

# Induction de la ponte et élevage larvaire chez l'holothurie *Holothuria scabra* en Malaisie

Nurzafirah Mazlan<sup>1,\*</sup> et Ridzwan Hashim<sup>1</sup>

## Résumé

La ponte de l'holothurie *Holothuria scabra* a été induite par stimulation thermique et par adjonction d'algues. La stimulation thermique s'est révélée être la méthode la plus efficace. Les larves ont reçu un mélange de micro-algues, dont la concentration était déterminée en fonction de leur croissance. Des larves doliolaria sont apparues onze jours après la fécondation et sont ensuite devenues des pentactula, 18 jours après la fécondation. Un taux de survie de 4,2 % a été enregistré sur les trois épisodes de pontes induites.

**Mots-clés :** *Holothuria scabra*, technique d'induction, taux de survie, induction de la ponte par stimulation thermique.

## Introduction

La bêche-de-mer issue de la transformation d'*Holothuria scabra* est une source de revenus et de nourriture pour les communautés côtières de Malaisie orientale. Toutefois, une forte surpêche a conduit à une diminution importante des populations naturelles d'holothuries. Cette surexploitation continue risque d'avoir un impact considérable sur l'écosystème et l'environnement marin dans son ensemble (Conand 2004). Dans de nombreux pays tropicaux, des recherches sont menées pour déterminer s'il est possible de reconstituer et d'améliorer les stocks d'holothuries tropicales (Purcell et al. 2011, 2014 ; Eriksson et al. 2014 ; Watanabe et al. 2014). Il est également urgent de reconstituer et d'améliorer les stocks d'holothuries en Malaisie. Le présent article porte sur la reproduction et l'élevage de *H. scabra*, une espèce de grande valeur et largement répandue, actuellement la seule espèce tropicale pouvant être produite en masse dans des écloséries. Il s'agit du premier rapport sur la reproduction par induction de la ponte et l'élevage larvaire de *H. scabra* en Malaisie.

## Matériel et méthodes

### Collecte des géniteurs

En avril 2012, des spécimens *Holothuria scabra* en bonne santé, pesant entre 450 et 750 g, ont été recueillis dans leur milieu naturel par des plongeurs. Les géniteurs prélevés dans la zone côtière voisine ont ensuite été soigneusement transportés à l'éclosérie dans des bacs contenant de l'eau de mer fraîche, alors que ceux qui avaient été récoltés dans des zones plus éloignées ont été emballés dans des sacs en polyéthylène alimentés en oxygène et en eau de mer fraîche. Une fois à l'éclosérie, les géniteurs

ont été placés dans des bassins à circulation d'eau continue de 10 m<sup>3</sup> remplis d'un substrat sableux. Chaque bac contenait entre 30 et 40 animaux nourris de micro-algues, de macro-algues et de vase et le substrat était remplacé toutes les deux semaines.

### Induction de la ponte

Nous avons utilisé deux méthodes pour induire la ponte : la stimulation thermique et la stimulation par adjonction d'algues. La stimulation thermique s'est avérée être la meilleure méthode et a été utilisée par la suite.

Pour la stimulation thermique, 30 à 40 holothuries ont été lavées avec précaution et préparées pour la ponte. La température du bac de ponte a été augmentée de 3 à 5 °C par rapport à la température ambiante de 27–28 °C pour induire la ponte. Les mâles ont émis leur sperme 30 minutes après l'application du traitement thermique, pendant deux heures, et ensuite, après une heure, les femelles ont pondu.

Pour la stimulation par adjonction d'algues, 100 g de spiruline séchée ont été mélangés à de l'eau de mer et dissous dans un bac de ponte d'un litre. On a ajouté davantage de spiruline séchée lorsque la concentration n'était pas suffisante pour déclencher la ponte. Trente à quarante holothuries ont été introduites dans le bac, où on les a laissées pendant une heure pour la ponte. Une fois cette dernière terminée, les géniteurs ont été replacés dans les bacs qui leur étaient réservés.

Trois essais de ponte ont été réalisés pour chacune des méthodes d'induction de la ponte. Après chaque ponte réussie, les œufs ont été recueillis, lavés avec des tamis de 75 µm et comptés à l'aide d'un hémocytomètre.

<sup>1</sup> Department of Biomedical Science, Kulliyah of Allied Health Science, International Islamic University Malaysia, Jalan Sultan Ahmad Shah, 25200 Kuantan, Pahang

\* Auteur à contacter : m.nurzafirah@gmail.com

### Élevage larvaire

Les larves ont été stockées dans un bac d'élevage larvaire de 1 000 litres, avec une densité de stockage de 200 à 250 larves par litre. Le bac contenait de l'eau de mer filtrée à 1  $\mu\text{m}$  et stérilisée aux UV, maintenue à une température comprise entre 26 et 30 °C. La salinité oscillait entre 32 et 36 ppm et le pH entre 8,0 et 8,2. Chaque jour, on a vérifié les changements intervenus au niveau de la forme, de la taille et du stade de développement des larves, ainsi que la présence éventuelle de bactéries et de prédateurs.

On a nourri les larves auricularia avec des micro-algues. La concentration d'algues dans les bacs d'élevage larvaire a été maintenue à 20 000–35 000 cellules par ml, selon le stade de développement. Un régime de micro-algues est composé d'*Isochrysis galbana*, de *Pavlova lutheri*, de *Chaetoceros muelleri*, de *Nitzschia acicularis* et de *Navicula* sp.

L'eau des bacs était aérée en permanence et renouvelée chaque jour par circulation continue. Un tamis de 75  $\mu\text{m}$  a

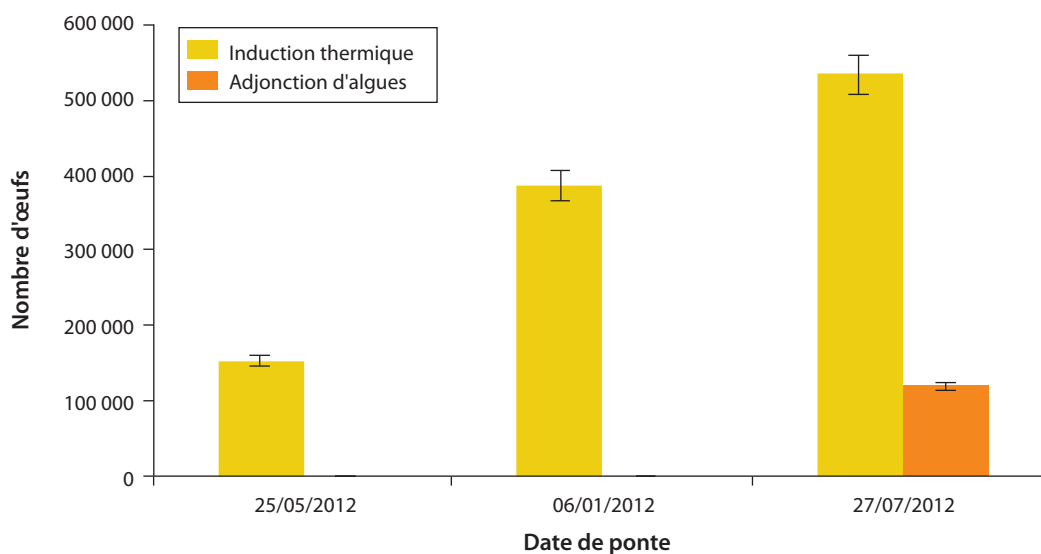
été placé à l'intérieur des bacs pour éviter que les larves ne soient emportées. Le fond des bacs a été siphonné chaque jour pour éliminer tout sédiment. Les larves ont atteint le stade doliolaria après onze jours en bac. Elles ont été transférées dans des bacs d'élevage des juvéniles, dans lesquels des plaques de fixation couvertes de feuilles de spiruline avaient été installées. Après sept jours, les larves doliolaria sont passées au stade pentactula et ont commencé à se nourrir activement de diatomées benthiques, d'algues mortes, de graminées marines, de poudre d'algues et de spiruline. Une fois qu'elles ont atteint une longueur moyenne de 15 mm, les larves ont été récoltées.

### Résultats

Les résultats présentés dans le tableau 1 et à la figure 1 montrent que l'induction par stimulation thermique a été la méthode la plus efficace. Elle a permis de produire un total de 1 073 000 œufs issus de trois essais de ponte, alors que pour l'adjonction d'algues, seul un essai sur trois a abouti, avec 120 000 œufs produits.

**Tableau 1.** Nombre d'œufs d'*Holothuria scabra* produits avec les deux méthodes d'induction de la ponte.

Méthode d'induction de la ponte	Date	Nombre de géniteurs	Nombre d'œufs
Stimulation thermique	28-05-2012	30	154 000
Stimulation thermique	01-06-2012	30	385 000
Stimulation thermique	25-07-2012	30	534 000
Adjonction d'algues	28-05-2012	30	0
Adjonction d'algues	01-06-2012	30	0
Adjonction d'algues	25-07-2012	30	120 000



**Figure 1.** Nombre d'œufs d'*Holothuria scabra* produits avec les deux méthodes d'induction de la ponte.

Le taux d'éclosion larvaire a été calculé à l'apparition des larves auricularia, environ 48 heures après la fécondation. Si l'on tient compte des trois essais de ponte, 92 % ( $\pm 2,9$ ) des œufs ont éclos et donné naissance à des larves auricularia. Le stade auricularia correspond au début du stade d'alimentation, au cours duquel les larves ont reçu 20 000 cellules par ml de micro-algues. La quantité de nourriture a ensuite été augmentée en fonction des besoins des larves. Les larves auricularia mesuraient entre 425 et 450  $\mu\text{m}$ . Les larves de stade auricularia intermédiaire étaient plus grandes, avec des tailles comprises entre 750 et 950  $\mu\text{m}$  (figure 2).

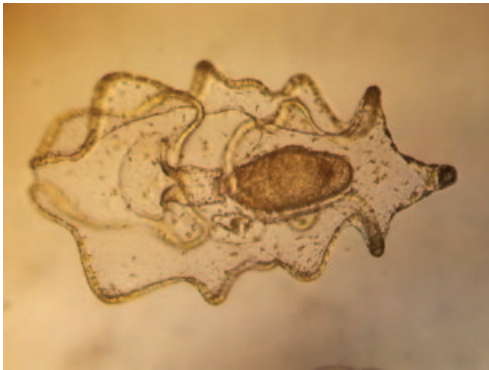


Figure 2. Larve auricularia d'*Holothuria scabra*.

Après 11 jours, environ 38 % ( $\pm 12,9$ ) des larves auricularia se sont transformées pour passer au stade doliolaria, pendant lequel elles sont très actives, cessent de se nourrir, se déplacent rapidement et mesurent entre 450 et 650  $\mu\text{m}$  (figure 3).

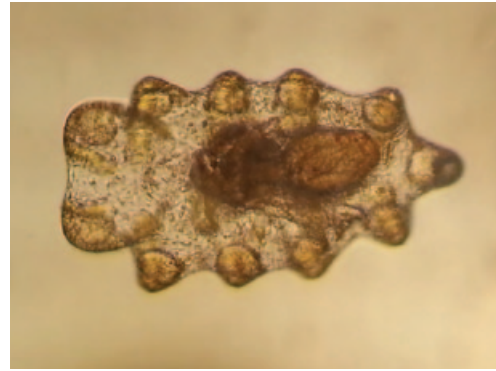


Figure 3. Larves doliolaria d'*Holothuria scabra*.

Le 18<sup>e</sup> jour, les larves doliolaria se sont métamorphosées pour atteindre le stade de la larve rampante pentactula, visible sur les plaques de fixation, dans le fond et sur les parois des bacs, où elle cherche un substrat adapté pour se fixer. Les larves pentactula mesurent entre 350 et 750  $\mu\text{m}$ . Pour les larves d'*Holothuria scabra*, on a constaté un taux de survie de 4,2 % ( $\pm 0,5$ ) (figure 4).

### Discussion

La reconstitution, le réensemencement et l'amélioration des stocks peuvent être envisagés en cas d'épuisement des stocks d'holothuries sauvages. De nombreux pays ont lancé leur propre programme d'amélioration des stocks et explorent les potentiels de l'holothurie en milieu tropical (Purcell et al. 2011, 2014 ; Eriksson et al. 2014 ; Watanabe et al. 2014). De nombreux rapports font état de cas de reproduction par induction de la ponte et la plupart des auteurs affirment que la stimulation thermique est

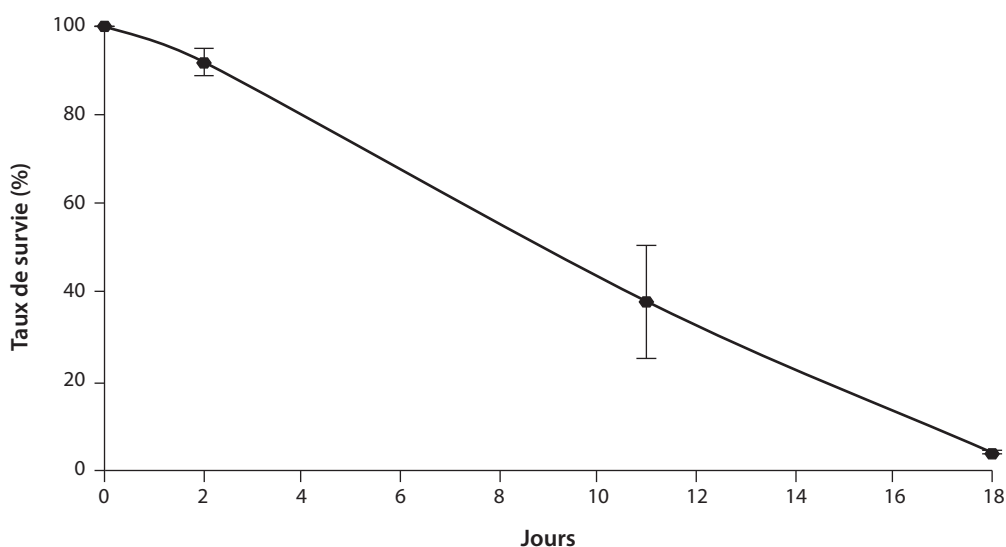


Figure 4. Taux de survie des larves d'*Holothuria scabra*.

la meilleure méthode pour provoquer la ponte chez les holothuries (Battaglène 1999 ; Battaglène et al. 2002 ; Laxminarayana 2005 ; Ivy et Giraspy 2006 ; Eeckhaut et al. 2012). Dans le cadre de la présente étude, deux méthodes ont été comparées et la stimulation thermique a donné de meilleurs résultats que la stimulation par adjonction d'algues. Si la stimulation thermique s'est avérée efficace sur la plupart des espèces d'holothurie, on a constaté qu'elle l'était moins sur *Holothuria fuscogilva* (Battaglène et al. 2002).

Il existe d'autres méthodes d'induction de la ponte, telles que la projection d'un jet d'eau puissant sur des individus mis à sécher (James 1996 ; Liu et al. 2004 ; Wang et Yuan 2004) et l'utilisation d'un mélange de gonades comme stimulant (Battaglène 1999). La ponte de *Stichopus* sp. (holothuries curry) a été induite par séchage à l'air libre puis stimulation par circulation d'eau de mer continue.

Des cas de ponte et d'élevage larvaire réussis de différentes espèces d'holothuries ont été mentionnés dans plusieurs études (Battaglène et al. 2002 ; Chen 2003 ; Laxminarayana 2005 ; Giraspy et Ivy 2005 ; Ivy et Giraspy 2006 ; Dabbagh et al. 2011). Cependant, la seule espèce tropicale pouvant être produite en masse dans des écloséries est *H. scabra* (Battaglène et Bell 1999). Les premiers élevages commerciaux d'*Holothuria scabra* sont apparus en Inde en 1988, mais l'objectif d'amélioration des stocks a aussi été évoqué (James et al. 1988, 1994 ; James 1996). Cette espèce semble capable de pondre toute l'année sans que le cycle lunaire ait une quelconque influence (Ong Che et Gomez 1985 ; Conand 1993). Les holothuries *Holothuria scabra* sont dioïques, très fécondes et émettent librement leurs gamètes dans l'eau. Le cycle de vie des spécimens d'élevage commence avec l'apparition des larves auricularia du stade initial, 48 heures après la fécondation des œufs. Viennent ensuite les phases intermédiaires et finales, puis, onze jours après la fécondation, les larves se métamorphosent pour passer au stade doliolaria, pendant lequel elles cessent de se nourrir. Les premières larves pentactula apparaissent 18 jours après la fécondation. Les caractéristiques de la croissance larvaire varient d'une espèce à l'autre. Ainsi, *Holothuria atra* et *Bohadschia marmorata* mettent 20 jours à atteindre le stade pentactula (Laxminarayana 2005), contre 19 jours pour *H. lessoni* (Ivy et Giraspy 2006).

Dans le cadre de la présente étude, on a constaté que le taux de survie de *H. scabra* était de 4,2 % ( $\pm 0,5$ ). Purcell et ses co-auteurs (2012) ont fait état du faible taux de survie des espèces d'holothuries tropicales, tandis qu'Ivy et Giraspy (2006) ont signalé que le taux de survie de *H. scabra versicolor* était de 1,12 % en 2004 et de 4,53 % en 2005. Les taux de survie de *B. marmorata* et *H. atra* se montaient quant à eux, respectivement, à 12,5 % et à 6,4 % (Laxminarayana 2005). Dans quelques études, une corrélation entre taux de survie et concentration d'algues est évoquée. Pour *H. lessoni*, un bon taux de survie a été obtenu avec une concentration d'algues de  $4 \times 10^4$  cellules par ml (Ivy et Giraspy 2006), alors que pour *Holothuria spinifera*, le taux de survie le plus élevé a été enregistré avec une concentration d'algues comprise entre  $2$  et  $3 \times 10^4$  cellules par ml (Asha et Muthiah 2003).

Dans le cadre de notre étude, nous avons constaté une baisse du taux de survie au fil de la métamorphose. Sur les 92 % de larves écloses, seules 38 % des larves auricularia sont passées au stade doliolaria. Ce taux de survie est tombé à 4,2 % au stade pentactula. Dans cette expérience, le taux de mortalité a atteint 96 %, de la fécondation des œufs à la formation des larves pentactula. Battaglène (1999) a mentionné que le taux de mortalité le plus élevé correspondait au premier nourrissage et à la première fixation. Cela peut également être lié à la demande alimentaire et à l'induction de la métamorphose larvaire. La présence de bactéries et de prédateurs dans le bac a également une incidence sur la mortalité et le taux de survie, qui peuvent en outre être influencés par l'anatomie et la physiologie des larves des différentes espèces d'holothuries.

## Remerciements

Nous tenons à remercier nos collaborateurs Benih Jaya Aqua Sdn Bhd et Beni Giraspy de l'assistance technique qu'ils nous ont apportée dans le cadre de ce projet. La présente étude a été financée par MOSTI Technofund (subvention n° TF0409E086).

## Bibliographie

- Asha P.S. et Muthiah P. 2003. 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.
- Battaglène S.C. 1999. Culture of the tropical sea cucumbers for the purpose of stock restoration and enhancement. Naga, the ICLARM Quarterly 22(4):4–11.
- Battaglène S.C. and Bell J.D. 1999. Potential of the tropical Indo-Pacific sea cucumber, *Holothuria scabra*, for stock enhancement. p. 478–490. In: Howell B.R., Moskness E. and Svasand E. (eds). Stock enhancement and sea ranching. Oxford, United Kingdom: Blackwell Science. 606 p.
- Battaglène S.C., Seymour T.E., Ramofafia C. and Lane I. 2002. Spawning induction of three tropical sea cucumbers, *Holothuria scabra*, *Holothuria fuscogilva* and *Actinopyga mauritiana*. Aquaculture 207:29–47.
- Chen J. 2003. Aperçu des méthodes d'aquaculture et de mariculture d'holothuries en Chine. La Bêche-de-mer, Bulletin d'information de la CPS 18:18–23.
- Conand C. 1993. Reproductive biology of the holothurians from the major communities of the New Caledonia Lagoon. Marine Biology 116:439–450.
- Conand C. 2004. Present status of world sea cucumber resources and utilization: An international overview. p. 13–23. In: Lovatelli A., Conand C., Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. and Mercier A. (eds). Advances in sea cucumber aquaculture and management. FAO Fisheries Technical Paper. No. 463. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 425 p.
- Dabbagh A., Sedaghat A.R., Rameshi H. et Kamrani E. 2011. Reproduction et élevage des larves de l'holothurie *Holothuria leucospilota* Brandt (*Holothuria vegabunda* Selenka) dans le nord du golfe persique (Iran). La Bêche-de-mer, Bulletin d'information de la CPS 31:35–38.

- Eeckhaut I., Lavitra T., Léonet A., Jangoux M. and Rasolofonirina R. 2012. In vitro fertilization: A simple, efficient method for obtaining sea cucumber larvae year round. p. 40–49. In: Hair C.A., Pickering T.D. and Mills D.J. (eds). Asia-Pacific tropical sea cucumber aquaculture. Proceedings of an international symposium held in Noumea, New Caledonia. ACIAR Proceedings No. 136. Canberra, Australia: Australian Centre for International Agricultural Research. 209 p.
- Eriksson H., Torre-Castro M., Purcell S.W. and Olsson P. 2014. Lessons for resource conservation from two contrasting small-scale fisheries. *Ambio*. doi:10.1007/s13280-014-0552-5.
- Giraspy D.A.B. et Ivy G. 2005. Le projet commercial d'élevage et de mariculture d'holothuries à Hervey Bay, au Queensland : une première pour l'Australie. *La Bêche-de-mer, Bulletin d'information de la CPS* 21:29–32.
- Ivy G. et Giraspy D.A.B. 2006. Dans le Queensland (Australie), élaboration de techniques de production en éclosion 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.
- James D.B. 1996. Culture of sea cucumber. p. 120–126. In: Rengarajan K. (ed.). Artificial reefs and sea farming technologies. Bulletin of The Central Marine Fisheries Research Institute, Vol. 48.
- James D.B., Rajapandian M.E., Baskar B.K. and Gopinath C.P. 1988. Successful induced spawning and rearing of holothurian, *Holothuria (Meristylia) scabra*, Jaeger at Tuticorin. Marine Fisheries Information Service, Technical and Extension Service 87:30–33.
- James D.B., Gandhi A.D., Palaniswamy N. and Rodrigo J.X. 1994. Hatchery techniques and culture of the sea cucumber *Holothuria scabra*. Cochin, India: Central Marine Fisheries Research Institute, Special publication. No. 57.
- Laxminarayana 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.
- Liu X., Zhu G., Zhao Q., Wang L. and Gu B. X. 2004. Studies on hatchery techniques of the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. p. 287–296. In: Lovatelli A., Conand C., Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. and Mercier A. (eds). Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management. FAO Fisheries Technical Paper. No. 463. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 425 p.
- Ong Che R.G. and Gomez E.D. 1985. Reproductive periodicity of *Holothuria scabra* Jaeger at Calatagan, Batangas, Philippines. *Asian Marine Biology* 2:21–29.
- Purcell S.W., Mercier A., Conand C., Hamel J., Toral-Granda M.V., Lovatelli A. and Uthicke S. 2011. Sea cucumber fisheries: Global analysis of stocks, management measures and drivers of overfishing. *Fish and Fisheries*. doi:10.1111/j.1467-2979.2011.00443.x.
- Purcell S.W., Hair C.A. and Mills D.J. 2012. Sea cucumber culture, farming and sea ranching in the tropics: Progress, problems and opportunities. *Aquaculture* 368/369:68–81.
- Purcell S. W., Lovatelli A. and Pakoa K. 2014. Constraints and solutions for managing Pacific Island sea cucumber fisheries with an ecosystem approach. *Marine Policy* 45:240–250.
- Wang R. and Yuan C. 2004. Breeding and culture of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus*, Lio, 2004. p. 277–286. In: Lovatelli A., Conand C., Purcell S., Uthicke S., Hamel J.-F. and Mercier A. (eds). Advances in Sea Cucumber Aquaculture and Management. FAO Fisheries Technical Paper. No. 463. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. 425 p.
- Watanabe S., Sumbing J.G. and Lebata-Ramos M.J.H. 2014. Growth pattern of the tropical sea cucumber, *Holothuria scabra*, under captivity. *Japan Agricultural Research Quarterly* 48(4):457–464.