

Variation des allozymes en tant qu'outil de gestion des pêcheries de concombres de mer : l'exemple de *Holothuria scabra*

Sven Utichke¹ et John Benzie¹

Introduction

L'holothurie de sable *Holothuria (Metriatyla) scabra* est une des espèces qui présentent la plus forte valeur commerciale et, cependant, sa biologie et son écologie sont mal connues. Comme la plupart des holothuries aspidochirotés, elle se nourrit de sédiments, optant pour les substrats vaseux (Baskar, 1994) où elle choisit de fines particules riches en matière organique (Wiedemeyer, 1993). *Holothuria scabra* est une des rares espèces qui préfèrent les zones littorales aux récifs de corail (Conand, 1989) et elle y occupe souvent les herbiers intertidaux. Elle s'enfouit dans les sédiments pendant une partie de la journée (Wiedemeyer, 1993; James *et al.*, 1994). Sa reproduction est sexuée, par émission libre pendant la saison chaude dans l'hémisphère sud (Conand, 1989 et 1993a), bien qu'un pic secondaire de ponte ait été observé en juin à Moreton Bay, en Australie (Harriott, 1980). On dispose de quelques informations sur la taille des populations présentes dans les eaux du Territoire du Nord (Vail, 1989) et de Moreton Bay (Harriott, 1980) en Australie, de Papouasie-Nouvelle-Guinée (Shelley, 1981) et du détroit de Torres (Long *et al.*, 1996).

Les eaux côtières de l'État du Queensland abritent deux formes colorées de l'holothurie de sable. La première est presque entièrement noire, avec une surface ventrale gris foncé (dénommée ci-après holothurie de sable noire, figure 1). La seconde est d'une couleur crème sous le ventre alors que sa surface dorsale est d'un vert grisâtre, les plis de l'épiderme comportant des bandes noires (dénommée ci-après holothurie de sable grise, figure 1). Les descriptions générales de *H. scabra* correspondent à l'holothurie de sable grise (C. Conand, 1989; anonyme, 1994), alors que la forme noire pourrait être une des variétés colorées de *H. scabra var. versicolor*, comme le décrit Conand (1989) pour la Nouvelle-Calédonie. La portée des croisements entre les deux variétés n'est pas connue, et on

ne sait donc pas s'il convient de les traiter comme deux stocks distincts ou non.

Les zones profondes subtidales abritent également ces deux variétés d'holothurie de sable; elles y constituent une prise accessoire pour les chalutiers ciblant la crevette. Contrairement à ce qui se passe dans les zones de vase, les holothuries ne sont pas capturées à l'heure actuelle dans les eaux profondes. Lors d'une évaluation des stocks conduite dans le Territoire du Nord, Vail (1989) a observé que les animaux des herbiers de moins de 2 mètres de profondeur sont nettement plus petits que les animaux vivant à une plus grande profondeur, et suppose que les herbiers sont de véritables nourriceries pour les holothuries de sable.

Les allozymes sont utiles en tant que marqueurs permettant de décrire les flux génétiques entre populations d'holothuries (Uthicke *et al.*, 1998; Uthicke *et al.*, 1999). À l'aide de marqueurs génétiques allozymes mis au point dans cette étude pour une application à l'holothurie de sable, nous avons cherché, d'une part, à déterminer si les spécimens noirs et gris de *H. scabra* appartiennent à une seule espèce ou correspondent simplement à deux formes colorées distinctes et, d'autre part, à savoir si les populations profondes peuvent être une source de recrutement pour les zones intertidales.

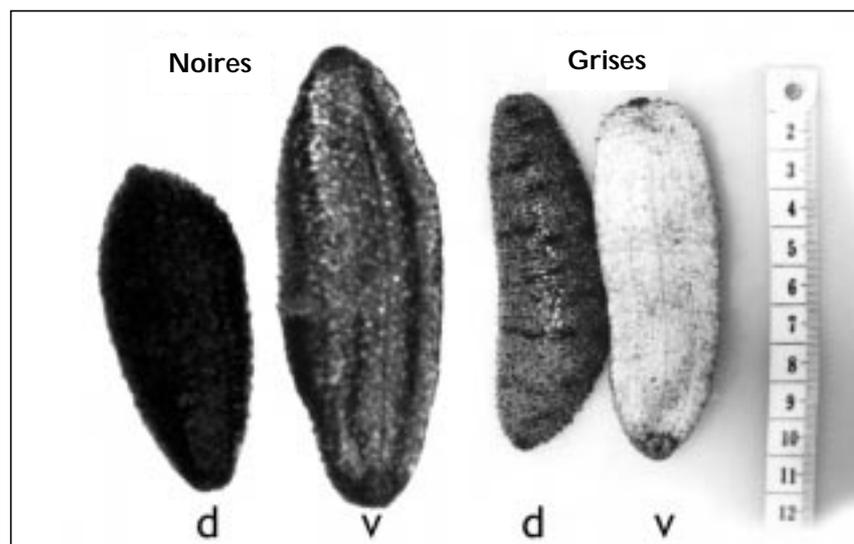


Figure 1 : Holothuries de sable noires et grises

1. Australian Institute of Marine Science -AIMS (Institut australien des sciences de la mer) - PMB N°3 - Townsville MC, QLD 4810 (Australie)

Matériel et méthodes

Méthode d'échantillonnage

Deux populations d'holothurie de sable des eaux peu profondes ont fait l'objet d'un échantillonnage dans la zone de Hervey Bay (Urangan, Tin Can Bay), situé dans la partie méridionale du Queensland (figure 2). Une autre population intertidale a elle aussi fait l'objet de la même procédure, à environ 45 milles marins plus au nord (Upstart Bay). Les prélèvements ont été effectués à marée basse, à pied, le long des replats vaseux. Les spécimens provenant des eaux profondes (18 à 20 m) ont été obtenus grâce à trois traits de chalut à crevette de type commercial (figure 2).

La longueur de chaque animal a été consignée en arrondissant au centimètre près. Pendant la dissection, l'absence ou la présence de gonades a été relevée, et un sous-échantillon de l'intestin (nettoyé de tout sédiment) a été congelé dans de l'azote liquide pour examen ultérieur.

Électrophorèse des allozymes

Environ 250 mg de tissu intestinal congelé a été homogénéisé dans un volume identique de tampon Tris HCl (100 milli-molles de Tris ajusté au pH 8 avec de l'acide chlorhydrique) avant l'électrophorèse, qui a été effectuée pour tous les enzymes sur une couche de gel d'amidon à 12%. Une sélection préliminaire a

permis de tester 21 systèmes enzymatiques, qui avaient paru prometteurs lors d'une procédure antérieure sur deux autres espèces d'holothurie (voir Ballment *et al.*, 1997), sur cinq individus de chaque forme colorée avec trois systèmes de tampon, ce qui a permis d'identifier 7 enzymes polymorphes : *PGM** (5 allèles), *GPI** (3 allèles) et *HK** (2 allèles), *MDH** (2 allèles), *PEP-1** (3 allèles), *PEP-2** (2 allèles), *PEP-3** (2 allèles). Des analyses statistiques ont été effectuées grâce à des logiciels standard de génétique, tels que décrit par exemple dans Uthicke *et al.* (1998).

Résultats

Caractéristiques générales des populations étudiées

La proportion de chacune des deux formes colorées varie selon les emplacements, allant d'une nette majorité de spécimens ramenés au chalut jusqu'à d'unique spécimens gris à Tin Can Bay (tableau 1). Les spécimens prélevés entre 18 et 20 mètres au chalut sont nettement plus gros que ceux issus de populations des eaux peu profondes (tableau 1). La répartition des fréquences de taille de toutes les populations paraît être unimodale et semblable pour les formes noire et grise dans chaque population (données ne figurant pas au tableau). On constate la présence de gonades dans quasiment tous les individus de la population subtidale de Hervey Bay. Par contre, aucune gonade n'est détectée sur les animaux provenant d'Upstart Bay. Il semble qu'il y ait une

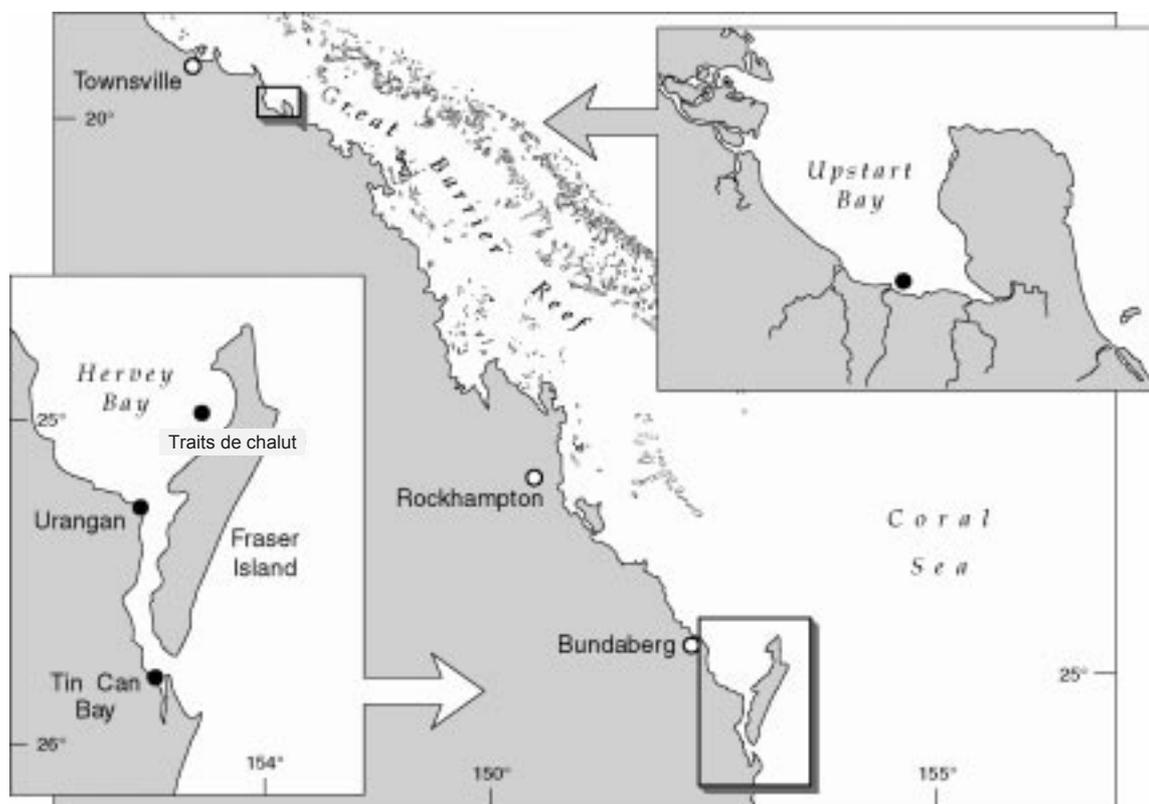


Figure 2 : Emplacement des stations d'échantillonnage sur la côte du Queensland

Tableau 1 : Taille moyenne (en cm; l'écart type figure entre parenthèses), proportion d'holothuries de sable noires par rapport au holothuries de sable grises (avec indication des écarts s'éloignant de façon significative de 1/1; * = $p < 0,05$; ns = non significatif) et le pourcentage de spécimens dépourvus de gonades pour quatre populations d'*Holothuria scabra*

	Taille moyenne	Proportion noires : grises	Spécimens sans gonades
Urangan	17,8 (2,5)	52 : 48 ^{ns}	34%
Tin Can Bay	14,4 (1,8)	grises seules, N = 17	53%
Upstart Bay	9,8 (1,5)	< 8 : 48 ¹	100%
Traits de chalut	26,9 (4,0)	154 : 116*, ²	12%

1. Tous les spécimens noirs ont été prélevés, mais beaucoup plus que 42 spécimens gris étaient présents
2. Rapport concernant uniquement les traits 2 et 3

Tableau 2 : Probabilité (p) de test exact des différences de fréquences alléliques entre les holothuries de sable noires et les holothuries de sable grises pour trois populations du Queensland. Un test n'est pas significatif à $p < 0,05$ après correction en cas de tests multiples simultanés.

Locus	Traits de chalut	Urangan	Upstart Bay
<i>GPI*</i>	1,000	1,000	0,660
<i>HK*</i>	0,029	0,525	1,000
<i>MDH*</i>	0,496	1,000	1,000
<i>PEP-1*</i>	0,319	0,298	0,674
<i>PEP-2*</i>	0,507	0,095	0,358
<i>PEP-3*</i>	0,480	0,081	0,032
<i>PGM*</i>	0,572	0,034	0,384
Total: χ^2	14,710	15,610	12,460
p	0,398	0,338	0,569

Tableau 3: Valeurs FST du test de Student pour observations paires pour quatre populations d'*Holothuria scabra*. Les valeurs supérieures à la diagonale ont été dérivées à partir des 7 loci et celles inférieures à la diagonale à partir de 6 loci (sans prendre *PEP-3* en compte). Niveaux de signification : * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; * = $p < 0,001$; ns = non significatif**

	Urangan	Chalut	Tin Can Bay	Upstart Bay
Urangan	-	0,005 ^{ns}	-0,006 ^{ns}	0,137 ^{***}
Chalut	0,006 ^{ns}	-	0,006 ^{ns}	0,172 ^{***}
Tin Can Bay	-0,015 ^{ns}	-0,003 ^{ns}	-	0,074 ^{***}
Upstart Bay	0,038 ^{***}	0,081 ^{ns}	0,028 ^{ns}	-

nette corrélation entre la taille moyenne dans chaque population et le nombre de spécimens porteurs de gonades (tableau 1).

Génétique des populations

La fréquence des génotypes ne présente aucune différence significative avec celles attendues en fonction de l'équilibre de Hardy-Weinberg, que l'analyse des

deux formes colorées soit effectuée séparément ou regroupée pour chaque population avec une exception (*PGM** présentant une déficience hétérozygote significative pour une population).

Dans les trois populations comportant des holothuries de sable noires et grises, aucune différence n'est détectée dans les fréquences alléliques entre les deux formes colorées (tableau 2). Nous avons donc re-

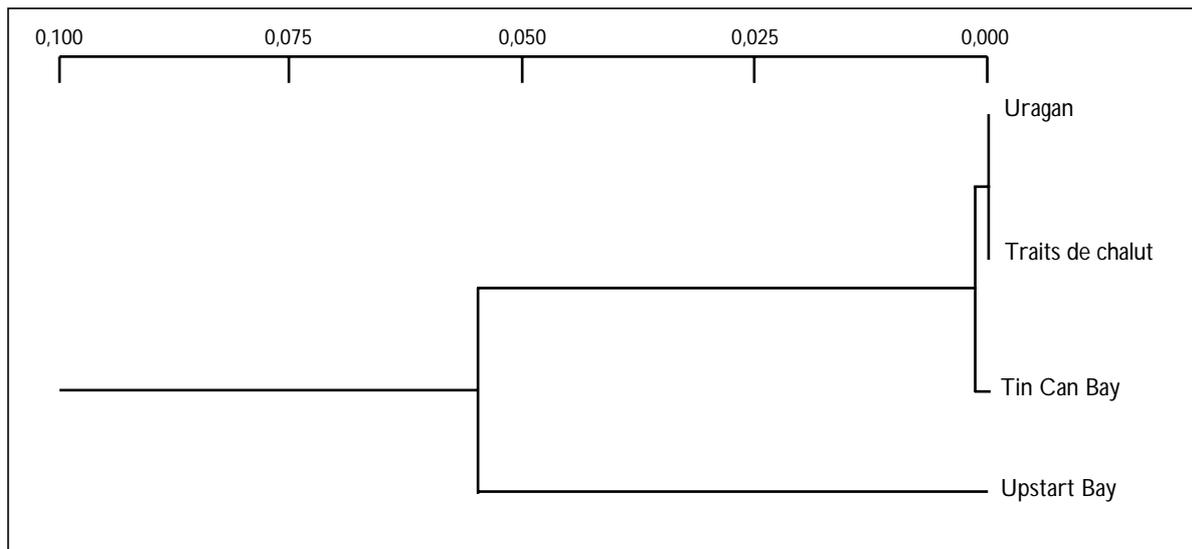


Figure 3 : Dendrogramme illustrant les relations génétiques de quatre populations de la côte du Queensland, utilisant l'algorithme de classification automatique UPGMA (*unweighted pair-group method using averages*) et la distance génétique non biaisée de Nei (Nei, 1978)

groupé les données des deux variétés pour chaque population pour les analyses conduites ultérieurement.

Plusieurs valeurs F_{ST} pour plusieurs loci pris séparément et pour la moyenne de tous les loci (0,068) s'écartent de façon significative de zéro. Les valeurs du locus *PEP-3** étant extrêmement élevées, nous avons recalculé la F_{ST} moyenne en omettant ce locus. La valeur ainsi obtenue, certes plus faible (0,027), s'écarte toujours de zéro de façon significative, mettant ainsi en lumière une différenciation significative entre les populations. Les valeurs F_{ST} pour les paires individuelles de stations d'échantillonnage révèlent qu'il n'y a pas de différenciation entre les trois populations du sud, près de Fraser Island, mais ces dernières témoignent de la faiblesse significative de l'échange génétique avec la population d'Upstart Bay (tableau 3). La tendance mise en évidence par des analyses automatiques (figure 3, coefficient cophénique = 0,891) est identique. La séparation est quasiment nulle entre la population des eaux peu profondes d'Uragan et la population exploitée au chalut; c'est entre les trois populations du sud et celle d'Upstart Bay que l'on décèle la séparation la plus marquée.

Discussion

Holothurie de sable noire et holothurie de sable grise

Aucune différence dans les fréquences alléliques n'est détectée entre la forme noire et la forme grise de l'holothurie de sable, et ce dans les trois populations où ces deux formes se côtoient. Les mêmes allèles sont présents dans les deux variétés et aucune diffé-

rence allélique fixe n'a été décelée. Les fréquences génotypiques correspondent à celles attendues en fonction de l'équilibre de Hardy-Weinberg, que les données recueillies pour les deux formes colorées soient regroupées ou séparées. En outre, la forme noire et la forme grise de l'holothurie de sable présentent des longueurs moyennes et des répartitions de fréquences de taille voisines pour chaque population. Ainsi, rien ne donne à penser que l'holothurie de sable noire et l'holothurie de sable grise présentes le long de la côte du Queensland constituent deux espèces à part entière. Nous en concluons donc qu'il s'agit de formes colorées distinctes d'une seule et même espèce.

Les facteurs à l'origine de cette variation de couleur ne sont pas connus. On ignore également la raison pour laquelle les deux formes colorées représentent une proportion variable de la population, et si la couleur est déterminée par des facteurs écologiques ou génétiques. Dix-sept spécimens uniquement ont été prélevés à Tin Can Bay, mais il semble que la forme noire soit extrêmement rare sur ce site; elle représente, qui plus est, 10 pour cent seulement de la population d'Upstart Bay. Il semble donc que le pourcentage élevé de spécimens de couleur noire à Uragan et dans la population exploitée au chalut soit un phénomène propre à Hervey Bay.

Conand (1989) évoque une forme colorée de *H. scabra* des eaux néo-calédoniennes, et la nomme provisoirement *H. scabra var. versicolor*. Elle semble être d'une couleur proche de celle de l'holothurie de sable noire étudiée ici, certes, mais Conand souligne que les deux variétés, en Nouvelle-Calédonie, sont présentes

sur des sites distincts, *H. scabra* var. *versicolor* occupant des habitats plus profonds. Ces deux variétés présentent également quelques légères différences relatives à leur période de ponte (Conand, 1989 et 1993a). Cet auteur en conclut que la similitude de la morphologie de la couronne calcaire et des spicules interdit d'en faire une nouvelle espèce. La couleur semble être un trait extrêmement changeant chez *H. scabra*. Outre les variations relevées dans la présente étude et en Nouvelle-Calédonie, il a été rapporté en Inde l'existence de spécimens d'une autre couleur, dont la partie supérieure varie de marron à noir, celles des plis allant de blanc à jaune (Sachithanathan, 1994; voir photo en couleur in James *et al.*, 1994). Reste à savoir si les différences de couleur correspondent, à une plus vaste échelle géographique, à des espèces différentes de *H. scabra*.

Populations des eaux profondes et des eaux peu profondes

Ni les analyses automatiques ni les variations des valeurs FST ne mettent en évidence une subdivision génétique entre la population des eaux profondes de Hervey Bay et la population peu profonde la plus proche, à Urangan. Une subdivision significative a été détectée entre la population d'Upstart Bay et toutes les populations de la zone située plus au sud. Il en découle des conclusions logiques quant aux niveaux généraux de dispersion parmi les populations.

On peut en conclure qu'un vaste échange de matériel génétique a lieu entre les populations des eaux profondes et celles des eaux peu profondes. Le fait que les zones profondes abritent un plus grand nombre de spécimens de grande taille ayant atteint la maturité sexuelle corrobore l'hypothèse selon laquelle les animaux, au fur et à mesure qu'ils grandissent, migrent vers les profondeurs. Hariott (1980), dans des travaux conduits sur une population peu profonde de Moreton Bay, a observé que tous les spécimens y étaient porteurs de gonades. Étant donné qu'une petite partie des spécimens qui, dans notre étude, proviennent des herbiers étaient eux-aussi dotés de gonades, on peut supposer que la ponte a également lieu dans les zones peu profondes.

James *et al.* (1994) rapporte que *Holothuria scabra* migre vers des régions plus profondes pour se reproduire, mais ne précise pas comment ce fait a été déterminé. Chez nombre d'espèces d'holothuries, les spécimens des profondeurs sont plus gros que ceux des eaux moins profondes (Conand, 1993b; Uthicke, 1994). Ces auteurs suggèrent qu'au cours de sa vie, cette espèce migre vers des zones plus profondes.

Nous pourrions certes démontrer les liens étroits qui unissent les populations des deux zones, mais les informations génétiques à elles seules ne sauraient confirmer l'existence ou non d'une migration des

adultes. De même, ces données génétiques démontrent que tant les populations profondes que celles des eaux moins profondes recrutent à partir du même pool larvaire. On suppose bien entendu qu'elles apportent toutes deux leur contribution à ce pool, mais seuls d'autres travaux (qui ne concerneraient pas la génétique) pourraient le confirmer. Les informations génétiques indiquent donc, sans le démontrer de façon absolue, que les animaux des eaux profondes pourraient être une source de recrutement pour les populations des zones peu profondes.

La présence de juvéniles non matures dans chaque population peu profonde corrobore l'hypothèse selon laquelle les herbiers jouent un rôle important en tant que nourriceries et aires de fixation pour *H. scabra* (Vail, 1989).

Le fait que tous les individus des échantillons prélevés à Upstart Bay étaient des juvéniles corrobore cette hypothèse. En utilisant les taux de croissance de Shelley (1985), on pourrait penser que tous ces animaux se sont fixés dans les huit mois ayant précédé le prélèvement. Pour une gestion durable des stocks d'holothurie de sable, il apparaît essentiel de déterminer si les herbiers des faibles profondeurs sont les seules zones de fixation des juvéniles de *H. scabra*. Si aucun juvénile ne peut se fixer dans les populations profondes, cela indiquerait que ces dernières dépendent du recrutement d'adultes migrant vers le fond. Dans ce cas, une gestion prudente des populations des eaux peu profondes et des herbiers en tant que tels s'impose pour la survie des populations de *H. scabra* des deux zones.

La population d'Upstart Bay était la seule présentant des différences génétiques, ce qui montre que la méthode mise au point est en mesure de détecter la distance génétique, et confirme que le faible degré de séparation entre les populations profondes et peu profondes, situées toutes deux au sud, n'est pas attribuable à un simple problème de méthodologie.

La population d'Upstart Bay étant située plus au nord, à environ 450 milles nautiques, nous pouvons présumer que la différenciation génétique de l'holothurie de sable correspond à un modèle de séparation par éloignement, ce qui reste toutefois à confirmer à partir d'un échantillon plus important.

En résumé, les deux formes colorées de l'holothurie de sable semblent appartenir à la même et unique espèce, et il semble prudent de poursuivre la gestion commune telle qu'elle se pratique. À l'heure actuelle, les populations des eaux profondes ne sont pas exploitées à des fins commerciales, mais il n'est pas à exclure qu'elles subissent des pertes du fait des activités de chalutage. Ces populations profondes servent peut-être de population tampon et de source de recrutement pour les populations exploitées dans les

zones peu profondes. Du fait de la facilité d'accès à pied de la zone intertidale, les eaux de faible profondeur sont sans doute susceptibles de surexploitation en l'absence de mesures de gestion adéquates.

Nous avons constaté que dans deux zones autrefois exploitées (Moon Point et Tin Can Bay), il reste très peu d'holothuries de sable. Toutefois, certains facteurs écologiques pourraient eux aussi être responsables de ce déclin. C'est pourquoi les zones de pêche doivent faire l'objet d'un suivi attentif, notamment parce que la côte du Queensland abrite très peu de populations de ce type.

Remerciements

Cette étude a été financée par le service national australien des parcs et de la faune (*Australian National Parks and Wildlife Service*) (projet N° WRCP-019). Nous sommes très reconnaissants à M. Ross Meaclem qui, ne ménageant ni ses efforts ni ses conseils, nous a aidés de multiples façons, y compris lors du prélèvement d'échantillons. Ces travaux sont parus dans le numéro 971 de la revue de l'AIMS.

Bibliographie

- ANON. (1994). Holothuries et bêtes-de-mer dans le Pacifique tropical: Un manuel à l'intention des pêcheurs. CPS, Manuel n° 18, Nouméa, Nouvelle-Calédonie: 51 p.
- BALLMENT E, S. UTHICKE, L. PELOW & J.A.H. BENZIE. (1997). Techniques for enzyme electrophoretic analysis of the holothurians *Holothuria atra* and *Stichopus chloronotus* (Holothuroidea: Aspidochirotida). AIMS Technical Report Series 27, 47 p.
- BASKAR, B.K. (1994). Some observations on the biology of the holothurian *Holothuria (Metriatyla) scabra* (Jaeger). Bull Cent Mar Fish Res Inst 46: 39-43.
- CONAND, C. (1989). Les holothuries aspidochirotes du lagon de Nouvelle-Calédonie: biologie, écologie et exploitation. Etudes et thèse ORSTOM, Paris, 393 p.
- CONAND, C. (1993a). Reproductive biology of the holothurians from the major communities of the New Caledonian Lagoon. Mar. Biol. 116: 439-450.
- CONAND, C. (1993b). Ecology and reproductive biology of *Stichopus variegatus*, an Indo-Pacific coral reef sea cucumber (Echinodermata: Holothuroidea). Bull. Mar. Sci. 52: 970-981.
- HARRIOTT, V.J. (1980). The ecology of holothurian fauna of Heron Reef and Moreton Bay. M.Sc. Thesis, University of Queensland, 153 p.
- JAMES D.B., A.D. GANDHI, N. PALANISWAMY & J.X. RODRIGO. (1994). Hatchery techniques and culture of the sea-cucumber *Holothuria scabra*. CMFRI Special Publication 57: 40 p.
- LONG, B., T. SKEWES, D. DENNIS, I. POINTER *et al.* (1996). Distribution and abundance of beche-de-mer on Torres Strait Reefs. Final Report to the Queensland Fisheries Management Authority: 99 p.
- SACHITHANANTHAN, K. (1994). A small-scale unit to process sand-fish *Holothuria (Metriatyla) scabra*. Bull. Cent. Mar. Fish. Res. Inst. 46: 79-80.
- SHELLEY, C.C. (1981). Aspects of distribution, reproduction, growth and "fishery" potential of holothurians (beche-de-mer) in the Papuan Coastal Lagoon. M.Sc. thesis, University of Papua New Guinea, 165 p.
- SHELLEY, C.C. (1985). Growth of *Actinopyga echinites* and *Holothuria scabra* (Holothuroidea: Echinodermata) in Papua New Guinea. Proc. 5th Int. Coral Reef Congr. 5: 297-230.
- UTHICKE, S. (1994). Distribution patterns and growth of two reef flat holothurians, *Holothuria atra* and *Stichopus chloronotus*. In: Dijon DB, Guille A, Féral JP, Roux M (eds). Echinoderms through time: Proceedings 8th International Echinoderm Conference. A.A. Balkema, Rotterdam. 569-576.
- UTHICKE, S, J.A.H. BENZIE & E. BALLMENT. (1998). Genetic structure of fissiparous populations of *Holothuria (Halodeima) atra* on the Great Barrier Reef. Mar. Biol. 132: 141-151.
- UTHICKE, S, J.A.H. BENZIE & E. BALLMENT. (1999). Population genetics of the fissiparous holothurian *Stichopus chloronotus* (Aspidochirotida) on the Great Barrier Reef, Australia. Coral Reefs 18, 123-132.
- VAIL, L. (1989). Trepang resource surveys Melville Island, Gove Harbour, Crocker Island. Funded by the Department of Industries and Development and Northern Territory Fisheries.
- WIEDEMAYER, W.L. (1993). Feeding behaviour of two tropical holothurians, *Holothuria (Metriatyla) scabra* and *H. (Halodeima) atra* from Okinawa, Japan. Proc. 7th Int. Coral Reef Symp. 2: 853-860.