

Étude des caractéristiques macroscopiques et microscopiques des tubules gonadiques d'*Holothuria leucospilota* (golfe persique, Iran)

Fatemah Ghobadyan,^{1*} Hossein Morovvati,² Leila Ghazvineh¹ et Ehsan Tavassolpour¹

Résumé

Nous présentons ici les résultats de campagnes d'échantillonnage mensuelles réalisées sur une population d'*Holothuria leucospilota* entre juillet 2007 et juin 2008 (sauf en décembre et en janvier) le long du littoral de Bustaneh, dans le golfe persique en Iran. Au total, 124 femelles et 108 mâles ont été prélevés. Les caractéristiques macro- et microscopiques des gonades ont servi à déterminer les stades de maturation gonadique. Parmi les caractéristiques macroscopiques observées, on compte la couleur et le poids des gonades, la longueur et le diamètre des tubules, ainsi que leur nombre. Au niveau microscopique, on a observé des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline et à l'éosine. Sur la base de ces examens, cinq stades de maturation ont été identifiés pour chaque sexe : début de la maturation (I), maturation (II), maturation avancée (III), maturité (IV) et post-émission gamétique (V). Les tubules étaient sensiblement plus longs et étroits chez les mâles. Les tubules gonadiques se développent du premier au quatrième stade, puis se contractent au cinquième stade. La relation éventuelle entre le nombre de tubules et le poids des gonades a été évaluée : on a obtenu 0,73 pour les mâles et 0,80 pour les femelles.

Introduction

Les holothurides constituent une classe très riche d'échinodermes vermiformes au corps généralement mou. On les trouve dans la quasi-totalité des milieux marins, avec une diversité particulièrement riche dans les écosystèmes des récifs coralliens dans les eaux tropicales peu profondes. Leur habitat va des zones intertidales, où les individus se découvrent parfois brièvement à marée basse, au plancher des plus profondes fosses océaniques. Les holothuries sont un groupe d'invertébrés marins pêchés partout dans le monde et essentiellement consommés par les populations des pays asiatiques. Depuis plusieurs décennies, la hausse marquée de la demande d'holothuries est à l'origine d'une augmentation exponentielle de l'exploitation, souvent synonyme d'appauvrissement des populations dans de nombreux pays producteurs. Parce que ces organismes marins jouent un rôle crucial dans la subsistance de nombreux artisans pêcheurs des pays en développement et font l'objet d'échanges commerciaux sur les marchés mondiaux, les holothuries, en particulier leur biologie, leur écologie et la gestion de leur pêche, suscitent un intérêt considérable (Conand et Muthiga 2007). Peu d'études traitent de l'écologie des holothuries dans le golfe persique. Or, il est essentiel d'étudier en détail ces animaux, car ils jouent un rôle primordial dans la préservation du milieu marin. En plus de leur valeur économique et alimentaire, les holothuries exercent une fonction importante dans les communautés benthiques et sont à l'origine de profonds changements dans la composition des fonds marins. Sur le plan médical, on les utilise pour soigner l'anémie, l'impuissance, la sénilité, la constipation due à la sécheresse des muqueuses intestinales et la

pollakiurie. Dans un contexte de déclin mondial des stocks sauvages d'holothuries, la reproduction et la biologie de ces organismes marins suscitent un intérêt croissant. Une meilleure connaissance de ces animaux pourrait permettre d'améliorer les programmes de gestion et de mettre en place des projets d'holothuriculture.

La présente étude vise à caractériser sur le plan macro- et microscopique les tubules gonadiques afin de déterminer les stades de maturation gonadique des populations de *H. leucospilota* résidant le long du littoral de Bustaneh, dans la province iranienne d'Hormozgan, dans le golfe persique.

Matériel et méthodes

Les spécimens ont été prélevés dans une zone intertidale à Bustaneh, dans la partie iranienne du golfe persique (26° 31' N, 54° 39' E) (figure 1). Entre juillet 2007 et juin 2008, entre 25 et 30 individus ont été prélevés chaque mois. Le sexe de chaque animal a été déterminé par dissection. Les tubules mâles étaient toujours de couleur blanc crème. Les tubules femelles étaient plus transparents, l'intérieur ayant une apparence granulée, et prenaient une teinte rouge orangé lorsque les ovaires étaient féconds. Les gonades ont été fixées dans du formol tamponné (dilué à 10 %). Au sein d'une population d'holothuries où le développement gonadique est simultané, une fois la saison de reproduction terminée, les tubules gonadiques régressent après l'expulsion des gamètes ; il est alors possible que les gonades ne puissent être observées pendant une certaine période (Purwati et Luong-van 2003).

¹ Département de biologie marine de la Faculté des sciences de la mer, Université Khorramshahr des sciences et technologies marines, Khorramshahr, Khuzestan, Iran. Courriel : marinebiologist2007@yahoo.com

² Faculté de médecine vétérinaire, Université Shahid Chamran, Ahvaz, Khuzestan, Iran.

* Auteur correspondant : Fatemahghobadyan@gmail.com

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour identifier les différents stades de maturation. Après examen macroscopique, un fragment de gonade a été étudié au microscope (Conand 1981). Nous avons ensuite confirmé nos résultats en examinant des coupes histologiques. Les caractéristiques tant macro- que microscopiques nous ont permis d'évaluer les stades de maturation gonadique, décrits dans des études antérieures (Drumm et Lonergan 2005 ; Ong-Che 1990 ; Purwati et Luong-van 2003). Sur le plan macroscopique, nous nous sommes intéressés à la couleur des gonades, au nombre total de tubules, à leur longueur, à leur diamètre et à la présence de gamètes après écrasement (technique du squash). Ces paramètres dépendent tous du stade de maturation des gonades. Le rapport entre le poids gonadique et le nombre de tubules a été calculé pour les deux sexes. Pour ce qui est des caractéristiques microscopiques, des coupes histologiques ont été examinées au microscope. Un sous-échantillon de 10 animaux (représentatifs de la gamme de tailles disponibles) a été formé à partir de chaque échantillon mensuel aux fins de l'examen histologique. Les tubules gonadiques ont été déshydratés, inclus dans de la paraffine, découpés en sections de 5 μm d'épaisseur et colorés à l'hématoxyline-éosine. Pour déterminer les stades histologiques de la gamétogenèse, nous nous sommes appuyés sur des études antérieures portant sur les gonades des holothuries (Drumm et Lonergan 2005 ; Purwati et Luong-van 2003 ; Rasolofonirina et al. 2005 ; Shiell et Uthicke 2006). Sur la base de ces critères, cinq stades de maturation ont été définis : début de la maturation (I), maturation (II), maturation avancée (III),

maturité (IV), et post-émission gamétique (V). Chaque gonade a été examinée et classée afin de déterminer son stade de maturation sexuelle. Les cinq stades ont été vérifiés par examen histologique et recoupement avec les caractéristiques macroscopiques.

Résultats

Les individus *Holothuria leucospilota* sont toujours sexués, mais ne présentent pas de dimorphisme sexuel. En conséquence, il est impossible de distinguer les mâles des femelles au simple examen des caractéristiques externes. Les gonades femelles et mâles étant de couleur différente, leur sexe a pu être déterminé après dissection. Chez *H. leucospilota*, la gonade se présente sous la forme d'une seule touffe de tubules se mouvant librement dans le cœlome, rattachée au niveau de la partie inférieure de la gonade à un socle transparent en forme de selle, situé sur le côté de la partie antérieure de l'intestin. Chaque tubule forme une ou deux ramifications. Lorsqu'ils sont matures (stade IV), les tubules femelles sont de couleur rose à rouge orangé et les ovocytes peuvent être observés sous forme de petits points blancs dans l'ovaire fécond. Après l'émission gamétique (stade V), les tubules se dégradent et virent au marron ; les gamètes non expulsés sont certainement éliminés. Aux stades de maturation avancée, les tubules des gonades mâles sont longs et de couleur blanc crème à beige. Quel que soit le sexe de l'individu, la longueur, le diamètre, la couleur et le nombre de tubules sont liés au stade de maturation des gonades.

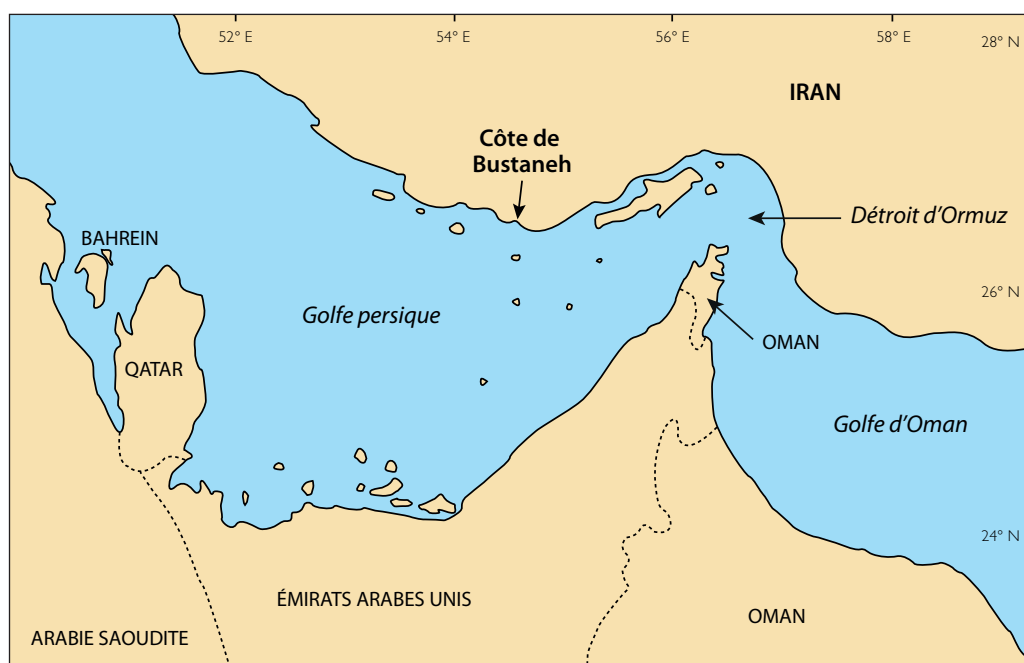


Figure 1. Site expérimental : Bustaneh, golfe persique, Iran.

³ Pour obtenir la longueur moyenne des gonades, on a mesuré, à 0,02 mm près, la longueur (d'une extrémité à l'autre) de 20 % du nombre total de tubules de chaque gonade.

⁴ Pour obtenir le diamètre moyen des gonades, 20 % du nombre total de tubules de chaque gonade ont été mesurés au moyen d'un micromètre oculaire.

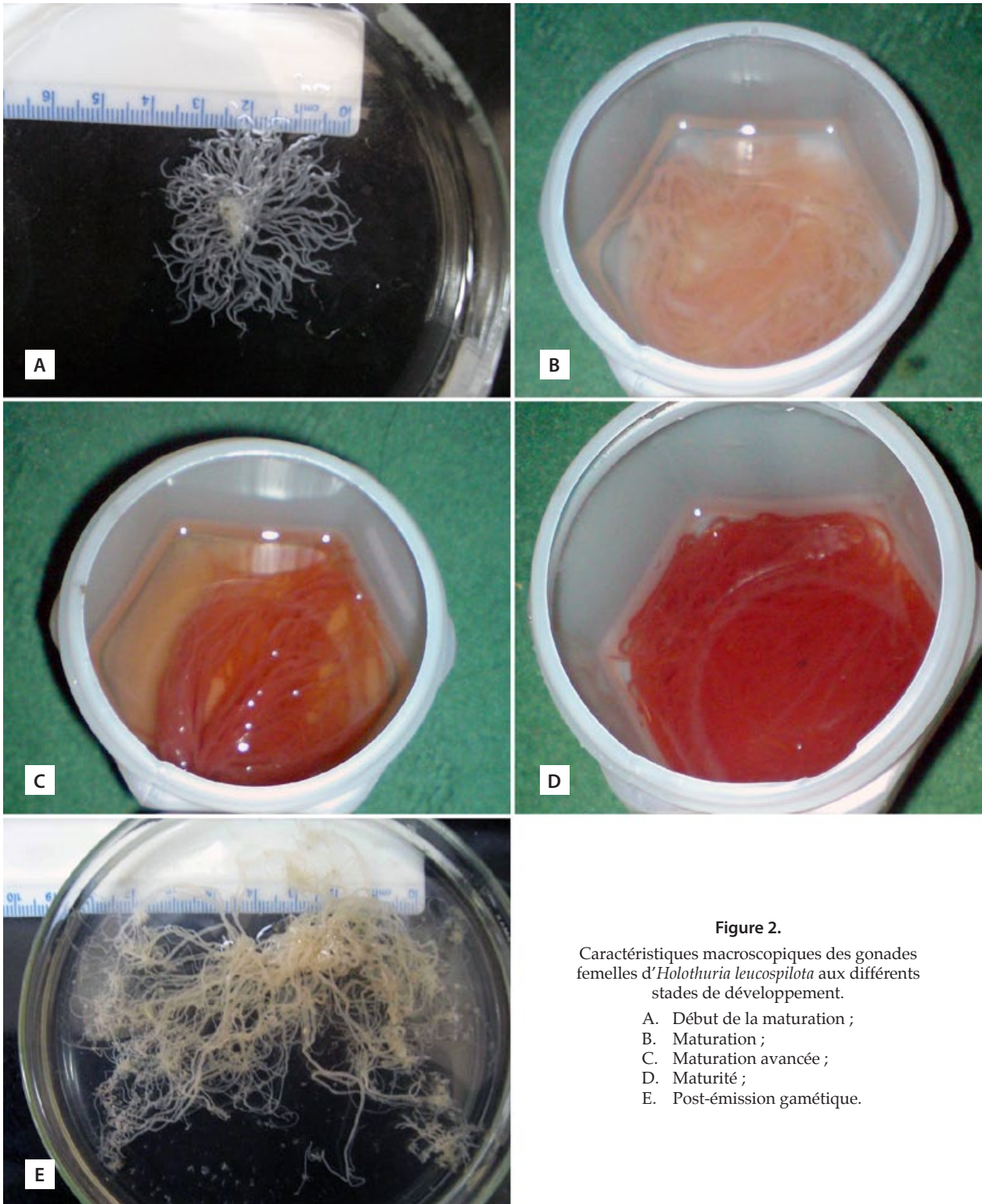


Figure 2.

Caractéristiques macroscopiques des gonades femelles d'*Holothuria leucospilota* aux différents stades de développement.

- A. Début de la maturation ;
- B. Maturation ;
- C. Maturation avancée ;
- D. Maturité ;
- E. Post-émission gamétique.

Caractéristiques macroscopiques des stades de maturation gonadique

Premier stade – Début de la maturation

À ce stade, il est impossible de déterminer le sexe des gonades à l'examen microscopique. Un examen histologique est donc nécessaire. Les tubules des gonades mâles et femelles sont fins, blancs à transparents, peu ramifiés, encore petits et présents en grand nombre (figures 2A et 3A).

Deuxième stade – Maturation

Tant chez les individus mâles que femelles, les dimensions, le nombre de tubules et le nombre de ramifications augmentent. Les gonades femelles sont de couleur blanc à rose très pâle (figure 2B). À l'examen microscopique, la présence d'ovocytes en formation permet de distinguer les femelles des mâles, dont la gonade est blanc clair (figure 3B).



Figure 3.

Caractéristiques macroscopiques des gonades mâles d'*Holothuria leucospilota* aux différents stades de développement.

- A. Début de la maturation ;
- B. Maturation ;
- C. Maturation avancée ;
- D. Maturité ;
- E. Post-émission gamétique.

Troisième stade – Maturation avancée

Tant chez les individus mâles que femelles, les tubules sont plus longs, dilatés, ramifiés et nombreux. Les gonades femelles sont rose foncé (figure 2C) et les gonades mâles sont de couleur crème, légèrement foncée (figure 3C).

Quatrième stade – Maturité

Les tubules sont foisonnants, longs et dilatés chez le mâle et la femelle. Les gonades femelles virent du rose au rouge orangé (figure 2D), tandis que les gonades mâles virent au beige (figure 3D).

Cinquième stade – Post-émission gamétique

Après l'expulsion des gamètes, les tubules régressent et prennent une teinte marron (figures 2E et 3E). Les tubules sont flasques et plus ou moins vides, certaines régions tubulaires étant encore occupées par des gamètes non expulsés. Des ovocytes non expulsés sont observés à différents stades de dégénérescence chez les femelles et sont probablement éliminés.

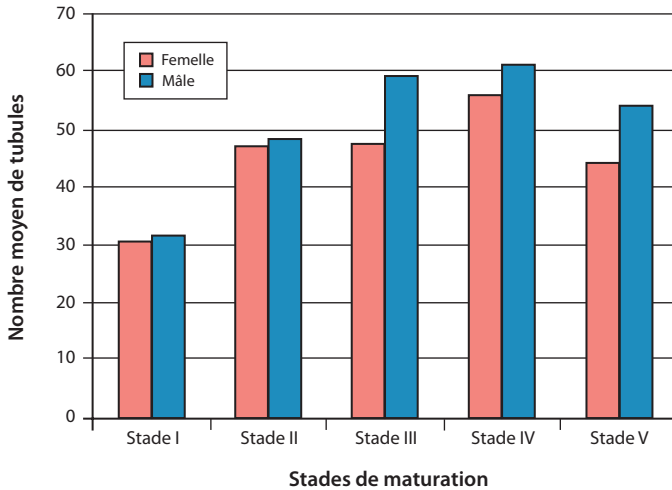


Figure 4. Nombre moyen de tubules aux différents stades de maturité sexuelle du mâle et de la femelle d'*Holothuria leucospilota*.

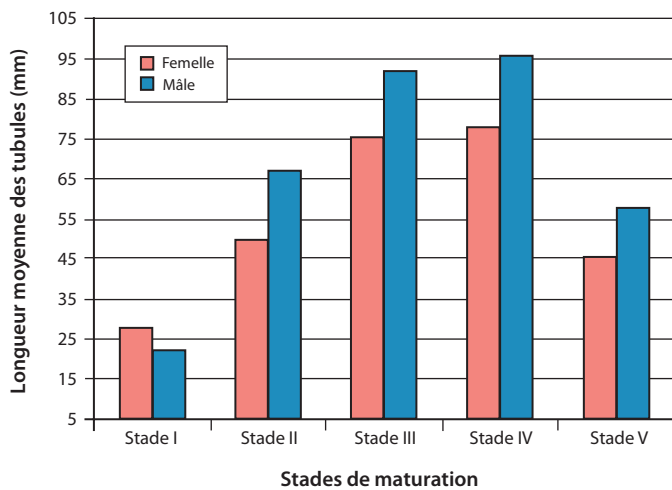


Figure 5. Longueur moyenne des tubules aux différents stades de maturité sexuelle du mâle et de la femelle d'*Holothuria leucospilota*.

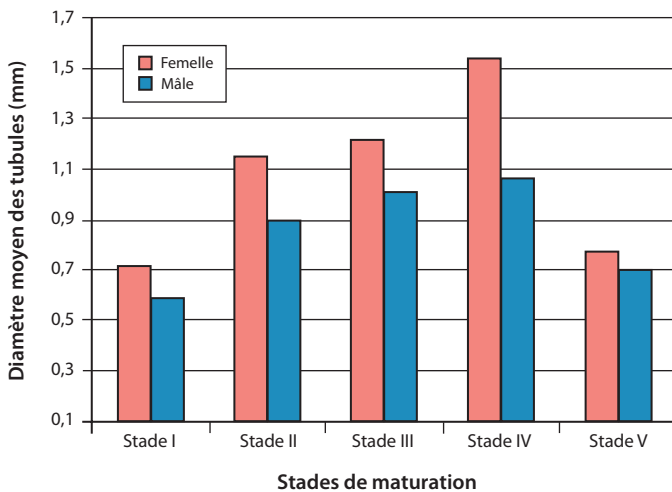


Figure 6. Diamètre moyen des tubules aux différents stades de maturité sexuelle du mâle et de la femelle d'*Holothuria leucospilota*.

Biométrie

Les variations des paramètres biométriques des gonades, dont le nombre, la longueur et le diamètre des tubules, aux différents stades de maturation gonadique, sont présentées dans les figures 4, 5 et 6 pour les mâles et les femelles. Ces paramètres montrent clairement que la maturation s'accompagne d'une augmentation du nombre de tubules par individu. Les tubules sont plus longs et nombreux chez les mâles, mais plus larges chez les femelles (test *t*, $P > 0,05$).

Le rapport entre le poids des gonades ($PG_{(f=femelle)}$, $PG_{(m=mâle)}$) et le nombre de tubules ($y_{(f)}$, $y_{(m)}$) nous donne un coefficient de corrélation élevé (R^2) chez les deux sexes. Voici les équations utilisées (tableau 1).

Tableau 1. Rapport entre le poids des gonades (PG) et le nombre de tubules (y).

Femelle	Mâle
$y_{(f)} = 34,081 PG_{(f)}^{0,2121}$	$y_{(m)} = 37,045 PG_{(m)}^{0,2467}$
$R^2 = 0,803$	$R^2 = 0,737$

Caractéristiques microscopiques des stades de maturation gonadique chez la femelle

Premier stade – Début de la maturation

La lumière tubulaire ne présente aucun gamétocyte. Certains ovocytes en prévitellogénèse sont observés au niveau de l'épithélium germinale de l'ovaire (figure 7A).

Deuxième stade – Maturation

La vitellogénèse est en cours. Des ovocytes en début, milieu et fin de vitellogénèse sont observés. De nombreux ovocytes de petite taille et ovocytes en prévitellogénèse tapissent l'épithélium germinale (figure 7B).

Troisième stade – Maturation avancée

De petits ovocytes sont observés le long de l'épithélium germinale et de la lumière tubulaire, quasiment remplie d'ovocytes matures de grande taille (figure 7C).

Quatrième stade – Maturité

Les tubules sont chargés en ovocytes matures, et plus aucun ovocyte de petite taille n'est observé le long de l'épithélium germinale. On distingue nettement la vésicule germinale de chaque ovocyte (figure 7D).

Cinquième stade – Post-émission gamétique

On observe des ovocytes résiduels aux différents stades de dégénérescence dans la lumière tubulaire. On commence à détecter des signes de phagocytose. Certaines zones des tubules sont vides et allongées,

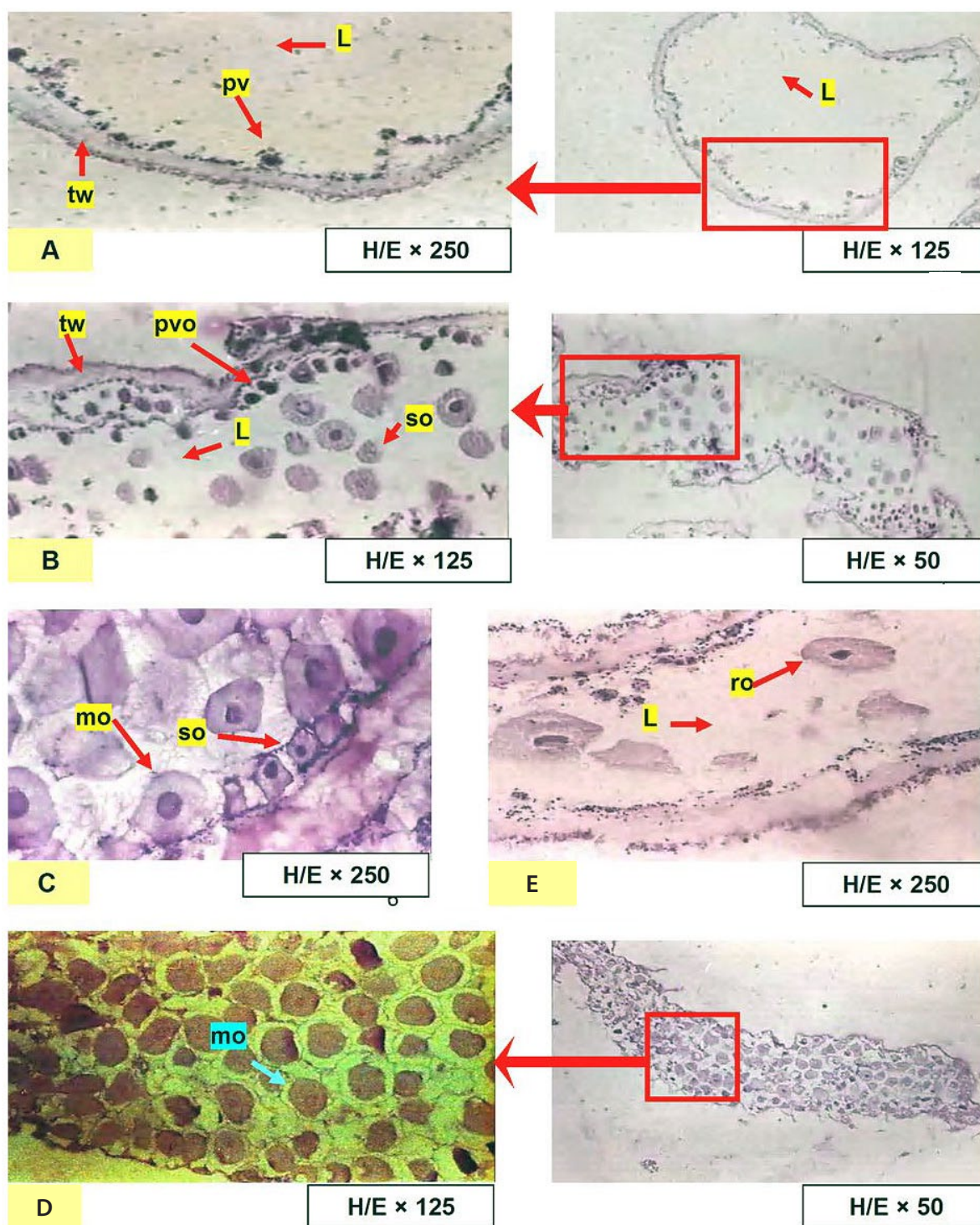


Figure 7.

Caractéristiques microscopiques des gonades femelles d'*Holothuria leucospilota* aux différents stades de développement.

L : lumière ; mo : ovocyte mature ; pvo : ovocyte en prévitellogénèse ; ro : ovocyte résiduel ; so : petit ovocyte ; tw : paroi tubulaire.

A. Début de la maturation ; B. Maturation ; C. Maturation avancée ; D. Maturité ; E. Post-émission gamétique.

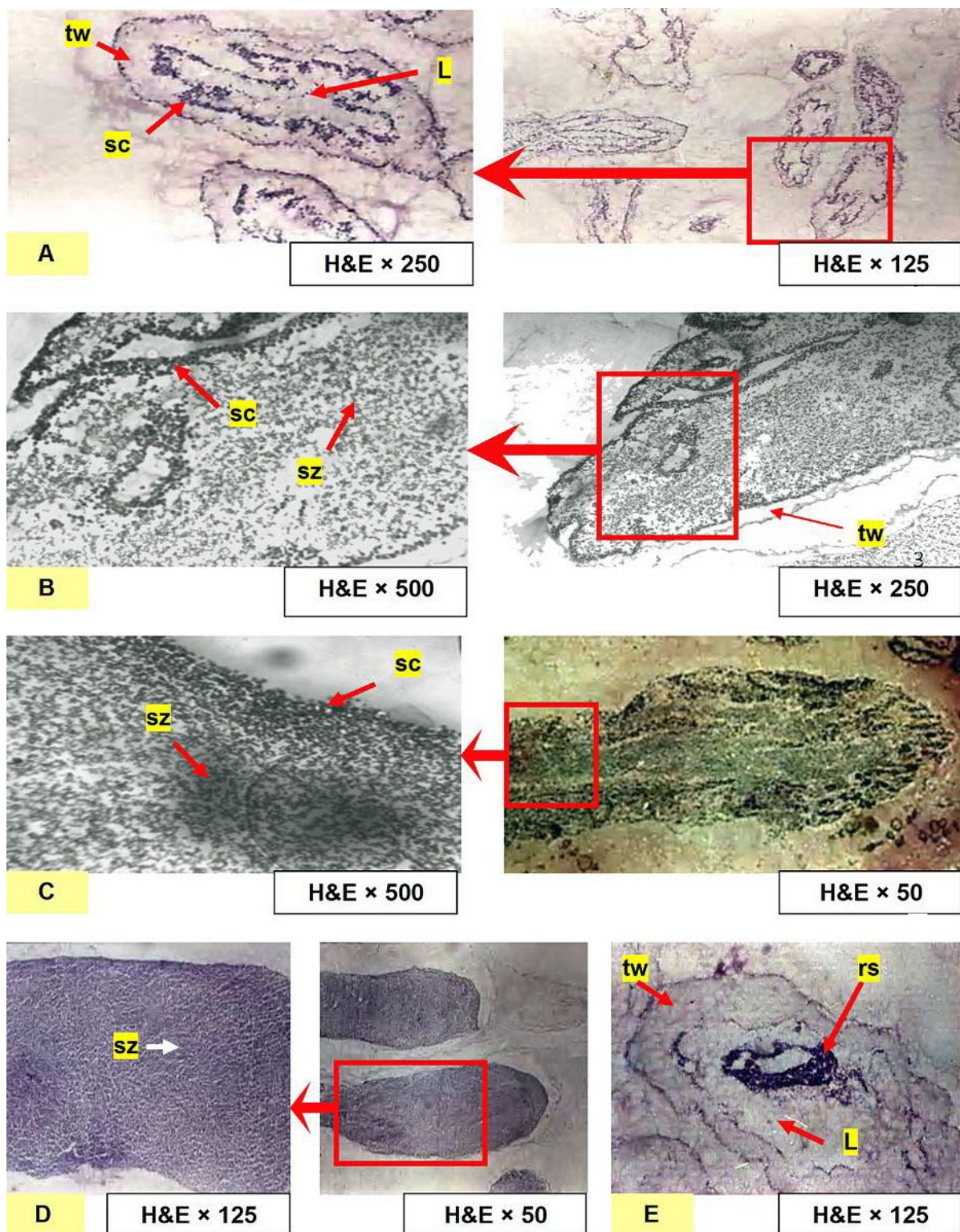


Figure 8.

Caractéristiques microscopiques des gonades mâles d'*Holothuria leucospilota* aux différents stades de développement.

L : lumière ; rs : spermatozoïde résiduel ; sc : spermatocyte ; sz : spermatozoïde ; tw : paroi tubulaire.

A. Début de la maturation ; B. Maturation ; C. Maturation avancée ; D. Maturité ; E. Post-émission gamétique.

signe du passage d'ovocytes le long des parois tubulaires pendant l'expulsion des gamètes (figure 7E).

Caractéristiques microscopiques des stades de maturation gonadique chez le mâle

Premier stade – Début de la maturation

À ce stade, la lumière des tubules est vide, mais on constate la présence de spermatocytes le long de l'épithélium germinal (figure 8A).

Deuxième stade – Maturation

Les tubules présentent de nombreux replis internes au niveau de l'épithélium germinal, où se logent des travées de spermatocytes. Un petit nombre de spermatozoïdes ont migré vers la lumière des tubules (figure 8B).

Troisième stade – Maturation avancée

La paroi des tubules est maintenant lisse. Les spermatocytes sont en nombre très réduit et la lumière est remplie de spermatozoïdes (figure 8C).

Quatrième stade – Maturité

La lumière des tubules est remplie de spermatozoïdes, tandis que les parois tubulaires sont très fines et lisses. Aucune zone de prolifération n'est observée le long de l'épithélium germinal (figure 8D).

Cinquième stade – Post-émission gamétique

Après l'expulsion du sperme, la lumière tubulaire présente des zones vides et allongées ainsi que quelques spermatozoïdes résiduels. Aucune zone de prolifération n'est observée le long de l'épithélium germinal contenant les spermatocytes (figure E).

Discussion

Développement des tubules gonadiques

Les individus *Holothuria leucospilota* résidant le long du littoral de Bustaneh dans le golfe persique possèdent une touffe unique de tubules gonadiques. De nombreuses clés d'identification des stades de maturation des holothuries ont été recommandées par Chao et al. (1994), Conand (1993), Drumm et Lonergan (2005), Howaida et al. (2004), Lee et al. (2008), Purwati et Luong-van (2003), Rasolofonirina et al. (2005), Shiell et Uthicke (2006), et Hoareau et Conand (2002). La présente étude révèle que les tubules ovariens sont plus courts et plus larges que les tubules testiculaires, mais ces derniers sont présents en plus grand nombre. Des résultats similaires se dégagent d'une étude sur *Actinopyga echinites* menée en Nouvelle-Calédonie, qui indique que les tubules testiculaires sont légèrement plus longs et étroits que les tubules ovariens (Conand 1982). En revanche, une étude menée en Iran, dans l'île de Kish, a révélé que le nombre de tubules gonadiques était plus élevé chez les mâles que les femelles de *Stichopus hermanni* (Tehranifard et al. 2006). Dans les conclusions d'une autre étude réalisée en Nouvelle-Calédonie sur trois espèces d'holothuries, Conand (1981) indique que : 1) après l'émission gamétique, les gonades

de *Thelenotia ananas* se ratatinent et se ramollissent, alors qu'on peut encore observer quelques ovocytes ou spermatozoïdes matures résiduels, ainsi que des signes d'atrésie et d'élimination des cellules germinales par les phagocytes ; 2) les gonades d'*Holothuria nobilis* présentent un dimorphisme sexuel : les tubules sont plus courts et plus larges chez les femelles ; 3) les gonades de *H. fuscogilva* ne présentent aucun dimorphisme sexuel.

Les résultats de la présente étude montrent que la maturation sexuelle complète des mâles et des femelles s'accompagne d'une augmentation des paramètres biométriques. Au dernier stade de maturation (post-émission gamétique), les valeurs mesurées décroissent chez les mâles et les femelles, ce qui s'explique très probablement par la régression gonadique post-émission. Dans leur étude sur *Holothuria leucospilota* menée à Darwin (Australie) en 2003, Purwati et Luong-van expliquent que cette espèce a la capacité de « réintégrer » sa gonade une fois ses gamètes expulsés. Cette régression des tubules mâles et femelles a également été observée chez *H. leucospilota* à Hong Kong (Ong-Che 1990). Dans ses travaux de recherche menés en Nouvelle-Calédonie sur trois espèces d'holothuries, Conand (1981) explique la présence d'individus sans gonade pendant la phase de repos, montrant que la gonade se développe pendant toute sa maturation, jusqu'à fécondité, puis se rétracte après l'expulsion gamétique.

La présente étude a montré que le rapport entre le poids des gonades et le nombre de tubules donne chez les deux sexes un coefficient de corrélation élevé (R^2). Rasolofonirina et al. (2005) ont dressé le même constat pour *Holothuria scabra* dans le sud-ouest de l'océan Indien.

Remerciements

Nous tenons à remercier Hossein Rameshi, du Centre de recherche sur les mollusques du golfe persique, et Hossein Riazifar, de l'Office de protection du bioenvironnement de Bandar-e-Lengeh. Nos remerciements vont également à Abdul-Reza Dabbagh, qui nous a apporté une aide précieuse pendant la phase d'échantillonnage, ainsi qu'à Sybil Martin Keshmiri (MA) et à Amin Talebi Bezmin Abadi qui ont corrigé le présent article.

Bibliographie

- Chao S.M., Chen C.P. and Alexander P.S. 1994. Reproduction and growth of *Holothuria atra* (Echinodermata: Holothuroidea) at two contrasting sites in southern Taiwan. *Marine Biology* 119:565–570.
- Conand C. 1981. Sexual cycle of three commercially important holothurian species (Echinodermata) from the lagoon of New Caledonia. *Bulletin of Marine Science* 31(3):523–543.
- Conand C. 1982. Reproductive cycle and biometric relations in a population of *Actinopyga echinites* (Echinodermata: Holothuroidea) from the lagoon of New Caledonia, western tropical Pacific. p. 437–442. In: J.M. Lawrence (ed). *Echinoderms: Proceedings of the International Conference Tampa Bay, Balkema, Rotterdam*.
- Conand C. 1993. Reproductive biology of the holothurian from the major communities of the New Caledonian Lagoon. *Marine Biology* 116:439–450.

- Conand C. and Muthiga N. 2007. Commercial sea cucumbers: A review for the Western Indian Ocean. WIOMSA Book Series No. 5. 66 p.
- Drumm D. and Lonergan R. 2005. Reproductive biology of *Holothuria leucospilota* in the Cook Islands and the implications of traditional fishing of gonads on the population. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research* 39:141–156.
- Hoareau T. et Conand C. 2002. Reproduction sexuée de *Stichopus chloronotus*, holothurie scissipare, à La Réunion (océan Indien). *La Bêche-de-mer, Bulletin de la CPS* 15:4–12.
- Howaida R.G., Ashraf A.I., Hanafy M.H., Lawrence J.A., Ahmed M.I. and El Etreby S.G. 2004. Mariculture of sea cucumber in the Red Sea – the Egyptian experience. *Advances in sea cucumber aquaculture and management* [Available at: <http://www.fao.org/docrep/007/y5501e/y5501e16.htm>].
- Lee J., Byrne M. et Uthicke S. 2008. Reproduction asexuée par scission d'une population d'*Holothuria hilla* (Lesson 1830) sur l'île One Tree Island, Grande Barrière de corail australienne. *La Bêche-de-mer, Bulletin de la CPS* 27:17–23.
- Ong-Che R.G. 1990. Reproductive cycle of *Holothuria leucospilota* (Echinodermata: Holothuroidea) in Hong Kong and the role of body tissues in reproduction. *Asian Journal Marine Biology* 7:115–132.
- Purwati P. et Luong-van T. 2003. La reproduction sexuelle chez une espèce d'holothurie fissipare, *Holothuria leucospilota* Clark 1920 (Echinodermata: Holothuriidea). *La Bêche-de-mer, Bulletin de la CPS* 18:33–38.
- Rasolofonirina R., Vaïtilingon D., Eeckhaut I. and Jangoux M. 2005. Reproductive cycle of edible echinoderms from the south-western Indian Ocean II: the sandfish *Holothuria scabra* (Jaëger, 1833). *Western Indian Ocean Journal Marine Science* 4(1):61–75.
- Shiell G. and Uthicke S. 2006. Reproduction of the commercial sea cucumber *Holothuria whitmaei* (Holothuroidea: Aspidochirotida) in the Indian and Pacific Ocean regions of Australia. *Marine Biology* 148(5):973–986.
- Tehranifard A., Uryan S., Vosoghi G., Fatemy S.M. et Nikoyan A. 2006. Cycle de reproduction de *Stichopus hermanni* – Île de Kish (Iran). *La Bêche-de-mer, Bulletin de la CPS* 24:22–27.