

Les effets de la disponibilité en nourriture sur le début de la croissance, le développement et la survie de l'holothurie *Holothuria scabra* (Echinodermata: Holothuroidea)

Andrew David Morgan¹

Résumé

Dans le domaine de l'élevage des invertébrés marins, l'interaction entre l'environnement physique et la disponibilité de nourriture peut affecter la qualité des larves dans des élevages en masse. Des larves provenant d'œufs fécondés de l'holothurie *Holothuria scabra*, qui avait été induite à pondre en captivité, ont été placées dans des aquariums concaves aérés et on a observé la qualité des larves et leur survie ainsi que leur croissance et leur développement en réponse à un environnement d'élevage. À des concentrations de 1 et 2 x 10⁴ cellules/ml d'algues *Isochrysis galbana*, la croissance et le développement des larves ont augmenté de façon substantielle. À des concentrations de 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml et en l'absence d'algues, le taux de survie des larves a été inférieur et leur croissance et leur développement a été entravé. La qualité des larves a été compromise par de fortes concentrations d'algues. Une augmentation de leur concentration peut affecter le niveau de pH et d'ammoniaque non ionisé, ce qui peut avoir une incidence sur le développement et la survie des larves. Il est primordial de structurer les régimes alimentaires afin que les concentrations d'algues ne compromettent pas l'environnement de grossissement.

Introduction

Depuis que Conand (1990; 1993) et que Conand et Byrne (1993) ont évalué les ressources en holothuries et les effets de leur exploitation, plusieurs projets ont été élaborés afin d'estimer le potentiel qu'offrent ces échinodermes pour l'aquaculture. Chia et Buchanan, 1969; Maruyama, 1980; Smiley, 1986, McEuen et Chia, 1991; Mashanov et Dolmatov, 2000 ont décrit les aspects du développement des larves d'holothuries pour les espèces suivantes : *Cucumaria elongata*, *Stichopus californicus*, *Psolus chitonoides*, *Psolidium bullatum*; *Actinopyga echinites*, *Holothuria leucospilota* et *H. pardalis*.

La plupart des holothuries aspidochirotes suivent le cycle larvaire de pré-auricularia, phases initiale, intermédiaire et finale d'auricularia et des métamorphoses ultérieures qui conduisent au stade doliolaria (caractérisée par l'absence d'alimentation) avant la colonisation. La longueur du cycle larvaire diffère selon les espèces, mais le développement de la larve d'*Holothuria scabra* est typique de l'ontogénèse des holothuries puisque le recrutement se produit après environ dix à douze jours dans des conditions optimales d'élevage (James et al., 1994; Battaglene et al., 1999).

Les espèces d'algues qui ont servi à alimenter des larves d'holothuries de *A. echinites*, *H. gresia*, *P. californicus* et *S. californicus* comprennent *Isochrysis galbana*, *Phaeodactylum tricornerutum*, *Duniella salina*, *D. tertiolecta* et *Pavlova lutheri* (Burke et al., 1986,

Smiley, 1986; Balser et al., 1993; Dautov, 1997). Battaglene et al. (1999) ont nourri les larves d'*H. scabra* avec les algues suivantes : *Chaetoceros muelleri*, *C. calcitrans*, *P. salina*, *Rhodomonas salina* et *Tetraselmis chuii* (1995). Ito (1995), James et al. (1994) et Ramofafia et al. (1995) ont indiqué que les concentrations d'algues de 2 à 3 x 10⁴ cellules/ml étaient optimales pour l'ontogénèse des larves de *S. japonicus*, *H. scabra* et *H. atra*, respectivement, lors du développement dans des grands bacs d'élevage (>100). Archer (1986) a constaté que le taux d'ingestion de larves de *S. mollis* a été limité lorsque *P. tricornerutum* et *D. tertiolecta* ont été proposées à des concentrations dépassant 6 x 10³ cellules/ml. En présence ininterrompue de fortes concentrations d'algues, les larves ont cessé de se nourrir.

Dans la présente étude, je me suis servi des larves de *H. scabra* produites en captivité suite à une induction de ponte (Morgan, 2000) pour étudier les effets de différentes concentrations de l'algue *I. galbana* sur la qualité des larves. La qualité des larves a été déterminée par observation de la symétrie de la forme, de l'allure du derme et du développement des bras larvaires.

Matériel et méthodes

Bacs de culture

Des expériences ont été réalisées dans des aquariums concaves de 3 litres à 27° en respectant un cycle lumière-obscurité 16:8 à l'aide d'un taux

1. School of Marine Science, University of Queensland (Australie). Correspondance adressée à : University of Auckland Leigh Marine Laboratories, P. O. Box 349, Warkworth (Nouvelle-Zélande). Téléphone : +64 9 4226111; télécopieur : +64 9 4226113; mél. : a.morgan@auckland.ac.nz

d'eau de mer stérilisée aux rayons ultraviolets filtrés jusqu'à 0,2 mm, afin d'éliminer la plupart des bactéries, pour l'utiliser à des fins d'expérience de grossissement de larves. Des concentrations de l'algue *Isochrysis galbana* à 0, 1, 2, 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml ont été utilisées de manière aléatoire dans des aquariums en menant en parallèle trois expériences par traitement. Des larves ont été obtenues en induisant *H. scabra* à pondre en captivité (Morgan, 2000). On a débarrassé les œufs fécondés de tout excédent de sperme et on leur a permis de se développer dans des bassins d'éclosion à circulation rapide de 250 litres avant de s'en servir pour cette expérience. L'expérience a pris fin au bout de onze jours car, si un régime nutritionnel optimal est suivi, les larves se métamorphosent en doliolaria qui cesse de s'alimenter au bout de cette période-là. Il n'a donc pas été nécessaire d'évaluer la qualité des larves en réponse à l'environnement de grossissement après ce délai.

Entretien

Chaque jour, 50 pour cent de l'eau de mer a été siphonnée de chaque aquarium concave de trois litres à l'aide d'un tube en plastique au bout duquel était collé un filet dont les mailles avaient 100 µm de côté. L'eau de mer et les larves restantes ont été évacuées au goutte-à-goutte dans un récipient propre contenant 1,5 litre d'eau stérilisée aux ultraviolets et filtrée à 0,2 mm. La quantité d'algues a été ajustée en prenant trois échantillons de chaque récipient et en comptant la densité des algues à l'aide d'un compteur de particules à haute vitesse (mode compteur type Coulter Counter FN, ± 250 cellules/ml).

Croissance et survie

Les larves ont été stockées dans des aquariums de trois litres à une densité d'une larve/2 ml d'eau de mer filtrée. Les mesures de croissance et de survie ont été effectuées avant le transfert des larves et le reste d'eau de mer dans un aquarium propre. On a mesuré le taux de survie des larves tous les deux jours en prenant cinq sous-échantillons de 20 ml dans chaque aquarium et en comptant le nombre de larves à l'aide d'un microscope stéréoscopique. En alternance, on a échantillonné trente à cinquante larves provenant de chaque aquarium et on a mesuré à l'aide d'un microscope optique sur lequel

était monté un oculaire micrométrique, la croissance totale exprimée en longueur. On a ajusté la survie en pourcentage pour l'élimination des larves.

Développement et qualité des larves

On a enregistré le stade larvaire en observant l'hydrocœle, le somatocœle gauche et droit et les plis latéraux ou tentacules (Smiley, 1986; Pedrotti, 1995; Dautov et Kaisheko, 1995) à l'aide d'un microscope optique muni d'un oculaire micrométrique (n = 10 larves/aquarium). L'hydrocœle est situé à gauche de l'œsophage (figure 1) et grossit tout au long du processus de développement. L'élaboration de l'hydrocœle se mesure à l'épaississement et au développement ultérieur de cinq nodules à la fin du cycle larvaire.

Au début du stade aularia, les larves avaient une frange ciliée et simple repliée sur elle-même avec des protubérances latérales non développées, un hydrocœle globulaire, l'amorce d'un développement du somatocœle gauche et pas de somatocœle droit. Le stade intermédiaire d'auricularia était enregistré lorsque l'on pouvait observer le développement des quatre plis latéraux, lorsque le somatocœle gauche avait une taille supérieure à la moitié de l'intestin et l'hydrocœle était allongé. Le stade final d'auricularia était atteint lorsque les plis latéraux faisaient apparaître un plissement net et que l'hydrocœle était développé, et que le somatocœle gauche s'étendait jusqu'à l'arrière de l'estomac et que le somatocœle droit était clairement visible. L'apparence du derme et la symétrie de la forme étaient aussi notées.

Analyse de données

Une analyse de variance à un facteur (ANOVA) a été utilisée pour obtenir les différences entre les

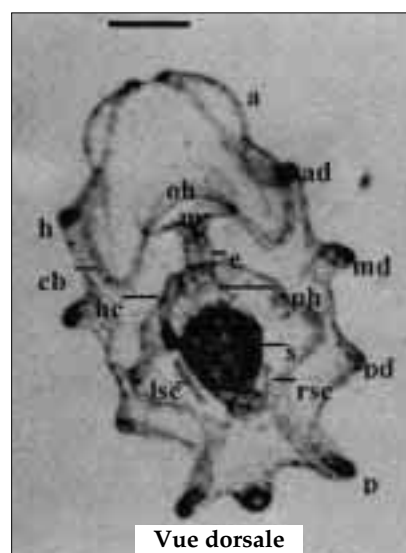


Figure 1.

Larve de *H. scabra* en fin de développement, montrant les caractères utilisés pour l'identification du stade larvaire : a, repli antérieur ; ad, repli antérodorsal ; md, repli médio-dorsal ; pd, repli postérodorsal ; p, repli postérieur ; rsc, somatocœle droit ; lsc, somatocœle gauche ; hc, hydrocœle ; m, bouche ; s, estomac ; cb, bande ciliaire ; h, sphère hyaline ; sph, sphincter ; oh, pli oral. Échelle: 200 µm

taux de croissance moyens des larves pour chaque concentration d'algues du deuxième au dixième jour. Une analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour obtenir les différences entre les taux de survie moyens des larves pour chaque concentration d'algues à la fin de l'expérience. Des différences entre les traitements ont été testées à l'aide des moyennes des moindres carrés et de la correction de Bonferroni multiples (seuil de confiance de 5% divisé par le nombre de comparaisons multiples; n = 10). Des différences des taux de développement entre les phases initiale, intermédiaire et finale d'auricularia ont été représentées sur un graphique.

Résultats

Survie

La survie des larves à 2 x 10⁴ cellules/ml a été différente de toutes les autres concentrations d'algues, à l'exception de 1 x 10⁴ cellules/ml (p<0,005; ta-

bleau 1). Quelques larves sont mortes à 2 x 10⁴ cellules/ml, tandis que 55 ± 6,7 pour cent des larves sont restées à 0 x 10⁴ cellules/ml à la fin de l'expérience (figure 2). Aux autres concentrations de 1, 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml les pourcentages de survie ont été respectivement de 81 ± 7, 63 ± 21 et 68 ± 2,2 pour cent de larves le onzième jour (figure 2).

Croissance

La croissance des larves à 1 et 2 x 10⁴ cellules/ml a été différente de celle à 0, 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml (p<0,005; tableau 2). La croissance des larves privées de nourriture et celle des larves entre 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml n'étaient pas significativement différentes, comme c'était le cas des larves 1 et 2 x 10⁴ cellules/ml (p>0,005). Les larves 1 et 2 x 10⁴ cellules/ml ont grandi d'environ 32 ± 7,3 et 32 ± 3,1 µm/jour respectivement (figure 3). Les larves à ces deux concentrations ont atteint une longueur totale de 899 et 866 µm respectivement le dixième jour (tableau 3).

Tableau 1 : Résultats de l'analyse de variance pour les nombres de larves d'*Holothuria scabra* survivant après onze jours et des valeurs p pour des moyennes/des moindres carrés à 0, 1, 2, 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml d'algues *Isochrysis galbana* (p<0,005).

Source	DF	SS	MS	Valeur F	Pr>F
Modèle	5	136	27	5	0,0164
Erreur	9	47	5		
Total corrigé	14	183			
Moyenne LS*					
	1	2	4	8	
0	0,0379	0,0016	0,4932	0,4065	
1		0,0620	0,1180	0,1652	
2			0,0042	0,0050	
4				0,8551	
8					

* Moyenne des moindres carrés

Tableau 2. Résultats de l'analyse de variance (ANOVA) pour le taux de croissance des larves d'*Holothuria scabra* sur une période de dix jours et des valeurs p pour la moyenne des moindres carrés à 0, 1, 2, 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml d'algues *Isochrysis galbana* (p<0,005).

Source	DF	SS	MS	Valeur F	Pr>F
Modèle	4	12387	3097	22,99	0,0001
Erreur	10	1347	135		
Total corrigé	14	13734			
Moyenne LS*					
	1	2	4	8	
0	0,0001	0,0001	0,8151	0,8870	
1		0,9600	0,0001	0,0001	
2			0,0001	0,0001	
4				0,7077	
8					

* Moyenne des moindres carrés

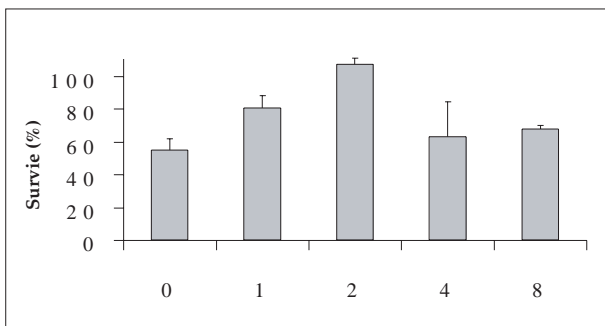


Figure 2.

Nombre moyen (n = 3) de larves d'*Holothuria scabra* survivant après onze jours à des concentrations de 0, 1, 2, 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml d'algue *Isochrysis galbana* (moyenne ± écart-type).

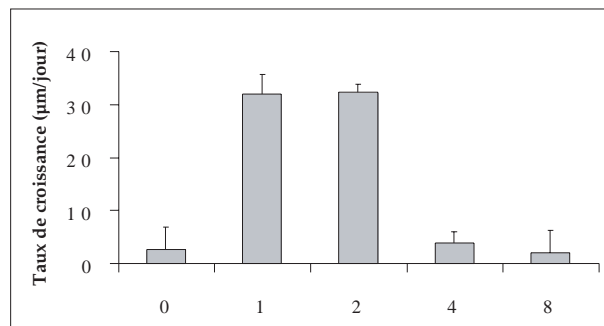


Figure 3.

Taux de croissance moyenne (n = 3) de larves d'*Holothuria scabra* mesurées sur une période de huit jours à des concentrations de 0, 1, 2, 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml d'algue *Isochrysis galbana* (moyenne ± écart-type).

Développement

Les plus fortes proportions de larves au stade auricularia final ont été observées à des concentrations de 1 et 2 x 10⁴ cellules/ml le dixième jour, alors qu'un développement faible, voire nul, avait été enregistré lors du stade final d'auricularia dans d'autres concentrations d'algues (figure 4). Le huitième jour, on a observé une légère augmentation du nombre des larves au stade initial d'auricularia à 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml en raison des incertitudes de distinction entre des larves à développement précoce et à développement anormal.

Après deux jours, seules les larves au stade initial d'auricularia étaient présentes à toutes les concentrations. Les stades auricularia intermédiaires ont été observés à des niveaux divers dans toutes les concentrations du quatrième au dixième jour et les stades final n'ont été observés qu'aux huitième et dixième jours (figure 4).

Du quatrième au dixième jour, la proportion de larves au stade intermédiaire d'auricularia n'a pas changé de manière significative. Cependant, les larves au stade initial ont été observées de manière moins fréquente à 1 et 2 x 10⁴ cellules/ml.

Tableau 3. Récapitulatif des mesures de croissance et de survie des larves d'*Holothuria scabra* à des concentrations différentes de l'algue *Isochrysis galbana*.

Concentr. x 10 ⁴ cellules/ml	Long. (µm) au 10ème jour	Taux de croiss. (µm/jour)	Nb. initial par litre	Nb. final par litre	Survie (%)
0	654	2,64	478	263	55
1	899	32,00	462	373	81
2	866	32,00	437	467	107
4	642	3,78	468	294	63
8	568	1,95	433	293	68

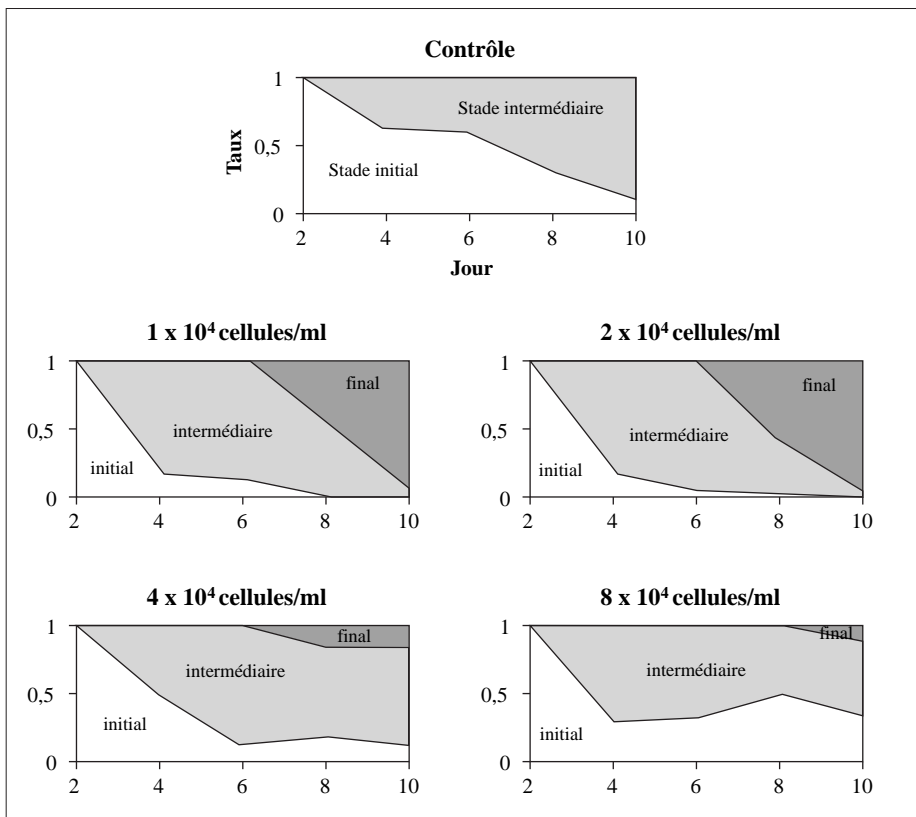


Figure 4 .

Développement des larves d'*Holothuria scabra* observées sur une période de dix jours à des concentrations de 0, 1, 2, 4 et 8 x 10⁴ cellules/ml d'algue *Isochrysis galbana* (trois répliquats menés en parallèle pour chaque concentration; moyenne ± écart-type; n = 30 à 50 larves par jour/aquarium).

Qualité des larves

L'apparence physique des larves différait selon les concentrations d'algues. L'apparence des larves a été considérée comme un indicateur de l'effet de l'environnement d'élevage sur la qualité des larves (figure 5). Les larves au stade auricularia initial ne semblaient pas affectées au cours des tout premiers jours dans chaque concentration d'algues.

Cependant, au moment où les larves atteignaient le stade intermédiaire, les différences de la forme des larves apparaissaient (figure 5; a1, b1 et c1). Deux caractéristiques étaient évidentes lorsqu'on distinguait la qualité des larves. L'apparence du derme les larves et la courbure et le degré de repli des bras latéraux. Une quantité minimale de replis et un apex pointu conjugués à une contraction postérieure de toute la longueur du corps ont indiqué une anomalie extrême de la larve (figure 5; c, c1 et

c2). Ce phénomène a été essentiellement observé à des concentrations de 8×10^4 cellules/ml mais a été moins fréquent à d'autres concentrations. La décoloration du derme a pu être constatée (figure 5; b1 et b2) mais n'a pas eu lieu dans les autres cas anormaux décrits ci-dessus. Certaines variations du pH ont été observées à des concentrations de 4 et 8×10^4 cellules/ml (7,5 à 8,5), qui peuvent avoir reflété la variation du niveau d'ammoniaque non ionisé affectant la qualité des larves.

Les stades larvaires initiaux d'*Holothuria scabra* ont été affectés par la pipette d'aération car elles n'étaient pas suffisamment fortes pour sortir des remous créés à la base de l'aquarium. La pipette a été placée environ à 2 cm du fond de chacun des aquariums et les larves ont été plongées dans des aquariums entre 60 et 72 heures après la fertilisation car elles étaient mieux à même de maintenir leur position dans la colonne d'eau.

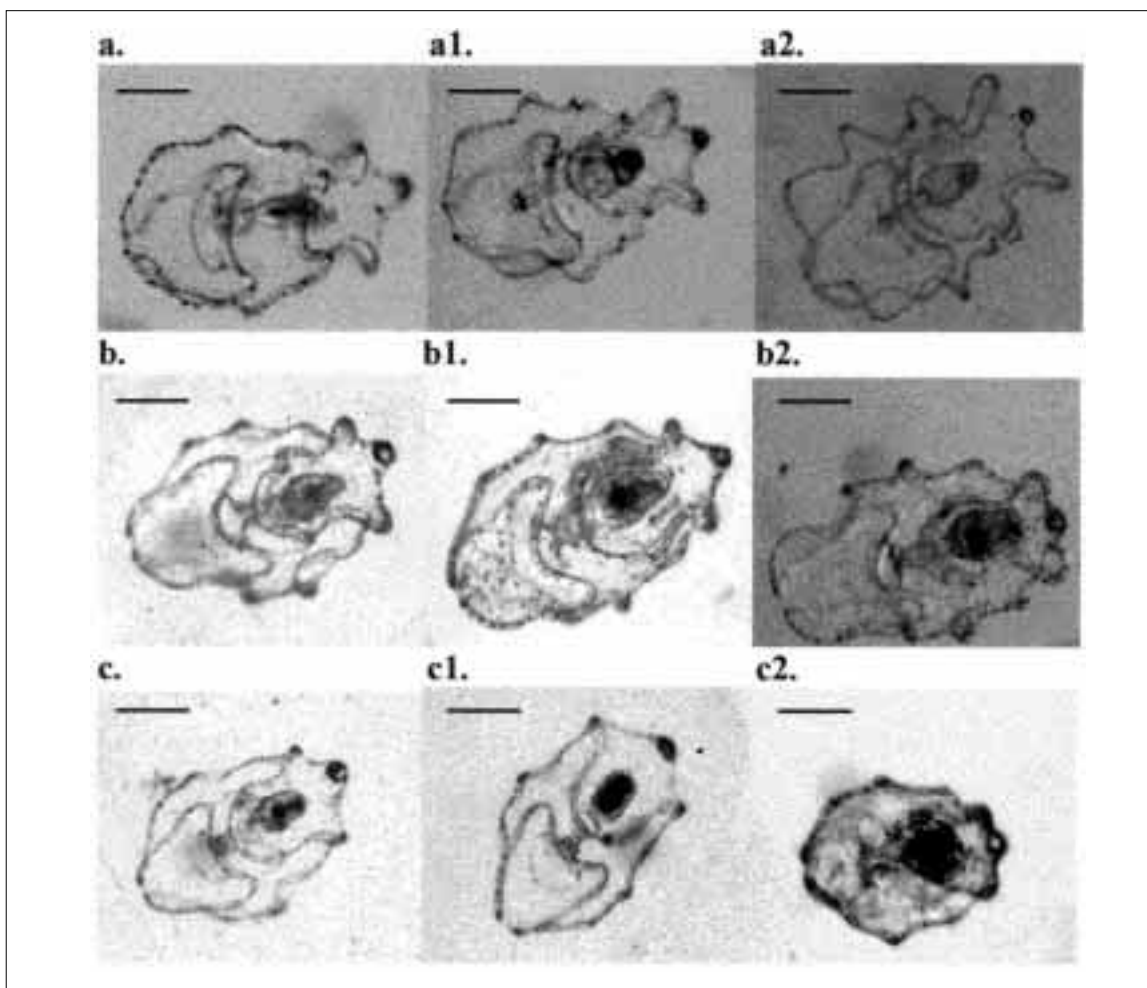


Figure 5.

Qualité de larves d'*Holothuria scabra* dans des concentrations différentes d'algues *Isochrysis galbana* : a) larves à développement normal au stade auricularia initial, intermédiaire et final dans des quantités modérées d'algues (1 et 2×10^4 cellules/ml); b) développement anormal de larves des concentrations d'algues accrues (4×10^4 cellules/ml); c) développement anormal de larves dans des quantités excessives d'algues (4×10^4 cellules/ml; échelle environ $100 \mu\text{m}$).

Discussion

Dans la présente étude, les niveaux optima d'algues pour maintenir la qualité des larves en culture ont été de 1 et 2×10^4 cellules/ml ou 2 à 4×10^4 cellules/larves/jour. Le fait d'augmenter la concentration des algues à des valeurs supérieures, c'est-à-dire 4 et 8×10^4 cellules/ml n'a pas entraîné une augmentation de la croissance et du développement mais ont affecté la qualité des larves et l'environnement de la culture.

Il est probable que le maintien de concentrations excédentaires d'algues a dû perturber le processus de filtration, d'ingestion et de digestion chez les larves d'*Holothuria scabra*. En observant l'état des viscères des larves d'*Holothuria scabra*, James et al. (1994) ont considéré qu'une concentration de 2 à 3×10^4 cellules/ml était optimale pour la croissance et le développement. Ito (1995) déclare qu'au début du développement des larves d'holothuries *Stichopus japonicus*, une concentration de $0,5 \times 10^4$ cellules/ml était suffisante mais elle a été portée à environ 3×10^4 cellules/ml plus tard dans le cycle larvaire. Il était probable que la survie des larves d'*Holothuria scabra*, en l'absence d'algues, résultait de l'utilisation de nutriments stockés. Archer (1996) a constaté que les larves d'holothuries *S. mollis* cessaient finalement de s'alimenter lorsque les concentrations d'algues dépassaient constamment $0,6 \times 10^4$ cellules/ml, alors que l'état d'ingestion atteignait un chiffre maximum de 18,2 cellules/minute à ce niveau.

Ito (1995) a indiqué que la croissance en longueur et en largeur de l'estomac pouvait être une indication importante de la qualité des larves, en particulier vers la fin du développement. Dans la présente étude, la forme d'intestin de la plupart des larves, en présence d'une quantité modérée d'algues, était sphérique mais, en présence de quantités plus importantes d'algues, il avait une forme plus variable et il était souvent contracté le long de l'axe latéral (figure 5 c1 et c2).

Une certaine asymétrie du développement des plis latéraux des larves est apparue en présence de quantité excessive d'algues (figure 5 b et c). Si les larves ne se développaient pas normalement, il y avait une plus grande possibilité d'erreurs dans l'observation des stades de développement au stade initial, intermédiaire ou final d'auricularia. L'absence de squelette chez les larves d'holothuries rendait difficile la distinction de la transition jusqu'à des stades larvaires ultérieurs. Dans la présente étude, des quantités importantes de larves se développant anormalement sont restées dans la colonne d'eau durant toute la durée de l'expérience et, dans certains cas, ont fait apparaître des caractéristiques normales de développe-

ment mais avaient des plis latéraux contractés. Dans des cultures contenant de la nourriture excédentaire, la qualité des plis latéraux, la symétrie de la forme, la croissance en longueur totale et la forme de l'intestin indiquaient le mieux la réponse des larves à l'environnement de culture.

L'observation du développement des somatocœles gauche et droit était difficile dans des cultures contenant une nourriture trop abondante. Au stade initial auricularia, l'hydrocœle est relié au somatocœle gauche qui se scinde de l'hydrocœle au cours du développement de la larve et se subdivise en somatocœle gauche et droit (Balsler et al., 1993). Le moment de la séparation du somatocœle gauche et de l'hydrocœle, et du stomatocœle droit du somatocœle gauche peut indiquer la transition des larves vers des stades ultérieurs de développement.

Remerciements

Je voudrais remercier le *Bribie Island Aquaculture Research Centre* (Centre de recherche aquacole de l'île de Bribie) et le *Zoology Department of the University of Queensland* (Département de zoologie de l'Université du Queensland), qui nous ont permis d'utiliser leur matériel et leurs installations. Le Dr Don Fielder, de l'*University of Queensland School of Marine Science* (École d'océanographie de l'Université du Queensland), et Russ Babcock, *University of Auckland School of Environmental and Marine Science* (École des sciences de l'environnement et d'océanographie de l'Université d'Auckland), de leurs conseils lors de la préparation de ce manuscrit. David Mann et Dave Hewitt, du ministère des Activités du secteur primaire du Queensland, le Centre de recherche aquacole de l'île de Bribie, de leurs conseils sur le protocole expérimental et les cultures d'algues.

Bibliographie

- Archer, J.E. 1996. Aspects of the reproductive and larval biology and ecology of the temperate holothurian *Stichopus mollis* (Hutton). MSc thesis, University of Auckland (Nouvelle-Zélande). 189 p.
- Balsler, E.J., E.E. Ruppert and W.B. Jaekle. 1993. Ultrastructure of the coeloms of auricularia larvae (Holothuroidea: Echinodermata): Evidence for the presence of an axocoel. *Biol. Bull.* 185:86-96.
- Battaglione, S.C., J.E. Seymour and C. Ramofafia. 1999. Survival and growth of cultured juvenile sea cucumbers *Holothuria scabra*. *Aquaculture* 178:293-322.

- Burke, R.D., D.G. Brand and B.W. Bisgrove. 1986. Structure of the nervous system of the auricularia larvae of *Parastichopus californicus*. Biol. Bull. 170:450–460.
- Chia, F-S. and J.B. Buchanan. 1969. Larval development of *Cucumaria elongata* (Echinodermata: Holothuroidea). J. Mar. Biol. Ass. Royaume-Uni. 49:151–159.
- Conand, C. 1990. Les ressources halieutiques des pays insulaires du Pacifique document technique FAO sur les pêches. 143 p.
- Conand, C. 1993. Reproductive biology of the holothurians from the major communities of the New Caledonian Lagoon. Mar. Biol. 116:439–450.
- Conand, C. and M. Byrne. 1993. A review of recent developments in the world sea cucumber fisheries. Marine Fisheries Review. 55(4):1–13
- Dautov, S.S. 1997. Structure and properties of hyaline spheres in holothuroid larvae. J. Invert. Rep. Develop. 32:155–161.
- Dautov, S.S. and S.D. Kashienko. 1995. Hyaline spheres in auricularia of *Stichopus japonicus*. J. Invert. Rep. Develop. 27:61–64.
- Ito, S., 1995. Studies on the technological development of the mass production for sea cucumber juvenile, *Stichopus japonicus*. Saga Prefectural Sea Farming Center, Japan, 87 pp.
- James, D.B., A.D. Gandhi, N. Palaniswamy and J.X. Rodrigo. 1994. Hatchery techniques and culture of the sea cucumber *Holothuria scabra*. CMFRI (Central Marine Fisheries Research Institute, Cochin, India) special publication. No. 57.
- Maruyama, Y.K. 1980. Artificial induction of oocyte maturation and development in the sea cucumbers *Holothuria leucospilota* and *Holothuria pardalis*. Biol. Bull. 158:339–348.
- Mashanov, V.S. and I.U. Dolmatov. 2000. Developmental morphology of a holothurian, *Cucumaria japonica* (Dendrochirota: Holothuroidea), a species with accelerated metamorphosis. Invertebrate Reproduction and Development. 37(2):137–146.
- McEuen, E.S. and F-S. Chia. 1991. Development and metamorphosis of two Psolid sea cucumbers, *Psolus chitonoides* and *Psolidium bullatum*, with a review of reproductive patterns in the family Psolidae (Holothuroidea: Echinodermata). Mar. Biol. 109:267–279.
- 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.
- Ramofafia, C., M. Gervis et J. Bell. 1995. Reproduction et élevage de larves d'holothuria atra. La Bêche-de-mer, bulletin d'information de la CPS 7:2–6.
- Smiley, S. 1986. Metamorphosis of *Stichopus californicus* (Echinodermata: Holothuroidea) and its phylogenetic implications. Biol. Bull. 171:611–631.

