

Dispersion des gamètes et succès de la fécondation du concombre de mer *Cucumaria frondosa*

par Jean-François Hamel et Annie Mercier¹

RÉSUMÉ

Pour faire suite à nos observations sur la reproduction du concombre de mer *Cucumaria frondosa* dans l'estuaire du Saint-Laurent (Canada), nous présentons ci-après les données concernant le comportement des gamètes et leur fécondation en milieu naturel. Au moment de leur émission, les ovocytes de *C. frondosa* possèdent une flottabilité positive et progressent vers la surface. Ils sont fécondés au moment de leur passage à travers une dense strate de spermatozoïdes distribuée sur l'ensemble du site. Conséquemment, le pourcentage d'oeufs fécondés est inversement proportionnel à la profondeur, passant de 27 pour cent près des organismes pondéreux qui tapissent le fond, à environ 85 pour cent près de la surface. Le relâchement asynchrone des gamètes mâles et femelles, combiné à la flottabilité des ovocytes et à la capacité fécondante prolongée des spermatozoïdes apparaissent comme les facteurs déterminants du succès de la reproduction de cette espèce.

INTRODUCTION

Au cours des dernières années, de nombreuses études sur le terrain, en laboratoire ou combinant les deux ont évalué le succès de la fécondation de plusieurs espèces d'échinodermes sous diverses conditions de courant et de densité d'individus (Pennington, 1985; Sewell & Levitan, 1992; Levitan et al., 1992; Young et al., 1992; Levitan, 1993; Benzie & Dixon, 1994; Babcock et al., 1994; Benzie et al., 1994; Hamel & Mercier, 1995a).

Quelques recherches ont établi le succès de la fécondation en relation avec différents paramètres physiques (Denny & Shibata, 1989; Levitan et al., 1991; Denny et al., 1992; Young et al., 1992), d'autres ont noté l'abondance des gamètes et le taux de fécondation dans le milieu naturel (Benzie & Dixon, 1994; Babcock et al., 1994; Benzie et al., 1994). Pennington (1985) a quant à lui estimé le taux de fécondation de l'oursin *Strongylocentrotus droebachiensis* en milieu naturel.

La plupart de ces études ont été réalisées suite à l'induction artificielle de la ponte avec le KCl. Parmi les rares chercheurs à ne pas utiliser cette technique, Sewell & Levitan (1992) ont suivi la fécondation des gamètes de *Cucumaria miniata* dans le milieu ambiant, pendant une ponte naturelle.

Les autres exceptions incluent la mesure de la dispersion du sperme et de la fécondation de l'hydroïde colonial *Hydractinia echinata* (Yund, 1990) et les travaux de Babcock et al. (1994), Benzie & Dixon (1994) et Benzie et al. (1994) sur l'étoile de mer *Acanthaster planci*.

Néanmoins, il n'existe à notre connaissance aucun travail traitant de l'observation continue du succès de fécondation dans la nature, considérant l'influence du nombre d'individus, de leur position sur le substrat et

des facteurs environnementaux sur le succès de la reproduction d'un invertébré marin.

Notre étude n'a pas été conçue dans le but d'établir un modèle du taux de fécondation de *Cucumaria frondosa*, mais plutôt en vue de déterminer la séquence précise d'émission des gamètes et leur fécondation dans un site naturel.

Nous avons donc fait le suivi des concentrations de spermatozoïdes et d'ovocytes, ainsi que du taux de fécondation dans le milieu ambiant durant plusieurs jours au cours d'une ponte naturelle.

Nous avons parallèlement mesuré la variation des principaux facteurs environnementaux. Notre étude contribue à élucider le comportement précis des gamètes de *C. frondosa* et permet éventuellement d'étendre notre conclusion aux invertébrés benthiques qui pondent de façon similaire.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Suivi de la ponte

L'expérience s'est déroulée aux Escoumins, sur la rive nord de l'estuaire du Saint-Laurent à l'est du Canada, durant l'été 1992. L'émission, la dispersion et la fécondation des gamètes furent étudiées au cours de plongées sous-marines. Dès les premiers signes d'une ponte imminente, des groupes d'environ 10 plongeurs, positionnés à diverses profondeurs au moyen de profondimètres électroniques, se sont succédés sous l'eau durant une période de 50 h jusqu'à la fin de la ponte.

Chaque équipe plongeait au maximum 35 min, à intervalles d'au moins 3 à 4 h. La majorité des don-

¹ Société d'exploration et de valorisation de l'environnement (SEVE), 90 Notre-Dame Est, Rimouski (Québec), Canada G5L 1Z6
Tél. et fax: 418 7231739

nées ont été recueillies à moins de 10 m, n'obligeant qu'un minimum de plongeurs à descendre sous la barre des 15 m. Le suivi des paramètres environnementaux est décrit dans un travail antérieur (Hamel & Mercier, 1995b).

Comportement des gamètes durant la ponte d'un individu

Les données de cette portion du travail ont été recueillies durant la ponte isolée de quelques individus, distants d'au moins 20 m du plus proche voisin également en train de pondre. Les plongeurs ont localisé ces individus grâce au mouvement péristaltique caractéristique du concombre de mer s'apprêtant à pondre. Sans déranger le pondreur potentiel, les plongeurs ont alors mis en place une ligne de démarcation de 25 m, parallèle à la direction du courant, attachée à un roc sur le fond et maintenue en surface par une bouée.

Cette opération, généralement effectuée en moins de 15 min, devait être achevée avant le début de la ponte pour que la prise de données puisse être poursuivie. Des bouteilles Niskin de 2,8 litres ont servi à la récolte périodique des échantillons de gamètes aux différentes profondeurs depuis le début de la ponte (t = 0 min) sur une période de 150 min.

Les spermatozoïdes ont été dénombrés dans 5 aliquots de 2 ml sous microscope optique tandis que l'abondance des ovocytes dans 2 aliquots de 1 litre a été déterminée à l'aide d'un binoculaire. Ces opérations se sont déroulées dans un laboratoire à proximité du site.

Après l'émission, la flottabilité des ovocytes a été mesurée en 5 réplicats à l'aide d'un tube gradué, durant l'étale et les périodes de marée.

Comportement des gamètes durant la ponte massive

Des mesures additionnelles ont été prises alors que la ponte impliquait environ 65 pour cent de la population de concombres de mer, afin d'évaluer la concentration de gamètes présents aux divers moments de l'événement.

Cinq échantillons d'eau ont été récoltés à l'aide de bouteilles Niskin aux différentes profondeurs, à intervalles de 30 à 50 min, pour une durée totale de 6 h. Le dénombrement des gamètes s'est déroulé comme décrit précédemment. Les données ont été compilées en considérant la première ponte mâle observée comme temps 0.

Fécondation durant la ponte

Le pourcentage d'oeufs fécondés a été déterminé à intervalles réguliers d'environ 50 min pour la durée totale de la ponte des femelles. L'utilisation de bouteilles Niskin (2,8 l) a permis de récolter des échantillons d'eau (contenant généralement des ovocytes et des spermatozoïdes) à chaque profondeur (0, 5, 10 et 15 m).

Afin de stopper le développement ou la fécondation des ovocytes, 25 ml de formaldéhyde à 37 pour cent ont été injectés dans chaque échantillon d'eau, moins de 5 min après la récolte.

Le taux de fécondation a été évalué en microscopie à fluorescence (microscope à fluorescence Leitz Diaplan) après le traitement des ovocytes avec le colorant Hoechst 33258, spécifique à l'ADN, qui met en évidence la présence de pronucléi mâle dans les oeufs. Le succès de fécondation fut aussi estimé en utilisant un microscope photonique permettant d'observer l'élévation de la membrane de fécondation, la présence de globules polaires ou la division cellulaire.

RÉSULTATS

Comportement des gamètes durant la ponte d'un individu

En raison de la faible variabilité de la densité des gamètes émis par les différents individus ($\leq 15\%$), les données provenant d'individus du même sexe ont été combinées (7 mâles et 9 femelles). Les résultats exprimés constituent la moyenne obtenue pour les mâles et les femelles observés durant la période de 150 min.

Mâles

Une augmentation rapide de la concentration de spermatozoïdes dans un rayon de 3 m du pondreur a été notée au cours des 5 premières minutes suivant la ponte (figure 1). La concentration, qui fluctuait autour de 1×10^5 spermatozoïdes/ml au temps 0 à proximité de l'individu, s'est élevée jusqu'à 10×10^5 spermatozoïdes/ml à 0,5 m de l'individu, après 10 min.

Initialement détectés dans un rayon de 0,5 m du pondreur, les spermatozoïdes se sont dispersés: leur présence était détectable à 3 m après 30 s, à 3,5 m après 5 min et à 4,5 m après 10 min. À ce moment, un nuage blanc de sperme se dispersait latéralement et verticalement à plus de 3 m du mâle.

Quinze à trente minutes après le début de la ponte, la densité maximale de spermatozoïdes, combinant les concentrations aux différentes profondeurs, a été observée, atteignant $1,8 \times 10^5$ spermatozoïdes/ml à 7 m du pondreur. La concentration dans l'entourage immédiat du pondreur n'a jamais dépassé 10×10^5 spermatozoïdes/ml dans le même laps de temps (figure 1).

Ce n'est qu'après 100 min, alors que l'individu a cessé de pondre, que la concentration s'est abaissée à moins de $0,1 \times 10^5$ spermatozoïdes/ml autour de lui. La densité de spermatozoïdes s'est toutefois maintenue élevée à distance du pondreur, atteignant même son paroxysme à 7 m après 150 min, soit $4,5 \times 10^5$ spermatozoïdes/ml (figure 1). La concentration de spermatozoïdes s'est révélée considérable dans le panache de gamètes, tout au long de la ponte, spécialement près de la surface.

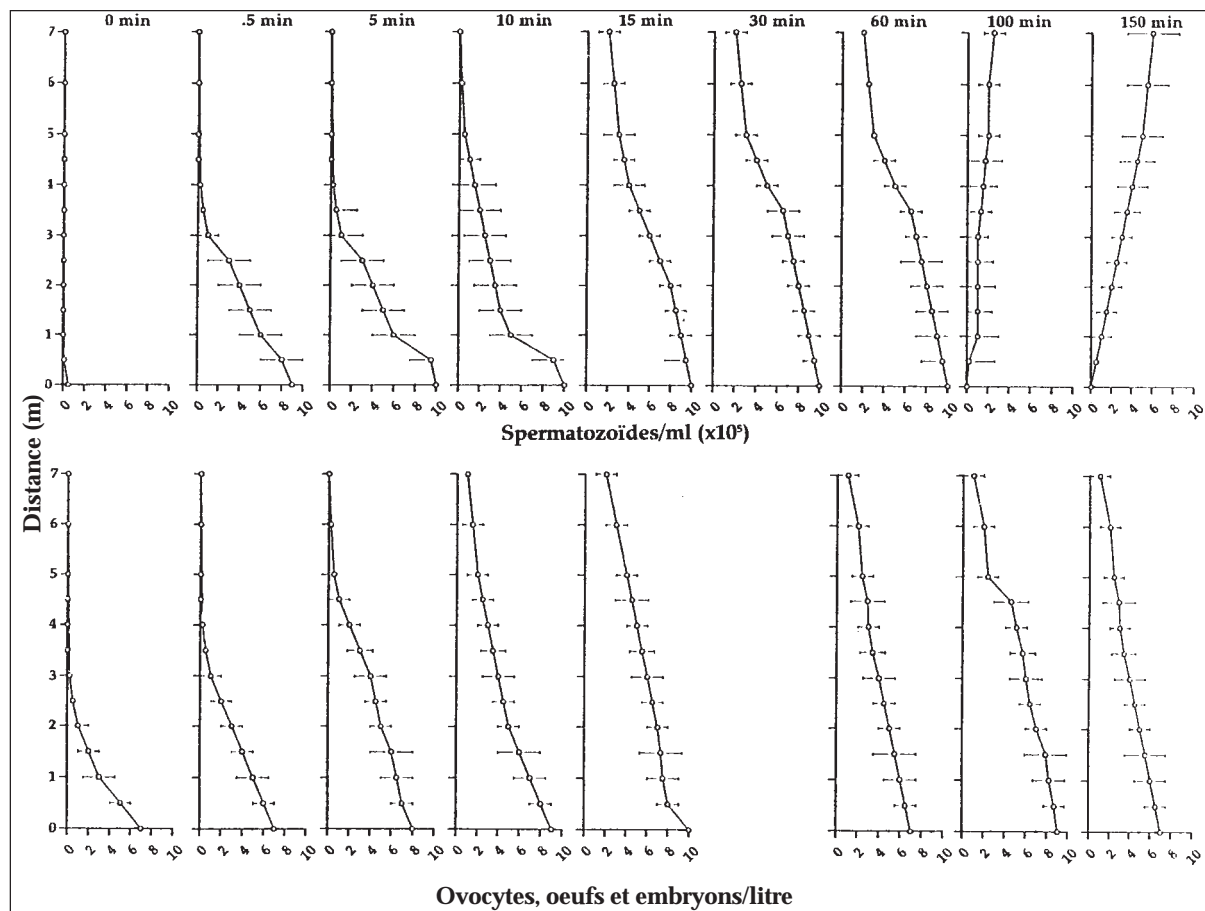


Figure 1. *Cucumaria frondosa*. Densité des gamètes mâles et femelles émises par un seul individu depuis le début de la ponte (0 min) pour une durée de 150 min. Les lignes horizontales représentent l'intervalle de confiance (95 %) pour la moyenne de 12-15 individus.

Femelles

Au début de la ponte des femelles, la densité de spermatozoïdes se situait à environ $1,5 \times 10^6$ /ml. La concentration d'ovocytes s'est élevée dès le début de l'émission, atteignant 7 ovocytes par litre tout près de la ponteuse et 2 ovocytes par litre à 3 m, en moins de 30 s. Après 10 min, la densité se situait autour de 9 ovocytes par litre à moins de 0,5 m, et la présence d'environ 2 ovocytes par litre était détectée jusqu'à 7 m.

La densité maximale d'ovocytes a été observée 15 min après le début de la ponte; elle atteignait environ 10 ovocytes par litre près de la ponteuse et 3 ovocytes par litre à 7 m (figure 1). Après ce délai aucune variation significative de la densité d'ovocytes n'a été notée jusqu'à la fin de l'expérience, et ce, à toutes les profondeurs.

Les ovocytes de *Cucumaria frondosa*, dont la flottabilité est positive, se sont rassemblés à la surface en une couche de 2 à 3 m où les oeufs ont entrepris leur développement. La majorité des ovocytes (>87 %) ont progressé à une vitesse de $0,75 \pm 0,2$ m/min durant l'étale et plus rapidement pendant les mouvements de ma-

rée, atteignant $2,2 \pm 0,5$ m/min alors que la vitesse du courant, près du fond, se situait entre 2 et 5 cm/s. Seuls les ovocytes immatures, ayant une réserve vitelline peu développée, ont décanté vers le fond.

Comportement des gamètes au cours de la ponte massive

La relâchement massif des gamètes, survenu bien après les premières pontes isolées décrites ci-dessus, a également été étudié, alors que 65 à 80 pour cent des mâles et des femelles émettaient leurs gamètes (Hamel & Mercier, 1995b). Au début de la prise de données, la concentration de gamètes était déjà élevée (figure 2); celle des spermatozoïdes était déjà élevée (figure 2); celle des spermatozoïdes était uniforme entre la surface et 15 m de profondeur, montrant une moyenne de $6,5 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml. Cette concentration s'est maintenue jusqu'à 850 min, en dépit de l'apport constant de gamètes en provenance des ponteuses.

C'est après ce délai que la densité maximale a été observée, soit $15,5 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml à 15 m, près du fond. Après 950 min, la majorité des mâles (93 %) ont arrêté de pondre et la densité des spermatozoïdes a chuté à proximité du fond atteignant une valeur minimale d'environ $2,5 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml.

Le point culminant de la ponte des femelles a été atteint quelque 60 min après celui des mâles (Hamel & Mercier, 1995b), impliquant plus de 83 pour cent des femelles. À ce moment, les ovocytes au stade de la première division étaient très abondants près de la surface, où leur densité atteignait environ 40/l.

La densité totale d'ovocytes a toutefois connu une augmentation progressive pour atteindre plus de 100 ovocytes par litre près du fond et 40 ovocytes par litre en surface, après 800 min. À partir de 850 min, la concentration a culminé rapidement en surface, jusqu'à un maximum de 180 ovocytes par litre, après 950 min.

La majorité des femelles ont cessé de pondre après 1050 min et les concentrations d'ovocytes ont chuté à moins de 10 ovocytes par litre près du fond mais se sont maintenues à 140 ovocytes par litre en surface (figure 2). La ponte de la population entière de concombres de mer s'est étendue sur environ 24 h. Chaque individu, mâle ou femelle, a émis des gamètes durant une période de 2 à 3 h et 65 pour cent des individus ont pondu simultanément dans un court intervalle de 3 h.

Succès de la fécondation

Durant les premières émissions d'ovocytes (600 min après la toute première ponte mâle), le taux de fécondation est demeuré faible près du gonopore, n'atteignant que 9 pour cent (figure 3). Après 620 min, environ 82 pour cent des ovocytes collectés près de la surface étaient fécondés, contre 15 pour cent près des femelles. Le taux de fécondation à proximité des ponteuses n'a jamais dépassé 27 pour cent (figure 3).

La proportion d'ovocytes fécondés présents dans la totalité de la colonne d'eau a augmenté progressivement pour atteindre un maximum après 640 min. La proportion est ensuite demeurée stable jusqu'à 950 min, délai après lequel la majorité des mâles avaient cessé de pondre.

Le taux de fécondation près de la surface est néanmoins demeuré élevé, ne s'abaissant à moins de 75 pour cent qu'à la toute fin des observations. De 1000 à 1050 min, le taux de fécondation près des femelles s'est rapidement abaissé jusqu'à devenir presque nul, alors qu'il demeurait aux alentours de 45 pour cent en surface.

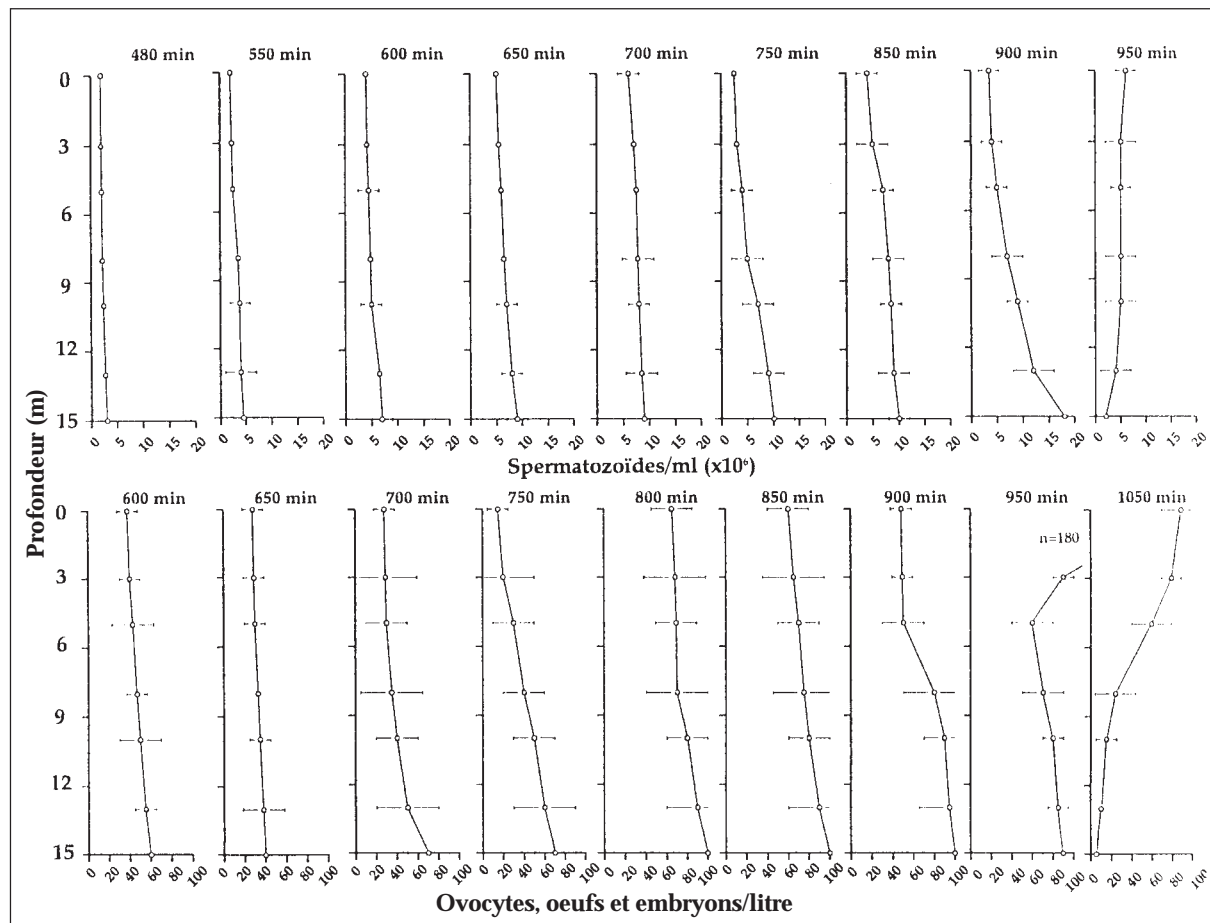


Figure 2. *Cucumaria frondosa*. Valeur intégrée des densités de gamètes mâles et femelles présents dans la colonne d'eau (de la surface à 15 m de profondeur) pour la durée entière de la ponte massive en juin 1992. Le temps indiqué en haut de chaque graphique correspond au nombre de minutes écoulées depuis l'observation de la première ponte isolée (mâle). Les lignes horizontales représentent l'intervalle de confiance (95 %).

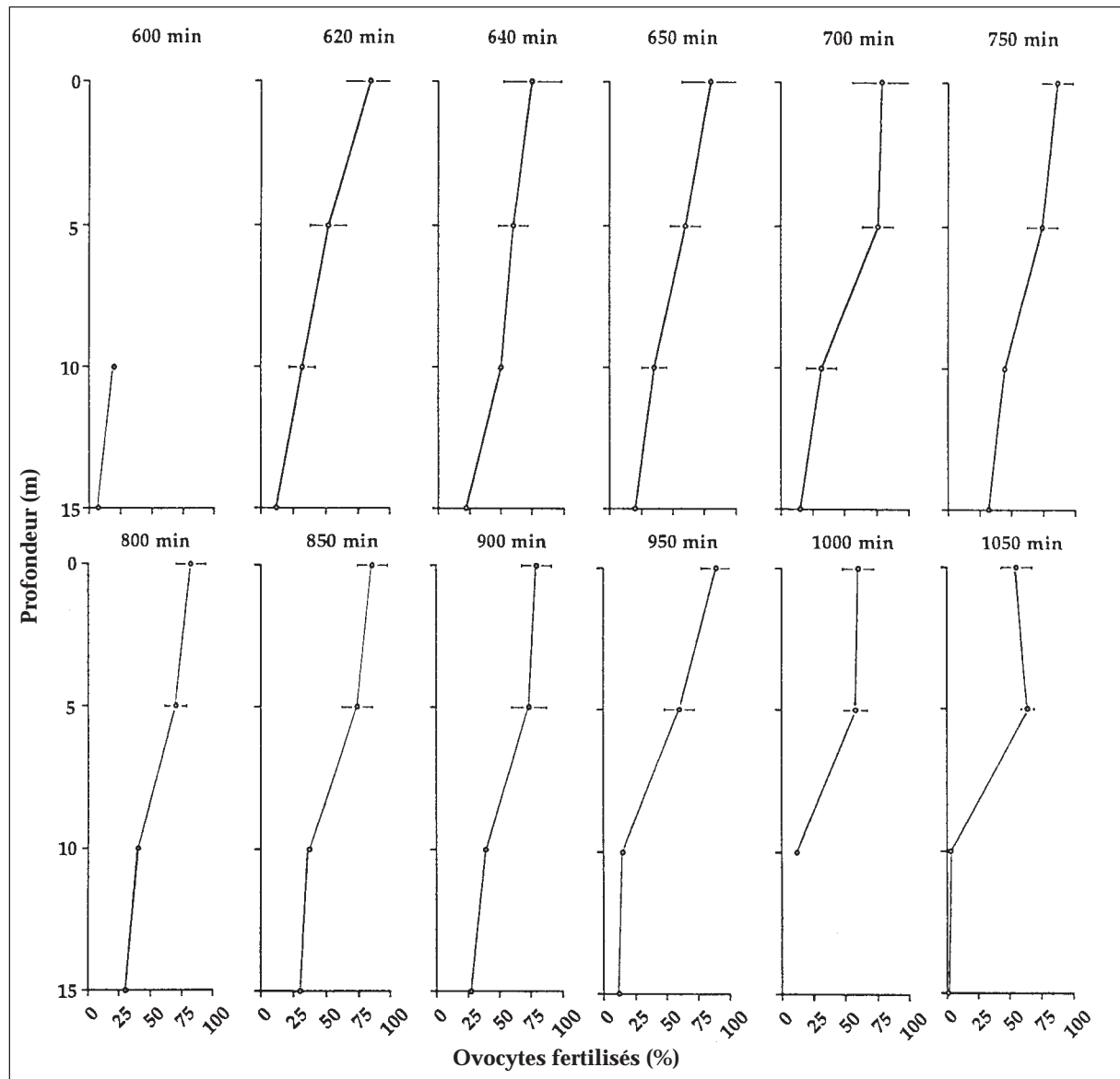


Figure 3. *Cucumaria frondosa*. Pourcentage d'ovocytes fécondés à 15, 10, 5 m et à la surface de l'eau, au cours de la ponte des femelles. Le temps indiqué en haut de chaque graphique correspond au nombre de minutes écoulées depuis l'observation de la première ponte isolée (mâle). Les lignes horizontales représentent l'intervalle de confiance (95 %).

DISCUSSION

Les données de la dispersion des gamètes et du taux de fécondation recueillies dans le milieu naturel durant la ponte de *Cucumaria frondosa* ne s'accordent pas entièrement avec la majorité des prédictions modélisées.

Elles diffèrent également des données empiriques amassées au cours de la ponte d'autres invertébrés marins. Les seuls résultats comparables ont été présentés par Sewell & Levitan (1992), et concernent un congénère de la côte ouest du Canada, *C. miniata*.

En dépit du fait que la plupart des modèles tiennent compte de plusieurs variables telles que le courant, la morphologie du substrat, la densité de la population, la distance entre les individus et l'abondance des ga-

mètes, la différence que nous avons observée découle sans doute de certains autres facteurs, plus difficiles à considérer avec précision. La synchronie de la ponte des deux sexes, les comportements complexes d'agrégation des individus, la communication chimique, la longévité et le comportement des gamètes sont, avec les conditions environnementales prévalant durant la ponte, parmi les variables qui n'entrent généralement pas dans les calculs de modélisation.

Alors qu'un délai d'une heure entre les points culminants de la ponte des mâles et de celle des femelles *C. frondosa* (Hamel & Mercier, 1995b) peut sembler négligeable, il suffit apparemment pour atteindre une concentration de sperme élevée dans l'eau ($3 \text{ à } 18 \times 10^6$ spermatozoïdes/ml) avant la ponte des femelles (figure 2). Cette asynchronie dans l'initiation de la ponte

favorise aussi la formation d'un nuage de spermatozoïdes à travers lequel les ovocytes passent durant leur progression vers la surface, augmentant ainsi les chances de fécondation.

Ce comportement explique sans doute l'observation d'une proportion maximale d'oeufs fécondés (>85 %) en surface. Ce fut également le cas dans l'étude de *C. miniata* par Sewell & Levitan (1992). Le succès de fécondation optimum que nous avons mesuré dans la nature correspond à celui obtenu lors de travaux en laboratoire avec *Cucumaria frondosa* (Hamel & Mercier, 1996).

La capacité fécondante du sperme de *Cucumaria frondosa*, qui se maintient jusqu'à 10 h (Hamel & Mercier, 1996), a probablement joué un rôle important dans le maintien d'une forte concentration de spermatozoïdes actifs dans la colonne d'eau avant la ponte des femelles. Cette capacité fécondante s'avère plus persistante que celle du sperme de l'oursin vert *Stongylocentrotus droebachiensis*, laquelle dépasse rarement 20 min selon Pennington (1985).

Celui-ci et Denny (1988) ont indiqué que la longévité du sperme était relativement peu importante dans des conditions de fort courant puisque le sperme est alors rapidement dispersé. La population de *C. frondosa* étudiée dans l'estuaire du Saint-Laurent, colonise une région à haut niveau d'énergie où l'amplitude des marées et les courants générés par le vent sont forts.

La principale activité de ponte s'est toutefois déroulée durant l'étalement, à marée basse (Hamel & Mercier, 1995b). Les concentrations de spermatozoïdes et d'ovocytes sont demeurées élevées au-dessus des concombres de mer, spécialement durant la ponte massive (figure 2).

Bien qu'une portion de gamètes ait pu être exportée continuellement hors de la baie, nous croyons qu'un courant résiduel couplé à un vent qui soufflait en direction de la côte a favorisé la rétention d'une large part de gamètes dans la baie. Ces facteurs ont permis le maintien de fortes densités, jusqu'à 18×10^6 spermatozoïdes/ml, juste avant la ponte des femelles.

La marée basse, les conditions de courant et la ponte massive ont apparemment contribué à minimiser la dispersion des gamètes avant la fécondation, tel que précédemment suggéré par McEuen (1988) pour certaines espèces de dendrochirotes et par Sewell & Levitan (1992) pour *C. miniata*. McDowall (1969) et Sewell & Levitan (1992) ont également proposé que la marée basse réduisait le volume d'eau dans lequel les gamètes étaient dilués, favorisant ainsi le succès de la fécondation.

La densité de *Cucumaria frondosa* varie entre 5 et 18 ind./m² sur le site étudié, ce qui représente une biomasse approximative de 3 à 5 kg/m², entre 10 et 15 m de profondeur (Hamel & Mercier, 1996). Cette abon-

dance, combinée à une égale proportion de mâles et de femelles pourrait aussi favoriser un fort taux de fécondation en maintenant d'importantes concentrations de sperme et en limitant la dilution des gamètes. La densité des populations a déjà été proposée comme facteur décisif dans le succès de la fécondation d'autres espèces d'échinodermes (Levitan, 1991; Levitan et al., 1992; Sewell & Levitan, 1992).

Certains modèles prédisant le succès de la fécondation des invertébrés marins tendent à intégrer plusieurs facteurs importants et réalistes. Plus ces paramètres sont nombreux, meilleures seront les prédictions. Malgré tout, certaines difficultés sont inhérentes à la mesure in situ de la dispersion et de la fécondation des gamètes.

Nous croyons que l'observation méthodique, directement dans le milieu naturel, des différentes conditions prévalant durant la ponte, est essentielle afin d'arriver à une applicabilité réelle des modèles, spécialement en raison des stratégies évidentes utilisées par certains invertébrés marins afin de contrôler la dispersion de leurs gamètes et d'en favoriser la fécondation (voir Chia & Walker, 1991; Smiley et al., 1991; Pearse & Cameron, 1991). De plus, les pontes naturelles s'étendent généralement sur plusieurs heures, voire plusieurs jours, au cours desquelles les conditions environnementales varient continuellement.

Plusieurs facteurs semblent optimiser la fécondation des oeufs des invertébrés marins, incluant *Cucumaria frondosa*. La densité de la population, la distance entre les individus et le ratio mâle-femelle sont certainement importants pour toutes les espèces.

Les autres paramètres essentiels que nous avons notés pour *C. frondosa* incluent l'initiation asynchrone des pontes mâle et femelle, la capacité fécondante prolongée du sperme et le maintien de fortes densités de spermatozoïdes sur le site, malgré les conditions variables de courant.

La flottabilité des ovocytes contribue également au succès de la fécondation en multipliant les occasions de contact avec les spermatozoïdes. Cet ensemble de facteurs explique fort probablement le recrutement annuel élevé et les denses populations de *C. frondosa*, le long des côtes de l'estuaire du Saint-Laurent.

BIBLIOGRAPHIE

- BABCOCK, R. C., G. D. BULL, P. L. HARRISON, A. J. HEYWARD, J. K. OLIVER, C. C. WALLACE & B. L. WILLIS. (1986). Synchronous spawnings of 105 scleractinian coral species on the Great Barrier Reef. *Mar. Biol.* 90: 379-394.
- BABCOCK, R. C., C. N. MUNDY & D. WHITEHEAD. (1994). Sperm diffusion models and in situ confirmation of long distance fertilisation in the free-spawning asteroid *Acanthaster planci*. *Biol. Bull.* 186: 17-28.

- BENZIE, J. A. H. & P. DIXON. (1994). The effects of sperm concentration, sperm: egg ratio, and gamete age on fertilisation success in the crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) in the laboratory. *Biol. Bull.* 186: 139–152.
- BENZIE, J. A. H., K. P. BLACK, P. J. MORAN & P. DIXON. (1994). Small scale dispersion of eggs and sperm of the crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) in a shallow reef habitat. *Biol. Bull.* 153–167.
- CHIA, F.-S. & C. W. WALKER. (1991). Echinodermata: Asterozoa. **Dans:** Giese, A. C., J. S. Pearse & V. B. Pearse (eds). *Reproduction of marine invertebrates, Echinoderms and Lophophorates*. Boxwood Press, California, 301–353.
- DENNY, M. W. (1988). *Biology and the mechanics of the wave-swept environment*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey. 329 p.
- DENNY, M. W. & M. F. SHIBATA. (1989). Consequence of surf-zone turbulence for settlement and external fertilization. *Am. Nat.* 134: 859–889.
- DENNY, M. W., J. DAIRIKI & S. DISTEFANO. (1992). Biological consequences of topography on wave-swept rocky shores: I. Enhancement of external fertilisation. *Biol. Bull.* 183: 220–232.
- HAMEL, J.-F. & A. MERCIER. (1995a). Prespawning behavior, spawning and development of the brooding starfish *Leptasterias polaris*. *Biol. Bull.* 188: 32–45.
- HAMEL, J.-F. & A. MERCIER. (1995b). Reproduction de l'espèce *Cucumaria frondosa* dans l'estuaire du Saint-Laurent, Canada. *La bêche-de-mer, bulletin d'information de la CPS n°7*: 12–18.
- HAMEL, J.-F. & A. MERCIER. (in press). Early development, settlement, growth and spatial distribution of the sea cucumber *Cucumaria frondosa* (Echinodermata: Holothuroidea). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*
- LEVITAN, D. R. (1993). The importance of sperm limitation to the evolution of egg size in marine invertebrates. *Am. Nat.* 141: 517–536.
- LEVITAN, D. R., M. A. SEWELL & F. S. CHIA (1991). Kinetics of fertilization in the sea urchin *Strongylocentrotus franciscanus*: Interaction of gamete dilution, age, and contact time. *Biol. Bull.* 181: 371–378.
- LEVITAN, D. R., M. A. SEWELL & F. S. CHIA (1992). How distribution and abundance influence fertilization success in the sea urchin *Strongylo-centrotus franciscanus*. *Ecology* 73: 248–254.
- MCDOWALL, R. M. (1969). Lunar rhythms in aquatic animals. A general review. *Tuatara* 17: 133–144.
- MCÉUEN, F. S. (1988). Spawning behaviors of the northeast Pacific sea cucumbers (Holothuroidea: Echinodermata). *Mar. Biol.* 98: 565–585.
- PEARSE, J. S. & R. A. CAMERON. (1991). Echinodermata: Echinozoa. **Dans:** Giese, A. C., J. S. Pearse & V. B. Pearse. (eds). *Reproduction of marine invertebrates, Echinoderms and Lophophorates*. Boxwood Press, California. 513–662.
- PENNINGTON, J. T. (1985). The ecology of fertilisation of echinoid eggs: the consequences of sperm dilution, adult aggregation and synchronous spawning. *Biol. Bull.* 169: 417–430.
- SEWELL, M. A. & D. R. LEVITAN (1992). Fertilisation success during a natural spawning of the dendrochirote sea cucumber *Cucumaria miniata*. *Bull. Mar. Sci.* 51: 161–166.
- SMILEY, S., F. S. MCÉUEN, C. CHAFFEE & S. KRISHNAN. (1991). Echinodermata: Holothuroidea. **Dans:** Giese, A. C., J. S. Pearse & V. B. Pearse. (eds). *Reproduction of marine invertebrates, Echinoderms and Lophophorates*. Boxwood Press, California. 663–750.
- YOUNG, C. M., P. A. TYLER, J. L. CAMERON & S. G. RUMRILL. (1992). Seasonal breeding aggregations in low-density populations of the bathyal echinoid *Stylocidaris lineata*. *Mar. Biol.* 113: 603–612.
- YUND, P. O. (1990). An in situ measurement of sperm dispersal in a colonial marine hydroid. *J. Exp. Zool.* 253: 102–106.

