

**EFFET DE CONCENTRATIONS DE TROIS CHAMPIGNONS
(*FUSARIUM OXYSPORUM*, *TRICHODERMA* SP. ET *PHOMA* SP.)
SUR LE TAUX D'ÉCLOSION DES ŒUFS DE L'ESCARGOT
ACHATINA FULICA (BOWDICH, 1820) EN ÉLEVAGE**

Isabelle BEUGRE^{1, 2*} et Kouassi ALLOU²

¹ *Université Nangui Abrogoua, UFR-SN,
02 BP 801 Abidjan 02, Côte d'Ivoire*

² *Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), Station de recherche
Marc Delorme, Laboratoire de Défense des cultures sur le programme
cocotier, 07 BP 13 Abidjan 07, Côte d'Ivoire*

* Correspondance, e-mail : *isabelle.bn1@gmail.com*

RÉSUMÉ

Quatorze escargots de l'espèce *Achatina fulica* ont été mis en élevage cinq mois dans deux bacs. Ces escargots avaient un poids moyen de $63,66 \pm 1$ g et une longueur de coquille de $8,4 \pm 0,3$ cm pour un âge approximatif de 9 mois. Les bacs ont été remplis d'une litière d'élevage composée de sol brun et de sol sableux (sol de lagune). Les pontes recueillies ont été mises à incuber sur le substrat sciure de bois inoculé auparavant par trois différentes concentrations (10^3 , 10^4 et 10^5 spores/mL) de trois champignons (*Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp. et *Phoma* sp.). Au terme de cette période d'incubation, le nombre de naissains a été compté et le taux d'éclosion des œufs a été estimé. Les résultats ont montré que *Phoma* sp. n'a pas eu d'effet sur le taux d'éclosion des œufs aux trois concentrations. Les espèces *Trichoderma* sp. et *Fusarium oxysporum* n'ont pas eu d'effet à 10^3 spores/mL. Par contre, ces espèces ont eu un effet pathogène aux concentrations de 10^4 et 10^5 spores/mL.

Mots-clés : *Achatina achatina, champignons, concentration, naissains, œufs, substrat d'incubation.*

ABSTRACT

Effect of concentrations of three mushrooms (*Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp. and *Phoma* sp.) on the rate of eggs hatching of the snail *Achatina fulica* (Bowdich, 1820) in breeding

Fourteen snails of *Achatina fulica* species were bred during five months in two vats. These snails had average live weight of 63.66 ± 1 g with an average length of 8.4 ± 0.3 cm of approximate age 9 months. They were bred on litter which is composed of a mixture of brown soil and sandy soil (lagoon soil). The detected laying were incubated on sawdust substrate inoculated by three different concentrations (10^3 , 10^4 and 10^5 spores/mL) of three fungi (*Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp. and *Phoma* sp.). At the end of period of incubation, the number of seed oysters was counted and the rate of eggs hatching was estimated. Results showed that *Phoma* sp. had no effect on the rate of eggs hatching at these three concentrations. Both *Trichoderma* sp. and *Fusarium oxysporum* species had also no effect at 10^3 spores /mL. But both species had an effect at 10^4 and 10^5 spores /mL.

Keywords : *Achatina fulica*, concentration, eggs, fungi, incubation substrate, seedoysters

I - INTRODUCTION

Les mollusques sont des invertébrés, à corps mou et souvent recouvert d'une coquille. L'embranchement des mollusques se divise en 6 grandes classes dont les plus actuelles sont les Gastéropodes, les Bivalves et les Céphalopodes. La plupart des mollusques sont aquatiques mais il existe des mollusques terrestres notamment les limaces et les escargots. Ces derniers ont une chair très savoureuse et fournissent à l'homme des acides aminés essentiels comme la lysine, des protéines, du calcium et du fer [1,2]. Cependant, la pression de braconnage liée à la commercialisation à grande échelle des escargots, la destruction de leur habitat et l'urbanisation très poussée et incontrôlée entraînent la disparition progressive de ces animaux. Aussi, l'existence des microorganismes pathogènes tels que les champignons dans les enceintes d'élevage et des substrats d'incubation menacent l'éclosion des œufs. Les conditions de vie favorables au développement des escargots exigent : la préservation de leur biotope et la vulgarisation de leur élevage par la mise au point de techniques d'élevages performantes permettant la production d'escargots.

Cela pourrait non seulement constituer un moyen d'entrée de devises, de satisfaction des besoins des consommateurs, mais surtout de contribution à la lutte contre l'épuisement des stocks naturels d'escargots dans le contexte d'une gestion durable de la biodiversité pour les générations futures. Une population d'escargots en constante évolution est liée à la fois au taux d'éclosion et au nombre d'œufs pondus. *Achatina fulica* pond beaucoup d'œufs, mais le taux d'éclosion est faible par rapport au nombre d'œufs pondus. Le but du travail est d'identifier lequel ou lesquels de ces champignons réduisent le plus le taux d'éclosion des œufs de *Achatina fulica*.

II - MATÉRIEL ET MÉTHODES

II-1. Matériel biologique

Les champignons microscopiques, *Fusarium oxysporum*, *Phoma sp.*, et *Trichoderma sp.* utilisés dans cette étude ont été obtenus à partir de la litière d'élevage des escargots et des substrats d'incubation d'œufs de l'escargot *Achatina fulica* par les travaux [3]. Quatorze escargots (*Achatina fulica*) matures ont été collectés dans les plantations expérimentales de l'Université Nangui Abrogoua (ex Université Abobo Adjame) pour cette étude. Leur poids moyen est de 63,66 g avec une longueur moyenne de coquille de 8,4 cm. L'orifice génital de ces animaux présentent une légère saillie de couleur blanchâtre signe de leur maturité sexuelle [4]. Ces escargots matures reproducteurs ont été répartis dans deux bacs d'élevage à raison de 7 escargots par bac soit à une densité de 50 escargots par m². Le dispositif d'élevage est rempli au ¼ d'une litière d'élevage stérile composée d'un mélange de sol noir de plantation plus du sable de construction à quantité égale. L'alimentation des escargots est composée de feuilles de papayer (*Carica papaya* : Caricaceae), de laitue (*Lactuca sativa* : Apiaceae), de choux (*Brassica oleracea* : Brassicaceae) et de feuilles de taro (*Xanthosoma mafaffa* : Araceae). Tous les deux jours, la nourriture est renouvelée, la litière débarrassée des déchets produits par les escargots et les pontes décelées sont délicatement prélevées à l'aide d'une cuillère en plastique et comptées.

II-2. Méthodes

II-2-1. Préparation de l'inoculum

Un inoculum de chaque champignon a été ensemencé sur milieu PDA solidifié en boîte de Pétri à raison de 3 boîtes par souche fongique.

Les souches de *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp. et *Phoma* sp. obtenues au bout d'une semaine de culture ont été utilisées pour inoculer la sciure de bois avant de recevoir les œufs d'escargot (*Achatina fulica*). La sciure de bois est constituée du mélange des espèces suivantes : Iroko (*Milicia excelsa* ou *Milicia rejia*), l'acajou (*Khaya ivorensis* ou *Khaya grandifoliola*) et le Samba (*Triplochiton scleroxylon*) [5]. Une portion de 2 cm² environ de surface de chaque culture de champignons a été raclée à l'aide d'une spatule métallique stérile. Cet inoculum a été ensuite mis dans de l'eau distillée stérile puis agité pendant 1 min pour obtenir une suspension de spores (solution mère). Une solution de dilution 10⁻¹ a été préparée et une goutte de cette solution a été observée au microscope optique à l'aide d'une lame de Malassez. Les spores ont été comptées dans 5 petits carreaux. Le nombre total de spores obtenues a permis de préparer les différentes concentrations (10³, 10⁴ et 10⁵ spores / mL) à partir de la formule de concentration des matières :

$$C_i V_i = C_f V_f \quad (1)$$

Avec : C_i = concentration initiale ; V_i = volume initial ; C_f = concentration finale ; V_f = volume final

L'inoculation du substrat consiste à disposés des tubes à essai contenant chacun un volume final de 10 mL (eau+inoculum) à raison de cinq tubes par pathogène. Les bacs d'incubation contenant la sciure de bois sont stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 30 min à 1 bar. La surface du substrat d'incubation est recouverte de ce volume et mélangé à l'aide d'une spatule stérilisée (à chaque champignon sa spatule). Une ouverture est faite dans le substrat humide et cinq échantillons d'œufs frais sont mis à incuber. Les enceintes témoins reçoivent le même nombre d'œufs et la même quantité d'eau (**Figure 1**). L'opération est effectuée sous une hotte. Après deux semaines d'incubation, le nombre de naissains est compté et le taux d'éclosion déterminé par la formule suivante :

$$TE (\%) = (NN/NO) \times 100 \quad (2)$$

Avec : NN : nombre de naissains ; NO : nombre d'œufs ; $TE(\%)$: taux d'éclosion en pourcentage

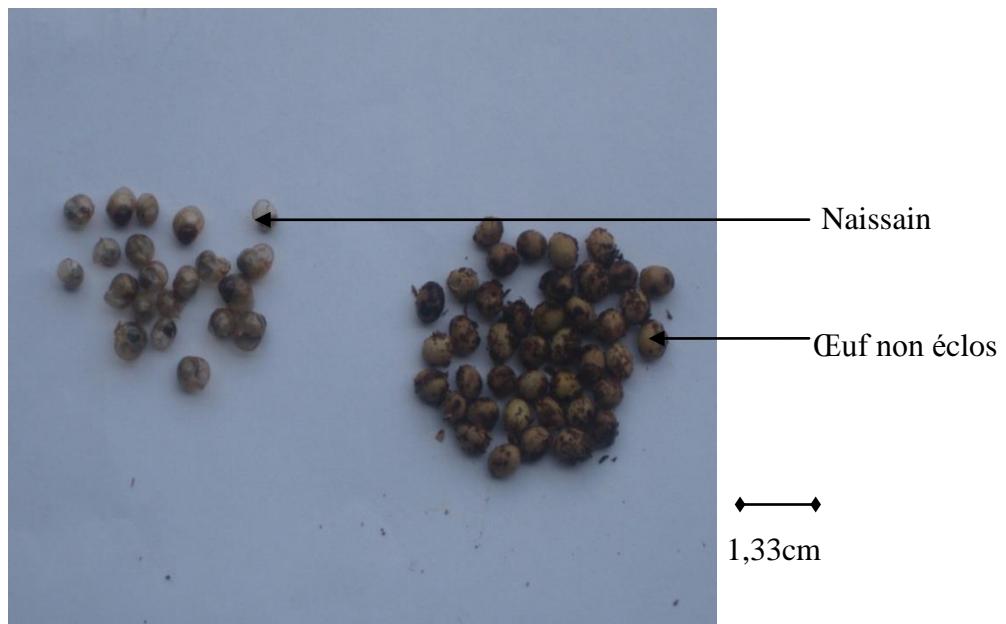


Figure 1 : Naissains et œufs non éclos après deux semaines d'incubation

II-2-2. Analyse statistique

Une analyse de variance à un critère de classification (ANOVA1) a été effectuée pour évaluer l'effet des champignons sur le taux d'éclosion des œufs d'escargots *Achatina fulica* à différentes concentrations grâce au logiciel Statistica version 7.1. Le test de Newman et Keuls a servi à classer les moyennes en cas de différence au seuil $\alpha = 0,05$.

III - RÉSULTATS

III-1. Inoculation avec les champignons à la concentration 10^3 spores/mL

Le taux d'éclosion moyen sur la sciure de bois en présence de *Fusarium oxysporum* est de 64 % et de 66 % pour les 2 autres espèces (*Trichoderma* sp. et *Phoma* sp.) quant au témoin, il est de 68 %. (**Figure 2**). L'analyse de l'effet des champignons à 10^3 spores/ml n'a pas été statiquement significative au seuil 5 % au cours de notre expérience ($p = 0.087$) avec le témoin.

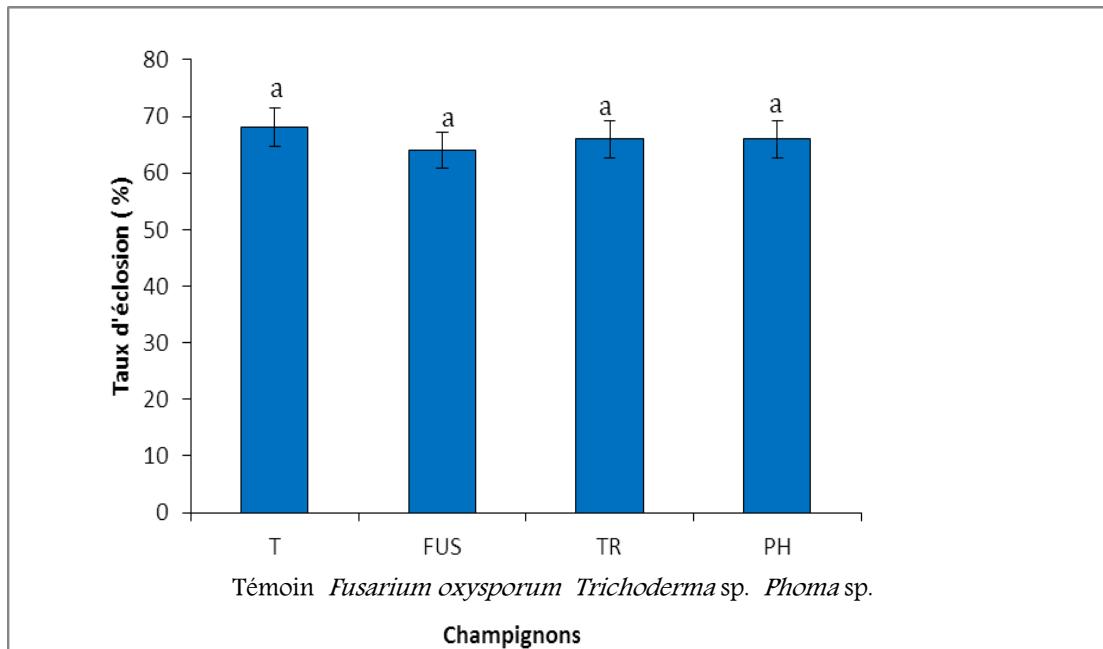


Figure 2 : Taux d'éclosion des œufs de *Achatina fulica* sur la sciure de bois contenant différents champignons à la concentration 10^3 spores/mL

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman-Keuls.

III-2. Inoculation avec les champignons à la concentration 10^4 spores/mL

Le taux d'éclosion moyen sur la sciure de bois en présence de *Fusarium oxysporum* est de 48 %, de 41 % pour *Trichoderma* sp. et de 73 % pour *Phoma* sp. Le taux d'éclosion sur le substrat sciure de bois témoin est de 69 %. L'analyse statistique de l'effet des champignons à cette concentration n'a pas montré une différence significative entre le taux d'éclosion de *Fusarium oxysporum* et de *Trichoderma* sp. Par contre, il y a une différence significative ($P = 0,000078 < 5\%$) entre ces 2 champignons et *Phoma* sp ainsi que le témoin. Néanmoins, il n'existe pas de différence significative entre le témoin et *Phoma* sp. (**Figure 3**).

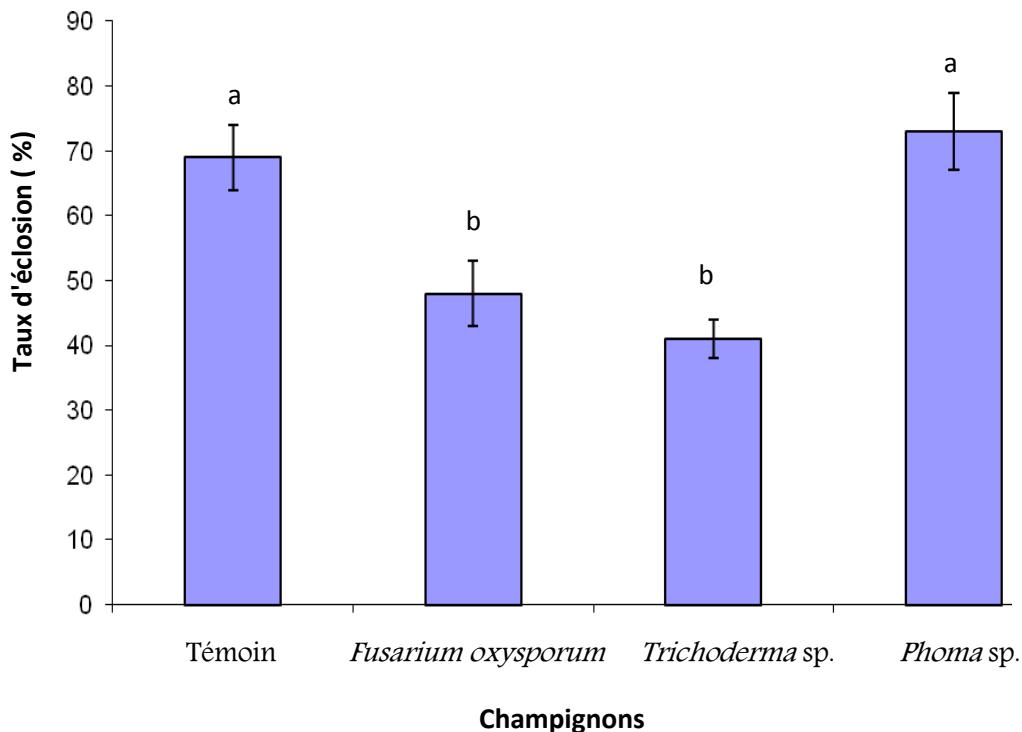


Figure 3 : Taux d'éclosion des œufs de *Achatina fulica* sur la sciure de bois contenant différents champignons à la concentration 10^4 spores/mL.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% selon le test de Newman-Keuls.

III-3. Inoculation avec les champignons à la concentration de 10^5 spores/mL

Le taux d'éclosion est de 8 % pour *Fusarium oxysporum* ainsi que pour *Trichoderma* sp. et de 32 % pour *Phoma* sp.. Quant au témoin, il est de 30 %. L'analyse statistique de l'effet des champignons à 10^5 spores/mL n'a pas montré de différence significative entre le taux d'éclosion de *Fusarium oxysporum* et celui de *Trichoderma* sp. Et aussi entre le témoin et *Phoma* sp.. Par contre, il y a une différence significative ($p = 0,000001 < 5\%$) entre les 2 précédents champignons et le témoin ainsi que celui de *Phoma* sp. (Figure 4).

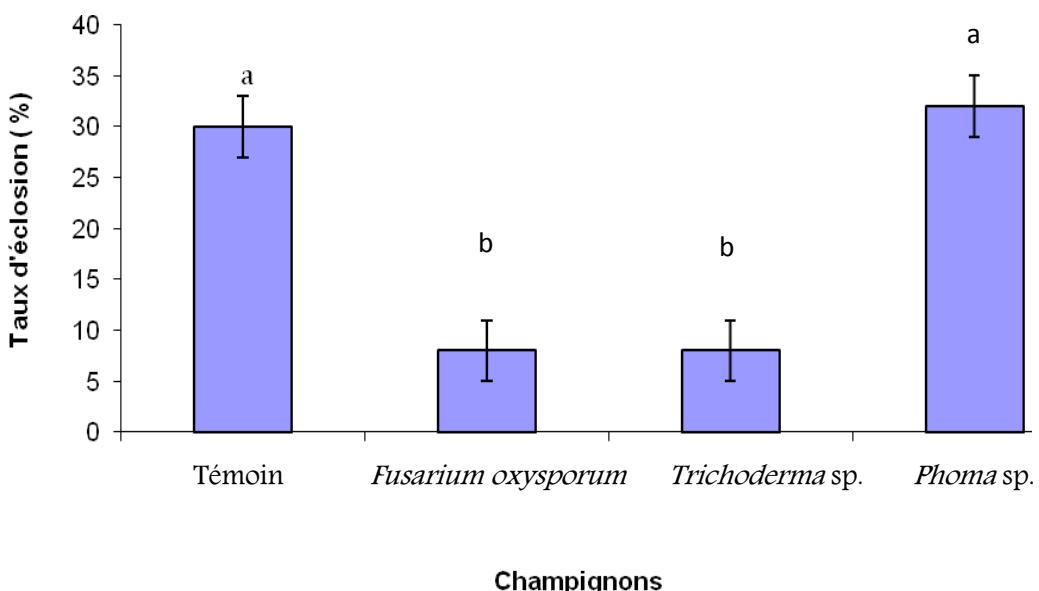


Figure 4 : Taux d'éclosion des œufs de *Achatina fulica* sur la sciure de bois contenant différents champignons à la concentration 10^5 spores/mL.

Les valeurs suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % selon le test de Newman-Keuls.

IV - DISCUSSION

Selon [6], le taux d'éclosion des œufs de *Achatina fulica* est meilleur sur la sciure de bois (90% en moyenne). La sciure de bois est un très bon conservateur d'humidité et assure une bonne aération qui empêche les œufs de sécher et de se briser. Le taux élevé d'éclosion des œufs de *Achatina fulica* à la concentration 10^3 spores/mL avec *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp et *Phoma* sp pourrait s'expliquer par le fait qu'à cette concentration, les champignons libèrent une faible dose de toxines dans la sciure de bois, ce qui ne change pas la structure de la sciure de bois. *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp. et *Phoma* sp. ne sont pas pathogènes aux œufs de l'escargot *Achatina fulica* à la concentration 10^3 spores/ml. Des travaux réalisés par [7] sur des poules pondeuses recevant une injection intraveineuse de 2 mg/kg ou orale de 2 mg/kg d'une mycotoxine : la fumonisine sécrétée par le genre *Fusarium*, ont montré que cette mycotoxine était transférée de façon limitée dans les coquilles, dans le jaune de l'œuf et dans l'albumine.

Ce bas taux de transfère suggère que l'homme n'est pas exposé à la consommation de ces aliments. Au niveau de la concentration 10^4 spores/mL, il existe un effet pathogène de *Fusarium oxysporum* et de *Trichoderma* sp. sur le taux d'éclosion des œufs de *Achatina fulica*. Par contre, *Phoma* sp. reste toujours moins pathogène par rapport à *Fusarium oxysporum* et *Trichoderma* sp., malgré l'augmentation de la concentration. Ce faible taux d'éclosion en présence de *Fusarium oxysporum* et de *Trichoderma* sp. pourrait être dû aux effets de ces champignons à cette concentration. Car ces deux champignons commencent à élaborer une dose plus importante de toxines. Nous pouvons dans ce cas dire que ces toxines auraient atteint un seuil de toxicité, ce qui explique la réduction du taux d'éclosion des œufs en leur présence. Pour ce qui est de *Phoma* sp., la dose de toxine élaborée serait la même qu'à la concentration précédente. Donc les toxines élaborées n'ont toujours pas atteint le seuil de toxicité à cette concentration.

Fusarium oxysporum et *Trichoderma* sp. sécrètent des toxines telles que les trichothécènes (déoxynivalenol, Toxine T-2), la zéaralénone, les fusarinines qui seraient pathogènes aux œufs de l'escargot *Achatina fulica*. *Fusarium oxysporum* parasite les embryons à partir d'œufs de *Achatina fulica* qui provoque la maladie appelée « Ponte rose » caractérisée par une modification de la coloration typiquement blanche d'une ponte saine. Il en résulte la dessiccation des œufs et la mort des embryons selon les travaux de [8]. Un examen histologique de ces œufs par [9] a montré que la présence de mycélium envahissant le chorion, le vitellus et parfois même l'embryon. Et aussi les travaux de [3] sur *Trichoderma* sp. a montré qu'il est pathogène lorsqu'il est incorporé à la sciure de bois stérilisé. Sur ce substrat, ce champignon se développe très vite car il possède une vitesse de croissance naturelle très importante. La sciure de bois favorise encore plus son développement parce que c'est un substrat qu'il affectionne. Ce qui démontre bien que la quantité de champignon *Trichoderma* sp. s'est vite multiplié pour inhiber le taux d'éclosion par dessèchement des œufs.

Pour ce qui est de la concentration 10^5 spores/mL, il ya aussi un effet pathogène de *Fusarium oxysporum* et de *Trichoderma* sp. sur le taux d'éclosion des œufs de l'escargot *Achatina fulica* comme dans la concentration précédente. Ce faible taux d'éclosion pourrait s'expliquer par le fait qu'à cette concentration *Fusarium oxysporum* et *Trichoderma* sp. libèrent toujours une dose très importante de toxine dans la sciure de bois. La dose de toxine élaborée par *Phoma* sp. reste toujours faible. *Fusarium oxysporum* et *Trichoderma* sp. seraient pathogènes aux œufs de l'escargot *Achatina fulica* à la concentration 10^5 spores/mL.

Ces deux champignons sécrètent les mêmes toxines la toxine T-2 comme à la concentration précédente qui pourraient avoir des effets sur les œufs. Selon [10,11] la toxine T-2 et ses métabolites sont transférés dans le jaune et le blanc de l'œuf. En fait, le développement embryonnaire dépend du dosage de la toxine. Quand les doses sont élevées, la toxine entre dans les œufs et les rend stérile. A la contamination inférieure de toxine, le développement embryonnaire commencera mais l'embryon mourra à un stade ultérieur du développement.

V – CONCLUSION

Cette étude a permis d'évaluer l'effet de *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* sp. et *Phoma* sp. à trois concentrations sur le taux d'éclosion des œufs de *Achatina fulica*. Le taux d'éclosion à 10^4 et 10^5 spores/mL a révélé que *Fusarium oxysporum* et *Trichoderma* sp. sont la cause du faible taux d'éclosion des œufs de l'escargot *Achatina fulica*. Ces champignons par contre ne le sont pas à 10^3 spores/mL. A partir de 10^4 spores/mL, ces 2 champignons ont atteint leur seuil de toxicité et donc leurs différents effets se font sentir au niveau du taux d'éclosion. Aussi, au fur et à mesure que la concentration augmente, ces 2 champignons deviennent plus pathogènes. Par contre *Phoma* sp. est le champignon presque non pathogène aux œufs de l'escargot *Achatina fulica* et cela à toutes les concentrations (10^3 spores/mL, 10^4 spores/mL et 10^5 spores/mL) comparé au témoin.

RÉFÉRENCES

- [1] – F. ABOUA et K. BOKA, Les escargots géants comestibles d'Afrique : quelques aspects physiques et préparation en Côte d'Ivoire. *Nature et Faune*, 12 (4) (1996) 2-9.
- [2] – C. STIEVENART et J. HARDOUIN, Manuel d'élevage des escargots Géants Africains sous les tropiques. Centre Technique de Coopération Agricole et Rurale (CTA) Pays-Bas, (1990) 38 p.
- [3] - J. K. DEDI, A. OTCHOUMOU, K. ALLOU, Incubation in vitro et in vivo d'œufs de *Achatina fulica*, Bowdich., 1820 en présence de souches pures de : *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Penicillium decumbens*, *Penicillium* sp., *Phoma* sp., *Trichoderma* sp. et *Mucor* sp. *Rev. Ivoir. Sci. Technol.*, 15 (2010) 177-186.

- [4] - J. M. ATEGBO, D. ZONGO et K. L. DRAMANE, Influence de la densité d'élevage sur les performances de la reproduction de l'escargot *Achatina achatina* (Linné). *Annales des sciences agronomiques du Benin*, (2) 1 (2000) 85-101.
- [5] - J. K. DEDI Inventaire et influence des champignons d'une litière d'élevage et de substrats sur la durée d'incubation et le taux d'éclosion des œufs de *Achatina fulica* Bowdich. Mémoire de DEA, Option : Biologie et protection des végétaux. Université d'Abobo-Adjame, (Côte d'Ivoire) (2007) 54 p.
- [6] - J. T. C. CODJIA et R. C. G. NOUMONVI. Les escargots géants. Guide technique d'élevage n°2, Bureau pour l'élevage et la distribution et l'information sur le mini élevage. (2002) 8 p.
- [7] - D. B. PRELUSKY, Residues in food products of animal. Ed mycotoxines in grain. St. Paul, MN. Eagan press, (1994) 405-420.
- [8] - M. J. MATEO, Les ennemis des escargots. Héliciculture à St Jory (31). Gireaud. 42 chemin de la plaine 31790 St Jory. Toulouse. (2006) 10 p.
- [9] - P. DEGEZ, Contribution à l'étude de la pathologie des pontes associée aux pontes anormales *Helix aspersa*. Thèse en Médécine vétérinaire. Lyon. (1992) 15 p.
- [10] - M. T. H. CHI, Quantifying quantitative analyses of verbal data : A practical guide. *Journal of the learning science*, 6(3) (1997) 271-315.
- [11] - R. J. WYATT, Neuroleptics and the natural course of schizophrenia. *Schizophrenia bulletin*, 17 (2) (1991) 325-351.