



# MANUEL D'ÉCLOSERIE D'HOLOTHURIES DE SABLE

Par Natacha Agudo



CPS  
Secrétariat général  
de la Communauté  
du Pacifique



PROVINCE SUD  
LE MOI ET LE MONDE



Australian Government  
Australian Centre for  
International Agricultural Research



PROVINCE DES ÎLES LOYAUTÉ



WorldFish  
CENTER



PROVINCE NORD



# MANUEL D'ÉCLOSERIE D'HOLOTURIES DE SABLE

Par Natacha Agudo



Australian Government  
Australian Centre for  
International Agricultural Research



© Copyright le Centre australien pour la recherche agricole internationale (ACIAR),  
le Secrétariat général de la Communauté du Pacifique (CPS) et le WorldFish Center, 2007

Tous droits réservés de reproduction ou de traduction à des fins commerciales/lucratives, sous quelque forme que ce soit. L'ACIAR, la CPS et le WorldFish Center autorisent la reproduction ou la traduction partielles de ce document à des fins scientifiques ou éducatives ou pour les besoins de la recherche, à condition qu'il soit fait mention de l'ACIAR, de la CPS, du WorldFish Center et de la source. L'autorisation de la reproduction et/ou de la traduction intégrale ou partielle de ce document, sous quelque forme que ce soit, à des fins commerciales/lucratives ou à titre gratuit, doit être sollicitée au préalable par écrit. Il est interdit de modifier ou de publier séparément des graphismes originaux de l'ACIAR, de la CPS et du WorldFish Center sans autorisation préalable.

Original : Anglais

Secrétariat général de la Communauté du Pacifique, catalogage avant publication

Sandfish hatchery techniques / by Natacha Agudo

1. Holothurians – Spawning – Handbooks, manuals, etc.

I. Agudo, Natacha II. Title.

639.8

AACR2

ISBN 978-982-00-0189-3

ACIAR, GPO Box 1571, Canberra, ACT 2601, Australie  
CPS, B.P. D5, 98848 Nouméa Cedex, Nouvelle-Calédonie  
WorldFish Center, c/CPS, B.P. D5, 98848 Nouméa Cedex, Nouvelle-Calédonie

Maquette et mise en page: Muriel Borderie  
Photographies: Natacha Agudo, Cathy Hair et Steve Purcell  
Imprimé au siège de la CPS, à Nouméa, Nouvelle-Calédonie

## AVANT-PROPOS

L'holothurie de sable est sans doute l'espèce tropicale d'holothurie qui revêt la plus forte valeur marchande, dont le produit transformé est appelé bêche-de-mer. Elle est présente dans de nombreuses parties de la région indo-pacifique. On la trouve dans les zones côtières peu profondes et facilement accessibles aux pêcheurs du littoral. La bêche-de-mer de première catégorie se vend à des prix très élevés sur les marchés internationaux, l'exposant ainsi aux risques de surexploitation. Ce fait a été hélas vérifié dans la plupart des zones riches en holothuries de sable. Si l'holothurie de sable figurait il y a vingt à trente ans parmi les principales composantes des pêcheries d'holothuries, elle ne représente plus aujourd'hui qu'une proportion relativement minime des exportations.

Il n'est pas surprenant de voir le grand intérêt que suscite la reconstitution des stocks d'holothuries de sable. Les communautés côtières de pêcheurs ne disposent pas ou peu d'autres sources de revenus. Si la reconstitution des stocks doit impérativement passer par une meilleure gestion de la pêche et, plus précisément, par des mesures destinées à sauvegarder les stocks de géniteurs restants, l'aquaculture pourrait, elle aussi, contribuer à restaurer les populations de cette espèce de grande valeur de trois façons différentes:

- Élevage et lâcher de juvéniles dans le cadre de programmes de reconstitution des stocks afin d'augmenter le nombre de géniteurs, mais uniquement dans les sites où il existe d'autres formes de gestion;
- Opérations de "pacage en mer" consistant à placer des juvéniles d'élevage dans leur milieu naturel et à les recueillir une fois qu'ils ont atteint leur taille adulte, avant tout épisode de reproduction;
- Élevage de juvéniles dans des bassins en terre et des enclos marins.

Le présent manuel constitue un guide à l'intention des organismes publics et des professionnels du secteur privé qui souhaitent adopter l'une de ces méthodes de reconstitution des stocks d'holothuries de sable. Ainsi, le manuel explique les méthodes fondamentales d'induction de la ponte et d'élevage des juvéniles d'holothuries de sable. Inspiré du travail de pionnier réalisé en 1988 au Centre de recherche de Tuticorin du CMFRI (Central Marine Fisheries Research Institute) en Inde, cet ouvrage repose principalement sur les méthodes mises au point et appliquées par le WorldFish Center (ex-ICLARM) aux Îles Salomon, au Vietnam et en Nouvelle-Calédonie.

Les informations fournies dans le manuel permettront au personnel des écloséries de produire des holothuries de sable qui pourront être lâchées en assez grand nombre (dizaines de milliers d'individus) et de façon régulière dans leur milieu naturel. Toutefois, l'ouvrage ne prétend pas à l'exhaustivité. Il s'agit plutôt d'un état des lieux des connaissances actuelles.



Figure 1. Bêche-de-mer.

## REMERCIEMENTS

L'élaboration de ce manuel a été possible grâce aux recherches menées sur différents aspects de l'élevage et sur l'écologie de l'holothurie de sable par deux groupes de personnes: d'abord, celles qui ont fourni les connaissances de base relatives à la ponte, à l'élevage larvaire et à l'écologie de l'holothurie de sable (Stephen Battaglene, Chantal Conand, Jean-François Hamel, D. B. James, Claude Massin, Annie Mercier, Andrew Morgan, Rayner Pitt, Chris Ramofafia et J. Evizel Seymour); ensuite, mes collègues du WorldFish Center, les agents du Northern Fisheries Centre, du Queensland Department of Primary Industries and Fisheries, et les stagiaires de Conservation International de Papouasie Nouvelle-Guinée (Priscilla Eka, Pamela Mua), qui m'ont aidée à élaborer et à améliorer les méthodes de base.

J'aimerais également remercier Warwick Nash, Johann Bell, Steve Purcell, Cathy Hair, Gale Semmens et Richard Knuckey pour leurs encouragements, leurs commentaires sur le contenu du manuel et leurs révisions pour la version anglaise, et Steve Purcell et Cathy Hair pour leurs photos. Je voudrais remercier le personnel du Service Traduction du Secrétariat général de la Communauté du Pacifique pour sa collaboration dans la réalisation de la version française.

La production de ce manuel a été financée par le Centre australien pour la recherche agricole internationale (ACIAR), le Secrétariat général de la Communauté du Pacifique (CPS), et le WorldFish Center.

# SOMMAIRE

<b>Biologie élémentaire des holothuries de sable .....</b>	<b>7</b>
Comment identifier une holothurie de sable? .....	7
Biologie: complément d'information .....	8
Où trouver les holothuries de sable? .....	8
<b>Stocks de géniteurs.....</b>	<b>9</b>
Quand faut-il prélever les géniteurs? .....	9
Nombre et poids des géniteurs.....	9
Transport des géniteurs vers l'écloserie.....	9
Stockage des géniteurs dans des bacs, des enclos marins et des bassins en terre .....	10
Comment améliorer le taux de réussite de ponte? .....	11
<b>Ponte .....</b>	<b>13</b>
Préparation des géniteurs pour la ponte.....	13
Induction de la ponte chez les holothuries de sable .....	13
Observation du comportement des géniteurs.....	14
Que faire en cas d'échec de la ponte? .....	15
La première femelle vient de pondre! Comment gérer la fécondation? .....	15
Collecte des œufs dans le bac de ponte .....	16
Estimation de la densité des œufs .....	17
<b>Élevage larvaire .....</b>	<b>19</b>
Transfert des œufs dans les bacs d'élevage larvaire.....	19
Cycle larvaire de l'holothurie de sable .....	19
Comment élever les larves?.....	22
Apparition des premières larves doliolaria! Quels sont les éléments nécessaires à leur fixation? .....	25
Alimentation des larves pentactula et des juvéniles .....	26
Liste des tâches quotidiennes au cours de l'élevage larvaire.....	27
<b>Nurserie .....</b>	<b>29</b>
Élevage des juvéniles .....	29
Détacher et compter les juvéniles avant de les transférer dans les bacs de nurserie .....	30
Les deux phases de l'élevage en nurserie .....	31
Liste des tâches au cours de l'élevage en nurserie.....	32
<b>Grossissement des juvéniles.....</b>	<b>33</b>
Dans des filets à poche installés dans des bassins.....	33
Dans des bassins.....	34
Dans des enclos marins.....	35
<b>Problèmes et solutions possibles.....</b>	<b>36</b>
<b>Débouchés prometteurs pour les holothuries de sable d'élevage .....</b>	<b>37</b>
<b>Annexe 1: Culture de micro-algues .....</b>	<b>39</b>
Maintien des cultures de micro-algues.....	39
Préparation et inoculation des cultures de micro-algues.....	40
<b>Quelques lectures .....</b>	<b>43</b>





# BIOLOGIE ÉLÉMENTAIRE DES HOLOTHURIES DE SABLE

## Comment identifier une holothurie de sable?

L'holothurie de sable a un corps allongé, ovale et massif. Sa face dorsale relativement lisse est tapissée de petites papilles (podia sensoriels) tachetées de noir. Sa couleur varie du gris au noir et présente des ridules noires transversales. Généralement blanchâtre, sa face ventrale est aplatie. Sa bouche est située à l'extrémité antérieure du corps, sur la face ventrale. De forme ovale, elle est entourée de 20 petits tentacules peltés. Son anus se trouve sur la face dorsale, à l'extrémité postérieure du corps.

Les holothuries de sable sont des échinodermes, cousins des étoiles de mer et des oursins. La taxonomie exacte de l'holothurie de sable est la suivante:

Phylum: Échinodermes

Classe: Holothuroidea (munie de podia)

Ordre: Aspidochirotida (possédant des tentacules peltés)

Famille: Holothuriidae (caractérisée habituellement par un corps circulaire et une seule touffe de gonade)

Genre: *Holothuria (Metriatyla)* Rowe, 1969

*Holothuria (Metriatyla) scabra* Jaeger, 1833



Figure 2.  
Holothuries de sable.

Taille adulte: 12-36 cm de longueur

Poids adulte: 200-1 500 g

## Biologie: complément d'information

L'anatomie générale de l'holothurie de sable est semblable à celle des autres holothuries. La gonade (ovaire ou testicule) formée d'une touffe de filaments se termine par le gonopore, orifice génital situé à l'extrémité antérieure du corps, sur la face dorsale. L'appareil digestif se compose de la bouche, de l'œsophage, de l'estomac, de l'intestin, du cloaque et de l'anus. L'appareil respiratoire, utilisé par l'holothurie de sable pour prélever l'oxygène, se trouve à l'extrémité postérieure du corps et débouche sur le cloaque. Le tégument utilisé pour la production de la bêche-de-mer représente environ 56 % du poids total frais de l'holothurie de sable.

L'holothurie de sable se déplace grâce aux pieds ambulacraires (podia) répartis en grand nombre sur sa face ventrale, et en actionnant les muscles de son tégument.

Elle se nourrit de matières organiques trouvées dans le sédiment (vase ou sable). Elle semble s'alimenter de façon continue et se sert de ses tentacules peltés pour apporter le sédiment à sa bouche.

La plupart du temps, l'holothurie de sable est enfouie partiellement dans le sédiment. Son cycle journalier d'enfouissement varie selon les conditions environnementales.

Sa croissance dépend du milieu environnant et de la période de l'année. L'holothurie de sable grandit en moyenne de 0,5 cm par mois, ce qui correspond à une croissance de 14 g par mois. Lorsque les conditions sont favorables, elle peut atteindre 300 g en un an. La longévité de l'holothurie de sable reste inconnue; elle est estimée à environ dix ans.

Les holothuries possèdent de minuscules plaques calcaires, appelées spicules, dans leur tégument. L'examen microscopique des spicules permet de différencier les espèces. Les holothuries de sable possèdent des spicules en forme de tourelles et de boutons noduleux.

L'holothurie de sable atteint sa maturité sexuelle à partir de 200 g. Il ne semble exister aucune corrélation apparente entre la fertilité (production d'ovules) et la taille de l'animal.

Comme les autres holothuries, l'holothurie de sable est capable de régénérer certains de ses organes. Lorsqu'elle passe de longues périodes hors de l'eau, subit l'agression de produits chimiques, ou encore est manipulée au cours de la collecte et du transport ou stressée par des prédateurs, elle a la faculté d'expulser ses organes internes. Ceux-ci se régèrent en l'espace de deux mois.

Les holothuries tropicales dont l'holothurie de sable ont le pouvoir de libérer de grandes quantités de toxines présentes dans leur tégument et leurs viscères. Ces toxines engendrent chez les poissons de fortes douleurs, des pertes d'équilibre et la mort, mais sont inoffensives pour l'homme.

## Où trouver les holothuries de sable ?

On trouve les holothuries de sable dans un grand nombre de pays de la zone indo-pacifique, de l'Afrique de l'Est au Pacifique oriental. Elles sont généralement localisées dans la fourchette de latitudes allant de 30° N à 30° S.

Les eaux tropicales peu profondes, en général à moins de vingt mètres de profondeur, constituent leur habitat de prédilection. On les trouve par exemple dans des zones abritées particulièrement riches en éléments nutritifs, telles que les substrats vaseux et les herbiers. Les holothuries de sable peuvent tolérer des eaux de faible salinité (20 ppt) pour de courtes périodes et sont parfois présentes dans les eaux saumâtres.



Figure 4. Holothurie de sable dans un herbier.

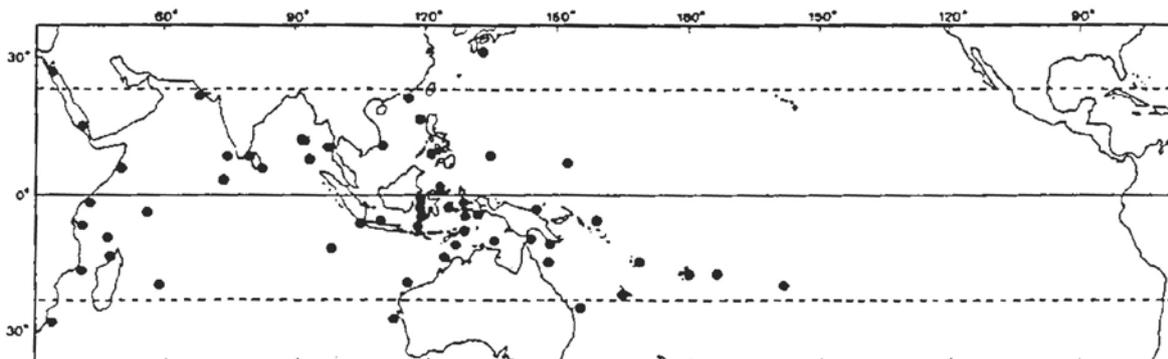


Figure 3. Distribution géographique des holothuries de sable.



# STOCKS DE GÉNITEURS

## Quand faut-il prélever les géniteurs ?

Il convient de collecter les géniteurs pendant la saison de reproduction afin qu'ils puissent se reproduire immédiatement.

La saison de reproduction de cette espèce varie d'un pays à l'autre. Dans les pays proches de l'équateur, les holothuries de sable se reproduisent tout au long de l'année. À mesure que l'on s'approche de 25° de latitude, la saison se réduit à de courtes périodes estivales de trois mois. Dans certains pays, on peut observer deux pics de reproduction par an. Il est important de connaître les périodes de cette saison de reproduction.



Figure 5. Collecte des géniteurs.

## Nombre et poids des géniteurs

Un groupe de 30 à 45 animaux est généralement utilisé pour assurer la libération des gamètes chez un petit nombre d'entre eux.

Le poids moyen idéal des géniteurs devrait avoisiner 500 g. Cependant, dans certains pays tels que le Vietnam, les géniteurs peuvent avoir un poids inférieur (250-415 g).

Il est important que les géniteurs collectés soient en bon état général, sans lésions apparentes du tégument. Leur tégument doit avoir un aspect lisse et brillant, recouvert d'une fine couche de mucus transparent. Lorsque l'holothurie est manipulée et dérangée, elle réagit en bougeant.

*Il est impossible de distinguer les individus mâles des femelles de par leur morphologie externe. Le sexe de l'animal peut être déterminé par l'examen des gonades après biopsie ou dissection, ou lors de la libération des gamètes.*

## Transport des géniteurs vers l'écloserie

En mer, les géniteurs prélevés doivent être placés dans des bacs isothermes contenant de l'eau de mer. Il est nécessaire de prévoir de quoi oxygéner l'eau de mer si le transport dure plus de deux heures. Il est recommandé de laisser les animaux déféquer dans les bacs avant de les transférer dans des sacs en plastique.

Pour le transfert des géniteurs du bateau au véhicule qui les amènera à l'écloserie, les animaux doivent être nettoyés délicatement puis emballés individuellement dans des sacs en plastique oxygénés contenant 1 l d'eau de mer. Les sacs doivent être placés dans des bacs isothermes durant le transport. Les bacs doivent être protégés du soleil afin de maintenir la température entre 27 et 30 °C.



Figure 6. Géniteurs emballés individuellement dans des sacs en plastique et placés dans un bac isotherme.

Dans de telles conditions de transport, les animaux peuvent supporter de faibles concentrations en oxygène et des températures élevées (jusqu'à 30 °C) pour de longues périodes (plus de 80 heures) sans s'éviscérer. Cependant, il est préférable de les conserver dans des conditions optimales afin d'éviter tout stress qui pourrait induire une libération prématurée des gamètes.

*Le transport d'holothuries de sable dans des serviettes humides pendant plusieurs heures donne des résultats mitigés.*

### Important

- Éviter les changements brusques de température et les longues périodes hors de l'eau
- Ne pas abîmer le tégument des animaux. Les manipuler avec précaution
- Éviter les chocs durant le transport par route

## Stockage des géniteurs dans des bacs, des enclos marins et des bassins en terre

Les géniteurs immatures peuvent être maintenus en captivité jusqu'à leur maturité. De même, les géniteurs ayant pondu peuvent être stockés à proximité de l'écloserie en vue d'être réutilisés par la suite. Les animaux peuvent être stockés dans des bacs, des enclos marins ou des bassins en terre.

### Bacs



**Figure 7. Géniteurs maintenus dans des bacs contenant du sable.**

Des bacs à fond plat de 1 000 à 4 000 litres sont placés à l'extérieur dans une zone ombragée pour recevoir les géniteurs. Ils doivent présenter une couche de 10 à 15 cm de sable ou de vase. Les géniteurs doivent être nourris à raison de 50 g par jour d'aliments. Les aliments suivants conviennent bien aux holothuries de sable: têtes de crevettes, poudre de soja, son de riz et plantes marines en poudre. Il est important de veiller à ce que les géniteurs ne perdent pas de poids. Les géniteurs sont maintenus à une densité de 15-30 animaux pour un bac de 1 000 litres avec une bonne aération. Un renouvellement en eau est réalisé tous les jours.

Des géniteurs stockés à faible densité dans des bacs contenant du sable, en renouvellement continu d'eau de mer et avec un apport d'aliments (poudre d'algues et granulés pour crevettes), peuvent se reproduire plusieurs fois.

### Enclos marins



**Figure 8. Enclos marin.**

Les enclos marins doivent être situés à proximité de l'écloserie afin de faciliter le suivi des animaux. La superficie de l'enclos marin doit avoisiner les 800 m<sup>2</sup> et la densité doit être inférieure à 200 g/m<sup>2</sup>. L'apport d'aliments n'est pas nécessaire. La survie des géniteurs dans les enclos marins est souvent très élevée. Cependant, en fonction des conditions environnementales du site, leur croissance pourra être inférieure à celle observée dans les bassins.

### Bassins en terre



**Figure 9. Bassins en terre.**

Les bassins en terre (450-1 500 m<sup>2</sup>) utilisés pour stocker les géniteurs de crevettes conviennent à l'élevage des géniteurs d'holothuries de sable. Le sédiment des bassins doit être friable, de préférence sablo-vaseux et dépourvu de gros cailloux. La profondeur de l'eau des bassins ne dépassera pas un mètre. Les bassins doivent être remplis au moins deux semaines avant l'introduction des géniteurs pour permettre le développement naturel du plancton. La densité de stockage doit être inférieure à 250 g/m<sup>2</sup>. Il est indispensable de procéder à un renouvellement partiel et journalier ou en continu (24 h/24) de l'eau des bassins. L'apport d'aliments ne devrait pas être nécessaire. Les paramètres physico-chimiques de l'eau (température, concentration en oxygène dissous et salinité) doivent être relevés régulièrement, au quotidien si possible.



*Problèmes éventuels: de fortes précipitations peuvent entraîner une stratification de l'eau des bassins. On peut détecter ce phénomène à la présence d'une fine couche d'eau douce à la surface du bassin. La stratification peut engendrer, entre autres, les conséquences suivantes: élévation de la température, diminution de la concentration en oxygène dissous, surtout au niveau des couches inférieures, apparition de zones anaérobies dans le sédiment. L'ensemble de ces conditions extrêmes peut être dangereux pour l'holothurie de sable, espèce benthique à déplacement lent, et peut provoquer la mort de l'ensemble du stock de géniteurs en quelques jours seulement.*

### COMMENT SURMONTER CES PROBLÈMES

<b>Température élevée et faible concentration en oxygène dissous</b>	<i>Vérifier régulièrement la température et la concentration en oxygène dissous de l'eau (de préférence tôt le matin). Augmenter le débit du renouvellement en eau, de préférence pratiquer un renouvellement en continu (24 heures sur 24). Installer des aérateurs ou tout autre matériel d'aération des bassins, ce qui permettra de mieux oxygéner les couches inférieures des bassins, où se trouvent les animaux.</i>
<b>Fortes précipitations</b>	<i>Évacuer la couche d'eau douce présente en surface en ajustant la hauteur du trop-plein. En cas d'alerte cyclonique, transférer les animaux des bassins vers des bacs placés en intérieur (si possible).</i>



Figure 10. Nourrissage des géniteurs.

### Comment améliorer le taux de réussite de ponte?

Il semble plus facile de faire se reproduire des géniteurs maintenus en captivité pendant plusieurs mois, voire deux ans, que des animaux stockés dans des enclos marins ou prélevés directement dans le milieu naturel. Autre avantage du maintien des géniteurs en bassin: ils se reproduisent généralement plus tôt dans la saison que les animaux vivant dans le milieu naturel, sans doute à cause des températures plus élevées dans les bassins. Il n'est toutefois pas indispensable de stocker les géniteurs dans des bassins ou des bacs pendant plusieurs mois avant la ponte. Aux Îles Salomon, par exemple, on a souvent induit la ponte d'holothuries de sable fraîchement collectées.

Pour chaque site, les avantages et les inconvénients du stockage des géniteurs en captivité ou de leur collecte dans le milieu naturel doivent être évalués.

### Résumé

- *Il est nécessaire de disposer de 30 à 45 géniteurs (poids moyen individuel: 500 g) pour induire la ponte.*
- *Pour les géniteurs pêchés dans le milieu naturel, il faut prélever des animaux matures et en bonne santé pendant la saison de reproduction.*
- *Transporter les géniteurs individuellement dans des sacs en plastique oxygénés remplis d'eau de mer, placés dans des bacs isothermes à 27-30°C. Éviter les changements brusques de température et tout autre choc au cours du transport.*
- *On peut maintenir les géniteurs: (a) dans des bacs (15 à 30 animaux pour 1 000 l) contenant du sable ou de la vase, en renouvellement d'eau continu et avec un apport d'aliments; (b) dans des enclos marins de 800 m<sup>2</sup> à une densité inférieure à 200 g/m<sup>2</sup>; et (c) dans des bassins en terre à une densité inférieure à 250 g/m<sup>2</sup>, en renouvellement d'eau continu.*
- *Une bonne gestion des bassins des géniteurs est nécessaire afin d'éviter les températures trop élevées et les faibles concentrations en oxygène dissous dues à la stratification des eaux lors de fortes précipitations. Il faut maintenir la salinité entre 28 et 36 ppt.*
- *Pour chaque site, il faut évaluer les avantages et les inconvénients du maintien des géniteurs en captivité ou de leur collecte dans le milieu naturel.*



**Figure 11. Géniteurs placés dans le bac de ponte avant l'induction (30 à 45 animaux sont recommandés).**



# PONTE

## Préparation des géniteurs pour la ponte

1. Utiliser un bac à fond plat d'un volume maximum de 2 m<sup>3</sup>. Prévoir un couvercle et des résistances chauffantes afin de maintenir une température constante de l'eau pendant la nuit.
2. Nettoyer le bac et désinfecter avec du chlore (hypochlorite de sodium). Le remplir d'eau de mer filtrée à 1 µm et stérilisée aux UV, à température ambiante (< 30°C), à hauteur de 30 à 40 cm. Prévoir une aération modérée de l'eau.
3. Nettoyer délicatement les 30 à 45 géniteurs avant de les placer dans le bac.
4. Siphonner le fond du bac, afin de retirer le sédiment et les excréments, jusqu'à ce que le premier animal relâche ses gamètes.
5. Une fois les pontes terminées, remettre les géniteurs dans leurs bacs, leurs enclos marins ou leurs bassins. Les y replacer également en cas d'échec de la ponte.
6. Utiliser différents groupes d'animaux pour chaque ponte.

### Notes

- Le stress induit par la collecte et le transport est souvent suffisant pour induire spontanément les pontes. Les pontes spontanées ont généralement lieu l'après-midi, le soir et/ou la nuit de la journée de la collecte des géniteurs.
- On a souvent observé des pontes juste avant la pleine lune et la nouvelle lune, mais il est également possible d'induire les pontes à d'autres périodes.



Figure 12. Gros plan sur les géniteurs dans le bac de ponte.

## Induction de la ponte chez les holothuries de sable



Figure 13. Choc thermique froid.

### Choc thermique

- Élever la température de l'eau de 3 à 5°C pendant une heure, soit en ajoutant de l'eau de mer chauffée, soit en plaçant des résistances chauffantes dans le bac de ponte.
- Maintenir la température de l'eau entre 28 et 32°C.
- Brasser l'eau afin de maintenir une température homogène.
- Si la température ambiante de l'eau est supérieure à 30°C, refroidir l'eau du bac de ponte pendant une heure, avant de procéder au choc thermique chaud. Pour ce faire, abaisser le niveau de l'eau dans le bac de ponte et ajouter des sacs en plastique fermés hermétiquement contenant de la glace afin d'abaisser rapidement la température de l'eau de 5°C en dessous de l'air ambiant. Pratiquer ensuite le choc thermique chaud susmentionné.
- Après le choc thermique, remplacer l'eau du bac de ponte par de l'eau de mer à température ambiante, en veillant à recouvrir les animaux.

### Extraction de gonades

- Disséquer quelques animaux pour extraire les gonades d'un ou deux mâles matures.
- Conserver les gonades à 5°C afin de prolonger la durée de vie du sperme.
- Ajouter des gamètes mâles fraîchement mixés dans le bac de ponte, dans une eau de mer à température ambiante, pour stimuler la ponte.

### Jet d'eau sous pression

- Placer les géniteurs dans un bac vide (sans eau) à l'ombre pendant une demi-heure environ avant de les asperger d'un jet d'eau de mer pendant quelques minutes.
- Transférer les géniteurs dans le bac de ponte dans une eau de mer à température ambiante.



Figure 14. Mise à sec des géniteurs.

#### Mise à sec

- Laisser les animaux dans le bac de ponte sans eau ou dans environ 2 cm d'eau de mer pendant 30 à 45 minutes. Maintenir les animaux à l'ombre.
- Remplir le bac d'eau de mer à température ambiante.

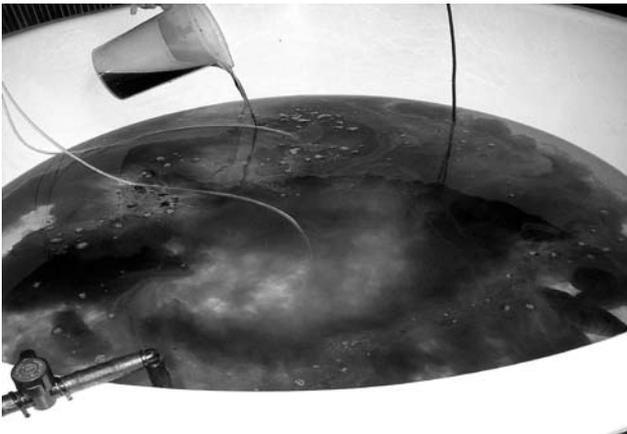


Figure 15. Bain de *Spirulina*.

#### Stimulants alimentaires

- Ajouter de la poudre d'algues séchées (*Spirulina* à une concentration de 30 g pour 300 à 500 l, ou Algamac 2000 à une concentration de 0,1 g/l). Brasser l'eau et laisser le mélange pendant une heure.
- Après une heure, retirer du bac autant d'impuretés que possible et remplacer l'eau par de l'eau neuve à température ambiante.

#### Traitements combinés

Il est souvent nécessaire de recourir à une combinaison de traitements afin d'induire la ponte. Les meilleures combinaisons sont les suivantes:

A	B	C
1. Mise à sec	1. Choc thermique chaud	1. Mise à sec
2. Choc thermique froid	2. Bain de <i>Spirulina</i>	2. Choc thermique chaud
3. Choc thermique chaud		3. Bain de <i>Spirulina</i>

Problème éventuel: après deux jours d'essais de ponte, il se peut que les géniteurs perdent leur mucus et que leur tégument présente des lésions blanches dues au stress et aux manipulations. Réduire au minimum la manipulation des animaux.

#### Observation du comportement des géniteurs



Figure 16. Comportement de pré-ponte.

Le comportement des holothuries de sable indique souvent que la ponte est imminente. Les comportements précédant la ponte, dits de pré-ponte, incluent:

- les roulements
- les contractions
- le redressement et le balancement de l'extrémité antérieure du corps
- l'ascension des parois du bac



Figure 17. Animal redressé, prêt à pondre.



Généralement, les mâles expulsent leurs gamètes avant les femelles, qui, elles, commencent à pondre une heure (parfois plus tôt ou plus tard) après la première émission de gamètes mâles.

Lors de la reproduction, les mâles se redressent et se balancent latéralement, en expulsant leur sperme en un jet continu. Les mâles libèrent leurs gamètes pendant plusieurs minutes, voire plusieurs heures, même lorsqu'on les dérange. Les femelles, elles, redressent leur corps avant d'expulser leurs ovocytes en un puissant jet provenant de leur gonopore renflé. Les femelles peuvent pondre 2 à 3 fois sur une période d'une heure ou plus, mais, souvent, elles arrêtent de pondre si elles sont dérangées.

Noter toutes les informations relatives aux essais de ponte, y compris celles concernant les échecs. Cela permet d'améliorer le taux de réussite des essais de ponte suivants.

Il est conseillé de noter les informations suivantes:

- nombre total de mâles et de femelles ayant libéré leurs gamètes
- heure à laquelle chaque individu a libéré ses gamètes, et commentaires
- observations des ovocytes\* (pourcentage de formes régulières et irrégulières, pourcentage d'ovocytes fécondés, diamètre)
- poids de chaque géniteur

*La fécondité naturelle se situe entre 9 et 17 millions d'ovocytes par femelle, mais, lorsque la ponte est induite, les femelles n'émettent généralement qu'une fraction de ces ovocytes, soit 1 à 2 millions, avec parfois des pointes jusqu'à 4 à 6 millions d'ovocytes.*

### Que faire en cas d'échec de la ponte?

- Si les géniteurs ne réagissent pas lors de l'induction de la ponte, essayer différentes méthodes de stimulation.
- Lorsque les géniteurs présentent un comportement de pré-ponte mais qu'ils ne libèrent pas leurs gamètes, pratiquer une biopsie ou une dissection sur plusieurs animaux. Examiner les gonades au microscope pour voir si les animaux sont matures. Les ovaires matures sont translucides et les testicules matures ont une apparence laiteuse.
- Commencer l'induction de la ponte tard le soir. Généralement, dans le milieu naturel, les holothuries de sable se reproduisent la nuit.

\* Les ovocytes sont les gamètes femelles. On utilise le terme d'œufs pour désigner les ovocytes fécondés.

*Afin de réduire le risque de perte d'ovocytes émis lors de pontes spontanées ou tardives pendant la nuit:*

- Garder les géniteurs dans un bac de ponte avec un renouvellement en eau continu;
- Installer un deuxième bac en série avec le premier, équipé d'un filtre de 100 µm placé au niveau du trop-plein, et muni d'un système d'aération modérée, afin de maintenir les ovocytes en suspension pendant la nuit jusqu'à leur collecte le lendemain matin. Équiper les bacs de diffuseurs d'air, de résistances chauffantes et d'un couvercle pour maintenir l'eau à une température constante au cours de la nuit.

### La première femelle vient de pondre! Comment gérer la fécondation?

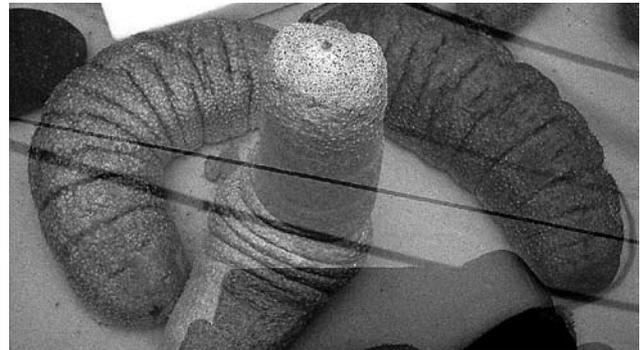


Figure 18. Holothurie de sable en train de pondre.

#### Gestion des mâles

Noter qu'une quantité excessive de sperme dans le bac de ponte provoque une polyspermie (c'est-à-dire une fécondation multiple). La polyspermie peut réduire le taux de fécondation, affecter le développement des œufs, et provoquer des déformations chez les larves.

- Si l'eau du bac de ponte devient trouble à cause d'un excès de sperme, réduire la quantité de sperme en siphonnant une partie de l'eau tout en ajoutant de l'eau neuve, ou procéder à un renouvellement en eau continu.
- Pour éviter d'avoir un excès de sperme dans le bac de ponte, retirer la plupart des mâles et les transférer dans de petits bacs peu de temps après qu'ils ont commencé à libérer leur sperme. La plupart du temps, ils continueront à expulser du sperme.
- Laisser un ou deux mâles en train de libérer des gamètes dans le bac jusqu'à ce que la première femelle expulse ses œufs. Garder les géniteurs les plus actifs.
- Noter l'heure à laquelle les mâles commencent à libérer leur sperme, ainsi que le nombre de mâles en action. Le sperme reste actif pendant plusieurs heures.

### Gestion des femelles

- Noter l'heure à laquelle les femelles commencent à pondre. Cela sera utile pour suivre la progression des stades de développement de l'œuf.
- Prévoir une aération modérée afin de maintenir les œufs en suspension.
- Compter et noter le nombre d'émissions d'ovocytes par femelle. Les femelles pondent généralement deux à trois fois. Une fois que les femelles ont fini de pondre (c'est généralement évident car elles cessent de se tenir dressées), retirer tous les géniteurs (mâles et femelles). Remettre les animaux dans leur bac, leur enclos marin ou leur bassin.

*Les mâles qui ont commencé à relâcher leur sperme pourraient être isolés dans de petits bacs. Puis, l'ajout d'une quantité déterminée de sperme dans le bac des femelles serait une façon d'éviter le risque de polyspermie et permettrait de promouvoir la diversité génétique.*

#### Important

- Éviter de déranger ou de déplacer les femelles lorsque vous retirez les mâles en excès afin de ne pas interrompre la ponte.

### Observation des stades de développement des œufs

- Après la première émission d'ovocytes, prélever un échantillon dans la colonne d'eau à l'aide d'un petit bécher.
- Mesurer le diamètre des ovocytes à l'aide d'un microscope possédant un oculaire muni d'un micromètre.
- Noter ces mesures ainsi que d'autres observations, comme le stade de développement de l'œuf et son diamètre, le pourcentage d'œufs sphériques réguliers, et le taux de fécondation.
- Renouveler ces observations toutes les 20 à 30 minutes.

Les ovocytes fraîchement émis sont blancs, sphériques, et visibles à l'œil nu. Leur diamètre varie de 80 à 200 µm, mais ce chiffre diffère énormément selon la localisation géographique des holothuries de sable.

Les spermatozoïdes ne sont pas visibles à l'œil nu. À l'examen au microscope, ils apparaissent sous la forme de petits points noirs actifs regroupés autour des ovocytes.



Figure 19. Ovocyte fécondé (œuf).

La membrane des ovocytes tout juste fécondés est épaisse. Si de nombreux spermatozoïdes continuent à se rassembler en grappe autour de l'ovocyte (polyspermie), on observera un développement irrégulier de ce dernier.

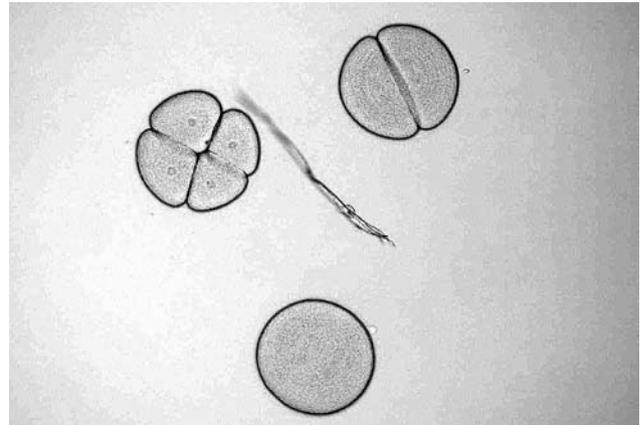


Figure 20. Un ovocyte fécondé et des œufs aux stades 2 cellules et 4 cellules.

### Collecte des œufs dans le bac de ponte

- Utiliser un petit bécher afin de prélever un échantillon d'œufs dans la colonne d'eau pour estimer le taux de fécondation et le pourcentage d'œufs à un stade de division cellulaire avancé.
- S'assurer que le taux de fécondation est élevé et que la majorité des œufs présente un stade de division cellulaire avancé. Il faut compter au moins une heure après la fécondation.
- Attendre au moins une heure après la fécondation avant de prélever les œufs.



Figure 21. Tamis pour la collecte des œufs.



- Siphonner lentement l'eau du bac en récupérant les œufs dans un tamis de 50 à 80 µm placé dans une bassine (figure 22). S'assurer que le filtre du tamis soit bien immergé pour éviter que les œufs soient mis à sec.
- Alimenter le tamis placé dans la bassine en eau de mer filtrée, à température ambiante, et à faible débit. Rincer abondamment les œufs pour éliminer le sperme excédentaire et les impuretés. Maintenir les œufs en suspension dans le tamis.
- Être patient! La collecte des œufs prend du temps.



Figure 22. Méthode de collecte des œufs.

#### Conseils utiles

- Induire la ponte dans une faible hauteur d'eau, et mettre en place plusieurs siphons avec leurs tamis afin de réduire la durée de collecte des œufs. Cette méthode nécessite toutefois plus de main-d'œuvre mais sur une période plus réduite.
- Commencer par siphonner les œufs de la colonne d'eau. Les œufs présents dans la colonne d'eau sont plus propres. Ils sont moins en contact avec les fèces des géniteurs et autres sédiments présents sur le fond du bac. Répartir ces œufs dans les bacs d'élevage larvaire. Si des œufs supplémentaires sont nécessaires, les prélever alors au fond du bac.

### Estimation de la densité des œufs

- Transférer régulièrement et avec précaution les œufs collectés, à l'aide de béciers, dans des seaux propres de 10 l, jusqu'à ce que ces derniers soient remplis.
- Brasser doucement l'eau dans les seaux afin de répartir les œufs uniformément.
- Prélever trois échantillons de 1 ml dans chaque seau. Estimer la densité des œufs pour chaque échantillon. Pour ce faire, utiliser une cellule de comptage (par exemple, une cellule de Sedgewick-Rafter) pour l'examen au microscope. Calculer la densité moyenne pour chaque seau. Estimer le taux de fécondation.
- Noter toutes les données.
- Répartir les œufs dans les bacs d'élevage larvaire aussitôt après avoir calculé le nombre total d'œufs nécessaires dans chaque bac.
- Connaissant la densité des œufs pour chaque seau, calculer le nombre total d'œufs issus de la ponte.

#### Important

- Éviter d'avoir une densité d'œufs élevée dans le tamis et dans les seaux car cela pourrait abîmer les œufs. La densité moyenne d'œufs dans un seau devrait être inférieure à 200 œufs par ml, soit < 2 millions d'œufs par seau de 10 l.

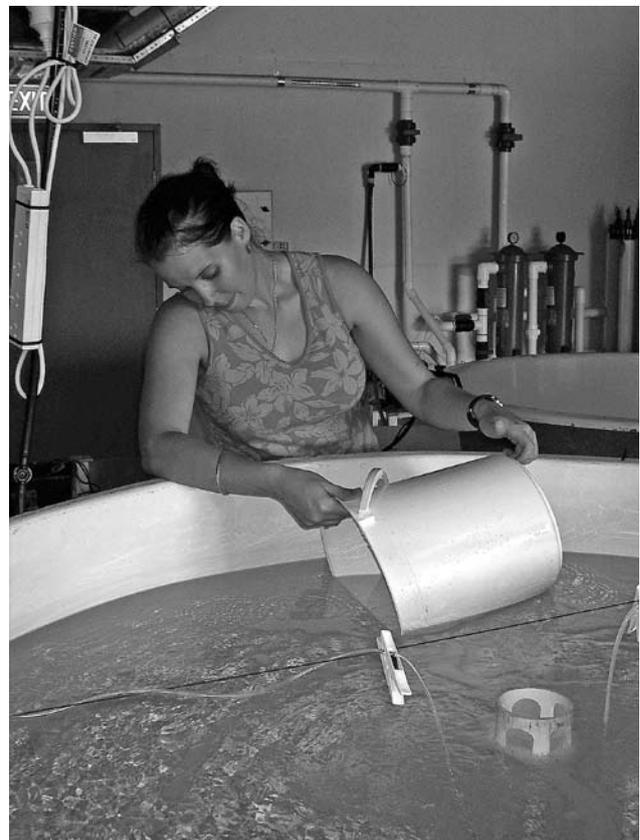


Figure 23. Transfert des œufs dans un bac d'élevage larvaire.

## Résumé

- Un groupe de 30 à 45 géniteurs nettoyés est placé dans un bac de ponte rempli d'eau de mer filtrée à 1  $\mu\text{m}$  et stérilisée aux UV.
- Pour induire la ponte, on peut recourir aux chocs thermiques, à l'ajout d'extrait de gonades, à un jet d'eau sous pression, à la mise à sec, à l'ajout de stimulants alimentaires, ou à la combinaison de plusieurs de ces méthodes.
- Les holothuries présentent les comportements de pré-ponte suivants: roulements, contractions, redressement et balancement de la partie antérieure du corps. Généralement, les mâles expulsent leurs gamètes en premier et les femelles commencent à pondre une heure après la première émission de gamètes mâles.
- Il est important de noter les données relatives à la ponte: méthode d'induction utilisée, nombre de mâles et de femelles, heure de la ponte et observation des œufs.
- Les femelles pondent généralement deux à trois fois. On maintient les œufs en suspension grâce à une aération modérée. On prélève régulièrement des échantillons d'œufs dans la colonne d'eau afin d'examiner l'évolution du stade de développement des œufs.
- Une heure après la fécondation, on peut siphonner les œufs de la colonne d'eau dans un tamis de 50 à 80  $\mu\text{m}$  placé dans une bassine. Une alimentation continue en eau de mer permet de rincer les œufs. Les œufs sont ensuite transférés dans des seaux pour y être comptés avant d'être répartis dans les bacs d'élevage larvaire.



Figure 24. Observation des œufs au microscope.

# ÉLEVAGE LARVAIRE

## Transfert des œufs dans les bacs d'élevage larvaire



Figure 25. Bac d'élevage larvaire.

- Préparer des bacs cylindro-coniques (jusqu'à un volume de 2 m<sup>3</sup>) munis d'une évacuation centrale. Placer un tamis d'une maille de 100 µm au niveau du trop-plein.
- Nettoyer les bacs à l'aide d'une solution chlorée (hypochlorite de sodium), et rincer à l'eau douce.
- Remplir les bacs avec de l'eau de mer filtrée à 1 µm et stérilisée aux UV.
- Veiller à ce que la température de l'eau soit comprise entre 26 et 30 °C et la salinité entre 32 et 36 ppt.
- Installer deux diffuseurs d'air au centre de chaque bac afin d'assurer une aération modérée et une légère circulation de l'eau. En cas de défaillance, deux diffuseurs d'air sont préconisés par bac.
- Installer des résistances chauffantes équipées de thermostats afin de maintenir une température constante dans les bacs. Si nécessaire, placer un couvercle sur les bacs pour la nuit afin de préserver la chaleur.
- Installer un à deux tubes fluorescents (400 lux) par bac afin d'assurer un éclairage artificiel pendant au moins 12 heures par jour. Il est également possible de disposer les bacs d'élevage larvaire à la lumière du jour avec une photopériode naturelle.
- Verser les œufs avec précaution dans les bacs d'élevage larvaire à l'aide de seaux ou de béciers, pour obtenir une densité de 0,3 à 1 œuf par millilitre.

### Important

- Éviter les grandes variations de température (plus d'1 à 2 °C) et de salinité entre l'eau des seaux et l'eau des bacs d'élevage larvaire, car elles peuvent nuire à la survie des œufs.
- Éviter une trop forte aération dans le bac d'élevage larvaire, car cela peut propulser les œufs et les larves contre les parois du bac, pouvant affecter leur survie.
- Éviter une densité d'œufs très élevée au départ. Il convient de jeter les œufs surnuméraires. Une densité plus faible est préférable, car elle réduit le risque de mortalité des larves durant les premiers jours.

## Cycle larvaire de l'holothurie de sable

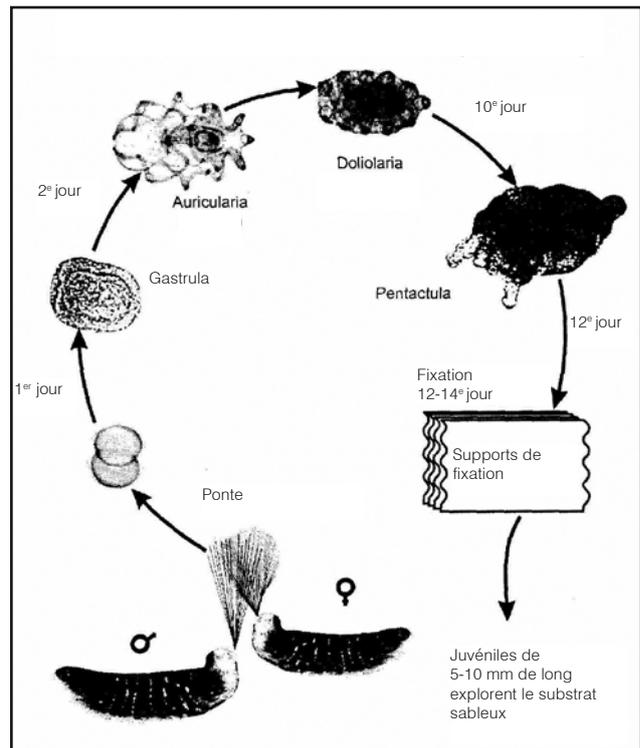


Figure 26. Cycle larvaire des holothuries de sable d'élevage.

Au cours du développement larvaire de l'holothurie de sable, les larves auricularia (premier stade où les larves s'alimentent) se métamorphosent en larves doliolaria, stade caractérisé par une absence d'alimentation. Puis ces larves se transforment en larves benthiques, appelées larves pentactula. La figure 26 illustre les stades larvaires des holothuries de sable d'élevage, de la ponte à la période post-fixation.

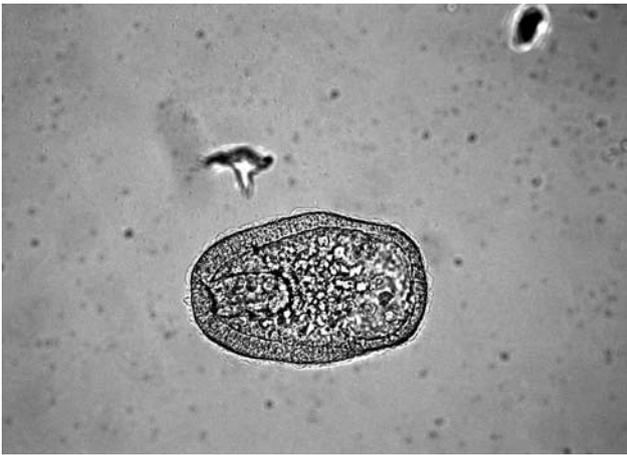


Figure 27. Larve gastrula.

Stade de développement	Temps écoulé après la fécondation
Ovocyte fécondé	0
Blastula	40 mn à 3 heures
Gastrula	24 heures
Auricularia	
> stade initial	2 jours
> stade intermédiaire	4 jours
> stade avancé	5-6 jours
Doliolaria	10 jours
Pentactula	12-13 jours
Juvenile	15 jours

### Larves auricularia

Principales caractéristiques:

- Larve transparente en forme de pantoufle, munie de bandelettes ciliées servant à la locomotion
- Lobe préoral antérieur unique et lobe anal postérieur unique
- Appareil digestif complet: bouche, œsophage et estomac
- Déplacement lent – activité continue
- Larve pélagique qui se nourrit de micro-algues

Durée de ce stade: 8 jours

Taille: 700-750  $\mu\text{m}$

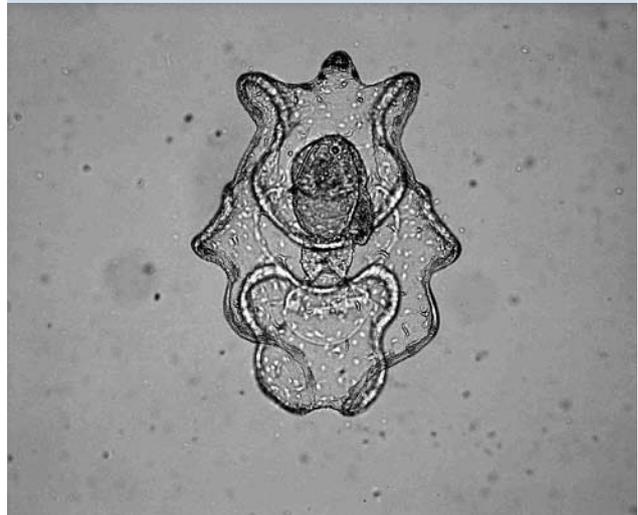


Figure 29. Larve auricularia: stade intermédiaire.

Taille: 430-563  $\mu\text{m}$

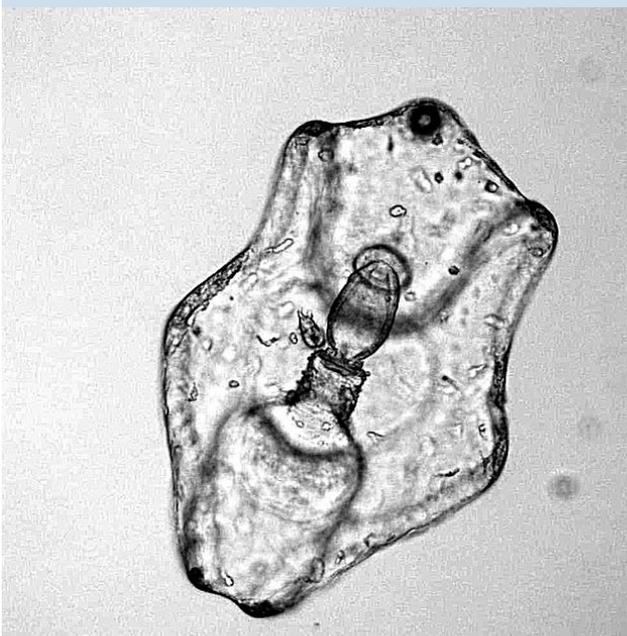


Figure 28. Larve auricularia: stade initial.

Taille: 853  $\mu\text{m}$ -1,1 mm

Diamètre des sphères lipidiques: 50-70  $\mu\text{m}$ .



Figure 30. Larve auricularia: stade avancé.



### Larves doliolaria

Principales caractéristiques:

- Larve marron foncé en forme de baril, munie de 5 bandelettes ciliées disposées autour de son corps
- Transformation interne rapide et développement de toutes les caractéristiques adultes
- Cinq sphères lipidiques disposées sur chaque côté
- Diamètre des sphères lipidiques: 60-80 µm
- Courte phase de transition caractérisée par une diminution de la taille de la larve avant la métamorphose et la fixation
- Déplacement rapide

Durée de ce stade: 2-3 jours

Larve pélagique qui ne s'alimente pas.  
Taille: 420-620 µm

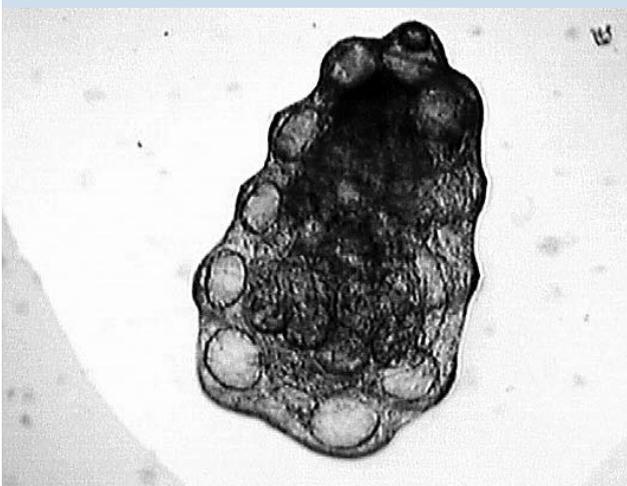


Figure 31. Larve doliolaria.

### Larves pentactula

Principales caractéristiques:

- Larve de couleur foncée et de forme tubulaire présentant cinq tentacules à son extrémité antérieure et un seul pied ambulacraire à son extrémité postérieure (servant à la locomotion)
- Croissance rapide et très hétérogène
- Déplacements et reptation sur les parois du bac et sur les supports de fixation

Durée de ce stade: variable

Larve benthique rampante se nourrissant de diatomées périphytiques (diatomées benthiques).  
Taille: 330-750 µm



Figure 32. Larve pentactula.

### Juveniles

Principales caractéristiques:

- Forme identique à celle de l'adulte, mais dotée de deux longs pieds ambulacraires à son extrémité postérieure pour les plus jeunes individus
- Déplacement lent et forte adhérence aux substrats
- Croissance de 4 à 5 mm en une semaine

Les juvéniles se nourrissent d'algues périphytiques et de détritus.

Taille moyenne initiale: 1 mm

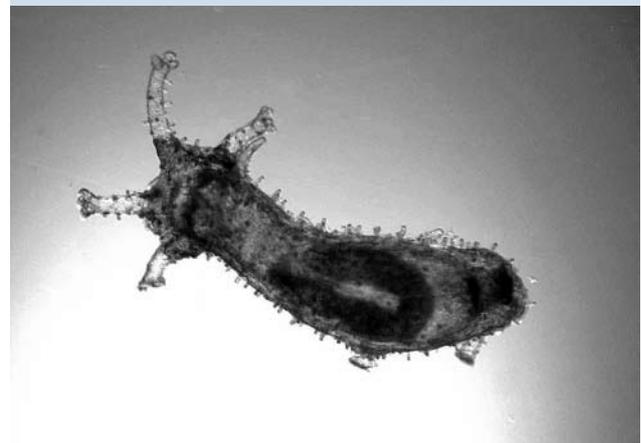


Figure 33. Juvénile.

## Comment élever les larves?



Figure 34. Système de filtration de l'eau de mer.

### Eau de mer

L'eau de mer passe dans un filtre à sable avant d'être filtrée à 1  $\mu\text{m}$  (filtres à cartouche ou à poche) puis est stérilisée aux UV.

- Paramètres optimaux de l'eau de mer:

Température	26–30°C
Concentration en oxygène dissous	5–6 ppm
Salinité	27–35 ppt
pH	6–9
Concentration en ammoniacque	70–430 mg/m <sup>3</sup>

### Entretien des bacs

- Durant les quatre premiers jours d'élevage larvaire, siphonner le fond du bac et les amas jaunes de larves mortes. Les larves saines se déplacent dans la colonne d'eau alors que les larves difformes ou mortes descendent progressivement dans la colonne d'eau ou se déposent sur le fond du bac.
- Siphonner tout amas rose dénotant le développement de bactéries. Les larves mortes, les fèces des larves et la suralimentation intensifient le développement de bactéries au cours des stades avancés de l'élevage larvaire.

### Eclairage

- Placer un couvercle sur les bacs pendant les deux premiers jours d'élevage afin de maintenir les œufs et les jeunes larves dans l'obscurité.



### Renouvellement en eau

- Ajouter de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) ( $5 \text{ g/m}^3$ ) lors du remplissage des bacs. L'EDTA est un produit chimique qui sert à assembler certains métaux lourds naturellement présents dans l'eau de mer. Une concentration élevée en métaux lourds peut nuire à la santé des larves. L'EDTA rend la présence des métaux lourds moins nocive.
- Ne pas changer l'eau des bacs d'élevage larvaire avant le deuxième jour suivant la fécondation. Trois protocoles pour le renouvellement en eau sont proposés.

#### Protocole 1: Renouvellement partiel en eau

À partir du 2e jour jusqu'au stade pentactula	Changer quotidiennement 30 % de l'eau du bac. L'eau qui s'évacue passe par le tamis (maille de $100 \mu\text{m}$ ) du trop-plein, placé à l'intérieur du bac. Le débit doit être modéré ( $2 \text{ l/mn}$ maximum). Après chaque renouvellement en eau, ajouter l'EDTA à raison de $5 \text{ g/m}^3$ de volume d'eau neuve.
---	---

#### Protocole 2: Renouvellement complet en eau

2e jour 4e jour 6e jour	Changer complètement l'eau du bac (100 %) tous les deux jours jusqu'au stade auricularia avancé. Vider le bac dans un tamis (maille de $100 \mu\text{m}$ ) immergé dans une bassine, à un débit maximal de $5 \text{ l/mn}$ . Transférer régulièrement les larves du tamis dans de petits bacs comprenant une aération. Nettoyer le bac vide. Remplir le bac d'eau de mer filtrée à $1 \mu\text{m}$ et stérilisée aux UV. Ajouter l'EDTA à raison de $5 \text{ g/m}^3$ . Transférer et stocker les larves à une densité de 0,1-0,5 larve/ml.
Durant et après le stade auricularia avancé	Procéder quotidiennement à un renouvellement en eau continu (débit de $200 \text{ ml/mn}$ ) en laissant le tamis (maille de $100 \mu\text{m}$ ) du trop-plein.

#### Protocole 3: Renouvellement partiel en eau avec un traitement antibiotique (érythromycine)

2e jour 4e jour 6e jour 8e jour	Changer quotidiennement 30 % de l'eau du bac. L'eau qui s'évacue passe par le tamis (maille de $100 \mu\text{m}$ ) du trop-plein, placé à l'intérieur du bac. Le débit doit être modéré ( $2 \text{ l/mn}$ maximum). Après chaque renouvellement en eau, ajouter l'EDTA à raison de $5 \text{ g/m}^3$ de volume d'eau neuve. Ajouter l'érythromycine* à raison de $2 \text{ g/m}^3$ après chaque renouvellement en eau.
À partir du 10e jour	Procéder quotidiennement à un renouvellement partiel en eau (30 %).

\* Manipuler l'antibiotique avec précaution. Utiliser des gants et un masque pour éviter toute inhalation directe. L'érythromycine sert à prévenir les infections bactériennes, mais n'est pas toujours efficace.

#### Important

- Éviter que des organismes indésirables, tels que les copépodes et les ciliés, ne s'introduisent dans les bacs d'élevage larvaire durant les renouvellements en eau ou passent des cultures de micro-algues aux bacs. Penser à remplir les bacs avec de l'eau de mer filtrée à  $1 \mu\text{m}$  et stérilisée aux UV. Nourrir avec des cultures de micro-algues saines et sans ciliés. Les copépodes présents dans les bacs larvaires peuvent être éliminés par traitement chimique de l'eau en ajoutant l'insecticide Dipterex (nom commun, Trichlorfon). Ajouter cet insecticide à une concentration de 1 à 3 ppm et laisser agir durant 1 à 3 heures, avant de procéder à un renouvellement en eau de 50 à 100 %. Ce traitement permet de tuer les différents stades du cycle des copépodes, mais pas les œufs.
- Rincer abondamment et consciencieusement l'ensemble du matériel à l'eau douce avant et après chaque utilisation afin d'éviter les contaminations d'un bac à l'autre. Entreposer ce matériel dans des bacs remplis d'eau chlorée.

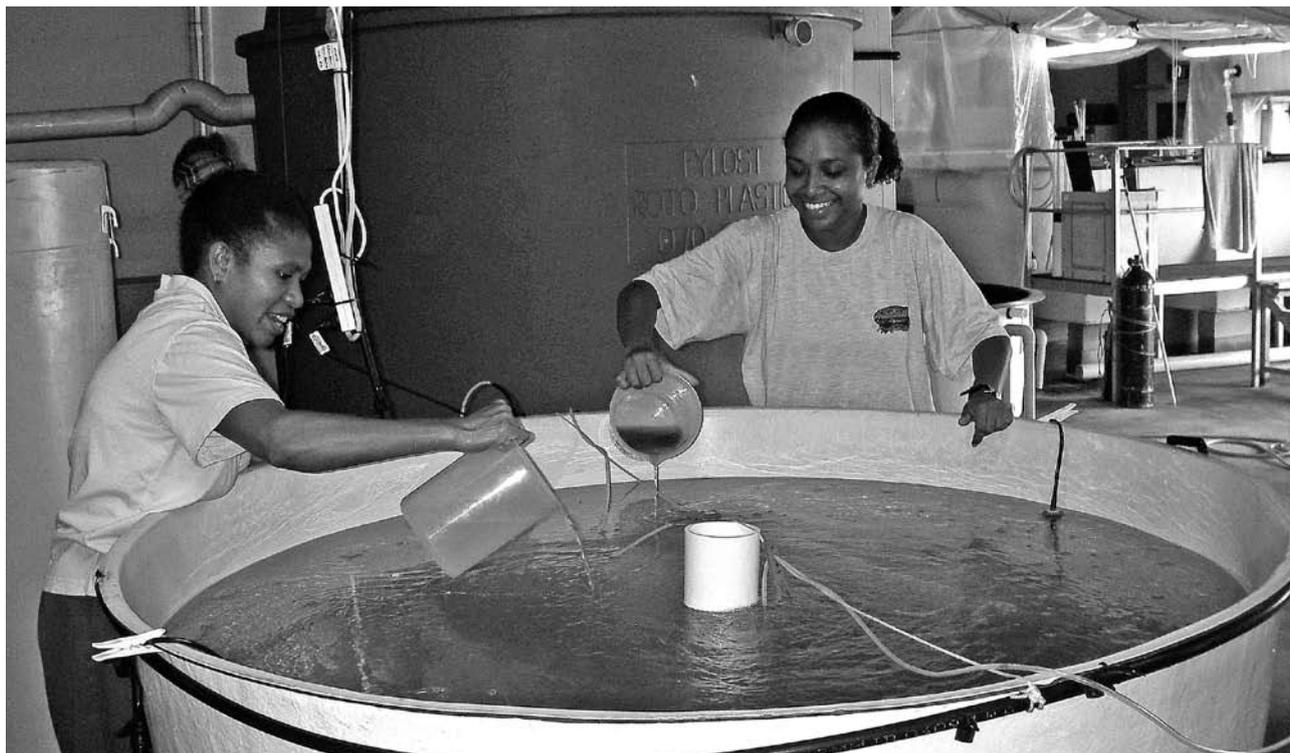


Figure 35. Nourrissage des larves auricularia.

- Augmenter progressivement la concentration en micro-algues de 20 000 à 40 000 cellules/ml. Continuer à nourrir tant qu'il y a des larves auricularia dans la colonne d'eau.
- Examiner au microscope l'estomac des larves. Estimer la concentration en micro-algues résiduelles dans l'eau du bac afin d'ajuster la concentration en micro-algues à apporter. On reconnaît des larves bien alimentées à la couleur brunâtre ou dorée de leur estomac.
- Distribuer les micro-algues deux fois par jour après le renouvellement en eau.

Le nourrissage des larves auricularia se compose principalement des micro-algues suivantes: *Chaetoceros muelleri*, *C. calcitrans*, *Isochrysis aff. galbana*, *Rhodomonas salina* et *Tetraselmis* sp. La disponibilité des espèces de micro-algues pourra légèrement varier en fonction du lieu géographique.

Il est préférable d'utiliser plusieurs espèces de micro-algues plutôt qu'une seule pour l'élevage larvaire. La distribution à parts égales de *C. muelleri* et *R. salina* est optimale pour l'élevage des larves d'holothuries de sable. Le régime alimentaire suivant peut également convenir: *Isochrysis aff. galbana* apporté seul durant les premiers jours et complété, quatre ou cinq jours plus tard, par *Chaetoceros* sp.

Les concentrations en micro-algues les plus couramment utilisées pour l'élevage larvaire sont résumées dans le tableau qui suit.

Nombre de jours après la fécondation*	Stade larvaire	Concentration en micro-algues (cellules/ml)
2	Auricularia initial	20 000
4	Auricularia intermédiaire	20 000–25 000
6	Auricularia intermédiaire et avancé	25 000–30 000
8	Auricularia avancé	30 000–40 000

\* 0 correspond au jour de la fécondation.

#### Important

- Éviter les concentrations en micro-algues trop élevées (>40 000 cellules/ml), qui peuvent inhiber la croissance et le développement des larves, et réduire leur taux de survie. En cas de suralimentation ou de bloom de micro-algues, diminuer la quantité de micro-algues distribuée et augmenter le taux de renouvellement en eau.



## Apparition des premières larves doliolaria! Quels sont les éléments nécessaires à leur fixation?

Les larves doliolaria ont besoin d'un substrat favorable pour leur fixation avant de se métamorphoser en larves pentactula. En l'absence de substrat approprié, les larves doliolaria peuvent prolonger leur phase de nage en pleine eau, retardant ainsi leur fixation. Il est indispensable de leur fournir des supports de fixation appropriés. Couvrir les bacs d'élevage larvaire facilite la fixation étant donné que les larves doliolaria sont attirées par la lumière, et évite ainsi leur regroupement à la surface.

Il est possible de favoriser la fixation des larves doliolaria au moyen des méthodes suivantes:

- Ajout d'Algamac 2000 à une concentration de 0,25-0,5 g/m<sup>3</sup> par jour.
- Introduction de feuilles de plantes marines, qui présentent un bio-film naturel.

Parmi les supports de fixation adaptés figurent les plaques en plastique (PVC, polyéthylène ou polypropylène), les plaques en fibre de verre, les filtres et les plaques en dur mises en suspension dans l'eau. Il existe quatre façons de préparer les supports de fixation:

- Immerger les supports dans les cultures de diatomées (*Nitzschia* sp., *Navicula* sp., ou *Platymonas* sp.) pendant quelques jours.
- Ajouter, pendant 4 à 5 jours, des extraits filtrés de macro-algues (*Sargassum* sp.) ou de plantes marines (*Thalassia hemprichii*, *Enhalus acoroides*) qui viendront recouvrir d'une fine couche les supports.
- Recouvrir les supports de *Spirulina* (1-2 g de poudre par m<sup>2</sup>), puis laisser sécher à l'air libre avant utilisation.
- Immerger pendant 4 à 10 jours les supports dans des bacs extérieurs, sous un ombrage partiel (50-75 %). Le renouvellement en eau de mer filtrée à 1 µm est continu afin de favoriser l'apparition d'un bio-film naturel sur les supports.

Les supports de fixation doivent être transférés dans les bacs d'élevage larvaire dès l'apparition des premières larves doliolaria.

### Problèmes éventuels

- Le bio-film recouvrant les supports de fixation se dégrade facilement après 4 ou 5 jours passés dans les bacs d'élevage larvaire, en zones ombragées.
- Les supports de fixation préparés dans de l'eau de mer non filtrée peuvent introduire des prédateurs dans les bacs d'élevage larvaire. Éviter toute contamination des bacs par des organismes indésirables, tels que les copépodes ou les protozoaires.

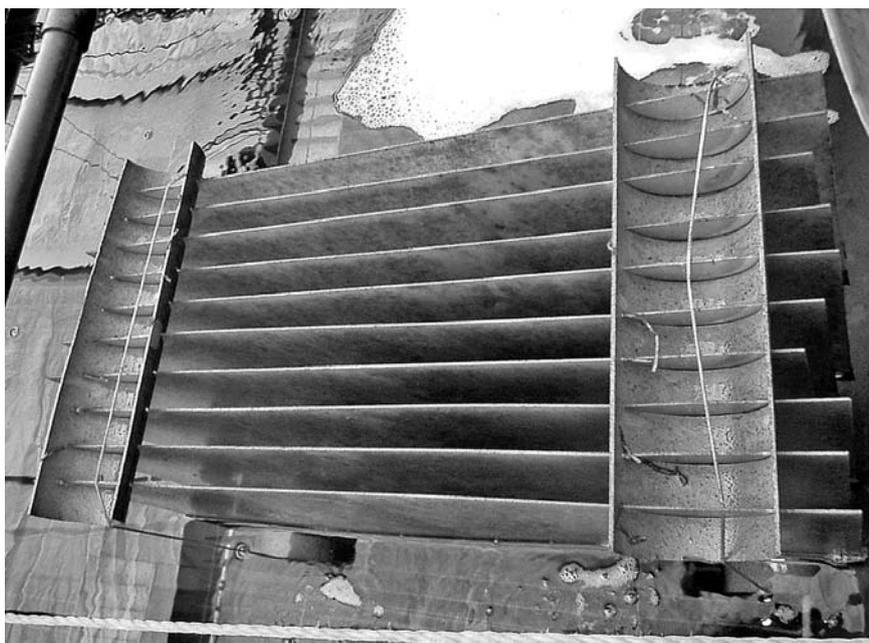


Figure 36. Supports de fixation recouverts de diatomées périphytiques.

## Alimentation des larves pentactula et des juvéniles

Lorsque les conditions sont favorables à la fixation des larves doliolaria, celles-ci disparaissent généralement de la colonne d'eau en trois jours environ. Une fois fixées, les larves doliolaria se métamorphosent en larves pentactula. Les algues fraîches et séchées sont une importante source d'alimentation pour les larves pentactula et les juvéniles de 50 mm de long au moins.

- Distribuer quotidiennement des diatomées périphytiques (*Nitzschia* sp., *Navicula* sp.) à partir du stade doliolaria dans les bacs d'élevage larvaire et, durant le premier mois de la phase nurserie. Ajouter du métasilicate de sodium ( $5 \text{ g/m}^3$ ) et de l'engrais ( $7 \text{ g/m}^3$ ) une fois par semaine pour maintenir le développement des diatomées dans les bacs.
- Ajouter des compléments d'aliments tels que les poudres d'algues séchées vendues dans le commerce (Algamac 2000, *Spirulina*). Les concentrations journalières sont reprises dans le tableau ci-dessous.

Nombre de jours après la fécondation	Stade	Algamac 2000	<i>Spirulina</i>
10	<i>Doliolaria</i>	$0.25 \text{ g/m}^3$	$0.25 \text{ g/m}^3$
12	<i>Pentactula</i>		
Après 12	<i>Pentactula</i> et juvéniles		
Après 20	Juvéniles	$0.5 \text{ g/m}^3$	
Après 30	Juvéniles	Jusqu'à $1 \text{ g/m}^3$	Jusqu'à $1 \text{ g/m}^3$

Autres aliments possibles:

- Pâte fine de macro-algues (*Sargassum* sp., *Halimeda* sp.) et de plantes marines (exemple: *Syngodium isoetifolium*) obtenue après tamisage ( $40\text{-}80 \mu\text{m}$ ).
- Fins granulés, aliments de démarrage pour crevettes à raison de  $1\text{-}1,5 \text{ g/m}^3$  par jour dans les bacs de nurserie.



Figure 37. Minuscules juvéniles sur le fond d'un bac.



## Liste des tâches quotidiennes au cours de l'élevage larvaire

- Relever la température, la concentration en oxygène dissous et la salinité deux fois par jour, le matin et l'après-midi.
- Pendant les trois ou quatre premiers jours, procéder à une purge du fond du bac.
- Arrêter l'aération pendant quelques minutes. Nettoyer les diffuseurs d'air à l'eau douce.
- Siphonner le fond des bacs, y compris les amas jaunes ou roses, dans un tamis de 100 µm. Examiner au microscope les impuretés récupérées pour vérifier la présence de larves mortes.
- Remettre l'aération en marche.
- Estimer la densité des larves dans les bacs:
  - ▶ prélever un échantillon de la colonne d'eau à l'aide d'un bécher de 250 ml. À l'aide d'une pipette, transférer 1 ml de cet échantillon sur une cellule de comptage (par exemple, une cellule de Sedgewick-Rafter). Compter les larves présentes dans trois échantillons d'1 ml; ou
  - ▶ prélever un échantillon de la colonne d'eau dans un tube à essai et compter les larves. Répéter l'opération trois fois. Estimer la densité moyenne des larves par millilitre.
- Observation des stades de développement des larves: prélever à l'aide d'un petit tamis de 100 µm un échantillon de larves dans la colonne d'eau. Transférer à l'aide d'une pipette quelques larves dans un petit bécher. Placer ensuite 1 ml de l'échantillon sur une cellule de comptage. Examiner les larves au microscope après fixation au formol.
- Mesurer la longueur de 10 larves par bac. Noter le pourcentage de larves normales et anormales.
- Conformément au protocole de renouvellement en eau choisi et selon le jour de l'élevage, procéder ou non à un changement en eau. Lors du renouvellement en eau, placer un diffuseur d'air sous le tamis immergé de 100 µm afin d'éviter l'agrégation des larves sur celui-ci.
- Une fois le renouvellement en eau terminé, prélever un échantillon de la colonne d'eau dans un petit bécher ou un tube à essai. Évaluer la concentration en micro-algues au microscope. Ajouter si nécessaire des micro-algues dans les bacs pour atteindre la concentration souhaitée.
- Retirer le tamis du trop-plein. Le rincer à l'eau douce chlorée.



Figure 38. Relevé des températures.

### Résumé

- Maintenir une température et une salinité de l'eau identiques dans les seaux et dans les bacs d'élevage larvaire lors du transfert des œufs.
- Les jeunes larves d'holothuries de sable, appelées larves auricularia, sont mobiles et planctoniques. Après 10 à 12 jours d'élevage, les larves auricularia se métamorphosent en larves doliolaria à la nage active. Ces dernières se fixent sur les parois du bac et les supports de fixation puis se métamorphosent en larves pentactula, larves benthiques au déplacement lent. Les juvéniles d'holothuries, dont la forme est semblable à celle des adultes, apparaissent à partir du 15<sup>e</sup> jour.
- Les bacs d'élevage larvaire doivent être de préférence des bacs cylindro-coniques (jusqu'à un volume de 2m<sup>3</sup>) avec une aération modérée. L'eau de mer doit être filtrée à 1 µm et stérilisée aux UV. Il convient d'éclairer les bacs 12 heures par jour, ou de les soumettre à la lumière naturelle. Placer des couvercles ou des bâches pendant les deux premiers jours de l'élevage et au cours du stade doliolaria.
- Le renouvellement en eau et le nourrissage commencent le 2<sup>e</sup> jour. L'eau des bacs peut être renouvelée partiellement ou complètement.
- La concentration en micro-algues augmente progressivement au cours de l'élevage, de 20 000 à 40 000 cellules/ml. Ce nourrissage se poursuit tant qu'il y a des larves auricularia dans la colonne d'eau.
- Après 10 à 12 jours d'élevage, les larves doliolaria apparaissent et cherchent à se fixer avant de se métamorphoser en larves pentactula benthiques. L'ajout de stimulants et la présence de supports de fixation conditionnés favorisent leur fixation.
- Les larves pentactula et les juvéniles se nourrissent essentiellement de diatomées périphytiques (*Nitzschia* sp., *Navicula* sp.) et de poudres d'algues séchées en vente dans le commerce (*Algamac* 2000, *Spirulina*).



**Figure 39. Préparation du bac de nurserie: inoculation avec des cultures de diatomées et mise en place de supports de fixation.**



# NURSERIE

## Élevage des juvéniles

Les juvéniles âgés de 25 à 35 jours sont transférés des bacs d'élevage larvaire aux bacs de nurserie. Les bacs de nurserie sont des bacs rectangulaires ou ronds de 6 à 10 m<sup>3</sup>, généralement en fibre de verre, en toile PVC, ou en béton. Les bacs de nurserie doivent être remplis d'eau à hauteur de 60 cm minimum (1 m maximum). Ils doivent être préparés avant le transfert des juvéniles afin que ces derniers aient de quoi se nourrir.

### Préparation des bacs de nurserie:

- Nettoyer toutes les surfaces du bac. Installer les diffuseurs d'air, ainsi que les supports de fixation propres.
- Remplir le bac d'eau de mer filtrée à 1 µm et stérilisée aux UV, de façon à recouvrir complètement les supports de fixation (60 à 70 cm de hauteur d'eau).

- Inoculer avec des cultures de diatomées, l'équivalent de 6-7 % du volume total d'eau dans le bac. Ajouter du métrasilicate de sodium (5 g/m<sup>3</sup>) et un engrais (7 g/m<sup>3</sup>). Eclairer les bacs.
- Ne pas renouveler l'eau pendant les 3-4 jours qui suivent, afin de permettre le développement d'un film de diatomées sur les parois du bac et les supports de fixation. Maintenir une aération modérée et brasser l'eau quotidiennement.
- Maintenir la température de l'eau constante et chaude (26 à 28 °C).

Après la préparation, les bacs de nurserie peuvent recevoir les larves pentactula et les juvéniles.



Figure 40. Bacs de nurserie.

## Détacher et compter les juvéniles avant de les transférer dans les bacs de nurserie

Les larves pentactula et les juvéniles présentent une large gamme de tailles et il est souvent difficile de les détacher de leur support. Avant de procéder au transfert des juvéniles dans les bacs de nurserie, il faut d'abord les détacher et estimer leur nombre.



Figure 41. Vidange du bac d'élevage larvaire.



Figure 42. Siphonnage des parois du bac d'élevage larvaire.

- Premièrement, retirer les supports de fixation du bac d'élevage larvaire. Les placer sur un plateau lors du transfert afin de récupérer les juvéniles qui pourraient se détacher. Transférer les supports et les juvéniles détachés dans les bacs de nurserie.
- Deuxièmement, détacher les juvéniles des parois des bacs d'élevage larvaire. Deux méthodes sont suggérées:
  - 1) Vider le bac d'élevage larvaire par l'évacuation centrale et siphonner les parois du bac dans des tamis (mailles de 0,3 à 1 mm) immergés dans des bassines. Détacher les juvéniles restants à l'aide d'un faible jet d'eau de mer.
  - 2) Ajouter du chlorure de potassium (KCl) dans l'eau du bac d'élevage larvaire, à une concentration de 1 %. Laisser agir pendant 10 minutes puis changer l'eau. Les juvéniles vont alors se détacher rapidement lors du changement en eau. Vider progressivement le bac dans des tamis immergés dans des bassines. Détacher les juvéniles restants en pulvérisant une solution de KCl à 1 %.
- Estimer le nombre de juvéniles en les comptant directement sur les supports de fixation et dans les tamis.
  - 1) Pour les supports de fixation: compter tous les juvéniles fixés sur plusieurs plaques choisies de façon aléatoire.
  - 2) Pour les tamis: lorsque la densité est trop élevée, compter les juvéniles sur seulement la moitié ou le quart de la surface totale du tamis.
- Une fois le nombre total estimé, calculer la survie du stade de l'œuf à celui de larves pentactula pour chaque bac d'élevage larvaire. La survie est très variable et rarement supérieure à 1 ou 2 %.
- Utiliser le nombre total estimé pour calculer la densité initiale de juvéniles placés dans les bacs de nurserie.

### Problème éventuel

- *La grande variation en taille des juvéniles peut conduire à des estimations erronées. Il est difficile de compter des milliers de juvéniles sans les endommager car ils sont de très petite taille. L'estimation du nombre total de juvéniles produits est plus fiable si les juvéniles sont de plus grande taille.*



## Les deux phases de l'élevage en nurserie



Figure 43. Bac de nurserie avec des supports de fixation.

### *Première phase de l'élevage en nurserie (le 1er mois)*

Le stade des premiers juvéniles (< 5 mm de longueur) est une phase cruciale où les animaux sont vulnérables. On peut s'attendre à une mortalité importante la semaine suivant le transfert des juvéniles, à cause de la manipulation et de la densité élevée.

Les juvéniles sont stockés dans des bacs sans substrat jusqu'à ce qu'ils atteignent environ 1 g. Les juvéniles devraient atteindre 10 à 20 mm de long (0,3-1 g) en 30 jours. Toutefois, une densité élevée de juvéniles peut nuire à leur croissance et à leur survie. Afin d'éviter de tels problèmes, la densité initiale doit se situer entre 500 et 700 juvéniles par m<sup>2</sup> de surface de fond du bac. À une densité de 500 juvéniles par m<sup>2</sup>, la survie peut atteindre 50 %, et la croissance peut être de 0,2 à 0,8 mm par jour après un mois.

### *Deuxième phase de l'élevage en nurserie*

Lorsque les juvéniles atteignent 20 mm de long ou pèsent 1 g, ils sont transférés dans des bacs dont le fond est recouvert de sable car, à ce stade, ils sont capables d'ingérer de grandes quantités de sédiment. Le fond des bacs de nurserie est recouvert d'une mince couche de sable uniforme (3-5 mm). Il convient de nettoyer le sable puis de l'enrichir avec de la vase ou des aliments (par exemple des algues séchées).

Après un ou deux mois passés sur le fond sableux, le grossissement des juvéniles doit se poursuivre à une densité optimale de 100 à 300 juvéniles/m<sup>2</sup>. En raison des grandes variations de croissance, le retrait des plus gros juvéniles des bacs entraînera une élévation de la croissance des plus petits individus.

Au bout de deux mois, la vitesse de croissance est de 0,5 mm/jour, mais elle sera plus faible si les densités atteignent 225 g/m<sup>2</sup>. Lorsque les juvéniles mesurent plus de 20 mm, leur survie dépasse généralement 50 %.

## Liste des tâches durant l'élevage en nurserie

### Tâches quotidiennes

- Relever la température, la concentration en oxygène dissous et la salinité deux fois par jour, le matin et l'après-midi.
- Nettoyer le filtre du tamis placé au niveau du trop-plein.
- Renouveler l'eau (100-200 % par jour) avec de l'eau de mer filtrée (à 1 µm les deux premiers mois, puis à 10-25 µm), avec un débit de 6 l/mn. En cas de restrictions en eau de mer, le débit peut être réduit à 3 l/mn. Le renouvellement en eau peut passer à 40-50 % et se fait de préférence pendant la nuit. Un débit élevé est préférable à un débit plus faible.
- Arrêter le renouvellement en eau pendant quelques heures au moment du nourrissage. Apporter des cultures de diatomées périphytiques, des algues séchées, de la pâte de plantes marines, et/ou de fins granulés (aliment de démarrage) pour crevettes.

### Tâches hebdomadaires

- Pendant les premières semaines, laisser les animaux à l'ombre. Ils n'aiment pas les emplacements ensoleillés mais préfèrent les surfaces ombragées des supports de fixation.
- Ajouter des diatomées périphytiques pendant le premier mois.
- Ajouter du métasilicate de sodium et de l'engrais. Bien mélanger et brasser l'eau.
- Retourner les supports de fixation. Les diatomées se développent en abondance sur la partie supérieure des supports et peu sur la partie inférieure. Mais les larves pentactula et les juvéniles se trouvent généralement sur la partie inférieure.
- Prélever un échantillon de 30 juvéniles par bac de nurserie afin d'estimer la vitesse de croissance. Relever le poids total et les poids individuels, puis calculer le poids moyen. Examiner au microscope l'aspect général de quelques animaux.

### Tâches mensuelles

- Estimer le nombre de juvéniles par bac pour suivre et graduer la densité. Échantillonner plus de 5 % de la superficie du bac, y compris les supports de fixation, en utilisant de petits quadrats (20 cm x 20 cm). En cas de densité élevée, récupérer les juvéniles à l'aide d'épuisettes et par siphonnage. Transférer les juvéniles excédentaires dans un nouveau bac de nurserie.

#### Problème éventuel

- L'utilisation d'eau de mer non filtrée peut améliorer la croissance mais des prédateurs tels que les copépodes peuvent rapidement contaminer le milieu d'élevage. Les copépodes sont en concurrence directe avec les juvéniles d'holothuries pour la nourriture.

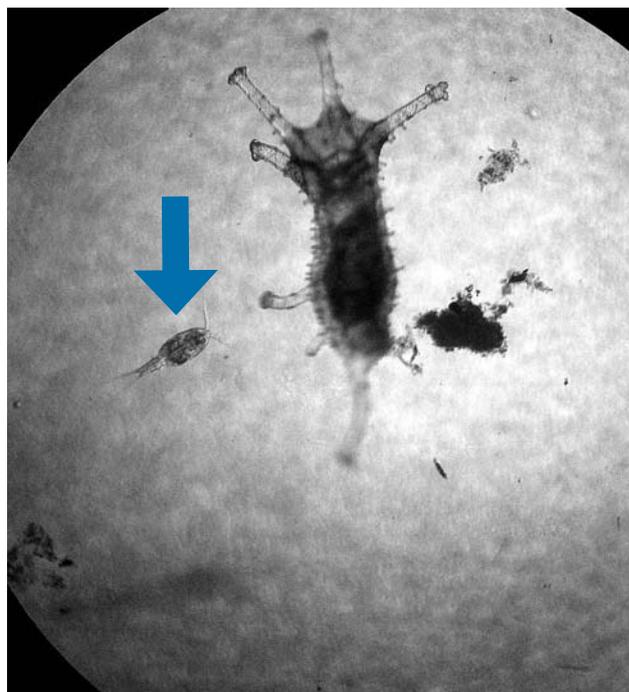


Figure 44. Infestation de copépodes dans les bacs de nurserie.

### Résumé

- Après 25 à 35 jours d'élevage, on peut transférer les juvéniles dans les bacs de nurserie.
- Les bacs de nurserie sont des bacs rectangulaires ou ronds de 6 à 10 m<sup>3</sup>. Ils doivent être préparés avant le transfert des juvéniles. Il s'agit d'obtenir un film de diatomées périphytiques sur les parois des bacs et les supports de fixation.
- Le renouvellement en eau de mer filtrée est soit continu, soit partiel.
- Avant de procéder au transfert des juvéniles dans les bacs de nurserie, il faut d'abord les détacher et estimer leur nombre. Deux méthodes peuvent être utilisées pour détacher les juvéniles; en pulvérisant les parois du bac avec de l'eau de mer après une vidange, ou en recourant à la méthode chimique, c'est-à-dire en utilisant du chlorure de potassium.
- L'élevage en nurserie comporte deux phases. Au cours de la première phase, les juvéniles sont stockés dans des bacs sans substrat. Environ un mois plus tard, lorsque les juvéniles ont atteint 20 mm de longueur ou 1 g, ils sont transférés dans des bacs dont le fond est recouvert de sable (deuxième phase de nurserie).
- Le transfert sélectif permet de réduire la densité des juvéniles au fil du temps. La densité initiale se situe entre 500 et 700 juvéniles par m<sup>2</sup> dans les bacs sans substrat. Puis la densité optimale varie entre 100 et 300 juvéniles par m<sup>2</sup> dans les bacs dont le fond est recouvert de sable (deuxième phase de nurserie).



## GROSSISSEMENT DES JUVÉNILES

Les résultats suivants proviennent d'expériences menées au Vietnam et en Nouvelle-Calédonie. Ces résultats sont amenés à varier d'un endroit à un autre.



Figure 45. Hapas (1 m<sup>2</sup>).



Figure 46. Bag nets (4 m<sup>2</sup>).

### Dans des filets à poche installés dans des bassins

En Nouvelle-Calédonie, afin d'augmenter la surface d'élevage en nurserie, les juvéniles d'au moins 5 mm de long (0,5-1 g) ont été transférés dans des *hapas* (filets à poche d'1 m<sup>2</sup> à mailles fines) placés dans des bassins, à une densité de 150 juvéniles/m<sup>2</sup>. La survie était de 97 % au 23<sup>e</sup> jour et la vitesse de croissance était supérieure (0,1 g/jour) dans les *hapas* possédant un substitut de plantes marines.

Les plus gros juvéniles (1 à 2 g) ont été placés dans des *bag nets* (filets à poche de 4 m<sup>2</sup> à grosses mailles) installés dans des bassins, à une densité de 150 juvéniles/m<sup>2</sup>. Il n'était pas nécessaire d'ajouter des aliments dans les bassins où la productivité naturelle était élevée. Lorsque la productivité naturelle était faible, il était possible d'obtenir une bonne croissance des juvéniles en ajoutant des granulés broyés d'aliments pour crevettes (on peut également utiliser du lisier de volaille, ou de la sargasse, mais la croissance n'est pas aussi rapide). L'ajout de substrat sablo-vaseux dans les filets à poche ne permettait pas d'améliorer la croissance ni la survie. La vitesse de croissance était en moyenne de 0,08-0,1 g/jour sur une période de trois semaines.

Gamme de poids	Filets à poche	Taille de la maille
0,5–1 g	Hapa 1 m <sup>2</sup> , 1 m de haut	660–670 μm
1–2 g	Bag net 1-4 m <sup>2</sup> , 1 m de haut	1 mm

#### Problèmes éventuels

- Afin de réduire les risques de faible concentration en oxygène dissous, de température élevée, et de sédiment anaérobie, surélever les hapas et les bag nets par rapport au fond du bassin. Relever régulièrement la température, la concentration en oxygène dissous et la salinité de l'eau des bassins.
- Certaines matières utilisées dans la fabrication des filets à poche sont trop abrasives pour les juvéniles d'holothuries ou trop fragiles et donc faciles à abîmer. Le Tentex est une matière appropriée.
- Après plusieurs semaines dans les bassins, les filets à poche sont sales. Brosser les filets régulièrement afin de permettre la libre circulation de l'eau.



Figure 47. Juvéniles d'holothuries de sable en phase de grossissement en bassin.

### Dans des bassins

Au Vietnam, de gros spécimens d'holothuries (50-500 g) stockés dans des bassins présentaient des vitesses de croissance de 2,2 à 3,2 g/jour. La croissance était inversement proportionnelle à la densité de stockage, pour une densité comprise entre 106 et 170 g/m<sup>2</sup>. La survie était excellente (88-97 %) jusqu'au début de la saison humide, où une mortalité massive a été observée suite à la stratification de l'eau des bassins et à une faible salinité.

En Nouvelle-Calédonie, on a élevé des juvéniles de 1 g dans des bassins en terre à une faible densité de 1,4 juvénile/m<sup>2</sup>. Au bout d'une année, on a enregistré une vitesse de croissance de 0,8 g/jour (soit 24 g/mois).

#### Problèmes éventuels

- La qualité des sédiments des bassins, et la qualité et le renouvellement en eau de mer ont un impact sur la croissance et la survie. De mauvaises conditions environnementales peuvent provoquer le développement excessif d'algues filamenteuses et l'apparition de sédiments anaérobies.
- La stratification de l'eau du bassin due à de fortes pluies conduit à de faibles concentrations en oxygène dissous, des températures élevées et une salinité inappropriée (inférieure à 20 ppt).
- De mauvaises conditions environnementales peuvent favoriser l'apparition de lésions du tégument des holothuries.

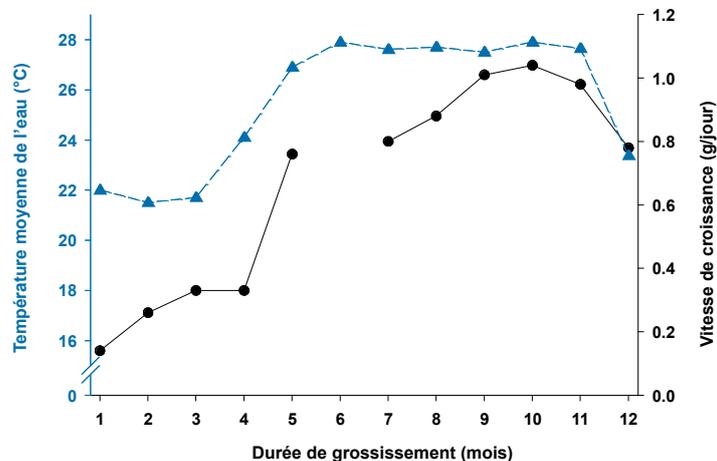


Figure 48. Vitesse de croissance des juvéniles de 1 g élevés dans des bassins en terre en Nouvelle-Calédonie, et température moyenne de l'eau des bassins.



## Dans des enclos marins



Figure 49. Enclos marin de 500 m<sup>2</sup>.

Plusieurs types d'enclos marins et de cages ont été utilisés pour le grossissement des holothuries. Il s'agissait d'enclos de 25 m<sup>2</sup> en bambou ou en feuilles de palmier placés dans une eau peu profonde (maille de 4 mm), de cages rectangulaires métalliques de 0,6 m<sup>2</sup> (maille de 2 mm), de cages en velon de 2 m<sup>2</sup> (maille de 7 mm), ou encore de cages en netlon de 2 m<sup>2</sup> (maille de 5 mm). En général, la croissance et la survie des holothuries de sable dans les enclos marins sont bien inférieures à celles obtenues dans les bassins en terre.

Au Vietnam, les juvéniles stockés à très forte densité (500 g/m<sup>2</sup>) dans des enclos marins ont montré une très bonne survie (98 %) mais n'ont pas grossi. La réduction de la densité à 390 g/m<sup>2</sup> entraînait une survie élevée (90 %) et



Figure 50. Juvéniles d'holothuries de sable (2,5 à 12 g).

une croissance de 1,7 g/jour. Les juvéniles d'environ 84 g, stockés à une densité de 0,73 juvénile/m<sup>2</sup> dans des enclos marins ont grossi à la vitesse de 1,05 g/jour sur une période de cinq mois. Ces enclos marins de 2 000 m<sup>2</sup> (maille de 8 mm) étaient placés dans 1,5 à 2,5 mètres d'eau, sur un substrat sablo-vaseux contenant des débris coralliens.

En Nouvelle-Calédonie, des juvéniles de 1 à 20 g ont été placés dans des enclos marins de 500 m<sup>2</sup> en eau peu profonde, sur des herbiers. À une densité de 4 juvéniles/m<sup>2</sup>, la survie était de l'ordre de 5 à 9 pour cent 18 mois après le lâcher.

### Résumé

- Dès qu'ils mesurent 5 mm de long, les juvéniles peuvent être transférés dans des hapas (filets à poche à mailles fines) possédant des substituts de plantes marines, placés dans des bassins en terre.
- On peut élever les juvéniles de 1 g dans de grands bag nets, des filets à poche à mailles larges, placés dans des bassins en terre.
- Les hapas et les bag nets ne doivent pas reposer sur le fond du bassin, et ce afin de réduire les risques de conditions environnementales défavorables.
- On peut lâcher les juvéniles > 1 g directement dans des bassins en terre.
- On peut placer les juvéniles dans des enclos marins. Cela demande une gestion moindre, mais la croissance et la survie sont largement inférieures à celles obtenues dans les bassins.

## PROBLÈMES ET SOLUTIONS POSSIBLES

- **L'obtention des œufs:** dans de nombreux pays, on ne peut obtenir des œufs que pendant une saison de ponte relativement courte. Cela limite l'essor de l'aquaculture et du "pacage en mer" de l'holothurie de sable. Il est nécessaire d'élaborer des méthodes permettant d'augmenter la saison de ponte de quelques mois.
- **Le volume des bacs d'élevage larvaire:** la maintenance de petits bacs d'élevage larvaire requiert énormément de travail, et ces bacs sont plus sujets à des variations de température. Les grands bacs d'élevage larvaire, moins sujets à des variations de température, avec un renouvellement partiel quotidien permettent d'améliorer les conditions d'élevage larvaire et la survie. L'utilisation de la lumière naturelle au lieu d'un éclairage artificiel constitue un autre avantage.
- **La production massive de micro-algues:** on peut accroître la production de micro-algues en ayant recours à de grands volumes de culture extérieurs. Cependant, pour éviter la contamination de ces volumes de culture par des organismes indésirables, il faut procéder à la filtration, à la stérilisation aux UV et à la chloration-déchloration.
- **Un espace limité pour les bacs de nurserie:** de grands bacs sont nécessaires pour la première phase de l'élevage en nurserie, entraînant le plus souvent des coûts considérables. Toutefois, on pourrait gagner de la place en utilisant des supports de fixation supplémentaires et en retirant les plus gros individus pour la deuxième phase de l'élevage en nurserie. Pour cette deuxième phase, on peut remplacer les bacs de nurserie par des filets à poche placés dans des bassins, ou des cages installées sur des herbiers, et ainsi réduire les coûts.

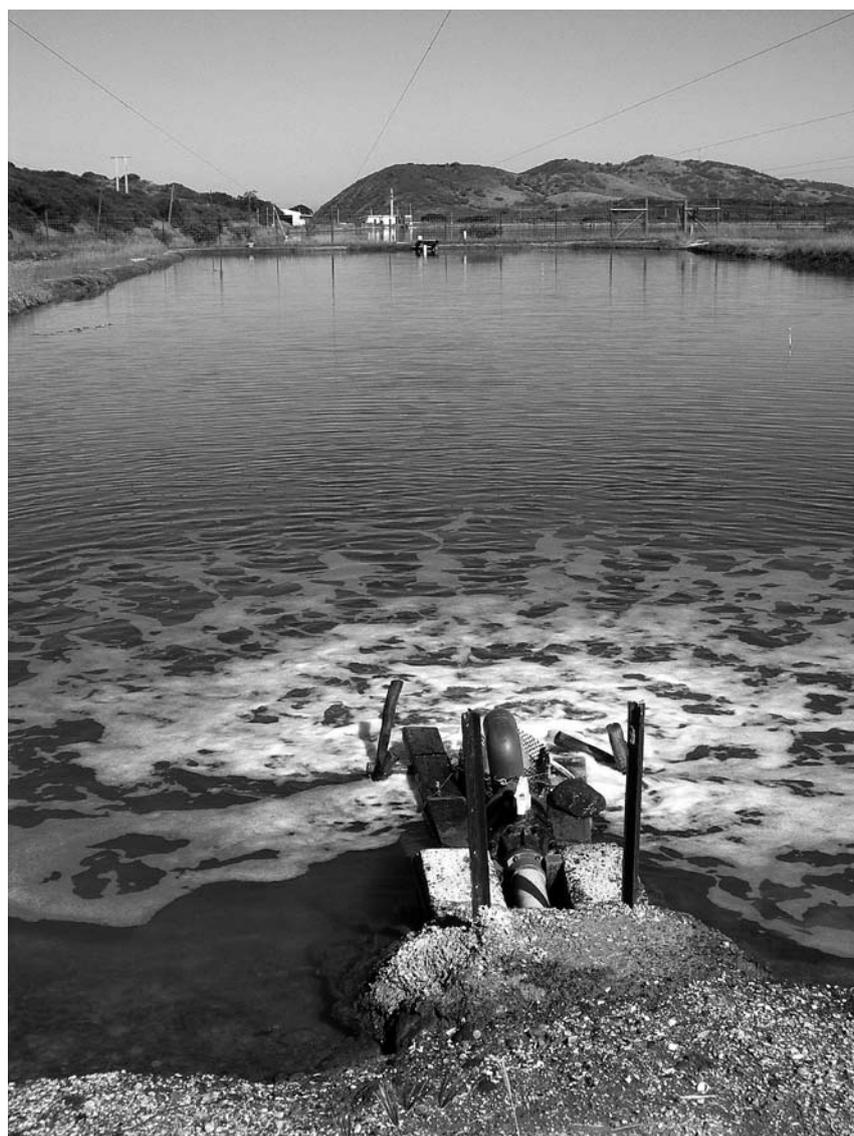


Figure 51. Bassin en terre idéal pour l'installation de *hapas* et *bag nets*.



## DÉBOUCHÉS PROMETTEURS POUR LES HOLOTHURIES DE SABLE D'ÉLEVAGE

Si des méthodes sont élaborées afin de garantir qu'une grande proportion des holothuries de sable d'élevage lâchées dans le milieu naturel survit, les juvéniles d'élevage pourront être utilisés dans le cadre de programmes de réensemencement, d'amélioration des stocks et de "pacage en mer".

- Le réensemencement implique le lâcher en eau libre de juvéniles d'élevage afin de reconstituer la biomasse des géniteurs d'un stock gravement appauvri, à un niveau où le rendement du stock est à nouveau régulier et significatif.
- L'amélioration des stocks vise à accroître la productivité d'une pêcherie en relativement bon état en compensant l'approvisionnement naturel insuffisant en juvéniles.
- Le "pacage en mer" se distingue du réensemencement et de l'amélioration des stocks car il ne vise pas à lâcher des animaux en eau libre afin d'accroître la biomasse des géniteurs ou de renforcer une classe d'âge précise au sein d'une population. Il s'agit plutôt de placer les juvéniles dans leur milieu naturel dans le but de les reprendre ultérieurement lorsqu'ils auront atteint une taille supérieure.

Grâce à l'élevage et la production de juvéniles d'holothuries de sable, on peut également élever cette espèce dans des bassins en terre ou des enclos marins. Il est déconseillé d'élever l'holothurie de sable dans des bassins d'élevage avec des crevettes car ces dernières s'attaquent aux holothuries.

Les questions qui suivent doivent être résolues avant de pouvoir évaluer pleinement le potentiel d'élevage des holothuries de sable en bassins:

- Quelle est la densité optimale de stockage des holothuries de sable dans les bassins, y compris ceux qui ont été utilisés auparavant pour l'élevage de crevettes?
- Les holothuries de sable ont-elles un effet bénéfique sur les sédiments dans les bassins d'élevage de crevettes récemment pêchés ou vides?
- Faut-il réduire la densité de stockage des holothuries de sable, ou ajouter un supplément alimentaire à un stade plus tardif du cycle de production, pour maintenir de bons taux de croissance?
- Si les sédiments doivent être enrichis, quelle est la meilleure méthode à adopter?
- Y a-t-il des sédiments plus profitables que d'autres pour le grossissement des holothuries de sable?



Figure 52. Holothurie de sable d'élevage.

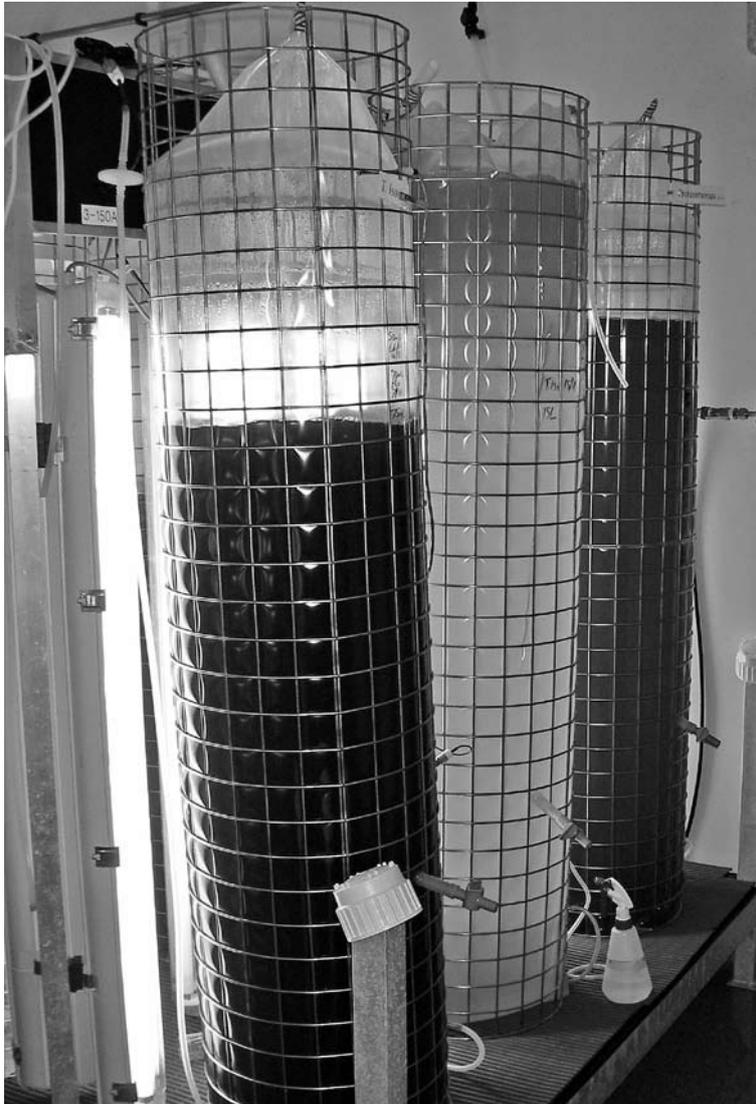


Figure 53. Grands volumes de culture de micro-algues, en colonnes de 150 l, en salle avec un éclairage artificiel.



# ANNEXE 1: CULTURE DE MICRO-ALGUES

## Maintien des cultures de micro-algues

### Achat des cultures mères de micro-algues

Les organisations suivantes disposent de micro-algues de très bonne qualité pour la phycolture:

- CSIRO Marine and Atmospheric Research, GPO Box 1538, Hobart, Tasmanie, 7001 Australie;
- Culture Collection of Algae and Protozoa, SAMS Research Services Ltd, Dunstaffnage Marine Laboratory, Oban, Argyll PA37 1QA, Écosse;
- Plymouth Culture Collection, Marine Biological Association, Citadel Hill, Plymouth, PL 2PB, Royaume-Uni.

### Maintien des cultures mères

- Conserver les cultures mères dans des flacons erlenmeyers (250 ml) en milieu stérile. Ces erlenmeyers sont stockés dans une pièce climatisée (20-24 °C) à proximité d'un éclairage artificiel.
- Garder deux séries de cultures mères pour chaque espèce afin de réduire les risques de contamination et de perte irrémédiable des micro-algues.
- Remuer quotidiennement les cultures mères à la main afin de maintenir les micro-algues en suspension.
- Faire des sous-cultures de la culture mère une fois par semaine (ou toutes les deux semaines au maximum).

### Consignes à respecter dans la salle d'algues (volumes d'algues < 500 l)

- Éviter la contamination par des cultures d'autres organismes en dédiant une pièce exclusivement à la culture de micro-algues.
- Maintenir la température ambiante entre 20 et 24 °C en climatisant la pièce.
- Prévoir un éclairage avec des tubes néon ("blanc industriel" ou "lumière du jour") 14 heures par jour.
- Prévoir une bonne aération pour les ballons, les bonbonnes et les colonnes.
- Procéder, si possible, au transfert stérile des cultures de micro-algues sous une hotte à flux laminaire ou dans une simple enceinte vitrée.

### Consignes à respecter pour les grands volumes d'algues (500 l et plus)

- Pour les cultures en intérieur, prévoir un éclairage artificiel et une aération continue garantissant le brassage de l'eau.
- Pour les cultures extérieures exposées à la lumière naturelle, prévoir une aération continue et une protection contre la pluie.

### Problème éventuel

- Il est possible que des ciliés s'introduisent par les tubes d'aération en raison des taux élevés d'humidité. Afin d'éviter cette contamination, placer un filtre de 0,2-1 µm dans les tubes d'aération avant qu'ils n'arrivent dans les différents volumes de culture.

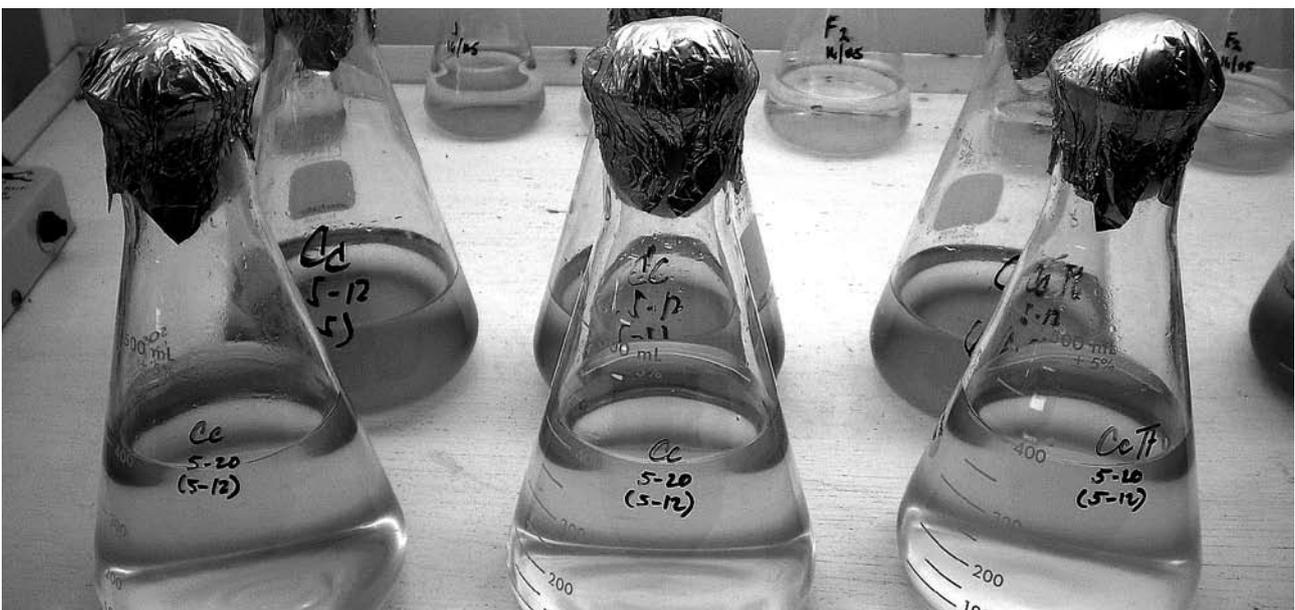


Figure 54. Cultures mères dans des erlenmeyers.

## Préparation et inoculation des cultures de micro-algues

### Préparation ou achat du milieu de culture

Le milieu le plus courant pour la culture de micro-algues est le milieu f/2 de Guillard. En doublant les quantités de chaque ingrédient de ce milieu, le milieu de culture f/2 devient alors le milieu f.

- Préparer le milieu de culture f/2 de Guillard (nitrate, phosphate, solution traces de métaux, citrate ferrique, vitamines). Pour les cultures de diatomées uniquement, ajouter une solution de métrasilicate de sodium. Utiliser le milieu de culture f pour la culture de *Rhodomonas salina*.
- Sinon, on peut acheter le milieu de culture en s'adressant à: Culture Collection of Algae and Protozoa, SAMS Research Services Ltd, Dunstaffnage Marine Laboratory, Oban, Argyll PA37 1QA, Écosse.
- Stocker le milieu de culture au réfrigérateur, dans un endroit propre et à l'abri de la lumière.

### Préparation des erlenmeyers, des ballons et des bonbonnes de 10 l

- Nettoyer les récipients avec un détergent, les rincer et les laisser sécher.
- Remplir les erlenmeyers, les ballons et les bonbonnes d'eau de mer filtrée à 0,2-1  $\mu\text{m}$  et stérilisée aux UV, à faible salinité (25-30 ppt).
- Ajouter le milieu de culture.
- Ajouter les tubes d'aération en verre. Fermer avec du coton et recouvrir d'aluminium.
- Placer le tout dans l'autoclave à 121 °C pendant 20 minutes.
- Avant toute utilisation, laisser reposer pendant au moins 24 heures, temps nécessaire afin que le pH revienne à son niveau initial après une augmentation passagère.
- Inoculer avec les cultures de micro-algues.



Figure 55. Culture de micro-algues en bonbonnes de 20 l.



### Préparation des bonbonnes de 20 l, des colonnes et des bacs

- Nettoyer les récipients avec une solution chlorée à 10 %, les rincer et les laisser sécher.
- Remplir d'eau de mer filtrée à 1 µm et stérilisée aux UV.
- Ajouter du chlore (à 12,5 % de chlore actif) à une concentration de 0,2 ml/l et laisser agir pendant quatre heures minimum, ou pendant la nuit, jusqu'à un maximum de 24 heures sans aération.
- Mettre l'aération en marche pendant 10 à 15 minutes afin d'éliminer le chlore résiduel. Ajouter du thiosulfate de sodium (solution mère à 250 g/l) à une concentration de 0,2 ml/l et le laisser agir pendant une heure afin de neutraliser le chlore résiduel. Vérifier avec un test chlore.
- Après quelques minutes, ajouter de l'engrais tel que Aquasol (2,5 g/100 l). Pour les cultures de diatomées, ajouter également du métasilicate de sodium (3,75 g/100 l).
- Inoculer avec les cultures de micro-algues.

*On ajoute du métasilicate de sodium pour les cultures de diatomées telles que Chaetoceros sp., Navicula sp. et Nitzschia sp. Les diatomées utilisent le silicate pour construire leur enveloppe extérieure rigide (frustule).*

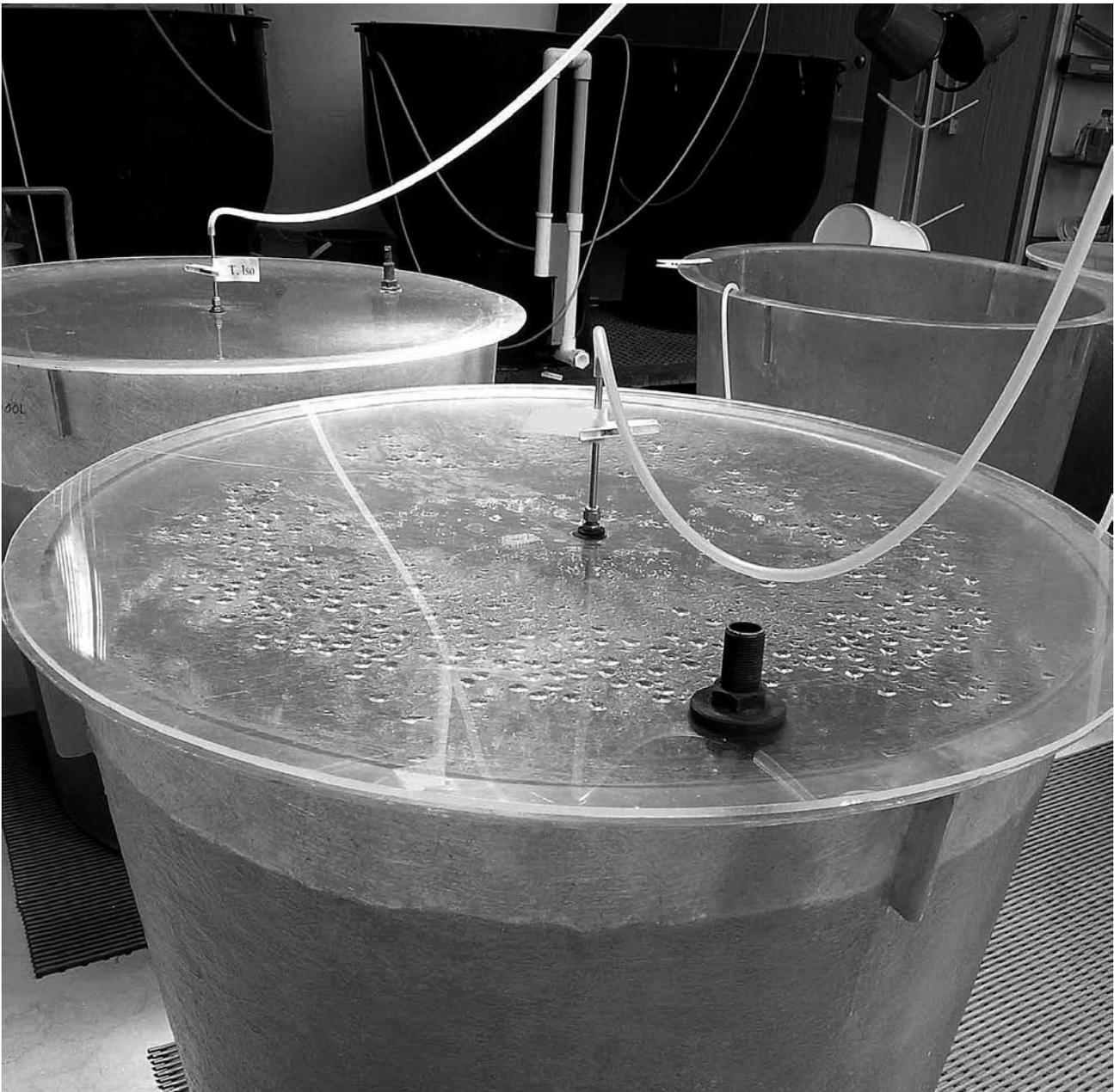


Figure 56. Culture de micro-algues en bac de 500 l.

## Méthode d'inoculation pour les erlenmeyers et les ballons

- Réaliser les inoculations sous une hotte à flux laminaire ou dans une simple enceinte vitrée.
- Nettoyer la zone de travail et les mains avec de l'alcool à 70 %.
- Placer les volumes de culture nécessaires pour le transfert dans l'enceinte près de la flamme d'un bec Bunsen.
- Passer le goulot des récipients sur la flamme avant et après le transfert.
- En travaillant près de la flamme, retirer le bouchon du nouveau récipient et ajouter rapidement les éléments nutritifs et l'inoculum de micro-algues.
- Replacer immédiatement le bouchon.
- Noter à l'aide d'un marqueur sur le récipient la date et le nom de l'espèce de micro-algue.

Volumes de culture	Cycle de culture
Erlenmeyer 250 ml	4–7 jours
Ballons 2 l	3–7 jours
Bonbonnes 10-20 l	4–7 jours
Colonnes 150 l	7–14 jours
Bacs 500 l	4–7 jours

## Résumé

- Garder deux séries de cultures mères pour chaque espèce de micro-algues dans des erlenmeyers.
- Faire des sous-cultures une fois par semaine (ou toutes les deux semaines au maximum).
- Conserver les cultures dans des erlenmeyers, des ballons, des bonbonnes et des colonnes dans une pièce climatisée (20-24 °C) avec un éclairage de 14 heures par jour. Remuer quotidiennement les cultures mères à la main et prévoir une aération régulière pour les grands volumes de cultures.
- Placer un filtre sur les tubes d'aération avant son entrée dans les différents volumes de culture afin d'éviter toute contamination par des ciliés.
- La préparation des cultures de micro-algues et le choix de la méthode de stérilisation dépendent du volume des cultures.
- Ajouter du métasilicate de sodium pour la culture des diatomées.
- Procéder à l'inoculation et au transfert des cultures d'algues dans un environnement propre et stérile.
- Pour les cultures de micro-algues en extérieur, la température de l'eau ne doit pas dépasser 32 °C.



## QUELQUES LECTURES

- Battaglione, S.C., 1999. Culture of tropical sea cucumbers for stock restoration and enhancement. *Naga, The ICLARM Quarterly* 22 (4): 4-11.
- Battaglione, S.C., Seymour, J.E., 1998. Detachment and grading of the tropical sea cucumber sandfish, *Holothuria scabra*, juveniles from settlement substrates. *Aquaculture* 159: 263-274.
- Battaglione, S.C., Seymour, J.E., Ramofafia, C., 1999. Survival and growth of cultured juvenile sea cucumbers, *Holothuria scabra*. *Aquaculture* 178: 293-322.
- Bell, J.D., Rothlisberg, P.C., Munro, J.L., Loneragan, N.R., Nash, W.J., Ward, R.D., Andrew, N.L., 2005. Restocking and stock enhancement of marine invertebrate fisheries. *Advances in Marine Biology* 49: 1-370.
- Conand, C., 1989. Les holothuries aspidochirotés du lagon de Nouvelle-Calédonie : biologie, écologie et exploitation. Etudes et thèses ORSTOM, Paris, 393p.
- Hamel, J.-F., Conand, C., Pawson, D.L., Mercier, A., 2001. The sea cucumber *Holothuria scabra* (Holothuroidea: Echinodermata): Its biology and exploitation as beche-de-mer. *Advances in Marine Biology* 41:131-201.
- James, D.B., 1996. Culture of sea cucumber. *Bulletin Central Marine Fisheries Research Institute* 48: 120-126.
- James, D.B., 1999. Hatchery and culture technology for the sea cucumber, *Holothuria scabra* Jaeger, in India. *Naga, The ICLARM Quarterly* 22 (4): 12-16.
- James, D.B., 2004. Captive breeding of the sea cucumber, *Holothuria scabra*, from India. *Advances in sea cucumber aquaculture and management. FAO Fisheries Technical Paper* 463: 385-395.
- James, D.B., Gandhi, A.D., Palaniswamy, N., Rodrigo, J.X., 1994. Hatchery techniques and culture of the sea cucumber *Holothuria scabra*. *Central Marine Fisheries Research Institute Special Publication* No. 57.
- Massin, C., 1999. Reef-dwelling holothuroidea (Echinodermata) of the spermonde archipelago Sulawesi, Indonesia. *Zoologische Verhandlungen Leiden* 329: 4-144.
- Morgan, A.D., 1998. Husbandry and spawning of the sea cucumber *Holothuria scabra* (Echinodermata: Holothuroidea). Thesis submitted for the degree of Master of Science in Marine Science, University of Queensland, 20 November 1998.
- Morgan, A.D., 2001. Aspects of sea cucumber broodstock management (Echinodermata: Holothuroidea). *SPC Bêche-de-mer Information Bulletin* 13: 2-8.
- Pitt, R. 2001. Review of sandfish breeding and rearing methods. *SPC Bêche-de-mer Information Bulletin* 14: 14-21.
- Pitt, R., Duy, N.D.Q., 2003. How to produce 100 tonnes of sandfish. *SPC Bêche-de-mer Information Bulletin* 18:15-17.
- Pitt, R., Duy, N.D.Q., 2004. Breeding and rearing of the sea cucumber *Holothuria scabra* in Viet Nam. *Advances in sea cucumber aquaculture and management. FAO Fisheries Technical Paper* 463: 333-346.
- Pitt, R., Duy, N.D.Q., Duy, T.V., Long, H.T.C., 2004. Sandfish (*Holothuria scabra*) with shrimp (*Penaeus monodon*) co-culture tanks trials. *SPC Bêche-de-mer Information Bulletin* 20: 12-22.
- Pitt, R., Thu, N.T.X., Minh, M.D., Phuc, H.N., 2001. Preliminary sandfish growth trials in tanks, ponds and pens in Vietnam. *SPC Bêche-de-mer Information Bulletin* 15:17-27.
- Purcell, S., 2005. Developing technologies for restocking sandfish: Update on the WorldFish-SPC project in New Caledonia. *SPC Bêche-de-mer Information Bulletin* 22: 30-33.
- Ramofafia, C., Battaglione, S., Byrne, M., 2001. Larval development in the tropical sea cucumber *Holothuria scabra*. In Baker (ed.) *Echinoderms 2000 Proceedings of the 10th International Echinoderm Conference*, 28 January to 5 February 2000, Dunedin, New Zealand, Swets and Zeitlinger, Lisse: 369-375.
- Shelley, C.C., 1985. Growth of *Actinopyga echinites* and *Holothuria scabra* (Holothuroidea: Echinodermata) and their fisheries potential (as beche-de-mer) in Papua New Guinea. *Proceedings of the Fifth International Coral Reef Congress*, 5: 297-302.

