

## Corrélation entre les attributs de la femelle génitrice et la croissance, la forme, la survie et le développement des larves qu'elle produit chez *Australostichopus mollis*, holothurie des zones tempérées

Andrew David Morgan<sup>1</sup>

### Résumé

La proportion de larves qui achèvent leur cycle larvaire et contribuent à la formation des générations suivantes peut être affectée par les influences que subit la femelle génitrice. En conséquence, il se peut qu'il existe une corrélation entre les attributs des femelles et toute une série d'attributs caractérisant les larves au cours du cycle larvaire et affectés par des facteurs exogènes. Dans le cas de l'holothurie *Australostichopus mollis*, vivant en milieux tempérés, on a établi une corrélation entre la taille et le nombre d'œufs produits par quatre femelles et un indice de viabilité larvaire, défini comme la proportion de larves survivantes multipliée par la proportion de larves qui atteignent le stade final auricularia. On a constaté une faible relation entre cet indice de survie-viabilité, calculé pour les larves émises par chaque femelle, et le nombre moyen de nodules hyalins se développant dans les replis de la frange ciliée des larves. Par ailleurs, on a observé que le ratio longueur de la frange ciliée-longueur des larves provenant des différentes femelles était corrélé à la proportion d'embryons présentant des caractéristiques de développement normal (mesure de la réussite de reproduction). La forme globale des larves ne variait pas en fonction de la génitrice, mais cette dernière avait une incidence sur leur rythme d'évolution. Cela dit, la croissance et le développement des larves étaient similaires pour les différentes femelles et n'étaient pas corrélés au nombre et à la taille des œufs. En fait, la croissance et le développement semblaient dissociés, d'une part, de tous les effets que peuvent subir les génitrices et, d'autre part, de la relation qui peut exister entre ces effets et la réussite de reproduction, le rythme d'évolution des caractéristiques morphologiques, ou l'indice de survie-viabilité. La compétence des larves, telle qu'exprimée par le phénotype, n'est pas forcément représentative des caractéristiques des femelles.

### Introduction

Chez les holothuries aspidochirotés, on observe, à partir d'un même nombre de gamètes libérés au cours de la ponte, de vastes écarts dans le nombre de larves qui survivent à l'ensemble de la phase larvaire et sont capables d'achever leur cycle larvaire (James et al., 1994 ; Ito, 1995 ; Ramofafia et al., 1995 ; Martinez et Richmond, 1998 ; Battaglione et al., 1999 ; Mercier et al., 2000 ; Morgan, 2000 ; Asha et Muthiah, 2002 ; James, 2004 ; Mercier et al., 2004 ; Pitt et al., 2004 ; Wang et Chen, 2004 ; Sui, 2004 ; Liu et al., 2004 ; Giraspy, et Ivy, 2005, 2006 ; Laximinarayana, 2005 ; Morgan 2008a, b et c). Ces écarts s'expliquent peut-être par la relation qui existe entre, d'une part, les paramètres de la fécondation, la réussite de reproduction et la femelle génitrice ou la source des ovules, et, d'autre part, la croissance, la forme, la viabilité et le développement des larves.

Il se peut que les différences de taille observées chez les larves soient liées à la source d'alimentation des parents et à son incidence sur la qualité des œufs et leur croissance ultérieure au cours du cycle larvaire. De précédentes études ont permis d'établir une corrélation entre la taille des œufs et la taille des larves de *Strongylocentrotus droebachensis* et d'un certain nombre d'autres échinodermes (McEdward, 1986). Par exemple, dans le cas de *S. droebachensis*, on a constaté que les œufs de taille supérieure

étaient produits par des animaux résidant dans des habitats où la nourriture est abondante, les larves atteignant aussi des tailles supérieures (Bertram et Strathmann, 1998). En revanche, les résultats d'une autre étude ne montrent aucune relation entre la taille des œufs et les rations alimentaires données aux sujets *S. droebachensis* en captivité, et aucune variation de la taille des larves n'a été observée (Meidel et al., 1999). L'apport de ressources lors de la reproduction ne se traduit pas forcément par une variation de la taille des œufs (McEdward et Carson, 1987) étant donné que les individus peuvent produire des œufs plus petits, mais plus nombreux.

Les variations morphologiques des larves ont aussi été associées à la taille des œufs et seraient liées à la femelle génitrice. Des relations ont été établies entre l'origine maternelle des œufs et les différentes formes larvaires des échinodermes, tels que les oursins *Arbacia lixula* et *S. droebachensis* et l'étoile de mer *Pisaster ochraceus* (George et al., 1990 ; Bertram et Strathmann, 1998 ; George, 1999 ; Meidel et al., 1999). Toutefois, dans le cas de *S. droebachensis*, la relation variation morphologique-femelle génitrice était peu significative par rapport à la relation plasticité développementale-disponibilité alimentaire (Bertram et Strathmann, 1998). Les variations morphologiques des larves dictées par l'origine maternelle ont également été associées aux variations de qualité des œufs, en raison soit des différents régimes alimentaires

1. School of Applied Science, Bay of Plenty Polytechnic, Private Bag TG12001, Tauranga, Nouvelle-Zélande. Courriel : andrew.morgan@boppoly.ac.nz, tél. : +647 5440920, poste 6850

des animaux maintenus en captivité, soit de leurs différents habitats *in situ* (McEdward et Carson, 1987 ; George et al., 1990 ; George, 1999). Néanmoins, la taille des œufs n'était pas corrélée à la forme des larves ou aux écarts de longueur de la frange ciliée chez *S. droebachensis* et un certain nombre d'autres échinodermes (McEdward, 1986).

Il se peut que les différents taux de survie et de viabilité des larves soient déterminés par les différentes femelles génitrices et par leur réussite de reproduction variable. Des études récentes ont mis en évidence que l'histoire de la fécondation a une influence sur la réussite de reproduction ou « la fraction des ovules d'une femelle qui sont fécondés » (Levitan, 2005). Dans le cas de l'oursin *Strongylocentrotus franciscanus*, les différences entre mâles et femelles, en termes d'intensité de la sélection sexuelle, étaient fonction de la densité de partenaires sexuels. En dépit de paternités multiples, la variance de réussite de reproduction était inférieure chez les mâles et supérieure chez les femelles (Levitan, 2005). Chez les oursins *Heliocidaris erythrogramma* et *Holopneustes purpureus*, l'ordre d'accouplement avait une incidence sur la quantité et la qualité des progénitures des mâles en concurrence (Marshall et al., 2004). Compte tenu des variations de taille entre les ovules produits par les différentes femelles et leur relation avec la fécondation, on peut dire que l'histoire de la fécondation influe sur la distribution de taille des progénitures. Les mâles qui libèrent leurs gamètes en premier engendrent des individus plus grands et plus forts.

On a également établi une corrélation entre les différences observées dans le développement larvaire et la taille des œufs et une relation entre ce développement larvaire et la femelle génitrice. Ainsi, chez *S. droebachensis*, la petite taille des œufs conduit à un retard dans le développement des larves au cours des premières étapes du cycle larvaire (Sinervo et McEdward, 1988), tandis qu'une autre étude a permis d'établir une corrélation entre la grande taille des œufs de *S. droebachensis* et un raccourcissement de la période larvaire, sans toutefois noter d'incidence sur le développement (Bertram et Strathmann, 1998). Chez *S. droebachensis*, la métamorphose était plus rapide et les larves se métamorphosaient de façon plus précoce lorsqu'elles provenaient de parents qui avaient reçu une alimentation enrichie, bien qu'aucun effet sur le rythme de croissance ou la taille à la métamorphose n'ait été observé (Meidel et al., 1999).

On compte peu d'études sur les effets qu'ont les géniteurs sur la croissance, la forme, la survie et le développement des larves qu'ils engendrent, ainsi que sur leurs implications pour la compétence larvaire des holothuries. D'après certains travaux, la durée de captivité d'individus *Holothuria scabra* aurait des effets sur la qualité des œufs produits, en raison d'une modification des attributs des géniteurs (Morgan, 2000). Les taux d'éclosion et le nombre d'œufs pondus par *H. scabra* étaient inférieurs lorsque les géniteurs étaient maintenus en captivité pendant des périodes prolongées (Morgan, 2000). Toutefois, les effets ultérieurs sur la croissance et le développement des larves n'ont pas été quantifiés. On a constaté que la taille et la forme des larves d'*Actinopyga echinites* variaient selon que la libération des ovocytes et

la production résultante de larves, plus petites, étaient induites par dithiothréitol (DTT) ou que cette libération d'ovocytes et production de larves étaient induites par stimulation ovarienne (Chen et al., 1991). Les larves produites sous l'action du DTT présentaient un aspect morphologique distinct (asymétrique) au milieu et à la fin du stade auricularia (Chen et al., 1991). Sans connaître la relation qui existe entre les différents attributs des larves et leurs géniteurs, il est difficile de déterminer l'impact de la filiation sur la capacité qu'auront les larves de terminer leur cycle larvaire.

La saison de reproduction d'*Australostichopus mollis* s'étale sur environ quatre mois, durant l'été, de novembre à février (Sewell, 1992 ; Archer, 1996 ; Morgan, 2008a). L'hypothèse posée dans la présente étude est la suivante : pour chaque femelle, la qualité des embryons est liée aux paramètres de la libération des œufs, en l'occurrence le nombre et la taille des œufs, paramètres qui s'expriment ensuite dans les différents phénotypes larvaires. Sur cette base, les variations de croissance, de taille, de survie et de développement des larves devraient être liées à la source de libération des œufs et avoir une incidence sur la capacité des larves de terminer leur cycle larvaire. Trois questions ont été posées dans cette étude : i) Existe-t-il une relation entre la source des œufs et la croissance et la morphologie des larves ? ii) La survie et le développement des larves sont-ils liés aux différentes femelles qui les engendrent ? iii) Existe-t-il une quelconque relation entre l'apparition des nodules hyalins précédant la métamorphose et la source des œufs ?

## Méthodes

### Collecte des larves

Les larves d'*Australostichopus mollis* ont été obtenues par prélèvement sur le terrain une fois toutes les deux semaines à partir d'un stock de géniteurs et par ponte à l'écloserie (Morgan, 2008a). Les ovules libérés par quatre femelles ont été séparés et fécondés avec un mélange de spermatozoïdes frais provenant de quatre mâles. Les œufs fécondés ont été rincés et placés dans une cuve de 40 litres, remplie d'eau filtrée avec un tamis de 1 µm et stérilisée par UV, pour l'éclosion (Morgan, 2008b). Les paramètres des génitrices ont été mesurés : poids des génitrices, taille des ovocytes mesurée par biopsie avant la ponte, nombre d'œufs libérés et proportion d'embryons présentant des caractéristiques de développement « normal » (voir Morgan 2008b). On a compté, dans chaque récipient, environ 1000 ± 100 larves « normales » au stade précoce auricularia, trois jours après la fécondation. Les larves ont été concentrées dans un tamis 60 mm pour le comptage ; leur concentration initiale était d'environ 1 larve par millilitre pour les expériences. L'âge des larves a ensuite été désigné par le temps écoulé depuis le premier nourrissage.

### Élevage larvaire

Le moteur d'un essuie-glace a été couplé à un transformateur de tension (avec variateur de 1 à 12 volts) pour entraîner un agitateur à pales. Des bocaux à conserves en verre contenant 1 litre d'eau de mer filtrée avec un tamis de 1 µm et stérilisée par UV ont été utilisés pour les

besoins de l'expérience. Les expériences ont été réalisées au cours d'un cycle lumière-obscurité (L:O) de 16:8 heures à une température de  $20 \pm 1$  °C. Des diatomées *Chaetoceros muelleri* ont été mises en culture sur un milieu f/2 de Guillard et, au cours de la phase de croissance principale (log phase), elles ont servi d'alimentation aux larves à une concentration de 2 000 cellules par millilitre par jour, une fois par jour. Il y avait trois bocalx répétés pour les larves de chaque femelle.

Tous les deux jours, on a siphonné 90 % de l'eau de mer contenue dans chacun des récipients, à l'aide d'un tuyau-siphon et d'un tamis de 60 mm pour éviter l'évacuation des larves. Les larves ont été prélevées pour prendre des mesures morphologiques en aspirant à la pipette de 5 à 10 ml d'eau de mer contenant de 15 à 40 larves, placées dans une boîte de Pétri. Les larves restantes, encore présentes dans les bocalx remplis d'eau de mer, ont ensuite été vidangées dans un bocal propre, auquel on a ajouté un litre d'eau de mer filtrée avec un tamis de 1 mm et stérilisée par UV.

### Croissance et développement des larves

Le développement larvaire était caractérisé par le développement du somatocœle gauche et droit et de l'axo-hydrocœle (Smiley, 1986 ; Archer, 1996 ; Morgan, 2001 ; Sewell et McEuen, 2002 ; Morgan, 2008c). Aux jours 1, 3, 7, 12, 18 et 22 après le premier nourrissage (trois jours après la fécondation), 15 à 40 larves ont été prélevées dans chaque bocal, parmi lesquelles 10 ont été mesurées pour déterminer leur croissance et leur développement. Les mesures ont été relevées au microscope optique, à l'aide d'un micromètre oculaire avec grossissement  $\times 100$ . On a compté le nombre de nodules hyalins et mesuré la longueur totale, la largeur, la longueur de la partie postérieure (longueur après capuchon oral), la longueur de l'intestin postérieur (extrémité postérieure jusqu'à l'entrée de l'intestin), le maximum latéral (extrémité postérieure à la largeur maximale), la profondeur latérale (profondeur maximale du repli postérieur), la longueur de la bouche, la largeur de la bouche, la longueur de l'intestin, la largeur de l'intestin, la longueur du somatocœle gauche et la longueur de l'axo-hydrocœle (voir Morgan, 2008c).

### Analyse des données

Pour chaque expérience, les variations de la longueur totale des larves de chaque femelle ont été analysées au cours de plusieurs jours successifs. Les valeurs moyennes ont été comparées à l'aide d'un test de Tukey visant à rechercher des différences significatives entre les valeurs médianes, avec application de la méthode d'ajustement de Kramer pour les comparaisons multiples.

Une analyse de la variance à un facteur a été appliquée pour le nombre total de larves survivantes comptées dans chaque bocal à la fin de chaque expérience. Les comptages ont été corrigés pour tenir compte des larves prélevées et mesurées. Un indice de viabilité larvaire a aussi été calculé en multipliant la proportion de larves ayant survécu par la proportion de larves ayant atteint le dernier stade auricularia. On a ainsi obtenu

une valeur pour la proportion de larves susceptibles d'achever leur cycle larvaire.

Une analyse de la variance par modèle mixte réalisée avec le logiciel SAS (version 8) a été appliquée aux variables morphométriques des larves mesurées à chaque expérience. Les effets analysés étaient FEMELLE, FEMELLE  $\times$  JOUR, RÉPÉTITION dans (FEMELLE) et JOUR  $\times$  RÉPÉTITION dans (FEMELLE). Les ratios des variables morphométriques ont été analysés simultanément en réduisant les neuf ratios morphométriques en leurs composantes principales à l'aide d'une analyse en composantes principales (ACP) (voir Morgan, 2008c). L'analyse de la variance a été appliquée à la première composante principale.

Des ratios de longueur invariants d'échelle ont été utilisés, sachant que la première composante principale de l'analyse taille-dépendante représente un nombre inconnu de variables de forme liées par relation allométrique (James et McCulloch, 1990 ; George, 1999 ; Morgan, 2008c).

Les transformations logarithmiques des données de ratio de longueur n'ont pas permis d'améliorer de façon significative la normalité. Nous sommes donc revenus aux données d'origine. Pour l'analyse en composantes principales des moindres carrés des ratios de longueurs, des moyennes ont été utilisées pour comparer les différences entre les traitements pendant les différents jours de l'expérience.

La longueur de la frange ciliée des larves a été calculée pour les larves produites par chaque femelle. Pour chacune d'entre elles, quatre larves ont été photographiées à l'aide d'un appareil-photo numérique monté sur un microscope optique. Les images ont ensuite été analysées avec le logiciel SigmaScan Pro (voir Morgan, 2008c). Les ratios longueur de la frange ciliée-toutes variables de longueur des larves photographiées ont ensuite été comparés pour les différentes femelles à l'aide d'une analyse de variance à un facteur au 12<sup>e</sup> jour.

Une analyse des discriminantes a été appliquée pour examiner simultanément toutes les variables morphométriques pour les données de ratio de longueur et de ratio de longueur de la frange ciliée, en vue de déterminer quelles étaient les variables qui traduisent au mieux les différences entre les larves produites par les différentes femelles. Cette analyse sert à estimer de façon aléatoire avec quel degré d'efficacité on peut relier une larve à sa génitrice. Pour chaque expérience, une fonction discriminante a été calculée et chaque larve a été classée comme progéniture de l'une ou l'autre femelle.

Un modèle log-linéaire a été utilisé pour quantifier les différences entre le nombre de larves se trouvant aux différents stades de développement pour chaque femelle. Un tableau croisé à triple entrée a été créé pour les traitements FEMELLE, JOUR (1, 3, 7, 12, 18 et 22) et STADE (auricularia initial, intermédiaire et final). Exclure le terme JOUR du modèle reviendrait à prendre uniquement en compte les différences additionnées pour les différents stades observés à partir des différentes femelles au cours des expériences. Aucune information sur la variation temporelle n'a pu être obtenue pour chaque stade en partant de cette approche.

## Résultats

### Attributs larvaires et génitrices

Les femelles présentant au départ une proportion supérieure d'embryons viables («normaux»), caractérisés par des signes de développement normal, étaient, au 12<sup>e</sup> jour, corrélées (0,50) avec les larves qui présentaient une frange ciliée plus longue par rapport à la longueur larvaire totale. Pour les femelles F1 et F2, 90 % et 80 % des embryons étaient respectivement considérés comme présentant des signes de développement normal, contre 65 % pour les femelles F3 et F4.

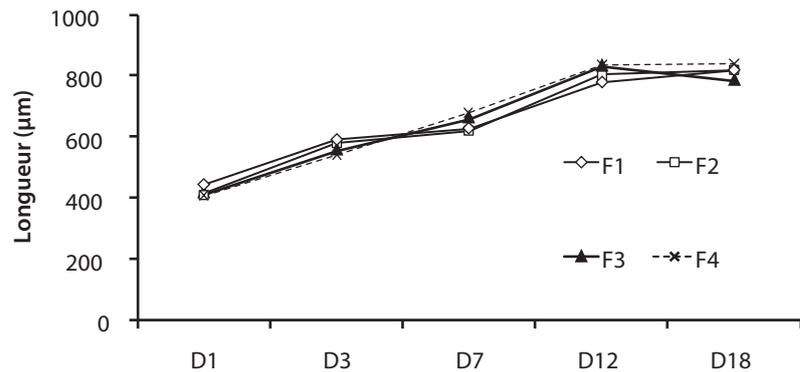
On a établi une corrélation entre les larves affichant un indice de survie-viabilité supérieur et les femelles qui libéraient des ovocytes plus nombreux (0,64) et de taille supérieure (0,80). Les femelles F1 et F2 ont produit respectivement  $195\,000 \pm 40\,100$  et  $88\,000 \pm 20\,600$  ovocytes, contre  $31\,000 \pm 1\,900$  et  $62\,000 \pm 15\,300$  pour les femelles F3 et F4 (moyenne  $\pm$  erreur-type). Pour les femelles F1 et F2, la taille des œufs était de  $120 \pm 17$  et  $124 \pm 23$   $\mu\text{m}$  respectivement, contre  $101 \pm 17$  et  $111 \pm 20$   $\mu\text{m}$  pour F3 et F4 (moyenne  $\pm$  écart-type). Pour ce qui est du poids humide des génitrices, aucune différence n'a été notée entre les larves produites par les différentes femelles ( $p > 0,05$ ).

### Croissance larvaire

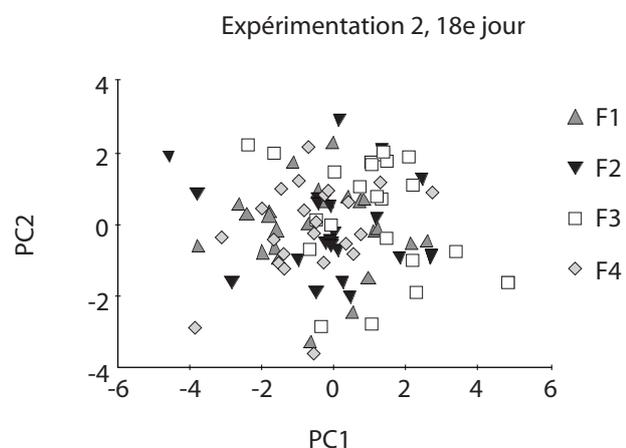
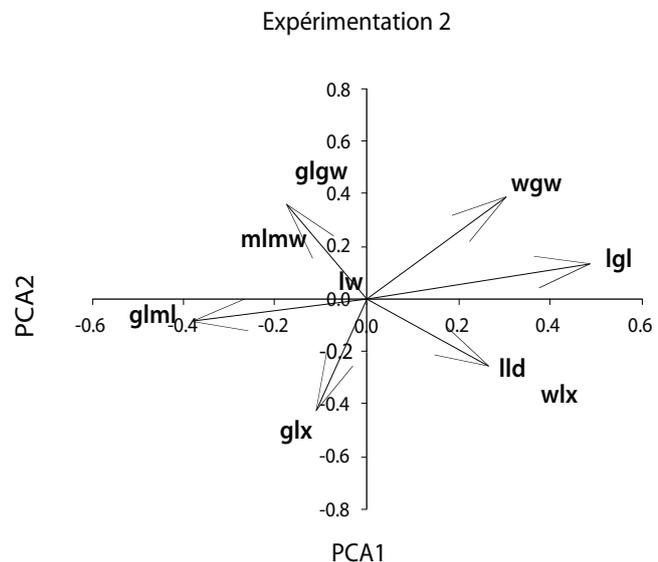
Les larves produites par les quatre femelles affichaient un taux de croissance similaire jusqu'au 18<sup>e</sup> jour, pour atteindre une taille maximale de  $841 \pm 22$   $\mu\text{m}$  pour F3 et une taille minimale de  $781 \pm 28$   $\mu\text{m}$  (moyenne  $\pm$  erreur-type) pour F4 ( $p > 0,05$ ; figure 1). Les larves aux 7<sup>e</sup>, 12<sup>e</sup> et 18<sup>e</sup> jours étaient plus longues que les larves au 3<sup>e</sup> jour, et les larves aux 12<sup>e</sup> et 18<sup>e</sup> jours étaient plus longues que les larves au 7<sup>e</sup> jour ( $p < 0,01$ ; Tukey-Kramer).

### Forme des larves

La première composante principale (ACP1) pour les variables de ratio de longueur expliquait 30 % des variations des données. Les différences de données observées entre les femelles étaient attribuées aux ratios longueur-longueur de l'intestin et longueur de la bouche-largeur de la bouche pour l'ACP1 et aux ratios longueur de l'intestin-largeur de l'intestin et longueur de l'intestin-maximum latéral pour l'ACP2. L'analyse discriminante a



**Figure 1.** Croissance en longueur totale ( $\mu\text{m}$ ; moyenne  $\pm$  erreur-type) des larves des différentes femelles, si jour = jour 1 à partir du moment où les larves sont alimentées pour la première fois (âge des larves = jour 1 plus 3 jours). F1, F2, F3 et F4 = numéro des différentes femelles. Les larves ont reçu une ration alimentaire journalière de 2 000 cellules par millilitre d'algues *Chaetoceros muelleri*



**Figure 2.** Analyse en composantes principales des variables de ratio de longueur. lw = longueur/largeur ; glgw = longueur de l'intestin/largeur de l'intestin ; mlmw = longueur de la bouche/largeur de la bouche ; lgl = longueur/largeur de l'intestin ; wgw = largeur/largeur de l'intestin ; glml = longueur de l'intestin/largeur de la bouche ; glx = longueur de l'intestin/maximum latéral ; wlx = largeur/maximum latéral ; lld = longueur/profondeur latérale

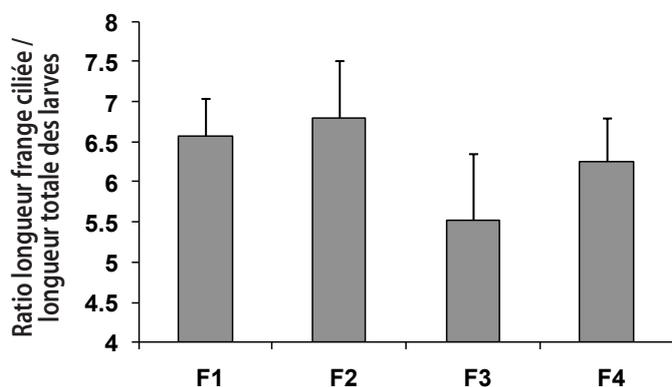


Figure 3. Ratio longueur de la frange ciliée-longueur totale des larves produites par les femelles F1, F2, F3 et F4 au 12<sup>e</sup> jour (moyenne  $\pm$  erreur-type ; n = 4 larves par femelle).

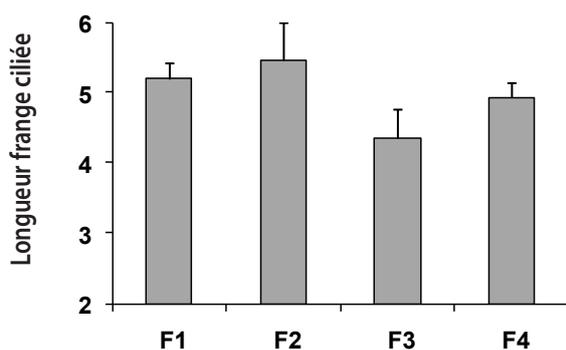


Figure 4. Longueur de la frange ciliée des larves produites par les femelles F1, F2, F3 et F4 au 12<sup>e</sup> jour (moyenne  $\pm$  erreur-type ; n = 4 larves par femelle).

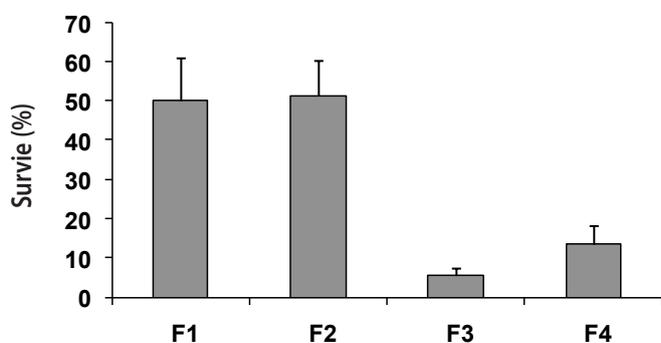


Figure 5. Pourcentage de survie des larves produites par les femelles F1, F2, F3 et F4 (moyenne  $\pm$  erreur-type) alimentées avec des diatomées *Chaetoceros muelleri* à une concentration de 2 000 cellules par millilitre par jour

révélé que la probabilité de relier correctement une larve choisie de façon aléatoire à sa génitrice n'était que de 25 % à 50 %. Pour l'ACP1, il n'y avait dans l'ensemble aucune différence en termes de caractéristiques morphologiques ( $p > 0,01$  ; figure 2). Néanmoins, on a constaté des variations au niveau de la vitesse d'évolution morphologique des larves, sachant que chez les larves produites par F1 et F3, l'intestin et la bouche tendaient à garder plus longtemps une forme plus courte et arrondie, par rapport à l'évolution temporelle des autres structures larvaires ( $p < 0,01$  ; moyennes moindres carrés). Les larves de F2 et de F4 tendaient à développer plus tôt un intestin et une bouche de longueur supérieure, mais plus étroite, et elles étaient plus larges et développaient plus tôt un repli latéral supérieur au niveau de la frange ciliée.

Pour ce qui est des ratios de longueur de la frange ciliée, l'ACP1 représentait 83 % des variations entre les femelles. Ces variations s'expliquaient principalement par les changements des ratios longueur de la frange-longueur des larves et longueur de la frange-largeur des larves, de façon analogue à la pondération des variables contribuant aux effets de traitement observés pour les ratios de longueur. Lorsque toutes les variables de ratio de longueur de la frange ciliée étaient prises en compte simultanément, la probabilité d'une filiation incorrecte entre les larves et les femelles n'était que de 0 % à 12,5 %. L'ACP1 des ratios de longueur de la frange ciliée variait d'une femelle à l'autre ( $p < 0,01$  ; moyennes moindres carrés ; figure 3). Dans l'ensemble, les larves provenant des femelles F1 et F2 affichaient une longueur totale de la frange ciliée de  $5,2 \pm 0,23$  et  $5,5 \pm 0,54$  respectivement, tandis que ce même chiffre s'élevait à  $4,4 \pm 0,41$  et  $4,9 \pm 0,21$  (moyenne  $\pm$  erreur-type) pour les larves provenant respectivement des femelles F3 et F4 ( $p < 0,01$  ; figure 4).

#### Survie et viabilité des larves

Le pourcentage de survie le plus élevé a été enregistré pour les larves produites par les femelles F1 et F2, soit respectivement  $50,0 \% \pm 11 \%$  et  $51,7 \% \pm 9 \%$  (moyenne  $\pm$  erreur-type) contre  $5,5 \% \pm 2 \%$  et  $13,5 \% \pm 4,7 \%$  pour F3 et F4 respectivement ( $p < 0,01$  ; Tukey ; figure 5). Toutefois, il se peut que les larves qui ont, au départ, moins de chances d'atteindre le stade final auricularia et de terminer leur métamorphose survivent pendant de longues périodes dans les milieux de culture. Les chiffres obtenus pour la survie ont été corrigés du nombre de larves qui atteignent le stade auricularia final. On a ainsi multiplié la proportion de larves survivantes par la proportion atteignant le stade final auricularia pour obtenir un indice de viabilité larvaire ou de réussite larvaire. Pour les femelles F1 et F2, respectivement 40 % et 54 % des larves étaient susceptibles de réussir leur métamorphose complète, contre 3,6 % et 11 % pour F3 et F4.

**Développement**

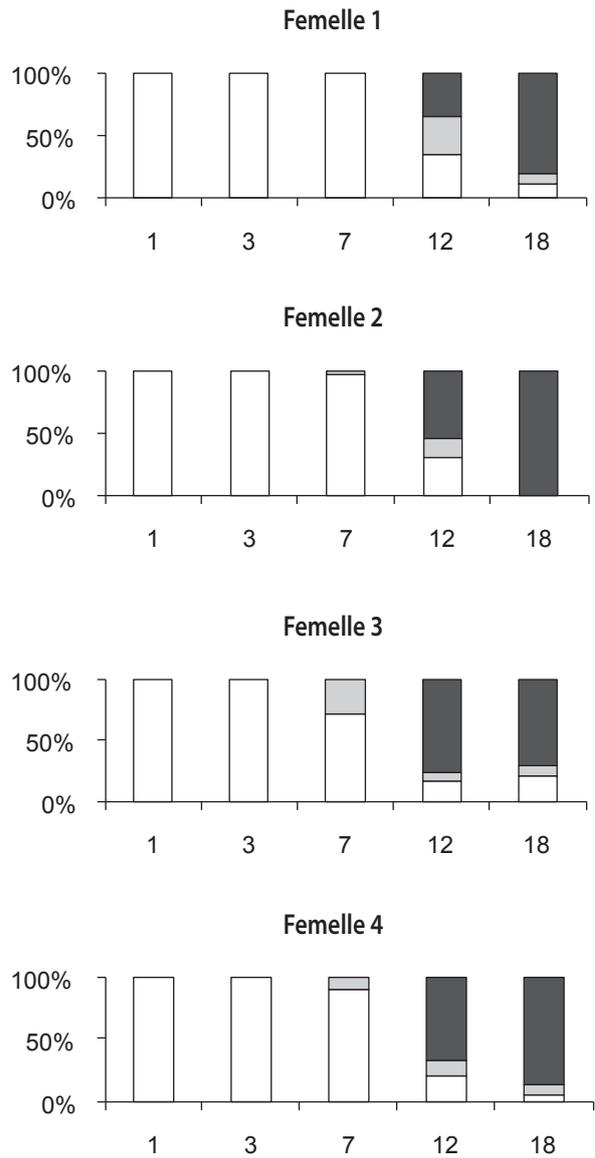
Dans l'ensemble, aucune différence de développement n'a été observée entre les larves produites par les différentes femelles ( $\chi^2 > 0,01$ ). Le stade intermédiaire auricularia est apparu au septième jour et une proportion assez faible de larves est passée au stade intermédiaire du septième au douzième jour (figure 6). Toutes femelles confondues, les larves restantes avaient, pour la plupart, atteint le stade final auricularia au dix-huitième jour. Toutefois, de jour en jour, le rythme de développement était différent selon que les larves provenaient de l'une ou l'autre génitrice ( $\chi^2 < 0,01$ ). En outre, pour le stade final auricularia, le nombre de nodules hyalins présents dans les replis de la frange ciliée ne variait pas d'une femelle à l'autre ( $p > 0,05$ ). On retrouvait aussi ce constat pour la proportion de larves restantes en cours de métamorphose (figure 7). En ce qui concerne les larves des femelles F3 et F4, le rythme de transition au stade final auricularia après le douzième jour était plus soutenu et, au vingt-deuxième jour, on observait une proportion supérieure qui se métamorphosait plus tôt ( $p < 0,01$ ).

**Discussion**

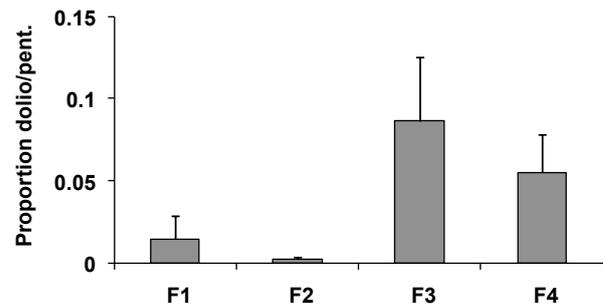
**Croissance et forme des larves**

Aucune corrélation n'a pu être établie entre la croissance et l'origine des œufs pour les larves des différentes femelles. Par ailleurs, les différences entre les caractéristiques morphologiques des larves produites par les différentes femelles étaient limitées. Toutefois, les ratios longueur de la frange ciliée-longueur des larves variaient d'une femelle à l'autre. On a pu également établir une corrélation avec la proportion d'embryons présentant des caractéristiques de développement « normal ». L'utilisation des ratios longueur de la frange ciliée-longueur des larves pour déterminer les différences entre les larves produites par les différentes femelles ainsi que leur relation avec le développement précoce des larves et les caractéristiques de la femelle génitrice pourrait se révéler intéressante et mérite d'être étudiée de façon plus approfondie.

D'autres études révèlent que la relation entre la taille des œufs et la forme des larves est inconsistante. Les larves à jeun obtenues à partir de petits œufs de *Pisaster ochraceus* étaient plus larges que les larves à jeun ou nourries obtenues à partir d'œufs de taille supérieure, traduisant une augmentation de la longueur de la frange ciliée (George, 1999). Les larves de *Strongylocentrotus droebachensis* étaient plus grandes là où l'alimentation était abondante, sachant que les œufs provenaient de géniteurs maintenus en captivité dans des conditions où les rations alimentaires étaient faibles ; notons qu'aucune différence n'a été observée dans la taille des œufs (Meidel et al., 1999). D'un autre côté, les larves de *S. droebachensis* obtenues à partir de grands œufs dans un site de faible profondeur et abondant en nourriture étaient plus grandes, que leur ration alimentaire soit faible ou élevée, mais la tendance était plus évidente lorsque les rations alimentaires étaient faibles (Bertram et Strathmann, 1998). Toutefois, aucune corrélation n'a été établie entre la taille et la forme des larves de *S. droebachensis*, *S. purpuratus*, *S. franciscanus*, *Dendraster excentricus*, *Heterocentrotus mammillatus*,



**Figure 6.** Développement des larves produites par les différentes femelles, si jour 1 = jour 1 à partir du moment où les larves sont alimentées pour la première fois (âge des larves = jour 1 plus 3 jours). Axe des abscisses = jours ; axe des ordonnées = proportion de larves à chaque stade (%). Blanc = auricularia initial ; gris = auricularia intermédiaire ; noir = auricularia final.



**Figure 7.** Proportion de larves survivantes au 22<sup>e</sup> jour, provenant des femelles F1, F2, F3 et F4, qui étaient soit au stade doliolaria soit au stade pentacula (moyenne ± erreur-type).

*Colobocentrotus atratus* et *Tripneustes gratilla* et la taille des œufs (McEdward, 1986).

### Survie et viabilité des larves

L'indice de survie-viabilité, utilisé comme mesure de la compétence larvaire, était corrélé avec à la fois la taille des œufs et leur nombre, établissant une distinction entre les larves issues des différentes femelles. Les effets de l'alimentation de la mère sur les œufs et les progénitures sont fréquents, même chez les animaux où les géniteurs ne prennent pas soin des progénitures, et concernent la performance et la survie (Bertram et Strathmann, 1998). La survie, définie comme la capacité d'achever le cycle larvaire par rapport au nombre de larves atteignant le stade final auricularia, était supérieure pour les femelles qui avaient produit des œufs plus nombreux et de taille supérieure. Par ailleurs, cet indice de viabilité était faiblement associé au nombre moyen de nodules présents dans les replis de la frange ciliée avant la métamorphose.

L'ajout d'un indice de survie-viabilité aux mesures de la réussite de reproduction (voir Levitan, 2005) est une façon de déterminer en quoi l'ascendance influe en aval (Marshall et al., 2004 ; Evans et Marshall, 2005) sur la future fraction d'ovocytes fécondés. On a pu établir une corrélation entre une modification de la taille des œufs et la viabilité larvaire chez les oursins *Strongylocentrotus droebachensis* et *S. purpuratus* (Sinervo et McEdward, 1988). Lorsqu'une diminution de la taille des œufs donnait des larves de taille inférieure et de morphologie plus simple, le développement subséquent était plus lent au stade du premier nourrissage, et les effets de la taille des œufs se limitaient aux premiers stades larvaires (Sinervo et McEdward, 1988).

### Développement des larves

Si, dans l'ensemble, aucune différence de développement n'a été observée entre les larves produites par les différentes femelles, le rythme de développement était variable. Toutefois, tout comme pour la croissance, le développement semble dissocié de toute influence de la femelle et n'était lié d'aucune façon aux attributs de la génitrice. Ainsi, les larves de la femelle F4 se développaient à un rythme proche de celui des larves de F2, alors que l'indice de survie-viabilité, le nombre d'œufs et la taille des œufs de F4 étaient significativement inférieurs. On ne retrouve pas systématiquement de relation directe entre le nombre et/ou la taille des œufs et le développement larvaire, comme le révèlent les études sur l'étoile de mer *Solaster stimpsoni* et d'autres études sur l'oursin *S. droebachensis* (McEdward et Carson, 1987 ; Bertram et Strathmann, 1998 ; Meidel et al., 1999). Lorsque les géniteurs de *Strongylocentrotus droebachensis* recevaient des rations alimentaires élevées, le taux de métamorphose larvaire était supérieur et la métamorphose était plus précoce (Meidel et al., 1999).

Une autre étude sur l'étoile de mer *Pisaster ochraceus* a montré que la forte corrélation existant entre le développement larvaire et l'origine maternelle ne pouvait être observée que durant la phase intermédiaire du cycle larvaire (George, 1999). Dans la présente étude, la vitesse de transition des larves produites par les différentes

femelles au stade final auricularia déterminait la proportion de larves achevant leur métamorphose et la précocité de cette métamorphose. Néanmoins, la corrélation entre l'apparition des nodules hyalins chez les larves et les attributs des génitrices était limitée. Par ailleurs, aucune différence n'a été observée au niveau du nombre de nodules hyalins présents chez les larves provenant des différentes femelles.

De précédentes études ont permis de déterminer que ces nodules hyalins ne sont pas indispensables à la métamorphose, puisqu'on a observé que des larves dépourvues de nodules étaient capables de se fixer et de survivre à toutes les étapes de développement (Smiley, 1986 ; McEuen et Chia, 1991 ; Dautov et Kashenko, 1995 ; Dautov, 1997 ; Sewell et McEuen, 2002). Cela dit, il se peut que les nodules hyalins aient pour fonction d'alimenter la métamorphose en agissant comme réservoir, ce qui permettrait de répondre aux besoins structurels associés aux changements morphogéniques se produisant au cours de la métamorphose et d'accroître les probabilités de survie après fixation des larves (voir Sewell et McEuen, 2002). En conséquence, il est possible qu'il y ait une synergie entre le rythme de transition entre les stades larvaires et le rapport entre le nombre moyen de nodules et l'indice de survie-viabilité, traduisant une contribution différente des génitrices au cycle de vie larvaire.

### Conclusion

En conclusion, il semble qu'il y ait un lien entre le développement précoce des embryons et le ratio longueur de la frange ciliée-longueur totale des larves issues des différentes femelles. En outre, il semble y avoir une corrélation entre l'indice de survie-viabilité larvaire et les caractéristiques de la génitrice, en l'occurrence le nombre et la taille des œufs libérés. Il semblerait néanmoins que la croissance et le développement ultérieur des larves soient dissociés de ces caractéristiques. Une corrélation limitée entre les caractéristiques de la génitrice et le phénotype a pu être établie pour les larves issues des différentes femelles. Ces caractéristiques devraient faire l'objet d'une étude plus approfondie pour déterminer la nature des relations causales.

### Remerciements

Je tiens à remercier Russ Babcock et Mary Sewell pour leur contribution à la conception de ces recherches, ainsi que Lisa Hack pour son aide sur le terrain, au laboratoire et à l'écloserie pendant la saison de ponte. J'aimerais également remercier le personnel du laboratoire de biologie marine Leigh de l'Université d'Auckland, qui a participé à la construction des équipements et à l'aménagement des installations, Sophie George pour ses conseils et ses commentaires sur la conception de l'expérience, et Richard et Megumi Strathmanns pour la conception de l'agitateur à pales maison.

### Bibliographie

Archer J.E. 1996. Aspects of the reproductive and larval biology and ecology, of the temperate holothurian *Stichopus mollis* [MSc thesis]. New Zealand: University of Auckland. 189 p.

- Asha P.S. et Muthiah P. 2002. Ponte et élevage de larves de l'holothurie *Holothuria (Theelothuria) spinifera* Theel. La Bêche-de-mer, Bulletin d'information de la CPS 16:11–15.
- Battaglione S.C., Seymour E.J. and Ramofafia C. 1999. Survival and growth of cultured juvenile sea cucumbers *Holothuria scabra*. *Aquaculture* 178:293–322.
- Bertram D.F. and Strathmann R.R. 1998. Effects of maternal and larval nutrition on growth and form of planktotrophic larvae. *Ecology* 79(1):315–327.
- Chen C.-P., Hsu H.-W. and Deng D.-C. 1991. Comparison of larval development and growth of the sea cucumber *Actinopyga echinites*: ovary induced and DTT-induced ova. *Marine Biology* 109:453–457.
- Dautov S.S. and Kashenko S.D. 1995. Hyaline spheres in auricularia of *Stichopus japonicus*. *Invertebrate Reproduction and Development* 27(1):61–64.
- Dautov S.S. 1997. Structure and properties of hyaline spheres in holothuroid larvae. *Invertebrate Reproduction and Development* 32(2):155–161.
- George S.B., Cellario C. and Fenaux L. 1990. Population differences in egg quality of *Arbacia lixula* (Echinodermata: Echinoidea): proximate composition of eggs and larval development. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 141:107–118.
- George S.B. 1999. Egg quality, larval growth and phenotypic plasticity in a forcipulate seastar. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 237:203–224.
- Giraspy D.A.B. and Ivy G. 2005. Australia's first commercial sea cucumber culture and sea ranching project in Hervey Bay, Queensland, Australia. *SPC Beche-de-mer Information Bulletin* 21:29–31.
- Giraspy D.A.B. and Ivy G. 2006. Dans le Queensland (Australie), élaboration de techniques de production en éclosérie à grande échelle de *Holothuria scabra* var. *versicolor* (Conand, 1986), espèce très prisée sur les marchés. La Bêche-de-mer, Bulletin d'information de la CPS 24:28–34.
- Ito S. 1995. Studies on the technological development of the mass production for sea cucumber juvenile, *Stichopus japonicus*. Japan: Saga Prefectural Sea Farming Centre. 87 p.
- James F.C. and McCulloch C.E. 1990. Multivariate analysis in ecology and systematics: Panacea or Pandora's Box. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:129–166.
- James D.B., Gandhi A.D., Palaniswamy N. and Rodrigo J.X. 1994. Hatchery techniques and culture of the sea cucumber *Holothuria scabra*. CMFRI Special Publication. 57. India: Central Marine Fisheries Research Institute.
- James B.D. 2004. Captive breeding of the sea cucumber, *Holothuria scabra*, from India. p. 347–358. In Lovatelli A., Conand C., Purcell S. Uthicke S., Hamel J.-F., Mercier A. (eds). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*. FAO Fisheries Technical Paper 463. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Laximinarayana A. 2005. Induction de la ponte et élevage des larves des holothuries *Bohadschia marmorata* et *Holothuria atra* à l'île Maurice. La Bêche-de-mer, Bulletin d'information de la CPS 22:48–52.
- Levitan D.R. 2005. The distribution of male and female reproductive success in a broadcast spawning marine invertebrate. *Integr. Comp. Biol.* 45:848–855.
- Liu X.Y., Zhu G.H., Zhao Q., Wang L. and Gu B.X. 2004. Studies on hatchery techniques of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. p. 287–295. In Lovatelli A., Conand C., Purcell S. Uthicke S., Hamel J.-F., Mercier A. (eds). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*. FAO Fisheries Technical Paper 463. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Marshall D.J., Steinberg P.D. and Evans J.P. 2004. The early sperm gets the good egg: mating order effects in free spawners. *Proceedings of the Royal Society of London* 271:1585–1589.
- Martinez P.C. and Richmond R.H. 1998. Effect of diet on growth and larval development of the sea cucumber *Holothuria nobilis* in Guam. In Mooi R. and Telford M. (eds). *Echinoderms*. Rotterdam: Balkema. 480 p.
- McEdward L.R. 1986. Comparative morphometrics of echinoderm larvae. I. Some relationships between egg size and initial larval form in echinoids. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 96:251–265.
- McEdward L.R. and Carson S.F. 1987. Variation in egg organic content and its relationship with egg size in the starfish *Solaster stimpsoni*. *Marine Ecology Progress Series* 37:159–169.
- Meidel S.K., Scheibling R.E. and Metaxas A. 1999. Relative importance of parental and larval nutrition on larval development and metamorphosis of the sea urchin *Strongylocentrotus droebachensis*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 240:161–178.
- Mercier A., Battaglione S.C. and Hamel J.-F. 2000. Settlement preferences and early migration of the tropical sea cucumber *Holothuria scabra*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 249:89–110.
- Mercier A., Hidalgo R.Y. and Hamel J.F., 2004. Aquaculture of the Galapagos sea cucumber *Isostichopus fuscus*. p. 347–358. In: Lovatelli A., Conand C., Purcell S. Uthicke S., Hamel J.-F., Mercier A. (eds). *Advances in sea cucumber aquaculture and management*. FAO Fisheries Technical Paper 463. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Morgan A.D. 2000. Induction of spawning in the sea cucumber *Holothuria scabra* (Echinodermata: Holothuroidea). *Journal of the World Aquaculture Society* 31(2):186–194.

- Morgan A.D. 2001. Les effets de la disponibilité en nourriture sur le début de la croissance, le développement et la survie de l'holothurie *Holothuria scabra* (Echinodermata: Holothuridea). La Bêche-de-mer, Bulletin d'information de la CPS 14:6–12.
- Morgan A.D. 2008a. Spawning of the temperate sea cucumber, *Australostichopus mollis* (Levin). Journal of the World Aquaculture Society. In press.
- Morgan A.D. 2008b. The assessment of egg and larval quality during hatchery production of the temperate sea cucumber *Australostichopus mollis*. Journal of the World Aquaculture Society.
- Morgan A.D. 2008c. The effect of food availability on phenotypic plasticity in larvae of the temperate sea cucumber *Australostichopus mollis*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 363(1-2):89–95.
- Pitt R., Dinh N. and Duy Q. 2004. Breeding and rearing of the sea cucumber *Holothuria scabra* in Viet Nam. p. 333–346. In Lovatelli A., Purcell C., Uthicke S., Hamel J.-F., Mercier A. (eds). Advances in sea cucumber aquaculture and management. FAO Fisheries Technical Paper 463. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Ramofafia C., Gervis M.G. and Bell J. 1995. Reproduction et élevage de larves d'*Holothuria atra*. La Bêche-de-mer, Bulletin d'information de la CPS 7:2–6.
- Sewell M.A. 1992. Reproduction of the temperate aspidochirote *Stichopus mollis* (Echinodermata: Holothuroidea). Ophelia 35(2):103–121.
- Sewell M.A. and McEuen F.S. 2002. Phylum Echinodermata: Holothuroidea. p. 513–530. In Young C.M. (ed). Atlas of Marine Invertebrate Larvae. San Diego (CA): Academic Press.
- Sinervo B. and McEdward L.R. 1988. Developmental consequences of an evolutionary change in egg size: An experimental test. Evolution 42(3):885–899.
- Smiley S. 1986. Metamorphosis of *Stichopus californicus* (Echinodermata: Holothuroidea) and its phylogenetic implications. Biology Bulletin 171:611–631.
- Sui S. 2004. The progress and prospects of studies on artificial propagation and culture of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. Advances in sea cucumber aquaculture and management. Ed. Alessandro Lovatelli. FAO Fisheries Technical Paper 463:273–276.
- Wang R. and Chen Y. 2004. Breeding and culture of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus*, Liao. p. 277–286. In Lovatelli A., Conand C., Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F., Mercier A. (eds). Advances in sea cucumber aquaculture and management. FAO Fisheries Technical Paper 463. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.