

# Apparition et développement des éléments squelettiques chez les larves et les juvéniles épibiontes de *Holothuria scabra*

Richard Rasolofonirina<sup>1,2</sup> and Michel Jangoux<sup>2,3</sup>

## Résumé

Différents types de structures calcaires ont été observés chez les larves et juvéniles épibiontes de l'holothurie *Holothuria scabra* à des âges et des stades de développement différents. Un corps calcaire impair s'observe dès le stade dipleurula (moins de deux jours après la fécondation); il se localise dans la partie postérieure des jeunes larves (36 h); il croît, change d'aspect (d'étoilé, il devient hémisphérique) et est toujours présent chez les juvéniles épibiontes. Le madréporite apparaît chez l'auricularia âgée (10 jours) sous l'aspect d'une tigelle arquée située à la base du canal de l'hydropore; il se développe pour former une sphère grillagée chez les larves pentactula et les juvéniles. Des tourelles se reconnaissent dès le stade doliolaria (15 jours) et le début de la formation de la couronne calcaire péripharyngienne se note au stade pentactula (17 jours). Les premiers bâtonnets et disques perforés des podia apparaissent chez les juvéniles de 20 jours, les plaques anales dès le jour 22 et les spicules en boutons ne se développent qu'en fin de vie épibionte (45 jours).

## Introduction

Les éléments calcaires du tégument, des tentacules buccaux et des podia des holothuries constituent d'importants caractères taxonomiques. Ces éléments toutefois se modifient en cours de croissance et pourront être très différents chez les juvéniles et les adultes d'une même espèce (Féral, 1980; Cutress, 1996; Massin *et al.*, 2000). Ces différences concernent surtout la taille et/ou l'architecture des éléments (plus grand, plus petit, plus complexe, plus simple), mais elles peuvent aussi être liées à la disparition précoce et/ou l'apparition tardive de certains d'entre eux. Massin *et al.* (2000) ont décrit en détail la diversité des spicules présents chez les juvéniles de *Holothuria scabra*. Toutefois, hormis celles que l'on trouve parmi les travaux généralistes et assez anciens de Mortensen (1921, 1937, 1938), il n'y a guère d'informations disponibles sur les structures calcaires que présentent les larves d'holothuries (voir, e.g., Hamel *et al.* 2002, Sewell et McEuen 2002). Le présent travail s'intéresse à ces structures chez les stades pré- et immédiatement post-métamorphiques de l'espèce *H. scabra*. Il a pour but de déceler leur moment d'apparition, de les décrire et d'en suivre la croissance de la jeune larve au juvénile épibionte.

## Matériel et méthodes

Les larves et juvéniles analysés sont issus des fécondations et élevages réalisés au laboratoire "Aqua-lab" de Toliara (côte sud ouest de Madagascar) (Jangoux *et al.* 2002, Rasolofonirina 2004). Un suivi journalier de la formation et du développement des éléments calcaires a été réalisé dès le stade gastrula et jusqu'à la fin de la vie épibionte des juvéniles (c'est à dire environ 50 jours après la fécondation, quand les juvéniles deviennent fouisseurs [endobiontes]). Pour ce faire des lots de plusieurs dizaines de larves ont été fixés à l'éthanol 70 %, placés dans un verre de montre et plongés 10 min dans une eau de Javel à 10 %. Le digesta est ensuite rincé six fois à l'eau distillée, séché, métallisé à l'or et observé au microscope

électronique à balayage (JEOL JSM- 6100). On procède semblablement avec les juvéniles sauf que le séjour dans l'eau de Javel est prolongé et se fait sous surveillance microscopique (suivi de la digestion des tissus charnus). La localisation des éléments calcaires au sein des larves est réalisée au microscope photonique avec filtre polarisant. Leur localisation au sein des juvéniles entiers est facilitée par immersion de ceux-ci dans de l'eau distillée; les individus sont ainsi rendus turgescents et les éléments calcaires aisément visualisés à la loupe binoculaire et au microscope photonique avec filtre polarisant.

## Résultats

Les différentes structures calcaires observées chez les larves et les juvéniles épibiontes ainsi que le moment de leur apparition au cours du développement sont présentés dans le tableau 1.

### Les formations calcaires des larves

#### Le corps calcaire

Le corps calcaire est le premier élément calcifié à se différencier (Fig. 1A). Il apparaît, dès 36 h après la fécondation, dans la partie postérieure du blastocoele des larves. Il s'y présente sous la forme d'une étoile à cinq branches d'environ 13  $\mu\text{m}$  de diamètre (Fig. 2A). L'étoile s'accroît par multiplication et ramification de ses branches (Fig. 2B) et forme chez les auricularia âgées (10 jours) une demi-sphère de quelque 50  $\mu\text{m}$  de diamètre dont la face aplatie est orientée vers l'avant. Le corps calcaire des auricularia est relativement lisse mais des protubérances épineuses apparaîtront progressivement sur sa face arrondie (face postérieure) (Fig. 2C), la face aplatie gardant un relief peu marqué (Fig. 2D). Pendant toute la durée du développement, le corps calcaire ne change pas de localisation (dans le lobe postérieur des larves, dans la partie postérieure du corps des juvéniles) (Fig. 1A. et 1C).

1. Institut Halieutique et des Sciences Marines, Université de Toliara, BP 141, Toliara 601, Madagascar, [aqua-lab@malagasy.com](mailto:aqua-lab@malagasy.com).  
2. Laboratoire de Biologie Marine CP 160/15, Université Libre de Bruxelles, 50 Av. F. D. Roosevelt, B-1 050 Bruxelles, Belgique.  
3. Laboratoire de Biologie Marine, Université de Mons-Hainaut, 20 Place du Parc, 7 000 Mons, Belgium.

**Tableau I.** *Holothuria scabra*: types et chronologie d'apparition des structures calcaires des larves et juvéniles épibiontes. (B = boutons, BT = bâtonnets des tentacules, BP = bâtonnets des podia, CC = Corps calcaire, CCP = couronne calcaire péripharyngienne, DTP = disque terminal des podia, M = madréporite, PPA = plaque perforée anale, PPP = plaque perforée des podia, T = tourelle, + = présence de la structure considérée).

Âge (jours)	Stade de développement	Type de structure calcaire									
		CC	M	CCP	Spicules						
					T	BT	BP	DTP	PPA	PPP	B
1,5	Dipleurula	+									
3	Auricularia	+									
10	Auricularia	+	+								
15	Doliolaria	+	+	+	+						
17	Pentactula	+	+	+	+						
20	Juvénile	+	+	+	+	+	+	+	+		
22	Juvénile	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
45	Juvénile	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

### Le madréporite

Le madréporite est la seconde formation calcaire à s'individualiser chez la larve. Il apparaît chez les auricularia âgées (10 jours) où il s'observe dans la région dorso-latérale gauche du corps larvaire formant une tigelle arquée d'environ 40  $\mu\text{m}$  de long. Cette tigelle est située à la base du canal de l'hydropore (Fig. 2E). Elle s'allonge au cours du développement pour former un anneau entourant la base de ce même canal (Fig. 1B). L'anneau se ramifie ensuite pour constituer comme une sorte de sphère vide à paroi grillagée mesurant de 45 (larves doliolaria) à 50  $\mu\text{m}$  (juvéniles de 25 jours) de diamètre (fig. 2F).

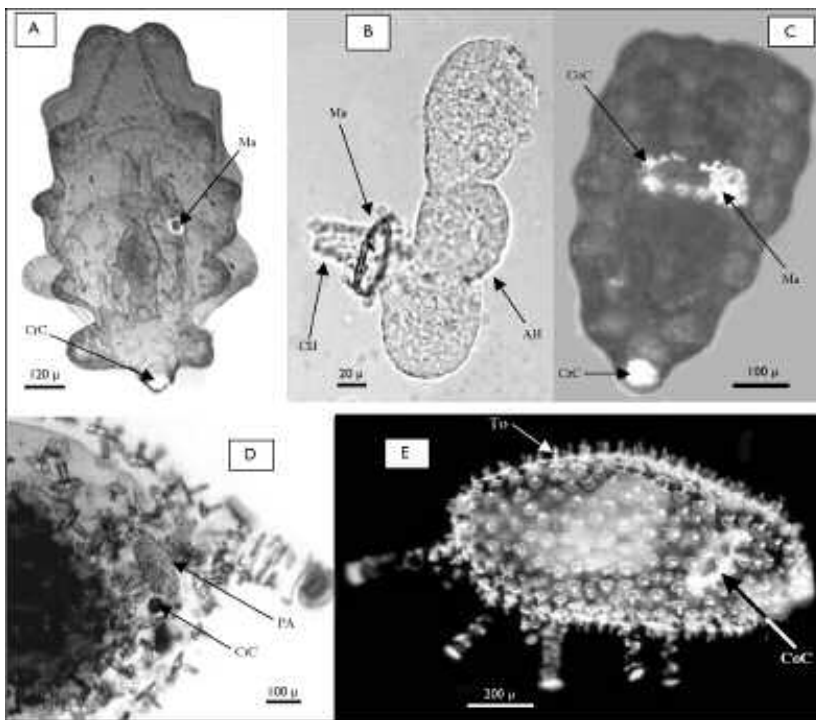
### La couronne calcaire péripharyngienne

La couronne calcaire péripharyngienne apparaît dès le stade doliolaria (Fig. 1C). Elle entoure l'oesophage de la larve et est formée de dix éléments juxtaposés, cinq radiaires et cinq interradianes.

Chaque élément se forme à partir d'une baguette principale qui s'allonge tout en se ramifiant à ses deux extrémités. Chez les pentactula, les pièces interradianes ne sont pas compactes mais formées d'une tige médiane impaire des extrémités de laquelle partent des tigelles anastomosées (Fig. 3A). Chez les juvéniles, les tigelles deviennent plus nombreuses et plus massives. Chez les juvéniles plus âgés, les tigelles se soudent et les extrémités de chaque pièce deviennent compactes. La taille de la couronne calcaire augmente au cours de la croissance des individus.

### Les spicules en tourelles

Les tourelles sont constituées d'un socle et d'une flèche. Ce sont le premier type de spicules intra-tégumentaires à se développer chez *H. scabra*. Elles apparaissent chez les doliolaria sous la forme de petites structures en diabolo de 7  $\mu\text{m}$  de long (Fig. 3B). Les diabolos s'allongent ensuite, leurs extrémités libres se ramifiant pour former une croix à quatre branches (branches



**Figure 1.** *Holothuria scabra*.

Localisation des structures calcaires chez les larves auricularia (A,B) et doliolaria (C) et chez les juvéniles épibiontes (D,E); (AH = Axo-hydrocoele, CH = Canal hydrophore, CoC = Couronne calcaire, CrC = Corps calcaire, Ma = madréporite, PA = Plaque anale, To = tourelle).

primaires) (Fig. 3C). Les extrémités des branches primaires se ramifient à leur tour pour donner des branches secondaires (Fig. 3D), puis tertiaires. Ces dernières se rapprochent tout en poursuivant leur croissance; elles finissent par se rejoindre et se souder deux à deux pour former des anneaux fermés et constituer un disque perforé (Fig. 3E). Quatre protubérances s'individualisent alors du milieu de chacune des branches primaires. Elles développent autant de tigelles qui s'allongent verticalement pour ensuite se contacter l'une l'autre latéralement, par de courtes jonctions transversales disposées comme les barreaux d'une échelle, l'ensemble formant la flèche du spicule (Fig. 3F). L'élaboration complète d'un tel spicule prend de l'ordre de quatre jours; il atteint alors une hauteur d'environ 70  $\mu\text{m}$ . Les tourelles des doliolaria et des pentactula apparaissent toujours en formation, les premières tourelles complètes ne s'observant que chez les individus devenus juvéniles. Chez ces derniers on les remarque sur toute l'étendue de tégument et dans la paroi des podia, des papilles et des tentacules buccaux (Fig. 1E). Les flèches des tourelles sont toujours dirigées vers l'extérieur, formant autant de petites excroissances tégumentaires.

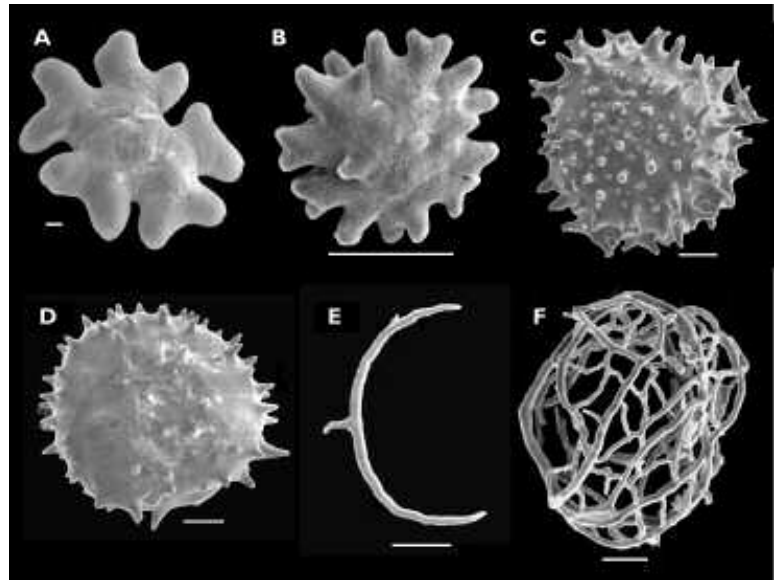
### Les formations calcaires des juvéniles

Tous les éléments calcifiés qui s'installent lors de la vie larvaire persistent chez les juvéniles épibiontes. D'autres vont se différencier dès le début de la vie juvénile.

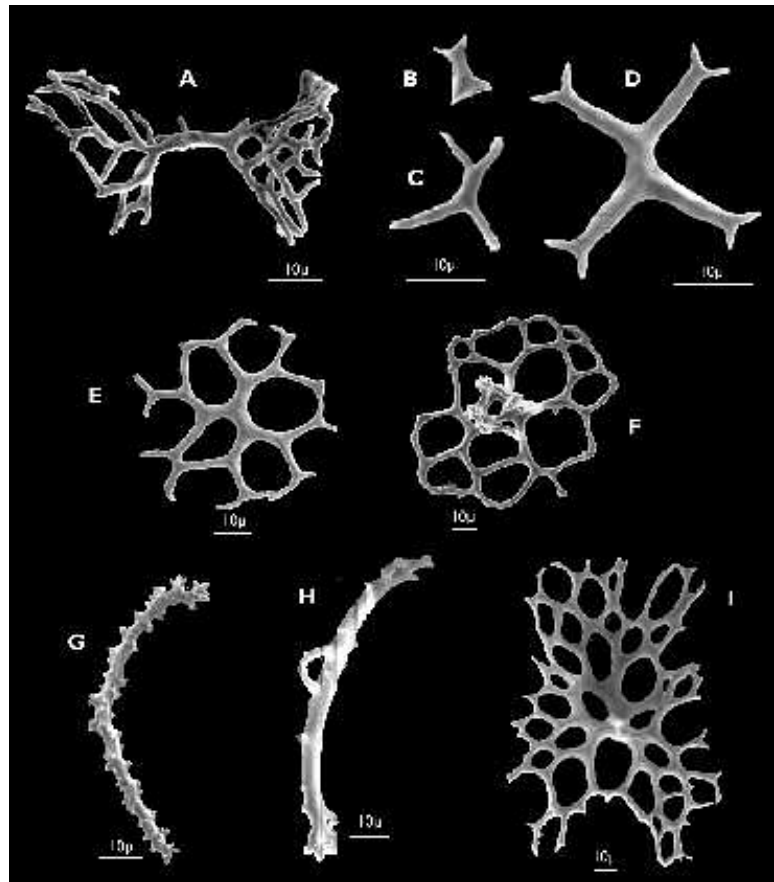
### Les bâtonnets des podia et des tentacules, les disques terminaux des podia et les plaques anales

Toutes ces structures apparaissent en même temps, au vingtième jour après la fécondation. Les bâtonnets des podia et des tentacules buccaux ont une forme incurvée. Ils sont légèrement (podia) à fortement (tentacules) épineux, ceux des podia étant les plus courts (de l'ordre de 75  $\mu\text{m}$  contre 95  $\mu\text{m}$  pour les bâtonnets des tentacules) (Fig. 3G,H).

Les disques terminaux des podia sont des spicules ajourés de forme circulaire formés d'un réseau de trabécules anastomosées. Ils se forment à l'apex de chaque podia et atteignent jusqu'à 110  $\mu\text{m}$  de diamètre chez les juvéniles de 27 jours.



**Figure 2.** *Holothuria scabra*: Corps calcaire (2A–D) et madréporite (2E–F) chez les larves dipleurula (2A; âge 36h), auricularia (2B; âge 45h et 2E; âge 11 jours) et les juvéniles épibiontes (2C,D,F; âge 30 jours). Echelle: A (Barre = 1  $\mu\text{m}$ ); B-F (Barre = 10  $\mu\text{m}$ ).



**Figure 3.** *Holothuria scabra*: Pièce interradiaire de la couronne calcaire péripharyngienne d'une larve pentactula de 17 jours (3A); étapes du développement d'une tourelle (3B–F), vues des spicules en bâtonnet des tentacules (3G) et des podia (3H); plaque perforée anale (3I). Echelle: barre = 10  $\mu\text{m}$  (A–I).

Les plaques anales sont formées de deux larges spicules perforés qui se notent dans la partie postérieure des juvéniles au voisinage de l'anus (Fig. 1D). Elles apparaissent chez les juvéniles de 22 jours. Elles n'ont ni la même taille, ni la même forme: au 27<sup>ème</sup> jour, la plaque anale droite mesure de l'ordre de 220  $\mu\text{m}$  de long et 160  $\mu\text{m}$  de large, contre 170 sur 115  $\mu\text{m}$  pour la gauche (Fig. 1D; 3I). Les plaques anales se développent sur le même mode que le socle des tourelles, c'est-à-dire à partir d'un élément principal qui se ramifie, forme des branches primaires à tertiaires qui se rejoignent et se soudent pour former des anneaux fermés (Fig. 3I).

### Les spicules de type boutons

Les boutons apparaissent chez les juvéniles en fin de vie épibiontes (juvéniles de 40 à 50 jours mesurant de 10 à 15 mm de longueur). L'apparition des boutons semble dépendre plutôt de la taille atteinte par l'individu que de son âge: ils se remarquent en plus forte densité chez les individus les plus grands.

### Discussion

L'essentiel des spicules intra-tégumentaires de *Holothuria scabra* se différencient après la métamorphose, les tourelles étant le seul type de spicules à s'observer à l'état d'ébauches en fin de vie larvaire (stade doliolaria). Inversement tout suggère que le corps calcaire impair, qui apparaît très précocement (larve de 36h) au cours du développement, soit une formation proprement larvaire; il disparaît en effet chez le juvénile un certain temps après la métamorphose (Mortensen 1937, Massin *et al.* 2000). D'autres éléments calcifiés, qui ne sont pas des spicules, se mettent en place précocement (le madréporite chez l'auricularia; la couronne calcaire chez la doliolaria) pour poursuivre leur développement et persister chez les individus postmétamorphiques.

La présence dans la partie postérieure des larves d'une structure calcaire désignée sous le nom de corps calcaire a été mentionnée chez diverses espèces d'Holothuriidae, dont *Holothuria scabra*, par Mortensen (1921, 1937, 1938; voir aussi Ramofafia *et al.* 2003). Selon les espèces et en relation avec son stade d'élaboration, le corps calcaire se présente sous diverses formes: arrondie, aplatie, étoilée, ou plurilobée (Mortensen 1937, 1938). Chez *H. scabra*, il s'individualise dès le début de la vie larvaire et apparaît sous la forme d'une structure étoilée qui, progressivement, devient hémisphérique. Le corps calcaire est présent pendant toute la durée de la vie larvaire et se remarque encore chez les juvéniles épibiontes (voir aussi Massin *et al.* 2000). Bien que présent chez les larves de nombreuses espèces, le rôle de ce corps calcaire reste énigmatique. Peut-être participe-t-il à la stabilisation de la larve lors de ses déplacements? En effet les larves auricularia, doliolaria et pentactula nagent en effectuant des rotations autour de leur axe antéro-postérieur (axe vertical) qui passe par le corps calcaire. Les larves en mouvement gardent toujours la partie postérieure (là où se loge le corps calcaire) vers le bas pendant leurs déplacements verticaux ascendants ou descendants, un peu comme si elles étaient lestées (Rasolofonirina, 2004).

Le développement des spicules chez les juvéniles de *H. scabra* a été étudié par Massin *et al.* (2000). Ces auteurs rapportent que chez les juvéniles de 0.9 mm de longueur, la couronne calcaire péripharyngienne est composée de dix pièces non soudées (5 grandes pièces présumées radiales et 5 plus petites dites interradianes). Ils ont aussi mentionné la présence de larges plaques perforées chez les juvéniles de moins de 6 mm de long mais ne précisent pas leur position ni leur nombre; ce sont vraisemblablement des plaques anales. Selon eux ces plaques disparaissent chez les individus de plus de 6 mm, alors que nous les avons observées chez des juvéniles âgés de 45 jours (environ 18 mm de longueur). La présence de telles plaques anales a été signalée chez les juvéniles de l'espèce *Holothuria floridana* par Edwards (1909). Edwards ne parle pas de leur devenir mais émet l'hypothèse que ces plaques seraient les vestiges de dents anales telles qu'on en observe chez les espèces d'*Actinopyga*.

### Remerciements

Travail réalisé grâce au soutien financier de la Coopération Universitaire au Développement (CUD, Belgique) dans le cadre du projet "Echinoculture tropicale à Madagascar". Tous nos remerciements à MM J. M. Ouin et Pol Postiau pour leur aide technique. Contribution du "Centre Interuniversitaire de Biologie Marine (CIBIM)".

### Bibliographie

- Cutress B.M. 1996. Changes in dermal ossicles during somatic growth in Caribbean littoral sea cucumbers (Echinodermata: Holothuroidea: Aspidochirotida). *Bulletin of Marine Science* 58:44-116.
- Edwards C.L., 1909. The development of *Holothuria floridana* Pourtalés with especial reference to the ambulacral appendages. *Journal of Morphology* 20:211-230.
- Féral J.P. 1980. Variation de la spiculation au cours de la croissance chez *Neopentactyla mixta* (Östergren, 1898) (Holothuroidea, Phyllophoridae). *Cahiers de Biologie marine* 21:41-49.
- Hamel J.F., Conand C., Pawson D.L. and Mercier A. 2002. The sea cucumber *Holothuria scabra* (Holothuroidea: Echinodermata): Its biology and exploitation as Bêche-de-mer. *Advances in Marine Biology* 41:129-223.
- Jangoux M., Rasolofonirina R., Vaïtilingon D., Ouin J.M., Seghers G., Mara E. and Conand C. 2001. A sea cucumber hatchery and mariculture project in Toliara, Madagascar. *SPC Beche-de-Mer Information Bulletin* 14:2-5.
- Massin C., Mercier A. and Hamel J.F. 2000. Ossicle change in *Holothuria scabra* with a discussion of ossicle evolution within the Holothuriidae (Echinodermata). *Acta Zoologica (Stockholm)* 81:77-91.

- Mortensen T. 1921. Studies of the development and larval forms of Echinoderms. Published at the Expense of the Carlsberg fund G.E.C.GAD, Copenhagen. 253 p.
- Mortensen D.T. 1937. Contributions to the study of the development and larval forms of echinoderms III. Mémoires de l'Académie Royale des Sciences et des Lettres de Danemark, Copenhague. Section des Sciences, 9eme série, VII, 1. 65 p.
- Mortensen D.T. 1938. Contributions to the study of the development and larval forms of echinoderms IV. Mémoires de l'Académie Royale des Sciences et des Lettres de Danemark, Copenhague. Section des Sciences, 9eme série, VII, 3. 59 p.
- Ramofafia C., Byrne M. and Battaglione S.C. 2003. Development of three commercial sea cucumbers, *Holothuria scabra*, *H. fuscogilva* and *Actinopyga mauritiana*: larval structure and growth. Journal of Marine and Freshwater Research 54:657-667.
- Rasolofonirina R. 2004. Reproduction et développement de l'holothurie comestible *Holothuria scabra* (Jaeger, 1833) (Holothuroïde: Echinodermata). Thèse de doctorat, Université Libre de Bruxelles, Bruxelles. 175 p.
- Sewell M.A. and McEuen F.S. 2002. Phylum Echinodermata: Holothuroïde. p. 513-530 In: Young C.M. (ed.). Atlas of marine invertebrates larvae. Academic Press.

### Base de données du bulletin *La Bêche-de-mer*

Tous les articles et les résumés publiés dans les 22 premiers numéros de ce bulletin ont été indexés dans une base de données accessible sur le site Internet de la CPS à:

[http://www.spc.int/coastfish/news/search\\_bdm.asp](http://www.spc.int/coastfish/news/search_bdm.asp)

On peut y faire des recherches à partir des champs suivants:

- nom scientifique de l'espèce
- titre de l'article
- nom de l'auteur
- pays
- région

Les résultats sont donnés dans un tableau qui permet de connaître le numéro du bulletin et de la page où apparaît l'article ou le résumé correspondant, la date de parution, le titre complet de l'article, le nom de l'auteur, ainsi que l'espèce, le pays et la région concernés. Un lien hypertexte permet de télécharger l'article (ou le bulletin complet) au format PDF.

Pour le moment, cette base de données n'est accessible que pour la version anglaise du bulletin. N'hésitez pas à envoyer vos commentaires et suggestions sur les moyens d'améliorer cette base de données et son accès à la Section Information de la CPS ([cfpinfo@spc.int](mailto:cfpinfo@spc.int)).