increase the cadmium concentration but also the health risk for consumers. The increase in cadmium concentration could be due to the loss of water resulting from frying and boiling, according.^[23,24] These results are in agreement with those obtained by.^[25] Indeed, during their research on the effect of two cooking methods (boiling and frying) of cephalopod snails of species *Archachatina marginata* and *Limicolaria spp*, the concentrations of cadmium in the flesh of *Archachatina marginata* species increased from 0% to 119% after boiling and from 144 to 219% after frying in vegetable oil at 180°C for 4 min. Cooking methods (boiling, steaming, frying, and others) can alter toxic metal concentrations through a variety of means, including evaporation of water and volatile components, solubilization of the element, as well as through metal binding to other macronutrients in the food such as carbohydrates, lipids, and proteins.^[26] However, our results are contrary to those obtained by^[27] who conducted research in which they reported that the cadmium content of crayfish decreased upon cooking. In sum, the loss of water and weight during heat treatment results in changes in inorganic^[28] and organic chemicals and contaminants such as glyphosate. The effect of time on the content of pollutants differs from one element to another. First, copper and glyphosate are strongly degraded with increasing cooking time. Increasing cooking time is inversely proportional to copper and glyphosate concentrations in *Achatina achatina* snail. Indeed, reductions of 90% and 92,95% of copper and glyphosate concentration are respectively obtained after sixty minutes of cooking against 55% and 16,47% during thirty minutes of cooking. The strong degradation of glyphosate could be explained by the sensitivity of the bonds of the atoms constituting the glyphosate molecule in relation to the prolongation of the cooking time leading to the rupture of these bonds. In other words, the longer the cooking time, the greater the reduction in glyphosate content. As for copper, it is composed of only one type of atom and therefore combines with many elements. The transformation of copper into an oxide in the form of cupric ions with the formula Cu^{2+} or cuprous ions (Cu^+) could explain the strong degradation of this atom. Like the increase in temperature, cooking time reduces the content

of lead in the cephalopod of the snail *A. achatina*. The cooking time has a weak effect in the degradation of cadmium and zinc concentrations.

CONCLUSION

In summary, the snail cephalopod *A. achatina* concentrates heavy metals and glyphosate. The evaluation of the effect of the cooking time on the content of pollutants revealed a reduction on the whole of the pollutants of which the most important were recorded at the level of glyphosate and copper. The effect of the cooking temperature has an impact on the degradation of the pollutant content except for cadmium for which an increase in temperature is proportional to the concentration in the cephalopod. The pollutants emitted into the environment are sooner or later found in our plates. Future studies will focus on the exact temperatures and cooking times at which the concentrations of heavy metals and active substances increase and/or decrease in food.

AKNOWLEDGEMENT

I'd like to thank the Master's students, not forgetting their host who agreed to receive the sampling team.

REFERENCES

1. Mann, J et Truswell, A.S. Essentiels de la nutrition humaine. 3e édition. New York: Oxford University Press, 2007; 1-20.
2. Bender AK, Zia M. Qualité de la viande et qualité des protéines. International Journal of Food Science and Technology, 2006; 11(5): 495-498.
3. Dafem R, Ngoula F, Tegua A, Kenfack A, Tchoumboue J. Performances de reproduction de l'escargot géant africain *Archachatina marginata* en captivité au Cameroun. Tropicultura, 2008; 26(3): 155-158. ISSN 0771-3312.
4. Otchoumou A, Dupont-Nivet M, Dosso H. Les escargots comestibles de Côte d'Ivoire : Effets de quelques plantes, d'aliments concentrés et de la teneur en calcium alimentaire sur la croissance d'*Archachatina ventricosa* (Gould, 1850) en élevage hors sol en bâtiment. Tropicultura, 2004; 22(3): 127-133.
5. Cobbinah JC, Adri V, Ben O. L'élevage d'escargots : Production, transformation et commercialisation. Fondation Agromisa, Première édition, Wageningen, (Pays-Bas), 2008; 84.

6. Johannessen L.E. Solhoy T. Effets de l'augmentation expérimentale des niveaux de calcium dans la portée sur les populations d'escargots terrestres. *Pedobiologia*, 2001; 45(3).
7. Gomot A, Gomot L, Boukraa S, Bruckert S. Influence du sol sur la croissance de l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Une étude expérimentale de la voie d'absorption des facteurs stimulants. *Journal of Molluscan Studies*, 1989; 55: 1-7.
8. Uysal K, Yilmaz E, Esengül K. La détermination des taux d'accumulation de métaux lourds dans les muscles, la peau et les branchies de certaines espèces de poissons migrateurs par spectrométrie d'émission optique à plasma à couplage inductif (ICP-OES) dans la lagune de Beymelek (Antalya/Turquie). *Journal de microchimie*; 2008; 90: 67-70.
9. Gheisari E, M Raissy E, Rahimi. The Effect of Different Cooking Methods on Lead and Cadmium Contents of Shrimp and Lobster *ournal of Food Biosciences and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch*, 2016; 6(2): 53-58.
10. Stephen NM, Shakila RJ, Jeyasekaran G, Sukumar D Effect of different types of heat processing on chemical changes in tuna. *J Food Sci Technol*, 2010; 47(2): 174-181.
11. Oyekunle JAO, Ore OT, Durodola SS. Niveaux de métaux lourds et changements dans la teneur en triméthylamine du poisson fumé et de la viande dans différentes conditions de stockage. *SN Appl. Sci.*, 2020; 2: 1004. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2844-7>
12. Chukwujindu MA, Iwegbue, Francis O, Arimoro, Godwin E, Nwajei, Osa, Eguavo. Teneur en métaux lourds de l'escargot géant africain *archachatina marginata* (Swainson, 1821) (gastéropode: Pulmonata: Achatinidae) dans le sud du Nigeria. *Folia Malacologica*, 2009; 16(1): 31-34.
13. Diaz OPI, Leyton O, Munoz N, Nunez V, Devesa MA, Suner D, Velez, Montoro R. Contribution of water, bread, and vegetables (raw and cooked) to dietary intake of inorganic arsenic in a rural village of Northern Chile. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004; 52(6): 1773-1779.
14. INRS. 2019. Base de données fiches toxicologiques. 3ème édition. www.inrs.fr/fichetox
15. Mamy L, Barriuso E., Gabrielle B. Effet de la température sur le devenir des pesticides dans les sols et conséquences pour l'évaluation des risques environnementaux : Cas du glyphosate et des herbicides sélectifs. *Etude et Gestion des Sols*, 2013; 20(2): 39-54.
16. Stenrod M, Eklo OM, Charnay MP, Benoit P. Effet de la congélation et du dégel sur l'activité microbienne et la dégradation du glyphosate dans deux sols norvégiens. *Pest Management Science*, 2005; 61: 887-898.

17. Ersoy B, Yanar Y, Kucukgulmez A, Celik M. Effects of four cooking methods on the heavy metal concentrations of sea bass fillets (*Dicentrarchus labrax* Linne, 1785). *Food Chem.*, 2006; 99(4): 748-751.
18. Atta M, El-Sebaie L, Noaman M, Kassab H. L'effet de la cuisson sur la teneur en métaux lourds dans le poisson (*Tilapia nilotica*), *Food Chemistry*, 1997; 58(1): 1-4.
19. Frias-Espericueta MG, Quintero-Alvarez JM, Osuna-Lopez JI, Sanchez-Gaxiola CM, Liopez-Lopez G, Izaguime-Fierro G. Teneur en métaux de quatre espèces de poissons commerciaux du nord-ouest du Mexique. *Taureau. Environ. Contam. Toxicol.*, 2010; 85: 334-338.
20. Lee J, Hwang J, Lee H, Kim T, Choi J, Gang G. Effets des méthodes de transformation des aliments sur la migration des métaux lourds vers les aliments. *Chimie biologique appliquée*, 2019; 62: 64. <https://doi.org/10.1186/s13765-019-0470-0>
21. Bassef FI, Oguntunde FC, Iwegbue CMA, Osabor VN, Edem CA. Effets de la transformation sur la proximité et les teneurs en métaux de trois espèces de poissons des eaux côtières nigérianes. *Food Science & Nutrition*, 2014; 2(3): 272-281.
22. Kalogeropoulos N, Karavoltos S, Sakellari A, Avramidou S, Dassenakis N, Scoulla M. Métaux lourds dans les poissons et crustacés méditerranéens crus, frits et grillés. *Food Chem. Toxicol.*, 2012; 50: 3702-3708.
23. Adamou, MR, Yehouenou PA, Edoh P. Effets de deux méthodes de cuisson sur la concentration des métaux lourds dans la chair des escargots géants Africains. *Institut National des Loisirs Agricoles du Bénin*, 2019; 33-40.
24. Kobia J, Emikpe BO, Asare DA, Asenso TN, Yeboah R, Jarikre TA, Afusat JJ. Effects of Different Cooking Methods on Heavy Metals Level in Fresh and Smoked Game Meat. *J Food Process Technol*, 2016; 7: 617. doi: 10.4172/2157-7110.1000617
25. Jorhem L.J, Engman B, Sundstrom, Thim AM. Traces elements in crayfish: regional differences and changes induced by cooking *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 1994; 26: 137-142.
26. Cabañero AI, Madrid, Y., Cámara, C. Selenium and Mercury Bioaccessibility in Fish Samples: an in vitro digestion method. *Analytica Chimica Acta*, 2004; 526(1): 51-61.
27. Gheisari E, Raissy M, Rahimi E. The Effect of Different Cooking Methods on Lead and Cadmium Contents of Shrimp and Lobster. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 2016; 6(2): 53-58.
28. Cabañero AI, Madrid Y. & Cámara C. Selenium and mercury bioaccessibility in fish samples: An in vitro digestion method. *Analytica Chimica Acta*, 2004; 526: 51-61.

ARTICLE 6



Interaction on the diet and substrate on the growth of *Archachatina marginata* in breeding

Kouassi Kouadio Daniel^{*1}, N'guessan N'guessan Olivier¹, Aman Jean-Baptiste²

¹Université Jean Lorougnon Guédé, Laboratoire de Biodiversité et d'Ecologie Tropicale, Boîte Postale, Daloa, Côte d'Ivoire

²Université Nangui Abrogoua, Laboratoire de Biologie et Cytologie Animales, Côte d'Ivoire

Article published on January 06, 2023

Key words: Substrat, Régime alimentaire, *Archachatina marginata*

Abstract

Nine hundred juveniles of *Archachatina marginata* aged about two weeks, with an average live weight of 2.25 g with an average shell length of 20.12mm were monitored in culture for six (6) months on five types of substrates [S₁ (soil collected in a cassava plantation: *Manihot* sp.), S₂ (S₁ with 10% oyster shell meal), S₃ (S₁ with 10% sawdust), S₄ (S₁ with 5% oyster shell meal and 5% sawdust) and S₅ (uncultivated forest soil). Four diets including two industrial (D₁ and D₂ of 12% and 16% calcium respectively) and two based on fodder (D₃ and D₄ based on leaves and fruit of the papaya (*Carica papaya*) on the one hand and a mixture of papaya leaves and taro (*Xanthosoma maffafa*) on the other hand, were used. In order to determine the best combinations inducing the best growth performance, 20 combinations were formed at the rate of 45 spat for each combination; three replicas of 15 spat each. This study showed that the combination of diet and livestock substrate influences the growth of *Archachatina marginata*. Although the best feed is D₁ (74.68 g and 7.94cm) and the best substrate is S₂ (77.12 g and 7.79cm), the best combinations are D₂S₃ (69.37 g and 7.47cm), D₁S₄ (74.68 g and 7.94cm and D₄S₂ (77.12 g and 7.79cm). The combined effect of the high level of dietary calcium and that of the culture substrate does not promote good growth of snails. This work will help improve the production of African giant snails and provide important data for anyone wishing to engage in the breeding of these animals.

*Corresponding Author: Kouassi Kouadio Daniel ✉ prdanielkouassi@yahoo.com

Introduction

Naturally available food resources play a fairly substantial role in populations (Sodjinou *et al.*, 2002). Among these resources, African giant snails (or Achatines) belonging to the family Achatinidae are found there. These snails are highly valued by many African populations (Zongo 1995). For example, Achatine meat is the most consumed meat in South Benin ahead of aulacode, chicken, sheep or goats, beef and pork (Sodjinou *et al.*, 2002). It is estimated that in Côte d'Ivoire, the population eats 7.9 million kg of snails per year, while in Ghana; demand clearly exceeds production capacity (Cobbinah *et al.*, 2008).

Unfortunately, these protein resources are becoming scarce in their natural environment. To compensate for these deficits, heliciculture is one of the alternatives to diversify the sources of animal protein of populations. It is therefore right that initiatives to breed these animals should be carried out in order to satisfy the ever-increasing demand for their consumption, but also to ensure the sustainability of the resource. Thus, several research initiatives on the pace of activity, growth (Ejidike *et al.*, Otchoumou *et al.*, 2004; Kouassi *et al.*, 2016), on reproduction (Otchoumou *et al.*, 2005, Kouassi, 2008) as well as on snail farming substrate were supported (Kouassi *et al.*, 2016; Awohouedji *et al.*, 2017). Indeed, the success of such breeding goes beyond the control of the feed, the breeding substrate, the pathology of these animals, but also and above all by a healthy appreciation of the food according to the different types of breeding substrate. Thus, the substrate is a key element for snails as it is both a source of mineral nutrients and a refuge.

In terms of snail production, several studies have shown the effect of feeding (Kouassi *et al.*, 2007, Kouassi, 2002) or farming substrate on the growth and reproduction of these animals by a variation in calcium levels. However, to our knowledge, no studies have yet been devoted to the combined effect of diet and substrate. The objective of this study is to highlight the combined effect of diet and culture substrate on the live weight and growth of the shell of

Archachatina marginata in order to optimize its rearing. It was therefore necessary to evaluate the combined effect of food and substrate on the weight and shell growth of snails.

Material and method

Study site and animals

This study took place at the school-farm of Jean Lorougnon Guedé University, Côte d'Ivoire from September 2021 to February 2022; i.e a duration of 24 weeks. The average temperature and relative humidity of the rearing environment are respectively $25.5 \pm 2.2^{\circ}\text{C}$ and $90.7 \pm 3.8\%$.

The biological material used in this study consists of snails belonging to a single species (Fig. 1): *Archachatina marginata* (Swainson, 1821). They were born at the farm-school of Jean Lorougnon Guedé University from breeders collected in the South Comoé region, Ivory Coast. About two weeks old, they are free of trauma (shell well formed, well filled and without breakage) and have an average live weight of 2.25 ± 0.1 g for an average shell length of 20.12 ± 0.5 mm.



Fig. 1. *Archachatina marginata*.

Breeding substrates

Five types of substrates were used for this study. The first, S₁ is the superficial layer (from 0 to 40cm deep) of the soil of a cassava plantation (*Manihot* sp.), a tuber widely cultivated in Côte d'Ivoire. The choice of this soil is linked to the fact that the breeding of snails will only be done on soils already exploited and certainly by the practice of cassava cultivation. The second substrate (S₂) is a mixture of 90% of the S₁ substrate and 10% of oyster shell flour (Table 1). The third, (S₃) is a mixture of 90% S₁ and 10% sawdust of wood. The fourth, (S₄) is a mixture of 90% S₁ with 5% oyster shell flour and 5% sawdust of wood. Substrate S₅ is the superficial layer (from 0 to 40cm deep) of the soil of a fallow forest at Jean Lorougnon Guedé University, control soil.

Foods

Four types of food were used in this study. The first two (D₁ and D₂) are industrial foods formulated in the form of flour with varying levels of calcium (Table 2). The D₃ and D₄ diets are composed of chlorophyllous foods. They are the result of a mixture of papaya leaves and fruits (*Carica papaya*) on the one hand (D₃) and a mixture of papaya leaves and *Xanthosoma maffafa* leaves on the other hand (diet D₄).

Methodology

A total of 900 *A. marginata* juveniles were used in this study which lasted 24 weeks; from September 2020 to February 2021. Sixty batches of 15 snails each were formed for all 20 combinations (4 diets x 5 substrates), i.e three repetitions per combination. These batches are placed in brick bins with area is 1 m² for 0.5 m³ of volume (Fig. 2) to assess zootechnical performance related to food and/or rearing substrate. Fitted with a mosquito net-type lid constituting the anti-leakage device and allowing the animals to ventilate, the interior of the bins is made up of various substrates prepared for this purpose at a thickness of 10cm. The animals are regularly watered and fed ad libitum every two days. Every two weeks, they are weighed using an electronic pocket scale of 0.01 g precision. Shell length is determined using a 0.01mm precision electronic caliper and mortality is also noted.



Fig. 2. Breeding pen.

Chemical analysis

The substrates used in this study were the subject of a chemical analysis by SODEMI (Société pour le Développement Minier de la Côte d'Ivoire). Minerals such as iron, aluminum, calcium and magnesium were determined by the method of chemical determination of oxides of major elements. Copper and zinc were determined by the determination of base metals using an atomic absorption spectrophotometer. The organic matter of the substrates was dissolved in 50% hydrogen peroxide and the different proportions were determined according to the formula $[(P_i - P_f) \times 100 / P_i]$.

with:

P_i = weight in grams of the dry sample before treatment with hydrogen peroxide.

P_f = weight in grams of the dry sample after treatment with hydrogen peroxide

Statistical analyzes and expression of results

The R software and Microsoft Excel 2007 made it possible to carry out the various statistical treatments. Descriptive statistics were used to characterize the value of foods and substrates. As for the R software, it was used to discriminate between the different combinations of rearing substrates and food. The weight and shellfish growths are estimated from the average daily growth every two weeks and expressed by the average weight growth (g/d), the average shellfish growth (mm/d). Cumulative mortality is also calculated according to the formulas:

Average weight gain (CP)

$$CP = \frac{P_f - P_i}{T_f - T_i} \quad (1)$$

Pi: Initial average live weight
 Pf: Final average live weight
 Ti: Initial time in days
 Tf: Final time in days

Average shellfish growth (CC)

$$CC = \frac{L_f - L_i}{T_f - T_i} \quad (2)$$

Li: Mean initial shell length
 Lf: Mean final shell length

The cumulative mortality rate (MC) is obtained according to the formula

$$MC = \frac{Nam}{Nta} \times 100 \quad (3)$$

Nam: Total number of dead animals
 Nta: Total number of animals experimented

Results

Composition of rearing substrates and nutritional value of feed

The chemical analysis of the different substrates (Table 1) indicates that the substrates are rich in aluminum oxide (3.43-4.57%) and iron oxide (2.68-3.31%). On the other hand, the substrates are poor in copper (trace), in zinc (0.003-0.004%) and in magnesium oxide (0.03-0.09%). The rates of calcium oxide and organic matter are variable respectively between 0.04 and 4.6% and between 1.21 and 10.81%. The S₂ substrate is the richest in calcium oxide while the S₃ substrate is the richest in organic matter.

Table 1. Composition of substrates Tableau.

Component	Substrate 1 (S ₁)	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅
Cultivated ground	100	90	90	90	0
Forest ground	0	0	0	0	100
Powder of oyster	0	10	0	5	0
Sawdust	0	0	10	5	0
Chimic analysis					
AlO ₃	4,57	4,32	4,3	4,26	3,43
Fe ₂ O ₃	3,31	2,82	3,32	2,92	2,68
CaO	0,08	4,6	0,12	2,48	0,04
MgO	0,04	0,09	0,04	0,07	0,03
Zn	0,003	0,004	0,004	0,004	0,004
Cu	Trace	Trace	Trace	Trace	Trace
Organic matter	1,22	1,21	10,81	5,68	6,04

The nutritional value of the foods used in this study (Table 2) reveals that the D₁ and D₂ foods produced in the laboratory have a high rate of minerals (38.43 and 43.35%) than the D₃ and D₄ foods composed of leaves and fruits (2.37 & 11.15%).

The levels of phosphorus (0.1 to 1.2%), potassium (0.82 to 1.08%), sodium (0.34 to 0.52) and cellulose (2.41 to 4.76) are more or less of the same order in all foods. On the other hand, the levels of calcium (0.33 to 16.01%), protein (4.67 to 17.48%) and fat (1.5 to 4.71%) vary greatly from one food to the other.

Table 2. Composition of the experimental diet.

Ingredients	Diet 1 (D1)	Diet 2 (D2)	Diet 3 (D3)	Diet 4 (D4)
Fresh pawpaw leaves	0	0	50	50
Fresh xanthosoma leaves	0	0	50	0
Fruit of pawpaw	0	0	0	50
maize	19,3	9,7	0	0
Coton	16	15,7	0	0
Soja graine	16	15,7	0	0
Blé tendre	15	14,7	0	0
Phosphate of calcium	4	4	0	0
Complexe of vitamins	0,5	0,5	0	0
Powder of shell oyster	28,7	39,2	0	0
NaCl	0,1	0,1	0	0
Oligot-elements	0,4	0,4	0	0
Total (g)	100	100	100	100
Analysis content				
Ash	38,43	43,35	2,37	11,15
Ca	12,02	16,01	0,33	0,84
Phosphore	1,2	1,19	0,71	0,1
Potassium	1,02	1,04	0,82	1,08
Sodium	0,37	0,34	0,47	0,52
Crude cellulose	4,76	4,67	2,41	2,53
Protein	17,48	17,14	4,67	5,67
Fat	4,71	4,61	1,5	1,83

Feeding and growth of A. marginata

The Figures of plate 1: a₁, b₁, c₁, d₁, and e₁ on the one hand and a₂, b₂, c₂, d₂ and e₂ on the other hand, show respectively the weight growth and the shell growth of the snail *Archachatina marginata* submitted to four types of food according to the different substrates. The effect induced by food on the weight and shell growth of *A. marginata* snails is revealing and variable from one substrate to another.

The analysis of these graphs shows that on substrates poor in calcium (S₁, S₃ and S₅), the best foods are those which are rich in calcium (D₁ and D₂). On the other hand, on S₂ and S₄ substrates, rich in calcium, the best foods are D₁. & D₄.

Basic statistics reveal that the best food among those tested is food D₁ (Table 3). Food D₁ induced the best average weight and shell growth (26.03 g and 4.83cm) followed by D₂ (21.07 g and 4.63cm), D₄ (18.84 g and 4.01cm) and D₃ (15.87 g and 4.07cm).

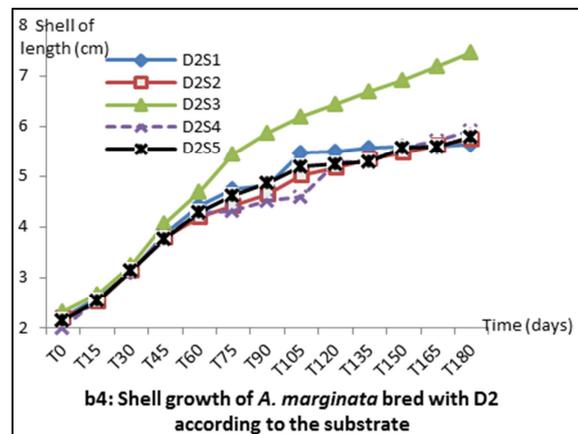
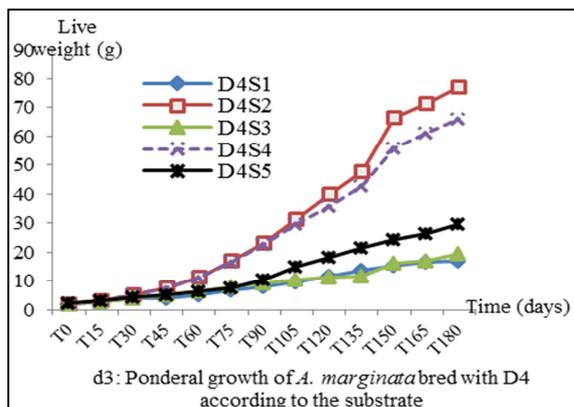
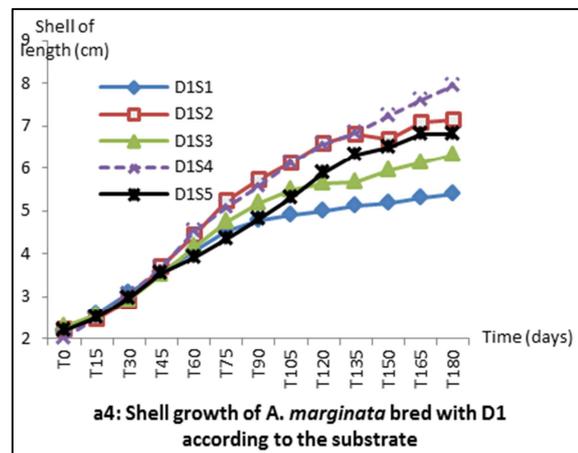
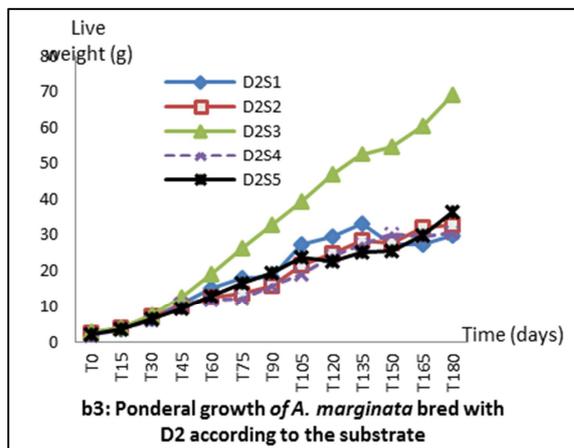
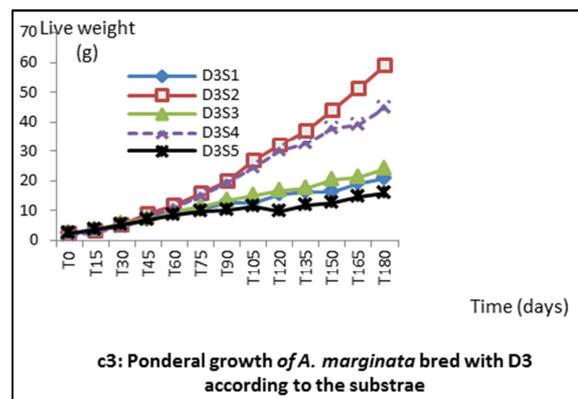
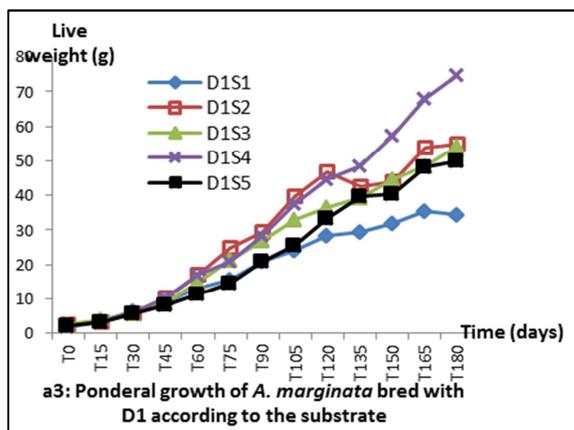
Statistical analysis by comparing the average weight and shell growths induced reveals a significant difference between food D₁ and foods D₃ and D₄. There is, however, no statistical difference between D₁

and D₂, as well as between D₃ and D₄. The average mortality is relatively low and is between 0.48% (food D₃) and 0.18% (food D₁). Animals subjected to D₃ recorded the highest mortality rate (0.48%).

Table 3. Elementary statistics relating to the diet.

	Live weight				Shell length				Mortality			
	D1	D2	D3	D4	D1	D2	D3	D4	D1	D2	D3	D4
Number of data	65	65	65	65	65	65	65	65	65	65	65	65
Mean	26,03 ^a	21,07 ^{ab}	15,87 ^b	18,05 ^b	4,83 ^a	4,63 ^a	4,07 ^b	4,01 ^b	0,18 ^b	0,22 ^b	0,48 ^a	0,2 ^b
Standard deviation	18,74	14,76	12,76	18,84	1,61	1,35	1,24	1,51	0,43	0,48	0,85	0,51
Minimum	1,76	1,78	1,8	1,67	2,01	2	2	1,97	0	0	0	0
Maximum	74,68	69,37	59,23	77,12	7,94	7,47	7,06	7,79	2	2	3	2

The mean of the same growth parameter indexed by the same letter are not statistically different (p<0,05)



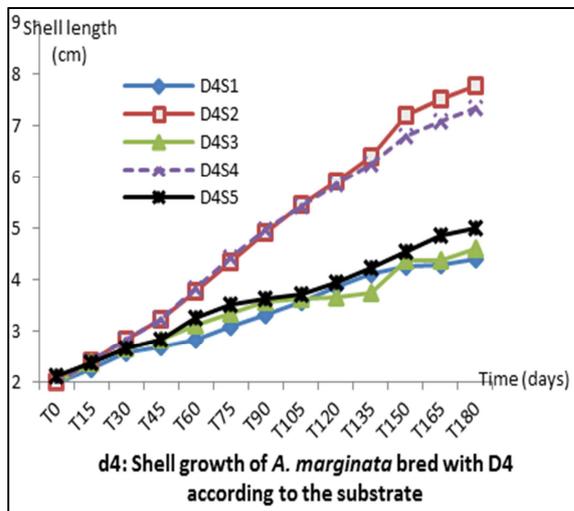
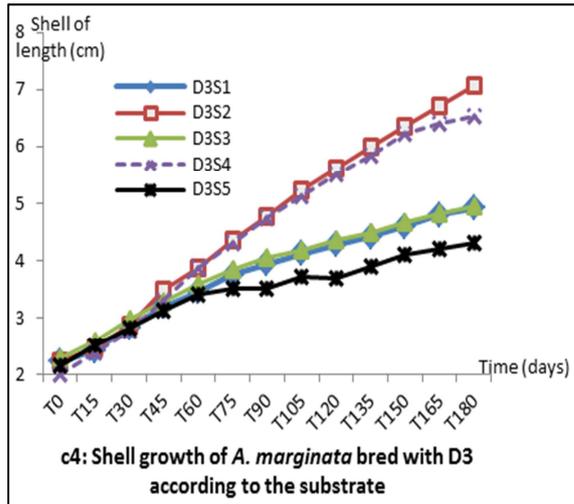


Fig. 2. Effect of the rearing substrate on the weight and shell growth of *A. marginata*.

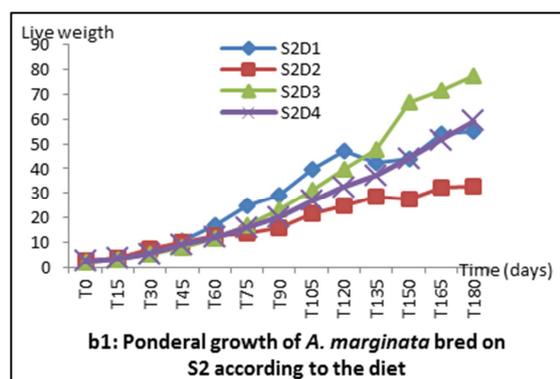
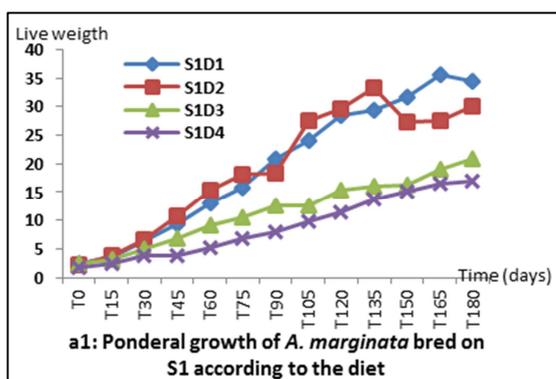
Breeding substrate and growth of *A. marginata*

In order to ensure the effect induced by the breeding substrate on the growth of snails, the weight and shell growth of *A. marginata* was evaluated according to five types of substrates (Plate 2). Weight growth (a_3 , b_3 , c_3 and d_3) and shell growth (Fig. a_4 , b_4 , c_4 and d_4) varies from one substrate to another. The temporal analysis of the different graphs indicates a clear demarcation between the substrates when the animals are subjected to vegetarian diets. The best substrates that emerge from this are S_2 and S_4 . On the other hand, the S_3 substrate, rich in organic matter, appears to be the best when the snails are fed with the D_2 food having the highest calcium content.

The best substrates are in the order of S_2 (25.59 g and 4.8cm) > S_4 (24.46 g and 4.76cm) > S_3 (20.41 g and 4.31cm) > S_5 (16.03 g and 4.07cm) > S_1 (14.80 g and 3.99cm) (Table 4). The comparison of the means with the R software reveals a statistical difference between the growth of the snails reared on substrate S_2 and those reared on S_1 and S_5 . However, there is no difference in growth between the animals of the S_2 , S_3 and S_4 substrates. Also, the cumulative average mortality of snails reared on S_1 (0.5%) and S_5 (0.62%) substrates seems high compared to that of animals on S_4 (0%), S_3 (0.21%) substrates. and S_2 (0.02). The lowest mortality was recorded on the S_4 substrate (0%).

Table 4. Statistiques élémentaires relatives au substrat.

	Live weight					Shell length					Mortality				
	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5	S1	S2	S3	S4	S5
Number of data	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52	52
Mean	14,8 ^b	25,59 ^a	20,41 ^{ab}	24,46 ^a	16,03 ^b	3,99 ^b	4,8 ^a	4,31 ^{ab}	4,76 ^a	4,07 ^b	0,5 ^a	0,02 ^{bc}	0,21 ^b	0 ^c	0,62 ^a
Standar deviation	9,94	20	17,6	19,6	12,3	1,11	1,7	1,44	1,7	1,26	0,8	0,14	0,6	0	0,79
Minimum	1,77	1,77	1,67	1,98	2,24	1,98	2	1,97	2	2;11	0	0	0	0	0
Maximum	35,6	77,12	69,47	74,7	49,9	5,88	7,8	7,47	7,9	6,81	3	1	2	0	3



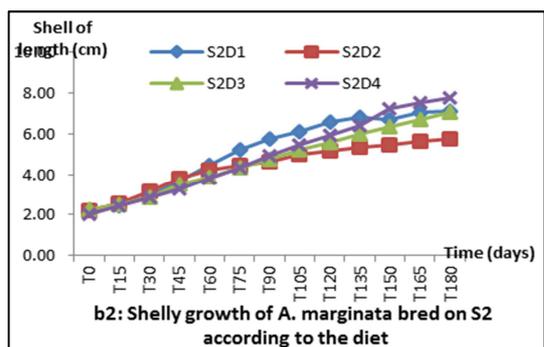
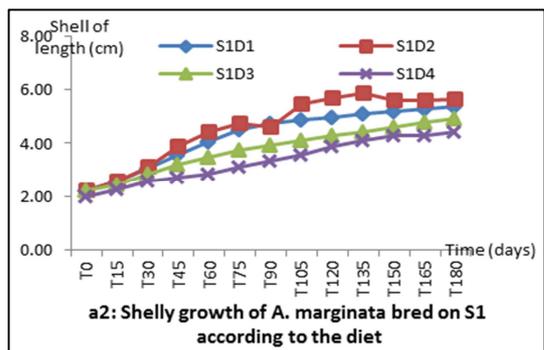
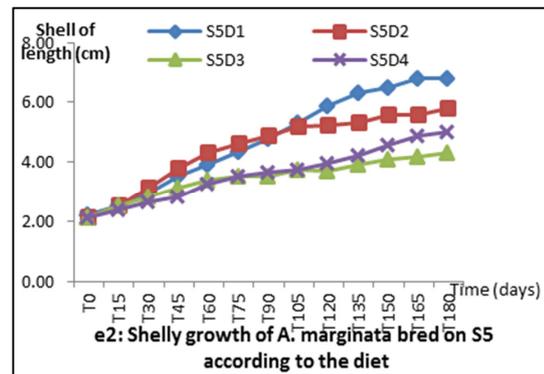
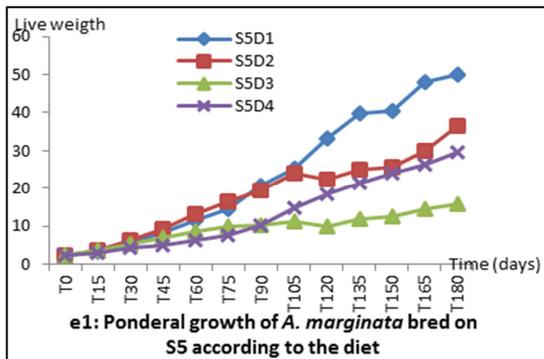
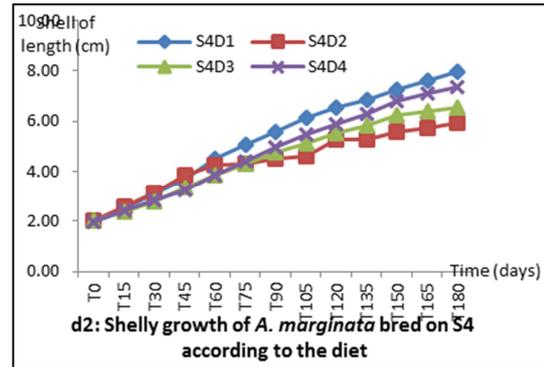
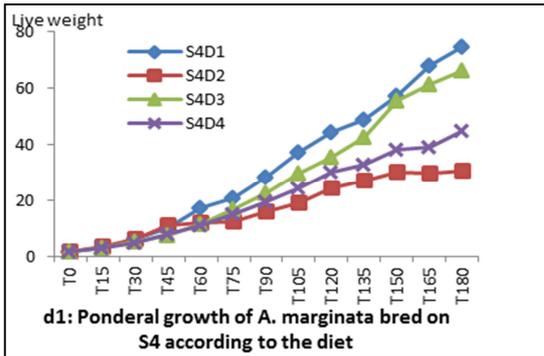
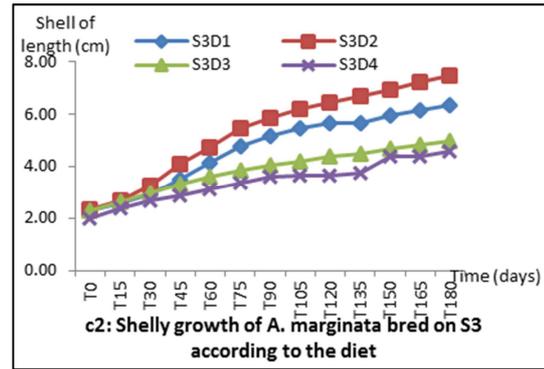
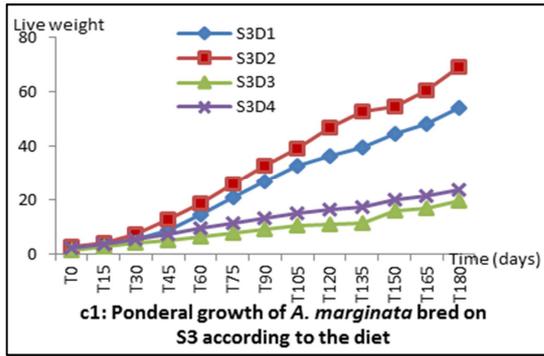


Fig. 1. Effect of the diet on the weight and shell growth of *A. marginata*.

Interaction between food and rearing substrates on the growth of A. marginata

The characteristics of the growth of *Archahchatina marginata* under the combined effect of food and rearing substrate are recorded in Table 5.

A careful analysis of this table reveals that after six months, the final weight and shell length of the snails vary respectively between 15.7 g (D_3S_5) and 77.12 g (D_4S_2) and between 4.3cm (D_3S_5) and 7.94cm (D_1S_4) for an average mass between 8.86 g (D_4S_1) and 32.96 g (D_2S_3). Daily weight gain fluctuates between 0.08 g/d (D_3S_5) and 0.49 g/d (D_4S_2). As for shellfish growth, it fluctuates between 0.013cm/d (D_3S_5) and

0.035cm/d D₁S₄). The four best weight increases were obtained in order with the combinations: D₄S₂ (0.449 g/d), D₁S₄ (0.434 g/d), D₂S₃ (0.397 g/d), and D₄S₄ (0.384 g/d). On the other hand, the best shell growth was obtained in the order of the combinations D₁S₄ (0.035cm/d), D₄S₂ (0.034cm/d), D₄S₄ (0.032cm/d) and D₂S₃ (0.031cm/d). Thus, out of a total of 20 combinations, four turn out to be more favorable for

good snail growth. The combinations not favorable to good snail growth are in the order of D₃S₅ (0.080 g/d and 0.013cm/d), D₄S₁ (0.090 g/d and 0.015cm/d), D₄S₃ (0.106 g/d and 0.016cm/d), D₃S₁ (0.110 g/d and 0.016cm/d) and D₃S₃ (0.127 g/d and 0.016cm/d). These combinations are characterized by an absence of minerals, in particular calcium, both in the feed and in the substrate.

Table 5. Parameters of growth according to combinations diet & substrate.

	Parameters								
	Initial weight (g)	Final weight (g)	Average weight (g)	Daily average ponderal growth (g/day)	Initial length of shell (cm)	Final length of shell (cm)	Average length of shell (cm)	Daily average shell growth (cm/day)	Average mortality (%)
D ₁ S ₁	2.33 ^a	34.33 ^{gh}	19.58 ^{cdef}	0.190 ^{fghi}	2.20 ^a	5.38 ^{efgh}	4.28 ^{abcdef}	0.010 ^{bcdef}	0.154 ^{cd}
D ₁ S ₂	2.47 ^a	54.93 ^{de}	28.85 ^{abc}	0.312 ^{bcde}	2.23 ^a	7.14 ^{abcd}	5.16 ^a	0.029 ^{abcde}	0.000 ^d
D ₁ S ₃	2.50 ^a	54.13 ^{de}	26.17 ^{abc}	0.307 ^{cde}	2.29 ^a	6.33 ^{bcdef}	4.66 ^{abcd}	0.024 ^{abcdef}	0.154 ^{cd}
D ₁ S ₄	1.76 ^a	74.68 ^{ab}	32.18 ^a	0.434 ^{ab}	2.01 ^a	7.94 ^a	5.29 ^a	0.035 ^a	0.000 ^d
D ₁ S ₅	2.25 ^a	49.90 ^{ef}	23.37 ^{abcde}	0.284 ^{def}	2.20 ^a	6.81 ^{abcde}	4.76 ^{abc}	0.027 ^{abcdef}	0.615 ^b
D ₂ S ₁	2.25 ^a	30.08 ^h	19.24 ^{cdef}	0.166 ^{ghij}	2.20 ^a	5.65 ^{defgh}	4.54 ^{abcd}	0.021 ^{abcdef}	0.462 ^{bc}
D ₂ S ₂	2.40 ^a	32.78 ^{gh}	14.94 ^{def}	0.181 ^{fghi}	2.20 ^a	5.75 ^{defgh}	4.41 ^{abcde}	0.021 ^{abcdef}	0.077 ^{cd}
D ₂ S ₃	2.73 ^a	69.37 ^{bc}	32.96 ^a	0.397 ^{abc}	2.33 ^a	7.47 ^{ab}	5.32 ^a	0.031 ^{abcd}	0.231 ^{bcd}
D ₂ S ₄	1.78 ^a	30.68 ^h	17.20 ^{def}	0.172 ^{ghij}	2.00 ^a	5.93 ^{cdefg}	4.39 ^{abcdef}	0.023 ^{abcdef}	0.000 ^d
D ₂ S ₅	2.25 ^a	36.53 ^g	18.02 ^{def}	0.204 ^{fgh}	2.15 ^a	5.80 ^{defgh}	4.47 ^{abcde}	0.022 ^{abcdef}	0.308 ^{bcd}
D ₃ S ₁	2.38 ^a	20.80 ^{ij}	11.52 ^f	0.110 ^{hij}	2.23 ^a	4.92 ^{fgh}	3.77 ^{cdef}	0.016 ^{def}	1.077 ^a
D ₃ S ₂	2.50 ^a	59.23 ^d	24.57 ^{abcd}	0.338 ^{bcde}	2.25 ^a	7.06 ^{abcd}	4.7 ^{abc}	0.029 ^{abcde}	0.000 ^d
D ₃ S ₃	2.50 ^a	23.83 ⁱ	12.99 ^{ef}	0.127 ^{hij}	2.30 ^a	4.95 ^{fgh}	3.86 ^{bcdef}	0.016 ^{def}	0.154 ^{cd}
D ₃ S ₄	1.80 ^a	44.85 ^f	20.86 ^{bcdef}	0.256 ^{efg}	2.00 ^a	6.54 ^{abcde}	4.54 ^{abcd}	0.027 ^{abcdef}	0.000 ^d
D ₃ S ₅	2.33 ^a	15.70 ^j	9.43 ^f	0.080 ^j	2.15 ^a	4.30 ^h	3.47 ^{ef}	0.013 ^f	1.154 ^a
D ₄ S ₁	1.77 ^a	16.86 ^j	8.86 ^f	0.090 ^{ij}	1.98 ^a	4.42 ^h	3.34 ^f	0.015 ^{def}	0.308 ^{bcd}
D ₄ S ₂	1.77 ^a	77.12 ^a	30.98 ^{ab}	0.449 ^a	2.02 ^a	7.79 ^{ab}	4.92 ^{ab}	0.034 ^{ab}	0.000 ^d
D ₄ S ₃	1.74 ^a	19.57 ^{ij}	9.51 ^f	0.106 ^{ij}	1.97 ^a	4.6 ^{gh}	3.41 ^{ef}	0.016 ^{def}	0.308 ^{bcd}
D ₄ S ₄	1.75 ^a	66.22 ^c	27.61 ^{abc}	0.384 ^{abcd}	1.98 ^a	7.35 ^{abc}	4.81 ^{abc}	0.032 ^{abc}	0.000 ^d
D ₄ S ₅	2.24 ^a	29.52 ^h	13.31 ^{def}	0.162 ^{ghij}	2.11 ^a	5.02 ^{fgh}	3.60 ^{def}	0.017 ^{cdef}	0.385 ^{bcd}

The mean of the same growth parameter indexed by the same letter are not statistically different (p<0,05)

The average mortality of the different combinations varies little; between 0% and 1.15%. The highest mortalities were recorded on the D₃S₅ (1.15%) and D₃S₁ (1.08%) combinations

Discussion

Food influences the growth of snails, as evidenced by the results of this study. Also, it emerges from this study that the best foods inducing good growth of snails are industrial foods in the form of flour: D₁ with 12% calcium and D₂ composed of 16% calcium. Indeed, in order to optimize the growth performance of snails, several food preparation initiatives have been initiated (Zongo *et al.*, 1990). Thus, foods D₁ and D₂ have been enriched with nutrients, in particular dietary calcium, and induce good growth in snails. On

the other hand, snails are vegetarians in the wild and must seek their nutrients necessary for their growth in several sources. This justifies the weak growth observed in animals fed with a reduced number of plants; here papaya leaves and fruits (*Carica papyra*) and taro leaves (*Xanthosoma maffafa*). The results of this study also show that the growth of snails is influenced by the breeding substrate. These results are in agreement with those of Graham, (1978) and Jess and Mark, (1989), who report that the soil not only constitutes a real refuge for snails, but the latter draw about 40% of their nutrients from it. The performances observed seem to be strongly linked to the level of calcium and magnesium. Indeed, the best snail growth was obtained on S₂ and S₄ substrates, rich in calcium and magnesium.

These results agree with those of Chevalier, (1992) and Ebenso, (2003) who noted that snails like ferralitic and/or limestone soils rich in water. Also, magnesium is involved in several essential enzymatic reactions, in particular in the production of energy. It acts in balance with other minerals, such as calcium or potassium (Graham, 1978).

Although food D₁ and substrate S₂ are the best food and substrate in the present study, the best combinations inducing good growth of snails are D₁S₄, D₂S₃, D₄S₂ and D₄S₄ and not D₁S₂. This result suggests an interaction between the minerals of the substrate and those of the food in the sense of a complementation of the rate of dietary calcium and that of the substrate. Feed with high calcium content (16%) is compatible with a substrate rich in organic matter (D₂S₃) and feed with moderate calcium content (12%) is better suited to a substrate with moderate calcium content; witness the growth observed at the level of the D₁S₄ and D₄S₂ combinations. This complementation seems to admit a limit beyond which the calcium content proves to be toxic or inhibiting the growth of *A. marginata* (D₂S₂, combination rich in calcium but inducing weak growth 14.94g and 4.41cm). These results are in agreement with those of Aman, (2011) and Bouye, (2017), which limit the calcium level of substrate amendment to 6.23% for a diet of 12% calcium. In addition, our results indicate better daily growth performance in *A. marginanta* than conventional above-ground breeding in buildings or under shade without calcium amendment of the substrate. Indeed, after 24 weeks of experimentation, the D₁S₄, D₂S₃, D₄S₂ and D₄S₄ combinations gave better weight and shellfish growth than those obtained by Kouassi and Aman, (2014), certainly thanks to the combined effect of food nutrients and those of the rearing substrate. Also, daily weight and shellfish growths are better than those obtained by Otchoumou *et al.*, (2003) on substrates amended with different sources of calcium.

Conclusion

The study on the interaction of diet and culture substrate on the growth of *Archachatina marginata* snails in the rearing environment revealed that a

calcium-rich feed is suitable for better growth of snails on a substrate rich in organic matter. On the other hand, on a substrate rich in calcium, a plant-based diet (low in calcium) is needed for good growth of snails. The accumulation of calcium in the feed and in the substrate is to be avoided in the case of the breeding of giant snails because inhibits the growth of these animals.

References

- Awohouedji DYG, Attakpa EY, Babatounde S, Alkoiret TI, Atebo JM, Aman JB, Kouassi KD, Karamoko M, Otchoumou A.** 2011. Effet de la teneur en poudre de coquille d'huitre dans le substrat d'élevage sur la croissance d'*Archachatina marginata*, Journal of Applied of Biosciences **47**, 3205-3213.
- Bouye TR, Ocho-Anin AAL, Memel JD, Otchoumou A.** 2017. Effet de l'amendement au carbonate de calcium (mikhart) de substrat d'élevage sur les performances de reproduction de l'escargot *Achatina achatina* (Linné 1758).
- Chevalier H.** 1992. L'élevage des escargots: production et préparation du petit gris, Edition du point vétérinaire, Paris 144 p.
- Cobbinah JC, Adri V, Ben O.** 2008. L'élevage d'escargots : Production, transformation et commercialisation. Première édition, Wageningen, (Pays-Bas) 84p.
- Ebenso I. E.** 2003. Dietary calcium supplements for edible tropical land snails *Archachatina marginata* in Niger Delta, Nigeria. Livestock Research for Rural Development **15(5)**.
- Ejidike BN, Afolayant TA, Alokun JA.** 2004. Observations on some climatic variables and dietary influence on the performance of cultivated African giant land snail (*Archachatina marginata*): notes and records. Pakistan journal of Nutrition **3(6)**, 362-364.
- Graham SM.** 1978. Seasonal influences on the nutritional status and iron consumption of a village people in Ghana. University of Guelph. Canada (Thesis) 180p.

- Jess S, Mark RJ.** 1989. The interaction of the diet and substrate on the growth of *Helix aspersa* (Müller) var. *maxima*. Slug Snails Word Agriculture **41**, 311-317.
- Kouassi KD, Aman JB, Karamoko M.** 2016. Growth performance of *Archachatina marginata* bred on the substrate amended with industrial calcium: Mikhart. International Journal of Science and Research **5(1)**, 582-586.
- Kouassi KD, Aman JB.** 2014. Effet de l'amendement du substrat d'élevage en différentes sources de calcium sur la croissance de *Archachatina marginata*. Journal of Advances in Biology **6(1)**, 835-842.
- Kouassi KD, Otchoumou A, Dosso H.** 2007. Effets de l'alimentation sur les performances biologiques chez l'escargot géant Africain: *Archachatina ventricosa* (Gould 1850) En Élevage Hors sol. LRRD **19**, 1620.
- Kouassi KD.** 2002. Impact de trois espèces d'escargots sur quelques plantes de l'université d'Abobo-Adjamé: Inventaire et préférence alimentaire. Mémoire de DEA, UFR-SN, Université d'Abobo-Adjamé/Abidjan – Côte d'Ivoire 48p.
- Kouassi kD.** 2008. Effet de l'alimentation et du substrat d'élevage sur les performances biologiques de *Archachatina ventricosa* (Gould 1850) et quelques aspects de la collecte des escargots géants de Côte d'Ivoire. Thèse unique, Université d'Abobo-Adjamé; n°32, 125p.
- Otchoumou A, Dosso H, Fantodji A.** 2003. Elevage comparatif d'escargots juvéniles *Achatina achatina* (Linné, 1758); *Achatina fulica* (Bowdich, 1820) et *Archachatina ventricosa* (Gould, 1850): effets de la densité animale sur la croissance, l'ingestion alimentaire et le taux de mortalité cumulée, Revue Africaine de Santé et de Production Animale **1(2)**, 146-151.
- Otchoumou A, Dupont-Nivet M, Dosso H.** 2004. Les escargots comestibles de Côte d'Ivoire: effets de quelques plantes, d'aliments concentrés et de la teneur en calcium alimentaire sur la croissance d'*Archachatina ventricosa* (Gould, 1850) en élevage hors-sol en bâtiment. Tropicultura **22(3)**, 127-133.
- Otchoumou A, Dupont-Nivet M, N'da K, Dosso H.** 2005. L'élevage des escargots comestibles africain: effet de la qualité du régime et du taux de calcium alimentaire sur les performances de reproduction d'*Achatina fulica* (Bowdich, 1820). Livestock Research for Rural Development. 17(10) www.cipav.org.co/lrrd17/10/otch/17118.htm.
- Sodjinou E, Biaou G, Codjia J-C.** 2002. Caractérisation du marché des escargots géants africains (Achatines) dans les départements de l'Atlantique et du Littoral au Sud-Bénin. Tropicultura **20(2)**, 83-88.
- Zongo D, Coulibaly M, Diambara O, Adjire E.** 1990. Note sur l'élevage de l'escargot géant africain *Achatina achatina*. Nature et Faune **6(2)**, 32-4.

CHAPITRE DE LIVRE

Distribution of Heavy Metals and Herbicides in the Cephalopod, Viscera and Shell of the Snail *Achatina achatina*

O. N'guessan^{a*} and D. Kouassi^a

DOI: 10.9734/bpi/arbs/v5/11125F

Peer-Review History:

This chapter was reviewed by following the Advanced Open Peer Review policy. This chapter was thoroughly checked to prevent plagiarism. As per editorial policy, a minimum of two peer-reviewers reviewed the manuscript. After review and revision of the manuscript, the Book Editor approved the manuscript for final publication. Peer review comments, comments of the editor(s), etc. are available here: <https://peerreviewarchive.com/review-history/11125F>

ABSTRACT

Every day, several contaminants are released into the environment. The purpose of this chapter is to determine the concentrations of heavy metals (Lead, Cadmium, Mercury, Zinc, Copper) and glyphosate in the cephalopod, viscera, and shell of the *Achatina achatina* snail species in order to find the areas where pollutants obtain the highest. The present study took place in the Nawa region of south-western Côte d'Ivoire. Heavy metals and glyphosate levels in *Achatina achatina* samples were determined using atomic absorption spectrophotometry and high-performance liquid chromatography, respectively. The outcomes demonstrate that lead (0,64 mg/kg), copper (0,45 mg/kg) and zinc (1,165 mg/kg) accumulate the most in the shell. On the other hand, glyphosate and cadmium accumulate most in the cephalopod (1,03 and 0,13 mg/kg respectively) and in the viscera (1,01 and 0,14 mg/kg respectively). Contamination of the snail with heavy metals and glyphosate would certainly cause adverse effects on human health and the environment.

Keywords: Achatina achatina; heavy metals; herbicide.

1. INTRODUCTION

Terrestrial gastropods (snails and slugs) have an important bio-accumulative power of metals. The latter survive well on metal-contaminated sites, so the snail is considered one of the most effective concentrators of pollutants in polluted terrestrial habitats [1]. The accumulation of metals by invertebrate organisms is the result of the processes of absorption-assimilation, distribution, storage and

^a Laboratoire Biodiversité et Ecologie Tropicale (BioEcoTrop), UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire.

*Corresponding author: E-mail: oliviernguessan@gmail.com;

excretion [2]. These processes are possible thanks to the availability of these metals in the natural environment. Indeed, the transfer of certain pollutants to snails results from the negative influence of the organic matter content of soils [3]. Several pollutants are released into the environment on a daily basis. Metallic trace elements (MTEs) are pollutants mostly generated by human activity [4-6]. They have a toxicological impact on plants, everyday consumer products and humans [7-9]. These pollutants are considered serious to the environment because of their persistence and tendency to bioaccumulate in living organisms [10,11]. In this environment subject to these pollutants, the food resources available in their natural state play a fairly substantial role in populations [12]. Among these resources, African giant snails (or achatines) belonging to the family Achatinidae are found there. These snails are highly valued by many African populations [13,14]. The flesh of the snail contains a protein content between 37 and 51% of the dry matter and would represent the most prized and consumed "bushmeat" in Côte d'Ivoire after the aulacode [15]. Indeed, the cephalopod (the consumed part of the snail) represents, according to a study carried out in Côte d'Ivoire by Otchoumou [16] 30% of the live weight of the snail. It is very rich in water (80%) and contains dry matter, 62 to 75% crude protein. Although low in fat, it has a calorific value ranging between 341 and 358 Kcal/100g with a high content of calcium (1,3 g/100 g DM) and iron (491 mg/Kg DM). Almost all the essential amino acids that man needs are represented there. Vitamins A, D3 and E are also present. The Ivorian population consumes 7,9 million kg of snails per year [15]. In Ghana, demand clearly exceeds available resources [15]. Achatine meat is the most consumed in South Benin ahead of aulacode, chicken, sheep or goats, beef and pork [12]. According to these authors, 57,5% of the population of South Benin consumes only the cephalopod against 42,5% who consume both the cephalopod and the viscera. Like some African peoples, some Ivorian populations consume the whole body (foot, head and visceral mass) of the snail. However, snails are bioaccumulative species, able to absorb and concentrate certain chemical substances in their bodies [17,18]. It is therefore important to know the pollutant absorption capacity of certain parts of the snail. The objective of this study is to determine the concentration of heavy metals (Lead, Cadmium, Mercury, Zinc, Copper) and glyphosate in the cephalopod, viscera and shell in the snail species *Achatina achatina* in order to know the parts likely to accumulate pollutants.

2. MATERIALS AND METHODS PRESENTATION OF THE STUDY AREA

The present study took place in the Nawa region of south-western Côte d'Ivoire. Located between 5°60' and 9°50' north latitude and 6°0' and 8°20' west longitude, this region covers an area of 9193 km² with an estimated population of 314,192 inhabitants (INS, 2021). The sampling site is located in the department of Soubré more precisely in the locality of Alakabo. Geographically, it is located between latitude 5°35'17.052 N and longitude 6°22'25.14 W. The choice of this region is justified by its high production of snails and the supply of several Ivorian markets through traders.

2.1 Animal Material

This study focused on a single species of snail belonging to the family Achatinidae. This is *Achatina achatina*. It is the most highly valued species among populations in the study area.



Fig. 1. *Achatina achatina*

2.2 Survey Methodology for the Use of Herbicide Types Used in the Study Area

Before sampling, a field survey was conducted among thirty cocoa farmers. The purpose of this survey is to facilitate the selection of the active substance to be analysed by taking into account the herbicides to which snails at the sampling site are likely to be exposed in the vicinity of the sampling site. First, the owner of the field in which the samples were collected was the first person interviewed. Then, the other six people with whom the field of it is limiting. Finally, the other twenty-three cocoa farmers were interviewed within one kilometer of the sampling site.

2.3 Sampling and Sampling of Snails

Eight snails were collected *in situ* in a homogeneous area (under cocoa orchards) after rain occurred early in the evening. Sampling was done after the rain. Snails are seen after rain because it is thanks to water that they can make their drool, called mucus. This drool is particularly important for them since it allows them to move while sliding on possible obstacles. The samples collected were placed in a stomacher bag and stored in a cooler before being sent to the laboratory the next day early in the morning.

2.4 Preparation of Snail Samples

Once in the laboratory, the snails were fasted for two days (48 hours) to remove unabsorbed food and feces from their digestive tract. Then, several

measurements of the twenty-four snails due to eight snails per site were taken. This is the weight of the snail, the length and diameter of its shell. Finally, the dissection of the samples was done according to the method described by Chukwujindu et al. [19].

2.5 Mineralization and Determination of Heavy Metals

The metal analyses were carried out according to perfectly controlled and validated operating procedures. Mineralization for the determination of lead, copper, zinc and cadmium was performed according to AOAC 999.10 [20]. First, for the digestion of each sample, a test portion of 0.5 g of grind is placed in a Teflon tube under a hood. Then 5 mL of concentrated nitric acid (HNO₃) at 65% and 15 ml of hydrochloric acid (HCL) at 37% are successively added to the ground in the ratio (HNO₃ / HCL1/3). Another Teflon tube containing double distilled water is used as a blank (neutral control of the elements to be searched or treated). To this white tube, the same reagents that were used for the digestion of the matrix are added in the same frame. The Teflons are brought to a water bath for 1 hour (1H) at a temperature of 90 ° C for the digestion of the contents. Teflon tubes are removed and placed on the bench for cooling. Thirty minutes (30) later, a 5-minute decompression is made under the hood by opening the Teflons to let the gas escape. After cooling, the mixture is filtered into a 100 ml volumetric flask and supplemented with double-distilled water to the mark and then homogenized by manual stirring. The solutions obtained after mineralization are transferred to a clean tube bearing the references of the samples and stored at 4°C until analysis.

2.6 Quantification of Metallic Trace Elements

The detection of metallic trace elements was done using graphite furnace atomic absorption spectrophotometer, controlled by LC solution software equipped with a non-specific background corrector (Deuterium lamp), an automatic sample changer.

Calibration was done before preparing standard solutions for each metal with increasing concentrations of 10ug/l, 800ug/l, and 1500ug/l. The coefficient of determination of each element chosen is between 0.995 and 1. The metal contents in mg/kg (ppm) were obtained from the concentrations read directly from the spectrometer,

2.7 Determination of Glyphosate Content Sample Preparation

First, 25 g of samples from each crushed organ are taken and weighed in a 50 ml conical tube. Then, demineralized water is added up to the 50 ml gauge, everything is stirred in the vortex for 3 min. The solution V₂ obtained is filtered into another conical tube of 50 ml. Finally, a corresponding volume of TAC (trichloroacetic acid or trichloroacetic acid) at 10% is added to V₂ up to the 50 ml gauge and then vortexed for 3 min all filtered in another conical tube graduated 50 ml to obtain the volume V₃.

2.8 Sample Preparation for Quantification

Has 1 ml of diluted V3 solution; 1 ml of the tetraborate solution (5%) and 1 ml of the FMOC solution were added in order. The solution obtained is stirred for 1 hour away from light, at room temperature, then centrifuged at 4500 rpm for 5 min. The supernatant is collected in a vial and ready for detection and quantification at HPLC.

2.9 Statistical Analysis

The concentrations obtained were first subjected to the Shapiro-Wilk normality and homogeneity tests to verify their distribution and equality of variances. Next, ANOVA 1 followed by the post hoc test were used to compare the different means for parametric tests. For non-parametric tests, the Kruskal Wallis test followed by the Mann-wihtney test were applied to compare the different means. Differences were considered significant at the = 0,05 threshold ($p < 0,05$). Finally, these tests were performed using PAST4.11 software.

3. RESULTS SURVEY OF COCOA FARMERS ON HERBICIDE USE

Table 1 shows the herbicides used by cocoa farmers within one kilometre of the sampling site.

Table 1. List of herbicides used by the thirty cocoa farmers

Herbicides	Active substance
Glyphomax	
Glyphader	
Bonbara	
Ladaba	Glyphosate
Tasman	
Bibanan	
Red head	
The machete	

Glyphosate commonly referred to as "all burned" in the study area is the active substance used by cocoa farmers at the sampling site.

3.1 Determination of Heavy Metals and Glyphosate in the Cephalopod, Viscera and shell of the Snail Species *Achatina achatina*

Pollutants are present in the cephalopod, viscera and shell of *A. achatina* collected in the Nawa region (Figs. 2, 3, 4, 5 and 6). Lead content ranged from $0,27 \pm 0,02$ mg/kg (cephalopod) to $0,64 \pm 0,27$ mg/kg (shell). The concentration of lead in the shell of the snail is much higher than those found in the cephalopod and in the viscera. The Man-wihtney test shows a difference in concentration

between the shell and the viscera and then between the shell and the cephalopod. The concentration of cadmium in the different parts of the snail varies from $0,10 \pm 0,07$ mg/kg obtained in the shell to $0,14 \pm 0,07$ mg/kg recorded in the viscera. The mean value obtained in the cephalopod is $0,13 \pm 0,06$ mg/kg. The viscera and cephalopod appear to accumulate more cadmium than the snail's shell. However, the Kruskal Wallis test shows no significant difference in cadmium concentrations between the three parties. In terms of zinc, the content in the shell varies from $0,73 \pm 0,18$ mg/kg in the cephalopod to $1,16 \pm 0,62$ mg/kg in the shell. The Kruskal Wallis test reveals a difference in zinc concentration between the three (3) parts of the snail. For copper, the concentration measured in different parts of the snail ranged from $0,19 \pm 0,18$ mg/kg in the cephalopod to $0,45 \pm 0,33$ mg/kg in the shell. The copper content in the shell of the snail *Achatina achatina* is higher than that obtained in the cephalopod and viscera. However, the Kruskal Wallis test did not reveal any significant differences in copper concentration between the three parts. As for glyphosate, the recorded value varies from $0,07 \pm 0,03$ (mg/kg) in the shell to $1,03 \pm 0,1$ mg/kg in the cephalopod. It appears that glyphosate accumulates more in the cephalopod and viscera than in the shell. Statistical analysis revealed a significant difference between the glyphosate content in the shell and that of the cephalopod and viscera.

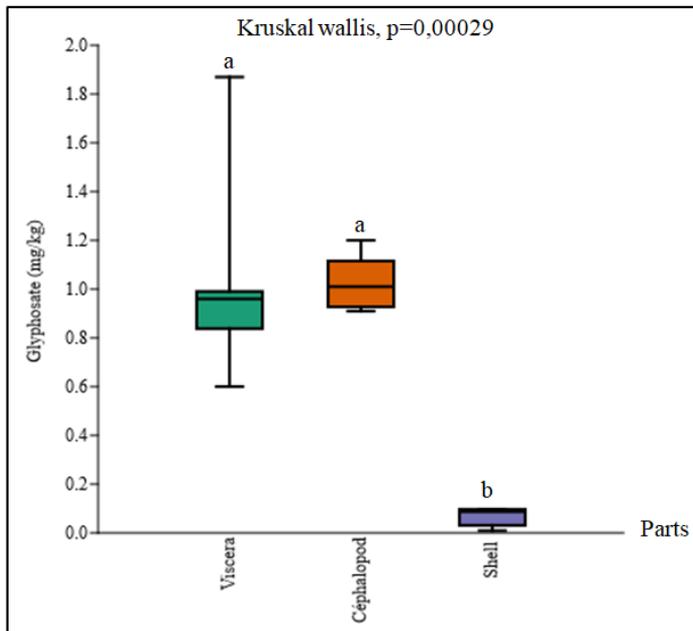


Fig. 2. Concentration of glyphosate in different parts of the *A. achatina* snail

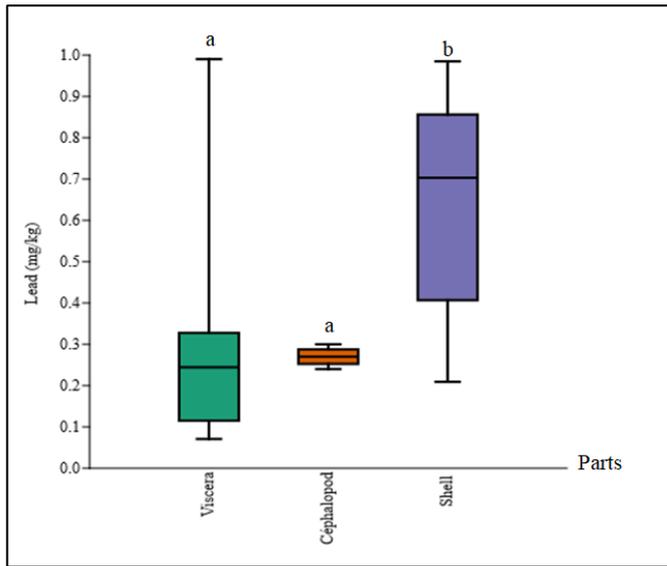


Fig. 3. Lead concentration in different parts of the *A. achatina* snail

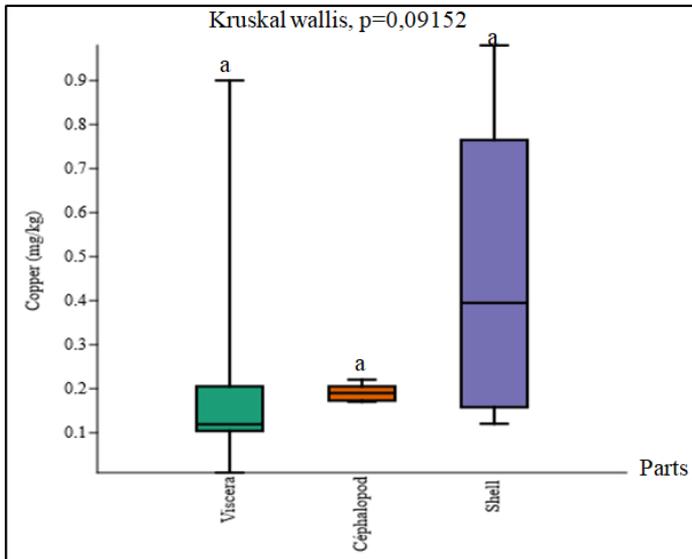


Fig. 4. Copper concentration in different parts of the *A. achatina* snail

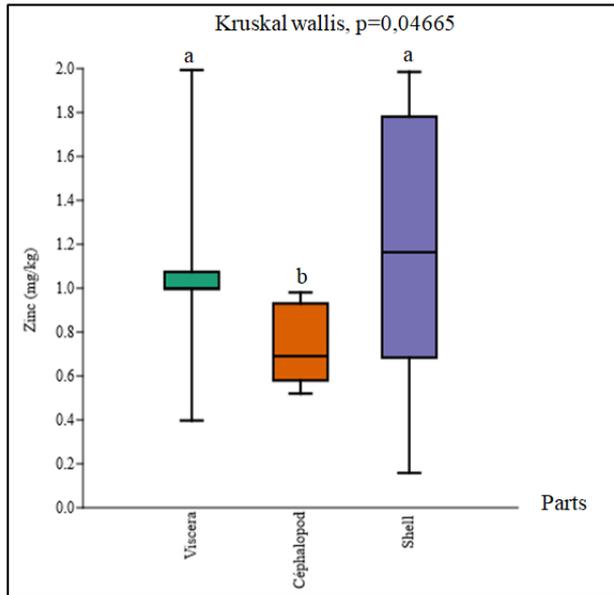


Fig. 5. Zinc concentration in different parts of the *A. achatina* snail

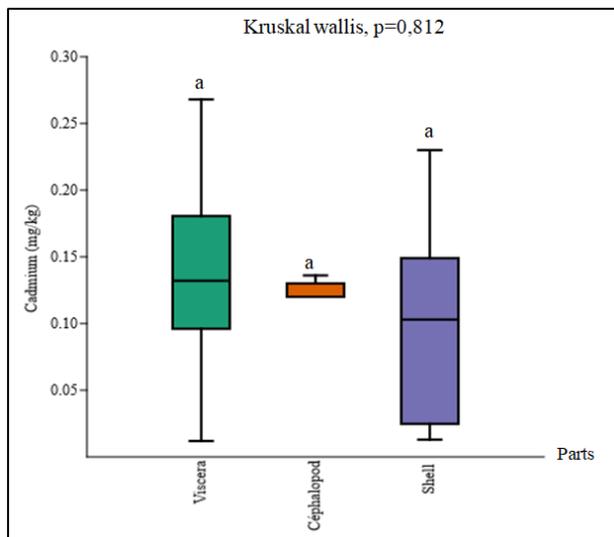


Fig. 6. Cadmium concentration in different parts of the *A. achatina* snail

Table 2. Descriptive statistics of heavy metal and glyphosate levels in three compartments of *Achatina achatina*

Compartments	Metals	Min	1st quartile	Median	3rd quartile	Max	Avg
Viscera	Pb	0,07	0,14	0,24	0,33	0,99	0,31
	With	0,01	0,11	0,12	0,20	0,90	0,22
	Cd	0,01	0,10	0,13	0,17	0,27	0,14
	Zn	0,40	0,86	0,96	0,99	1,99	1,06
	Gly	0,60				1,87	1,01
Cephalopod	Pb	0,24	0,26	0,27	0,29	0,30	0,27
	With	0,17	0,18	0,19	0,20	0,22	0,19
	Cd	0,12	0,12	0,13	0,13	0,14	0,13
	Zn	0,52	0,58	0,69	0,90	0,98	0,73
	Gly	0,91	0,95	1,01	1,11	1,20	1,03
Shell	Pb	0,21	0,43	0,70	0,83	0,99	0,64
	With	0,12	0,17	0,40	0,69	0,98	0,45
	Cd	0,01	0,03	0,10	0,15	0,23	0,10
	Zn	0,16	0,73	1,17	1,65	1,99	1,16
	Gly	0,01	0,04	0,09	0,10	0,10	0,07

Pb: Lead; Cu: copper; Cd: Cadmium; Zn: Zinc; Gly: Glyphosate; Min: minimum; Max: maximum and average: medium

4. DISCUSSION

Heavy metals and glyphosate accumulate in different parts of snails, especially in the species *Achatina achatina*. Glyphosate and cadmium appear to accumulate more in the cephalopod and viscera than in the shell. In contrast, lead, copper and zinc accumulate more in the shell. The high concentration of glyphosate in the cephalopod and viscera could be explained by the interactions between this animal and its living environment. Indeed, this macro-invertebrate lives at the soil-plant-air interface [21]. Pourtant, les herbes ont une grande capacité à accumuler les polluants [22].

It is both phytophagous, detritivorous and ingests the soil on which it moves and lays eggs. Thus, it is confronted with several routes of exposure to metallic trace elements and pesticides: digestive, cutaneous, and respiratory tract. However, our samples are taken from cocoa orchards where the sampling site and the first twenty-nine direct neighbours use only glyphosate weedkiller. It is therefore right that, direct contact with the soil and the treated flora makes the cephalopod and viscera, a privileged site of storage of glyphosate. Like heavy metals, glyphosate may be absorbed by the skin epithelium [23]. Or, they often end up being stored in the hepatopancreas, sometimes after passing through several tissues. Surrounding cells such as those of the kidney are responsible for the absorption, phagocytosis, accumulation and excretion of pollutants during digestion processes [1].

Kruskal Wallis's test shows that there is no significant difference between cadmium and lead concentrations in the three parts of *Achatina achatina*. On the other hand, the concentration of Pb recorded in the shell is twice as high as the concentrations recorded in the viscera and cephalopod. These results are contrary to those obtained by Dallinger & Wieser 1984, Gomot [24]. Indeed, these authors support the thesis that in all mollusc species studied to date, hepatopancreas systematically contains the highest concentrations of Cd, Pb and Zn. Moreover, these results are opposite to those obtained by Cook et al. [25]. According to them, snail shells do not appear to be an important storage site for MTEs. During their work they obtained concentrations of Cd and Zn of the order of 1 mg.g^{-1} in the shells of *Helix aspersa* taken from highly contaminated areas.

Zinc, on the other hand, is one of the essential trace elements for all living organisms. For most taxonomic groups of invertebrates in terms of MTE bioaccumulation, concentrations of Cd, Cu and Pb increase with increasing concentrations in soils, while Zn concentrations, which are generally regulated, are independent of those in soil [26]. The presence of zinc in the *A. achatina* snail may be related to the forest canopy of the sampling site, as vegetation is one of the main sources of this chemical element in the environment according to studies conducted by Horowitz [27].

The copper concentration in the shell is twice that recorded in the viscera and cephalopod. The shell is therefore the main copper storage organ. The statistically equal copper concentrations observed in the three parts of *A. achatina* can be explained by its essential role as a constituent of hemocyanin, the respiratory pigment of terrestrial molluscs [1].

Kruskal Wallis's test performed on chemical parameters revealed that all three parties statically concentrate the same amounts of pollutants in all three parts except lead and glyphosate. This equal distribution could be explained by soil exposure to various sources of pollution [28]. Also, the samples were collected on agricultural land characterized by a high use of phytosanitary products (fungicides, insecticides and herbicides) which would explain the high concentrations of these chemical elements in the three parts of the snail *Achatina achatina*. These chemical molecules can contain several toxic metals such as Cu, Cd, and Zn and can therefore contribute to soil contamination [29].

5. CONCLUSION

The *Achatina achatina* snails collected in Allakabo in the locality of Soubré accumulate certain chemical pollutants such as copper, lead, zinc, cadmium and glyphosate. The cephalopod and viscera are the main storage sites for glyphosate and cadmium. As for the shell, it is the place of accumulation of lead, copper and zinc. Contamination of the snail with heavy metals and glyphosate would certainly cause adverse effects on human health and the environment. The risk of exposure from the consumption of *Achatina achatina* was not considered in this study.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

1. Grara N, Boucenna M, Atalia A, Berrebba H, Djebbar MR. Etude expérimentale de la bioaccumulation des éléments traces métalliques Cd, Cu, Zn et Pb chez l'escargot *Helix aspersa*. Bulletin de l'institut scientifique, 2012;34(2):183-187.
2. Le Bras GJ. Ecotoxicologie et méthodes d'investigation « les bio-indicateurs ». version 2.0, ISA & Université Catholique de Lille. 2007;91.
3. Louzon M, Zahn S, Capelli N, Massemin S, Coeurdassier M, Pauget B, Gimbert F, de Vaufleury A. Impact of ageing and soil contaminants on telomere length in the land snail. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2020;201:110766.
DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110766
4. Rajeshkumar S, Liu Y, Zhang X, Ravikumar B, Bai G, Li X. Studies on seasonal pollution of heavy metals in water, sediment, fish and oyster from the Meiliang Bay of Taihu Lake in China, *Chemosphere*. 2017;191:626–638.
5. Alengebawy A, Abdelkhalek ST, Qureshi SR, Wang MQ. Heavy metals and pesticides toxicity in agricultural soil and plants: Ecological risks and human health implications. *Toxics*, 2021;9:42. [Google Scholar] [CrossRef]
6. EFMA European Fertilizer Manufacturers Association, EFMA; 2023. Available:<https://www.fertilizerseurope.com> (Accessed on 21 March 2023).
7. Ouyang W, Wang Y, Lin C, He M, Hao F, Liu H, Zhu W. Heavy metal loss from agricultural watershed to aquatic system: A scientometrics review. *Science of The Total Environment*. 2018;637(2018):208-220.
DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.04.434
8. Oguh C, Egwu, Ugwu C. Victor, Uzoefuna CC, Usman SN, CC, Amanabo M. Toxicity Impact on Bioaccumulation of Potentially Toxic Elements in African Giant Land Snail (*Archachatina marginata*) treated with different soils and Its Ecological Risk Assessment. *Asian Journal of Research in Biochemistry*. 2019;4(4):1-15.
DOI: <http://dx.doi.org/10.9734/AJRB/2019/v4i430077>.
9. Tripathi S, Poluri KM. Heavy metal detoxification mechanisms by microalgae: insights from transcriptomics analysis *Environ. Pollut*; 2021.
DOI: 10.1016/j.envpol.2021.117443
10. Nwachukwu JN, Ubani CS, Osuji CA. Biomarkers in *Achatina achatina* as ecological risk assessment models of mining activities. *Research Journal of Environmental Toxicology*. 2018;12:63-72.
11. Naccarato A, Vommaro ML, Amico D, Sprovieri F, Pirrone N, Tagarelli A, Giglio A. Triazine Herbicide and NPK Fertilizer Exposure: Accumulation of Heavy Metals and Rare Earth Elements, Effects on Cuticle Melanization,

- and Immunocompetence in the Model Species *Tenebrio molitor*. *Toxics*. 2023;11:499.
Available:<https://doi.org/10.3390/toxics11060499>
12. Sodjinou E, Biao G, Codjia JC. Caractérisation du marché des escargots géants africains (achatines) dans les départements de l'Atlantique et du Littoral au SudBénin. *Tropicultura*. 2002;20(2):83-88.
 13. Sika Piba NA, Karamoko M, Adou CFD, Otchoumou A, Kouassi KP. Effet du régime et de la teneur en protéines brutes alimentaires sur le rendement en viande de l'escargot *Achatina fulica* (Bowdich, 1720). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 2014;8(5):2296-2305.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v8i5.31>
 14. Bouye TR, Ocho-Anin AAL, Karamoko M, Otchoumou A. Étude de la croissance d'un escargot géant africain comestible: *Achatina achatina* (Linné, 1758), élevé sur du substrat amendé à la poudre de coquilles d'escargot. *Journal of Applied Biosciences*. 2017;109:10630-10639.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4314/jab.v109i1.7>
 15. Cobbinah JC, Adri V, Ben O. L'élevage d'escargots: Production, transformation et commercialisation. Première édition, Wageningen, (Pays-Bas). 2008;84.
 16. Otchoumou A. Effet de la teneur en calcium d'aliments composés et de la photopériode sur les performances biologiques chez trois espèces d'escargots Achatinidae de Côte d'Ivoire élevées en bâtiment. Thèse de Doctorat d'Etat ES-Sciences Naturelles en Biologie et Ecologie Animales, Université d'Abobo Adjamé, Abidjan, Côte d'Ivoire. 2005;171 .
 17. Baroudi F, Al Alam J, Faljoun Z, Millet M. Snail as sentinel organism for monitoring the environmental pollution; ecological indicators. 2020;113:106240.
Available:<https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.106240>
 18. Radwan MA, El-Gendy KS, Gad AF. Biomarker responses in terrestrial gastropods exposed to pollutants: A comprehensive review. *Chemosphere*. 2020;257:127218.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127218>
 19. Chukwujindu I, Eguavoen S, Arimoro FO. Heavy metal content in the African giant snail *Archachatina marginata* (Swainson, 1821) (Gastropoda: Pulmonata: Achatinidae) in southern Nigeria. *Folia Malacologia*. 2009;16(1):31-34
 20. AOAC. Official method 999. Lead, cadmium, zinc, copper and iron in foods; 2003.
 21. Nica DV, Bura M, Gergen I, Harmanescu M, Bordean DM. Bioaccumulative and conchological assessment of heavy metal transfer in a soil-plant-snail food chain. *Chemistry Central Journal*. 2012;6(5):1-15.
 22. Kwenda F, Nhiwatiwa T, Gumindoga W. An analysis of heavy metal contamination in vegetables and herbs growing in water hyacinth manure, case of Lake Chivero. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*. 2023 Jul 4;103437.
 23. Van Straalen NM, Van Gestel CAM. Soil invertebrates and micro-organisms. In: *Handbook of Ecotoxicology*. Calow P. (Eds). 1998;251-277.

24. Gomot A. Biochemical composition of Helix snails: Influence of genetic and physiological factors. *Journal of Molluscan Studies*. 1998;64:173-181.
25. Cooke M, Jackson A, Nickless G, Roberts DJ. Distribution and speciation of cadmium in the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Bulletin. Environmental. Contamination. Toxicology*. 1979;23:445-451.
26. Heikens A, Peijnenburg W, Hendriks AJ. Bioaccumulation of heavy metals in terrestrial invertebrates. *Environmental Pollution*. 2001;113:385-393.
27. Horowitz A. A primer on Trace Metal Sediment Chemistry. United States Geological Survey, USA. 1985;62.
28. Modrzewska B, Wyszowski M. Trace metals content in soils along the state road 51(northeastern Poland). *Environmental Monitoring Assessment*. 2014;186:2589–2597.
29. He ZL, Yang XE, Stoffella PJ. Trace elements in agroecosystems and impacts. *Journal of Trace Element in Medicine and Biology*. 2005;19(3):125-140.

Biography of author(s)



O. N'guessan

Laboratoire Biodiversité et Ecologie Tropicale (BioEcoTrop), UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire.

He is a fourth-year doctoral student. He is conducting his research on a topic for which he is the first student at the university (Jean Lorougnon Guédé), and indeed in the country to work on such a subject. The results of his work will provide the Laboratoire de Biodiversité et 'Ecologie Tropicale (BioEcoTrop) with the first databases on the bioaccumulation of heavy metals and glyphosate by snails.



D. Kouassi

Laboratoire Biodiversité et Ecologie Tropicale (BioEcoTrop), UFR Environnement, Université Jean Lorougnon Guédé, Daloa, Côte d'Ivoire.

He is a lecturer at the Université Jean Lorougnon GUEDE. His research has shown that snails of the species *Achatina achatina*, *Achatina fulica* and *Archachatina ventricosa* experimentally consume a varied range of plants, the most important of which are *Laportea astuans*, *Cecropia peltata*, *Phaulopsis falcisepala* and *Palisota hirsuta*. However, snails are best reared on a diet of calcium-rich flour. Substrates rich in organic matter are ideal for good growth. On the other hand, substrates rich in limestone are more conducive to reproduction. As for *Archachatina ventricosa*, the rearing substrate has an influence on its growth and reproduction. His ongoing work is focusing on the biodiversity of molluscs, coupled with that of systematics, and will lead to the conservation of species of edible molluscs and molluscs of economic interest that are threatened with extinction. His area of research mainly focused on Malacologie. He has published 27 research articles in several reputed journals.

© Copyright (2023): Author(s). The licensee is the publisher (B P International).

DISCLAIMER

This chapter is an extended version of the article published by the same author(s) in the following journal. *Agronomie Africaine*, 34(1): 93-100, 2022. Available: <https://www.ajol.info/index.php/aga/article/view/228055>

Peer-Review History:

This chapter was reviewed by following the Advanced Open Peer Review policy. This chapter was thoroughly checked to prevent plagiarism. As per editorial policy, a minimum of two peer-reviewers reviewed the manuscript. After review and revision of the manuscript, the Book Editor approved the manuscript for final publication. Peer review comments, comments of the editor(s), etc. are available here: <https://peerreviewarchive.com/review-history/11125F>

Résumé

Aujourd'hui, la main d'œuvre se fait rare ou lorsqu'elle existe, elle revient très chère : d'où l'utilisation incontrôlée des produits phytosanitaires perturbant le biotope de certaines espèces singulièrement les escargots géants d'Afrique. Pourtant ces escargots sont très prisés par les populations Africaines et celles de la Côte d'Ivoire en particulier. L'objectif général de cette étude est une évaluation de la contamination des escargots par les éléments métalliques et les produits phytosanitaires. Des bacs de 1m² ont été utilisés pour évaluer l'effet du glyphosate sur la croissance coquillère et pondérale des escargots. Les feuilles de laitue étaient trempées dans des solutions de glyphosate à différentes dose (D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ et D₁₄) de dilution. Les animaux ont été nourris tous les six jours avec des feuilles de laitue contaminées. Mais tous les deux jours, de la laitue fraîche sans glyphosate a été proposée. Les mesures pondérales et coquillères sont prises chaque quinzaine. Les méthodes analytiques utilisées pour la détermination des métaux lourds et du glyphosate dans les échantillons d'*Achatina achatina* sont respectivement la spectrophotométrie d'absorption atomique et le GC-MS aligné triple quadripôle. Les résultats montrent qu'à l'exception des escargots témoins (D₀) ; ceux soumis à différentes doses de dilutions ont enregistré une croissance négligeable et une régression pondérale chez les deux espèces. Quant aux dosages des polluants, les résultats ont révélé que c'est dans la coquille où s'accumulent plus le plomb (0,64 mg/kg), le cuivre (0,45 mg/kg) et le zinc (1,165 mg/kg). En revanche, le glyphosate et le cadmium s'acculent plus dans le céphalopode (1,03 et 0,13 mg/kg respectivement) et dans les viscères (1,01 et 0,14 mg/kg respectivement). Les taux de glyphosate, de cuivre et de plomb dans le céphalopode des escargots *A. Achatina* sont inversement proportionnels à l'élévation de la température. Quant au cadmium et au zinc, les teneurs augmentent dans le céphalopode avec l'élévation de la température. Le temps de cuisson ne semble pas avoir d'effet sur la réduction des teneurs des métaux lourds analysés. En revanche, la teneur en glyphosate dans le céphalopode des escargots diminue avec le temps de cuisson. Le cuivre, le zinc, le plomb et le glyphosate ne présentent aucun danger pour les consommateurs d'escargots *A. achatina*. Seul le cadmium présente un risque sanitaire pour tout consommateur, les enfants étant les plus exposés. A terme, les présents travaux permettront d'attirer l'attention des décideurs sur les mesures visant à protéger les populations par l'usage incontrôlé des pps d'une part et d'autre part sur la limitation ou non de la consommation des escargot ramassés sous les vergers des plantations de cultures pérennes.

Mots clés : produits phytosanitaires, escargots géants, bioaccumulation, gastéropodes

Abstract

Today, labor is scarce or, when it exists, very expensive: hence the uncontrolled use of phytosanitary products, disrupting the biotope of certain species, particularly the giant African snails. Yet these snails are highly prized by African populations, particularly in Côte d'Ivoire. The general aim of this study was to assess the contamination of snails by metallic elements and phytosanitary products. 1m² tanks were used to assess the effect of glyphosate on the shell and weight growth of snails. Lettuce leaves were soaked in glyphosate solutions at different dilution rates (D₀, D₄, D₆, D₈, D₁₀, D₁₂ and D₁₄). The animals were fed contaminated lettuce leaves every six days. Every other day, however, glyphosate-free fresh lettuce was offered. Weight and shell measurements were taken every two weeks. The analytical methods used to determine heavy metals and glyphosate in *Achatina achatina* samples were atomic absorption spectrophotometry and GC-MS triple quadrupole alignment respectively. The results show that, with the exception of control snails (D₀), those subjected to different dilution doses showed negligible growth and weight regression in both species. As for pollutant dosing, the results revealed that lead (0,4 mg/kg), copper (0,45 mg/kg) and zinc (1,165 mg/kg) accumulated most in the shell. On the other hand, glyphosate and cadmium accumulate more in the cephalopod (1,03 and 0,13 mg/kg respectively) and in the viscera (1,01 and 0,14 mg/kg respectively). Glyphosate, copper and lead levels in the cephalopods of *A. Achatina* snails were inversely proportional to temperature rise. Cadmium and zinc levels in cephalopods increased with rising temperature. Cooking time does not appear to have any effect on the reduction in the levels of the heavy metals analyzed. On the other hand, glyphosate levels in snail cephalopods decreased with cooking time. Copper, zinc, lead and glyphosate present no danger to consumers of *A. achatina* snails. Only cadmium presents a health risk for all consumers, with children being the most exposed. Ultimately, this work will help to draw the attention of decision-makers to measures aimed at protecting populations from the uncontrolled use of PPS on the one hand, and on the other, to whether or not to restrict the consumption of snails collected from under the orchards of perennial crop plantations.

Keys words: phytosanitary products, giant snails, bioaccumulation, gastropods