

TABLE DES MATIERES

Remerciements	I
Avant-Propos	V
Financement	V
Liste des publications	VI
Liste des communications.....	VII
Résumé / Abstract	IX
Table des illustrations	XV
Table des tableaux.....	XIX
Liste des principales abréviations.....	XXI
Liste des noms d'espèces de coraux.....	XXIII
Chapitre 1 L'écosystème corallien	3
1.1 Les récifs coralliens.....	3
1.1.1 Genèse et typologie des récifs	3
1.1.2 Distribution circum-tropicale	4
1.1.3 Conditions de vie récifale.....	5
1.1.4 Importances écologiques et socio-économiques	7
1.1.5 La Nouvelle-Calédonie : Archipel de corail	8
1.2 Le corail : origine et anatomie du polype	9
1.2.1 Taxonomie	9
1.2.2 Anatomie du polype.....	10
1.3 Le corail : les symbiotes photosynthétiques	12
1.3.1 Qu'est-ce qu'une symbiose ?	12
1.3.2 Taxonomie et caractéristiques des <i>Symbiodinium</i>	13
1.3.3 La symbiose : bénéfices et coûts	14
1.4 La physiologie corallienne	15
1.4.1 La calcification.....	15
1.4.2 La photosynthèse	17
1.4.3 La mixotrophie corallienne	21
1.5 Modèles biologiques	22
Chapitre 2 Les menaces globales.....	27
2.1 Le réchauffement des océans	28
2.1.1 Modifications du milieu par le réchauffement des eaux.....	28
2.1.2 Conséquences physiologiques du réchauffement des eaux sur les coraux : rupture de la symbiose (blanchissement).....	29
2.1.3 Défenses des coraux face au stress thermique.....	31

2.2 L'acidification des océans.....	32
2.2.1 Modifications biochimiques du milieu par l'acidification des océans.....	32
2.2.2 Conséquences physiologiques de l'acidification des océans sur les coraux.....	34
2.2.3 Mécanismes de régulation de l'acidification des océans.....	35
2.3 La Nouvelle-Calédonie face aux changements climatiques	38
2.3.1 Épisodes de blanchissement.....	38
2.4 Les résurgences volcaniques : un laboratoire naturel pour étudier l'acidification des océans.....	40
2.4.1 Cas de la Papouasie Nouvelle-Guinée	40
2.4.2 Caractérisation du site (Pichler, T., Biscéré, T. et al. 2018).....	41
<i>Synthèse des résultats obtenus</i>	41
<i>Publication n°6</i>	42
2.4.3 Effets de l'acidification sur la photosynthèse et la respiration corallienne (RESULTATS PERSONNELS).....	43
<i>Synthèse des résultats obtenus</i>	43
<i>Publication n°5</i>	44
Chapitre 3 Les coraux face aux pressions locales : le cas particulier des métaux.....	61
3.1 Généralités sur les métaux	63
3.1.1 Les sources d'enrichissements et les principaux pays concernés	63
3.1.2 Spéciation des métaux	65
3.1.3 Biodisponibilité des métaux.....	67
3.2 Les métaux et les coraux.....	68
3.2.1 Processus de bioaccumulation	68
3.2.2 Caractéristiques des principaux métaux du lagon calédonien.....	72
3.2.2.1 Métaux utilisés au cours de ce doctorat.....	72
3.2.2.2 Métaux non utilisés au cours de ce doctorat	75
3.2.3 Effets des métaux sur les différents stades de vie des coraux	76
3.2.3.1 Métaux utilisés au cours de ce doctorat.....	77
3.2.3.2 Métaux non étudiés.....	80
3.3 La Nouvelle-Calédonie : Terre de métal.....	84
3.3.1 Origine géologique des métaux.....	84
3.3.2 Contexte minier et métaux concernés.....	86
3.3.3 Choix des métaux étudiés et niveaux de concentration selon les habitats.....	88
3.3.4 Expérience de transplantation corallienne (RESULTATS PERSONNELS).....	89
Chapitre 4 Les métaux dans le cadre du changement climatique : Effets sur les coraux.....	99
4.1 Interaction métaux et réchauffement des eaux	99
4.1.1 Effets du réchauffement des eaux sur la spéciation des métaux.....	99
4.1.2 Effets du réchauffement des eaux et des métaux sur les coraux.....	100
4.1.3 Effets du réchauffement des eaux et d'un enrichissement en nickel sur les coraux (RESULTATS PERSONNELS)	102
<i>Synthèse des principaux résultats obtenus</i>	102

Table des matières

Publication n° 2	104
Publication n° 3	123
4.1.4 Effets du réchauffement des eaux et d'un enrichissement en manganèse et en fer sur les coraux (RESULTATS PERSONNELS).....	144
Synthèse des principaux résultats obtenus.....	144
Publication n°4.....	146
4.2 Interaction métaux et acidification des océans	163
4.2.1 Effets de l'acidification des océans sur la spéciation des métaux	163
4.2.2 Effets de l'acidification des océans et des métaux sur les coraux	166
4.2.3 Effets de l'acidification des océans et d'un enrichissement en cobalt sur les coraux (RESULTATS PERSONNELS)	167
Synthèse des principaux résultats obtenus.....	167
Publication n°1.....	168
Chapitre 5 Discussion générale et perspectives.....	192
5.1 Les coraux face aux enrichissements métalliques.....	192
5.1.1 Le nickel et le manganèse, de puissants stimulants	192
5.1.2 Les effets contrastés du cobalt et du fer	194
5.1.3 D'autres métaux à considérer	197
5.2 Les métaux dans un contexte de changement climatique	197
5.2.1 Influence des métaux sur les coraux dans un océan plus chaud	198
5.2.2 Influence des métaux sur les coraux dans un océan acidifié.....	199
5.3 Conclusion et perspectives générales	200
5.3.1 Cocktail métallique.....	200
5.3.1 Le réchauffement et l'acidification des eaux, des stress simultanés	201
5.3.3 Fraction particulaire.....	202
5.3.4 Coraux acclimatés	203
5.3.5 Au-delà de la physiologie corallienne	204
Annexes	206
Annexe 1 : Publication n°6.....	206
Annexe 2 : Données supplémentaires publication n°6	225
Annexe 3 : Données supplémentaires publication n°4	233
Annexe 4 : Tableau récapitulatif des effets des métaux sur les jeunes stades de vie des coraux	235
Bibliographie	238

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1. Typologie des récifs coralliens (en jaune).	4
Figure 2. Distribution des récifs coralliens à travers le monde.	5
Figure 3. Carte bathymétrique de la Nouvelle-Calédonie et de son patrimoine récifal.	9
Figure 4. Coupe transversale schématique d'un polype corallien.	10
Figure 5. Coupe histologique (microscopie électronique) et schématique du cœnosarque.	11
Figure 6. Observation microscopique de <i>Symbiodinium</i>	13
Figure 7. Transport des électrons, production de ROS et métalloenzymes dans la chaîne photosynthétique.	17
Figure 8. Représentations schématiques d'un photosystème.	18
Figure 9. Voies de désexcitation de la chlorophylle.	19
Figure 10. Liste des modèles utilisés durant cette thèse.	23
Figure 11. Le blanchissement corallien sous l'effet d'un stress thermique.	30
Figure 12. Dissociation du CO ₂ dans l'eau de mer et équilibre des formes de DIC selon le pH.	32
Figure 13. Prédiction de l'état de saturation en aragonite des océans selon la pCO ₂	33
Figure 14. Observation transversale et longitudinale de la densité du squelette corallien selon un gradient de pH.	35
Figure 15. Modulation du processus de calcification dans un contexte d'acidification.	37
Figure 16. Carte des indices de risque de blanchissement en Nouvelle-Calédonie de février à mai 2016 : (A) HotSpot et (B) DHW.	39
Figure 17. Été austral 2016, vue aérienne et sous-marine du phénomène de blanchissement sur un récif frangeant de Nouvelle-Calédonie.	39
Figure 18. Photographie sous-marine d'un événement volcanique et des suintements de CO ₂ pur dans la baie de Tutum (Île d'Ambitle, Papouasie Nouvelle-Guinée).	41
Figure 19. Location of the three study sites in Ambitle and Normanby Islands.	48
Figure 20. Linear regression of the gross photosynthesis against dark respiration data measured on corals from reference (circle) and seep (triangle) sites.	49
Figure 21. Profil vertical nutritif du fer, du nickel, du cuivre et du zinc.	68
Figure 22. Localisation des massifs de péridotites et des exploitations minières en Nouvelle-	85
Figure 23. Profil d'altération latéritique sous climat tropical humide d'un massif de péridotites.	86
Figure 24. Emplacement des trois stations de transplantation en baie de Vavouto (Voh, Province Nord, Nouvelle-Calédonie).	90

Figure 25. Mouvements des masses d'eau dans la baie de Vavouto lors de marée montante (A) et descendante (B).....	91
Figure 26. Vue globale de la plaque de transplantation de la station 1 et (B) gros plan sur les boutures de <i>M. stellata</i>	92
Figure 27. Taux de croissance ($\text{mg g}^{-1} \text{ j}^{-1}$) de <i>Montipora stellata</i> à chacune des stations sur les 18 mois de transplantation.	93
Figure 28. Efficacité photosynthétique (F_v/F_m) de <i>Montipora Stellata</i> à chacune des stations sur les 18 mois de transplantation.	94
Figure 29. Photosynthetic rates of <i>Acropora muricata</i> (A) and <i>Pocillopora damicornis</i> (B) measured <i>in situ</i> using benthic chambers incubations (acute exposure:1-h) at ambient and enriched nickel concentrations (0.15 and $2.71 \mu\text{g L}^{-1}$).	112
Figure 30. Integrated calcification rates (from 9 am to 9 pm) of <i>Acropora muricata</i> and <i>Pocillopora damicornis</i> measured <i>in situ</i> using benthic chambers incubations (acute exposure: 1-h) at ambient and enriched nickel concentrations (0.15 and $2.71 \mu\text{g L}^{-1}$).	113
Figure 31. <i>Symbiodinium</i> density and total chlorophyll concentration of <i>Acropora muricata</i> (mean $\pm$ SD, $n = 3$) exposed during eight weeks (chronic exposure) to two conditions of temperature (26 and 32°C) and two nickel concentration (ambient: $1.00 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.52 \mu\text{g L}^{-1}$).	114
Figure 32. <i>Acropora muricata</i> gross photosynthesis (A) and respiration (B) rates (mean $\pm$ SD, $n = 3$) measured in aquaria exposed during eight weeks (chronic exposure) to two conditions of temperature (26 and 32°C) and two nickel concentration (ambient: $1.00 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.52 \mu\text{g L}^{-1}$).	115
Figure 33. Relative electron transport rate (rETR) vs. irradiance (PAR) for <i>Acropora muricata</i> (mean $\pm$ SD, $n=7$) exposed during eight weeks (chronic exposure) to two conditions of temperature (26 and 32°C) and two nickel concentration (ambient: $1.00 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.52 \mu\text{g L}^{-1}$).	116
Figure 34. Growth rates of <i>Acropora muricata</i> (mean $\pm$ SD, $n=7$) exposed during eight weeks (chronic exposure) to two conditions of temperature (26 and 32°C) and two nickel concentrations (ambient: $1.00 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.52 \mu\text{g L}^{-1}$).	117
Figure 35. Experimental set up with four conditions in a crossed factor design.	127
Figure 36. <i>Symbiodinium</i> density and total chlorophyll concentration of <i>Acropora muricata</i> (A and B) and <i>Pocillopora damicornis</i> (C and D) (mean $\pm$ SD, $n = 3$) exposed for four weeks (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$)	132
Figure 37. <i>Acropora muricata</i> (A) and <i>Pocillopora damicornis</i> (B) gross photosynthesis and respiration rates (mean $\pm$ SD, $n = 3$) measured in aquaria exposed for four weeks (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$).	133
Figure 38. Relative electron transport rate (rETR) vs. irradiance (PAR) for <i>Acropora muricata</i> (A) and <i>Pocillopora damicornis</i> (B) (mean $\pm$ SD, $n=5$) exposed for four weeks (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$)	134

Figure 39. <i>Acropora muricata</i> (A), <i>Pocillopora damicornis</i> (B) and <i>Dendrophyllia</i> sp. (C) uptake rates of urea (mean $\pm$ SD, n = 3) measured in aquaria after a four weeks exposure (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$)	135
Figure 40. Calcification rates of <i>Acropora muricata</i> (A), <i>Pocillopora damicornis</i> (B) and <i>Dendrophyllia</i> sp. (C) (mean $\pm$ SD, n = 3) measured in aquaria after four weeks exposed (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$)	136
Figure 41. Growth rates of <i>Acropora muricata</i> (A), <i>Pocillopora damicornis</i> (B) (mean $\pm$ SD, n = 5) and <i>Dendrophyllia</i> sp. (C) (mean $\pm$ SD, n = 4) measured in aquaria after four weeks exposed (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$)	137
Figure 42. Principal Coordinate Analysis (PCoA) comparison of colony physiological traits maintained during six weeks either at 26 (AT) or 32°C (HT) to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$)	150
Figure 43. <i>Symbiodinium</i> density (A) and total chlorophyll concentration (B) of <i>Stylophora pistillata</i> (mean $\pm$ SD, n = 3) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$)	151
Figure 44. Photosynthetic and respiration rates of <i>Stylophora pistillata</i> (mean $\pm$ SD, n = 3) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$)	152
Figure 45. <i>Stylophora pistillata</i> photosynthetic efficiency (F_v/F_m) (mean $\pm$ SD, n = 5) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$)	153
Figure 46. Relative electron transport rates (rETR) of <i>Stylophora pistillata</i> (mean $\pm$ SD, n = 5) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$)	153
Figure 47. <i>Stylophora pistillata</i> calcification rates (mean $\pm$ SD, n = 3) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$)	154
Figure 48. <i>Stylophora pistillata</i> growth rates (mean $\pm$ SD, n = 5) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$)	154
Figure 49. Schematic diagram summarizing the effects of a manganese enrichment on adult coral physiology under ambient temperature or thermal stress.	158
Figure 50. Experimental set up with eight conditions in a crossed factor design.	160
Figure 51. Augmentation du temps de demi-vie du Fe(II) en fonction du pH à 25°C.	166
Figure 52. Schematic representation of the experimental system.	175
Figure 53. Effective photosynthetic efficiency (F_v/F_m) measured on dark adapted <i>Stylophora pistillata</i> and <i>Acropora muricata</i> colonies exposed during five weeks to two pH _T conditions (pH _T 7.8 or 8.1) and two cobalt concentrations (Natural and Polluted).	179
Figure 54. Relative electron transport rate (rETR) versus irradiance (PAR) for colonies of <i>Stylophora pistillata</i> (a) and <i>Acropora muricata</i> (b) (mean $\pm$ SD, n = 10) exposed during five weeks to two pH _T conditions (pH _T 7.8 or 8.1) and two cobalt concentrations (Natural and Polluted).	180

Figure 55. Growth rate ($\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$) measured for <i>Stylophora pistillata</i> (a) and <i>Acropora muricata</i> (b) colonies after five weeks of incubation under two pH_T conditions (pH_T 7.8 or 8.1) and two cobalt concentrations (Natural and Polluted).	181
Figure 56. <i>Acropora muricata</i> photosynthetic (a) and calcification rates (b) measured <i>in situ</i> during benthic chamber incubations at Natural ($<0.03 \mu\text{g L}^{-1}$) and Polluted ($1.06 \mu\text{g L}^{-1}$) cobalt concentrations.	182
Figure 57. Schéma récapitulatif de l'effet supposé du nickel sur la physiologie corallienne.	193
Figure 58. Schéma récapitulatif de l'effet supposé du cobalt sur le métabolisme des coraux. Traits en surépaisseurs : voies stimulées ; Traits en pointillés : voies inhibées.	195
Figure 59. Évolution de l'indice DHW sur les dernières décennies au sein du lagon Sud-Ouest de la Nouvelle-Calédonie.	199
Figure 60. Aerial picture of Tutum Bay showing the benthic transect (white line); the area investigated for trace elements in seawater (dashed square, also in panel C); the position of the 23 stations where the pH was measured during two cruises in September 2016 and May 2017 using SeaFETs.	210
Figure 61. Sea level and pH_T (total scale) variations recorded in Tutum Bay at station 1 from the 14 th to 21 th September 2016.	215
Figure 62. Cross sections of: (a) seawater pH_{NBS} ; (b) the hydrothermal fluid (HF); (c) arsenic content (As) through the center of the study area in Fig. 1, and parallel to transects T2 and T3 in Fig. 1c.	217
Figure 63. Relationships between silica content (a), arsenic content (b) and seawater pH measured along transect T2 at the study area in Fig. 1 which was sampled during three consecutive days.	219
Figure 64. Data of seawater pH_T recorded at a 10-min logging interval by SeaFET at stations 1, 2, and 3, in September 2016, and at station 13 in May 2017.	225
Figure 65. Daily variation in pH_T recorded at a 10-min logging interval by SeaFET at stations 14-23 in May 2017.	226
Figure 66. Contour maps for surface and bottom water pH_{NBS} , arsenic (As) and hydrothermal fluid (HF) collected from transects T0, T2, T3 and T5 on September 18 th , 2016.	227

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1. Summary of seawater conditions measured at the study sites and used during the coral incubations (Mean ($\pm$ SD)) (see the electronic supplemental materials for details).	47
Tableau 2. Mean ($\pm$ SD) values of the surface area-normalised gross photosynthesis (P_g) and dark respiration (R), P_g :R ratio and statistical significances (Wilcoxon test).	50
Tableau 3. Mean ($\pm$ SD) values of the surface area-normalised <i>Symbiodinium</i> ($\times 10^6$ cells cm^{-2}) and chlorophyll content ($\mu\text{g chl cm}^{-2}$) and statistical significances (Wilcoxon test).	51
Tableau 4. Flux élémentaires (moles an^{-1}) entrant dans l'océan mondial et excluant les apports anthropiques.	64
Tableau 5. Sources industrielles et agricoles de métaux.	65
Tableau 6. Aperçu des intervalles de concentrations de la fraction dissoute des métaux étudiés sur différents récifs à travers le monde.	66
Tableau 7. Aperçu des concentrations des métaux étudiés dans les différents compartiments coralliens	71
Tableau 8. Aperçu des concentrations métalliques moyennes dans les différents biotopes à proximité du site minier de Koniambo Nickel SAS. Ecart-type donné entre parenthèses.	89
Tableau 9. Concentrations moyennes des métaux présentant un gradient en fonction des stations ($n = 20$ par station, 4 par année de 2011 à 2015). Ecart-type donné entre parenthèses.	90
Tableau 10. Summary of Michaelis-Menten model values for the photosynthesis of <i>Acropora muricata</i> and <i>Pocillopora damicornis</i> incubated in benthic chambers (acute exposure: 1-h) and exposed to two nickel concentrations (ambient: $0.15 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $2.71 \mu\text{g L}^{-1}$).	113
Tableau 11. Summary of two-way ANOVAs testing the combined effect of temperature (26 and 32°C) and nickel concentrations (ambient: $1.00 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.52 \mu\text{g L}^{-1}$) on <i>Acropora muricata</i> physiological parameters	118
Tableau 12. Summary of two-way ANOVAs testing the combined effect of two nickel (ambient: $0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) and two urea concentrations (ambient: $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$ and enriched: $5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) on <i>Acropora muricata</i> physiological parameters.	138
Tableau 13. Summary of two-way ANOVAs testing the combined effect of two nickel (ambient: $0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) and two urea concentrations (ambient: $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$ and enriched: $5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) on <i>Pocillopora damicornis</i> physiological parameters.	139
Tableau 14. Summary of two-way ANOVAs testing the combined effect of two nickel (ambient: $0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) and two urea concentrations (ambient: $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$ and enriched: $5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) on <i>Dendrophyllia sp.</i> physiological parameters	140
Tableau 15. Summary of $rETR_{\text{max}}$ and F_v/F_m meaning values of <i>Acropora muricata</i> and <i>Pocillopora damicornis</i> measured in aquaria after four weeks exposed (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$)	140

Tableau 16. Metal concentrations in each incubation condition at T_0 , $T_0 + 3$ weeks and $T_0 + 6$ weeks.	159
Tableau 17. Évolution de la spéciation inorganique des métaux étudiés en fonction du pH, à 25°C et pour une salinité de 35.	164
Tableau 18. Estimation de l'évolution des complexes organiques pour les métaux étudiés selon les différents scénarii de l'IPCC.	165
Tableau 19. Summary of two-way ANOVAs testing, in aquaria, the effect of pCO ₂ (366 and 1140 ppm) and cobalt concentrations (Natural, 0.03 µg L ⁻¹ and Polluted, 0.2 µg L ⁻¹) on <i>Stylophora pistillata</i> and <i>Acropora muricata</i> main physiological parameters.	183
Tableau 20. Seawater temperature and pH _T measured at the reference site (St Ref), and at the vents site in Tutum Bay.	214
Tableau 21. Trace elements measured (Si and As; see Supplementary Table S2) and calculated at the reference station, from the vents and at the study site ST1 in Tutum Bay.	216
Tableau 22. Comparison of main trace element concentrations from the study site ST1 in Tutum Bay with a range of concentrations found in coral reef throughout the world.	223
Tableau 23. Seawater temperature and pH _T measured along the transect BT2 in 2016 (stations 1-3) and in 2017 (station 13) in Tutum Bay.	227
Tableau 24. Seawater temperature and pH _T measured in 2016 at the reference site (station Ref) and two times per day and during 6 days around the transect BT2 (stations 4-12) in Tutum Bay.	228
Tableau 25. Daily variations in seawater temperature and pH _T measured at the reference site (station Ref) and in Tutum Bay in 2017 (stations 14-23).	229
Tableau 26. Data collected at the reference site; from the vents and at study site ST1 during three consecutive days. Bottom and surface seawater samples were collected each 10 meters along four off the six 50-m long transect (T0-T5).	230
Tableau 27. Surface and bottom seawater samples repeatedly collected each 10 meters along transect T2 at study site ST1 during three consecutive days.	232
Tableau 28. Summary of three-way ANOVAs testing the combined effect of manganese (Mn) (ambient: 0.06 µg L ⁻¹ and enriched: 4.1 µg L ⁻¹) and iron concentrations (Fe) (ambient: <0.22 µg L ⁻¹ and enriched: 3.0 µg L ⁻¹) and thermal stress (Temp) (ambient: 26°C and warm: 32°C) on <i>Stylophora pistillata</i> physiological parameters.	233
Tableau 29. Tableau récapitulatif des effets des métaux sur les jeunes stades de vie des coraux.	235

LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS

Abréviation	Définition
Ω	État de saturation de l'aragonite
AC	Anhydrase Carbonique
ADN	Acide Désoxyribo-Nucléique
ARMCANZ	Agriculture and Resource Management Council of Australia and New Zealand - Conseil australien et néo-zélandais pour la gestion de l'agriculture et des ressources
Ca^{2+}	Calcium
CaCO_3	Carbonate de calcium
Co	Cobalt
CO_2	Dioxyde de carbone
CO_3^{2-}	Carbonate
$\text{CO}_2(\text{NH}_2)_2$	Urée
Cr	Chrome
Cu	Cuivre
DHW	Degree Heating Week
DIC	Dissolved Inorganic Carbon - Carbone inorganique dissous
DMSP	DiMéthylSulfonioPropionate
EC_{50}	Effect Concentration 50% - Concentration à laquelle 50% de diminution d'un paramètre (mobilité larvaire...) est observée
ECM	Extracellular Calcifying Medium - Milieu de calcification extracellulaire
ETM	Élément Trace Métallique
CF	Concentration Factor - Facteur de concentration
Fd	Ferrédoxine
Fe	Fer
F_v/F_m	Efficacité photosynthétique
GBR	Great Barrier Reef - Grande Barrière de Corail
H^+	Proton
HCO_3^-	Bicarbonate
H_2O	Eau
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
HSP	Heat Shock Protein - Protéine de choc thermique
IPCC	Intergovernmental Panel on Climate Change (GIEC)

Liste des principales abréviations

Abréviation	Définition
LC₅₀	Lethal concentration 50% - Concentration à laquelle 50% de mortalité est observée
Ma	Millions d'année
Mn	Manganèse
MOD	Matières Organiques Dissoutes
NC	Nouvelle-Calédonie
NH₃	Ammoniac
NH₄⁺	Ammonium
Ni	Nickel
NOAA	National Oceanic and Atmospheric Administration
O₂⁻	Ion superoxyde
OA	Ocean Acidification - Acidification des océans
OEC	Oxygen-Evolving Complex - Complexe d'oxydation de l'eau
OH⁻	Ion hydroxyde
PAM	Pulse Amplitude Modulation
PAR	Photosynthetically Active Radiation - Radiation induisant la photosynthèse
PC	PlastoCyanine
pCO₂	Pression partielle en CO ₂
pH	potentiel Hydrogène
PNG	Papouasie Nouvelle-Guinée
PSI/II	Photosystème I ou II
rETR	relative Electron Transport Rate - Taux relatif de transport d'électrons
RCP	Representative Concentration Pathways
RLC	Rapid Light Curve - Courbes de lumière rapide
ROS	Reactive Oxygen Species - Espèces réactives de l'oxygène
SOD	SuperOxyde Dismutase
UV	Ultra-Violet
Zn	Zinc

LISTE DES NOMS D'ESPECES DE CORAUX

Espèce	Forme abrégée
<i>Acropora aspera</i>	<i>A. aspera</i>
<i>Acropora cervicornis</i>	<i>A. cervicornis</i>
<i>Acropora cytherea</i>	<i>A. cytherea</i>
<i>Acropora digitifera</i>	<i>A. digitifera</i>
<i>Acropora formosa</i>	<i>A. formosa</i>
<i>Acropora longicyathus</i>	<i>A. longicyathus</i>
<i>Acropora millepora</i>	<i>A. millepora</i>
<i>Acropora muricata</i>	<i>A. muricata</i>
<i>Acropora pulchra</i>	<i>A. pulchra</i>
<i>Acropora spathulata</i>	<i>A. spathulata</i>
<i>Acropora surculosa</i>	<i>A. surculosa</i>
<i>Acropora tenuis</i>	<i>A. tenuis</i>
<i>Acropora tumida</i>	<i>A. tumida</i>
<i>Dendrophyllia arbuscula</i>	<i>D. arbuscula</i>
<i>Dipastrea pallida</i>	<i>D. pallida</i>
<i>Favites chinensis</i>	<i>F. chinensis</i>
<i>Galaxea fascicularis</i>	<i>G. fascicularis</i>
<i>Goniastrea aspera</i>	<i>G. aspera</i>
<i>Goniastrea retiformis</i>	<i>G. retiformis</i>
<i>Montastraea franksi</i>	<i>M. franksi</i>
<i>Montipora capitata</i>	<i>M. capitata</i>
<i>Montipora faveolata</i>	<i>M. faveolata</i>
<i>Montipora stellata</i>	<i>M. stellata</i>
<i>Montipora verrucosa</i>	<i>M. verrucosa</i>
<i>Mussismelia hartii</i>	<i>M. hartii</i>
<i>Platygyra daedalea</i>	<i>P. daedalea</i>
<i>Platygyra ruykyuensis</i>	<i>P. ruykyuensis</i>
<i>Plesiastrea versipora</i>	<i>P. versipora</i>
<i>Pocillopora acuta</i>	<i>P. acuta</i>
<i>Pocillopora damicornis</i>	<i>P. damicornis</i>
<i>Pocillopora verrucosa</i>	<i>P. verrucosa</i>

Liste des noms d'espèces de coraux

Espèce	Forme abrégée
<i>Porites cylindrica</i>	<i>P. cylindrica</i>
<i>Porites lutea</i>	<i>P. lutea</i>
<i>Seriatopora hystrix</i>	<i>S. hystrix</i>
<i>Stylophora pistillata</i>	<i>S. pistillata</i>
<i>Symbiodinium kawagutti</i>	<i>S. kawagutti</i>
<i>Symbiodinium microadriaticum</i>	<i>S. microadriaticum</i>

Chapitre 1

L'écosystème corallien

CHAPITRE 1 | L'ECOSYSTEME CORALLIEN

Les récifs coralliens constituent un écosystème riche, dont la complexité n'a d'égale que l'extrême diversité qu'ils abritent. Ils sont d'ailleurs souvent comparés en termes de diversité et de productivité à leur homologue terrestre, la forêt dense tropicale. Ils pourraient pourtant davantage représenter un oasis dans un vaste désert, puisqu'ils ne couvrent que 0.16% des fonds marins, tout en concentrant plus du quart de la biodiversité marine (Allsopp et al., 2008 ; Spalding & Grenfell, 1997). Par ailleurs, ils apportent de nombreux services écosystémiques aux populations des pays possédant des récifs le long de leurs côtes (cf. 1.1.4).

1.1 Les récifs coralliens

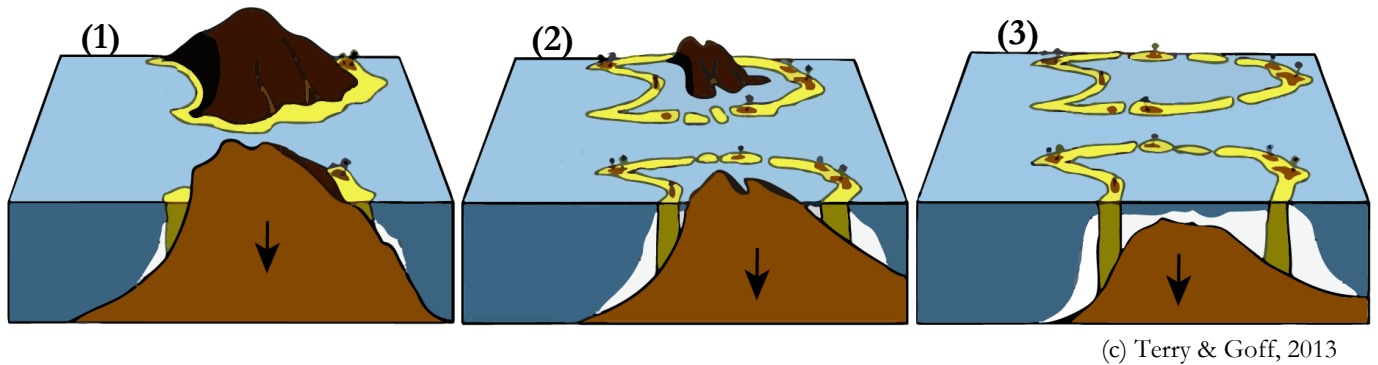
1.1.1 Genèse et typologie des récifs

Les coraux scléractiniaires, également appelés « constructeurs de récifs », possèdent la capacité de former un exosquelette de carbonate de calcium (CaCO_3) et sont les principaux responsables de la formation des massifs coralliens que nous connaissons aujourd'hui. Leurs taux de calcification sont parmi les plus élevés du monde marin, ils produiraient près de 73% des ~7.5 tonnes de CaCO_3 produites annuellement par km^2 de récif (Hart & Kench, 2007). Au cours des temps géologiques, les récifs coralliens prennent naissance sur le pourtour des îles volcaniques ou des plateaux continentaux pour former des **récifs frangeants** (Figure 1 (1)), qui se développent adossés à la côte. Divers phénomènes géologiques (subduction ou subsidence) ou climatiques (hausse du niveau de la mer), peuvent engendrer notamment trois principaux types de récifs :

Les **récifs barrière** (Figure 1 (2)), éloignés du littoral, prennent ce nom dès lors qu'un lagon sépare le récif de la côte. Deux événements donnent naissance à ce type de récif, la montée progressive du niveau de la mer (cf. la Nouvelle-Calédonie) ou l'enfoncement de l'île par subduction ou subsidence (cf. la Nouvelle-Calédonie/la Polynésie Française).

Les **pinacles coralliens** représentent des formations récifales apparaissant sporadiquement à l'intérieur d'un lagon et donneront quelque fois naissance à des îlots entièrement constitués de matières carbonatées détritiques, qui seront progressivement stabilisés par la flore (cf. îlots du lagon calédonien) (Payri, 2018).

Les **atolls** (Figure 1 : (3)) (cf. Mururoa) sont, pour une partie d'entre eux, d'anciens récifs barrières, dont l'île sur laquelle ils se sont formés a partiellement, voire entièrement, disparu par érosion, subduction ou subsidence. De nombreux atolls sont également le fruit combiné de mécanismes géologiques complexes et de changements du niveau de la mer (cf. Maldives) (Woodroffe & Biribo, 2011).



(c) Terry & Goff, 2013

Figure 1. Typologie des récifs coralliens (en jaune).

1.1.2 Distribution circum-tropicale

Les coraux scléractiniaires nécessitent des conditions environnementales particulières qui se trouvent réunies entre les latitudes 30° Nord et 30° Sud (Figure 2). Alors qu'il existe de nombreux récifs isolés par des barrières environnementales (géographique, courants, éloignement) tels que ceux de la Mer Rouge ou de l'archipel hawaïen, deux zones géographiques regroupent la grande majorité de récifs coralliens :

La zone Indo-Pacifique, de loin la plus vaste, possède la plus grande diversité spécifique à tous les niveaux taxonomiques (Allen, 2008). Elle compte parmi ses récifs la plus importante formation corallienne de la planète : la Grande Barrière de corail australienne (GBR) qui représente à elle seule près de 17% des récifs mondiaux (Spalding et al., 2001).

La zone tropicale de l'Atlantique ouest, composée principalement des récifs de la mer des Caraïbes, est plus restreinte et possède une diversité spécifique moindre.

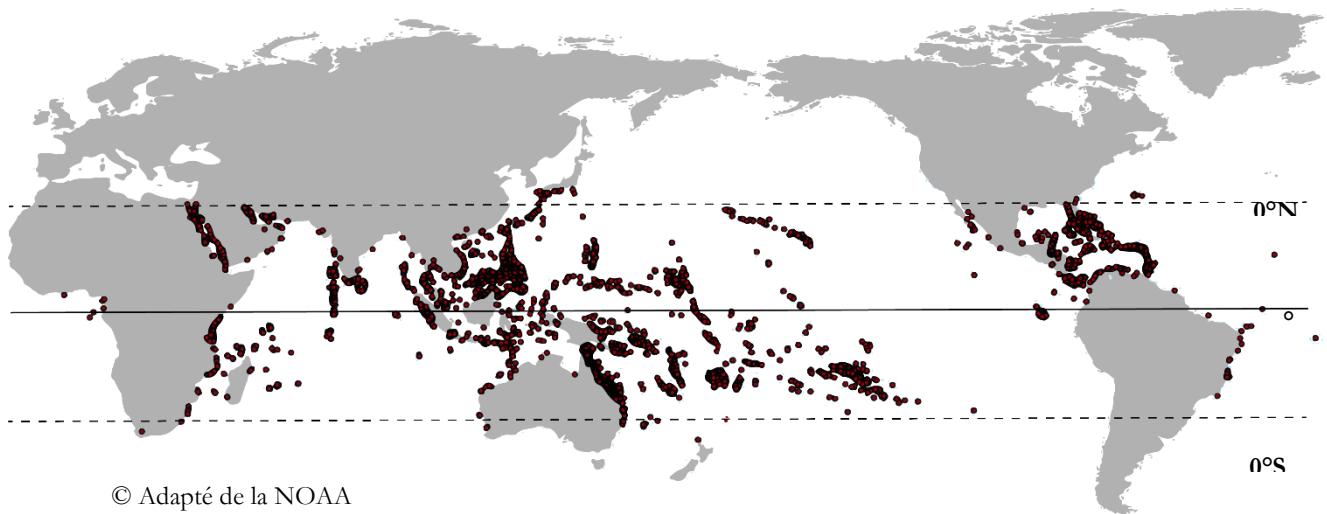


Figure 2. Distribution des récifs coralliens à travers le monde.

1.1.3 Conditions de vie récifale

La pérennité et l'extension spatiale des coraux scléractiniaires étant en grande partie dues à leur association symbiotique avec des micro-algues du genre *Symbiodinium* (voir paragraphe « Le corail : les symbiotes photosynthétiques ») capables de réaliser la photosynthèse (McCloskey & Muscatine, 1984 ; Muscatine, 1990), les coraux sont extrêmement exigeants quant aux conditions environnementales de leur habitat. Toutefois, ils possèdent une plasticité physiologique leur permettant de supporter une gamme de conditions assez vastes à l'instar des différences que l'on peut rencontrer d'une saison à l'autre, ou bien d'un récif frangeant à un récif barrière.

La température est un des paramètres principaux pour le métabolisme corallien, dont l'optimum se situe autour de 26-28°C, bien que les coraux puissent supporter des minima à 14°C et des maxima à 34°C sur de très courtes périodes (Kleypas et al., 1999). Les coraux scléractiniaires, abritant des symbiotes photosynthétiques, sont également très exigeants au niveau des conditions d'éclairement. Elles dictent notamment leur distribution verticale, dont la limite inférieure de distribution varie en fonction des conditions de turbidité. Ainsi, les coraux peuvent être limités à quelques mètres de profondeur sur un récif frangeant chargé de matières en suspension ou bien s'épanouir jusqu'à 150 mètres dans les eaux cristallines d'un récif barrière (Kleypas et al., 1999 ; Lesser et al., 2009). La salinité délimite également la présence de récifs coralliens. Bien que chaque espèce ait sa propre tolérance, et que certaines espèces se soient spécialisées et soient capables de croître dans des salinités de 20 à 42 (Kleypas et al., 1999), les coraux sont des organismes

majoritairement sténohalins¹. De plus, aucune espèce corallienne ne supporte des changements brusques de salinité. En conséquence, aucun récif corallien ne se développe à proximité directe des estuaires par exemple. Malgré tout, la limite inférieure de salinité supportée par les coraux est difficile à établir car l'apport d'eau douce est souvent associé aux importantes quantités de sédiments charriés par les rivières ou les eaux de pluie (Spalding et al., 2001), dont les effets néfastes sont largement reconnus (cf. chapitre 3).

Les coraux sont adaptés pour vivre dans des milieux dits « oligotrophes », c'est à dire pauvres en nutriments, cependant leurs concentrations peuvent être variables d'un récif à l'autre. Ainsi, un récif barrière recevra peu d'apports nutritifs terrigènes, alors que les récifs frangeants peuvent en concentrer davantage. Par exemple, les récifs frangeants encerclant un îlot à forte densité en oiseaux peuvent bénéficier d'un apport en azote important dérivant directement des déjections des oiseaux marins (Lorrain et al., 2017). Le statut oligotrophique des eaux récifales repose notamment sur les faibles concentrations des formes inorganiques de l'azote et du phosphore (Sorokin, 2013), longtemps considérées comme les principales ressources du métabolisme corallien (Furnas et al., 2005 ; Lapointe, 1997 ; Tyrrell, 1999). Toutefois, des études tendent à montrer que les coraux seraient parfaitement à même d'utiliser les formes organiques (Suzuki & Casareto, 2011), comme l'urée issue du catabolisme d'organismes tiers (Biscéré et al., 2018 ; Crandall & Teece, 2012 ; Grover et al., 2006) ou encore les acides aminés libres (Ferrier, 1991 ; Gori et al., 2014 ; Grover et al., 2008) ou combinés (Fairoz et al., 2008). Ces composés peuvent justement être trouvés à des concentrations relativement fortes sur les récifs par rapport à celles des formes inorganiques. Par exemple, alors que les concentrations d'azote inorganique se situent en général entre 0.1 et 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Boyer et al., 2006 ; Suzuki & Casareto, 2011), les concentrations d'azote organique, dont les acides aminés et l'urée peuvent représenter, respectivement, près de 10 et 20% (Crandall & Teece, 2012 ; Sipler & Bronk, 2014), se situent entre 5 et 20 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Sharp et al., 2004). Toutefois, la nécessité que les eaux ne soient pas trop riches en nutriments est primordiale, afin d'éviter une compétition pour le substrat avec les algues, dont les capacités de prolifération sont telles que les coraux auraient peu de chance de se développer (Hughes et al., 2007 ; McManus & Polsenberg, 2004) (cf. chapitre 3).

Enfin, l'hydrodynamisme du récif revêt également une grande importance et influence directement ou indirectement la présence, la santé ou encore la distribution des coraux (Aronson et al., 2005 ; Done, 1982 ; Madin & Connolly, 2006). Par exemple, les eaux à faible hydrodynamisme, dont l'oxygénation est faible, ne sont pas propices à leur développement. La

¹ Se dit de certains organismes marins qui ne présentent qu'une tolérance étroite aux variations de salinité

force du courant permettrait également une meilleure croissance des coraux en améliorant le transfert des nutriments et des métabolites à travers leurs tissus (Falter et al., 2004 ; Lesser et al., 1994). Indirectement, un plus fort hydrodynamisme permet de réduire la pression des corallivores, induisant une augmentation des taux de croissance journaliers de 4% (Lenihan et al., 2015). Parallèlement, l'hydrodynamisme engendre une zonation spatiale des coraux selon leurs formes. En effet, alors que les zones exposées abriteront majoritairement des formes massives et compactes, plus résistantes, une zone plus calme verra se développer davantage de formes branchues (Achituv & Dubinsky, 1990 ; Lenihan et al., 2015).

1.1.4 Importances écologiques et socio-économiques

Les récifs coralliens abritent une diversité hors du commun, avec près de 35 à 60 000 espèces connues qui en dépendent. Ce chiffre est sûrement grandement sous-estimé en raison du manque de connaissances sur le monde microbien qui y est associé, et sur certains habitats qui restent difficilement accessibles (Payri & Moatti, 2018 ; Reaka-Kudla, 1997). La richesse, l'abondance et la biomasse d'un récif découlent directement de la diversité des formes du squelette corallien, qui donne sa complexité au récif (Gratwicke & Speight, 2005b, 2005a ; Idjadi & Edmunds, 2006 ; Wilson et al., 2007). La complexité des récifs favorise, par exemple, la protection des espèces face à leurs prédateurs et constitue un lieu de reproduction et de refuge pour les juvéniles (Bruno & Bertness, 2001 ; Willis et al., 2005). Par ailleurs, le corail représente une source de nutrition pour certaines espèces qualifiées de « corallivores », c'est notamment le cas de nombreux poissons (Pomacentridae, Chaetodontidae, Scaridae...).

En plus du rôle évident que les récifs jouent dans la préservation de la biodiversité marine, ils sont d'une importance cruciale pour les nombreux pays dont ils bordent les côtes, quel que soit leur statut économique. Ainsi, la valeur économique totale d'un petit récif de 200 km² aux Philippines a été estimée à 38 millions de dollars américains par an (Cruz-Trinidad et al., 2011) et Constanza et al. (2014) ont estimé qu'un hectare de récifs rapportait 352 dollars annuellement. Si on transpose ces chiffres aux 284 000 km² de récifs dans le monde, alors ce sont des dizaines de milliards de dollars annuels (Spalding et al., 2001 ; Stoeckl et al., 2011) qui sont générés par les récifs. Leurs rôles sont multiples, depuis la protection des côtes face aux événements environnementaux tels que les cyclones ou les tsunamis, limitant l'érosion naturelle voire la submersion des petites îles, jusqu'à l'importance de leur attrait touristique. Riegl et al. (2009) estimaient à plus de 4 milliards de dollars annuel, les revenus générés par l'utilisation récréative et touristique des récifs en Floride. Ils représentent également une source nourricière indispensable

pour de nombreuses populations, ainsi qu'une myriade d'emplois, liés à la pêche et au tourisme notamment (Laurans et al., 2013 ; Moberg & Folke, 1999). On estime ainsi à près de 500 millions, le nombre de personnes concernées directement par les bénéfices que les récifs coralliens génèrent (Wilkinson, 2008).

1.1.5 La Nouvelle-Calédonie : Archipel de corail

Parmi les plus grands récifs, la grande barrière de Nouvelle-Calédonie tient la seconde place en étant la plus longue barrière continue du monde (1600 km), encerclant un lagon, lui aussi ayant la plus importante superficie au monde avec environ 36 000 km² (Andréfouët et al., 2009). La Nouvelle-Calédonie abrite, dans son lagon, toutes les formations récifales connues et de nombreux habitats (estuaires, algueraies, mangroves, herbiers...). De plus, quelques-uns de ces récifs (*i.e.* Chesterfield, Entrecasteaux) sont complètement isolés de l'activité humaine. La diversité des habitats et la faible pression anthropique expliquent en partie la biodiversité exceptionnelle rencontrée dans les eaux calédoniennes, depuis la multitude d'espèces coralliennes jusqu'à l'abondante mégafaune, témoignant de la bonne santé de l'écosystème (requins, baleines à bosse, tortues de mer, dugong). En effet, près de 400 espèces de coraux ont été identifiées en Nouvelle-Calédonie (Benzoni et al., 2008), classant ainsi les récifs calédoniens parmi les plus riches au monde. Comme pour les autres pays, les récifs calédoniens sont également des acteurs majeurs de l'économie du pays et les estimations de leur valeur écosystémique annuelle se situent entre 45000 et 77000 dollars par km² (Pascal, 2010).

Ces caractéristiques hors du commun ont conduit l'UNESCO à inscrire une large partie du lagon calédonien au patrimoine mondial en 2008. Les six zones retenues couvrent ainsi 15 000 km² soit près de 50% du lagon (Figure 3). Conscient du trésor environnemental et du potentiel économique de ses eaux territoriales, le gouvernement de Nouvelle-Calédonie a également mis en place en 2014, une des plus grandes aires marines protégées du monde : le Parc Naturel Marin de la Mer de Corail. Très récemment, la NC a franchi un nouveau cap en classant ces deux plus grands récifs isolés (Chesterfield et Bellona) en réserve naturelle, dont certaines portions sont même des réserves biologiques intégrales, interdisant toutes activités humaines.

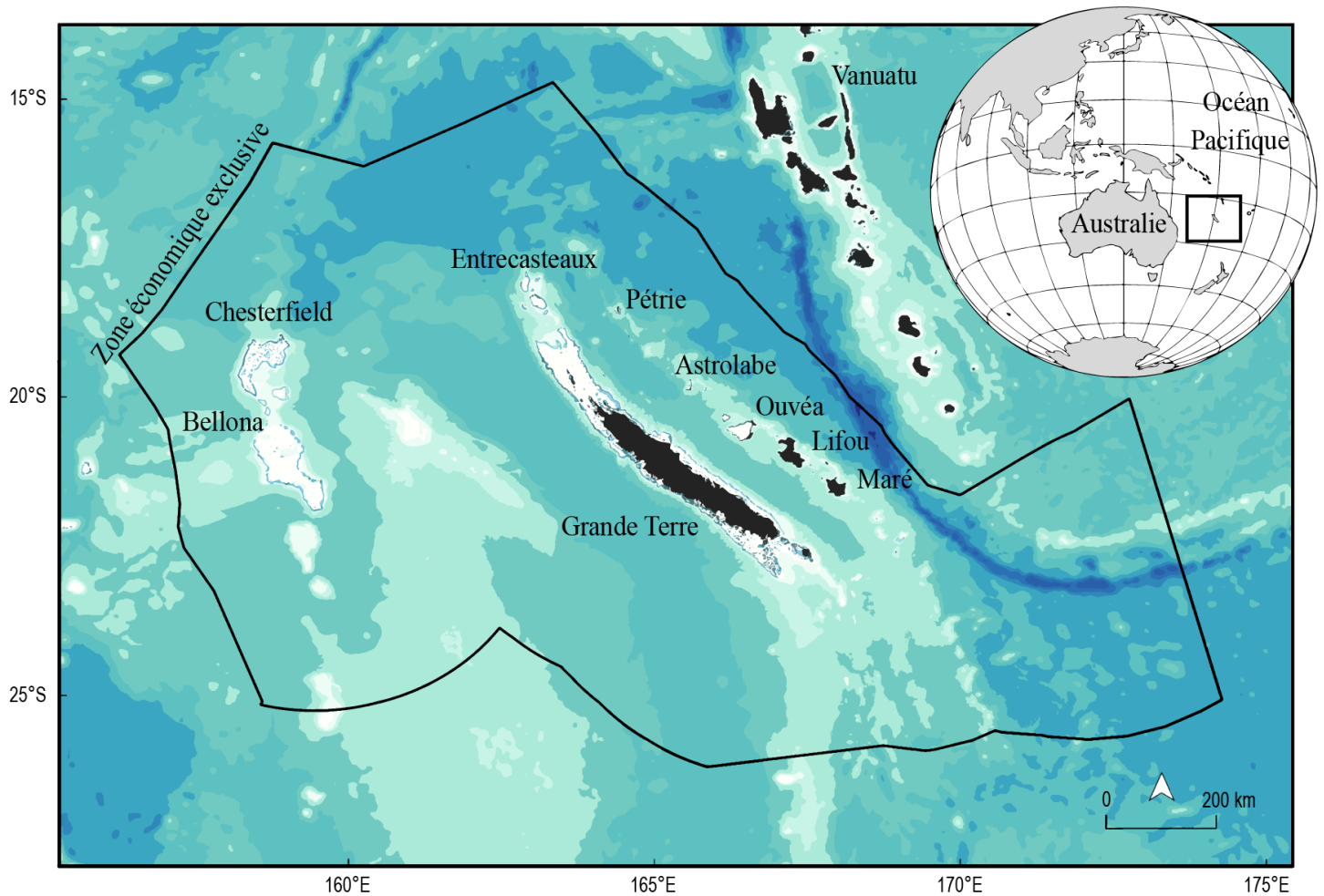


Figure 3. Carte bathymétrique de la Nouvelle-Calédonie et de son patrimoine récifal.

1.2 Le corail : origine et anatomie du polype

1.2.1 Taxonomie

L'origine des coraux remonte au balbutiement de la vie sous-marine, il y a environ 540 millions d'années. Les coraux sont alors des organismes solitaires, dont la plupart deviendront rapidement coloniaux. L'apparition de l'ordre des Scleractinia, coraux au squelette calcaire, n'apparaît que bien plus tard et son origine ne fait pas consensus. Deux hypothèses principales dominent selon lesquelles ils descendraient, soit de leur ancêtre du Paléozoïque au squelette dur, les Rugosa, soit de coraux mous ayant acquis la capacité de former un squelette calcaire (Stolarski et al., 2011). La diversification des coraux scléractiniens, il y a 240 Ma (Trias moyen), coïncide avec l'apparition massive des dinoflagellés, qui aurait probablement facilité leur symbiose (MacRae et al., 1996 ; Stolarski et al., 2011). L'ancienneté et la survie des coraux à travers les différentes

extinctions massives font des récifs un des plus vieux écosystèmes sur Terre (Stanley, 2003 ; Stanley & Fautin, 2001). Le terme « corail » est utilisé communément pour désigner plusieurs classes taxonomiques aux caractéristiques aussi diverses que variées. Leur point commun phylogénétique est d'appartenir à l'embranchement des cnidaires, caractérisés notamment par la présence de cellules urticantes : les cnidocytes. Dans le cadre de cette thèse, les espèces étudiées sont des coraux « vrais », c'est à dire qu'elles appartiennent à l'ordre des Scleractinia de la sous-classe des Hexacoralliaires (Cnidaire Anthozoaire), dont la spécificité est de présenter une symétrie radiaire d'ordre 6 ou multiple de 6, en plus d'une symétrie bilatérale.

1.2.2 Anatomie du polype

Les coraux scléractiniaires sont des organismes majoritairement coloniaux, composés d'une multitude de polypes interdépendants, dont l'expansion se fait par reproduction asexuée. La Figure 4 représente une coupe transversale d'un polype, sur laquelle on constate que chaque polype est constitué d'une bouche entourée de $n * 6$ tentacules (Hexacoralliaires). Ces tentacules abritent des cnidocytes (*i.e.* des cellules urticantes), qui leur permettent à la fois de capturer leurs proies et de se défendre face aux prédateurs. A l'intérieur du polype, la bouche se prolonge par un canal œsophagien (le stomodeum) s'ouvrant sur la cavité gastrovasculaire, le cœlentéron, où sont digérées les proies. Le cœlentéron se prolonge de polype en polype via le cœnosarque, une double « gaine » tissulaire (Figure 5) composée, d'une part, du tissu oral en contact avec l'eau de mer et d'autre part, de tissu aboral en contact avec le squelette.

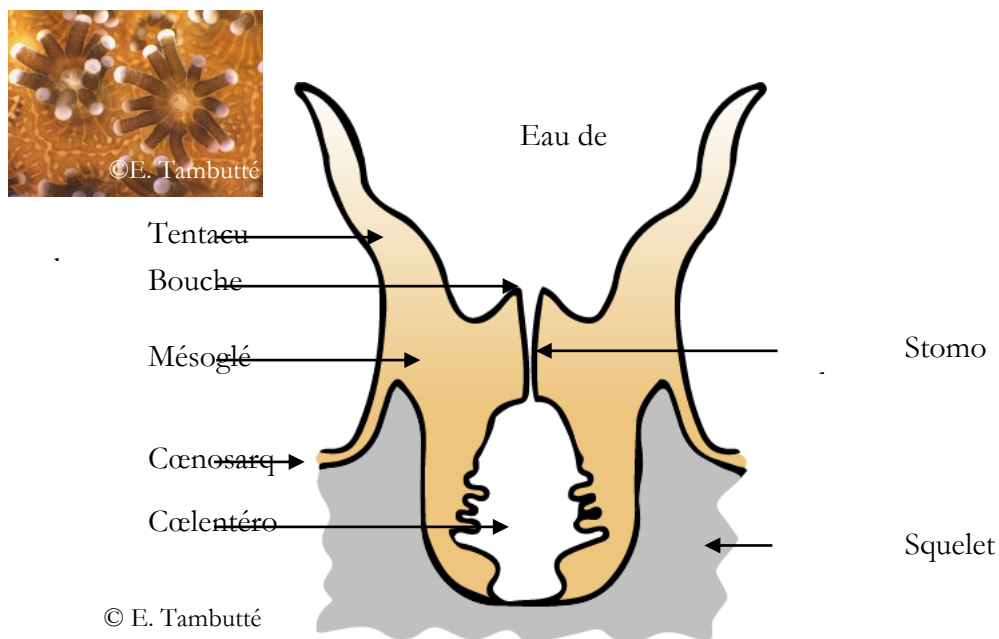


Figure 4. Coupe transversale schématique d'un polype corallien.

Ces deux tissus sont dits « diploblastiques », c'est-à-dire composés de deux couches cellulaires, l'ectoderme et l'endoderme, séparées par une couche acellulaire, la mésoglée. L'ectoderme oral constitue l'interface avec le milieu extérieur. Il concentre les cnidocytes et est également responsable de la production de mucus via les mucocytes. La grande majorité des *Symbiodinium* sont concentrés dans l'endoderme oral, bien que l'on en trouve dans l'endoderme aboral. Ces deux tissus assurent également l'acquisition des nutriments transitant dans le cœlentéron. Enfin, l'ectoderme aboral est dit « calicoblastique », signifiant qu'il est spécialisé dans la formation de l'exosquelette calcaire, auquel il est ancré via les desmocytes. Le réseau ainsi formé constitue un milieu sous-calicoblastique, dont les propriétés physico-chimiques sont contrôlées par les calicoblastes, afin de favoriser le processus de biominéralisation (e.g. Mullen et al., 2004 ; Putnam et al., 2017 ; Tambutté et al., 2007).

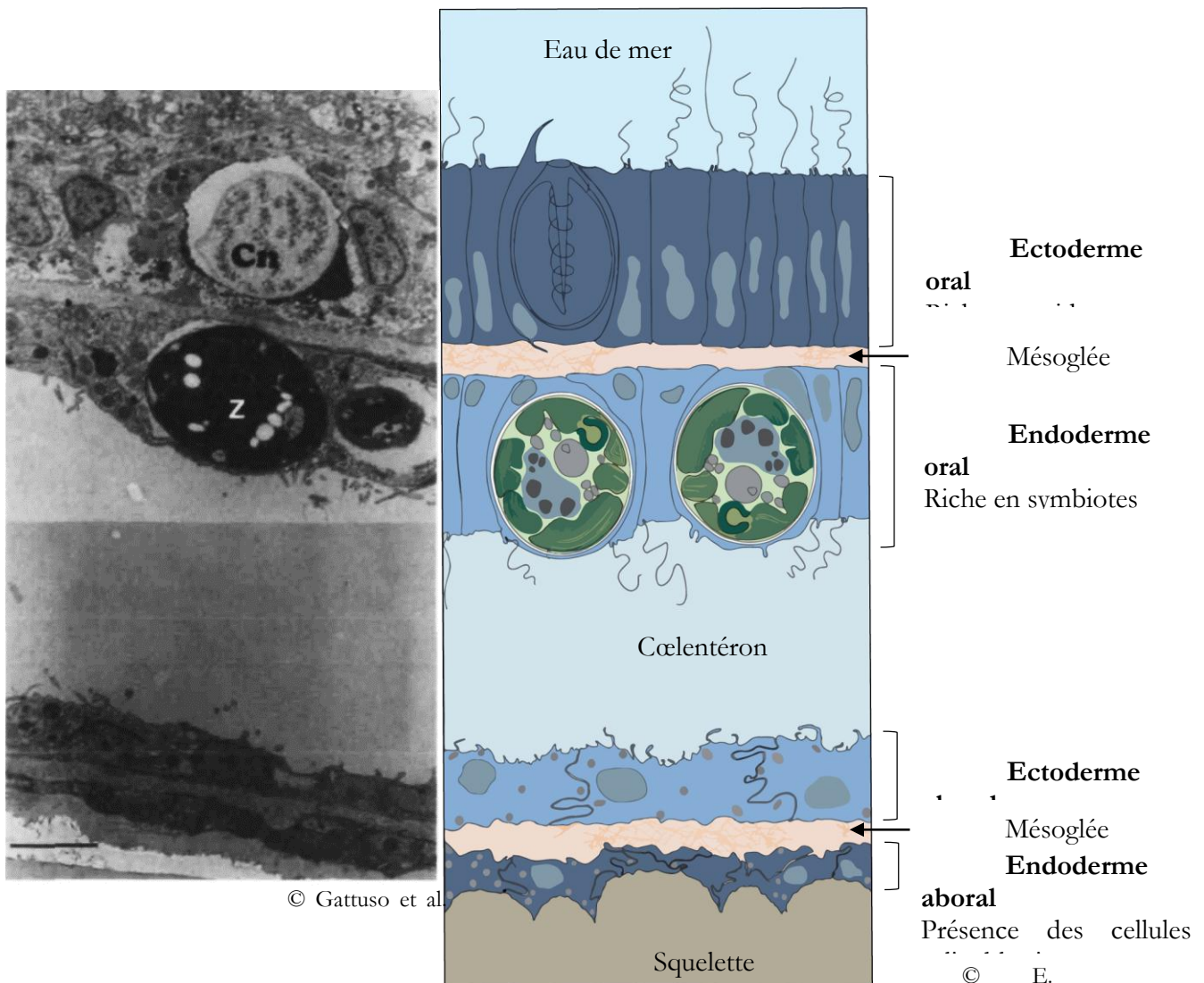


Figure 5. Coupe histologique (microscopie électronique) et schématique du cœnosarque.

1.3 Le corail : les symbiotes photosynthétiques

1.3.1 Qu'est-ce qu'une symbiose ?

L'art de « vivre ensemble », au dépend ou non de l'un des partenaires, est le concept défini par la symbiose. Le langage commun a réduit la symbiose à sa forme mutualiste, cependant, elle peut également ne bénéficier qu'à l'un des partenaires. Ainsi, le parasitisme et le commensalisme sont d'autres formes de symbiose, respectivement préjudiciable à l'hôte ou non. Afin de faire face à la créativité de l'évolution, les scientifiques ont également défini trois différents statuts de la symbiose en fonction de la localisation des deux partenaires l'un par rapport à l'autre : l'endosymbiose intracellulaire ou extracellulaire et l'ectosymbiose (symbiote à l'extérieur de l'hôte). Les cas de symbiose au travers des règnes biologiques sont omniprésents depuis bien longtemps à l'instar de la symbiose corallienne, témoignage évident de son efficacité. Les organismes en symbiose forment ce que l'on appelle un holobionte, l'individu le plus gros étant l'hôte et le plus petit, le symbiote.

Les coraux scléractiniaires ont ainsi établi une relation symbiotique qualifiée d'endosymbiose mutualiste, puisque d'une part, les symbiotes se trouvent à l'intérieur des cellules de l'endoderme (Muscatine & Porter, 1977) (Figure 5) et d'autre part, les deux partenaires tirent profit de cette relation. Bien que le concept mutualiste soit discuté chez les coraux en faveur d'un modèle à mi-chemin entre mutualisme et parasitisme (Lesser et al., 2013 ; Wooldridge, 2010), c'est toujours le modèle communément admis.

Au-delà de la symbiose corail-*Symbiodinium*, qui est prépondérante, d'autres organismes vivent en harmonie avec le corail. C'est notamment le cas de nombreux micro-organismes comme des bactéries, des ciliés, des eucaryotes... qui participent à diverses voies métaboliques du corail selon leur localisation (tissus, mucus, cœlentéron, squelette) (Agostini et al., 2012 ; Lema et al., 2016 ; Lesser et al., 2004 ; Sweet et al., 2011). Bien que nous ne nous pencherons pas sur ces communautés à travers cette thèse, leur importance est loin d'être anecdotique, elle peut même devenir cruciale en cas de rupture de la symbiose avec les *Symbiodinium* (Bednarz et al., 2017 ; Fine & Loya, 2002 ; Lesser et al., 2004).

1.3.2 Taxonomie et caractéristiques des *Symbiodinium*

Les symbiotes des coraux ont longtemps été désignés sous le terme de « zooxanthelles » (Figure 6), mais ce terme, laissant sous-entendre la présence d'une seule et unique espèce, tombe peu à peu en désuétude en raison de son imprécision taxonomique. En effet, le genre *Symbiodinium*, appartenant au règne des Alvéolés, n'a été représenté que par une seule espèce, *S. microadriaticum*, depuis sa première description par Freudenthal en 1962 chez la méduse *Cassiopea xamachana*, jusqu'à l'apparition des outils de la génétique moderne (Freudenthal, 1962). Depuis les années 1980, l'espèce a donc été scindée en huit clades distincts (catégorisées de A à H) et de nombreux sous-clades (Baker, 2003 ; Rowan, 1998), dont la majorité peuvent être associés aux coraux scléractiniaires (les clades A-D, F et G) (Coffroth, 2005 ; Goldberg, 2013). Le genre *Symbiodinium* regroupe des micro-organismes unicellulaires photosynthétiques, également appelés « dinoflagellés » en raison de leur capacité à migrer dans la colonne d'eau en tournant sur eux-mêmes grâce à deux flagelles, qu'ils perdent lors de l'endocytose symbiotique (intégration dans les tissus de l'hôte corallien). Leur mode de nutrition autotrophe leur permet d'utiliser la lumière comme source d'énergie.

Il semble exister un concept de fidélité entre une espèce de corail et un clade de *Symbiodinium* donné, puisque certains clades sont inféodés à certains genres (LaJeunesse, 2001), tandis que d'autres semblent moins spécifiques (LaJeunesse et al., 2004). Cette association semble également

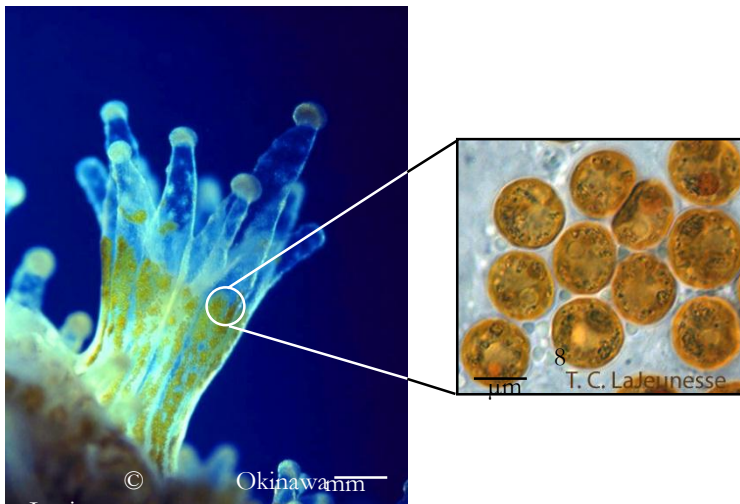


Figure 6. Observation microscopique de *Symbiodinium*.

dépendre de facteurs environnementaux, tels que la température ou la profondeur (Rowan, 2004 ; Stat et al., 2006). Cette dernière définissant l'épaisseur de la couche d'eau à travers laquelle la lumière est filtrée, les clades doivent être adaptés aux longueurs d'ondes disponibles à la profondeur en question. Bien que le clade C soit la lignée dominante chez les coraux du Pacifique, alors qu'il la partage avec le clade B dans l'Atlantique (Abrego et al., 2008 ; LaJeunesse et al., 2004), plusieurs clades peuvent cohabiter simultanément au sein du tissu corallien (Mieog et al., 2007). Par ailleurs, dans le contexte actuel où les coraux font face au réchauffement des océans, le clade D semble plus

résistant aux températures élevées, ce qui se traduit par une absence totale de blanchissement (Silverstein et al., 2017) (cf. 2.1).

Les *Symbiodinium* se situent chez les coraux dans le « symbiosome », une vacuole animale du cytoplasme endodermique (Trench, 1993). Ils sont généralement un ou deux par vacuole, mais leur nombre peut monter jusqu'à 6 (Muscantine et al., 1998). Leur densité dans le corail est variable selon les conditions environnementales (*e.g.* la lumière, la disponibilité en nutriments...) (Jones & Yellowlees, 1997), toutefois 1,5 millions de cellules par cm² constitue une valeur moyenne dans des conditions de développement standards. L'acquisition des symbiotes par l'hôte peut s'effectuer de deux façons, soit par hérédité (transmission verticale), soit par endocytose des symbiotes présents dans la colonne d'eau (transmission horizontale) (Stat et al., 2006).

1.3.3 La symbiose : bénéfices et coûts

Si la symbiose corallienne a perduré à travers les âges, c'est qu'elle apporte un avantage évolutif considérable aux deux partenaires, bien qu'elle ne soit pas sans contrepartie. Les *Symbiodinium*, via la photosynthèse, constituent une source énergétique inépuisable transférée directement à l'hôte. Cet apport d'énergie, essentiel dans leur environnement oligotrophe, permet aux coraux de constituer des réserves énergétiques et de stimuler nombres de ces voies métaboliques parmi lesquelles la croissance cellulaire et la calcification (Lesser et al., 2004 ; Trench, 1993). Les symbiotes, quant à eux, bénéficient d'un abri contre la prédation et d'un environnement aux paramètres physico-chimiques stables. Ils tirent également profit des composés essentiels libérés par l'hôte tels que le CO₂ issu de la respiration cellulaire pour leur croissance, ou les déchets métaboliques (azotés et phosphorés) en les recyclant dans leur photosynthèse (Cook, 1983 ; Smith & Douglas, 1987).

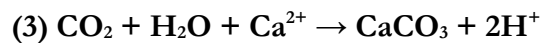
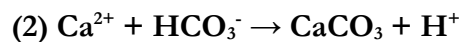
En comparaison des avantages obtenus, les coûts d'une telle association symbiotique sont minimes, tant que les conditions environnementales demeurent adéquates. Pour l'animal hôte, l'activité photosynthétique des symbiotes entraîne des conditions hyperoxiques dont il doit neutraliser les composés néfastes. Cette même activité limite également la croissance du corail à la zone euphotique, où il se trouve également exposé aux rayonnements UV (Courtial et al., 2017 ; Furla et al., 2011 ; Muller-Parker et al., 2015). Pour les symbiotes, ils doivent consentir à la translocation de la quasi-totalité de leurs photosynthétats à l'hôte, et sont fortement dépendants de celui-ci pour l'acquisition du CO₂ et des nutriments nécessaires à leur croissance et leur productivité (Grover et al., 2002, 2003 ; Muller-Parker et al., 2015 ; Rees, 1991).

1.4 La physiologie corallienne

1.4.1 La calcification

La production d'un exosquelette calcaire chez les coraux est la pierre angulaire des écosystèmes coralliens. Le taux de calcification chez les coraux peut atteindre jusqu'à près de 10 kg CaCO_3 par mètre carré en une année (Andersson & Gledhill, 2013), ce qui représente près de 40% des taux de précipitation de CaCO_3 du monde marin (Gattuso et al., 1998). La formation du squelette de carbonate de calcium est réalisée par les cellules calcicoblastiques de l'ectoderme aboral. Le dépôt des cristaux de carbonate de calcium, sous la forme aragonitique, se ferait à l'interface des cellules et du squelette, dans un espace constitué d'une trame organique, appelé « extracellular calcifying medium » (ECM). Ce milieu serait composé de protéines riches en acides aminés, de sucres sulfatés ou encore de phospholipides (Allemand et al., 2011 ; Drake et al., 2013). Son rôle n'est pas clairement compris, mais serait intimement lié à la forme et à la taille des cristaux d'aragonite, ce qui permettrait aux coraux de contrôler finement la structure de leur squelette (Meibom et al., 2004). Enfin, les calcicoblastes seraient des cellules spécialisées capables de contrôler les propriétés physico-chimiques de ce milieu, afin de maintenir un pH interne supérieur de 0.2 à 0.5 unités par rapport à l'eau de mer (Venn et al., 2011), ce qui favoriserait alors la formation de CaCO_3 (Cai et al., 2016 ; Holcomb et al., 2014 ; Raybaud et al., 2017) en maintenant un état de saturation de l'aragonite jusqu'à 6 fois plus élevé que le milieu environnant (Raybaud et al., 2017).

La formation des cristaux de CaCO_3 repose sur la réaction chimique entre le calcium (Ca^{2+}) et le carbone inorganique dissous (DIC). La source de DIC utilisée par les coraux prête encore à débat aujourd'hui, car elle peut être de trois types : CO_2 (1), HCO_3^- (2) ou CO_3^{2-} (3), chacune de ses formes étant capable de former du CaCO_3 en présence de calcium (Allemand et al., 2011).

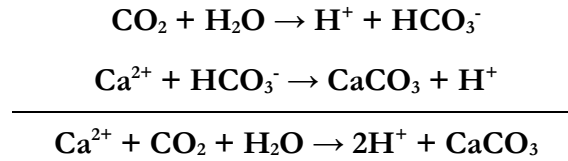


Les réactions impliquant le HCO_3^- et le CO_2 génèrent des protons que le corail doit excréter, afin d'éviter une acidification de l'ECM qui nuirait à la formation de CaCO_3 . Ces protons sont expulsés grâce à la pompe Ca^{2+} -ATPase, qui permet de transporter du calcium dans l'ECM tout en supprimant les protons (Cohen & McConnaughey, 2003). Si la forme de DIC utilisée fait débat,

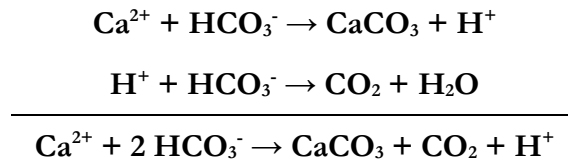
l'importance de l'**anhydrase carbonique (AC)** dans le processus de calcification, elle, fait consensus (que la source utilisée soit du HCO_3^- ou du CO_3^{2-}). **L'AC est une métallo-enzyme** qui catalyse la réaction réversible d'hydratation du CO_2 en HCO_3^- (Allemand et al., 2011) :



Ainsi, si le CO_2 métabolique est la forme de DIC apportée au site de calcification, alors l'AC permettrait de le convertir en HCO_3^- :



La suppression des protons ainsi formés par la pompe Ca^{2+} -ATPase permettrait de maintenir l'équilibre de la réaction vers la droite. En revanche, si la forme de DIC délivrée au site de calcification est le HCO_3^- , alors l'AC catalysera la réaction inverse selon les équations suivantes :



Par ailleurs, le processus de calcification est étroitement lié à la photosynthèse, via ce que l'on appelle la « light-enhanced calcification » (LEC). Bien que cette hypothèse découle d'une observation simple, à savoir que les taux de calcification de jour sont bien supérieurs à ceux de nuit (Goreau & Goreau, 1959), les hypothèses tentant d'expliquer son mécanisme sont nombreuses et aucune ne fait encore l'unanimité aujourd'hui (Allemand et al. 2011). La plus communément acceptée est celle suggérant que l'élévation du pH dans le cœlentéron, due à la transformation du HCO_3^- en CO_2 pour la photosynthèse (Al-Horani et al., 2003 ; Furla et al., 2000 ; Laurent et al., 2013), induirait alors un gradient protonique entre l'ECM et le cœlentéron favorable à l'élimination des protons, faisant ainsi de l'ECM, un milieu propice à la calcification (Allemand et al., 2011).

1.4.2 La photosynthèse

La photosynthèse est le processus par lequel les coraux ont la capacité de fabriquer de la matière organique à partir de matière inorganique, grâce aux rayonnements lumineux. L'acquisition de cette capacité chez les coraux, via les *Symbiodinium*, leur ont permis de se développer dans des zones pauvres en nutriments (cf. 1.3). Le siège de la photosynthèse se situe dans les chloroplastes des *Symbiodinium*, qui possèdent des pigments photosynthétiques leur permettant de capter la lumière. Cet arsenal pigmentaire est varié (chlorophylles *a*, *c*, caroténoïdes) (e.g. Kleppel et al., 1989 ; Levy et al., 2006 ; Venn et al., 2006), afin de couvrir un maximum des nombreuses longueurs d'ondes composant la lumière (400 à 550 nm et 650 à 700 nm).

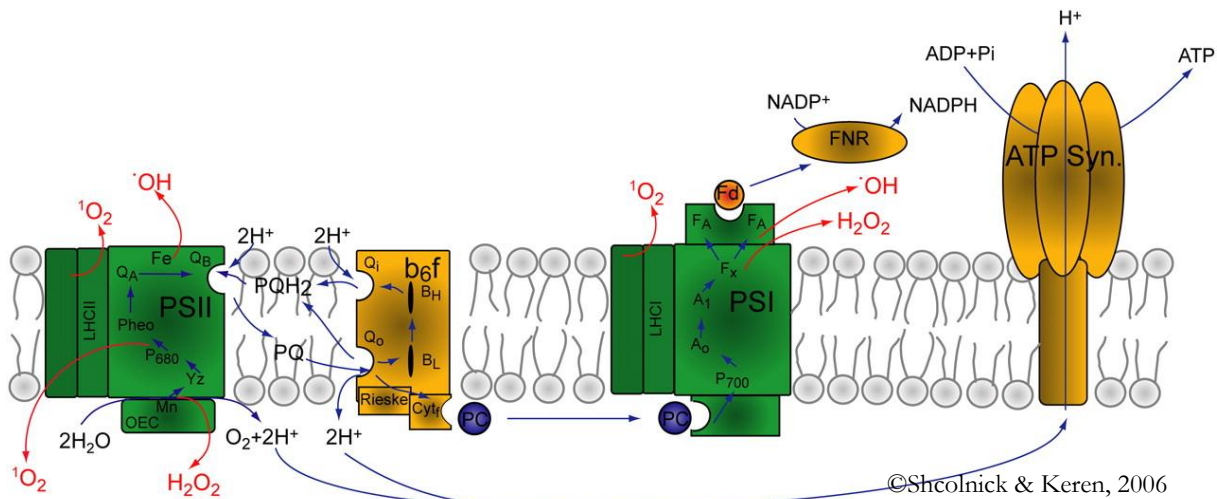


Figure 7. Transport des électrons, production de ROS et métalloenzymes dans la chaîne photosynthétique.

La chaîne photosynthétique (Figure 7) constitue une cascade de réactions chimiques composée de nombreuses molécules, ayant pour but la production d'énergie et de matière organique. Les pigments sont concentrés dans deux photosystèmes (I et II), composés d'une antenne collectrice et d'un centre réactionnel photochimique, pouvant accueillir jusqu'à 200 molécules de chlorophylle et 50 de caroténoïdes. Les pigments constituant l'antenne collectrice seront tous capables de capter les photons, puis, tel un entonnoir, de transférer l'énergie lumineuse par résonance d'une molécule à l'autre jusqu'au centre réactionnel (Figure 8). Celui-ci est composé d'une molécule particulière de chlorophylle *a*, qui sera capable de transformer l'énergie lumineuse en énergie chimique. Elle prodiguera alors l'énergie nécessaire au transfert d'un électron (Figure 8). En transférant cet électron dans la chaîne photosynthétique, le centre réactionnel du PSII s'oxyde

et laisse un « trou électronique » qui devra être comblé. C'est ici qu'intervient l'« **oxygen evolving complex** » (**OEC**), qui servira de donneur primaire d'électron en oxydant l'eau selon l'équation suivante (Richard, 2006) :

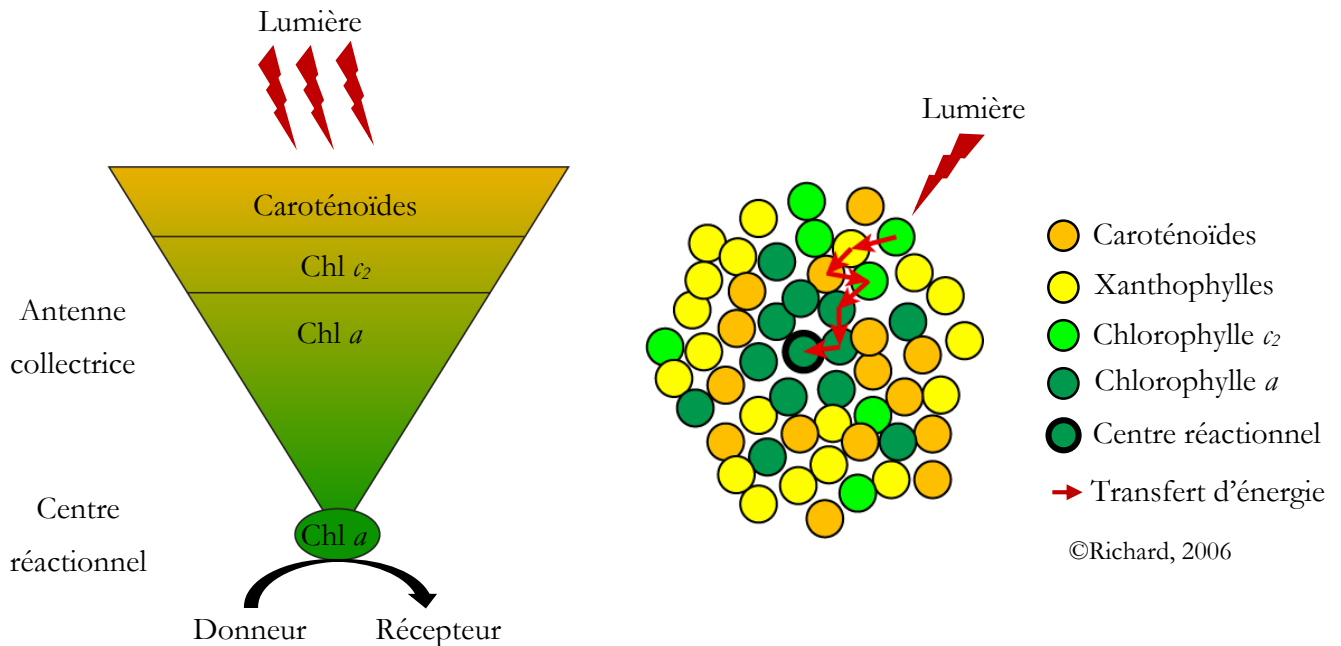
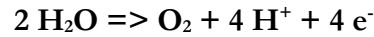


Figure 8. Représentations schématiques d'un photosystème.

Le transfert d'électrons se poursuit à travers toute la chaîne photosynthétique où de nombreuses **métallo-enzymes** assurent un rôle primordial (**OEC**, **plastocyanine (PC)**, **cytochrome b6f**, **ferredoxine (Fd)**, **PSI** et **PSII**) jusqu'à la production d'énergie (Figure 7). La source de carbone utilisée par tout organisme photosynthétique pour la fabrication de molécules organiques est le CO_2 , toutefois les *Symbiodinium*, dont la photosynthèse est plus importante que la respiration, ont développé la capacité d'utiliser le HCO_3^- . Lorsque le CO_2 devient limitant, alors le HCO_3^- est transformé en CO_2 grâce à l'anhydrase carbonique, avant d'être utilisé dans la photosynthèse (Furla et al., 2000). Par ailleurs, tout au long de la photosynthèse de nombreuses espèces réactives de l'oxygène (ROS) seront produites, que l'hôte devra neutraliser grâce à ses défenses antioxydantes, afin d'éviter tout stress oxydant (Wells et al., 2011) (Figure 7).

La photosynthèse étant un des paramètres clés de physiologie corallienne, elle a été largement étudiée durant cette thèse. Divers paramètres de la photosynthèse ont donc été systématiquement mesurés pour évaluer son efficacité comme le taux de production d'oxygène

(exprimé en $\mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$), le taux de transport d'électron à travers la chaîne photosynthétique (rETR) ou encore l'efficacité de ces photosystèmes (F_v/F_m). Ces deux derniers paramètres ont été mesurés grâce au diving-PAM (Pulse Amplitude Modulation) fluorimètre. Cet appareil permet, grâce à une série de pulsations lumineuses modulées, de mesurer la fluorescence émise par les molécules de chlorophylles au cours de leurs désexcitations (Schreiber et al., 1986). En effet, lorsque les molécules de chlorophylles du centre réactionnel du PSII reçoivent l'énergie lumineuse, elles passent alors d'un état fondamental à un état excité instable. Pour retourner à leur état fondamental, elles utilisent plusieurs voies de désexcitation (Figure 9 ; Ernez & Lannoye, 1991) :

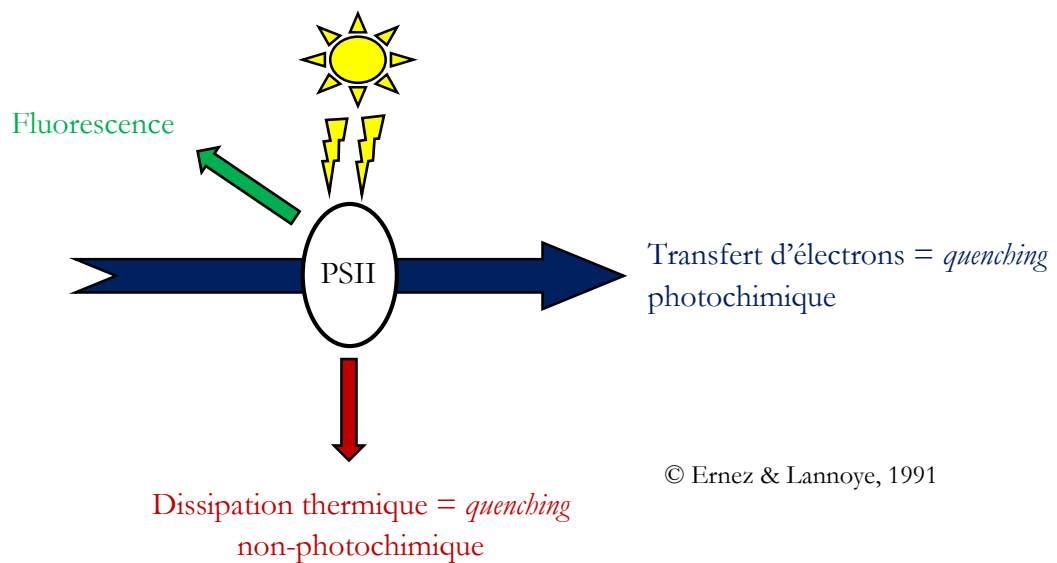


Figure 9. Voies de désexcitation de la chlorophylle.

La **photochimie** : les molécules vont céder des électrons à l'accepteur primaire pour le fonctionnement de la photosynthèse

La **chaleur** : l'énergie est dissipée sous forme de radiations infrarouge

La **fluorescence** : les molécules excitées réémettent des photons.

Ces trois voies étant interdépendantes, une augmentation de l'une traduira alors une diminution des deux autres. Par conséquent, la mesure du rendement de la fluorescence apporte des informations sur l'efficacité de la photochimie et de la dissipation thermique (Schreiber & Bilger, 1993).

Dans le cas de nos études, trois paramètres ont été plus spécifiquement mesurés : l'efficacité photosynthétique maximale et effective, ainsi que le taux de transport d'électrons.

F_v/F_m : l'efficacité photosynthétique maximale

Cette mesure se fait alors que les organismes sont adaptés à l'obscurité, ce qui permet aux centres réactionnels des PSII d'être pleinement opérationnels, plus aucun électron ne transitant à travers la chaîne photosynthétique. A ce moment-là, La fluorescence réémise (mesurée en l'absence de lumière) est minimale, on la note F_0 . Le flash saturant va entraîner la fermeture massive de tous les centres réactionnels fonctionnels du PSII, augmentant la fluorescence à sa valeur maximale : F_m . La fluorescence variable F_v résulte de la différence entre F_m et F_0 . Ainsi, la mesure de l'efficacité photosynthétique, traduisant la capacité photochimique potentielle, se calcule au moyen de l'équation suivante :

$$F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$$

Chez les coraux, cette valeur varie entre 0.5 et 0.7 dans les conditions normales (Jones et al., 1998). Toutes diminutions de ce rapport représentent une réponse à un stress, puisqu'une augmentation de F_0 traduirait de la photo-altération, alors qu'une diminution de F_m traduirait une perte d'énergie sous forme de chaleur.

$\Delta F/F_m'$: l'efficacité photosynthétique effective

Aussi nommée « paramètre de Genty » (Genty et al., 1989), $\Delta F/F_m'$ mesure l'efficacité photosynthétique lorsque les photosystèmes sont éclairés, et donc qu'une partie d'entre eux sont en train de transférer des électrons et donc indisponibles pour en capter d'autres. Elle représente donc la capacité photosynthétique du PSII dans les conditions de lumière testée (Schreiber et al., 1997), dont l'unique différence avec le paramètre précédent tient au *quenching* non-photochimique (Ralph et al., 1999). F_m' représente la fluorescence maximale mesurée à la lumière :

$$\Delta F/F_m' = (F_m' - F)/F_m'$$

rETR : le taux de transport d'électrons relatif

L'estimation du taux de transport d'électrons est directement reliée à l'activité photosynthétique du PSII à un éclairage donné. Elle s'obtient donc avec l'équation suivante (Genty et al., 1989) :

$$rETR = \Delta F/F_m' \times 0.5 \times PAR$$

Le PAR ou « photosynthetically active radiation » est mesuré en $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ et exprime la quantité de lumière reçue par les photosystèmes. On considère que les deux photosystèmes (Photosystème I et II) reçoivent la même part de lumière, justifiant la valeur de 0.5. Le rETR maximal est déduit grâce à la réalisation de courbes RLC (« Rapid Light Curve »), qui permettent de calculer le taux de transport d'électrons à une série d'intensités lumineuses croissantes (Genty et al., 1989).

1.4.3 La mixotrophie corallienne

Le double caractère des coraux, à la fois auto- et hétérotrophes, est reconnu depuis le début du vingtième siècle (Yonge & Nicholls, 1931). Tirant profit de ces deux modes de nutrition, les coraux sont donc qualifiés de « mixotrophes » (Houlbrèque & Ferrier-Pagès, 2009). Une étude a récemment mis en évidence un lien étroit entre les deux modes de nutrition chez *S. pistillata*, qui serait capable de compenser de mauvaises performances photosynthétiques en stimulant l'acquisition de nutriments par la nutrition hétérotrophe (Tremblay et al., 2015).

Comme évoqué précédemment, la *part autotrophe* de la nutrition corallienne est assurée par la photosynthèse des symbiotes. Une très grande partie des composés produits sont alloués à l'hôte, où ils peuvent couvrir plus de 95% de ses besoins énergétiques (Muscatine et al., 1984, 1981), bien que ce pourcentage soit dépendant de nombreux facteurs environnementaux (Tremblay et al., 2012, 2014). Les photosynthétats produits sont essentiellement des composés carbonatés, comme le glycérol qui en constitue près de 40% (Muscatine & Porter, 1977). On retrouve également, en moindre quantité, des lipides qui seront stockés par l'animal ou serviront à la production de mucus, des acides aminés essentiels ou encore des précurseurs de la matrice organique du squelette (Cuif et al., 1999 ; Douglas et al., 1993 ; Muscatine et al., 1984 ; Muscatine & Cernichiari, 1969 ; Swanson & Hoegh-Guldberg, 1998).

Parallèlement à la nutrition autotrophe, *les coraux sont aussi hétérotrophes* et capables de se nourrir sur une vaste gamme de proies allant du pico- au mésozooplancton (Houlbrèque & Ferrier-Pagès, 2009), sans oublier la matière organique dissoute, principalement sous forme d'hydrates de carbone, d'acides aminés libres ou d'urée, et de matière organique particulaire détritique (Anthony, 1999 ; Grover et al., 2008). Certains coraux sont reconnus pour être des prédateurs avides de plancton (Sebens et al., 1997). La nutrition hétérotrophe apporte l'azote et le phosphore nécessaires à la synthèse des protéines et des acides nucléiques. Selon les conditions environnementales, l'hétérotrophie peut également représenter une source importante de carbone et couvrir jusqu'à

60% des besoins énergétiques des coraux recevant un faible éclairage (profondeur, zone ombragée...) (Falkowski et al., 1984 ; Houlbrèque & Ferrier-Pagès, 2009). Dans le cas des coraux non-symbiotiques, ne pouvant pas réaliser de photosynthèse, la nutrition hétérotrophe représente alors leur unique source de nutriments.

1.5 Modèles biologiques

Cinq espèces de coraux tropicaux ont fait l'objet d'une attention particulière durant cette thèse. L'espèce *Stylophora pistillata* présente l'avantage d'avoir été largement utilisée dans le cadre d'études portant sur la biologie et la physiologie des coraux. Les espèces *Acropora muricata* et *Pocillopora damicornis* ont également déjà fait l'objet de nombreux travaux. Les trois espèces sélectionnées forment des colonies ramifiées à la croissance relativement rapide, qui se développent principalement en eaux peu profondes. Elles possèdent toutes les trois une large aire de répartition à travers l'Indo-Pacifique (Figure 10) et sont abondantes dans le lagon calédonien.

La quatrième espèce est une espèce asymbiotique tropicale, *Dendrophyllia arbuscula*, c'est-à-dire qu'elle ne possède pas d'algues symbiotiques. Cette spécificité a été très importante dans l'une des expériences (cf. 4.1.3), afin de déterminer l'influence de la photosynthèse dans les résultats observés. En absence de symbiose, sa croissance est plus lente, mais sa distribution n'est pas limitée à la zone euphotique (des colonies ayant été trouvées à 350m de fond). Ses besoins en carbone et en nutriments sont couverts uniquement par la nutrition hétérotrophe (Sentoku & Ezaki, 2012). Les colonies de cette espèce ont été prélevées sur les côtes indonésiennes.

Ces quatre espèces ont de plus la qualité d'être bien adaptées aux expériences en aquarium. Une fois prélevés sur les colonies mères, les fragments de quelques centimètres nécessaires aux expérimentations physiologiques peuvent être fixés sur plaque ou suspendus par des fils de nylon, puis préservés jusqu'à cicatrisation complète des tissus lésés.

La cinquième espèce concernée est *Montipora stellata*, qui a été l'espèce utilisée lors de l'expérience de transplantation corallienne (cf 3.3.4). Elle a été sélectionnée, d'une part, en raison de sa présence et de son abondance sur chacun des sites d'étude et d'autre part, pour son excellente résistance aux manipulations nécessaires à la mise en place de la transplantation.

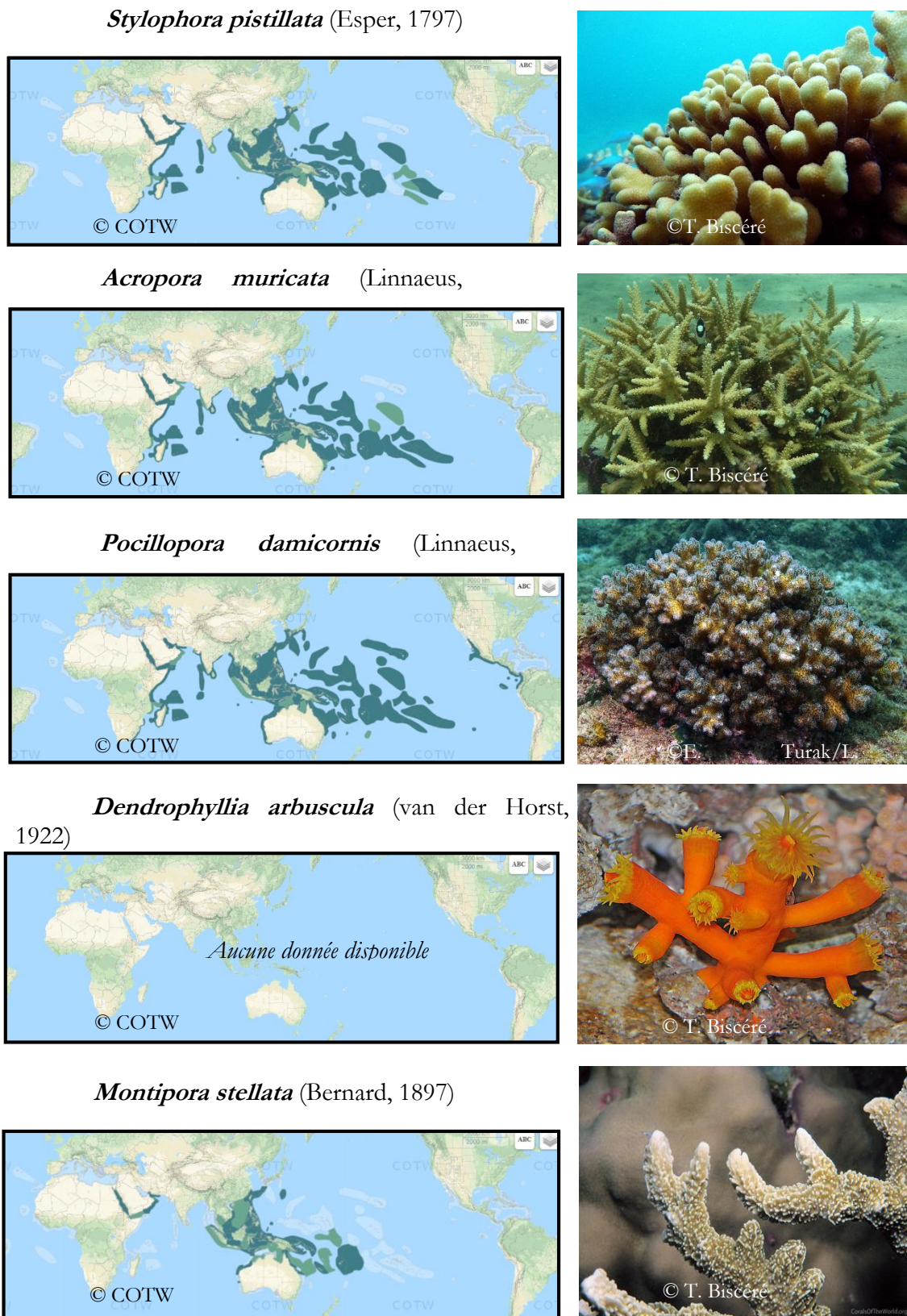


Figure 10. Liste des modèles utilisés durant cette thèse.

Chapitre 2

Les menaces globales

CHAPITRE 2 | LES MENACES GLOBALES

Les changements climatiques à l'échelle planétaire apparaissent cycliquement au cours des temps géologiques sous formes de périodes glaciaires et interglaciaires. Alors que les changements climatiques brutaux sont généralement le fruit d'événements stochastiques majeurs (astéroïdes, éruption de supervolcans...), les bouleversements observés aujourd'hui découlent de la généralisation de l'utilisation des énergies fossiles et de la déforestation (Sabine, 2004). En effet, depuis le milieu du 18^{ième} siècle et l'avènement de l'ère industrielle, les énergies fossiles sont devenues le cœur de notre économie et sont omniprésentes dans notre société. Malheureusement, leur combustion produit une grande quantité de CO₂, qui dérègle la machine climatique en s'ajoutant au CO₂ atmosphérique. Ainsi, la concentration de CO₂ atmosphérique est passée de 280 μ atm en 1850 à 410 μ atm en 2018 (www.co2.earth). Ce gaz, dit « à effet de serre », a l'excellente capacité d'absorber le rayonnement infrarouge émis par la Terre et contribue au maintien de températures favorables au développement de la vie. L'augmentation de sa concentration dans l'atmosphère accroît l'absorption des rayons infrarouges et mène donc inexorablement vers une augmentation des températures et toutes les perturbations que cela peut engendrer, comme le dégel du permafrost (sol en permanence gelé, dont la fonte libérerait de grande quantité de méthane ayant un effet de serre 25 fois plus puissant que celui du CO₂ (Schuur et al., 2015)). Ainsi, l'augmentation du CO₂ atmosphérique a conduit à une augmentation moyenne de la température de 0.65°, 0.41° et 0.31°C, respectivement, dans l'océan Indien, Atlantique et Pacifique sur les 70 dernières années (Hoegh-Guldberg et al., 2014). L'année 2016 a d'ailleurs vu l'un des pires épisodes de réchauffement enregistrés jusqu'ici avec des conséquences désastreuses pour les récifs (Hoegh-Guldberg & Ridgway, 2016 ; Hughes et al., 2017, 2018).

Par ailleurs, la hausse du CO₂ atmosphérique ne mène pas seulement à un réchauffement des océans, mais également à leur acidification. A l'instar des forêts, l'océan puise près de 40% du CO₂ atmosphérique (Sabine, 2004). L'hydrolyse du CO₂ dans les océans libère des ions H⁺, qui induisent une acidification du milieu. Ainsi, la concentration en H⁺ a bondi de près de 26%, conduisant à une diminution du pH océanique de l'ordre de ~0.1 unité lors du dernier siècle (Doney et al., 2009 ; Hoegh-Guldberg et al., 2017) et continuera de chuter quoi qu'il arrive. En effet, en considérant une stabilisation des émissions de CO₂ aujourd'hui, les océans continueraient de se réchauffer et de s'acidifier en raison du temps de latence nécessaire pour arriver à un point d'équilibre entre l'océan et l'atmosphère. Ainsi, l'Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC, 2014) a calculé plusieurs scénarii possibles, dont le plus optimiste (RCP 2.6), dans le cas

d'une réduction drastique des émissions de CO₂, prévoit une diminution de 0.05 unité de pH et une augmentation de la température des océans de 1.5 à 1.7°C d'ici à la fin du siècle. Le plus pessimiste (RCP 8.5) prévoit, quant à lui, une diminution de 0.35 unité de pH et une augmentation de 4.1 à 4.8°C d'ici la fin du siècle (IPCC, 2014). Bien que la concentration atmosphérique de CO₂ soit sans précédent depuis 800 000 ans (Lüthi et al., 2008), la Terre a déjà connu sept périodes d'acidification des océans, qui pourraient être liées à la disparition de nombreuses espèces calcifiantes (Hönisch et al., 2012). La rapidité de l'évènement actuel, 30 à 100 fois plus élevée que les précédentes périodes d'acidification, plus que son intensité, constituerait sa dangerosité en prenant de vitesse les mécanismes évolutifs (Bijma et al., 2013).

Les changements climatiques globaux affectent massivement les récifs coralliens. Ces effets sont d'ores et déjà observables sur de nombreux récifs à travers le monde (Cinner et al., 2016 ; Hughes et al., 2017), et ne devraient pas s'améliorer puisque selon les scénarii envisagés lors de l'IPCC (2014), ce sont deux blanchissements massifs par décennie que devraient subir à l'avenir près de 86% des coraux dans le monde (Heron et al., 2017).

2.1 Le réchauffement des océans

2.1.1 Modifications du milieu par le réchauffement des eaux

L'augmentation de la température à la surface de la Terre a de nombreuses conséquences, dont certaines affectent directement les écosystèmes coralliens. Induite par la fonte des glaciers terrestres et l'expansion thermique des océans (Rahmstorf, 2007), l'élévation du niveau de la mer, par exemple, diminue l'intensité lumineuse reçue par les récifs. Les coraux ayant une croissance particulièrement lente, ils se trouvent d'autant plus menacés par son élévation rapide en ne parvenant pas à la compenser (Buddemeier & Smith, 1988). Le réchauffement des couches d'eaux de surface engendre une plus grande stratification de la colonne d'eau, ce qui affecte *in fine* la disponibilité en nutriments et la production primaire (Polovina et al., 2008). Cette même stratification, ainsi que la diminution de la solubilité de l'oxygène à température plus élevée, diminuent également la concentration en O₂ disponible dans la couche de surface (Diaz & Rosenberg, 2008 ; Matear et al., 2000 ; Schmidtke et al., 2017), caractéristique soupçonnée d'avoir déjà joué un rôle important lors des extinctions massives précédentes (Kump et al., 2005). L'élévation des températures de surface de l'océan est également en lien avec l'augmentation et l'intensification des cyclones tropicaux, qui provoquent des houles dévastatrices pour les récifs peu profonds (Knutson et al., 2010). Alors que chacune de ces modifications du milieu représente

autant de menaces indirectes d'une hausse de la température, c'est cette augmentation elle-même qui constitue la conséquence la plus immédiate du réchauffement climatique pour les coraux en engendrant de nombreuses modifications physiologiques.

2.1.2 Conséquences physiologiques du réchauffement des eaux sur les coraux : rupture de la symbiose (blanchissement)

La température est un facteur clé dans l'activation de nombreuses enzymes qui catalysent les réactions chimiques au cœur du métabolisme et de la croissance corallienne (Pörtner, 2008). Cette activité enzymatique est proportionnelle à la température jusqu'à un maximum propre à chaque enzyme, au-delà duquel elle sera inhibée. La totalité des voies métaboliques du corail évoluent donc en fonction de la température, ce qui explique pourquoi leurs performances sont meilleures en été qu'en hiver (Crossland, 1984). Une température trop élevée entraîne l'inhibition des enzymes et la dénaturation des protéines essentielles au bon déroulement des réactions chimiques de la photosynthèse, de la calcification ou encore de la respiration. Tout autant de processus qui seront donc perturbés en cas de stress thermique. A défaut de se dérouler correctement, certaines de ces voies métaboliques, et notamment la photosynthèse, (Weis, 2008), généreront alors une quantité anormale d'« espèces réactives de l'oxygène » (ROS : Reactive Oxygen Species) tels que l'anion superoxyde (O_2^-) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ces molécules chimiques sont très réactives, et bien qu'elles puissent être dangereuses, leur toxicité est, en conditions « normales », parfaitement maîtrisée par les organismes. Alors qu'elles peuvent jouer un rôle important dans la communication entre les cellules en conditions normales, en cas de stress, une surproduction apparaît et surpasse les capacités de détoxification des coraux, engendrant ainsi un stress oxydant (Downs et al., 2002). Ce stress endommage directement les protéines, les lipides ou encore l'ADN et est également vecteur d'apoptose (Halliwell, 2006 ; Weis, 2008). Le stress oxydant est donc une des résultantes finales du stress thermique et serait la cause principale du blanchissement corallien (Douglas, 2003 ; Downs et al., 2002 ; Muller-Parker et al., 2015 ; Ross et al., 2013 ; Weis, 2008 ; Yakovleva et al., 2009). Lors d'un stress prolongé, l'hôte identifiera les symbiotes comme source de ROS et mettra fin à leur relation symbiotique en les expulsant, ce qui entraînera son blanchissement. Si les conditions de stress persistent le blanchissement peut conduire à la mort de la colonie (Figure 11).

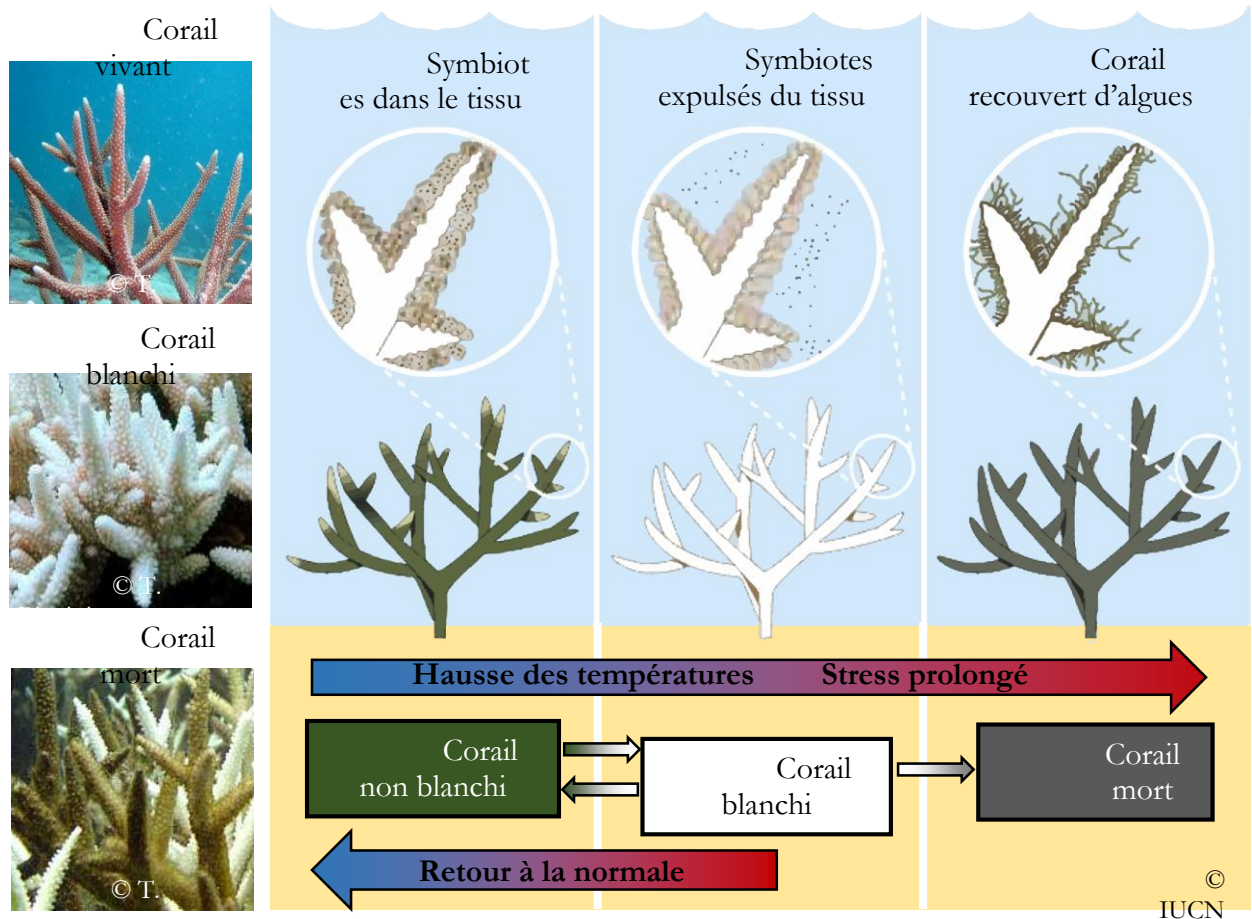


Figure 11. Le blanchissement corallien sous l'effet d'un stress thermique.

Deux indices existent pour alerter sur le risque potentiel de blanchissement suite à un stress thermique. Les températures utilisées pour calculer ces indices étant acquises par satellite, elles représentent uniquement les masses d'eau superficielles et doivent donc être considérées comme un signal précurseur. D'une part, le « Coral Bleaching HotSpot » (NOAA : National Oceanic and Atmospheric Administration) permet de visualiser, pour une date donnée, où se situent les températures de surface de l'eau les plus chaudes par rapport aux températures mensuelles les plus élevées. Une valeur HotSpot de 1°C est considérée comme un seuil pour le stress thermique, conduisant potentiellement au blanchissement des coraux. D'autre part, le « Degree Heating Week » (DHW) est calculé en mesurant l'accumulation de stress thermique au cours des 12 dernières semaines. Selon la littérature, les valeurs DHW atteignant 4°C-semaine correspondent à des événements de blanchissement localisés. Au-delà de 8°C-semaine, un blanchissement généralisé et une mortalité élevée sont attendus.

2.1.3 Défenses des coraux face au stress thermique

Comme tout autre organisme, les coraux ont développé des mécanismes de défense face au stress thermique et à ses conséquences. Dans un premier temps, en réponse aux variations saisonnières importantes, les coraux sont capables de diminuer ou d'augmenter la concentration tissulaire de leurs symbiotes pour optimiser leur métabolisme en fonction de la température et de la luminosité (Brown et al., 1999 ; Fagoonee et al., 1999 ; Fitt et al., 2000 ; Stimson, 1997). Dans le but de limiter les dommages du stress thermique sur les protéines ou les enzymes, les coraux synthétisent un type particulier de protéines appelé « Heat Shock Protein » (HSP). Les HSPs s'associent aux protéines sensibles et les protègent, jusqu'à un certain seuil, d'une dénaturation précoce due à la température et préservent, par conséquent, leur fonction. Certaines sont, par exemple, impliquées dans la protection des transporteurs d'électrons de la photosynthèse et de la respiration, limitant ainsi la production supplémentaire de ROS (Downs & Heckathorn, 1998 ; Downs et al., 1999 ; Ganea & Harding, 2000). Si, toutefois, le stress devenait trop intense et conduisait à une surproduction de ROS, alors les coraux possèdent un ensemble de **métallo-enzymes antioxydantes**, comme la **superoxyde dismutase (SOD)**, la **catalase** ou encore différents types de **peroxidase**. Les *Symbiodinium* possèdent ainsi de fortes concentrations de SOD, afin de neutraliser efficacement l'anion O_2^- , principalement produit par la photosynthèse (Wolfe-Simon et al., 2006). En dernier recours, l'hôte a la possibilité de se débarrasser de la source même du stress en détruisant directement les *Symbiodinium in hospite* par nécrose, apoptose ou digestion (Downs et al., 2009 ; Perez & Weis, 2006 ; Richier et al., 2006), puis, si ce n'est pas suffisant, en les expulsant toutes par exocytose, mécanisme ultime menant au blanchissement (Brown et al., 1995 ; Steen & Muscatine, 1987). Si toutefois les conditions thermiques reviennent à la normale, les coraux sont capables d'endocyter les *Symbiodinium* présents dans l'eau et donc d'inverser le phénomène de blanchissement, ce qui définit leur capacité de résilience face au stress. Au-delà d'un mécanisme de protection, le blanchissement serait également un moyen pour les coraux de s'adapter à un changement environnemental, en endocytant par exemple plus de *Symbiodinium* du clade D, davantage thermotolérant (Silverstein et al., 2015) (cf. 1.3).

2.2 L'acidification des océans

2.2.1 Modifications biochimiques du milieu par l'acidification des océans

La libération des ions H^+ lors de l'hydrolyse du CO_2 entraîne une diminution du pH de l'océan, ce qui a pour principal effet de modifier ses propriétés physico-chimiques. En premier lieu, la modification du pH de l'eau de mer influe directement sur la chimie des carbonates. En effet, le DIC se retrouve principalement sous trois formes : du CO_2 aqueux, des ions carbonates CO_3^{2-} et des ions bicarbonates HCO_3^- , dont la proportion de chacune des formes dépend des constantes de dissociation, elles-mêmes étroitement liées au pH (Feely et al., 2004) (Figure 12). Ainsi, une diminution du pH conduirait à une diminution de la teneur en CO_3^{2-} en faveur des HCO_3^- et du CO_2 .

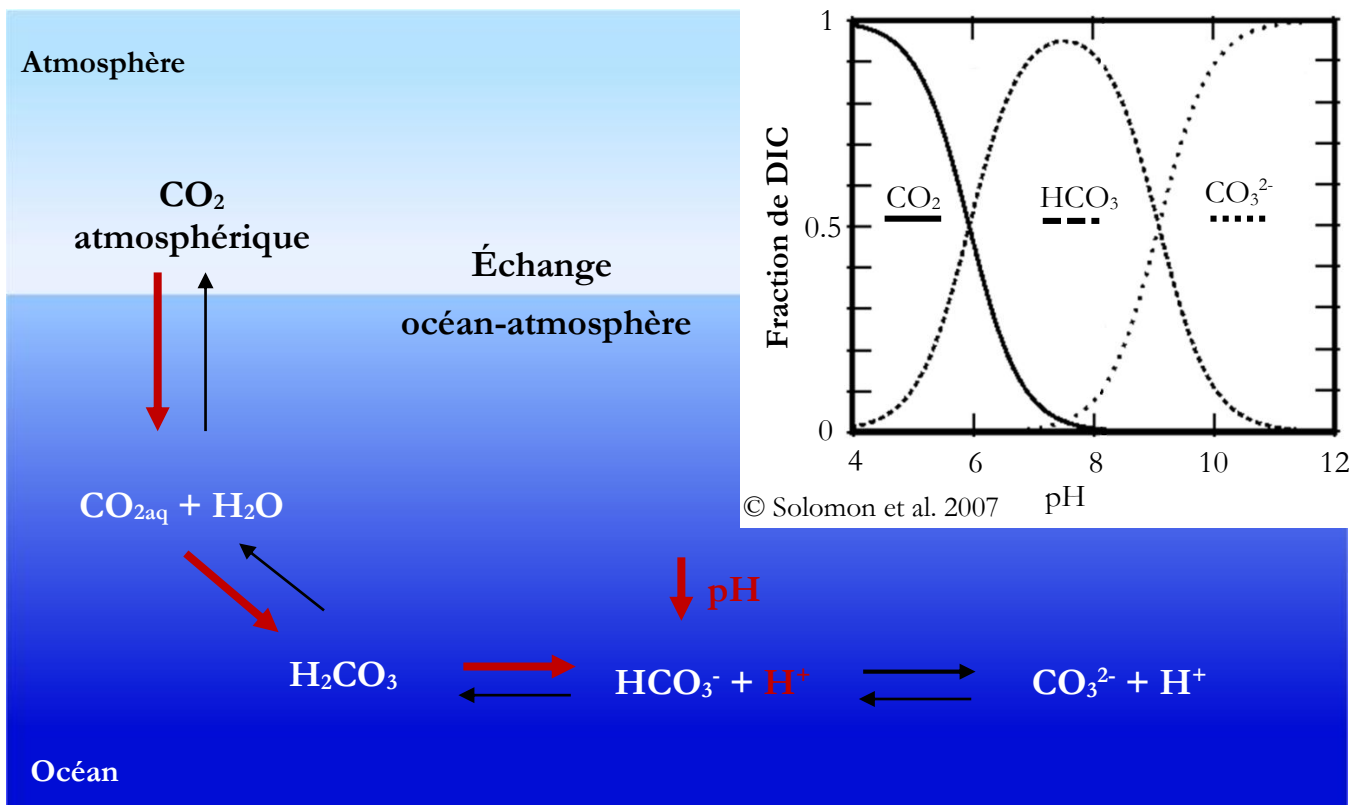


Figure 12. Dissociation du CO_2 dans l'eau de mer et équilibre des formes de DIC selon le pH.

Par ailleurs, la diminution du pH va également affecter l'état de saturation en $CaCO_3$ de l'eau de mer. Cet état (Ω) contrôle thermodynamiquement les processus de précipitation et de dissolution du $CaCO_3$ sous forme de calcite ou d'aragonite et est défini selon l'équation suivante, dans laquelle $[Ca^{2+}]$ est la concentration en calcium, $[CO_3^{2-}]$ la concentration en carbonates et K_{sp}

une constante stœchiométrique relative à la forme de CaCO_3 (dans notre cas, l'aragonite), variant avec la température, la salinité et la pression :

$$\Omega = [\text{Ca}^{2+}] \times [\text{CO}_3^{2-}] / K_{\text{sp}}$$

Ainsi, une sursaturation de l'eau de mer en aragonite ($\Omega_{\text{arag}} > 1$) favorise sa précipitation alors qu'une sous saturation ($\Omega_{\text{arag}} < 1$) rend l'eau « corrosive » et favorise le processus de dissolution. La solubilité du CaCO_3 étant en partie régie par la température et la pression, une frontière naturelle, à partir de laquelle Ω est inférieur à 1, se crée entre 200 et 3 500 mètres de fond suivant les zones de l'océan (Feely et al., 2004). Cette frontière est nommée « horizon de saturation ». Aussi, l'acidification des océans, en diminuant les concentrations en carbonates, entraîne une diminution de Ω et fait remonter l'horizon de saturation vers la surface. Jusqu'à maintenant, l'état de saturation des carbonates a diminué de 20% et l'horizon de saturation est remonté d'environ 80 à 200 mètres selon les zones (Fassbender et al., 2017). En outre, les prévisions IPCC font état d'une drastique diminution de Ω dans les prochaines décennies, associée à l'augmentation de la pression partielle en CO_2 (Hoegh-Guldberg et al., 2017 ; Ricke et al., 2013) (**Figure 13**). Chez les coraux tropicaux, certaines études montrent que la formation de CaCO_3 deviendrait nulle, voire négative, pour une valeur de $\Omega_{\text{arag}} < 3.3$ (Chan & Connolly, 2013 ; Hoegh-Guldberg et al., 2007).

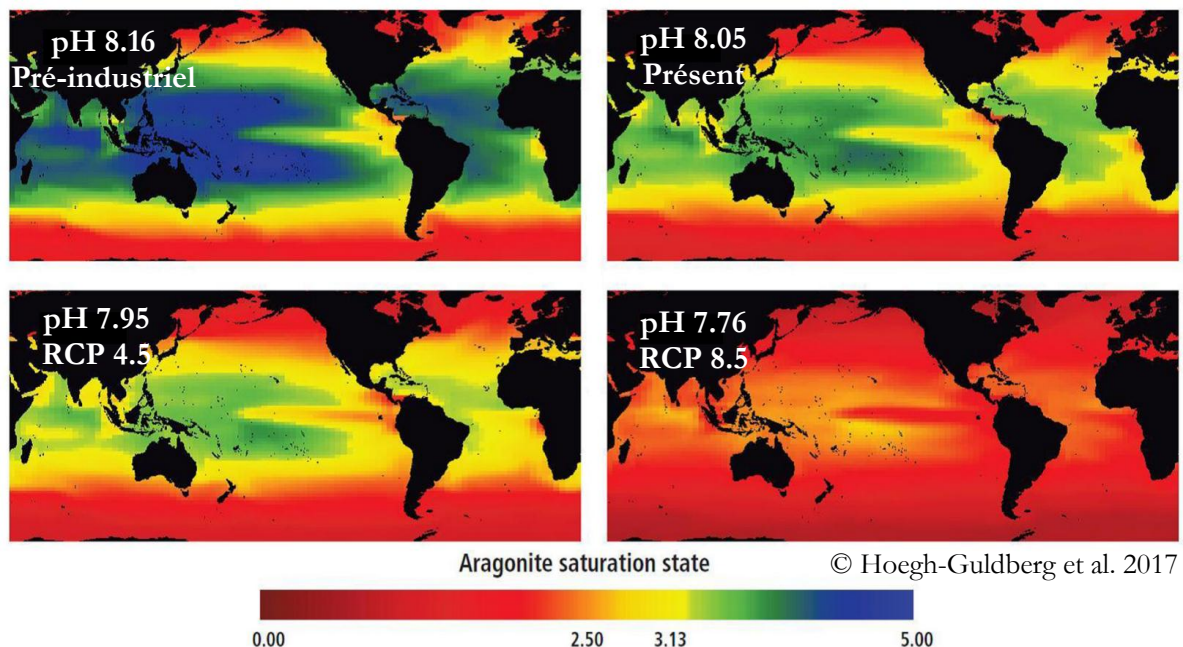
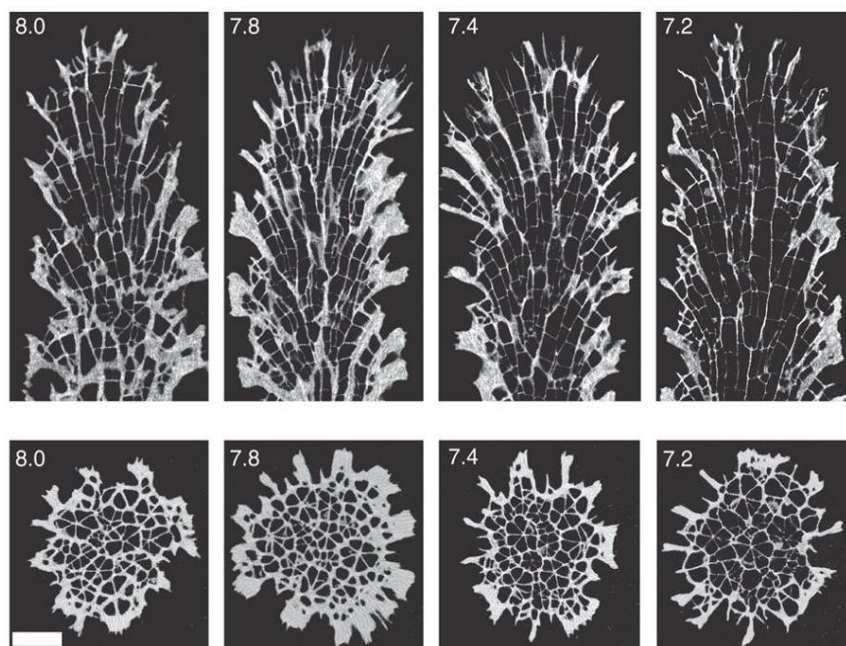


Figure 13. Prédiction de l'état de saturation en aragonite des océans selon la $p\text{CO}_2$.

2.2.2 Conséquences physiologiques de l'acidification des océans sur les coraux

Alors que les conséquences de telles modifications du milieu pour les écosystèmes marins sont très nombreuses (Fabry & Seibel, 2008 ; Guinotte & Fabry, 2008), pour les coraux, elles sont principalement de deux ordres. Dans un premier temps, la modification du système des carbonates dans l'eau de mer diminuerait la capacité des coraux à calcifier. Une partie des scientifiques s'accordent à dire que la calcification devrait diminuer de 14 à 30% selon les espèces d'ici à 2100 (Gattuso et al., 1999 ; Kleypas et al., 1999). Dans ce sens, une diminution de 14.2% des taux de calcification d'une colonie de *Porites* sur la GBR depuis 1990 a été mise en évidence (De'ath et al., 2009). Cette diminution a également été observée en mer Rouge et en Asie du Sud-Est chez le même genre (Cantin et al., 2010 ; Tanzil et al., 2009). En revanche, l'augmentation de la disponibilité en CO_2 et HCO_3^- dans l'eau de mer pourrait profiter à la photosynthèse des *Symbiodinium*, comme cela l'a été démontré pour *Porites* spp. et *A. millepora*, pour lesquelles une stimulation de 43 et 24%, respectivement, de la photosynthèse a été observée dans des conditions plus acides (Strahl et al., 2015).

Dans un second temps, une diminution de Ω pourrait favoriser la dissolution du CaCO_3 (Tribollet et al., 2009). Plusieurs études ont montré *in situ* ces processus de dissolution à la fois chez les coraux ou chez des algues calcifiantes (Andersson et al., 2009 ; Anthony et al., 2009 ; Diaz-Pulido et al., 2012). Parallèlement, un environnement plus acide diminuerait la densité du squelette corallien, augmentant sa porosité et sa fragilité (Tambutté et al., 2015) (Figure 14) en le rendant ainsi plus vulnérable aux cyclones par exemple. Cependant, la nocivité de l'acidification des océans pour les coraux ne fait pas consensus au sein de la communauté scientifique (*e.g.* Comeau et al., 2013 ; Edmunds, 2012 ; McCulloch et al., 2012 ; Ries et al., 2009 ; Rodolfo-Metalpa et al., 2011). En effet, la réponse des coraux semble extrêmement variable avec des taux d'inhibition de la calcification sous fortes $p\text{CO}_2$ allant de 0 à 56% (Kleypas et al., 2005). Des travaux récents, testant les effets de l'acidification sur un panel d'espèces, suggèrent que les impacts de l'acidification pourraient être surestimés, certaines d'entre elles seraient ainsi capables de maintenir, voire d'augmenter leurs taux de calcification, sous de plus fortes $p\text{CO}_2$ (elles seraient considérées comme des espèces gagnantes) (Comeau et al., 2013 ; Comeau et al., 2014). Une hausse des taux de calcification du platier et du récif externe sur la GBR australienne de l'ordre de 11% a, par exemple, été mise en évidence entre 1947 et 2008 (D'Olivo et al., 2013).



© Tambutté et al. 2015

Figure 14. Observation transversale et longitudinale de la densité du squelette corallien selon un gradient de pH (noté en haut à gauche).

2.2.3 Mécanismes de régulation de l'acidification des océans

L'acidification des océans n'étant pas une exclusivité des temps modernes, les coraux ont déjà dû faire face à des variations du pH de leur environnement et il est possible qu'ils aient développé des mécanismes de régulation.

Les coraux, contrairement à certains autres organismes calcifiants, ne sont pas directement soumis à l'état de saturation du CaCO_3 du milieu environnant, puisque leur squelette est recouvert de 2 à 4 couches cellulaires le protégeant des agressions chimiques externes (Allemand et al., 2011). Par ailleurs, afin de pallier aux conséquences d'un pH environnant trop acide, les coraux seraient capables de réguler le pH de l'ECM afin de conserver des conditions propices à la calcification (McCulloch et al., 2012 ; Raybaud et al., 2017 ; Ries, 2011 ; Venn et al., 2011 ; Wall et al., 2016). En effet, en établissant un gradient protonique et grâce à la pompe Ca^{2+} -ATPase, ils peuvent excréter l'excédent de H^+ tout en apportant du Ca^{2+} à l'ECM, maintenant ainsi son pH à 0.2-0.5 unité de pH au-dessus de celui de l'eau de mer (Al-Horani et al., 2003 ; Venn et al., 2013). Les concentrations en carbone inorganique dissous dans l'ECM, étroitement liées à la valeur d' Ω , seraient également contrôlées par les coraux (Raybaud et al., 2017). Aussi, selon McCulloch et al. (2017), les coraux pourraient moduler leurs réponses selon les saisons. L'été, lorsque le métabolisme est à plein régime

et produit beaucoup de DIC, alors l'état favorable d' Ω est maintenu grâce à cette forte concentration en DIC, tandis que l'hiver, lorsque le métabolisme est plus lent, c'est l'augmentation du pH de l'ECM qui maintiendrait cet état favorable. Par ailleurs, la partie apicale du corail serait plus à même de faire face à une acidification de l'eau de mer, en contrôlant plus efficacement les paramètres physicochimiques de son ECM que les zones latérales basales (Holcomb et al., 2014 ; Jokiel, 2011). Enfin, étant capables de réguler activement leur concentration cellulaire en calcium (Al-Horani et al., 2003 ; Zoccola et al., 1999), les coraux, en réponse à une acidification du milieu, l'augmenteraient de 25% pour maintenir un état de saturation de l'aragonite favorable à une précipitation du CaCO_3 (Decarlo et al., 2018) (cf. 2.2.1).

Une des explications avancées pour expliquer l'asymétrie des réponses physiologiques inter-espèces face à l'acidification des océans (évoquée dans la sous partie précédente 2.2.2), est que toutes les espèces ne présentent pas la même capacité à utiliser le CO_2 aqueux ou les ions HCO_3^- pour former, au sein de l'ECM, le CO_3^{2-} utilisé dans le processus de calcification (Comeau et al., 2013) (Figure 15).

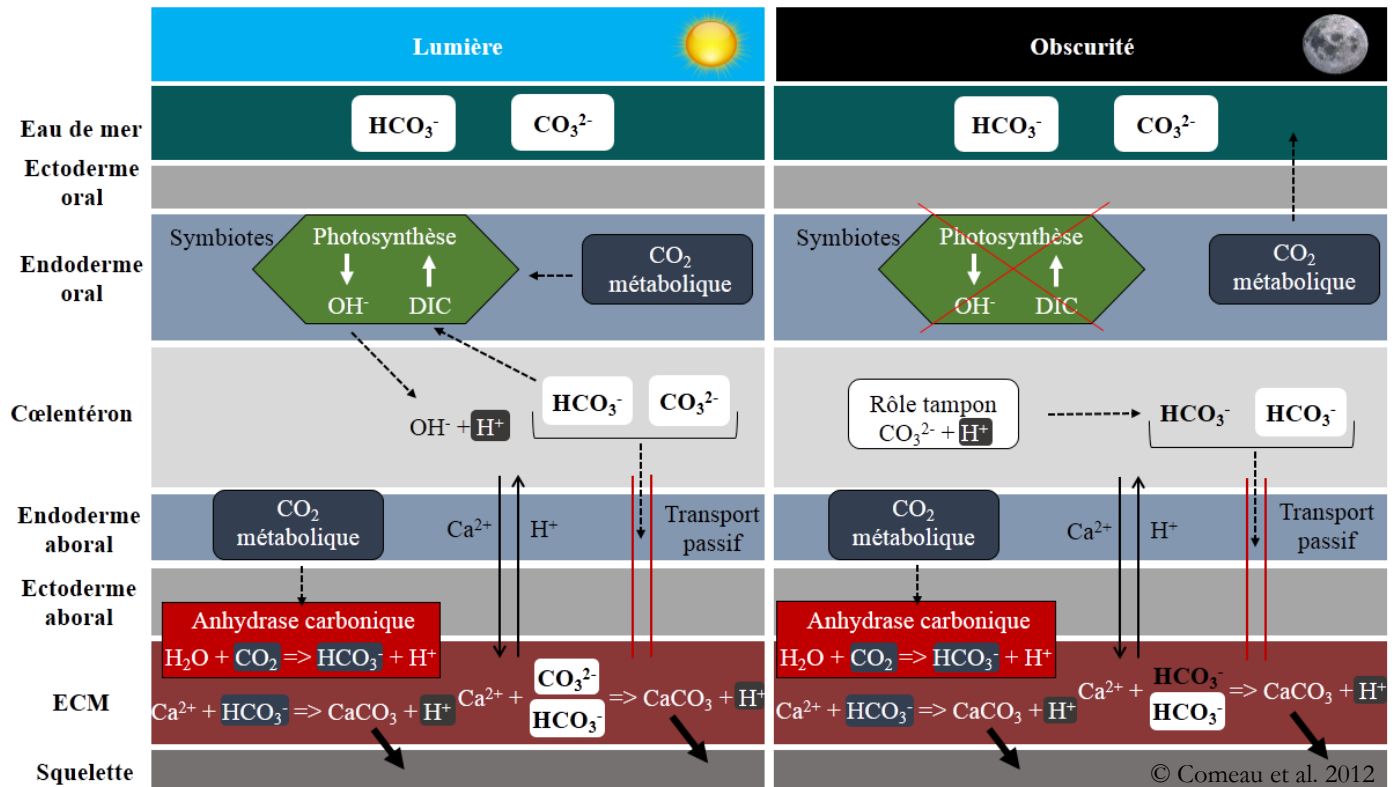
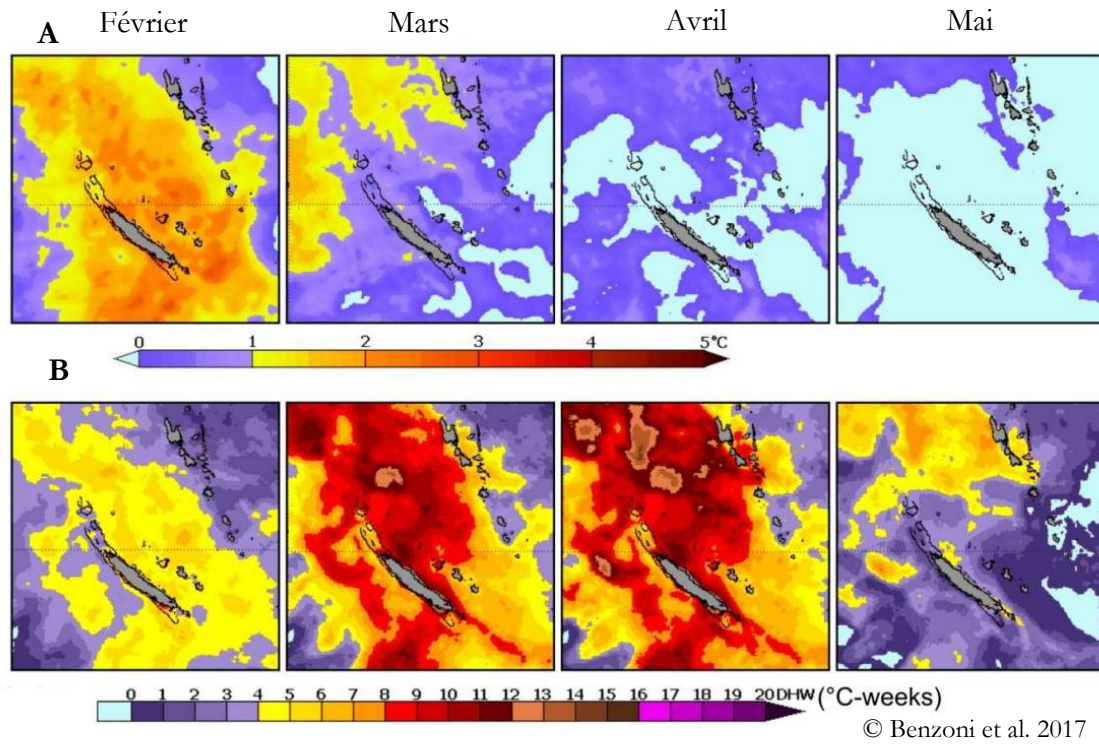


Figure 15. Modulation du processus de calcification dans un contexte d'acidification. L'efficacité de l'utilisation de HCO_3^- apparaît surtout de jour, puisqu'il est à la fois utile pour la photosynthèse (Herfort et al., 2008) et pour la calcification, contrairement au CO_3^{2-} servant uniquement à la calcification. L'apport des ions HCO_3^- et CO_3^{2-} au site de calcification pourrait se faire directement depuis l'eau de mer, mais également, indirectement, via la transformation, catalysé par l'anhydrase carbonique, du CO_2 métabolique en HCO_3^- (cf. 1.4.1). Cette transformation produit des ions hydroxyle (OH^-), servant justement à tamponner les protons (H^+) libérés dans le cœlentéron par l'échangeur d'ion $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^+$. Ainsi, les ions HCO_3^- et CO_3^{2-} seraient disponibles pour la calcification, dans des conditions de pH favorables. En revanche, de nuit, la photosynthèse ne fonctionnant pas, elle ne produit pas d'ion OH^- et les ions HCO_3^- sont entièrement alloués à la calcification. Les ions CO_3^{2-} tamponneraient donc les protons libérés dans le cœlentéron, en formant du HCO_3^- disponible pour la calcification. Malheureusement, dans un contexte d'acidification réduisant la disponibilité des ions CO_3^{2-} (Figure 12), le pouvoir tampon est plus faible et le gradient protonique diminue, ne permettant alors plus un contrôle aussi fin du pH intracellulaire, ce qui diminue Ω et ralentit la calcification (Comeau et al., 2013).

2.3 La Nouvelle-Calédonie face aux changements climatiques

2.3.1 Épisodes de blanchissement

Contrairement aux autres récifs dans le monde, ceux de Nouvelle-Calédonie ont été jusqu'alors épargnés par les épisodes de blanchissement. En effet, jusqu'en 2016, un seul cas de blanchissement a été documenté en Nouvelle-Calédonie dans les années 1995-1996 (Richer de Forges & Garrigue, 1997). Parallèlement, les récifs voisins, comme en Australie notamment, subissent depuis quelques décennies des épisodes récurrents de blanchissement massif (*e.g.* Hughes et al., 2017, 2018). Aucune étude ne permet à l'heure actuelle de déterminer les raisons pour lesquelles les récifs de Nouvelle-Calédonie seraient moins sensibles au blanchissement. La Nouvelle-Calédonie a enregistré une hausse des températures sans précédent lors de l'été austral 2016, exposant les coraux à un stress thermique considérable comme en témoignent les cartes de HotSpot et de DHW de février à avril fournies par la NOAA (Figure 16). Celles-ci démontrent, d'une part, que les coraux ont été exposés à des températures supérieures de 1 à 2°C aux températures moyennes lors du mois de février et d'autre part, qu'ils ont été exposés à un stress thermique cumulé important de l'ordre de 8°C-semaine en mars et en avril. Cette vague de chaleur a été associée à un événement de blanchissement sans précédent, affectant 87% des 336 récifs suivis sur le territoire lors du phénomène avec une nette prédominance des récifs côtiers (Benzoni et al., 2017) (Figure 17). Environ 38% des espèces coralliennes ont été touchées, à des degrés plus ou moins intenses et les taux de résilience, suite au retour à la normale des températures, ont varié de 75 à 90% selon les sites.



2.4 Les résurgences volcaniques : un laboratoire naturel pour étudier l'acidification des océans

2.4.1 Cas de la Papouasie Nouvelle-Guinée

Les résurgences volcaniques de CO₂ font l'objet d'une attention particulière depuis cette dernière décennie en raison de leurs caractéristiques intéressantes pour étudier l'effet de l'acidification des océans sur les organismes marins (*e.g.* Fabricius et al., 2011 ; Hall-Spencer et al., 2008 ; Rodolfo-Metalpa et al., 2011). En effet, ces sites sont des répliques idéales des conditions futures d'acidification en raison des suintements gazeux de CO₂ pur provenant de l'activité volcanique souterraine. Par ailleurs, un des avantages indéniables de ces sites est l'échelle temporelle très longue (plusieurs dizaines voire centaines d'années) sur laquelle se produisent ces suintements, permettant d'étudier alors l'effet à long terme de l'acidification sur les organismes marins et, éventuellement, d'observer des processus d'acclimatation ou d'adaptation² (*e.g.* Calosi et al., 2013 ; Rodolfo-Metalpa et al., 2011).

Depuis la première utilisation comme laboratoire naturel de l'un de ces sites (Ischia, Italie ; Hall-Spencer et al., 2008), de nombreux sites ont été découverts à travers le monde (*e.g.* Mexique, Taiwan, Nouvelle-Zélande, Indonésie) (Brinkman & Smith, 2015 ; Chen et al., 2015 ; Januar et al., 2016 ; Pettit et al., 2013). Parmi eux figurent également trois sites découverts en Papouasie Nouvelle-Guinée : Normanby, Dobu (Milney Bay Province) et Ambitle (New-Ireland Province). Les deux premiers, découverts par des biologistes, ont été caractérisés rapidement dans le but d'étudier l'effet de l'acidification sur les récifs coralliens (Fabricius et al., 2011). En revanche, le site d'Ambitle, découvert bien plus tôt (Pichler & Dix, 1996), a initialement intéressé les géochimistes qui ont alors étudié la composition des fluides hydrothermaux. Ce n'est que récemment, lors de la campagne de Septembre 2016, que la caractérisation complète de la zone acidifiée a été réalisée afin d'être utilisée comme laboratoire naturel (Figure 18) (cf. 2.4.2). A la suite de ce travail, les trois sites connus de résurgences volcaniques en PNG ont été utilisés afin d'identifier une réponse physiologique commune des coraux à l'acidification des océans (cf. 2.4.3).

² Alors que l'acclimatation (réversible) est la conséquence d'une plasticité phénotypique (morphologique, physiologique...) à l'échelle individuelle, l'adaptation (non réversible) est le résultat de la sélection naturelle effectuant un tri sur un ensemble d'individus (une population) présentant des caractéristiques (traits) variables et héréditaires (génétiques).



Figure 18. Photographie sous-marine d'un événement volcanique et des suintements de CO₂ pur dans la baie de Tutum (Île d'Ambitle, Papouasie Nouvelle-Guinée).

2.4.2 Caractérisation du site (Pichler, T., Biscéré, T. et al. 2018)

Synthèse des résultats obtenus

La première caractérisation physico-chimique de la baie de Tutum (Ambitle) a été effectuée lors de la première mission (septembre 2016). Pour ce faire, plusieurs sondes multiparamétriques (mesurant pH, oxygène dissous, pression, salinité, température) ont été déployées sur le site et de nombreux prélèvements d'eau ont été effectués, pour déterminer les différentes concentrations métalliques sur l'aire d'étude.

Les émissions intenses de fluides hydrothermaux et les suintements de CO₂ que l'on trouve dans la baie, exposent les coraux à un pH_T moyen de 7.68 ± 0.14 . Bien que ce pH varie dans la baie, les mesures ont démontré qu'il était majoritairement en dessous des prédictions futures. En effet, seulement 6% des valeurs de pH étaient supérieures à 7.9, contre 38% entre 7.7 et 7.9 et 56% inférieures à 7.7. La forte fréquence de valeurs inférieures à 7.7, ainsi que la large échelle spatiale (6000 m²) et temporelle (plus de 2 millénaires) sur laquelle ont été exposés les coraux font de cette baie, un site idéal pour l'étude de l'acidification des océans sur les récifs coralliens.

Alors que les résurgences volcaniques de CO₂ sont souvent utilisées pour prédire les effets de l'OA sur les coraux, les éléments toxiques qui leur sont associés ne sont que rarement considérés. Les prélèvements réalisés ont permis notamment de déterminer que dans le cas de la baie de Tutum, les enrichissements étaient limités. Bien que l'arsenic (As) soit fortement concentré dans les eaux de surface, sa concentration chute rapidement en raison de sa très forte affinité avec les oxydes de fer déchargés en même temps par les fluides hydrothermaux. En effet, une fois déchargé, l'As(III) s'oxyde en As(V), avant de s'adsorber à ~98.6% sur les oxydes de fer (Price & Pichler, 2005), puis de précipiter sous une forme non biodisponible (Pichler et al., 1999a). Par ailleurs, bien que les concentrations en manganèse, fer ou encore zinc soient plus fortes que dans l'océan, elles correspondent à celles retrouvées en zones côtières.

Cette publication n'entrant pas directement dans la thématique de cette thèse, elle est disponible en annexe.

Publication n°6

Suitability of the shallow water hydrothermal system at Ambitle Island (Papua New Guinea) to study the effect of high $p\text{CO}_2$ on coral reefs

Acceptée (révisions mineures) dans Marine Pollution Bulletin | Août 2018

T. Pichler^{1*}, T. Biscéré², J. Kinch³, M. Zampighi², F. Houlbrèque², R. Rodolfo-Metalpa²

¹ Geosciences, University of Bremen, Klagenfurter Str. 2-4, 28359 Bremen, Germany

² IRD, ENTROPIE (UMR 9220), BP A5, 98848 Nouméa Cedex, New Caledonia

³ National Fisheries College, PO Box 239, Kavieng, New Ireland Province 611, Papua New Guinea

Abstract

Volcanic CO₂ seeps were successfully used to predict coral reef response to ocean acidification, although toxic elements, often characteristic of hydrothermal vents were rarely reported. We measured the physicochemical conditions, seawater carbonate chemistry and trace elements in Tutum Bay, Papua New Guinea. There intense emission of hydrothermal fluid and CO₂ expose the coral reef to a seawater pH_T between 7.6 and 7.7.

Arsenic and silica were enriched by up to six times in surface seawater, while bottom concentrations were lower and thus similar to coral reefs worldwide. Manganese, cesium, iron and zinc concentrations fell into the range of other coastal environments. Our measurements suggest that Tutum Bay is a suitable site to study the response of coral reefs to high $p\text{CO}_2$. Considering that arsenic is a common metal in hydrothermal fluids, its characterization should be included in any study that uses volcanic CO_2 seeps as natural laboratories for ocean acidification.

2.4.3 Effets de l'acidification sur la photosynthèse et la respiration corallienne (RESULTATS PERSONNELS)

Synthèse des résultats obtenus

La publication compile les expériences réalisées durant l'ensemble des missions en PNG sur trois sites de résurgences volcaniques différents : les îles de Normanby, Dobu et Ambitle. Les espèces sélectionnées pour les incubations évoluaient à la fois au sein des résurgences volcaniques (faible pH) et sur les sites contrôles (pH ambiant).

Les résultats, bien qu'en opposition avec la plupart des études réalisées en aquarium sur le court terme, sont en accord avec les quelques travaux effectués *in situ* au niveau des résurgences volcaniques (Inoue et al., 2013 ; Strahl et al., 2015). Ils suggèrent notamment que les coraux symbiotiques seraient pleinement capables de s'acclimater à des $p\text{CO}_2$ élevées et pourraient même en tirer profit. En effet, l'augmentation de la photosynthèse brute chez la quasi-totalité des coraux testés (Figure 20) traduit une meilleure productivité à fortes $p\text{CO}_2$. Celle-ci pourrait découler d'une stimulation de l'incorporation du DIC et notamment des ions bicarbonates, qui prédominent à faible pH (Figure 12), via les nombreux processus actifs existants (anhydrase carbonique, transporteur de bicarbonate, pompe à protons (Barott et al., 2015 ; Bertucci et al., 2013 ; Zoccola et al., 2015). En revanche, huit des espèces testées avaient également des taux de respiration plus élevés aux résurgences qu'aux sites contrôles, suggérant que les conditions de vie à fortes $p\text{CO}_2$ présentent des coûts métaboliques plus importants, comme le serait celui de la calcification (Edmunds, 2012 ; McCulloch et al., 2012).

Toutefois, bien que la photosynthèse des symbiotes soit stimulée par l'acidification des océans, les conséquences d'un événement de mortalité massive, observées lors de la mission de juin 2018, rejoignent la théorie de Noonan & Fabricius (2016), selon laquelle ces bénéfices n'ont aucune importance dans le cas d'un stress thermique. En effet, l'augmentation des températures

engendrant le blanchissement, les coraux hôtes se trouvent alors privés des bénéfices apportés par la stimulation des *Symbiodinium*.

Publication n°5

Metabolic plasticity enable corals to survive to high $p\text{CO}_2$ but not to its combination with heat stress

Soumis à Biology Letters | Septembre 2018

Biscéré T.^{1*}, Zampighi M.¹, Lorrain A.², Jurrians S.³, Houlbrèque F.¹, Rodolfo-Metalpa R.¹

¹ IRD, ENTROPIE (UMR 9220), BP A5, 98848 Nouméa cedex, New-Caledonia

² IRD, LEMAR (UMR 6539), BP A5, 98848 Nouméa cedex, New Caledonia

³ Marine Biology and Aquaculture, College of Science and Engineering, James Cook University, Townsville, QLD, Australia

Abstract

Most of research on ocean acidification has focused on calcification of coral organisms and little is known on its effect on photosynthesis and respiration while they are among the most plastic metabolic processes they may use to acclimatise to adverse conditions. Here, we present data collected during four cruises at three CO_2 seeps in Papua New Guinea during which we measured metabolic plasticity (*i.e.*, *in hospite* photosynthesis and dark respiration) of 12 corals species inhabiting seeps. Despite some species-specific responses, their metabolic rates generally changed at high $p\text{CO}_2$ (ca. 1200 μatm). Gross photosynthesis, dark respiration and their ratio increased, suggesting higher productivity of *Symbiodinium* photosynthesis *in hospite*, and fitness stimulation that may enable these species to thrive in higher seawater $p\text{CO}_2$. However, most of these species did not resist to the mass-mortality event, likely a heat stress, which happened at Upa-Upasina seeps between January 2017 and June 2018. Although our observations are quantitatively limited, we speculate that coral plasticity to ocean acidification was not sufficient to cope with the additional effect of thermal stress.

1. Introduction

On-going increase in atmospheric CO₂, by dissolution into the oceans, leads to ocean acidification (OA), by modifying carbonate chemistry of seawater through the decrease in ocean pH and carbonate, and the increase in bicarbonate and CO₂ concentrations. While these modifications in general, lead to a decrease in net calcification for a panel of marine calcifiers (Kroeker et al., 2010), OA seems like a “fertilizer” for aquatic photoautotrophs such as seagrasses and fleshy macroalgae, increasing their photosynthetic rates (*e.g.* Koch et al., 2013). For symbiotic corals, little is known about the impacts of OA on symbiotic processes of dinoflagellates (*i.e.*, *Symbiodinium*) since they are located within the host (Venn et al., 2009), complicating fluxes between the algae, the host and the external medium (Barott et al., 2015 ; Venn et al., 2009). Studies revealed either a null effect (Comeau et al., 2017), a negative (Anthony et al., 2008) or a positive effect (Noonan & Fabricius, 2016) on *Symbiodinium* photosynthesis *in hospite* with rates ranging from a 47% enhancement, to a total inhibition. Aerobic respiration has been suggested to increase under OA conditions to supply for the increased cost of calcification (McCulloch et al., 2012), yet experimental manipulations showed high variability in coral response to OA (reviewed in Comeau et al., 2017). Responses seems to be species-specific (Barott et al., 2015 ; Comeau et al., 2017 ; Venn et al., 2009), suggesting differential host carbon acquisition pathways, as well as strain-specific (Suggett et al., 2017), with some *Symbiodinium* showing some degrees of environmental tolerance and photosynthetic capacity. To further complicate, treatment conditions differed among studies performed on different temporal scales, with different light levels, and testing only a limited number of species. These limitations make it difficult to perform a synthetic analysis toward a general consensus of the effect of OA. To avoid laboratory limitations, and to test corals which are supposed to be fully acclimatised, and eventually adapted to future *p*CO₂ conditions, we measured on board coral photosynthesis and dark respiration rates of 12 coral reef species, from 8 coral taxa, freshly collected at volcanic CO₂ seeps in Papua New Guinea (PNG), and at ambient conditions. Volcanic CO₂ seeps provide a powerful natural analogue of future conditions (Fabricius et al., 2011 ; Hall-Spencer et al., 2008), and they are considered to be among the most ecologically realistic tools for predicting responses of marine species to OA.

According to the recent findings of Comeau et al (2017), which is one of the most comprehensive study on the effect of short-term exposure to OA on corals and calcified algae, we predicted that both photosynthesis and dark respiration on corals will not be affected by high *p*CO₂.

2. Material and methods

During four cruises between September 2016 and June 2018, we visited three CO₂ seep sites (Figure 19), for which $p\text{CO}_2$ conditions and carbonate chemistry were previously well characterized but also monitored during our fieldworks: Upa-Upasina reef and Dobu Island (Milne Bay) (Fabricius et al., 2011) and Tutum Bay (New Ireland Province) (Pichler & Dix, 1996). The photosynthesis (P_n) and dark respiration rates (R) of 12 coral species found at both reference reefs (*i.e.*, ambient seawater $p\text{CO}_2$) and CO₂ seeps (*i.e.*, high $p\text{CO}_2$) were measured on board under controlled conditions. Only four species were common at least at two seeps. Fragments of corals were incubated in seawater collected from their origin sampling site and incubated at *in situ* temperature (28.4 - 29.7°C) and pH_T (7.73 - 7.75 and 8.02 - 8.13 pH_T) conditions (Tableau 1). A saturating light intensity of 250 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ was used during 45 min followed by a 30-min dark period. At the end of each incubation, fragments were frozen to further determine their *Symbiodinium* and total chlorophyll content ($a + c_2$). All methods are described in detail in electronic supplemental materials. Gross photosynthesis ($P_g = P_n + R$), respiration (R) and their ratio ($P_g:R$), as well as the chlorophyll content were compared between reference and seeps sites using non-parametric Wilcoxon tests. Linear regressions (using a 0.95 CI) were used to assess changes in $P_g:R$ according to pH conditions. All statistical analyses were performed in R v. 3.2.5. Data are presented as mean $\pm$ SD.

3. Results

Gross photosynthesis

Ten of the 12 species collected at seeps showed significantly higher P_g values than at reference sites ($p < 0.05$; Tableau 2) with an averaged P_g values of 1.27 ± 0.24 and $0.78 \pm 0.20 \mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ for seeps and reference corals, respectively. Interestingly, the four species commonly found among seeps showed the same response among sites (Tableau 2). No significant effects were found for *Dipastrea pallida* from Tutum Bay and *Pocillopora verrucosa* from Upa-Upasina. In contrast, *Porites cylindrica*, from Dobu and Upa-Upasina showed a significant negative effect of high $p\text{CO}_2$ with lower P_g rates at seeps ($p < 0.001$; Tableau 2).

Dark respiration

Eight of the 12 species found at seeps showed significantly higher R rates than at reference sites ($p < 0.05$; Tableau 2) with averaged R values of 0.62 ± 0.17 and $0.35 \pm 0.11 \mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$, for seeps and reference corals, respectively. No significant effects were found for six species

($p > 0.05$; Tableau 2). Two species had a higher respiration rates at the control compared to seeps: *P. verrucosa* from Upa-Upasina and *P. cylindrica* from both Dobu and Upa-Upasina. ($p < 0.001$; Tableau 2).

Photosynthesis vs. dark respiration

Regression analyses clearly showed that $P_g:R$ ratio were higher for corals living at seeps when compared to reference sites (Figure 20). Nine of the 12 species collected at seeps showed significantly higher $P_g:R$ ratios than at reference sites ($p < 0.05$; Tableau 2) with an averaged $P_g:R$ ratio of 2.57 ± 0.62 and 1.85 ± 0.29 for seeps and reference corals, respectively. Four species did not show any difference between sites ($p > 0.05$; Tableau 2). In contrast, *D. pallida* and *P. verrucosa* from Tutum Bay showed higher $P_g:R$ ratios at reference site ($p < 0.05$; Tableau 2).

Symbiodinium and chlorophyll

Ten and seven of the 12 species tested showed no significant difference in *Symbiodinium* and chlorophyll content between sites ($p > 0.05$; Tableau 3), respectively. Only two and four species collected at seeps showed respectively higher *Symbiodinium* and chlorophyll content than at reference sites ($p < 0.01$; Tableau 3), respectively. In contrast, four more species showed an opposite trend ($p < 0.05$; Tableau 3).

Tableau 1. Summary of seawater conditions measured at the study sites and used during the coral incubations (Mean ($\pm$ SD)) (see the electronic supplemental materials for details).

Site (no. replicates)	T (°C)	pH _T	pCO ₂ µatm	CO ₂ µmol kg ⁻¹	HCO ₃ ⁻ µmol kg ⁻¹	CO ₃ ²⁻ µmol kg ⁻¹	Ω _{arag}
Tutum Bay							
Reference (18)	29.09 (0.89)	8.12 (0.07)	436 (97)	11 (2)	1667 (59)	203 (24)	4.95 (0.6)
Seep (70)	28.93 (0.9)	7.75 (0.06)	1179 (166)	30 (5)	1927 (31)	99 (12)	2.41 (0.3)
Upa-Upasina							
Reference (24)	29.70 (0.46)	8.02 (0.02)	573 (25)	15 (1)	1777 (14)	175 (6)	4.28 (0.1)
Seep (87)	29.30 (0.53)	7.75 (0.05)	1197 (156)	31 (4)	1960 (30)	102 (12)	2.48 (0.3)
Dobu							
Reference (60)	28.48 (0.25)	8.13 (0.03)	443 (37)	12 (1)	1766 (29)	214 (12)	5.22 (0.3)
Seep (12)	29.38 (0.51)	7.73 (0.01)	1283 (42)	33 (1)	2043 (7)	102 (3)	2.50 (0.1)

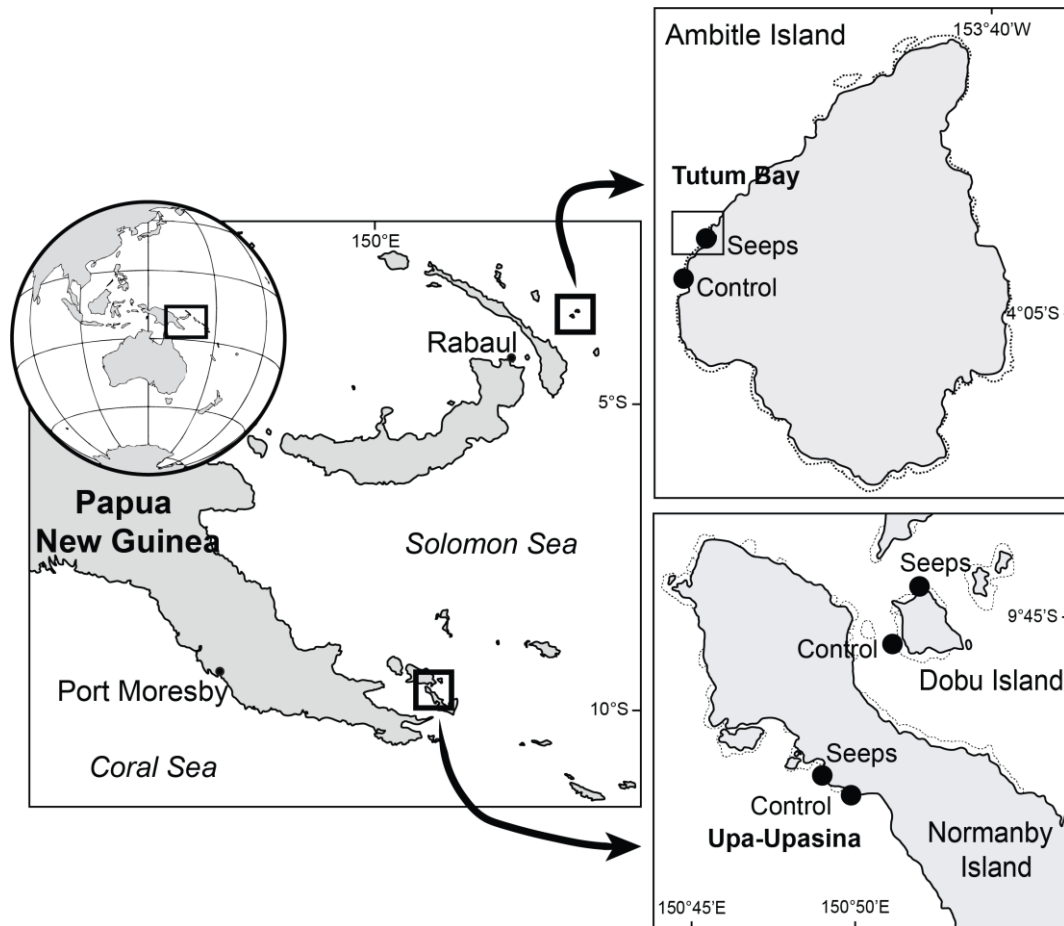


Figure 19. Location of the three study sites in Ambitle and Normanby Islands.

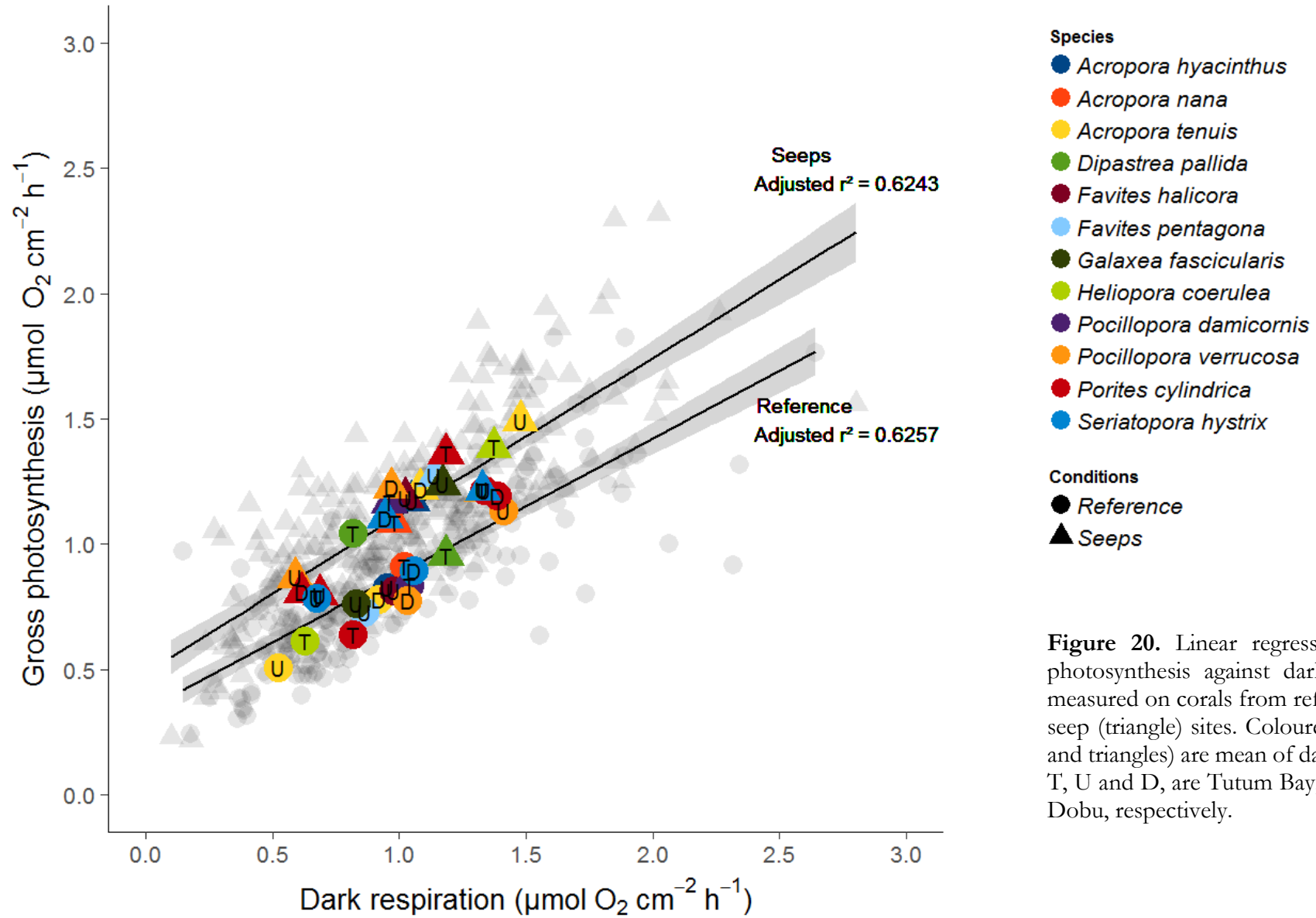


Figure 20. Linear regression of the gross photosynthesis against dark respiration data measured on corals from reference (circle) and seep (triangle) sites. Coloured markers (circles and triangles) are mean of data divided per site: T, U and D, are Tutum Bay, Upa-Upasina and Dobu, respectively.

Tableau 2. Mean ($\pm$ SD) values of the surface area-normalised gross photosynthesis (P_g) and dark respiration (R), P_g :R ratio and statistical significances (Wilcoxon test). Data are per species, per study site (U, T and D are, respectively, Upa-Upasina, Tutum Bay and Dobu) and per treatment (see Table 1 for values of incubation).

Species	Site	Gross photosynthesis			Respiration			P_g :R		
		Ref.	Seeps	<i>p</i>	Ref.	Seeps	<i>p</i>	Ref.	Seeps	<i>p</i>
<i>Acropora hyacinthus</i>	U	0.52 (0.06)	0.74 (0.11)	***	-0.21 (0.01)	-0.23 (0.03)	n.s.	2.50 (0.32)	3.22 (0.37)	*
<i>Acropora secale</i>	T	1.36 (0.13)	1.65 (0.24)	***	-0.64 (0.09)	-0.62 (0.21)	n.s.	2.16 (0.25)	2.93 (0.87)	***
<i>Acropora tenuis</i>	D	0.94 (0.27)	1.47 (0.42)	***	-0.56 (0.19)	-0.72 (0.20)	*	1.72 (0.33)	2.07 (0.39)	**
<i>Acropora tenuis</i>	U	0.57 (0.5)	1.68 (0.44)	***	-0.27 (0.07)	-0.84 (0.23)	***	2.13 (0.45)	2.01 (0.30)	n.s.
<i>Dipastrea pallida</i>	T	0.98 (0.23)	0.90 (0.2)	n.s.	-0.55 (0.22)	-0.80 (0.20)	*	1.95 (0.47)	1.14 (0.11)	***
<i>Favites halicora</i>	U	0.40 (0.11)	0.58 (0.06)	*	-0.26 (0.08)	-0.27 (0.06)	n.s.	1.57 (0.23)	2.22 (0.36)	**
<i>Favites pentagona</i>	U	0.27 (0.05)	0.47 (0.10)	***	-0.19 (0.03)	-0.26 (0.04)	**	1.41 (0.22)	1.75 (0.18)	*
<i>Galaxea fascicularis</i>	U	0.36 (0.09)	0.59 (0.10)	**	-0.19 (0.06)	-0.27 (0.05)	*	1.93 (0.32)	2.21 (0.36)	n.s.
<i>Heliopora coerulea</i>	T	0.63 (0.23)	1.44 (0.20)	***	-0.34 (0.18)	-0.75 (0.22)	***	2.01 (0.49)	2.05 (0.46)	n.s.
<i>Pocillopora damicornis</i>	T	1.13 (0.31)	1.59 (0.44)	**	-0.66 (0.23)	-0.61 (0.17)	n.s.	1.77 (0.36)	2.63 (0.48)	***
<i>Pocillopora verrucosa</i>	D	1.51 (0.56)	2.43 (0.95)	**	-1.01 (0.46)	-0.95 (0.51)	n.s.	1.63 (0.37)	2.87 (0.90)	***
<i>Pocillopora verrucosa</i>	T	0.92 (0.15)	1.42 (0.14)	***	-0.32 (0.10)	-0.63 (0.13)	***	3.13 (0.93)	2.30 (0.30)	*
<i>Pocillopora verrucosa</i>	U	1.76 (0.56)	1.35 (0.55)	n.s.	-1.21 (0.41)	-0.60 (0.33)	***	1.47 (0.14)	2.55 (1.03)	***
<i>Porites cylindrica</i>	T	0.97 (0.21)	2.08 (0.34)	***	-0.47 (0.07)	-0.82 (0.30)	**	2.10 (0.40)	2.75 (0.64)	*
<i>Porites cylindrica</i>	D	1.41 (0.30)	0.96 (0.35)	***	-0.93 (0.22)	-0.41 (0.22)	***	1.54 (0.20)	2.55 (0.72)	***
<i>Porites cylindrica</i>	U	0.93 (0.25)	0.61 (0.32)	***	-0.49 (0.12)	-0.25 (0.15)	***	1.92 (0.32)	2.67 (0.87)	**
<i>Seriatopora hystrix</i>	D	1.05 (0.24)	1.29 (0.22)	*	-0.50 (0.15)	-0.49 (0.16)	n.s.	2.19 (0.40)	2.89 (0.95)	*
<i>Seriatopora hystrix</i>	U	1.01 (0.24)	1.56 (0.37)	***	-0.28 (0.11)	-0.53 (0.16)	***	4.01 (1.58)	3.10 (0.84)	n.s.

Tableau 3. Mean ($\pm$ SD) values of the surface area-normalised *Symbiodinium* ($\times 10^6$ cells cm^{-2}) and chlorophyll content ($\mu\text{g chl cm}^{-2}$) and statistical significances (Wilcoxon test). Data are per species, per study site (U, T and D, are Upa-Upasina, Tutum Bay and Dobu, respectively) and per treatment (Reference and seeps; see Table 1 for values of the incubations).

Species	Site	<i>Symbiodinium</i>			Chlorophyll		
		Reference	Seeps	<i>p</i>	Reference	Seeps	<i>p</i>
<i>Acropora hyacinthus</i>	U	1.236 (0.352)	1.005 (0.285)	ns	9.53 (3.11)	7.97 (2.73)	ns
<i>Acropora secale</i>	T	1.733 (0.636)	1.530 (0.478)	ns	13.59 (3.79)	17.92 (7.36)	ns
<i>Acropora tenuis</i>	D	1.738 (0.666)	1.598 (1.038)	ns	9.22 (3.98)	19.09 (11.40)	*
<i>Acropora tenuis</i>	U	1.626 (0.498)	1.377 (0.503)	ns	10.90 (2.18)	18.70 (6.20)	**
<i>Dipastrea pallida</i>	T	2.847 (0.715)	2.216 (0.407)	*	36.19 (6.49)	38.54 (9.42)	ns
<i>Favites halicora</i>	U	1.347 (0.620)	1.084 (0.278)	ns	17.58 (7.00)	6.66 (1.62)	**
<i>Favites pentagona</i>	U	1.181 (0.516)	1.158 (0.406)	ns	9.17 (4.45)	6.84 (2.35)	ns
<i>Galaxea fascicularis</i>	U	1.871 (0.716)	1.941 (0.386)	ns	18.10 (7.94)	13.85 (4.29)	ns
<i>Heliopora coerulea</i>	T	2.571 (0.485)	1.254 (0.796)	*	23.70 (4.63)	10.51 (4.35)	***
<i>Pocillopora damicornis</i>	T	2.000 (1.122)	2.531 (0.692)	ns	24.17 (5.58)	28.50 (4.67)	**
<i>Pocillopora verrucosa</i>	D	1.768 (0.697)	2.559 (0.661)	*	10.24 (4.57)	15.33 (10.75)	***
<i>Pocillopora verrucosa</i>	T	2.346 (0.953)	2.881 (1.090)	ns	8.30 (7.55)	27.17 (6.47)	ns
<i>Pocillopora verrucosa</i>	U	4.093 (0.101)	2.116 (0.347)	**	4.92 (2.68)	14.11 (2.52)	***
<i>Porites cylindrica</i>	T	4.090 (1.020)	4.594 (0.792)	ns	51.53 (12.41)	75.15 (10.48)	***
<i>Porites cylindrica</i>	D	2.932 (0.839)	2.519 (0.887)	ns	12.38 (5.51)	23.91 (10.13)	***
<i>Porites cylindrica</i>	U	2.195 (0.424)	1.649 (0.294)	*	18.37 (6.56)	14.15 (2.23)	***
<i>Seriatopora hystrix</i>	D	1.856 (0.491)	2.592 (0.550)	*	8.81 (3.94)	17.89 (11.53)	ns
<i>Seriatopora hystrix</i>	U	2.299 (0.556)	1.854 (0.647)	ns	18.44 (6.13)	10.17 (5.13)	***

4. Discussion

During the four cruises performed at three CO_2 seeps in PNG, we performed 217 incubations, with 12 species from 8 different taxa that spent their entire life at high $p\text{CO}_2$. To our knowledge, this study is the most exhaustive attempt to reveal the long-term effect of OA on the metabolic plasticity of tropical corals.

Our results showed that high $p\text{CO}_2$ stimulated corals P_g , suggesting that *Symbiodinium* are CO_2 -limited at ambient $p\text{CO}_2$. Although responses of symbiotic scleractinians seem variable (reviewed in Comeau et al., 2017), we suggest that this variability was a matter of coral acclimation since most of previous studies were conducted using short-term incubations. Our findings are consistent with the few studies performed at CO_2 seeps on one soft and three hard corals (Inoue et al., 2013 ; Strahl et al., 2015) which were fully acclimatised to high $p\text{CO}_2$. The common response observed throughout studies performed at CO_2 seeps suggests that most symbiotic corals are able to acclimatise and might even benefit from high $p\text{CO}_2$ conditions. Clearly, our data contrast with our first initial hypothesis.

Since no change in *Symbiodinium* types was found at seeps (Noonan et al., 2013), either an enhancement of dissolved inorganic carbon (DIC) uptake or an increase in the host membrane diffusivity could explain the coral plasticity. The identification of membrane-bounds carbonic anhydrases, bicarbonate anion transporters and host proton pumps (Barott et al., 2015 ; Bertucci et al., 2013 ; Zoccola et al., 2015), all supplying *Symbiodinium* with HCO_3^- suggest the role of this latter as the stimulating DIC source of coral photosynthesis and calcification.

Higher P_g could partially be due to higher *Symbiodinium* and chlorophyll contents, however only few species showed enhanced cells densities at seeps, while chlorophyll response was puzzling with only five and three species showing respectively significant increase and decrease in their contents at seeps (Tableau 3). The higher P_g measured on corals from seeps could also be associated to extra metabolic CO_2 brought to *Symbiodinium* by the increase in host respiration rates, but that cannot be the only explaining factor since the respiration responses were quite variable among species and $p\text{CO}_2$ conditions (Tableau 2). Among the species showing significant changes in respiration rates at seeps, only two had lower rates, suggesting lower metabolic cost for metabolism maintenance or metabolic depression. In contrast, 8 species had higher respiration rates, likely to counteract the increased cost of functioning at elevated $p\text{CO}_2$, such as the debated cost for calcification (Edmunds, 2012 ; McCulloch et al., 2012), or simply because higher productivity might help corals to boost metabolic processes such as lipid storage, reproduction, protein synthesis, etc. This energetic benefit from CO_2 enrichment was also shown by the $P_g:R$ that increased at CO_2 seeps for 9 species suggesting an increase in fitness that may actually enable these species to thrive in high $p\text{CO}_2$ (Fabricius et al., 2011).

While our results support the stimulating effect of OA on coral productivity, the observations made during the last cruise (June 2018) tend to confirm the findings of (Noonan & Fabricius, 2016) who experimentally demonstrated that such benefits had little effect on coral

survival face to heat stress because of coral bleaching. Indeed, at Upa-Upasina, a massive coral mortality event happened between January 2017 and June 2018, during which all the corals tested in this study were found dead, except the two *Favites* spp. According to previous reports at this site (Fabricius et al., 2011 ; Noonan & Fabricius, 2016) it seems that coral bleaching is quite frequent in this area. Therefore, although OA alone stimulates coral productivity, its combination with global warming seems to lead to a strong decrease in coral diversity (Fabricius et al., 2011). OA and global warming being closely linked, that highlights the necessity to cross them if we want to better predict the future of coral reef under climate change.

Supplementary Material and methods

Site description and sampling

This study was conducted during four cruises in Papua New Guinea during September 2016 (Ambitle); October (Normanby and Dobu); January (Normanby); May 2017 (Ambitle); and finally June 2018 (Normanby) using either the R/V Alis or the diving boat Chertan. We used corals living at the two well-known CO₂ seeps located at the Upa-Upasina Reef and Dobu Island (Normanby Island, Milne Bay Province; Fabricius et al., 2011) and the relatively new Tutum Bay (Ambitle Island, New Ireland Province; Pichler & Dix, 1996) (Figure 19). For the two sites located in Milne Bay the seawater carbonate chemistry of these seeps were previously well characterised by tens of studies performed after the study of Fabricius et al. (2011). In contrast, Tutum Bay were firstly described by several papers after (Pichler & Dix, 1996) but a complete description of the seawater carbonate chemistry was only recently described by (Pichler et al., s. d.). Therefore, the three seeps sites are the best natural setting we dispose today to study the effect of ocean acidification on coral reefs. Seeps were shallow (1-8 m depth), and had similar gas composition and seawater pH fluctuations. At each seep site, we defined an area at 2-4 m depth where the averaged pH fluctuations were 7.7-7.8 p_{H_T} units as measured using SeaFETs (data not shown). In these areas, and also at the reference sites, we therefore selected the coral species living at the same depth. Unfortunately, it was difficult to find the same species at both the three seeps, which would greatly improve the scope of this study. We found that *Porites cylindrica* and *Pocillopora verrucosa* were the only species common at the three vent sites, while both *Acropora tenuis* and *Seriatopora hystrix* were common in Upa-Upasina and Dobu.

For each species, one apex or fragment (3-5 cm long) were collected from different mother colonies by SCUBA diving using a plier, at both the seep and reference sites. Samples were transported in individual zip-lock bags to the vessel within 15-min of collection. They were allowed

to recover for 2-h after collection in aquaria using a recirculating water system containing seawater from the sites of collection at controlled light ($200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and temperature (within 0.5°C of *in situ* habitat temperature) conditions. In all, sixteen incubations were performed using 12 different species (Tableau 2). The number of replicates we used varied from 7 to 15 for each species and incubation. The fact that we could not compare data among seeps for all the species (only four were found common at the three study sites) should not be interpreted as a site-specific effect of CO_2 emissions. Indeed, it is likely that most of the species we used were actually common among seeps but the time available during our fieldworks has never been sufficient to allow us to perform an extensive screening of species (seep and reference at the same time) among sites. In addition, we used only species for which we were absolutely sure, based on their skeletal inspection, about the identity at the species level.

Photosynthetic and dark respiration rates

After recovering, fragments were transferred to individual small glass chambers (115 mL volume) which were semi-immersed in a water bath. The water bath contained two 15-place magnetic stirring plates (Telesystem 15, Thermo Scientific); one heater (Visitherm 300W, Aquarium systems), and two water pumps (MiniJet, Aquarium Systems) to homogenize the water temperature inside the water bath ($\pm 0.5^\circ\text{C}$). Seawater inside the water bath was recirculated through a chillers (Resun CL-600, China). Prior incubation, all the chambers containing the coral fragments were immersed in a common large tank containing seawater collected either at the seep and/or at the reference sites. They were sealed underwater (*i.e.* no air inside) using an alimentary transparent film and a rubber band, and incubated during 40 min under saturating light of ca. $250 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, followed by a 30 min incubation in the darkness (*i.e.*, dark respiration). A 30-min dark transition time occurred before the dark incubation to allow rates to stabilise to dark conditions. Light was provided by a LED Mitras LX 6100 (GHL, Germany) and verified with a Li-Cor 4π spherical underwater quantum sensor (LI-193SA). Dark conditions were created by black-out material placed over the incubation chambers.

Each chamber was equipped with an O_2 sensors spot to allow an optical measure of dissolved oxygen using a Fibox 4 transmitters (PreSens, Germany) (Johnson et al., 2014). Dissolved oxygen, and temperature were measured in each chamber at the beginning and at the end of the incubations. Total alkalinity and pH_T were measured (see below) at the beginning of the incubation on the common water tank. Since the seawater used for the incubations was not filtered, for each incubation seawater microbial or plankton activity was accounted to the final oxygen changes using three control chambers which were left without corals. Preliminary tests showed that the

combination of sample size, duration of the experiment and volume of the incubation chamber was suitable to obtain a change of maximum 30% of the initial oxygen concentration during the incubation. At the end of the incubations, coral samples were collected and frozen at -20°C for further analysis their chlorophyll content and surface area (see below); the volume of the chamber was accurately measured.

Net photosynthesis (P_n) and dark respiration (R) were determined by changes in oxygen for each incubation chamber during the light and dark incubations respectively (equation 1), corrected for any changes in oxygen of the three seawater controls:

$$P_N \text{ and } R (t) = \frac{\left[\frac{(\Delta O_2) \cdot V}{I_t \cdot SA} \right]}{1000} \quad [1]$$

where V = volume of seawater (L) within the incubation chamber, I_t is incubation time, SA is the coral surface area (cm^2).

Gross photosynthesis (P_g) was calculated by the addition of P_n and R . They were normalized by unit surface area and calculated in $\mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ after subtracting the values measured in the blank chambers. Coral surface areas were measured using the single wax-dipping method described in Stimson & Kinzie (1991) after removing the tissue with an air pick for *Symbiodinium* density and chlorophyll concentrations measurements and drying the skeleton in an oven at 55°C.

Symbiodinium and chlorophyll content

At the end of the incubations, fragments were frozen on board at -20°C. They were, then, stocked in dry ice and transferred from Papua to Nouméa (New-Caledonia) by plane in two days, or transported at -20°C on board the R/V Alis. Tissue was removed using an air pick and the slurry was homogenised with a Potter tissue grinder. For each sample, the number of *Symbiodinium* was counted five times by light microscopy using a Neubauer's cell. Ten mL of the slurry was used to extract chlorophyll a and c_2 in 100% acetone in the dark (24 h at 4°C). The extracts were centrifuged at 10,000 g for 15 min and the absorbances were read at 630, 663, 750 nm. Chlorophyll concentrations were computed according to the spectrometric equations of Jeffrey & Humphrey (1975). All measurements were normalized by unit surface area, which was determined using the method than above. Chlorophyll a and c_2 are given as total chlorophyll.

Seawater carbonate chemistry during incubations

Seawater carbonate chemistry of seawater used during the incubations at Reference and Seep conditions was assessed by measuring temperature, salinity and pH_T (in total scale) at the beginning of each incubation on the water tank used to seal the chambers (mean of three measurements). Salinity was measured using an YSI MPS 556 probe. A pH meter with a glass electrode (Methler 826 pH mobile) which was calibrated with Tris referenced solutions (Dickson et al., 2007; batch T28) was used. Seawater carbonate parameters [pCO_2 , CO_3^{2-} , HCO_3^- , and saturation state of aragonite (Ω_{arag})] were calculated from pH_T , mean total scale (A_T), temperature and mean salinity (34) using the free-access CO₂SYS package (Pierrot et al., 2006). Total alkalinity was measured at the beginning of the experiment in Tutum Bay and Upa-Upasina ($A_T = 2211$ and $2172 \mu\text{mol kg}^{-1}$, $n = 27$ and 36 , respectively) and derived from (Fabricius et al., 2011) for Dobu ($A_T = 2293 \mu\text{mol kg}^{-1}$). It was calculated from the Gran function applied to pH variations from 4.2 to 3.0 as mEq L^{-1} from the slope of the HCl volume versus pH curve. Readability was verified by titrations of A_T standards provided by A.G. Dickson (batch 155). Data are mean $\pm$ SD (in brackets).

Statistical analysis

Because the requirement of homogeneity of variance was not satisfied for all the species even after data transformation, the gross photosynthesis (P_g), dark respiration (R) and their ratio ($P_g:R$) were compared between reference and seeps sites using the non-parametric Wilcoxon test. Linear regressions among were used were used to assess the changes in $P_g:R$ according to pH conditions. All the statistical analysis were performed R v. 3.2.5. All data are presented as mean $\pm$ SD if not differently specified.

Ethics

Experiments were realized in agreement with PNG governmental institutions and local communities. Coral sampling were allowed by CITES (permits no. 016232 and 017027).

Competing interests

Authors have no competing interests to declare.

Authors' contributions

TB MZ AL SJ FH RRM performed the experiments; TB RRM FH MZ SJ participated to the data analysis; TB performed statistical analysis; TB RRM wrote the paper. All authors helped draft the manuscript and gave final approval for publication.

Acknowledgements

We are grateful to the local populations for the access to their reef, and to the National Research Institute, the Milne Bay Provincial Research Committee, the New Ireland Provincial Administration, and the Conservation and Environment Protection Authority of Papua New Guinea for permits. We are indebted with Ralph Mana, Jeff Kinch, M. Hoogenboom, K. Fabricius, S. Noonan, F. Benzoni, and T. Shlesinger for academic, taxonomic and field assistance. Thanks to the crew of the R/V Alis and of the diving boat Chertan.

Funding

This study was funded by the French National Research Agency (ANR, project CARIOCA no. ANR15CE02-0006-01, 2015), by Fonds Pacifique (project AMBITLE no. 1598, 2016), and by the Flotte Océanographique Française for using the research vessel Alis. T. Biscéré was beneficiary of a PhD grant (CIFRE no. 2015/0301, France) supported by the Koniambo Nickel SAS and Ginger Soproner companies in New Caledonia. This is the IRD Entropie contribution no xxx.

Chapitre 3

Les coraux face aux pressions
locales : le cas particulier des
métaux

CHAPITRE 3 | LES CORAUX FACE AUX PRESSIONS LOCALES : LE CAS PARTICULIER DES METAUX

Alors que les récifs coralliens doivent déjà faire face aux changements climatiques globaux (cf. chapitre précédent), de nombreux facteurs locaux perturbent également leur équilibre. Ceux-ci sont liés à toutes sortes d'activités et peuvent affecter les coraux directement ou indirectement (Luoma, 2017). Parmi elles, on peut compter les méthodes de pêches destructrices, telles que la pêche à la dynamite, très pratiquée en Indonésie par exemple (Edinger et al., 1998). La surpêche représente également une pression importante en raison des conséquences liées à la suppression d'un maillon trophique, impliquant généralement le surdéveloppement d'un autre et la déstabilisation de l'équilibre écosystémique précaire. Par exemple, la surpêche des prédateurs apicaux peut induire une prolifération des espèces corallivores ou encore, la surpêche des herbivores peut conduire à une prédominance progressive des algues sur les coraux (Burkepile & Hay, 2008). Les projets de construction sont également responsables de la disparition de pans entiers de récifs, soit par la construction elle-même dans le cas d'extensions aéroportuaires par exemple, soit par la fabrication des matériaux de construction (Cesar, 1996). Ces dernières ainsi que la déforestation, l'exploitation minière, l'agriculture intensive ou encore l'urbanisation sont tout autant d'activités qui conduisent indirectement au relargage d'importantes quantités de nutriments, d'éléments chimiques et surtout de sédiments qui nuisent au développement des récifs (Fabricius, 2005). En effet, une charge sédimentaire trop élevée dans la colonne d'eau représente une menace importante, en réduisant tout d'abord la quantité de lumière disponible pour permettre aux symbiotes de réaliser leur photosynthèse (Wilkinson, 1999). La sédimentation de cette matière en suspension étouffe les tissus coralliens, les coraux doivent s'en débarrasser et cela induit un coût énergétique supplémentaire (Richmond et al., 2018). Alors que les coraux adultes semblent plus ou moins tolérants à la sédimentation selon les espèces, les jeunes stades de vie sont, eux, fortement impactés (Fabricius, 2005). Une forte charge sédimentaire réduit le pouvoir reproducteur des coraux en s'adsorbant par exemple aux œufs libérés dans la colonne d'eau et en les faisant sédimenter trop rapidement (Richmond et al., 2018). Une fois sédimentées, les particules constituent un substrat meuble pouvant être remis en suspension à tout moment et sur lequel, les larves ne peuvent pas s'établir pour former un squelette (Fabricius, 2005). Enfin, les sédiments transportent de nombreux composés (pesticides, métaux, dérivés pétroliers) qui, une fois dans l'eau de mer, peuvent se dissocier et impacter les récifs.

Parmi les pressions anthropiques, l'eutrophisation des eaux côtières est une des formes de pollution les plus nuisibles aux récifs coralliens. L'urbanisation ou l'agriculture intensive sont les principales sources anthropiques d'azote et de phosphore via les rejets des eaux usées, les fertilisateurs ou encore les fermes aquacoles (Conley et al., 2009 ; Smith et al., 2003 ; Tilman et al., 2001). Les récifs coralliens étant très bien adaptés à de très faibles concentrations de nutriments, dès lors que celles-ci sont trop élevées, les coraux en sont impactés de différentes manières. Il en résulte le plus souvent une diminution de la couverture corallienne et l'augmentation concomitante des algues (Vermeij et al., 2010). Ces modifications de dominances en défaveur des coraux ont pu être observées dans de multiples récifs à travers le monde : Caraïbes, GBR, Nouvelle-Calédonie, Mer Rouge (Cheal et al., 2010 ; Haas et al., 2010 ; Mumby, 2009 ; Vieira et al., 2015). Les algues étant des producteurs de carbone organique dissous, substrat principal des bactéries pathogènes coralliennes, l'eutrophisation se trouve être également un vecteur de propagation de nombreuses maladies (Haapkylä et al., 2011 ; Zaneveld et al., 2016). Par ailleurs, un autre effet indirect possible de l'enrichissement en nutriments serait la prolifération très importante d'*Acanthaster sp.*, un échinoderme corallivore responsable de la dévastation de récifs entiers comme sur la GBR (De'ath et al., 2012).

Les effets directs des nutriments sur la physiologie corallienne sont encore mal compris, car ils dépendent énormément de la forme azotée considérée (nitrate ou ammonium), des niveaux de nutriments testés et de l'état physiologique des coraux (Ezzat et al., 2016 ; Fabricius et al., 2013). Un enrichissement simultané en azote et en phosphate favorise davantage les symbiotes (avec augmentation de la concentration en chlorophylles et en symbiotes) par rapport à l'hôte corallien (e.g. Ezzat et al., 2015, 2016 ; Muscatine et al., 1989). Un enrichissement isolé en ammonium a un effet neutre ou stimulateur sur la physiologie corallienne, en augmentant la photosynthèse des *Symbiodinium*, ainsi que leur croissance et celle de l'hôte (Beraud et al., 2013 ; Meyer et al., 1983). Par contre, il a été mis en évidence qu'un enrichissement en nitrate seul est néfaste à la fois pour la photosynthèse et la calcification des coraux (Ezzat et al., 2015 ; Marubini & Davies, 1996). Quant au phosphate, son enrichissement favorise à la fois la croissance des *Symbiodinium* et de l'hôte (Ezzat et al., 2016 ; Godinot et al., 2011) et peut augmenter la résistance des coraux aux stress (Ezzat et al., 2016 ; Tchernov et al., 2004). Les derniers travaux suggèrent que les effets bénéfiques d'un apport en sels nutritifs face au réchauffement des océans dépendent surtout des concentrations, de la forme azotée ajoutée, du temps d'exposition aux nutriments, du rapport N/P (Beraud et al., 2013 ; Ezzat et al., 2015, 2016 ; Pogoreutz et al., 2017 ; Wiedenmann et al., 2013) ou des caractéristiques intrinsèques des coraux, telles que le type ou la densité des symbiotes (Ezzat et al., 2017 ; Wooldridge, 2013).

La généralisation de l'agriculture intensive et la démocratisation des produits phytosanitaires ont également apporté au milieu côtier de nombreuses substances chimiques. La plupart des études menées en zone tropicale dans les années 2000 se concentrent sur la toxicité des composés organochlorés en raison de leur durée de vie dans l'environnement (van Dam et al., 2011), cependant, aujourd'hui, les préoccupations se tournent davantage vers les nouvelles générations de produits tels que les organophosphatés ou le glyphosate. De nombreuses études ont montré l'omniprésence des herbicides sur les récifs (*e.g.* Lewis et al., 2009 ; Packett et al., 2009 ; Shaw et al., 2009) et mettent en avant leurs effets négatifs sur tous les stades de vie, inhibant la photosynthèse, la respiration, la calcification, la fertilisation ou encore la métamorphose des larves (van Dam et al., 2011).

Enfin, ayant de multiples sources, l'apport d'éléments traces métalliques (ETMs) au milieu marin peut être considérable sur certains récifs. D'un point de vue biologique, les métaux peuvent être classifiés en deux grandes familles. Les métaux essentiels (fer, manganèse, cobalt...), dont la présence est une nécessité car ils assurent des fonctions primordiales au sein de tous les organismes vivants et qui deviennent toxiques au-delà d'un certain seuil, et les métaux non-essentiels (plomb, mercure, arsenic...), qui sont toxiques par essence puisqu'ils ne possèdent aucun rôle fonctionnel connu. Pourtant, en dépit de leur potentiel bénéfique, relativement peu d'études ont porté sur leurs effets en comparaison de l'impact des sédiments ou de la disponibilité en sels nutritifs.

3.1 Généralités sur les métaux

3.1.1 Les sources d'enrichissements et les principaux pays concernés

Les métaux rejoignent le milieu océanique grâce à différentes voies naturelles. Les sources les plus importantes sont les fleuves, qui concentrent les éléments présents dans leurs bassins versants tout au long de leur tracé. Leur débit très élevé représente les flux les plus importants. Les apports atmosphériques représentent également une source majeure via le transport éolien des particules généralement inférieures à 10 µm (Libes, 2011). Le volcanisme contribue ponctuellement très fortement à la charge des apports atmosphériques (Olgun et al., 2011). Ces derniers sont transférés à la surface océanique via deux processus, d'une part, les dépôts secs qui se déposent par gravitation lorsque les vents faiblissent et d'autre part, les dépôts humides qui sont précipités dans l'océan par la pluie (Queguiner, 2011). Par exemple, parmi le million de tonnes de poussières émises par la Chine annuellement, près de 50% seraient transportées dans l'océan Pacifique (Pan & Wang, 2012). Enfin, les infiltrations d'eaux souterraines ou les sources hydrothermales peuvent constituer

des sources importantes dans certaines régions et pour certains métaux spécifiques comme le fer, le zinc ou le manganèse (Libes, 2011 ; Tagliabue et al., 2010). Une estimation des flux de chacune de ces sources est donnée dans le Tableau 4 (Queguiner, 2011). Ces apports naturels constituent initialement le fond géochimique, c'est-à-dire la concentration naturelle en ETMs dans un environnement non impacté.

Tableau 4. Flux élémentaires (moles an⁻¹) entrant dans l'océan mondial et excluant les apports anthropiques.

Elément	Apports fluviaux (particulaire + dissous)	Flux atmosphériques (particulaire + dissous)	Hydrothermalisme (dissous)
Fer	13.3 x 10 ¹²	0.065 x 10 ¹²	2.3-19 x 10 ¹⁰
Manganèse	30 x 10 ¹⁰	0.14 x 10 ¹⁰	1.1-3.4 x 10 ¹⁰
Nickel	2.4 x 10 ¹⁰	<0.12 x 10 ¹⁰	-
Cobalt	0.56 x 10 ¹⁰	0.004 x 10 ¹⁰	6.6-68 x 10 ⁵
Chrome	3.1 x 10 ¹⁰	<0.010 x 10 ¹⁰	-
Cuivre	2.5 x 10 ¹⁰	0.06 x 10 ¹⁰	3-13 x 10 ⁸
Zinc	6.0 x 10 ¹⁰	0.31 x 10 ¹⁰	0.12-0.32 x 10 ¹⁰

Cependant, ces apports naturels peuvent être nettement augmentés par les activités anthropiques. En effet, si la lixiviation³ des sols par la pluie, puis le charriage des éléments par les fleuves sont des processus tout à fait naturels, les concentrations métalliques dans les sols peuvent être fortement enrichies, par exemple, par les produits phytosanitaires utilisés dans l'agriculture (Tableau 5). De même, les rejets de gaz chargés en ETMs comme les échappements, les fumées d'incinérateur à ordures ménagères ou d'usine à charbon enrichissent énormément les apports atmosphériques. De plus, la mise à nu des sols, à travers l'agriculture intensive, la déforestation, les exploitations minières à ciel ouvert ou encore l'urbanisation, augmente exponentiellement les phénomènes d'érosion éolienne et/ou hydrique (Fabricius, 2005). Enfin, l'omniprésence des métaux dans la vie quotidienne conduit à des rejets massifs, via par exemple les peintures antifouling des bateaux ou encore les effluents domestiques ou industriels, qui sont très peu traités dans les pays en voie de développement où se concentrent majoritairement les récifs coralliens (Tableau 5).

³ On appelle lixiviation, le lessivage d'éléments solubles au cours du contact d'un solvant avec un substrat solide. Le ruissellement et l'infiltration des eaux de pluies sur ou dans les roches et sédiments permettent la dissolution de certains composés chimiques

Tableau 5. Sources industrielles et agricoles de métaux

Utilisations	Éléments
Batteries et appareils électriques	Cadmium, mercure, plomb, zinc, manganèse, nickel
Pigments et peintures	Cadmium, mercure, plomb, zinc, manganèse, chrome, aluminium, cuivre, fer
Alliages et soudures	Cadmium, plomb, zinc, manganèse, nickel, cuivre
Biocides	Mercure, plomb, cuivre, zinc, manganèse
Agents de catalyse	Nickel, mercure, plomb, cuivre
Verre	Manganèse
Engrais	Cadmium, mercure, plomb, zinc, manganèse, chrome, aluminium, cuivre, nickel
Matières plastiques	Cadmium, plomb
Textiles	Chrome, fer, aluminium
Raffineries	Nickel, plomb, fer, manganèse, zinc
Carburants	Nickel, mercure, cuivre, fer, manganèse, cadmium

L'enrichissement métallique des eaux côtières est un phénomène répandu. Certains pays, tels que l'Inde, la Chine ou l'Indonésie, abritant les industries les plus polluantes, comme celles du textile, et dont les eaux usées sont mal traitées, présentent des concentrations en métaux très importantes (*e.g.* Baum et al., 2015 ; Chen et al., 2010 ; Jayaraju et al., 2009 ; Pan & Wang, 2012 ; Wang et al., 2012). Le nord de la Mer Rouge est également une zone particulièrement concernée par les enrichissements métalliques en raison de l'exploitation pétrolière, de l'activité maritime ou encore de la forte densité de population sur son littoral (Ali et al., 2011 ; El-Sorogy et al., 2012 ; Madkour et al., 2013). Les concentrations en métaux dissous mesurées dans la zone côtière de différents pays de la ceinture tropicale sont données dans le tableau suivant (Tableau 6).

3.1.2 Spéciation des métaux

La spéciation des éléments métalliques répond à un équilibre complexe qui dépend de nombreux paramètres biotiques et abiotiques comme la température, l'oxygénation, ou le pH de l'eau (Allen, 1993). Cet équilibre est en perpétuelle évolution et s'effectue à travers différents types de réactions pouvant être instantanées (adsorption, désorption), rapides (floculation, hydrolyse) ou lentes (minéralisation de la matière organique, dissolution), cela correspond au cycle biogéochimique des métaux. Au cours de ce cycle, ils peuvent être classés dans deux fractions selon leur taille (Bruland & Lohan, 2006) : une fraction particulaire ($>0.45\mu\text{m}$), associée à de la matière organique (vivante ou non) ou inorganique et une fraction dissoute ($<0.45\mu\text{m}$), notamment sous

forme de cation libre dans la colonne d'eau ou de complexes micromoléculaires inorganiques. La faculté des métaux à faire partie d'une de ces deux fractions dépend entre autres de leur état d'oxydation. Le degré d'oxydation représente le nombre de charges électriques pouvant être présentes sur le métal en question. Ce nombre varie d'un métal à l'autre. Bien que les ETMs possèdent, selon l'environnement, un degré d'oxydation auquel ils sont principalement retrouvés, celui-ci évolue constamment en réponse à des réactions photochimiques et biologiques. Le niveau d'oxydation du métal influencera fortement sa biodisponibilité en jouant sur sa capacité à former des complexes avec la MOD (Millero et al., 2009). En effet, certains états se complexeront facilement à la matière organique (Mn(III), Mn(IV), Cr(III)...), tandis que d'autres seront davantage solubles et disponibles (Mn(II), Cr(VI)...).

Tableau 6. Aperçu des intervalles de concentrations de la fraction dissoute des métaux étudiés sur différents récifs à travers le monde.

Région	Éléments traces métalliques $\mu\text{g L}^{-1}$						
	Zn	Cu	Co	Fe	Ni	Mn	Cr
Papouasie ¹ Ambitle	0.33-1.02	0.25-0.34	0.03-0.04	15.1-46.7	1.82-1.87	1.66-11.2	-
Thaïlande ² Golf nord-ouest	0.30-1.73	0.46-2.08	0.01-0.40	-	0.26-4.20	-	0.01-0.22
N^{elle}-Calédonie ³ Nouméa	-	0.02-1.63	0.01-0.13	0.08-2.65	0.13-7.10	0.13-2.53	-
Nord Mer Rouge ⁴	7.18-104	1.51-5.23	0.21-19	28.35-173	2.33-32.51	3.21-63	1.53-2.83
Inde ⁵ Baie du Bengale	0.10-3.55	0.44-1.98	0.03-0.19	0.78-3.71	0.02-3.56	0.72-7.34	-
Singapore ⁶	0.97-3.66	0.23-1.16	-	-	0.28-0.78	-	0.65-2.72
Australie ⁷ Grande barrière	0.02-2.19	0.15-1.04	0.01-0.07	0.14-34.1	0.01-0.55	-	-
Inde ⁸ Côte ouest	10.8-64.4	4.02-11.3	0.25-0.43	-	0.99-1.51	-	-
Bornéo ⁹	0.07-0.12	1.41-4.41	-	1.62-2.61	0.40-1.90	0.13-0.86	-
Taïwan ¹⁰	1.28-1.43	4.89-9.47	0.29-0.36	0.22-0.45	0.31-0.34	8.57-10.8	0.05-0.07
Iran ¹¹ Golfe Persique	0.22-0.88	1.31-3.95	0.26-0.86	-	3.33-5.92	1.10-2.94	0.13-0.48

(1) cf. 2.4.2 ; (2) Censi et al., 2006 ; (3) Moreton et al., 2009 ; (4) Ali et al., 2011, El-Sorogy et al., 2012 ; (5) Rejomon et al., 2008, 2010 ; Srichandan et al., 2016 ; (6) Cuong et al., 2008 ; (7) Haynes & Johnson, 2000 ; Munksgaard & Parry, 2001 ; (8) Krishnan et al., 2007 ; (9) Mokhtar et al., 2012 ; (10) Chan et al., 2014 ; (11) Ranjbar Jafarabadi et al. 2018

Ainsi, la transition des métaux dans un milieu aqueux entraînera une modification de sa spéciation, qui aura notamment pour effet de libérer une partie du métal sous forme libre, ce qui représentera la fraction dissoute. Celle-ci, souvent peu stable, est particulièrement susceptible de former des complexes avec des ligands inorganiques, comme les ions carbonates (CO_3^{2-}), hydroxydes (OH^-) ou chlorure (Cl^-), et organiques comme les matières humiques. Ainsi, la proportion de métaux faisant partie de la fraction dissoute représente une part très faible de la concentration métallique totale, en raison de leur forte capacité à se complexer à la matière particulaire (Hoffmann et al., 2012). C'est pourquoi la fraction particulaire de la plupart des métaux peut facilement représenter plus de 90% des concentrations totales en ETMs (e.g. Baars & Croot, 2011 ; Rue & Bruland, 1995 ; Saito et al., 2005). Le phénomène de complexation entre la matière organique dissoute (MOD) et les métaux, en plus d'être étroitement lié aux paramètres physico-chimiques du milieu, dépend également du type et de la quantité de MOD disponible (Miller & Miller, 2007).

3.1.3 Biodisponibilité des métaux

En raison de leur faible solubilité, de la complexation avec la MOD et de la demande biologique très forte, les concentrations en ETMs sont souvent très faibles à la surface des océans, majoritairement de l'ordre du nano- voire du picomolaire. Par exemple, les concentrations en fer dans l'océan ouvert sont d'environ 20 ng L^{-1} et peuvent atteindre 200 à 600 ng L^{-1} sur les côtes (Kuma et al., 1998). Différents profils verticaux définissent la distribution des métaux dans l'eau. Les métaux intervenant dans les organismes vivants suivent majoritairement ce que l'on appelle un profil de type nutritif (Figure 21 ; Butler, 1998) et sont contrôlés par plusieurs facteurs comme l'assimilation par le plancton, l'exportation hors de la couche de surface ou la reminéralisation dans les eaux profondes. Toutefois, certains suivent également un profil de *scavenging*, comme le cobalt ou le manganèse, caractérisé par leur forte adsorption sur les particules. Enfin, d'autres, comme le fer, suivent un profil hybride à mi-chemin entre le profil nutritif et de *scavenging* (Queguiner, 2011). Les concentrations de la plupart de ces métaux sont par conséquent plus faibles en surface. Les eaux profondes plus concentrées seront remobilisées au niveau des upwellings (Hoffmann et al., 2012) et enrichiront donc localement en métaux les eaux de surface.

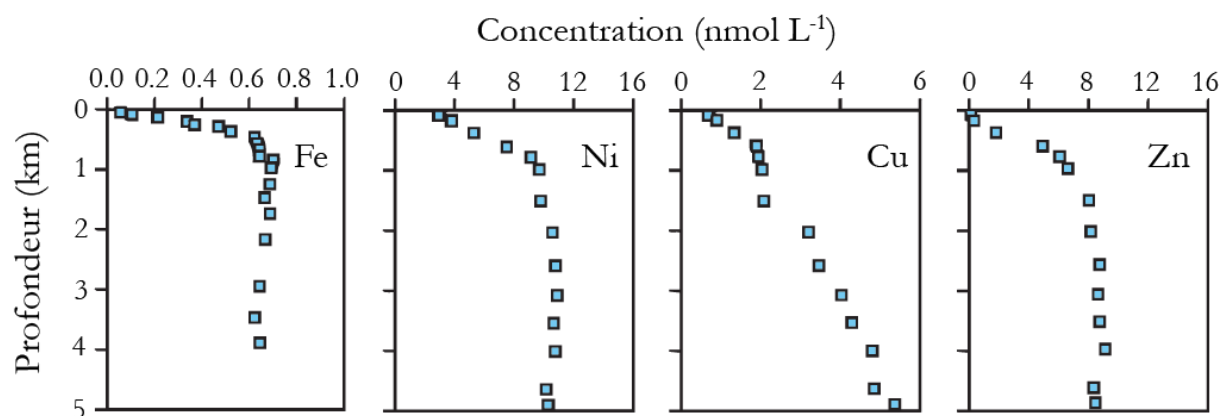


Figure 21. Profil vertical nutritif du fer, du nickel, du cuivre et du zinc.

©

Butler, 1998

Une des raisons pour lesquelles uniquement la fraction dissoute a été étudiée durant cette thèse, tient au fait que l'on considère les formes libres comme les plus biodisponibles et également responsables de la toxicité des ETMs (Campbell et al., 1995 ; Fairbrother et al., 2007). Bien que la fraction dissoute ne concentre qu'une faible partie de la concentration totale en métaux, son étude apparaît la plus adaptée dans le cadre d'une évaluation des risques pour les coraux. Cependant, il ne faut pas négliger le rôle direct et indirect de la fraction particulaire. En effet, alors que la nutrition hétérotrophe permet aux coraux d'acquérir les métaux via le plancton ou la matière détritique qu'ils ingèrent (Ferrier-pagès et al., 2018 ; Howard & Brown, 1984), cette fraction particulaire joue également un rôle très important dans le cycle biogéochimique des métaux. A travers la sédimentation de la matière en suspension, la fraction particulaire transporte les ETMs jusqu'aux sédiments, à l'intérieur desquels ils sont piégés et où leur oxydation permettra de remettre en solution une fraction significative des métaux. Ce processus est appelé la remobilisation diagénétique et peut représenter une source majeure en milieu côtier, où les sédiments, riches en matières organiques, représentent un environnement particulièrement propice à la régénération des métaux (Libes, 2011).

3.2 Les métaux et les coraux

3.2.1 Processus de bioaccumulation

Une des principales particularités des ETMs est leur très longue persistance dans l'environnement induisant un processus de bioaccumulation dans les organismes (Tableau 7). Les risques liés à cette bioaccumulation sont notamment de deux ordres : le dépassement des seuils de toxicité et l'accumulation exponentielle dans la chaîne trophique.

Le mode d'acquisition des métaux par les coraux est un mécanisme complexe et peu étudié. Alors qu'une partie de cette acquisition se fait à travers la nutrition hétérotrophe (Ferrier-pagès et al., 2018), les coraux ont également la capacité d'incorporer la fraction dissoute à la fois passivement et activement depuis leur environnement. Cette double capacité a été mise en évidence par exemple pour le zinc, grâce à l'utilisation de radiotraceurs (^{65}Zn) (Ferrier-Pagès et al., 2005). Le transport serait actif en dessous d'une concentration de $32.6 \mu\text{g Zn L}^{-1}$, et passif au-delà. La très forte affinité des coraux pour le zinc ($K_m^4 = \sim 1.83 \text{ ng L}^{-1}$) démontre par ailleurs qu'ils sont parfaitement adaptés à sa très faible concentration dans l'océan. Certains métaux semblent être incorporés plus efficacement que d'autres, à l'instar du zinc qui possède un facteur de concentration⁵ (CF) de 658.7 (Houlbrèque et al., 2012) contre seulement 493 pour le nickel (Hédouin, Metian, et al., 2016). De même, les travaux de Metian et al. (2015) démontre une meilleure incorporation de l'argent et du cobalt (CF = 4997 et 693.2) par rapport au zinc ou au manganèse (CF = 153.6 et 55.2). Comme cela a déjà été démontré pour le phytoplancton par exemple (Sunda & Huntsman, 1998), on peut suggérer que les métaux puissent être en compétition en fonction de leurs affinités pour les voies d'assimilation.

Les métaux absorbés par le corail s'accumulent dans les différents compartiments : le squelette, les tissus, les *Symbiodinium* ou encore les gamètes. La plupart des études mettent en évidence un stockage privilégié des ETMs au sein des tissus coralliens, où le CF y est plus élevé que dans le squelette pour de nombreux métaux (*e.g.* Ni, Cu, Mn, Zn, Co) (Ferrier-Pagès et al., 2005 ; Hédouin, Metian, et al., 2016 ; Metian et al., 2015 ; Mohammed & Dar, 2009). Cette différence pourrait s'expliquer de différentes façons. D'une part, le compartiment tissulaire pourrait représenter un stockage de transition avant que les métaux ne soient transférés dans le squelette. Le CF y serait d'ailleurs d'autant plus important que la séquestration des métaux dans le squelette depuis les tissus est particulièrement lente, contrairement à leur absorption dans les tissus depuis le milieu extérieur. Il a été mis en évidence par exemple chez *S. pistillata*, un CF sur 14 jours pour le nickel de 7305 ± 1870 pour les tissus, dont seulement 7% serait dans les symbiotes, contre 9.2 ± 2.9 pour le squelette (Hédouin et al., 2016). D'autre part, la photosynthèse des *Symbiodinium* nécessitant également de nombreux ETMs (*e.g.* Zn, Cu, Mn, Fe) (Raven et al., 1999 ; Shick et al., 2011), leur présence *in hospite* pourrait expliquer le CF important des tissus.

⁴ Le K_m est un des paramètres de l'équation de Michaelis-Menten qui permet de décrire la cinétique d'incorporation des métaux : $\text{Flux} = (V_{\text{max}} * [\text{Metal}]) / (K_m + [\text{Metal}] + K_d * [\text{Metal}]$ où V_{max} est le taux d'incorporation maximal ; K_m , l'affinité du métal pour son transporteur ; K_d , la composante d'incorporation passive et $[\text{Metal}]$, la concentration métallique.

⁵ Ce facteur représente un rapport entre la concentration dans le corail et celle du milieu extérieur, plus il est élevé, plus le métal sera concentré dans le corail.

Bien que certains de ces métaux entreraient directement dans le processus de calcification comme il l'a été montré chez les coccolithophoridés pour le zinc (Schulz et al., 2004), pour d'autres le squelette pourrait représenter un lieu de stockage à des fins de détoxification (Bastidas & García, 2004 ; Brown et al., 1991). Parmi les voies de stockage identifiées dans le squelette, on retrouve des mécanismes actifs tels que la substitution métallique dans les cristaux d'aragonite (Inoue et al., 2004), ou bien le transfert de la matière particulaire chargée en ETMs dans les interstices du squelette (Howard & Brown, 1984 ; St John, 1974). Par ailleurs, même s'il est établi que les symbiotes ont des besoins importants en ETMs, leur CF parfois 2 à 3 fois plus élevés que celui du squelette suggèreraient qu'ils pourraient jouer un rôle dans la détoxification (Marshall, 2002 ; Metian et al., 2015 ; Reichelt-Brushett & McOrist, 2003). En effet, les coraux ayant la capacité de renouveler tout ou partie de leur population symbiotique, celle-ci pourrait représenter une voie d'excrétion (Howe et al., 2014 ; Peters et al., 1997 ; Reichelt-Brushett & McOrist, 2003). Enfin, bien que le cas des gamètes soit très peu étudié, Reichelt-Brushett & McOrist (2003) y ont observé l'accumulation de certains métaux, qui pourraient être excrétés lors de la ponte. Ce processus serait alors d'autant plus important que les gamètes peuvent constituer près de 50% du poids du corail vivant avant la ponte (Harrison et al., 1990). Il existerait également des mécanismes permettant de piéger les métaux avant qu'ils ne pénètrent dans le corail, comme le mucus produit à l'interface eau-tissu (Reichelt & Jones, 1994). Ferrier-Pagès et al. (2005) ont estimé que 30% du zinc prélevé par les coraux lors des incubations serait seulement adsorbé au mucus.

Tableau 7. Aperçu des concentrations des métaux étudiés dans les différents compartiments coralliens

Compartiments	Éléments traces métalliques $\mu\text{g g}^{-1}$						
	Zn	Cu	Co	Fe	Ni	Mn	Cr
<i>Acropora tenuis</i>¹							
Squelette	0.7	0.08	-	12.5	0.9	0.12	-
Tissus	18.1	1.05	-	21	2.8	1.53	-
<i>Symbiodinium</i>	57.6	13.6	-	142.5	10.95	2.75	-
Gamètes	66.38	4.32	-	-	-	2.75	-
<i>Porites lutea</i>²							
Squelette	62.53	42.26	45.90	-	89.18	24.23	84.08
Tissus	71.10	48.08	55.06	-	106.14	37.34	114.17
<i>Symbiodinium</i>	95.04	56.80	67.19	-	134.88	53.39	129.97
<i>Acropora robusta</i>²							
Squelette	45.97	28.80	38.39	-	59.96	20.49	70.95
Tissus	53.46	38.88	45.51	-	91.12	32.45	99.23
<i>Symbiodinium</i>	80.83	46.21	56.15	-	119.07	42.36	112.81
<i>Acropora valida</i>²							
Squelette	35.83	17.28	31.95	-	45.57	16.59	59.58
Tissus	42.67	27.36	38.24	-	72.29	24.19	84.41
<i>Symbiodinium</i>	74.33	34.69	48.55	-	93.87	32.06	99.44
<i>Favia fava</i>²							
Squelette	12.8	14.67	8.84	-	22.08	13.49	26.33
Tissus	20.5	21.67	17.79	-	43.71	22.03	57.4
<i>Symbiodinium</i>	31.4	29.54	17.59	-	60.13	36.67	70.09
<i>Favia speciose</i>²							
Squelette	10.18	9.39	7.19	-	18.4	9.43	19.5
Tissus	16.26	15.71	14.47	-	36.43	15.4	42.52
<i>Symbiodinium</i>	24.94	21.41	14.3	-	50.11	25.65	51.92
<i>Platygyra daedalea</i>²							
Squelette	7.64	7.35	5.78	-	13.81	6.88	15.2
Tissus	12.21	10.9	11.64	-	27.35	11.23	33.15
<i>Symbiodinium</i>	18.72	14.86	11.51	-	37.62	18.7	40.48

(1) Reichelt-Brushett & Harrison 2003 ; (2) Ranjbar Jafarabadi et al. 2018

3.2.2 Caractéristiques des principaux métaux du lagon calédonien

3.2.2.1 Métaux utilisés au cours de ce doctorat

Fer (Fe)

Le fer possède le cycle biogéochimique le plus complexe. Dans les eaux de surface oxygénées, il est principalement retrouvé sous forme oxydée Fe(III) et précipite en hydroxyde de fer très peu soluble (Yoshida et al., 2006). Sa forte tendance à s'adsorber sur les particules organiques explique sa très faible concentration dans l'eau. En effet, près de 99.9% du Fe(III) est fortement complexé à la MOD (Buck & Bruland, 2007 ; Gledhill & Buck, 2012). Le Fe(III) peut être réduit en Fe(II) par diverses voies comme la photolyse des complexes ferriques ou la réduction biologique à la surface des cellules (Barbeau, 2006 ; Maldonado & Price, 2001). L'ion Fe(II) est beaucoup plus soluble et donc disponible, cependant sa durée de vie est très courte en surface, de l'ordre de 2 min à 30°C, avant d'être ré-oxydé en Fe(III) puis complexé (Santana-Casiano et al., 2005 ; Sunda, 2001). Ainsi, le cycle redox du fer jouerait un rôle indispensable dans sa biodisponibilité (Fan, 2008 ; Maldonado et al., 2005 ; Sunda, 2001) et pourrait expliquer les 64% de Fe(II) trouvés dans les eaux de surface malgré sa courte durée de vie (Croot et al., 2008 ; Roy et al., 2008 ; Sarthou et al., 2011).

Le fer possède de nombreux rôles biologiques quelle que soit la famille taxonomique considérée. Chez les coraux, et comme dans tous les organismes photosynthétiques, sa première importance découle de son omniprésence dans un grand nombre de composés de la chaîne de transport d'électrons nécessitant du fer : PSII, PSI, cytochrome b6f, ferrédoxine (Raven et al., 1999) (cf. 1.4.2). Il joue également le rôle de cofacteur pour plusieurs enzymes impliquées dans diverses fonctions métaboliques, comme les défenses antioxydantes par exemple avec la catalase, les peroxydases ou la SOD (Richier, 2005) (cf. 2.1.3). Il intervient également dans la croissance de nombreuses espèces en raison de l'implication de son cycle redox $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ dans le transport des électrons (Rathgeb et al., 2016).

Les travaux à son sujet se sont principalement employés à étudier les effets de sa limitation chez le microplancton plutôt que ceux d'un enrichissement (*e.g.* Peers & Price, 2004 ; Shi et al., 2007 ; Shick et al., 2011), la demande biologique étant très forte pour des concentrations majoritairement faibles. Dans un environnement non contaminé, sa concentration dans l'océan ouvert est de 0.017 à 0.022 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Bergquist & Boyle, 2006) et sur les côtes, elle n'atteint pas plus de 0.20 à 0.60 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Kuma et al., 1998). Cependant, dans les milieux contaminés, elle peut être bien plus forte (Tableau 6).

Nickel (Ni)

Le nickel présent principalement sous la forme Ni(II) possède une fraction dissoute plus importante que la fraction particulaire. En effet, cette dernière ne représenterait que 10 à 30% de la concentration totale (Achterberg & Van Den Berg, 1997 ; Saito et al., 2004). Bien que le rôle biologique du nickel ait longtemps été incertain, il est tout de même considéré comme essentiel pour un certain nombre d'espèces (Cempel & Nikel, 2006). Il est, par exemple, le cofacteur de l'uréase, dont le rôle est de dégrader l'urée en azote inorganique utilisable par l'organisme (Price & Morel, 1991). Par ailleurs, il a été découvert une SOD (cf. 2.1.3) ayant pour cofacteur le nickel (Dupont et al., 2008a, b). Avec seulement deux études jusqu'à récemment (Goh, 1991 ; Reichelt-Brushett & Harrison, 2005), son influence sur les jeunes stades de vie ou le stade adulte des coraux a longtemps été ignorée. Cependant, la mise en place d'importantes exploitations de nickel à proximité de littoraux présentant de fortes densités coralliennes (Philippines, Indonésie ou encore Nouvelle-Calédonie (U.S. Geological Survey, 2015)) a engendré un regain d'attention pour ce métal ces dernières années.

Sa concentration côtière varie de 0.1 à 0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Barceloux, 1999 ; Sutherland & Costa, 2002), ce qui en fait un métal relativement abondant en comparaison des autres ETMs. Dans certaines zones modérément anthropisées, elle peut atteindre près de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Moreton et al., 2009), et dans des zones très polluées, elle peut aller jusqu'à 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Shanmugam et al., 2007). Le guide définissant des concentrations seuils de contaminants pour les eaux marines australiennes et néo-zélandaises (ARMCANZ) estime qu'une concentration inférieure à 70 $\mu\text{g L}^{-1}$ permettrait de protéger 95% des espèces marines.

Manganèse (Mn)

Le manganèse existe sous trois états d'oxydation dans l'eau : Mn(II), Mn(III) et Mn(IV). Alors que les deux dernières formes sont insolubles, le Mn(II), qui découle de la réduction chimique ou photochimique du Mn(III) ou du Mn(IV), est fortement soluble et ne se complexe pas particulièrement avec la MOD (Sunda & Huntsman, 1994). Bien que cette forme soit instable dans un environnement oxydant comme l'eau de surface, sa vitesse d'oxydation dans l'eau de mer est extrêmement lente (demi vie de 500 ans à pH 8.1), ce qui lui permet de persister malgré son instabilité thermodynamique (Morgan, 1967). Son oxydation résulte en fait principalement de processus biologiques appartenant à certaines bactéries, qui sont majoritairement photo-inhibées en surface (Anderson et al., 2009 ; Tebo et al., 2004). Ainsi, la biodisponibilité du manganèse est

relativement importante dans les 160 premiers mètres de la colonne d'eau (Sunda & Huntsman, 1988).

Le manganèse est également un oligo-élément, dont l'importance biologique concerne principalement les symbiotes. En effet, il a très tôt été montré que le manganèse jouait un rôle important dans les processus photosynthétiques impliquant l'oxygène (Kessler et al., 1957), jusqu'à ce que la place centrale du manganèse dans la composition du complexe OEC (cf 1.4.2) soit découverte (Sauer, 1980). Le manganèse est également cofacteur d'une iso-forme de la SOD que l'on retrouve dans les chloroplastes (Wolfe-Simon et al., 2006). Pourtant, il n'a pour ainsi dire pas été étudié chez les coraux, les principaux travaux en milieu marin ayant porté sur des micro-algues (Cao et al., 2011 ; Peers & Price, 2004 ; Wolfe-Simon et al., 2006). Ces derniers mettent notamment en évidence le rôle stimulateur d'un léger enrichissement en Mn sur la croissance ou la photosynthèse des algues.

Le manganèse est un métal relativement abondant naturellement dans les eaux de surface de l'océan ouvert (Sigel, 2000), avec des concentrations allant de 0.08 à 0.192 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Bergquist & Boyle, 2006 ; Obata et al., 2008). Sa concentration côtière, quant à elle, peut varier de 0.18 à 19 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Slowey & Hood, 1971). En revanche en milieu anthropisé, elle peut atteindre des valeurs bien supérieures (Tableau 6), sans toutefois dépasser les métaux les plus communément retrouvés comme le fer.

Cobalt (Co)

La chimie du cobalt est également assez complexe. Il existe sous deux formes dans l'eau de mer, une forme soluble Co(II) et une forme insoluble Co(III) qui donne des oxydes à pH ambiant (Sunda, 2012). La quasi-totalité voire la totalité du cobalt peut être trouvée sous forme particulaire (Saito & Moffett, 2001 ; Saito et al., 2005). Son importance pour les organismes vient notamment du fait qu'il s'agit du constituant principal de la vitamine B₁₂ (Nolan et al., 1992). Or, celle-ci serait impliquée dans la croissance des *Symbiodinium* (Agostini et al., 2009). Par ailleurs, il peut faire office de métal de remplacement pour les enzymes habituellement dépendantes du zinc, comme l'anhydrase carbonique ou l'alkaline phosphatase (Jakuba et al., 2008 ; Price & Morel, 1990 ; Saito & Goepfert, 2008) (cf. 1.4.1).

Alors que sa concentration moyenne dans l'eau de mer atteint 0.3 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Khan et al., 2014), elle a été reportée à 0.078 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans la mer des Caraïbes et atteint jusqu'à 0.86 $\mu\text{g L}^{-1}$ dans le golfe Persique (Ranjbar Jafarabadi et al., 2018). Bien que sa concentration demeure relativement faible

même dans les milieux pollués (Tableau 6), il faut la mettre en regard de la limite fixée à $1 \mu\text{g L}^{-1}$ par l'ARMCANZ pour protéger 95% des espèces.

3.2.2.2 Métaux non utilisés au cours de ce doctorat

Cuivre (Cu)

Le cuivre peut exister dans l'eau sous deux formes, le Cu(II) qui est stable et le Cu(I) qui est instable en condition ambiante (Moffett & Zika, 1988). Alors que le Cu(II) peut être réduit en Cu(I) par diverses voies, il est en quelques minutes ré-oxydé en Cu(II) (Moffett & Zika, 1988). La quasi-totalité (>99%) du cuivre présent dans l'eau de mer l'est sous forme particulaire et non biodisponible (Buck et al., 2010 ; Coale & Bruland, 1990 ; Moffett & Dupont, 2007). Pourtant, le cuivre est un oligo-élément essentiel à certaines fonctions métaboliques comme la photosynthèse, où il jouerait plusieurs rôles dans la chaîne de transfert d'électrons en tant que composant de molécules comme la plastocyanine par exemple (cf. 1.4.2) (Droppa & Horváth, 1990 ; Peers & Price, 2006). Il serait également un élément clé dans les voies d'absorption du fer en décuplant leur affinité (Guo et al., 2012 ; Maldonado et al., 2006 ; Peers et al., 2005) et est un cofacteur de la Cu/Zn-SOD. Malheureusement, le cuivre est également un des ETMs les plus toxiques lorsqu'il est en excès. Il est largement connu par exemple pour ses propriétés antifongiques et a longtemps constitué une pollution majeure des écosystèmes aquatiques en entrant dans la composition des peintures antifouling protégeant les coques des bateaux (Katrantsas et al., 2003).

Sa concentration dans un environnement sain serait de l'ordre de 0.03 à $0.29 \mu\text{g L}^{-1}$ (Sadiq, 1992), en revanche la fraction dissoute du cuivre peut atteindre largement plus de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ dans un milieu côtier contaminé (**Tableau 6**). L'ARMCANZ fixe à $1.3 \mu\text{g L}^{-1}$ la dose de cuivre limite pour protéger 95% des organismes marins.

Zinc (Zn)

Le zinc se trouve très majoritairement à l'état Zn(II) dans l'eau de mer et forme également beaucoup de complexes organiques ou inorganiques. Sa fraction particulaire peut représenter de 50 à 90% du zinc total en fonction des conditions (Baars & Croot, 2011 ; Bruland, 1980). A l'instar du fer, le zinc est un des oligo-éléments les plus importants et intervient dans de nombreuses voies métaboliques quel que soit le taxon (Kaur et al., 2014). Il est notamment cofacteur de plus de 300 enzymes, telles que la carboxypeptidase, la phosphatase alcaline ou encore l'anhydrase carbonique (Morel et al., 1994). Il est également impliqué dans l'activité de la SOD, puisqu'une des iso-formes requiert du zinc pour être active (Raven et al., 1999).

Il est présent à faible concentration dans l'eau de mer, de 0.003 à 0.58 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Lohan et al., 2002). Il est connu pour être en plus faible concentration sur les côtes que dans l'océan ouvert (Slowey & Hood, 1971), excepté lorsque les milieux sont sous influence anthropique où les enrichissements peuvent alors être conséquents (Tableau 6). L'ARMCANZ fixe la dose de zinc permettant la survie de 95% des espèces marines à 15 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Chrome (Cr)

Alors que le chrome possède cinq états d'oxydation, dans l'environnement marin, il n'existe que sous la forme de chrome trivalent (Cr(III)) ou hexavalent (Cr(VI)) (Murray et al., 1983 ; Pettine & Millero, 1990). Le Cr(III) possède une très faible solubilité et perméabilité membranaire, ce qui le rend peu nocif pour les organismes marins (Jaishankar et al., 2014). De plus, dans l'eau de mer, le Cr(III) s'oxyde très rapidement en Cr(VI), qui représente en réalité l'écrasante majorité du chrome présent (Pettine & Millero, 1990). En effet, il composerait de 75 à 95% du chrome total selon les sources (Sirinawin et al., 2000). Le Cr(VI), contrairement au Cr(III), est très soluble, traverse aisément les membranes (Cervantes et al., 2001) et ne possède aucun rôle biologique connu. Il entraîne, par exemple, la nécrose chez les plantes (Ghani, 2011), et affecte de nombreuses enzymes comme la catalase, les peroxydases ou les cytochromes. Il diminue également la photosynthèse et dénature des protéines chez les algues (Nath et al., 2008).

Sa concentration océanique est de 0.16 à 0.38 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Sirinawin et al., 2000), mais peut être bien plus élevée dans les zones fortement impactées par l'homme (Inde : 12 mg L^{-1} (Jaishankar et al., 2014)), car il s'agit d'un métal utilisé dans de nombreuses industries (Ghani, 2011). Ainsi, si l'ARMCANZ préconise un seuil de 27.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ de Cr(III) pour sauvegarder 95% des espèces, ce même seuil chute à 4.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour le Cr(VI).

3.2.3 Effets des métaux sur les différents stades de vie des coraux

La vulnérabilité des jeunes stades de vie en fait les plus susceptibles d'être impactés par une modification de leur environnement (Schiff et al., 2004), c'est pourquoi ils ont été l'objet d'une attention particulière en comparaison du stade de vie adulte. Toutefois, quel que soit le stade de vie considéré, les études demeurent limitées et se concentrent essentiellement sur la détermination de seuil de toxicité et non sur les effets d'un enrichissement en adéquation avec ceux mesurés *in situ*. Le cuivre a été de loin le métal le plus étudié depuis les années 2000 (*e.g.* Kwok et al., 2016 ; Reichelt-Brushett & Harrison, 1999, 2000, 2004), tandis que d'autres comme le nickel ou le zinc ne l'ont été que succinctement (Gissi et al., 2017 ; Goh, 1991 ; Reichelt-Brushett & Harrison, 1999, 2005) et

certaines ne l'ont jamais été à l'instar du chrome ou du manganèse. Cette différence provient notamment du fait que le cuivre a longtemps été l'un des contaminants les plus présents dans les eaux côtières, et qu'il est considéré comme l'un des plus toxiques (Reichelt-Brushett & Harrison, 2005). Les études portant sur les jeunes stades de vie se sont principalement attachées à déterminer des EC_{50} (Effect Concentration 50%) ou LC_{50} (Lethal Concentration 50%), qui représentent, respectivement, les concentrations pour lesquelles 50% de diminution d'un paramètre donné ou 50% de mortalité sont observés.

3.2.3.1 Métaux utilisés au cours de ce doctorat

Fer

Seulement deux études se sont intéressées à l'effet du fer sur les jeunes stades de vie (Leigh-Smith et al., 2018 ; Vijayavel et al., 2012). Elles ont permis de mettre en évidence que le succès reproducteur d'*A. spathulata* et de *P. daedalea* n'était pas impacté en dessous de 2.5 mg L^{-1} de fer. Quant à la LC_{50} des larves de *P. daedalea*, elle est de 165 mg L^{-1} lors d'une exposition de 24h, mais chute à 47 mg L^{-1} en triplant le temps d'exposition (72h) (Leigh-Smith et al., 2018). La toxicité du fer chez les larves et les gamètes découlerait principalement de la surproduction de ROS associée à son accumulation, comme a pu le montrer Vijayavel et al. (2012) chez *P. damicornis*. Le stress oxydant généré par l'apport en fer serait d'autant plus néfaste pour les larves de coraux, sachant que ces dernières se développent sur leurs propres réserves lipidiques (Graham et al., 2008) et que la détoxification de ROS est un procédé énergétiquement coûteux (Muller-Parker et al., 2015). Par ailleurs, la diminution du succès reproducteur pourrait être causée par une diminution de la mobilité des spermatozoïdes causée par les précipités de fer, qui abondent à fortes concentrations (Kadar et al., 2013).

L'importance du fer a été mise en évidence pour la croissance d'une culture *in vitro* de symbiotes coralliens, *S. kawagutii*, dans laquelle un enrichissement de seulement 14 ng L^{-1} sur 20 jours a permis de stimuler la croissance (Rodriguez et al., 2016). Bien que jusqu'à 70 ng L^{-1} , le fer stimule à lui seul la croissance des cellules, les meilleures performances sont obtenues lorsqu'il est également associé à de faibles enrichissements en cuivre, zinc et manganèse (32 pg L^{-1} de cuivre, 8.2 ng L^{-1} de zinc et $2.3 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ de manganèse). Ces valeurs très basses semblent en accord avec les concentrations environnementales mesurées (cf. 3.2.2), cependant elles sont données pour une culture de *Symbiodinium* libres pouvant absorber directement les métaux dissous depuis l'eau de mer. Or, *in hospite*, ces concentrations pourraient ne plus être suffisantes, car leur capacité à prélever les ETMs est alors limitée par les capacités de l'hôte à les absorber. Par ailleurs, une carence en fer n'entraînant pas de diminution du nombre de *Symbiodinium* au sein des tissus de l'espèce *S. pistillata*

(Shick et al., 2011), le fer serait donc essentiel à la croissance de ces *Symbiodinium*, mais pas nécessairement à leur survie. Cette carence en fer a par contre provoqué, pour cette espèce, une altération de la composition pigmentaire en diminuant la concentration de chlorophylles au profit des xanthophylles, traduisant normalement une augmentation du processus de photoprotection. Deux études testant les effets d'un même faible enrichissement en fer sur l'holobionte ($0.34 \mu\text{g L}^{-1}$), obtiennent des résultats contradictoires. Alors que cet enrichissement augmente la densité en *Symbiodinium* et le taux de photosynthèse brute de 47% chez *S. pistillata* (Ferrier-Pagès et al., 2001), ce n'est pas le cas pour *P. verrucosa* (Rädecker et al., 2017). En revanche, les taux de croissance ont diminué de 34% chez *S. pistillata* (Ferrier-Pagès et al., 2001) et ceux de fixation d'azote ont drastiquement chuté de 86% chez *P. verrucosa* (Rädecker et al., 2017). Si l'étude de Ferrier-Pagès et al. (2001) rejoint la théorie selon laquelle les symbiotes seraient limités en fer, celle de Rädecker et al. (2017) suggèrent au contraire que les coraux de la mer Rouge ne le seraient pas. Pour ces derniers, le fer ne serait pas un facteur limitant car, contrairement aux zones tropicales habituelles, le nord de la mer Rouge bénéficie de concentrations en fer assez élevées (0.1 à $1.7 \mu\text{g L}^{-1}$) (Ali et al., 2011 ; Chase et al., 2006) (Tableau 6). Pour *S. pistillata* et *P. verrucosa*, l'augmentation des taux de respiration mesurés chez les colonies enrichies en fer diminuerait l'énergie allouée à d'autres fonctions, et pourrait expliquer la diminution de la fixation d'azote et/ou de la croissance (Ferrier-Pagès et al., 2001, Rädecker et al., 2017). Selon Ferrier-Pagès et al. (2001), la diminution de croissance chez les colonies enrichies en fer serait également liée à une compétition pour le carbone inorganique entre l'hôte et les symbiotes, avec une attribution préférentielle de ce DIC vers la photosynthèse, au détriment de la calcification (Marubini & Davies, 1996 ; Stambler et al., 1991).

Nickel

Alors que quelques études se sont intéressées à son effet sur les jeunes stades de vie des coraux (Gissi et al., 2016), aucune information n'est disponible concernant son impact sur les stades de vie adultes. Les gamètes semblent relativement tolérants au nickel, puisque les premiers effets sur le succès reproducteur n'apparaissent qu'à partir de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ chez *G. aspera* (Reichelt-Brushett & Harrison, 2005). Parmi les EC_{50} calculées pour le succès reproducteur de différentes espèces, la plus faible se situe à $1490 \mu\text{g L}^{-1}$ (Gissi et al., 2017 ; Reichelt-Brushett & Harrison, 2005). De même, pour les larves de *P. damicornis*, les premiers effets significatifs sur les taux de métamorphose ne sont observés qu'à partir de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ (Goh, 1991). Quant à la survie de ces mêmes larves, les valeurs de LC_{50} dépassent les $9000 \mu\text{g L}^{-1}$. Bien que certains seuils écotoxicologiques aient pu être calculés, ces études ne se sont pas attachées à comprendre les raisons pouvant induire une baisse

du succès reproducteur ou une augmentation de la mortalité larvaire suite à une exposition au nickel.

Jusqu'à présent, la seule étude existante sur le nickel et les coraux adultes porte sur sa dynamique d'accumulation au sein des différents compartiments de l'espèce *S. pistillata* (Hédouin et al., 2016). Elle révèle, d'une part, une incorporation efficace du nickel avec un CF de 492.8 et une élimination rapide dans le temps avec une diminution de 50% du nickel accumulé en 6.5 jours, et d'autre part, une bioconcentration préférentielle dans les tissus dont le CF peut atteindre jusqu'à 7305 après 14 jours d'exposition (Hédouin et al., 2016).

Dans une culture *in vitro* de *S. kawagutti*, aucune modification de la courbe et du taux de croissance n'a été observée lors d'un appauvrissement en nickel, suggérant que le nickel serait un ETM de moindre importance pour eux (Rodriguez et al., 2016).

Parmi les hexacoralliaires, la LC_{50} de juvéniles d'anémone appartenant à l'espèce *Aiptasia pulchella* oscille entre 2209 à 5751 $\mu\text{g Ni L}^{-1}$ selon les tests. Quant à l' EC_{50} de la rétractation sévère de leurs tentacules, elle a été calculée à 2340 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Howe et al., 2014). Il est à noter que ces valeurs écotoxicologiques sont peu représentatives des valeurs mesurées *in situ* et suggèrent donc une faible toxicité du nickel. Cependant, une étude conduite sur deux autres espèces d'anémones, *Condylactis gigantea* et *Stichodactyla helianthus*, a révélé une forte diminution de l'activité de l'anhydrase carbonique en présence de seulement 40 $\mu\text{g L}^{-1}$ de nickel (Gilbert & Guzmán, 2001).

Manganèse

Les effets du manganèse sur les coraux, que ce soit les jeunes stades de vie ou le stade adulte, n'ont jamais été étudiés.

Deux études se sont intéressées à son effet sur une culture *in vitro* de symbiotes *S. kawagutti* (Rodriguez et al., 2016 ; Rodriguez & Ho, 2018). Elles soulignent notamment le ralentissement de leur croissance en l'absence de manganèse, et l'augmentation de son absorption dans un environnement pauvre en zinc. Considérant le rôle du manganèse dans la SOD (cf. 3.2.2.1), cette augmentation permettrait de compenser la moindre activité de la Cu/Zn-SOD. Une stimulation croissante de la Mn-SOD, parallèlement à une augmentation de la photosynthèse et de la croissance ont été observées chez le dinoflagellé *Amphidinium sp.*, suite à un enrichissement progressif de 10^{-12} à 10^{-4} mol Mn L^{-1} (Cao et al., 2011).

Cobalt

Une seule étude s'est intéressée aux effets du cobalt sur le succès reproducteur des coraux. La meilleure performance pour *P. daedalea* ayant été obtenue pour une concentration très élevée ($2500 \mu\text{g L}^{-1}$), il a été établi que le cobalt n'affectait pas les gamètes (Reichelt-Brushett & Hudspeth, 2016). De plus, les concentrations *in situ* n'atteignant jamais ces valeurs, le cobalt peut donc être considéré comme inoffensif pour les gamètes.

Aucune information n'existe quant aux effets du cobalt sur les coraux adultes.

Dans les deux études testant les effets de différents métaux sur une culture *in vitro* de *S. kawagutii*, l'absence de cobalt ne perturbe pas leur croissance. Cependant, l'augmentation de son absorption lors d'un déficit en zinc confirme l'importance de ce métal en tant que cofacteur de l'anhydrase carbonique ou d'autres enzymes Zn-dépendantes (Rodriguez et al., 2016 ; Rodriguez & Ho, 2018). En effet, la substitution du zinc par le cobalt, dans les enzymes dont il est le cofacteur, a été révélée à plusieurs reprises chez des espèces phytoplanctoniques (*e.g.* Lane & Morel, 2000 ; Saito & Goepfert, 2008 ; Sunda & Huntsmann, 1995).

3.2.3.2 Métaux non étudiés

Cuivre

Les niveaux de tolérance au cuivre sont extrêmement variables selon les espèces et les jeunes stades de vie considérés. En effet, si les gamètes d'*A. cytherea* et *A. pulchra* semblent relativement résistants à de fortes doses de cuivre, avec des EC_{50} pour le succès reproducteur après 48h d'exposition de $69.4 \mu\text{g L}^{-1}$ et $75.4 \mu\text{g L}^{-1}$ (Puisay et al., 2015), elle n'est que de $14.5 \mu\text{g L}^{-1}$ après 5h d'exposition pour l'espèce *G. aspera* (Reichelt-Brushett & Harrison, 1999). Outre la notion de tolérance spécifique, ce large panel de réponses entre les espèces (Tableau 29) pourrait découler du temps d'exposition des gamètes au métal en question. Ainsi, une exposition deux fois plus longue au cuivre divise par quatre l' EC_{50} de l'espèce *A. surculosa* ($45.2 \mu\text{g L}^{-1}$ pour 5h d'exposition contre $11.4 \mu\text{g L}^{-1}$ pour 12h d'exposition) (Victor & Richmond, 2005). De plus, Hédouin & Gates (2013) ont révélé l'importance de prendre en considération les conditions environnementales pour évaluer la toxicité du cuivre sur le succès reproducteur, en mettant en évidence une importante variation de l' EC_{50} , allant de 16.6 à $31.7 \mu\text{g L}^{-1}$, pour l'espèce *M. capitata* selon la nuit de ponte. Cette différence de sensibilité pourrait venir du processus de fabrication des gamètes (taille des œufs, nombre d'œufs...), qui ne serait pas équivalent selon les conditions environnementales des colonies parentes (Padilla-Gamiño et al., 2011). Bien que les mécanismes diminuant le succès reproducteur

restent totalement incertains, les hypothèses suggèrent que les spermatozoïdes pourraient être touchés par une diminution de la mobilité ou une détérioration de l'acrosome (Fitzpatrick et al., 2008 ; Zhang et al., 2010). En effet, l'excès de cuivre, responsable d'une surproduction de ROS (Schwarz et al., 2013), pourrait engendrer une dénaturation des protéines et une peroxydation des lipides des très nombreuses mitochondries assurant leur nage (Kwok et al., 2016).

L'effet du cuivre sur la survie des larves est également très variable avec des LC_{50} allant de $34 \mu\text{g L}^{-1}$ à $198 \mu\text{g L}^{-1}$ selon les espèces (Hédouin et al., 2016b ; Reichelt-Brushett & Harrison, 2004). A l'instar du fer, le stress oxydant généré par un enrichissement de cuivre pourrait expliquer la diminution de la survie des larves survivant sur leur propre ressource (Kwok et al., 2016). Concernant les taux de métamorphose des larves, les résultats divergent selon les espèces. Alors que l' EC_{50} d'*A. millepora* a été estimée à $32 \mu\text{g L}^{-1}$ (Negri & Hoogenboom, 2011), des concentrations de l'ordre de 100 à $200 \mu\text{g L}^{-1}$ ont stimulé la métamorphose des larves chez *P. acuta* (Kwok et al., 2016). Dans cette dernière, deux hypothèses ont été faites pour justifier cette stimulation du taux de métamorphose par le cuivre. La première suggère qu'une perturbation des récepteurs chimiques responsables de la détection du lieu idéal à la croissance de la larve entraînerait leur implantation anarchique, quelle que soit la qualité du substrat. Tandis que la seconde envisage une potentielle adaptation des larves qui s'implanteraient plus rapidement, afin d'acquérir une autonomie nutritionnelle pour lutter contre les différents stress associés à l'enrichissement métallique.

Bien que la mobilité des larves soit le paramètre le moins utilisé pour évaluer la toxicité des ETMs, il semble pourtant être le plus sensible et celui pour lequel les EC_{50} sont les plus constantes : 16, 36 et $\sim 46 \mu\text{g L}^{-1}$ respectivement pour *G. aspera*, *P. daedalea* et *P. acuta* (Kwok et al., 2016 ; Reichelt-Brushett & Harrison, 2004).

Comme pour les jeunes stades de vie, les effets du cuivre sur la physiologie des coraux adultes sont largement documentés (quatorze études). Trois études se sont employées à établir des seuils écotoxicologiques (LC_{50}) après 96h d'exposition chez les adultes. Celles de *M. verrucosa*, *G. fascicularis* et *P. damicornis* sont respectivement de 48, 32 et de 175 à $251 \mu\text{g L}^{-1}$ (Hédouin et al., 2016b ; Heyward, 1988 ; Sabdon, 2009). La tolérance des coraux au cuivre varie au cours de l'année avec une augmentation de cette tolérance en hiver (Hédouin et al., 2016b), probablement en raison d'une diminution du métabolisme à cette saison, permettant d'éviter une surproduction massive de ROS. Si ces valeurs peuvent sembler élevées par rapport aux concentrations côtières, il a également été démontré que le cuivre pouvait altérer la physiologie des coraux à bien plus faibles concentrations.

Ainsi, deux études portant sur une culture *in vitro* de *Symbiodinium* ont montré qu'un déficit en cuivre ou un enrichissement de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ générerait une diminution de 30% de leur croissance (Goh & Chou, 1997 ; Rodriguez & Ho, 2018).

Au sein du corail hôte, l'expulsion des symbiotes apparaît dès 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ chez *A. formosa* et *P. damicornis* (Hédouin et al., 2016b ; Jones, 1997 ; Yost et al., 2010). Les premiers signes de blanchissement apparaissent également très rapidement (6h) chez *S. hystrix* lors d'une exposition à 60 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cuivre (Jones, 2004). Aucune diminution de la densité en *Symbiodinium* ou de la concentration en chlorophylles n'ayant par contre été observée chez *P. versipora* jusqu'à 480 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Grant et al., 2003), le blanchissement en réponse à un enrichissement en cuivre serait largement dépendant de l'espèce testée. Le cuivre agissant comme catalyseur des réactions de Fenton et de HaberWeiss⁶ (Halliwell & Gutteridge, 1984), il est responsable d'une surproduction de ROS qui pourrait justifier le blanchissement décrit précédemment (Downs et al., 2002). De plus, en dépit de son rôle dans la chaîne de transports d'électrons de la photosynthèse (cf 1.4.2), le cuivre est aussi connu pour l'inhiber très rapidement en bloquant notamment les différents sites de donneurs ou d'accepteurs d'électrons (Baron et al., 1995). Ainsi, par exemple, des teneurs plus élevées de 4 à 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ ont diminué les taux de photosynthèse de *P. cylindrica* (Nyström et al., 2001) et l'efficacité photosynthétique de *P. damicornis* et *A. cervicornis* (Bielmyer et al., 2010). Or, ce dérèglement de l'appareil photosynthétique est également une source majeure de ROS. L'importance du stress oxydant généré par le cuivre chez les coraux adultes a ainsi été mise en évidence plusieurs fois via une surexpression des gènes régulant la réponse antioxydante (Schwarz et al., 2013), ou la stimulation des molécules antioxydantes elles-mêmes, telles que les DMSP (DiMéthylSulfonioPropionate), la catalase, la glutathion peroxydase ou réductase (Bielmyer-Fraser et al., 2018 ; Yost et al., 2010). Ces ROS sont susceptibles d'engendrer de nombreux dégâts, à l'instar de l'augmentation des dommages à l'ADN, mise en évidence chez *M. franksi* à 30 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cuivre ou chez *M. bartii* dès 3.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Marangoni et al., 2017 ; Schwarz et al., 2013), ou bien une peroxydation en chaîne des lipides (Chan et al., 1982).

Enfin, une chute de plus de 50% des taux de croissance a été observée chez *P. damicornis* lors d'un enrichissement de 4 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Bielmyer et al., 2010). Cette diminution pourrait être associée à une réduction de l'activité de l'AC ou de la calcium/magnésium-ATPase, comme celle observée, respectivement, chez *A. cervicornis* et *M. faveolata* face à 10 et 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cuivre (Bielmyer et al., 2010) et chez *M. bartii* face à 4.8 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Marangoni et al., 2017). Par ailleurs, Schwarz et al. (2013)

⁶ Réaction chimique de décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) par des sels métalliques en espèces radicalaires, dont notamment le radical hydroxyle connu pour être le second oxydant le plus puissant dans la nature.

ont constaté une altération dans l'expression d'au moins deux gènes impliqués dans le processus de biominéralisation après 48h d'exposition à $30 \mu\text{g L}^{-1}$ de cuivre.

Zinc

Il s'agit du deuxième métal le plus étudié chez les jeunes stades de vie, bien que tous les travaux portent uniquement sur le succès reproducteur. Ces derniers soulignent une forte variabilité spécifique en réponse à son enrichissement. Alors qu'une concentration de $500 \mu\text{g L}^{-1}$ de zinc n'affecte pas les gamètes de *G. aspera* (Reichelt-Brushett & Harrison, 1999), celle-ci diminue de 40 à 50% le succès reproducteur de *P. ruykyuensis* (Heyward, 1988). L'espèce *A. tenuis* apparaît encore plus sensible et voit son succès reproducteur totalement inhibé dès $100 \mu\text{g L}^{-1}$ (Reichelt-Brushett & Harrison, 2005). Toutefois, comme pour de nombreux autres métaux, les mécanismes liés à sa toxicité sont encore ignorés.

Dans les études testant les effets des différents métaux sur la culture *in vitro* de symbiote corallien, *S. kawagutii*, l'absence de zinc limite la croissance des cellules (Rodriguez et al., 2016 ; Rodriguez & Ho, 2018). En revanche, pour les colonies coralliennes appartenant aux espèces *A. aspera* et *M. verrucosa*, un enrichissement, respectivement, de 10 à $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ ou de $509 \mu\text{g L}^{-1}$ n'a pas affecté leur densité en *Symbiodinium* (Deschaseaux et al., 2018 ; Goh & Chou, 1997), mettant en évidence une absence de limitation et de toxicité du zinc pour la croissance des symbiotes.

La mesure des concentrations en DMSP, une molécule antioxydante, chez l'hôte et le symbiote ne semble pas indiquer que le zinc induirait un stress oxydant jusqu'à $100 \mu\text{g L}^{-1}$. Seulement une concentration de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$, non représentative des conditions environnementales, a engendré une chute de ces concentrations en DMSP après 72h d'exposition (Deschaseaux et al., 2018). La photosynthèse, quant à elle, est stimulée lors d'enrichissements réalistes en zinc, mais inhibée à très fortes concentrations. Alors qu'un enrichissement de 0.65 à $6.5 \mu\text{g L}^{-1}$ a stimulé le taux de transport d'électrons des colonies de *S. pistillata* (Ferrier-Pagès et al., 2005), un ajout de $6538 \mu\text{g L}^{-1}$ a réduit au contraire de nombreux paramètres photosynthétiques chez une culture *in vitro* de *Symbiodinium* (Kuzminov et al., 2013). Cette dernière étude, bien qu'informative et révélant une potentielle toxicité du zinc à très fortes concentrations, est très loin de représenter la réalité environnementale d'un récif corallien, où ces concentrations extrêmes n'ont jamais été mesurées. Enfin, alors que l'importance du zinc dans l'acquisition du DIC via l'activation de l'anhydrase carbonique a déjà été mise en évidence chez la diatomée marine *Thalassiosira weissflogii* (Lane & Morel, 2000) et en dépit du rôle central que l'AC joue dans les processus de calcification, aucune étude n'a considéré ce paramètre dans ces expériences.

Le zinc étant essentiel à de nombreuses enzymes, les symbiotes sont capables de stimuler l'absorption de métaux tiers (manganèse, cobalt, fer) pour compenser son absence (Rodriguez et al., 2016 ; Rodriguez & Ho, 2018). Ainsi, une carence en zinc pourrait, par exemple, induire une diminution de l'activité de la Cu/Zn-SOD, qui serait alors palliée par une augmentation de la Mn- et de la Fe-SOD. De même, l'anhydrase carbonique, extrêmement importante dans le métabolisme corallien, requiert du zinc pour être active, mais en son absence, il peut être remplacé par du cobalt (Lionetto et al., 2016). Le zinc serait ainsi le second métal le plus important derrière le fer pour les symbiotes (Rodriguez & Ho, 2018). Cela justifierait également la très forte affinité des coraux pour son acquisition, de l'ordre de 1.8 ng L^{-1} , traduisant une excellente adaptation à sa faible concentration dans l'océan (Ferrier-Pagès et al., 2005). Toutefois, malgré son importance manifeste, seulement deux études ont été réalisées sur des coraux adultes.

3.3 La Nouvelle-Calédonie : Terre de métal

3.3.1 Origine géologique des métaux

La richesse minéralogique de la Nouvelle-Calédonie provient principalement de son histoire géologique. Contrairement à de nombreuses îles du Pacifique, elle n'est pas une île volcanique, mais une partie émergée de la ride de Norfolk qui s'étend jusqu'à la Nouvelle-Zélande. Cette ride était probablement rattachée à la côte est australienne à l'ère secondaire, puis se serait détachée il y a 80 Ma lors de l'ouverture de la Mer de Tasman pour se déplacer vers l'est et rentrer en obduction sous la plaque océanique du Pacifique. Cependant, la ride étant un vestige de plaque continentale, dont la densité est plus faible que celle du manteau se trouvant sous la plaque océanique, elle ne peut pas y être obductée. Ainsi, le système s'est bloqué, déclenchant des processus géologiques inverses qui ont fait remonter la Nouvelle-Calédonie en surface tout en arrachant au passage des roches appartenant au manteau (Planche 13, Bonvallot et al., 2012). Ces roches, dites ultrabasiques en raison des faibles teneurs en silice, constituent principalement des massifs de péridotites, très riches en métaux en comparaison des roches terrestres habituelles (Becquer et al., 2006). Ces massifs couvrent près de 5500 km^2 , soit un tiers du territoire (Figure 22) (Becquer et al., 2003).

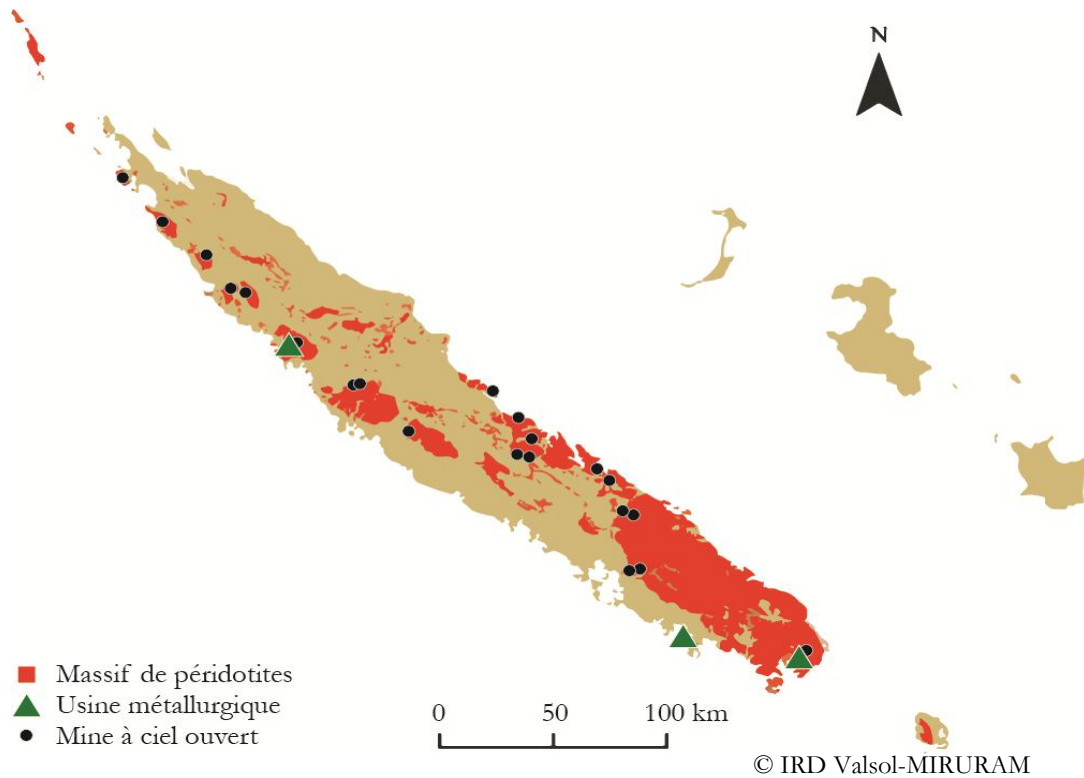


Figure 22. Localisation des massifs de péridotites et des exploitations minières en NC.

Au cours des âges, ces massifs ont subi une altération supergène intensive, c'est-à-dire par la pluie et le vent caractéristiques des zones tropicales, et sont aujourd'hui profondément érodés. Le lessivage des nappes de péridotites a conduit à une exportation massive du magnésium et de la silice et engendré une concentration progressive des métaux d'intérêts. Le processus d'altération des péridotites voit se former dans un premier temps un front de saprolites, qui elles-mêmes seront altérées au cours du temps pour donner des latérites jaunes à l'état de transition, puis rouges (stade d'altération final) (Robineau et al., 2011). Les minerais saprolitiques peuvent contenir 10 fois plus de métaux, voire davantage, que les minerais latéritiques. A l'interface entre les saprolites et les latérites se forme un minéral spécifique, l'asbolane, qui concentre surtout le manganèse et le cobalt (Figure 23). Ce type de gisement met entre 1 et 3 Ma pour se développer et dépend de nombreux paramètres comme la pluviosité, l'acidité des pluies ou encore l'intensité de la fracturation (Planche 37, Bonvallot et al., 2012).

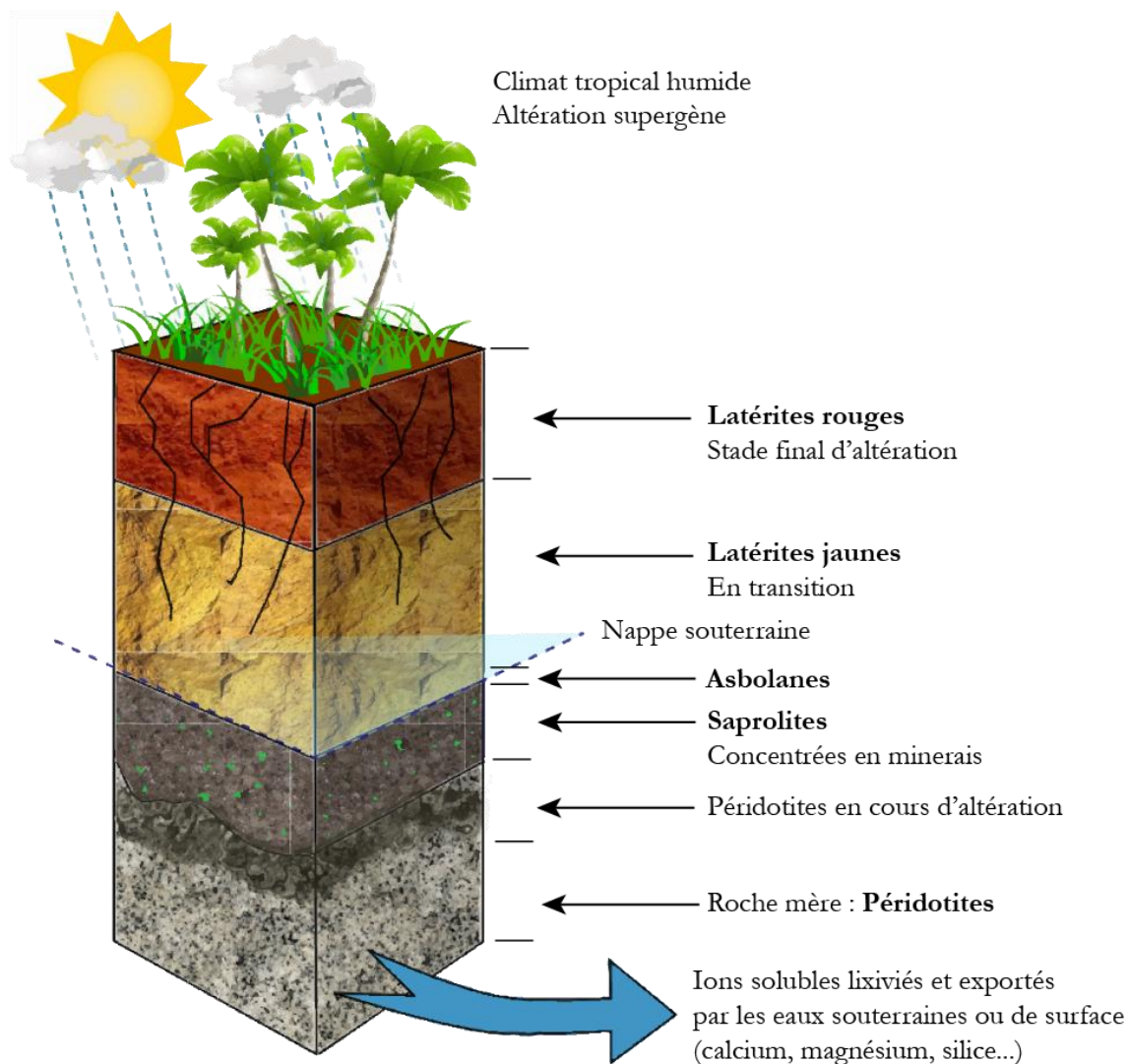


Figure 23. Profil d'altération latéritique sous climat tropical humide d'un massif de péridotites.

3.3.2 Contexte minier et métaux concernés

La découverte de la richesse métallique des sols calédoniens, et notamment de l'« or vert » (la saprolite), a entraîné une rapide expansion de l'exploitation minière à travers le pays dès la fin du XIX^{ème} siècle. Bien que le nickel soit la ressource reine, d'autres métaux font ou ont fait l'objet d'une extraction plus ou moins importante comme le chrome, le fer, le cobalt, le manganèse, le cuivre ou encore l'or. De nos jours, uniquement le nickel et le cobalt sont exploités à travers de nombreuses mines à ciel ouvert sur la totalité du territoire. Ces exploitations nécessitent de très importantes excavations, qui atteignaient en 2010 près de 22 millions de mètres cubes et qui mettent à nue de vastes portions de sol, alors très sensibles à l'érosion (Planche 37, Bonvallot et al., 2012).

La Nouvelle-Calédonie possède ainsi plus du quart des réserves mondiales de nickel et a occupé le troisième rang des plus gros producteurs jusqu'en 1997, d'où elle est descendue progressivement jusqu'à la 6^{ième} place en 2010, en raison de la mise en exploitation de massifs importants en Indonésie et aux Philippines (Planche 36, Bonvallot et al., 2012). Alors qu'uniquement les gisements saprolitiques étaient valorisables durant de longues années, les latérites, représentant une part importante du minerai, étaient exportés en Australie. L'épuisement progressif des minerais à forte teneur en nickel a forcé le développement de nouveaux procédés d'extraction plus rentables, rendant désormais possible l'exploitation des latérites directement sur le territoire. Cela a permis notamment d'accroître considérablement les ressources disponibles en Nouvelle-Calédonie. Trois usines métallurgiques se partagent les ressources du pays :

- La **Société Le Nickel**, à Nouméa, est la plus ancienne des trois usines et fonctionne depuis plus d'un siècle. Elle possède des massifs miniers à travers tout le pays dont le minerai est acheminé à l'usine par camions ou navires minéraliers. Elle a longtemps été la seule usine métallurgique de l'île, opérant alors près de 80% des exportations jusqu'en 2010. Elle produit du ferronickel à 22-25% de nickel et de la matte contenant 77% de nickel sous forme de sulfure (Planche 38, Bonvallot et al., 2012).

- **Vale**, à Goro, est la seconde usine à voir le jour sur le territoire et a participé activement au développement de l'hydrométallurgie. Cette nouvelle technique leur permet d'exploiter les plateaux de Goro, jugés jusqu'alors inexploitable en raison de leur faible teneur. Moins gourmande énergétiquement que la pyrométallurgie, cette technique utilise en revanche des composés très toxiques comme l'acide sulfurique dans des conditions extrêmes de pressions (53 bars) et de températures (270°C). L'usine produit à la fois du nickel et du cobalt, à hauteur, respectivement, de 60 000t et 4 500t annuellement (Planche 39, Bonvallot et al., 2012).

- **Koniambo Nickel SAS**, à Voh, est la dernière usine du territoire et la seule à être implantée en province Nord. Elle exploite le massif du Koniambo. Récente, elle dispose de technologie de pointe améliorant le rendement de son exploitation. La fabrication repose sur le même procédé pyrométallurgique que celui de la SLN, mais produit un ferronickel dont la teneur atteint 35% (Planche 40, Bonvallot et al., 2012).

La multiplication des exploitations minières, bien qu'elle soit une aubaine pour l'économie locale, représente également un certain risque pour l'environnement, qu'il soit terrestre ou marin. En effet, la déforestation et l'excavation de larges portions de sols, liées à la prospection minière à travers tout le pays, augmente considérablement leur érodabilité. Bien que des projets de

revégétalisation des sols soient en cours, ceux-ci ne sont devenus une obligation que récemment (Robineau et al., 2011). Ainsi, les pluies tropicales ou le régime constant des alizées apportent d'importantes quantités de sédiments au lagon, dont les risques sont notamment d'augmenter la turbidité de l'eau, d'enrichir les eaux en métaux et de promouvoir des pathologies coralliennes (Ambatsian et al., 1997 ; Fernandez et al., 2006 ; Heintz et al., 2015).

3.3.3 Choix des métaux étudiés et niveaux de concentration selon les habitats

Le choix des ETMs étudiés a porté, dans un premier temps, sur leur abondance en Nouvelle-Calédonie, puis, dans un second temps, sur leur potentielle importance dans le métabolisme corallien. Bien que le nickel et le cobalt soient les seuls exploités aujourd'hui, les terres en sont riches d'une multitude d'autres. Parmi eux, le chrome, le manganèse et le fer sont particulièrement présents (Becquer et al., 2003, 2006). Tous ces métaux sont localement enrichis à proximité des zones minières par lessivage des sols, comme en témoignent les concentrations retrouvées en aval du bassin versant du mont Koniambo (Tableau 8). Le manganèse, le fer, le nickel et le cobalt ont été les quatre métaux retenus pour nos expérimentations, en raison de leur forte présence dans le lagon calédonien, de leur importance biologique et du peu d'informations disponibles à leur sujet (cf. 3.2.3.1). Le chrome, dont la forme hexavalente domine, n'a pas été choisi, en raison de sa toxicité avérée et de son absence de rôle biologique. Concernant le cuivre, bien qu'il soit impliqué dans le métabolisme corallien, de nombreuses études se sont déjà intéressées à ses effets sur les coraux.

Tableau 8. Aperçu des concentrations métalliques moyennes dans les différents biotopes à proximité du site minier de Koniambo Nickel SAS. Ecart-type donné entre parenthèses.

Biotopes	Éléments traces métalliques $\mu\text{g L}^{-1}$						
	Zn	Cu	Co	Fe	Ni	Mn	Cr
Pleine mer	0.59 (0.44)	0.05 (0.09)	0.03 (0.03)	0.62 (2.7)	0.21 (0.5)	0.21 (0.59)	0.33 (1.03)
Récif barrière	0.45 (0.44)	0.02 (0.02)	0.02 (0.02)	0.58 (2.49)	0.21 (0.51)	0.14 (0.3)	0.33 (1.06)
Passe	0.61 (0.54)	0.01 (0.01)	0.27 (0.4)	994747 (3369724)	0.35 (0.4)	1.40 (2.01)	2.36 (2.47)
Récif réticulé	0.49 (0.45)	0.02 (0.02)	0.06 (0.17)	26329 (234018)	0.23 (0.26)	0.49 (1.07)	0.51 (1.37)
Récif frangeant	0.48 (0.43)	0.02 (0.02)	0.07 (0.14)	113685 (1108056)	0.52 (0.55)	0.83 (1.07)	0.48 (1.32)
Herbier	0.51 (0.55)	0.03 (0.04)	0.08 (0.13)	497183 (4189339)	0.72 (0.71)	1.81 (3.28)	0.43 (1.29)
Sable blanc	0.55 (0.46)	0.02 (0.01)	0.06 (0.19)	467857 (2475667)	0.19 (0.2)	0.41 (0.97)	0.49 (1.36)
Vase	0.49 (0.54)	0.03 (0.02)	0.10 (0.21)	1231132 (6713942)	0.74 (0.78)	1.09 (1.3)	0.64 (1.53)
Mangrove	0.61 (0.8)	0.05 (0.05)	0.33 (0.36)	993056 (6227804)	6.79 (8.87)	15.55 (24.81)	0.48 (1.24)
Moyenne	0.53 (0.53)	0.03 (0.03)	0.11 (0.18)	480443 (2702061)	1.11 (1.42)	2.44 (3.93)	0.67 (1.41)

3.3.4 Expérience de transplantation corallienne (RESULTATS PERSONNELS)

Dans l'optique de mieux comprendre l'effet des apports latéritiques chargés en métaux sur les coraux, une expérience de transplantation corallienne a été réalisée en aval du principal bassin versant du mont Koniambo, sur lequel est implantée l'exploitation minière de l'usine Koniambo Nickel SAS, dans la commune de Voh (Province Nord de la Nouvelle-Calédonie). Le concept de la transplantation corallienne est de pouvoir suivre, *in situ*, l'évolution physiologique sur le long terme de jeunes boutures coralliennes dans différents environnements physico-chimiques de la baie.

Choix des sites

Pour ce faire, des plaques de transplantations en PVC ont été installées à trois sites différents. Préalablement à la sélection définitive de ces sites, une importante étape de prospection a été nécessaire, afin d'identifier trois sites permettant d'obtenir le gradient de concentrations métalliques souhaité et abritant plusieurs espèces identiques, dont le nombre de colonies mères

était suffisant pour supporter un échantillonnage diversifié et conséquent. Parmi les trois sites sélectionnés, deux se situent en bordure de récifs frangeants (stations 1 et 2) et le troisième est un récif barrière interne (station 3) (Figure 24).

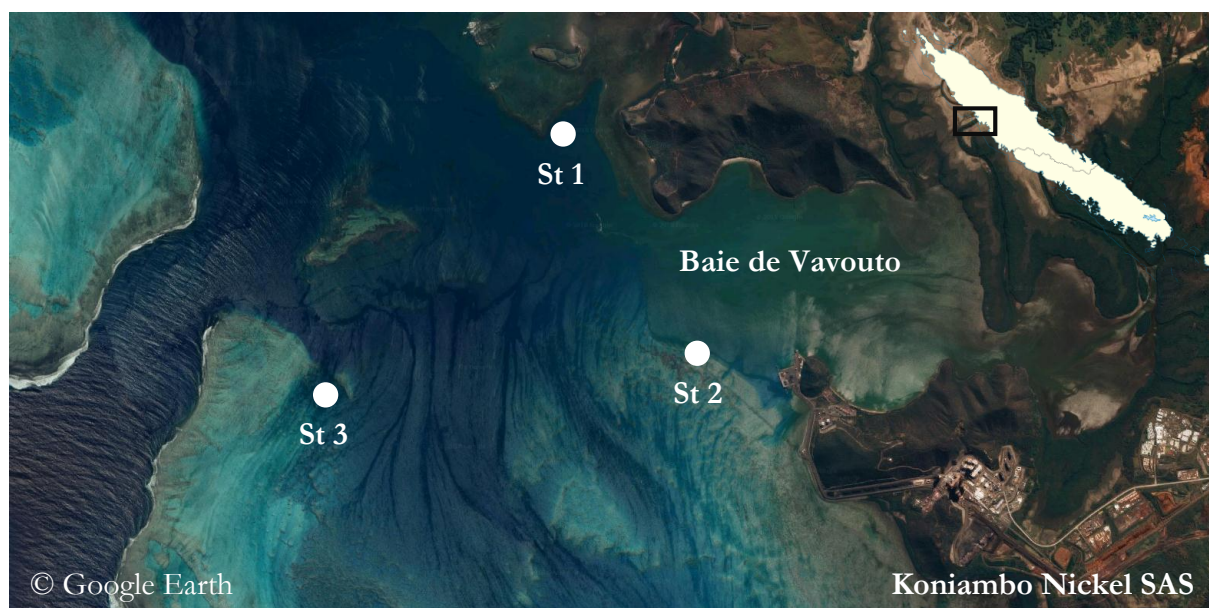


Figure 24. Emplacement des trois stations de transplantation en baie de Vavouto (Voh, Province Nord, Nouvelle-Calédonie).

Le choix des sites en fonction des concentrations métalliques s'est appuyé sur une série temporelle historique (2011 à 2015) de mesures réalisées par KNS à travers un réseau de surveillance de la baie. La station 1 est la plus exposée aux métaux charriés par la rivière Voh et la station 3, la moins enrichie (Tableau 9). La station 1 reçoit également directement les eaux chargées de l'estuaire à marée descendante (Figure 25), alors que la station 3, à proximité de la passe, voit ses eaux se renouveler plus rapidement. Les mesures de lumière réalisées sur chacune des stations lors des missions indiquent que les stations 1 et 3 reçoivent un éclaircissement équivalent, respectivement de 715.85 ± 24.20 et $799.67 \pm 37.47 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$. En revanche, l'éclaircissement de la station 2 est plus de deux fois inférieur avec une valeur moyenne de $311.44 \pm 62.35 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Tableau 9. Concentrations moyennes des métaux présentant un gradient en fonction des stations ($n = 20$ par station, 4 par année de 2011 à 2015). Ecart-type donné entre parenthèses.

Stations	Éléments traces métalliques						
	$\mu\text{g L}^{-1}$						
	Zn	Cu	Co	Fe	Ni	Mn	Cr
1	0.498 (0.274)	0.031 (0.021)	0.086 (0.035)	0.536 (0.118)	0.673 (0.550)	0.871 (0.975)	0.107 (0.042)
2	0.454 (0.366)	0.021 (0.007)	0.050 (0.065)	0.201 (0.261)	0.569 (0.870)	0.569 (0.932)	0.091 (0.029)
3	0.338 (0.383)	0.018 (0.005)	0.025 (0.033)	0.141 (0.083)	0.172 (0.297)	0.194 (0.386)	0.087 (0.026)

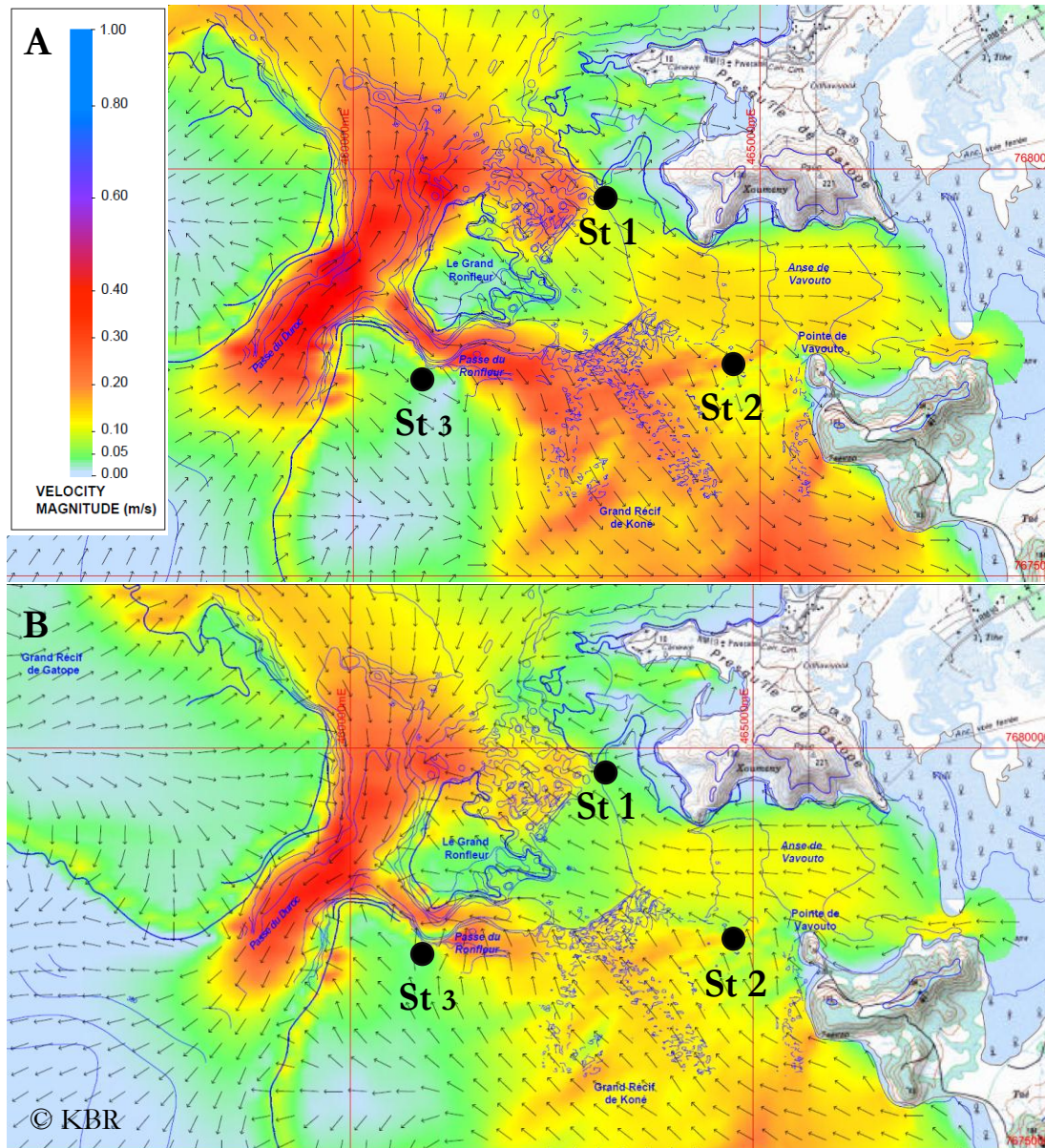


Figure 25. Mouvements des masses d'eau dans la baie de Vavouto lors de marée montante (A) et descendante (B).

Méthodologie

Le nombre d'espèces présentes à chacun des sites, dont l'abondance permettait de supporter l'échantillonnage, se limitait à quatre : *A. muricata*, *M. stellata*, *S. pistillata* et *P. cylindrica*. Ce sont les trois premières qui ont été choisies. Des boutures de 3 cm, au nombre de 30 par site et par espèce, ont été prélevées et collées avec de la résine époxy sur des plaques de PVC de 5 cm par 5, avant d'être installées dans des racks à glissière amovibles, eux-mêmes fixés à la plaque de transplantation principale (Figure 26). En plus de ces boutures, 3 colonies entières par site et par espèce ont également été collectées et fixées sur la plaque de transplantation. Les petites boutures ont permis de mesurer la croissance par pesée dans l'eau (cf. « Methods », 4.1.3 Publication n°2) et

l'efficacité photosynthétique par diving-PAM (cf. 1.4.2) sur les 12 mois prévus, tandis que les colonies mères, plus grandes, fournissaient les échantillons nécessaires au suivi sur l'année des paramètres tissulaires (concentration en chlorophylle et densité en *Symbiodinium* (cf. « Methods », 4.1.3 Publication n°2). Tous les deux mois pendant les 18 mois qu'a finalement duré l'expérience, les mesures physiologiques et les prélèvements ont été effectués sur les trois sites.

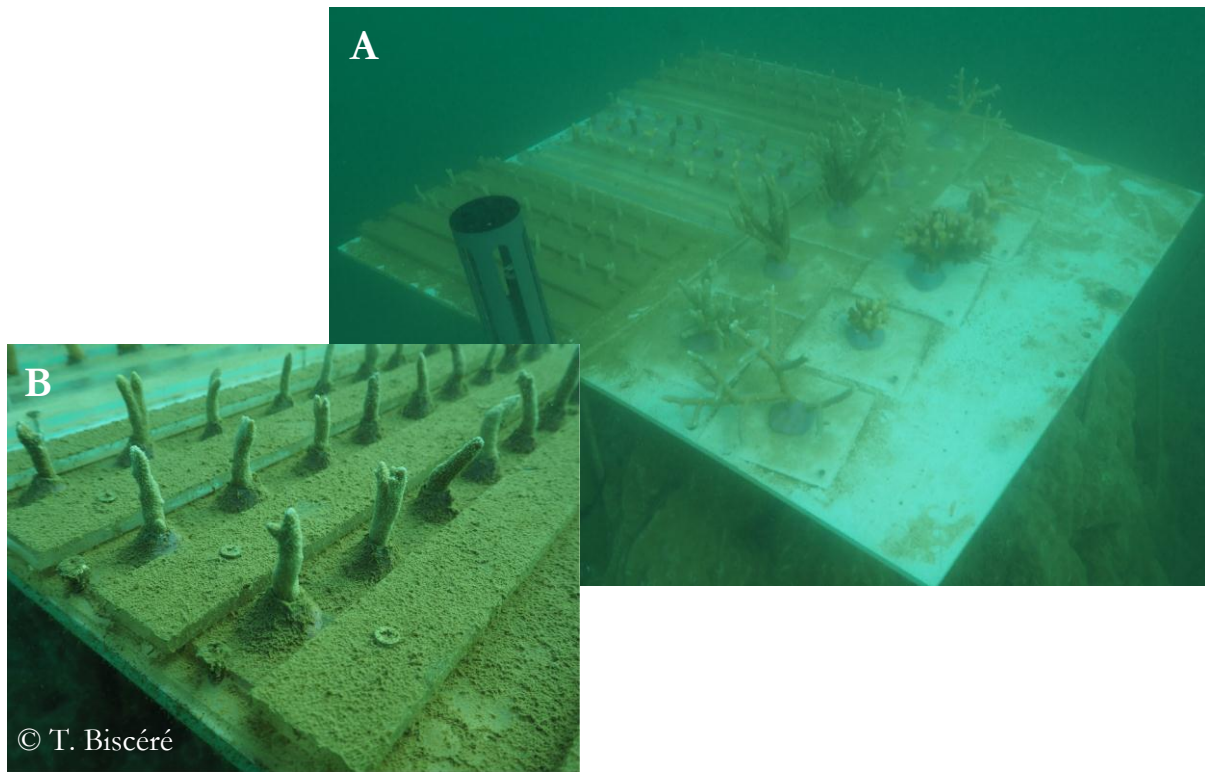


Figure 26. Vue globale de la plaque de transplantation de la station 1 et (B) gros plan sur les boutures de *M. stellata*.

Principaux résultats du suivi

Débutée en janvier 2016, l'expérience a été frappée par le plus important épisode de blanchissement massif connu en Nouvelle-Calédonie en février 2016 (cf. 2.3.1), menant à la perte d'une grande partie de nos boutures, excepté pour *M. stellata*. Le stress thermique n'ayant pris fin qu'en mai 2016 (Figure 16), les nouvelles boutures n'ont été réalisées qu'à ce moment-là. Durant les deux mois qui ont suivi, la station 3 a subi une prédation importante par des corallivores, détruisant la totalité des boutures et repoussant encore une fois le début de l'expérience. Pour pallier à ce problème, une cage a été installée pour protéger les boutures. Parallèlement, les boutures de *S. pistillata* ne survivant pas aux manipulations du bouturage et en raison de la faible abondance des colonies mères, l'espèce a été abandonnée. Enfin, après seulement quelques mois, la totalité des boutures d'*A. muricata* ont péri à la station 2, et ne se sont limitées qu'à seulement deux individus

à la station 1 pour les 6 derniers mois. Ainsi, les seules données robustes obtenues sur les trois stations et les 18 mois de l'expérience (janvier 2016-juin 2017) ne concernent que l'espèce *M. stellata*.

Par ailleurs, le projet (DYNAMINE) dans lequel s'inscrivait cette expérience n'étant pas encore terminé, les nombreuses données physico-chimiques mesurées dans la baie et couvrant la durée de l'expérience ne sont pas encore disponibles, les résultats présentés dans ce manuscrit ne sont donc que préliminaires. De plus, les traitements statistiques n'ont pas encore été réalisés sur les différentes données, ce qui limite l'interprétation des résultats obtenus.

Les taux de croissance de *M. stellata* (Figure 27) vont de 1.78 à 19.9 $\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$ à la station 1, de 1.89 à 8.72 $\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$ à la station 2 et de 6.11 à 14.62 $\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$ à la station 3. Les taux de croissance moyens, en été, atteignent 15.28, 6.13 et 12.21 $\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$, respectivement, aux stations 1, 2 et 3. En revanche, ils descendent à 9.95, 4.71 et 9.52 $\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$ en hiver. Quelle que soit la saison, le taux de croissance moyen des boutures à la station 1 (11.28 $\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$) était supérieur à celui des boutures de la station 3 (10.38 $\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$). Les boutures de la station 2, quant à elles, avaient le taux de croissance le plus faible avec 4.84 $\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$. Le mois d'août a été marqué par une forte diminution des taux de croissance, qui ont chuté à 3.43 et 3.64 $\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$ pour les stations 1 et 2. Aucune donnée n'est disponible pour le mois d'août de la station 3 en raison de la prédation des boutures.

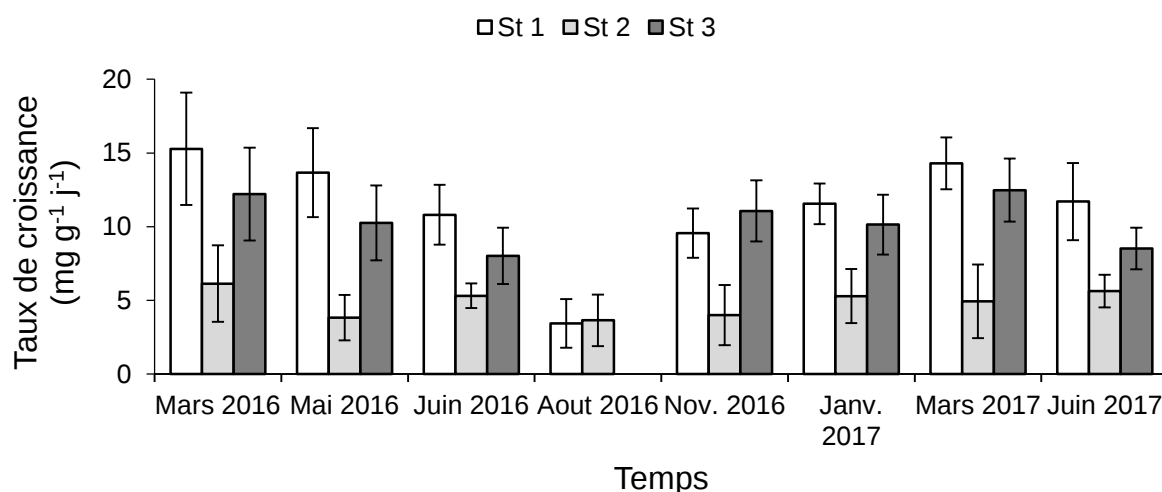


Figure 27. Taux de croissance ($\text{mg g}^{-1} \text{j}^{-1}$) de *Montipora stellata* à chacune des stations sur les 18 mois de transplantation.

L'efficacité photosynthétique de *M. stellata* (Figure 28) oscille de 0.534 à 0.680 à la station 1, de 0.411 à 0.671 à la station 2 et de 0.568 à 0.680 à la station 3 sur toute la durée de l'expérience. En été, le F_v/F_m moyen des boutures est le plus bas et atteint, respectivement, 0.631, 0.594 et 0.614 aux stations 1, 2 et 3. A l'inverse, en hiver ils sont les plus élevés avec 0.675, 0.637 et 0.648 aux

stations 1, 2 et 3. L'efficacité photosynthétique des boutures de la station 3 est la plus élevée tout au long de l'expérience (0.646), suivie par celles de la station 2 (0.632), puis de la station 1 (0.601). Le mois d'août a également été marqué par une chute du F_v/F_m à 0.591 et 0.491 pour les boutures des stations 1 et 2.

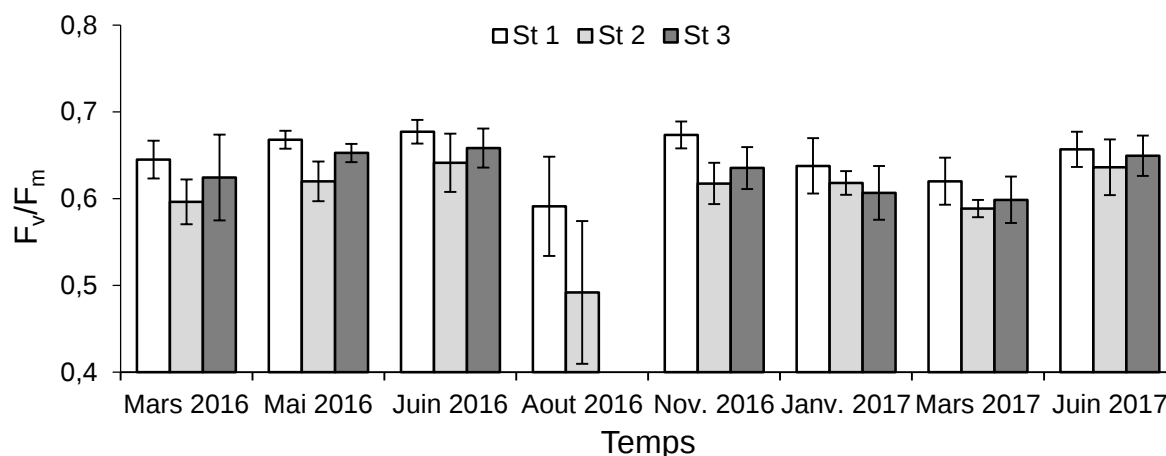


Figure 28. Efficacité photosynthétique (F_v/F_m) de *Montipora Stellata* à chacune des stations sur les 18 mois de transplantation.

Premières conclusions sur cette transplantation

Parmi les effets identifiables, l'effet saisonnier est marqué aux stations 1 et 3, où les taux de croissance des colonies de *M. stellata* (Figure 27), ainsi que leur efficacité photosynthétique (Figure 28), oscillent en fonction des saisons. Ce phénomène, déjà observé auparavant (Crossland, 1984 ; Warner et al., 2002), s'explique notamment par la variation de la température et de la luminosité. En effet, d'une part, une augmentation de la température en saison estivale (décembre à mars) accélérera le métabolisme des coraux et stimulera leur croissance, et d'autre part, l'augmentation de la luminosité entraînera des mécanismes de photoprotection chez les symbiotes diminuant leur efficacité photosynthétique. Les effets s'inversent durant l'hiver austral et résultent en une diminution de la croissance et une augmentation du F_v/F_m (juin à novembre). Loin d'être anormales, ces variations démontrent que le système photosynthétique fonctionne bien et s'adapte aux conditions environnementales. Ainsi, tant que le F_v/F_m demeure supérieur à 0.5 (Vieira et al., 2016), le corail est en bonne santé. Ce seuil minimal n'a été dépassé qu'une seule fois pour les colonies de la station 2 lors de l'hiver austral (août 2016), suite à un évènement encore inexpliqué.

Par ailleurs, les colonies de la station 1 possèdent de meilleurs taux de croissance et une efficacité photosynthétique accrue en comparaison des coraux des deux autres stations, quelle que soit la saison. Alors que l'on pourrait potentiellement attribuer cela aux enrichissements

métalliques, les colonies de la station 2 possèdent les métabolismes les moins performants malgré des concentrations plus fortes qu'à la station 3. Les données physico-chimiques futures devraient permettre d'identifier si un facteur tiers affecte la station 2, mais les observations empiriques, lors des missions, laissent penser qu'elle serait plus chargée en matières en suspension que les autres, ce qui limiterait l'accès des coraux à la lumière et engendrerait des coûts métaboliques supplémentaires.

L'hiver austral 2016 (août 2016 ; Figure 27, Figure **28**) semble également avoir été marqué par un événement particulier qui a durement impacté les stations 1 et 2. En effet, l'efficacité photosynthétique des colonies des deux stations, ainsi que les taux de croissance des coraux de la station 1 ont fortement diminué. La prédation des boutures par les corallivores à la station 3 empêche de savoir si le phénomène s'est limité aux stations côtières ou pas. Les données physico-chimiques de la baie devraient nous permettre d'identifier la cause de ce stress intense, qui pourrait être lié à un événement pluvieux important, par exemple, faisant chuter la salinité côtière de l'eau ou apportant d'importantes quantités de sédiments.

Par la suite, lorsque les données physico-chimiques seront disponibles, des analyses statistiques multivariées devraient permettre de déterminer, pour chacune des stations, si les variations des paramètres physiologiques coralliens mesurés sont principalement liées aux concentrations en métaux sous forme dissoute ou particulaire, aux flux de matières en suspension ou à d'autres paramètres physico-chimiques.

Chapitre 4

Les métaux dans le cadre du
changement climatique

Effets sur les coraux

CHAPITRE 4 | LES METAUX DANS LE CADRE DU CHANGEMENT CLIMATIQUE : EFFETS SUR LES CORAUX

4.1 Interaction métaux et réchauffement des eaux

4.1.1 Effets du réchauffement des eaux sur la spéciation des métaux

La relation existante entre un réchauffement global des eaux et une modification de la spéciation des éléments traces métalliques est très complexe. En effet, outre la relation entre le métal et la température, une augmentation de celle-ci modifiera également de nombreux autres paramètres influençant directement ou indirectement la spéciation des ETMs, comme par exemple la stabilité des complexes organiques, la modification des ligands organiques et inorganiques, la stratification des masses d'eau ou encore l'activité biologique (Hoffman et al., 2012). Par ailleurs, tous les métaux ne répondent pas de la même manière à une modification de leur environnement. Relativement peu d'études se sont penchées sur les effets du réchauffement climatique sur la spéciation des ETMs.

Parmi les effets existants, le réchauffement des eaux engendre, par exemple, une plus forte stratification de la colonne d'eau, limitant les mélanges entre les couches de surface et les couches profondes, ce qui allonge le temps de résidence des ETMs en surface (Doney, 2006). Les différents paramètres physico-chimiques des couches de surface ont des effets divergents sur les ETMs :

- Le temps de résidence des ETMs y étant allongé, l'exposition des complexes métalliques à la lumière est augmentée, ce qui modifie leur cycle biogéochimique. En effet, par exemple, les températures et intensités lumineuses plus élevées entraînent la réduction des oxydes de manganèse (Mn(III) et Mn(IV)) (Sunda & Huntsman, 1994), de même que la photoréduction du Fe(III) (Kuma et al., 1998).

- L'oxygène, en proportion plus élevée dans les couches de surface, favoriserait au contraire l'oxydation de ces ETMs (Shaked, 2008). De plus, la cinétique des réactions chimiques augmentant avec la température, une élévation de celle-ci augmenterait également la réactivité des formes réduites avec l'oxygène (Samperio-Ramos et al., 2016).

- Par ailleurs, l'activité biologique jouant un rôle important dans la spéciation des ETMs, sa stimulation ou son inhibition par une hausse de la température influencera leur cycle

biogéochimique. Par exemple, il est établi qu'une augmentation de la température augmente la croissance et la production bactérienne (Kritzberg et al., 2010 ; Vaqué et al., 2009), ce qui pourrait générer une surproduction de sidérophores (molécules étant de puissants chélateurs du fer) et faire ainsi chuter la biodisponibilité du fer (Hoffmann et al., 2012).

La superposition de l'ensemble de ces paramètres biotiques et abiotiques, dont les interactions diffèrent avec chaque métal, rend extrêmement difficile la prévision des formes chimiques prédominantes en cas de réchauffement des eaux.

4.1.2 Effets du réchauffement des eaux et des métaux sur les coraux

Alors que les études portant sur les effets du réchauffement des eaux sur les coraux sont très nombreuses (cf 2.2.1), très peu sont celles qui considèrent une potentielle interaction avec les métaux (Ferrier-pagès et al., 2018 ; Fonseca et al., 2017 ; Hédouin et al., 2016b ; Kwok et al., 2016 ; Negri & Hoogenboom, 2011 ; Shick et al., 2011). La plupart d'entre elles portent sur l'interaction du cuivre et de la température et s'accordent à dire que, quel que soit le stade de vie considéré, ce dernier diminue la thermotolérance des coraux. Ainsi, la concentration de cuivre conduisant à une mortalité de 50% des larves de *P. damicornis* passe de 198 à 141 $\mu\text{g L}^{-1}$ lors d'une élévation de la température de 3°C (Hédouin et al., 2016b). Bien que ces concentrations puissent sembler élevées, les effets synergiques sont également visibles à bien plus faibles concentrations. En effet, alors que des concentrations en cuivre de 4.4 et 14.8 $\mu\text{g L}^{-1}$ suffisent à observer 10% de réduction du taux de métamorphose à 32°C, respectivement, chez *A. millepora* et *A. tenuis*, ces concentrations chutent à 0.4 et 10.4 $\mu\text{g L}^{-1}$ lorsque la température est augmentée d'un degré seulement (Negri & Hoogenboom, 2011). En revanche, aucun effet synergique de ces deux facteurs n'a été décelé sur l'espèce *P. acuta*, que ce soit au niveau de la survie larvaire, de leur nage, de leur métamorphose ou même du succès reproducteur (Kwok et al., 2016). Les auteurs justifient cette absence totale d'effet par une plus forte tolérance chimique et thermique des coraux de Hong-Kong, constamment exposés à des eaux chargées en cuivre, en raison de la forte urbanisation locale, et à des températures élevées (correspondant aux maximales testées dans l'étude). Quant au stade adulte, une chute de la LC_{50} des colonies de *P. damicornis* de 251 à 175 $\mu\text{g L}^{-1}$ est également observée lors d'une hausse de 3°C (Hédouin et al., 2016b). Cependant, comme pour les larves, les effets synergiques peuvent apparaître bien plus tôt comme le démontrent la diminution de l'efficacité photosynthétique et l'augmentation de la peroxydation des lipides chez *M. barttii* après 4 jours d'exposition à 3.8 $\mu\text{g L}^{-1}$ de cuivre et à une augmentation de la température de 1.6°C (Fonseca et al., 2017).

L'amplification des effets néfastes du cuivre lors d'une hausse des températures pourrait tout d'abord découler d'une augmentation de l'incorporation du cuivre via, (i) une augmentation du taux de transport actif, (ii) une augmentation de la perméabilité membranaire, (iii) une hausse de l'activité métabolique ou (iv) d'une réduction de l'élimination du cuivre (Negri & Hoogenboom, 2011). Puis, une fois incorporé, le cuivre est notamment connu pour entraîner une augmentation du stress oxydant (Marangoni et al., 2017 ; Schwarz et al., 2013) (cf. 3.2.2.2), ce qui pourrait favoriser le blanchissement des coraux (Fonseca et al., 2017 ; Hédouin et al., 2016b).

A l'inverse, une étude a mis en évidence qu'une limitation en fer augmentait la sensibilité des coraux au blanchissement (Shick et al., 2011). En effet, lors d'un stress thermique, l'absence de fer a entraîné une diminution encore plus importante de l'efficacité photosynthétique de *S. pistillata*. Lors d'une élévation de la température, les symbiotes convertissent la diadinoxanthine en diatoxanthine afin de favoriser la voie non photochimique de la photosynthèse, dans le but de limiter la production de ROS (Casperlindley & Bjorkman, 1998). Or, ce mécanisme de conversion, traduisant une perturbation de la chaîne photosynthétique, apparaît également lors d'un déficit en fer, ce qui suggère que son absence favoriserait une surproduction de ROS par la photosynthèse. Par ailleurs, la capacité des coraux à résister au blanchissement lors d'un stress thermique serait étroitement liée à la capacité de l'hôte à s'approvisionner en ETMs comme le fer, le manganèse ou le magnésium, à travers la nutrition hétérotrophe (Ferrier-Pagès et al., 2018). D'après cette étude, un manque en ETMs dans les tissus coralliens (notamment le zinc, le cuivre ou le magnésium) sensibiliserait également les coraux au blanchissement.

Seules ces six études se sont attachées à étudier les effets croisés du réchauffement climatique et d'un enrichissement métallique et presque toutes portent sur le cuivre. Ces informations sont pourtant cruciales dans le cadre du réchauffement global, où de nombreux pays, concentrant les récifs coralliens, voient se développer des exploitations minières colossales pour répondre aux besoins toujours croissants de la société moderne. En Nouvelle-Calédonie, les eaux du lagon sont principalement enrichies en fer, en manganèse et en nickel (Tableau 8), mais leurs effets sur les stades adultes des coraux sont très mal connus. C'est dans ce contexte particulier que se place cette présente thèse, dont l'ambition est de déterminer quel est l'impact des métaux sur les récifs coralliens, que leurs enrichissements surviennent seuls ou en combinaison avec un réchauffement des eaux.

4.1.3 Effets du réchauffement des eaux et d'un enrichissement en nickel sur les coraux (RESULTATS PERSONNELS)

Synthèse des principaux résultats obtenus

Les résultats décrits ci-après font référence à deux expériences réalisées durant les deux premières années de thèse. La seconde expérience, découlant directement des résultats obtenus et des hypothèses émises à la suite de la première, apparaît dans cette section bien que le paramètre température n'intervienne pas.

Les premières expérimentations, réalisées sur *A. muricata* et *P. damicornis*, ont permis de mettre en évidence à température ambiante et en conditions *in situ*, une stimulation de leurs taux de calcification, de 27 et 47% respectivement, lors d'une exposition courte (1h) et modérée ($2.71 \mu\text{g L}^{-1}$) au nickel (Figure 30). Ces résultats mettent en évidence pour la première fois un rôle stimulateur du nickel pour le métabolisme corallien, qui pourrait résulter de son rôle de cofacteur de l'uréase (Krajewska, 2009). En effet, en dégradant de l'urée, l'uréase libère du carbone inorganique (CO_2) et de l'ammoniac (NH_3), deux produits importants dans le métabolisme des coraux. Le premier représente une source de carbone, tandis que le second permettrait de neutraliser les protons émis lors de la calcification (Barnes & Crossland, 1976 ; Crossland & Barnes, 1974). Parallèlement à ces expériences *in situ*, des incubations en aquarium ont été menées sur *A. muricata*. Celles-ci ont eu pour but d'évaluer les effets d'un stress thermique sur des coraux exposés de façon chronique à $3.52 \mu\text{g L}^{-1}$ de nickel sur 8 semaines. Les résultats obtenus ont révélé, quelle que soit la température (26 ou 32°C), une augmentation par le nickel de la densité en *Symbiodinium*, ainsi que des taux de transport d'électron et de photosynthèse (Figure 31, Figure 32, Figure 33). Toutefois, contrairement à ce qui avait été observé *in situ* sur le court terme, la combinaison de l'enrichissement en nickel et de l'augmentation de température a fait chuter de 37% le taux de croissance d'*A. muricata* (Figure 34). Les taux de photosynthèse n'ont pas été affectés par la combinaison des deux stress mais la respiration a été plus que doublée. Le maintien de la photosynthèse observé lors du stress thermique est probablement lié au rôle du nickel au sein de la SOD (Ho, 2013) (cf. 3.2.2.1), un facteur clé dans la gestion du stress oxydant induit par cette hausse de la température. Quant à la diminution des taux de croissance d'*A. muricata* lors du stress thermique combiné à l'enrichissement en nickel, elle pourrait résulter d'une dénaturation de l'uréase à haute température, ou bien de la forte augmentation des taux de respiration (Figure 32B), traduisant une diminution de l'allocation d'énergie à d'autres fonctions métaboliques comme la calcification (**Publication n°2** : Biscéré et al., 2017).

Afin de vérifier si la stimulation du métabolisme corallien observée sous enrichissement en nickel est induite par son rôle au sein de l'uréase, des expériences supplémentaires ont été réalisées. Elles ont été menées sur les deux mêmes espèces symbiotiques, *A. muricata* et *P. damicornis* et une troisième espèce asymbiotique, *D. arbuscula* (cf. 1.5). Cette troisième espèce asymbiotique a principalement permis de déterminer si la stimulation de la calcification par le nickel chez les coraux symbiotiques se faisait directement, ou indirectement via une stimulation de la photosynthèse. En plus de confirmer les résultats obtenus à température ambiante lors des premières expériences chez les espèces symbiotiques, ces travaux mettent en avant la synergie d'un double enrichissement en nickel et en urée. En effet, les plus fortes stimulations des paramètres physiologiques ont été mesurées pour les boutures coralliennes soumises à un apport simultané en nickel et en urée, avec des taux d'incorporation d'urée triplés chez *P. damicornis*, voire septuplés chez *A. muricata* (Figure 39A et B), des taux de photosynthèse, respectivement, 30% plus élevés ou doublés (Figure 37), et des taux de calcification et de croissance augmentés d'environ 50 et 60% (Figure 40A, B et Figure 41A, B). Par ailleurs, l'augmentation de 49% des taux de croissance (Figure 41C) et de 100% des taux d'incorporation d'urée (Figure 39C) chez l'espèce asymbiotique révèlent que la voie de stimulation est très majoritairement directe. La photosynthèse n'expliquerait ainsi que 10 à 15% de l'augmentation de croissance observée chez les espèces symbiotiques. Ces expériences confirment donc l'importance du nickel et de l'urée dans le métabolisme corallien et l'hypothèse selon laquelle les produits de dégradation de l'urée ($\text{CO}_2 + \text{NH}_3$) sont en grande partie directement alloués au processus de calcification. Quant à la photosynthèse, sa stimulation pourrait résulter, d'une part, de l'augmentation des concentrations en chlorophylles par le nickel (Figure 36B, D) qui augmenterait leur production en se substituant au magnésium nécessaire à leur biosynthèse (Küpper et al., 1996), et d'autre part, être le fruit indirect de l'hydrolyse de l'urée. En effet, l'ammonium (NH_4^+), produit par la combinaison de l'ammoniac (NH_3) et des protons (H^+) de la calcification, pourrait être recyclé dans la photosynthèse et la stimuler (Ferrier-Pagès et al., 2000 ; Hoegh-Guldberg & Smith, 1989) (**Publication n°3** : Biscéré et al., 2018).

Nickel and ocean warming affect scleractinian coral growth

Marine Pollution Bulletin | Publiée en ligne en mai 2017

Biscéré T.^{a,b}, Lorrain A.^c, Rodolfo-Metalpa R.^a, Gilbert A.^b, Wright A.^d, Devissi C.^a, Peignon C.^a, Farman R.^e, Duveilbourg E.^f, Payri C.^a, Houlbrèque F.^a

^a IRD, ENTROPIE (UMR 9220), BP A5, 98848 Nouméa cedex, New-Caledonia, France

^b Ginger Soproner, BP 3583, 98846 Nouméa cedex, New-Caledonia, France

^c IRD, LEMAR (UMR 6539), BP A5, 98848 Nouméa cedex, New-Caledonia, France

^d Koniambo Nickel SAS, BP679, 98860 Koné cedex, New-Caledonia, France

^e Aquarium des Lagons, BP8185, 98807 Nouméa cedex, New-Caledonia, France

^f LEMAR (UMR 6539), Institut Universitaire Européen de la Mer, Technopôle Brest Iroise, place Nicolas Copernic, 29280 Plouzané, France

Biscéré, T., Lorrain, A., Rodolfo-Metalpa, R., Gilbert, A., Wright, A., Devissi, C., Peignon, C., Farman, R., Duveilbourg, E., Payri, C., Houlbrèque, F., 2017. *Nickel and ocean warming affect scleractinian coral growth*. Marine Pollution Bulletin 120, 250–258. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.05.025

ABSTRACT

The sensitivity of corals and their *Symbiodinium* to warming has been extensively documented; However very few studies considered that anthropogenic inputs such as metal pollution have already an impact on many fringing reefs. Thus, today, nickel releases are common in coastal ecosystems. In this study, two major reef-building species *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis* were exposed *in situ* to ambient and moderate nickel concentrations on a short-term period (1h) using benthic chamber experiments. Simultaneously, we tested in laboratory conditions the combined effects of a chronic exposure (8 weeks) to moderate nickel concentrations and ocean warming on *A. muricata*. The *in situ* experiment highlighted that nickel enrichment, at ambient

temperature, stimulated by 27 to 47% the calcification rates of both species but not their photosynthetic performances. In contrast, an exposure to higher nickel concentration, in combination with elevated temperature simulated in aquaria, severely depressed by 30% the growth of *A. muricata*.

1. Introduction

Seawater quality in coastal areas is changing in response to human activities (*e.g.* Cooper et al., 2009). Deforestation or mining operation increasing soil erosion, domestic and agricultural pollutions, and coastal dredging operations are more and more frequent. Mining activities, leading to sedimentation increase, metal and chemical inputs concern also many reef areas worldwide (*e.g.* Costa Rica, Panama, Red Sea, Thailand, Tuvalu, Puerto Rico) (Guzmán and Jiménez, 1992; Ali et al., 2011; Tanaka et al., 2013; Fujita et al., 2014; Whitall et al., 2014). Nickel and nickel compounds in particular have many industrial and commercial uses and the progress of industrialization has led to increased release of this metal into marine ecosystems (Cempel and Nikel, 2006; USGS, 2013). For instance, the largest nickel deposits and smelting activities are in Cuba, New Caledonia, Indonesia and Philippines (Elias, 2002 ; Mudd, 2010), and can be located very close to coral reefs (Carey, 1981). In particular, the soil of New-Caledonia, which is the fifth largest producer of nickel and owns many open-pit mines, is particularly rich in nickel. Soil leaching, especially during heavy rainfalls, greatly contributes to metal discharges into the lagoon (Fichez et al., 2005 ; Hédouin et al., 2006 ; Metian et al., 2008). As a consequence, extended portions of fringing reefs in the New Caledonian lagoon build up in seawater enriched in metals (Moreton et al., 2009). While nickel concentration in seawater is generally around 0.1 to 0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Barceloux, 1999 ; Sutherland & Costa, 2002), it has been found to exceed 20 $\mu\text{g L}^{-1}$ in some places along New Caledonian coasts (Moreton et al., 2009) and up to 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ in other highly polluted coastal areas (*e.g.* Chennai city, India; Shanmugam et al., 2007).

To the best of our knowledge, the effects nickel exposure might have on marine organisms in general, and corals in particular, have been poorly investigated. Only two studies assessed the effects of high nickel concentrations (equivalent to 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$) on the fertilization success and planulae stage of two coral species (Goh, 1991 ; Reichelt-Brushett & Hudspeth, 2016). These studies bring data for the first life stages of corals and highlight a toxicity of nickel only at high concentrations, but no study deals with response on the effect of this metal on the different physiological mechanisms of adult corals at concentrations found in waters affected by anthropogenic inputs, estimated to be around 15-20 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Moore & Ramamoorthy, 1984 ; Moreton et al., 2009). This paucity of data on the role/effect of nickel on corals is surprising

because nickel is an essential trace metal for microorganisms and plants (Cempel & Nickel, 2006) and may play an important role in several enzymatic and metabolic reactions, either as a component or enzymatic activator (Eder & Kirchgessner, 1997 ; Markich et al., 2002). For example, it has been demonstrated that nickel is essential for the phytoplankton utilization of urea, an important nitrogen source in N-limited oceanic waters (Price and Morel, 1990; Morel et al., 2003; Dupont et al., 2008a) since nickel is the active metal center in urease enzyme (which catalyzes the dissociation of urea into ammonium and carbon dioxide). A nickel-superoxide dismutase (Ni-SOD) was also found in marine cyanobacteria, a dominant group of picophytoplankton in open ocean waters (Dupont et al., 2008a, b). In general, SOD enzymes play a critical role in protecting photosynthetic organisms from self and environmentally induced oxidative stress (Wolfe-Simon et al., 2006; Dupont et al., 2008b). As nickel is involved in the functioning of urease and SODs, two essential enzymes in coral metabolism, it is likely that its increased concentrations in seawater might modify their metabolism.

Local pollutions are not the only threat for coral reefs as global warming and ocean acidification are already altering marine ecosystems (Hoegh-Guldberg et al., 2007). In particular, the sensitivity of corals and their endosymbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium* spp.) to warming has been documented extensively (e.g. Hoegh-Guldberg, 1999). *Symbiodinium* trap solar energy and nutrients, providing more than 95% of the coral metabolic requirements (Falkowski et al., 1984), and favoring high coral calcification rates. When temperatures exceed summer maxima by 1 to 2°C for 3 to 4 weeks, this symbiosis is broken and corals bleach (Fitt et al., 2001). Massive coral bleaching has increased in intensity and frequency in recent decades (e.g. Done et al., 2003; Donner et al., 2005; Hoegh-Guldberg, 1999, 2005; Hughes et al., 2017) although massive bleaching events have never been reported in New Caledonia until early February 2016.

To our knowledge, while two studies were interested in the combined impacts of metals and thermal stress on early life stages of corals (Negri and Hoogenboom 2011; Kwok et al., 2016), only one study investigated physiological effects of metal exposure (copper) and temperature increase on their adult life stage (Nyström et al., 2001). The aim of our work was to investigate the effect of nickel alone and/or in combination with warming on the calcification rates and photosynthetic properties of two major reef-building corals: *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis*. Both corals were exposed *in situ* to ambient and elevated nickel concentrations, while in laboratory the combined effects of nickel enrichment and warming were tested on *A. muricata* only.

2. Methods

2.1. *In situ* experiment

In situ experiments were conducted at the end of December 2015 during the summer Austral season and during several consecutive sunny days. The study site was located at Ilot Maître (22°19.702" S; 166°24.626" E) in the southwest New Caledonia lagoon at a depth of 3 m. Three colonies (15 cm long) of *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis* were sampled by scuba diving near the study site and immediately transferred into the benthic chambers where they were allowed to recover from sampling for around 1-h before the beginning of the experiment. Four transparent PVC benthic chambers of 6.4 L volume were used simultaneously: three chambers containing *A. muricata* or *P. damicornis* colonies and one without the coral colony to account for seawater microbial activity. Each chamber was connected to an YSI 600 OMS probe coupled to an optical dissolved oxygen 6150 module which recorded oxygen, temperature, salinity and depth every minute. Seawater was recirculated between the chamber and the probe at a water flow of 2 L min⁻¹ using an adjustable submersible pump alimented by waterproof batteries (see: Biscéré et al., 2015; Lorrain et al., 2015 for a detailed description of the system). Photosynthetically active radiation irradiance (I , $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) was measured adjacent to the experimental chambers using quantum sensors (LI-193 SA coupled to a Li-1500 LI-COR). At the beginning of the incubations the chambers were hermetically closed; seawater was left recirculating within the system after which the incubation started. Between incubations, enclosures were left open for at least 30 min to restore ambient conditions.

For each species (*A. muricata* and *P. damicornis*), six successive incubations of one hour were performed, from 09:00 am to 9:00 pm, to encompass the full range of daily irradiance levels, including dark. The first series of incubations has been realized at seawater natural nickel concentration (nickel concentration: $0.15 \pm 0.02 \mu\text{g L}^{-1}$). The second series of incubations have been performed on the same colonies but 20 ml of a $960 \mu\text{g L}^{-1}$ nickel solution (NiNO₃, CPAchem, Bulgaria) have been injected in each chamber at the beginning of each incubation. Final nickel concentration into the chambers was equal to $2.71 \pm 0.21 \mu\text{g L}^{-1}$ (*i.e.* enriched). Between incubations, enclosures were left open for at least 30 mn to restore ambient conditions.

Photosynthetic, respiration and calcification rates. Coral metabolic rates were measured at different light levels and in the dark. At the beginning and at the end of each incubations, seawater samples were collected with 450 ml syringes in each chamber for pH and total alkalinity (A_T) measurements. pH was measured immediately on board using a pH meter with

a glass electrode (Methler 826 pH mobile) calibrated with Tris/HCl referenced solutions (Dickson et al., 2007). Samples were then filtered through 0.47 μm Whatman glass-fiber filters (GF/F) and stored in 250 ml bottles in the dark. Total alkalinity ($\mu\text{mol kg}^{-1}$) was further determined on 20 ml subsamples (3 replicates) by Gran automatic potentiometric titration (Radiometer, Titrilab TIM 865) using 0.01 M HCl and calculated from the Gran function applied to pH variations from 4.2 to 3.0 as mEq L^{-1} from the slope of the curve HCl volume *vs.* pH. Titrations of A_T standards provided by A.G. Dickson (batch 121) were within 0.7 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ of the nominal value.

Calcification rates at each light level and in the dark were estimated using the alkalinity anomaly technique (Chisholm & Gattuso, 1991) as the change in the A_T values during each incubation. The integrated calcification rates (from 9 am to 9 pm) expressed in $\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ have been calculated for each coral species and nickel concentration. Oxygen production and consumption rates were measured by the oxygen sensor of the YSI probe, which was calibrated before each experiment against air saturated with moisture. Rates of photosynthesis (P) and respiration (R) were estimated by regressing oxygen data against time.

Rates of calcification, photosynthesis and respiration were calculated according to the equations described in Biscéré et al. (2015). For each colony, a Michaelis-Menten model (Lederman & Tett, 1981 ; Vermaat, 2009) was iteratively fitted using non-linear regression (Gauss-Newton algorithm) to P_{net} ($\mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$) *vs.* PAR irradiance (I, $\mu\text{mole photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). This model generates three parameters: maximal gross photosynthesis (P_{max}), half saturation constant (K_m) and respiration (R). At the end of all the incubations coral colonies were frozen (-20°C) for further analyses. Photosynthesis, respiration and calcification rates were normalized by unit surface skeleton (cm^{-2}) measured using the wax-dipping method described in Stimson and Kinzie, 1991.

2.2. *Aquaria experiment*

Coral collection and experimental setup. One hundred sixty terminal portions (*i.e.*, nubbins) of branches (2-cm long) of *Acropora muricata* were cut using a plier from ten parent colonies on the fringing reef of Baie des Citrons ($22^\circ 18.033'\text{S}$; $166^\circ 26.166'\text{E}$), 2 miles far from Ilot Maître. After collection, nubbins were hung on nylon wires and suspended on the aquaria with the apex oriented toward the artificial light source. They were allowed to recover during three weeks at the Aquarium des Lagons (Nouméa) under controlled conditions as described below. Nubbins were randomly assigned ($n = 20$ per tank) to one of the 8 experimental tanks (20 L volume) supplied with 100 μm -filtered seawater pumped from 5 meters depth in front of the Aquarium. In each tank, seawater was renewed at a rate of 14.5 L h^{-1} and mixed using a submersible pump (Aquarium

system, micro-jet MC 320, Mentor, OH, USA). Temperature ($26 \pm 0.1^\circ\text{C}$) and salinity (35.70 ± 0.01) were kept constant using a temperature-stat system (IKS, Karlsbad, accuracy $\pm 0.2^\circ\text{C}$) connected to heaters and routinely verified using an YSI MPS 556 probe (YSI, USA). Corals received a constant irradiance of $120 \pm 10 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (photoperiod was 12h:12h light:dark) using two banks of four T5 bulbs (two giving 10000°K and two giving 6000°K, Giesemann, Germany). They were fed twice a week during the recovery period with nauplii of *Artemia salina* (ca. $110 \pm 30 \text{ nauplii L}^{-1}$).

After the recovery, four tanks were supplied with seawater at ambient nickel concentration (Ambient: $1.00 \pm 0.04 \mu\text{g L}^{-1}$), while the remaining four others were enriched in nickel (Enriched: $3.52 \pm 1.06 \mu\text{g L}^{-1}$). For that, a peristaltic pump (ISMATEC) continuously supplied the experimental tanks with a solution of stable nickel (NiNO_3 , CPAchem, Bulgaria) at a rate of 40 ml h^{-1} together with a 14.5 L h^{-1} seawater flow-through. After three weeks of coral acclimatization, for each nickel condition (ambient: $1.00 \pm 0.04 \mu\text{g L}^{-1}$ or enriched: $3.52 \pm 1.06 \mu\text{g L}^{-1}$), temperature was either gradually increased (1°C day^{-1}) to 32°C or, maintained at $26.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ (control temperature) in order to have duplicate tanks for each treatment. Corals were incubated under such experimental conditions for a total of 8 weeks during which nickel concentrations were verified once a week by the AEL laboratory (*Analytical Environmental Laboratory*) of Nouméa, according to the protocol described in Moreton et al. (2009). Photosynthetic efficiency, growth rates and tissue parameters were measured at the beginning of the experiment, to check for coral health. These measurements, together with the photosynthetic and respiration rates were measured again at the end of the experiment.

Photosynthetic efficiency measurements. Photosynthetic efficiency (F_v/F_m) and the relative electron transport rate (rETR) of the Photosystem II (PSII) of *Symbiodinium in hospite* were measured in aquaria using a DIVING-PAM fluorometer (Walz, Germany) ($n = 7$ for each tank). During measurements light sources were switched off. Ambient light level at the aquarium room was $<10 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ and did not substantially affect the coral F_v/F_m . Corals were dark adapted during 15 min (after Hoegh-Guldberg and Jones, 1999) before the first measurement was performed. The initial fluorescence (F_0) was measured by applying a weak pulsed red light ($3 \mu\text{s}$, LED 650 nm). A saturating pulse (800 ms) of bright actinic light ($8,000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) was then applied to obtain the maximum fluorescence value (F_m). Variable fluorescence (F_v) was calculated as $F_m - F_0$. At the end of all F_v/F_m measurements, light was switched on and the corals were allowed to recover under the experimental light condition for 1 h after which rapid light curves (RLC) were generated by illuminating corals for 10-s periods, eight times from 0 to ca.

3000 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. During measurements, the 8 mm optical fiber was maintained perpendicular to the coral's surface using a black-jacket at a fixed distance of 5 mm (Rodolfo-Metalpa et al., 2008). This system created a quasi-darkness status allowing the rapid re-oxidation of primary electron acceptor (Ralph & Gademann, 2005). The same setting was also used during F_v/F_m measurements to guarantee a correct distance of the optical fiber from the coral.

Growth rates. Nubbins were weighted ($n = 7$ for each tank) using the buoyant weight technique (Davies, 1989). Samples, hung on a nylon wire, were weighed using a Mettler AT200 electronic balance (readability 0.1 mg) in seawater of known density as measured by an YSI MPS 556 probe (YSI, USA). The net buoyant weight of the corals was converted into dry weight using the density of the pure aragonite (2.94 g cm^{-3}). Their growth rates were calculated as the daily change in dry weight between the initial and the final weight and expressed in $\text{mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Photosynthetic and respiration rates. Measurements were always performed at early morning to avoid any confounding effect of metabolic diurnal variations (Edmunds & Davies, 1988). Three nubbins from each tank were placed in individual small glass beakers (115 mL volume) which were semi-immersed in a thermostat water bath at the experimental temperature (26 or 32°C, according to treatment). The beakers were filled with seawater collected from the experimental tanks, filtered using 0.45 μm Whatman glass-fiber filters (GF/F), and continuously stirred with a stirring bar. Nubbins were incubated for one hour under a saturating light of $240 \pm 5 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ using four bulbs Aquablue plus (Blue-white, 15000 Kelvin, Griesman, Germany), or under complete darkness for 30 min for respiration measurements. Each beaker was equipped with an O_2 sensors spot to allow an optical measure of dissolved oxygen using a Fibox 4 transmitters (PreSens, Germany) (Johnson et al., 2014; Comeau et al., 2017). Dissolved oxygen was measured at the beginning and at the end of the experiment to estimate the gross photosynthetic (net photosynthetic rates + respiration rates) or respiration rates. Three control beakers were run without corals during each incubation to account for seawater microbial activity. Data were normalized by unit surface area, measured using the wax-dipping method described in Stimson and Kinzie (1991).

***Symbiodinium* and chlorophyll content.** At the end of the experiment, three nubbins were randomly taken from each tank and frozen at -20°C . Tissue was removed using an air pick and the slurry was homogenised with a Potter tissue grinder. For each sample, the number of *Symbiodinium* was counted five times by light microscopy using a Neubauer's cell. 10 mL of the slurry was used to extract chlorophyll *a* and *c*₂ in 100% acetone in the dark (24 h at 4°C). The extracts were centrifuged at 10,000 g for 15 min and the absorbances were read at 630, 663, 750

nm. Chlorophyll concentrations were computed according to the spectrometric equations of Jeffrey and Humphrey (1975). All measurements were normalized by unit surface area, which was determined using the wax-dipping method described in Stimson and Kinzie (1991). Chlorophyll *a* and *c₂* are given as total chlorophyll.

Statistical analysis. For the *in situ* experiment, $P_{\max}$, K_m and R , were compared between nickel concentrations (*i.e.*, ambient *vs.* enriched) using F-test according to Ritz and Streibig (2008). Integrated calcification rates were compared between nickel conditions using a t-test.

For the aquaria experiment, one-way ANOVA factorial analyses were first used to test the effects of tanks (two replicates). All data were tested for the assumptions of normality and homoscedasticity using Shapiro Wilk's test and Bartlett's test respectively. After verification of the absence of significant differences between tanks (ANOVA, $p > 0.05$), data were pooled before proceeding to test for main effects using two-way ANOVAs. Two-way ANOVAs were used to test the effects of temperature and nickel concentrations on *Symbiodinium* density, chlorophyll concentrations, respiration and photosynthetic rates, growth rates, photosynthetic efficiency (F_v/F_m) and maximum electron transport rate ($rETR_{\max}$). All tests were performed using R software. When the ANOVA determined a significant difference, a Tukey's honest significant difference test (HSD) was used to attribute differences between specific factors. All data are expressed as mean $\pm$ SD.

3. Results

3.1 – *In situ* experiment (acute exposure: 1-h)

For both species, *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis*, photosynthetic and respiration rates per unit surface area were not significantly different between corals incubated under ambient and enriched conditions (Figure 29A, B, Tableau 10). Nickel concentration did not affect: neither their rates of maximal gross photosynthesis (F-test = 0.837, $p > 0.05$ and F-test = 0.638; $p > 0.05$ respectively for *A. muricata* and *P. damicornis*), nor their half saturation constant (F-test = 0.288, $p > 0.05$ and F-test = 0.694, $p > 0.05$ respectively for *A. muricata*, and *P. damicornis*), as well as their respiration rates (F-test = 2.763, $p > 0.05$ and F-test = 1.152, $p > 0.05$ respectively for *A. muricata*, and *P. damicornis*).

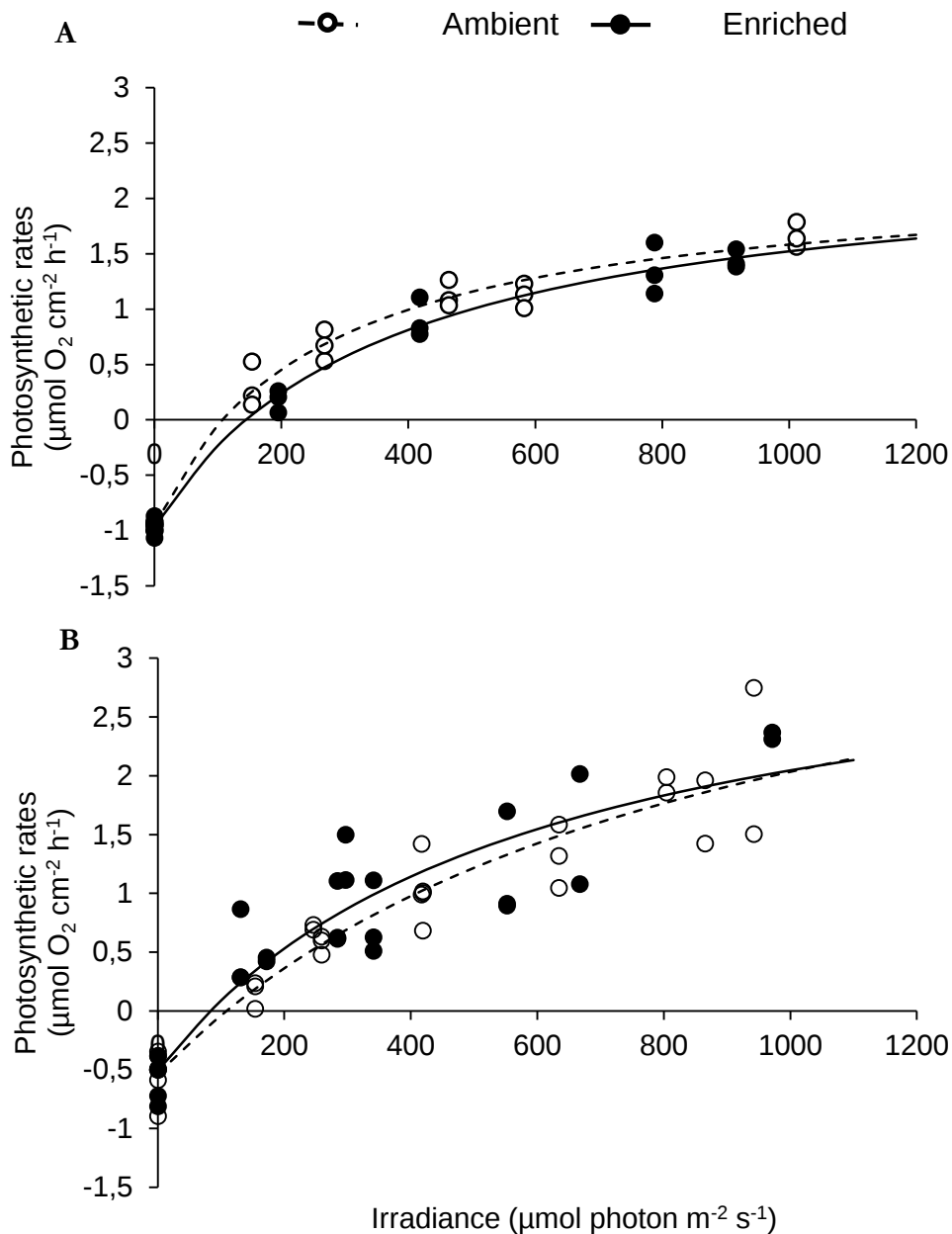


Figure 29. Photosynthetic rates of *Acropora muricata* (A) and *Pocillopora damicornis* (B) measured *in situ* using benthic chambers incubations (acute exposure: 1-h) at ambient and enriched nickel concentrations (0.15 and $2.71 \mu\text{g L}^{-1}$).

In contrast, enriched nickel concentrations significantly increased the coral calcification rates by 27% (t-test = 2.09, $n = 18$, $p < 0.05$) and 47% (t-test = 3.54, $n = 30$, $p < 0.001$) for *A. muricata* and *P. damicornis*, respectively (Figure 30).

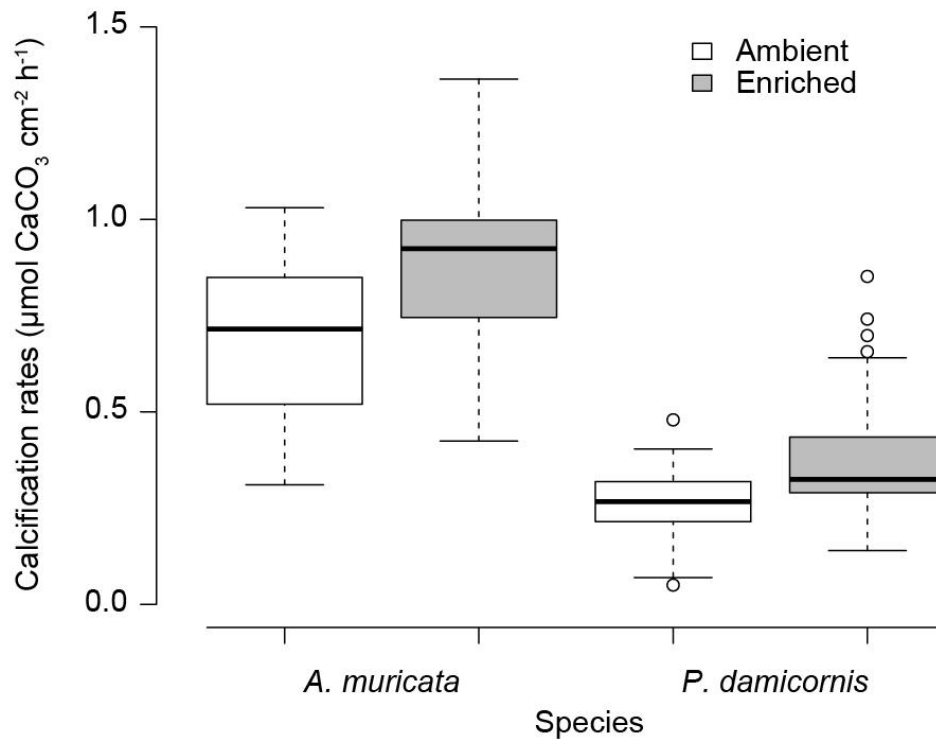


Figure 30. Integrated calcification rates (from 9 am to 9 pm) of *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis* measured *in situ* using benthic chambers incubations (acute exposure: 1-h) at ambient and enriched nickel concentrations (0.15 and 2.71 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Tableau 10. Summary of Michaelis-Menten model values for the photosynthesis of *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis* incubated in benthic chambers (acute exposure: 1-h) and exposed to two nickel concentrations (ambient: 0.15 $\mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: 2.71 $\mu\text{g L}^{-1}$).

	<i>Acropora muricata</i>		<i>Pocillopora damicornis</i>	
	Ambient	Enriched	Ambient	Enriched
Pmax - Maximal gross photosynthesis ($\mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$)	3.23 $\pm$ 0.49	3.38 $\pm$ 0.46	3.78 $\pm$ 1.63	2.77 $\pm$ 1.30
Km - Half saturation constant ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	379.01 $\pm$ 69.98	270.74 $\pm$ 128.55	278.42 $\pm$ 238.66	590.99 $\pm$ 286.38
R - Respiration rates ($\mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$)	0.92 $\pm$ 0.05	0.95 $\pm$ 0.03	0.57 $\pm$ 0.2	0.55 $\pm$ 0.18

3.2 - Aquaria experiment (chronic exposure: 8 weeks)

Both temperature and nickel concentration significantly affected *Symbiodinium* densities and chlorophyll (chl) concentration on the coral *A. muricata* (2-way ANOVA; $p < 0.01$; Tableau 11) (Figure 31A). Elevated temperature significantly reduced by 25% the *Symbiodinium* density (Pooled data, Tukey test, $p < 0.01$). In contrast, enriched concentration of nickel had an opposite effect and increased the *Symbiodinium* density by 16% (Pooled data, Tukey test, $p < 0.05$).

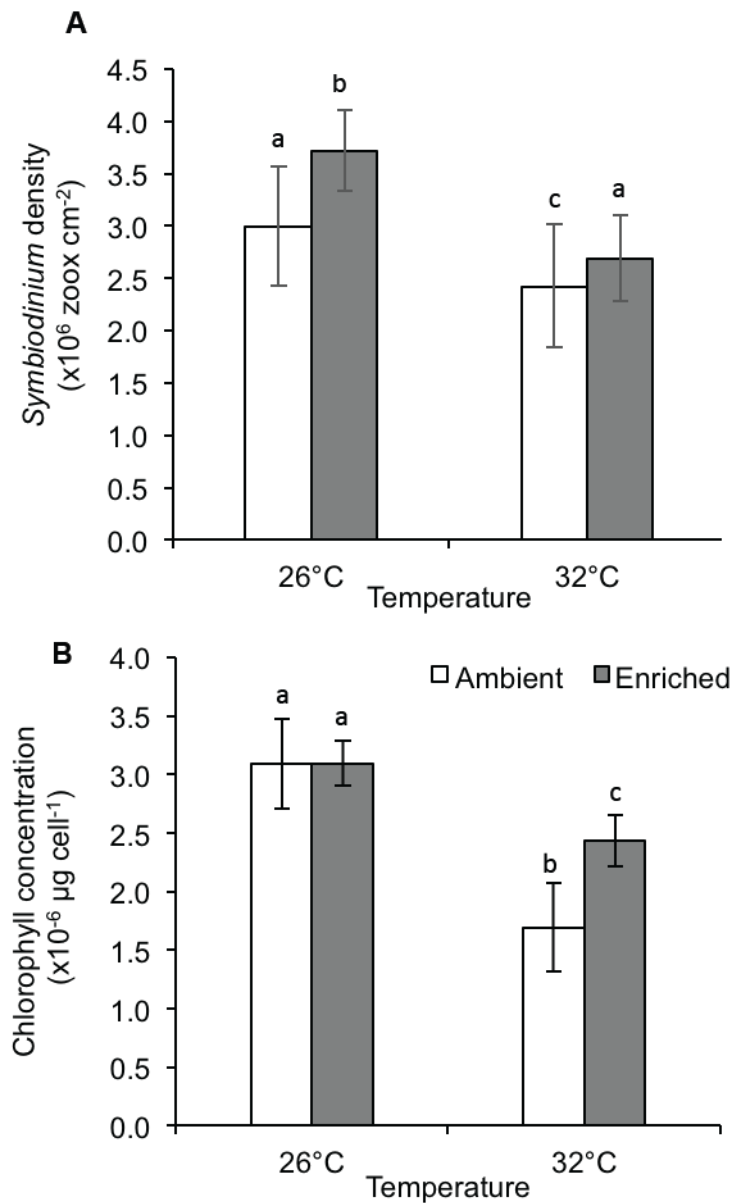


Figure 31. *Symbiodinium* density and total chlorophyll concentration of *Acropora muricata* (mean $\pm$ SD, $n = 3$) exposed during eight weeks (chronic exposure) to two conditions of temperature (26 and 32°C) and two nickel concentration (ambient: 1.00 $\mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: 3.52 $\mu\text{g L}^{-1}$).

At 26°C, nickel did not affect the total chl concentration (Tukey test, $p > 0.05$). When submitted to the highest temperature, total chl per *Symbiodinium* in corals exposed to nickel enrichment decreased by 21% (Tukey test, $p < 0.05$), and by 45% when colonies were incubated in ambient nickel concentration (Tukey test, $p < 0.05$) (Figure 31B).

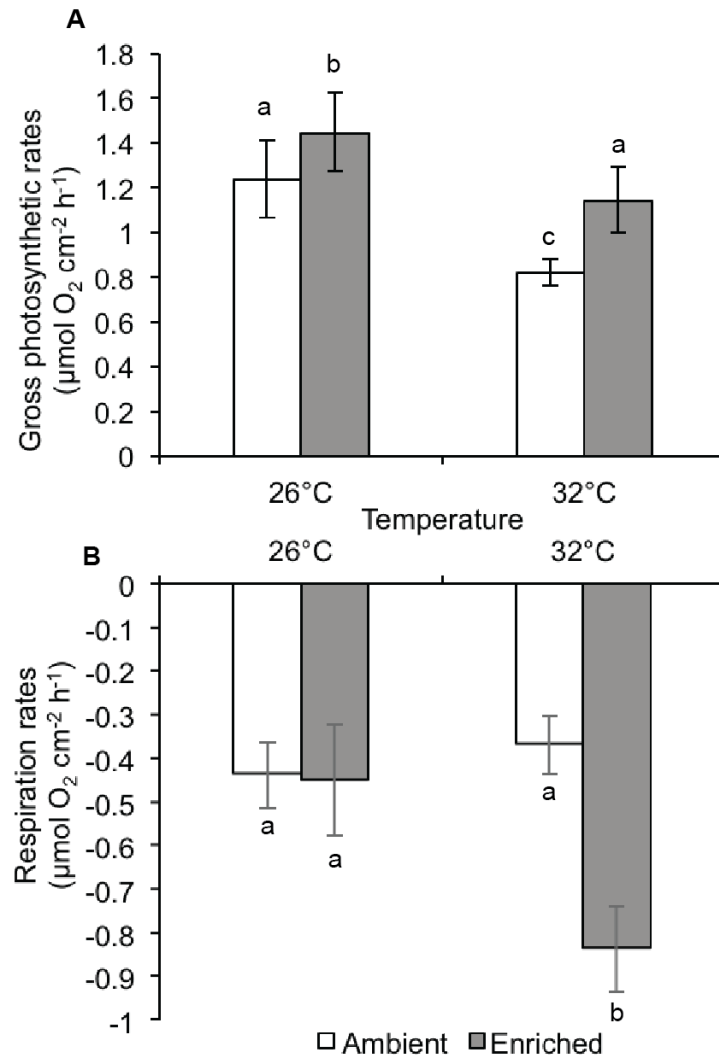


Figure 32. *Acropora muricata* gross photosynthesis (A) and respiration (B) rates (mean $\pm$ SD, $n = 3$) measured in aquaria exposed during eight weeks (chronic exposure) to two conditions of temperature (26 and 32°C) and two nickel concentration (ambient: $1.00 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.52 \mu\text{g L}^{-1}$).

Both temperature conditions and nickel concentrations significantly affected coral photosynthetic and respiration rates (2-way ANOVA; $p < 0.01$; Tableau 11) (Figure 32). Gross photosynthetic rates always decreased at elevated temperature (Tukey test, $p < 0.05$), but increased with nickel enrichment at 26 and 32°C (Tukey test, $p < 0.05$). In contrast, respiration rates were only affected by the combination of elevated temperature and enriched nickel concentration (interaction Temperature x Nickel: $F_{1,20} = 10.915$, $p = 0.004$; Tableau 11): at ambient temperature (26°C), respiration rates were not affected by a nickel enrichment, while at the highest temperature, they almost doubled at enriched nickel concentrations.

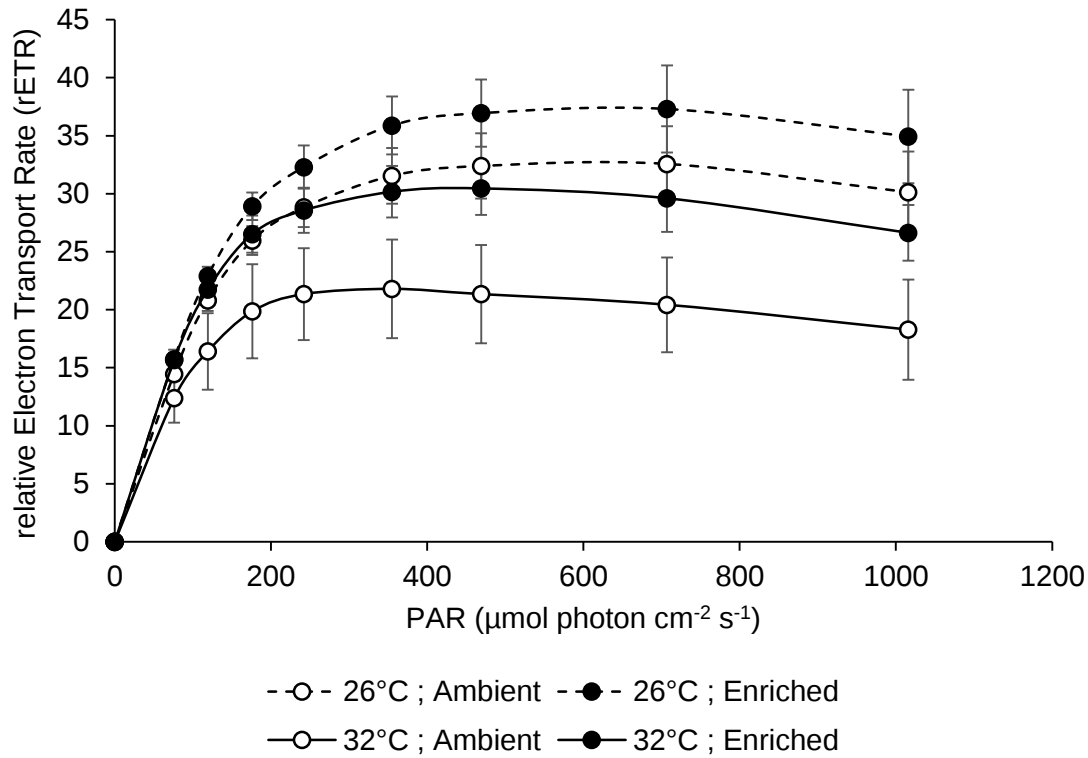


Figure 33. Relative electron transport rate (rETR) vs. irradiance (PAR) for *Acropora muricata* (mean $\pm$ SD, $n=7$) exposed during eight weeks (chronic exposure) to two conditions of temperature (26 and 32°C) and two nickel concentration (ambient: 1.00 $\mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: 3.52 $\mu\text{g L}^{-1}$).

The photosynthetic efficiency, F_v/F_m was not modified by enriched nickel concentrations (pooled data: 0.681 ± 0.017 vs. 0.671 ± 0.020 ambient and enriched, respectively, 2-way ANOVA, $p > 0.05$, Tableau 11) but significantly decreased at elevated temperature (pooled data: 0.684 ± 0.014 vs. 0.669 ± 0.021 , respectively at 26 and 32°C; Tukey test, $p < 0.05$, Tableau 11). The maximum electron transport rate (rETR_{max}) of the Photosystem II (PSII) of *Symbiodinium* (Figure 33) was significantly affected by both temperature and nickel concentration (2-way ANOVA; $p < 0.01$; Tableau 11). Although we did not find a significant interaction between factors, the effect was opposite. Indeed, higher temperature depressed rETR_{max} (Tukey test, $p < 0.01$) while enriched concentration of nickel stimulated the electron transport (Tukey test, $p < 0.01$).

The growth rates (Figure 34) of *A. muricata* were affected by the interaction between nickel and temperature (2-way ANOVA, $F_{1,20} = 5.173$, $p = 0.029$; Tableau 11) with a decrease of 37% for colonies incubated under the highest temperature and higher nickel concentration compared to the other conditions.

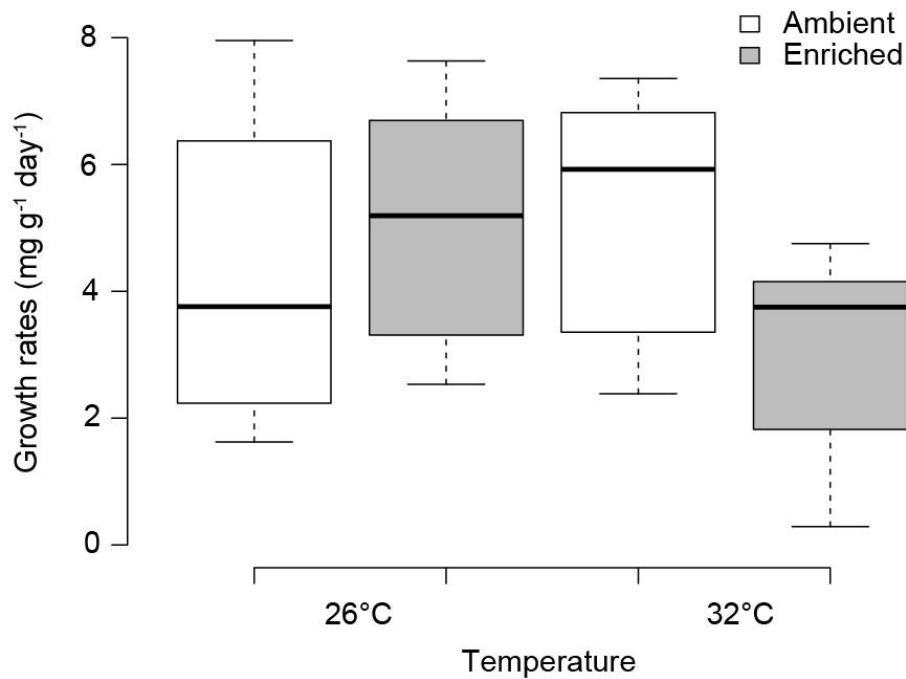


Figure 34. Growth rates of *Acropora muricata* (mean $\pm$ SD, $n=7$) exposed during eight weeks (chronic exposure) to two conditions of temperature (26 and 32°C) and two nickel concentrations (ambient: 1.00 $\mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: 3.52 $\mu\text{g L}^{-1}$).

4. Discussion

The goal of this study was to determine the impact and role of nickel on the metabolism of two major scleractinian coral species but also to evaluate its interaction with elevated temperature on one specific coral: *Acropora muricata*. Not only global warming but also metal inputs, represent threats for coral reef species (Denton and Burdon-Jones, 1986; Hoegh-Guldberg, 1999; Labrosse et al., 2000; Denton et al., 2005). Metal pollution being already important in some places and global warming increasing constantly, their co-occurrence should be more frequent in the coming decades. Our study reveals, for the first time, the dual role played by nickel on the physiology of scleractinian corals, according to the temperature they experienced. We found that acute nickel enrichment stimulated the calcification rates (alkalinity method) but not the photosynthetic performances of corals exposed *in situ* to ambient temperature. In contrast, chronic nickel enrichment, in combination with elevated temperature, severely depressed growth rates (buoyant weight technique) and increased respiration rates of corals in aquaria. Several hypotheses have been put forward to explain the different effects of nickel on corals according to temperature condition.

Tableau 11. Summary of two-way ANOVAs testing the combined effect of temperature (26 and 32°C) and nickel concentrations (ambient: 1.00 µg L⁻¹ and enriched: 3.52 µg L⁻¹) on *Acropora muricata* physiological parameters during the 8-weeks experiment (chronic exposure).

<i>Acropora muricata</i>				
Source of variation	SS	df	F-ratio	p-Values
<i>Symbiodinium.cm</i>⁻²				
Temperature	1.46x10 ¹²	1	13.586	0.001**
Nickel	3.87x10 ¹²	1	5.124	0.035*
Temperature x nickel	3.08x10 ¹¹	1	1.082	0.311
Error	5.70x10 ¹²	20		
Total chlorophyll.cell⁻¹				
Temperature	6.353x10 ⁻¹²	1	34.651	0.000***
Nickel	8.50x10 ⁻¹³	1	4.636	0.044*
Temperature x nickel	8.29x10 ⁻¹³	1	4.524	0.046*
Error	3.67x10 ⁻¹²	20		
Photosynthesis				
Temperature	0.777	1	12.55	0.002**
Nickel	0.423	1	6.833	0.017*
Temperature x nickel	0.019	1	0.305	0.587
Error	1.238	20		
Respiration				
Temperature	0.151	1	5.289	0.032*
Nickel	0.345	1	12.107	0.002**
Temperature x nickel	0.311	1	10.915	0.004**
Error	0.571	20		
Fv/Fm'				
Temperature	0.002	1	6.538	0.015*
Nickel	0.0009	1	2.947	0.095
Temperature x nickel	0.00001	1	0.063	0.804
Error	0.011	36		
rETR_{max}				
Temperature	772.64	1	70.158	0.000***
Nickel	436.92	1	39.674	0.000***
Temperature x nickel	41.62	1	3.779	0.059
Error	396.46	36		
Growth rate				
Temperature	4.018	1	1.054	0.311
Nickel	5.570	1	1.461	0.235
Temperature x nickel	19.723	1	5.173	0.029*
Error	137.246	36		

Effect of nickel enrichment on coral physiology

At ambient temperature, acute exposure to moderate nickel concentrations had a positive impact on coral metabolism by stimulating their calcification rates (alkalinity method), during *in situ* incubations. Until now, no beneficial effect of a nickel exposure (at moderate and representative levels) has ever been recorded for corals. On the contrary, it has been demonstrated that an

exposition of several anemonia species to higher nickel concentrations systematically induced a decrease of symbiotic dinoflagellate in their tissue, and tentacle retractions leading to an increase of mortality (Gilbert & Guzmán, 2001 ; Howe et al., 2014 ; Mitchelmore et al., 2003). Furthermore, the only studies conducted so far on corals and nickel have only been focusing on coral reproduction properties and revealed that the fertilization rates of four different scleractinian species were reduced after a nickel exposure from $100 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ to $2000 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ (Reichelt-Brushett & Harrison, 2005). Although those results are important to know the toxicity threshold of nickel for the early stage of life, they give no information on the precise physiological response of adult coral at an ecological concentration. Our study highlights here for the first time that, at ambient temperature, a one-time exposure to moderate nickel enrichment increased the calcification rates by 47 and 27% for *P. damicornis* and *A. muricata* respectively. In contrast, Biscéré et al. (2015), demonstrated that a moderate cobalt enrichment decreased by 28% the calcification rates of *A. muricata* and *Stylophora pistillata*. This reveals a different action mode of nickel on coral calcification compared to cobalt, a by-product of nickel extraction. One assumption to explain the stimulation of the calcification process might be linked to urease activity, which is a nickel-dependent enzyme. For instance, in case of nickel deficiency, phytoplanktonic cells synthesize a non-functional urease, which needs a nickel insertion in the active site to restore its catalytic activity (Muyssen et al., 2004). This enzyme is well known to catalyze urea hydrolyze, releasing inorganic carbon and ammonia (Krajewska, 2009). Inorganic carbon could stimulate the calcification process while ammonia could help to neutralize protons emitted during the calcification process (Crossland & Barnes, 1974). In our study, an acute exposure to moderate nickel input at ambient temperature likely stimulated the catalytic activity of urease of corals, and consequently, boosted the production of carbon dioxide available for the calcification process. To confirm this theory, further studies should measure the activity levels of urease in corals, with or without nickel addition. Furthermore, while Rodriguez et al. (2016) showed that nickel availability only slightly influenced the growth rates of isolated strains of the endosymbiont *Symbiodinium kawagutii*, suggesting that nickel may not be as important as the other metals for *Symbiodinium*, we showed that nickel addition substantially stimulated *in hospite* symbiont concentrations. Indeed, for both tested temperatures and at nickel concentrations regularly measured along the coasts of New-Caledonia, we found an increase of 16% of the symbiotic dinoflagellates density and of 43% of the chlorophyll concentrations per *Symbiodinium* for *A. muricata*.

Despite the positive impact of a chronic exposure to nickel on *Symbiodinium* densities at ambient temperature, photosynthetic rates did not change during both *in situ* and aquaria incubations. Our findings are not consistent with previous studies, which tested three other metals:

iron, copper and cobalt (Ferrier-Pagès et al., 2001; Bielmyer et al., 2010; Biscéré et al., 2015). For instance, Ferrier-Pagès et al. (2001) found an increase in the *Symbiodinium* density leading to a simultaneous increase of the maximum photosynthetic rates in *Stylophora pistillata* after a three-week exposure to 6 nM of iron, when Bielmyer et al. (2010) and Biscéré et al. (2015) showed a significant decrease in photosynthetic efficiency and photosynthetic rates in colonies of *P. damicornis* and *A. muricata* after an exposure to 4-20 $\mu\text{g L}^{-1}$ of copper and 1.06 $\mu\text{g L}^{-1}$ of cobalt, respectively. As this detrimental effect of cobalt on coral photosynthetic rates has been measured using the same methodology, consisting in successive incubations of one hour, we can hypothesize that corals are more sensitive to cobalt than nickel.

Combined effect of nickel and temperature increase

Ocean warming is one of the major threats that tropical coral reefs are facing during the century. Projections concerning the future of coral reefs in the face of climate change always consider that coral reefs are spared from any further factors but near shore coral reefs are often already weakened by human impacts such as metal pollution (Denton and Burdon-Jones, 1986; Labrosse et al., 2000; Denton et al., 2005; Hédouin et al., 2011). While two studies focused on the combined impacts of metals and thermal stress on early life stages of corals (Negri and Hoogenboom, 2011; Kwok et al., 2016) to date, only one study investigated this combined effect on adult life stage of corals (Nyström et al., 2001). However, this study tested high concentrations of pollutant, ten times higher, for instance, than along the coast of New Caledonia (Moreton et al., 2009); during very short-term exposure period (24h); and measured only the impacts on coral photosynthesis and respiration rates. The innovative character of our study is that we provide for the first time, evidence that a chronic exposure to nickel, in its dissolved form, and at concentrations levels measured along the coasts (Moreton et al., 2009 ; Shanmugam et al., 2007), exacerbates the negative impacts of ocean warming on the growth (measured with the buoyant weight technique) of one coral species at its adult life stage: *A. muricata*. Similar results have been observed under higher copper concentration and thermal stress on the larvae stage of different species of *Acropora* (Negri and Hoogenboom, 2011). Here, all physiological parameters have been reduced by elevated temperature as already found in the literature, but our study revealed that growth rates of this species have been further reduced by 37% when colonies have been previously exposed to a chronic moderate nickel enrichment. It is known that corals have the property to accumulate nickel (Hédouin et al., 2016a) and other metals (Houlbrèque et al., 2012; Metian et al., 2015) in their tissue and skeleton compartments. Therefore, while during the short *in situ* incubation we found that an acute exposure to nickel significantly increased the coral calcification rates by

27% and 47% (respectively for *A. muricata* and *P. damicornis*; Figure 30), our experiment in aquaria demonstrated that after a chronic exposure to nickel, its concentration in the tissue and skeleton reached the toxic threshold for coral calcification processes and did not further enhance the process (Figure 34). At 32°C, it is likely that high temperatures would denature the urease enzyme, which involvement in coral calcification has been detailed above. As calcification and photosynthesis are coupled mechanisms in symbiotic corals (Gattuso et al., 1999), one should expect that the decrease in growth rates observed in the present study would be combined to an inhibition of the photosynthetic rates and photosynthetic efficiency. However, even if gross photosynthetic rates of *A. muricata* slightly decreased at the highest temperature, a chronic nickel enrichment consistently stimulated the photosynthetic rates and increased the *Symbiodinium* densities and chlorophyll concentrations. These stimulations mean that their photosystems are more efficient and produce more oxygen, which is confirmed by the highest rETR_{max} values measured in coral colonies exposed to higher nickel concentrations. Conversely, Nyström et al. (2001) showed that colonies of *Porites cylindrica* that were pre-exposed to increased temperature and submitted to copper for 24h, displayed a significant reduction in their oxygen production rates. As copper is known to be an inhibitor of the electron transport on the oxidizing side of photosystem II (Samson et al., 1988), this decrease appears logical. In the present study, corals exposed to a chronic nickel enrichment at high temperature succeed in maintaining photosynthetic rates equivalent to the ones of corals maintained at ambient temperature, likely thanks to the stimulating role of nickel on the functioning of the Ni-superoxide dismutase (Ni-SOD) enzyme (Ho, 2013). This Ni-SOD enzyme catalyzes the breakdown of superoxide into hydrogen peroxide and molecular oxygen and plays a critical role in protecting corals from self and environmentally induced oxidative stress, especially in case of ocean warming (Wolfe-Simon et al., 2006; Dupont et al., 2008). The positive effect of a chronic exposure to nickel on the coral photosynthetic performance was however counterbalanced by a doubling of the respiration rates. So, even if a nickel input led to higher gross photosynthetic rates at the highest temperature, it also induced a doubling of their respiration rates, which means that less energy is left to build their skeleton or dedicated to other metabolic processes.

5. Conclusion

To conclude, our paper brings relevant results on the combined effect of a chronic nickel enrichment and global warming on the adult life stages of corals. Our results highlight the dual role played by nickel on the physiology of two major reef-building corals, according to the temperature they experienced. While until now, no beneficial effect of a nickel exposure has ever been reported, the present study revealed that, at ambient temperature (26°C), an acute nickel enrichment

increased the calcification rates of both tested species by 27 to 47%. One of the assumptions made to explain the stimulation of coral calcification is the structural role played by nickel in the urease enzyme, involved in the calcification process. However, additional experiments are needed to confirm this hypothesis. One of the key findings of our study is that even if nickel appeared to have a positive impact on the calcification of corals at ambient temperature, this effect is reversed when corals are submitted to a temperature rise. Our dataset suggests a negative synergistic effect of temperature and nickel on corals, with the lowest growth rates obtained for corals previously exposed to a chronic and moderate nickel enrichment. Nickel would then exacerbate the negative impact of ocean warming on the growth of *A. muricata*. We can hypothesize that after an eight-week exposure to nickel, its concentration in coral tissue and skeleton might reach the toxic threshold for coral calcification processes. At 32°C it is also likely that high temperatures would denature the urease enzyme.

This study focused on the combined effect of one metal with ocean warming but several metals are simultaneously released during mining operations or runoff events. Until now, very few data are available on the interactions between metals. A mixture of metals might reduce or increase their toxicity or their bioavailability to corals. It is also likely that coral colonies, for which growth rates already decreased by 37% when submitted to a chronic and moderate nickel input and warming, will be weakened if they are subjected to additional threats like ocean acidification, inseparable from warming issues in the future.

Acknowledgments

T. Biscéré was beneficiary of a PhD grant (CIFRE N°2015/0301, France) supported by the Koniambo Nickel SAS and Ginger Soproner companies in New Caledonia. Part of this work was funded by the LabEx-Corail COMETA project and the CNRT Nickel (DYNAMINE project). We wish to thank the technical staff of the Aquarium des Lagons (Nouméa, New-Caledonia) for their welcome and assistance in tank maintenance. We are also especially grateful to Dr C. Ferrier-Pagès for her helpful comments on this study.

Enhancement of coral calcification via the interplay of nickel and urease

Aquatic Toxicology | Publiée en ligne en mai 2018

Biscéré T.^{a,b,*}, Ferrier-Pagès C.^c, Grover R.^c, Gilbert A.^b, Rottier C.^c, Wright A.^d, Payri C.^a,
Houlbrèque F.^a

^a IRD, ENTROPIE (UMR 9220), BP A5, 98848 Nouméa cedex, New-Caledonia

^b Ginger Soproner, BP 3583, 98846 Nouméa cedex, New-Caledonia

^c Centre Scientifique de Monaco, Ecophysiology team, 8 quai Antoine 1er, 98000 Monaco, France

^d Koniambo Nickel SAS, BP679, 98860 Koné cedex, New-Caledonia

Biscéré, T., Ferrier-Pagès, C., Grover, R., Gilbert, A., Rottier, C., Wright, A., Payri, C., Houlbrèque, F., 2018. *Enhancement of coral calcification via the interplay of nickel and urease*. Aquatic Toxicology 200, 247–256. doi:10.1016/j.aquatox.2018.05.013

Abstract

Corals are the main reef builders through the formation of calcium carbonate skeletons. In recent decades, coral calcification has however been impacted by many global (climate change) and local stressors (such as destructive fishing practices and changes in water quality). In this particular context, it is crucial to identify and characterize the various factors that promote coral calcification. We thus performed the first investigation of the effect of nickel and urea enrichment on the calcification rates of three coral species. These two factors may indeed interact with calcification through the activity of urease, which catalyzes the hydrolysis of urea to produce inorganic carbon and ammonia that are involved in the calcification process. Experiments were performed with the asymbiotic coral *Dendrophyllia arbuscula* and, to further assess if urea and/or nickel has an indirect link with calcification through photosynthesis, results were compared with those obtained with two symbiotic corals, *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis*, for which we also measured photosynthetic rates. Ambient and enriched nickel (0.12 and 3.50 $\mu\text{g L}^{-1}$) combined with ambient

and enriched urea concentrations (0.26 and $5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) were tested during 4 weeks in aquaria. We demonstrate in the study that a nickel enrichment alone or combined with a urea enrichment strongly stimulated urea uptake rates of the three tested species. In addition, this enhancement of urea uptake and hydrolysis significantly increased the long-term calcification rates (*i.e.* growth) of the three coral species investigated, inducing a 1.49-fold to 1.64-fold increase, respectively for *D. arbuscula* and *P. damicornis*. Since calcification was greatly enhanced by nickel in the asymbiotic coral species – *i.e.* in absence of photosynthesis – we concluded that the effect of increased urease activity on calcification was mainly direct. According to our results, it can be assumed that corals in some fringing reefs, benefiting from seawater enriched in nickel may have advantages and might be able to use urea more effectively as a carbon and nitrogen source. It can also be suggested that urea, for which hotspots are regularly measured in reef waters may alleviate the negative consequences of thermal stress on corals.

1. Introduction

Scleractinian corals are the main reef builders through their calcification process, and reefs are critically important for providing goods and services to the tropical and subtropical nations (Moberg & Folke, 1999). Over the past 30 years, coral reefs have suffered extensive degradation worldwide (Hughes, 2003). These disturbances are caused by a complex combination of global (climate change) and local (destructive fishing practices, and changes in water quality) stressors (Cooper et al., 2009). The worsening quality of reef waters is mainly due to deforestation, agricultural pollution, dredging operations but also to mining operations, which are increasingly more frequent. Mining activities, leading to sedimentation, metal and chemical inputs, concern many reef areas (*e.g.* Costa Rica, Panama, Red Sea, Thailand, Tuvalu, Puerto Rico; New Caledonia) (Ali et al., 2011 ; Biscéré et al., 2017 ; Fujita et al., 2014 ; Guzmán & Jiménez, 1992 ; Tanaka et al., 2013 ; Whitall et al., 2014). In particular, tropical waters are often enriched in nickel (Ni), due to its geological origin: nickel laterites (Bobicki et al., 2014 ; Elias, 2002 ; van der Ent et al., 2013 ; Mudd, 2010). For example, Indonesia and New Caledonia, which are two coral biodiversity hotspots, have several important deposits of nickel laterites and are two of the top producers of nickel worldwide (U.S. Geological Survey, 2016). In New Caledonia, several open cut mines contribute, through erosion, to nickel discharges in coral reefs (Fichez et al., 2005 ; Hédouin et al., 2006 ; Metian et al., 2008). As a consequence, nickel concentrations increase from 0.1 to $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ in open waters (Barceloux, 1999 ; Srichandan et al., 2016 ; Sutherland & Costa, 2002) to $20 \mu\text{g L}^{-1}$ in some impacted areas of the lagoon (Moreton et al., 2009). Few studies have investigated the impacts of nickel on corals and are mainly concerned with their early life stages. They highlighted the negative role of

nickel concentrations around $1500 \mu\text{g L}^{-1}$, on the fertilisation success and planulae stage of corals (Gissi et al., 2017 ; Goh, 1991 ; Reichelt-Brushett & Hudspith, 2016). This level is however well above actual environmental concentrations. Although those results are important in determining the toxicity threshold of nickel for the early life stages, they give no information on the physiological response of adult corals at an ecological concentration. Only one study focused on the response of coral colonies to relevant nickel enrichment ($3.5 \mu\text{g L}^{-1}$) (Biscéré et al., 2017). This last experiment suggested a beneficial effect of nickel at ambient temperature, increasing the calcification rates of *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis* by up to 47%, but so far, the processes involved in the nickel enhancement of calcification in corals remain unclear. Also, whether this effect of nickel is reproducible with other coral species and/or environmental conditions still needs to be tested.

Calcification relies on the transport of calcium (Ca^{2+}) and dissolved inorganic carbon (DIC), such as bicarbonate (HCO_3^-), from ambient seawater to the calcification site, and on the withdrawal of protons (H^+) resulting from the mineralization process, all summarized in the following equation $\text{Ca}^{2+} + \text{HCO}_3^- \rightleftharpoons \text{CaCO}_3 + \text{H}^+$. Any process, which increases the supply of Ca^{2+} and DIC to the calcification site, or the removal of H^+ from this site, will likely enhance calcification. One stimulus can be urease, which catalyzes the hydrolysis of urea to produce inorganic carbon and ammonia (Krajewska, 2009). Ammonia can help neutralizing protons emitted during the calcification process, and thus help increasing the pH at the calcification site (Crossland & Barnes, 1974). Inorganic carbon produced by urease activity can stimulate calcification directly or indirectly, via increased photosynthesis, which also requires DIC (Allemand et al., 2004; Gattuso et al., 1999). Urease, which is a nickel-dependent enzyme, has however been poorly studied in corals (Barnes & Crossland, 1976). The same applies to the link between nickel or urea availability and coral calcification and photosynthesis.

Corals can get urea through different ways, including (i) the recycling of animal wastes by the *Symbiodinium* and the subsequent transfer to the host as amino acids (Ferrier, 1991), ammonium or urea (Furla et al., 2000), (ii) the direct uptake of urea and amino acids (considered dissolved organic nitrogen, DON) by coral hosts (Grover et al., 2006, 2008). DON is generally available in high concentrations in reef waters (from 5 to $20 \mu\text{mol L}^{-1}$). External supply comes from anthropogenic terrestrial sources (Glibert et al., 2006 ; Lomas et al., 2002), from the atmosphere (Cornell et al., 2003) or from sedimentary production (Lund & Henry Blackburn, 1989 ; Therkildsen & Lomstein, 1994). Biological *in situ* production of urea comes from zooplankton and fish excretion (Conover & Gustavson, 1999 ; McDonald et al., 2006 ; Walsh et al., 2001) and

regeneration by microheterotrophs (Cho et al., 1996 ; Satoh, 1980). To date, very few works have been performed on the link between urea and corals. First, pioneering studies revealed that the carbon (^{14}C) contained in urea was incorporated into the skeleton of corals and that urease was present both in *Symbiodinium* and host tissue (Barnes & Crossland, 1976 ; Crossland & Barnes, 1974). Thereafter, other experiments investigated the urea uptake rates by isolated *Symbiodinium* or the entire association (Grover et al., 2006 ; Wafar et al., 1985, 1993). A significant transfer of nitrogen from urea to coral tissue and *Symbiodinium* compartments has been measured and urea seems to be preferentially or more easily absorbed by corals than nitrate (Grover et al., 2006). However, the direct role of urea in coral calcification, has never been studied.

The overall aim of our work was to investigate the effects of nickel enrichment alone or in combination with urea enrichment, on coral calcification, growth and urea uptake rates. For this purpose, the experiments were performed with the asymbiotic coral *Dendrophyllia arbuscula*, and to further assess if urea and/or nickel enrichment has an indirect link with calcification through photosynthesis, we compared the previous results with those obtained with two symbiotic corals, *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis*, for which we also measured photosynthetic rates.

2. Methods

2.1. Coral collection and experimental setup

The individual and combined effects of seawater enrichment in urea and nickel were assessed on *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis*, two major scleractinian coral species of New Caledonia. To avoid the natural enrichment of New Caledonian seawater in urea or nickel, experiments were performed on corals originally collected in the Gulf of Aqaba (Red Sea) more than ten years ago and which were maintained during all this time in the aquaria of the Centre Scientifique de Monaco under the same controlled conditions as described below (T: 25°C, light: $180 \pm 10 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (photoperiod 12h:12h light:dark) and low nutrient conditions (Ezzat et al., 2015, 2016). Two hundred terminal portions (*i.e.*, nubbins) of branches (2-cm long) were cut from five different mother colonies of each species (40 nubbins/colonies). Nubbins were then evenly distributed in eight 20 L aquaria (5 nubbins/colony/species) and allowed to heal for three weeks under controlled conditions as described below. Tanks were supplied with seawater at a renewal rate of 288 L day⁻¹ and water was mixed using a submersible pump (Aquarium system, micro-jet MC 320, Mentor, OH, USA). Temperature ($25 \pm 0.2^\circ\text{C}$) was kept constant using heaters connected to Elli- Well PC 902/T controllers. Corals received a constant irradiance of $180 \pm 10 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (photoperiod was 12h:12h light:dark) using 400 W metal halide lamps

(HPIT, Philips) and light was monitored using a LI-COR data logger (LI- 1000) connected to a spherical quantum sensor (LI-193). Corals were fed twice a week during the recovery period of one month with nauplii of *Artemia salina*. After the recovery, feeding was stopped and four experimental conditions (two nickel and two urea concentrations) were tested in duplicate in a cross factor design (Figure 35). Four tanks were supplied with seawater at ambient nickel concentration (Ambient: $0.12 \pm 0.05 \mu\text{g L}^{-1}$) (Boyle et al., 1985), while the remaining four others were enriched in nickel (Enriched: $3.50 \pm 0.1 \mu\text{g L}^{-1}$). This nickel enriched condition represented one of the highest concentrations found on a reef in the lagoon of New Caledonia (Moreton et al., 2009). For each nickel condition, urea concentration was either set up to ambient ($0.26 \pm 0.07 \mu\text{mol L}^{-1}$) or, enriched concentrations at $5.52 \pm 0.13 \mu\text{mol L}^{-1}$. To exacerbate the role of urea in enriched conditions, concentrations of urea usually found in reefs were doubled (Crandall & Teece, 2012). Thus, four different conditions were tested: control (C), nickel supplied (Ni), urea supplied (Ur) and both nickel and urea supplied (NiUr). To enrich the seawater in nickel or urea, a peristaltic pump (ISMATEC) continuously supplied the experimental tanks with a solution of stable nickel (NiCl_2 , Humeau, France) and/or a solution of urea (NH_2CONH_2 , Sigma-Aldrich, Missouri, United States) at a rate of 15 mL h^{-1} , together with a 12 L h^{-1} seawater flow-through. Corals were incubated under such experimental conditions for a total of 4 weeks. Photosynthetic efficiency, growth and calcification rates, urea incorporation and tissue parameters were measured at the beginning of the experiment and, these measurements, together with the photosynthetic and respiration rates were measured again after one week and at the end of the experiment.

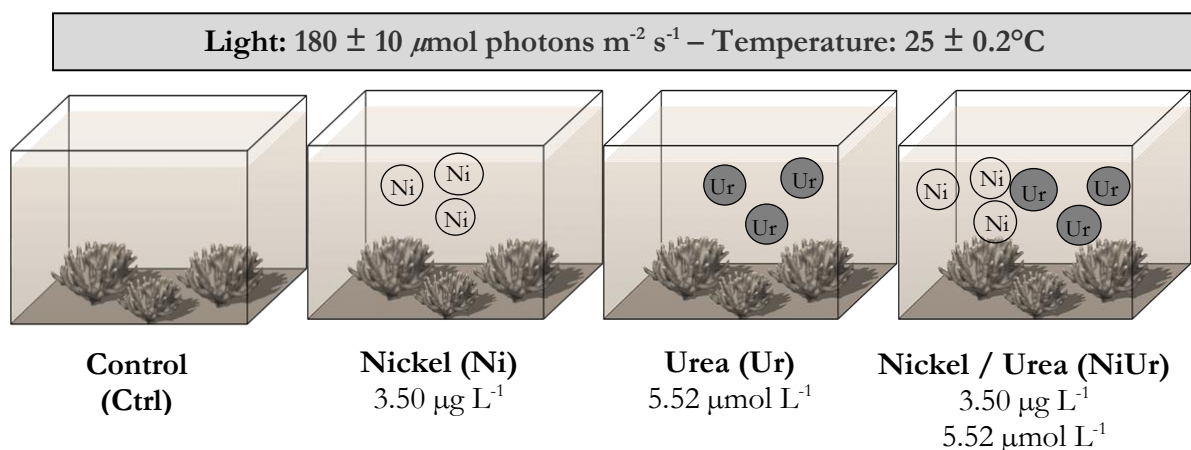


Figure 35. Experimental set up with four conditions in a crossed factor design. Every condition was in duplicate. Control (Ctrl): ambient concentrations of nickel and urea; Nickel (Ni): higher nickel concentrations; Urea (Ur): higher urea concentrations; Nickel/ Urea: higher nickel and urea concentrations.

In parallel, a second experiment with exactly the same experimental design, except that the incubations were performed in the dark was run on a third coral species: *Dendrophyllia arbuscula*. *D. arbuscula* is an asymbiotic coral, colonies of this species have been collected in Indonesia and have been acclimated to laboratory conditions for at least three months before the beginning of the experiments. Colonies were maintained at the Centre Scientifique of Monaco for three weeks in the dark at 25°C before to start the experiment. 32 micro-colonies composed by 5 to 10 polyps according to their size have been glued (Holdfast epoxy) on plastic plates, randomly assigned ($n = 4$ per tank) to one of the eight tanks and set up at the bottom of the aquaria. *D. arbuscula* colonies have been submitted to the same conditions of temperature and enrichment as the first experiment but they were fed twice a week with nauplii of *Artemia salina* even during the experiment. As *D. arbuscula* is an asymbiotic coral, only growth, calcification and urea uptake rates were measured.

2.2. Photosynthetic efficiency measurements

Photosynthetic efficiency (F_v/F_m) and the relative electron transport rate (rETR) of the Photosystem II (PSII) of *Symbiodinium in hospite* were measured in aquaria using a DIVING-PAM fluorometer (Walz, Germany) ($n = 5$ for each tank). Measurements were performed the morning before the lights were switch on, when corals were adapted to dark. The initial fluorescence (F_0) was measured by applying a weak pulsed red light (3 μ s, LED 650 nm) on dark-adapted colonies. A saturating pulse (800 ms) of bright actinic light (8,000 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$) was then applied to give the maximum fluorescence value (F_m). Variable fluorescence (F_v) was calculated as $F_m - F_0$. F_v/F_m represents the maximum quantum yield of the PSII. rETR were obtained through the rapid light curves (RLC) according to Ralph and Gademann (2005) protocol. Light intensities used for the RLC were calibrated with an external PAR sensor (LI-COR data logger (LI- 1000) connected to a spherical quantum sensor (LI-193). The RLC were generated by illuminating corals for 10-s periods, incremented in eight steps from 0 to ca. 1800 μ mol photons $m^{-2} s^{-1}$. To quantitatively compare RLCs, they were characterized by their rETR_{max}. During measurements, the 8 mm optical fiber was maintained perpendicular to the coral's surface using a black-jacket at a fixed distance of 5 mm (Biscéré et al., 2017).

2.3. Growth rates

Buoyant weight gives an estimation of the calcification rates of corals over long time scales and takes into account both daytime and nighttime calcification rates. Nubbins were weighed ($n = 5$ for each tank for symbiotic corals and $n = 4$ for *D. arbuscula*) using the buoyant weight technique (Davies, 1989). Samples, hung on a nylon wire, were weighed using a Mettler XP205 electronic

balance (readability 0.01 mg) in seawater of known density as temperature is controlled by a water bath at 25°C and salinity continuously measured. The net buoyant weight of the corals was converted into dry weight using the density of pure aragonite (2.94 g cm^{-3}). Their growth rates were calculated as the daily change in dry weight between the initial and the final weight and expressed in $\text{mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

2.4. *Calcification rates*

Calcification rates were estimated using the alkalinity anomaly technique (Chisholm & Gattuso, 1991) as the change in the total alkalinity (AT) values during each incubation. This technique gives an estimation of short-term daytime calcification. Three nubbins from each tank were incubated for 3h in individual small glass beakers, filled with 250 mL of $0.2 \mu\text{m}$ filtered seawater which were semi-immersed in a thermostat water bath at 25°C, under a saturating light of $200 \pm 5 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ using a 400 W metal halide lamp (HPIT, Philips). The water was sampled at the beginning and at the end of the incubation period and alkalinity was measured using a 888 Titrando titrator (Metrohm). Data were expressed as $\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$.

2.5. *Urea uptake*

At the beginning and end of each incubation for calcification measurement (see details above), 40mL of seawater were collected to measure urea concentrations. They were determined using a colorimetric method based on diacetyl monoxime and thiosemicarbazide, in presence of sulphuric acid and ferric chloride (Grover et al., 2006 ; Rahmatullah & Boyde, 1980). Absorbance was read at 525 nm after 30 min at 80°C and 10 min in water at ambient temperature. Urea uptake rates were calculated as the decrease in urea concentration during the 3 hours incubation. Data were normalized per unit surface area and expressed as $\text{nmol urea cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

2.6. *Photosynthetic and respiration rates*

Measurements were always performed early morning to avoid any confounding effect of metabolic diurnal variations (Edmunds & Davies, 1988). Respiration (R) and gross photosynthesis rates (Pg) were assessed, respectively, in dark, and at $200 \mu\text{moles photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Three nubbins from each tank were placed in thermostatically-controlled chambers at 25°C, filled with seawater collected from their experimental tanks, filtered using $0.45 \mu\text{m}$ Whatman glass-fiber filters (GF/F), and continuously stirred with a stirring bar. Each chamber was equipped with a Unisense optode connected to a computer with Oxy-4 software (Chanel fiber-optic oxygen meter, PreSens, Regensburg, Germany) (Johnson et al., 2014). Optodes were calibrated against nitrogen-saturated

and air-saturated seawater for the 0% and 100% oxygen, respectively. Pg and R rates were estimated by regressing oxygen data against time. Data were normalized to the skeletal surface area (cm²) and expressed as $\mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

2.7. *Symbiodinium and chlorophyll concentrations*

At the end of the photosynthesis/respiration measurements, nubbins were frozen at -20°C. Tissue was removed using an air pick and the slurry was homogenised with a Potter tissue grinder. The number of *Symbiodinium* was quantified in a 100 μL sub-sample using a Z1 Coulter Particle Counter (Beckman Coulter) (Courtial et al., 2017). The remaining slurry was centrifuged at 3000 g for 10 min at 4°C to separate the host tissue (supernatant) from the symbionts (pellet). Then, *Symbiodinium* cells were re-suspended in 10 mL of 100% acetone to extract chlorophyll *a* and *c*₂ in darkness (24h at 4°C). The extracts were centrifuged at 10,000 g for 15 min and the absorbance was measured at 630, 663, 750 nm using a Xenius spectrofluorometer. Chlorophyll concentrations were computed according to the spectrometric equations of Jeffrey & Humphrey (1975). All measurements were normalized to unit surface area. Chlorophyll *a* and *c*₂ are given as total chlorophyll.

2.8. *Data normalization.*

The skeleton surfaces of *A. muricata* and *P. damicornis* have been estimated using the wax-dipping method described in (Stimson & Kinzie, 1991). A different methodology has been used for *D. arbuscula* in order to keep colonies alive. Polyp surface (PS) has been estimated, on all polyps, taking into account the mean diameter of the corallite (4–5 mm), as well as the exosarc extension around the corallite (3–5 mm), according to the following equation: $\text{PS} = \pi \cdot (\text{R} + \text{R}') \cdot \text{H} + \pi \text{R}^2$, where R represents the top polyp radius, R' the bottom polyp radius, and H the exosarc extension, measured with a caliper (Rodolfo-Metalpa et al., 2006).

2.9. *Statistical analysis.*

One-way ANOVA factorial analyses were first used to test the effects of tanks (two replicates). All data were tested for the assumptions of normality and homoscedasticity using Shapiro Wilk's test and Bartlett's test respectively. Since tanks had no effect (ANOVA, $p > 0.05$), data were pooled and two-way ANOVAs were used to test the effects of nickel and/or urea concentrations on *Symbiodinium* and chlorophyll concentrations, respiration and photosynthetic rates, growth rates, calcification rates, maximum electron transport rate (rETR_{max}) and urea uptake. All tests were performed using R software. When the ANOVA determined a significant difference,

a Tukey's honest significant difference test (HSD) was used to attribute differences between specific factors. Letters on the figures represent individual differences revealed by the Tukey test. All data are expressed as mean $\pm$ SD.

3. Results

3.1. Autotrophic parameters of *A. muricata* and *P. damicornis*

Compared to control conditions, symbiont densities remained unchanged for both coral species with Ni enrichment ($p > 0.05$; Tableau 12, 13) but decreased by 0.7-fold in *P. damicornis*, under Ur or NiUr enrichment ($p < 0.01$; Tableau 13) (Figure 36A, C). No significant differences with control corals were observed under NiUr enrichment for *A. muricata* ($p > 0.05$; Tableau 12). For both colonies, total chlorophyll concentrations were 2-fold higher in Ni enriched colonies compared to control ones ($p < 0.05$ and $p < 0.01$; for *P. damicornis*, and *A. muricata*, Tableau 12 Tableau 13) (Figure 36B, D), but did not change under Ur enrichment ($p > 0.05$; Tableau 12, 13). NiUr enrichment increased chlorophyll concentrations by 2- to 3-fold for *A. muricata* and *P. damicornis* respectively ($p < 0.05$ and $p < 0.01$; Tableau 12, 13).

Gross photosynthetic rates of *A. muricata* were enhanced, increasing 1.57-fold under Ni enrichment, 1.20-fold under Ur enrichment ($p < 0.05$, respectively; Tableau 12; Figure 37A), and 2-fold under NiUr enrichment compared to the control condition (Tukey test; $p < 0.01$). For *P. damicornis* colonies, Ni and NiUr enrichment stimulated the gross photosynthetic rates, inducing a 1.20- to 1.30-fold increase compared to those of control colonies ($p < 0.05$; Tableau 13; Figure 37B), while Ur enrichment did not affect those rates ($p > 0.05$; Tableau 13). Ni enrichment did not modify the respiration rates of either species ($p > 0.05$; Tableau 12, 13; Figure 37A, B), while Ur enrichment generated a 2-fold increase of the respiration rates of *A. muricata* colonies and increased 1.35-fold those of *P. damicornis* ($p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively; Tableau 12, 13). Respiration rates of both species were not changed by a NiUr enrichment ($p > 0.05$; Tableau 12, 13).

For both species, F_v/F_m was not affected by any enrichment: Ni, Ur or NiUr ($p > 0.05$, $p > 0.05$ and $p > 0.05$, respectively; Tableau 12, 13, 15). F_v/F_m values were 0.521 ± 0.05 for *A. muricata* and 0.517 ± 0.04 for *P. damicornis*. The maximum electron transport rate ($rETR_{max}$) was not affected by Ni and Ur enrichment in both species (Figure 38 A, B) ($p > 0.05$; Tableau 12, 13, 15). $rETR_{max}$ values were 1.31-fold and 1.41-fold higher in colonies submitted to NiUr enrichments for *A. muricata* and *P. damicornis*, respectively (Tukey test; $p < 0.01$ and $p < 0.001$, respectively).

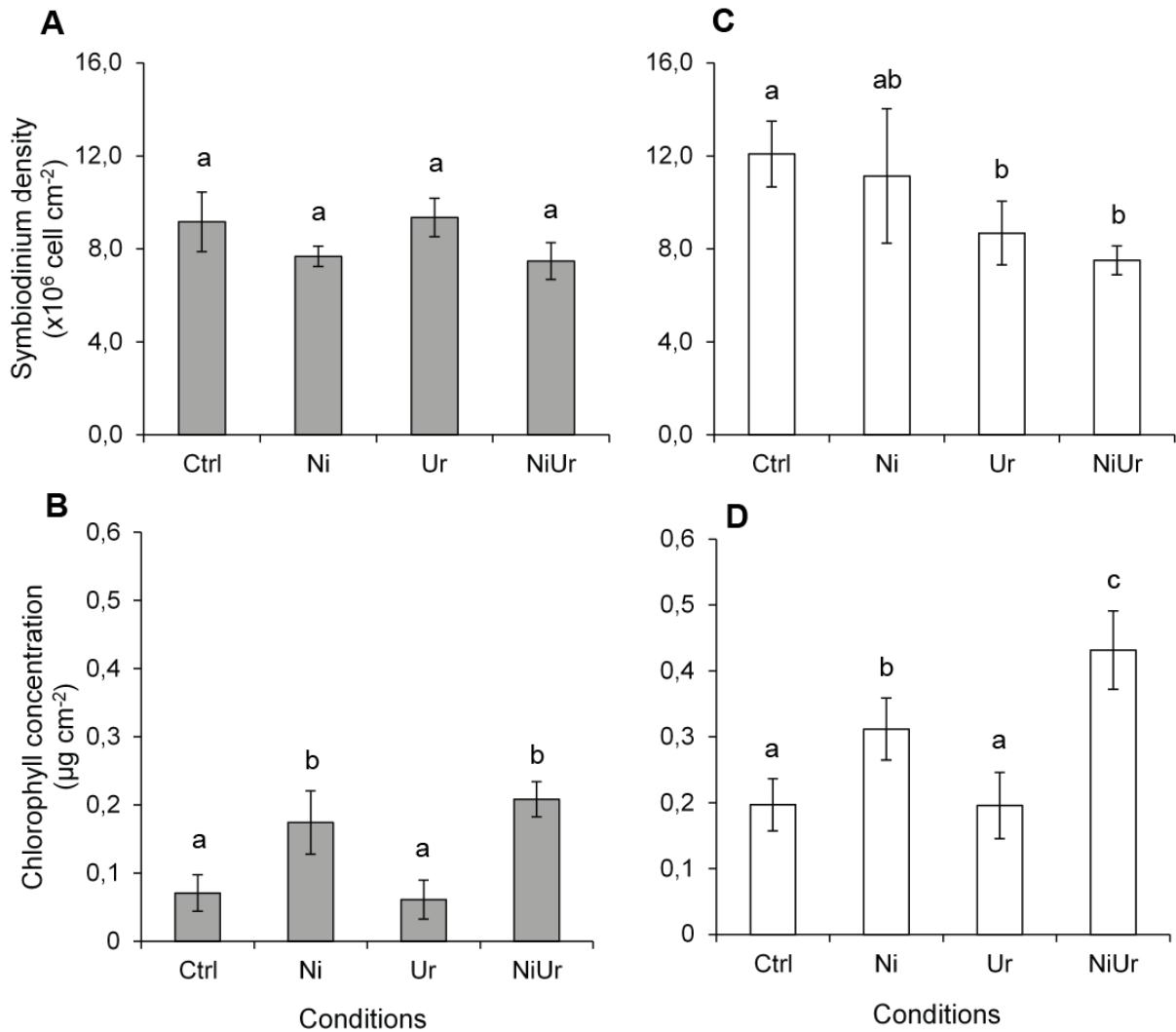


Figure 36. *Symbiodinium* density and total chlorophyll concentration of *Acropora muricata* (A and B) and *Pocillopora damicornis* (C and D) (mean $\pm$ SD, $n = 3$) exposed for four weeks (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ctrl); to higher concentrations in nickel ($3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) (Ni); to higher urea concentrations ($5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ur); and to both higher concentrations in nickel and urea (NiUr).

3.2. Heterotrophic parameters of *A. muricata*, *P. damicornis* and *D. arbuscula*

Ni enrichment induced a 2- to 3-fold increase in urea uptake rates of *D. arbuscula* and *P. damicornis* and a 7-fold increase in *A. muricata* (Tukey test; $p < 0.001$, $p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively; Figure 39A, B, C). Ur enrichment stimulated only the urea uptake of the symbiotic species inducing a 2-fold increase of the rates of *A. muricata* and a 1.25-fold increase of those one of *P. damicornis* (Tukey test; $p < 0.001$ and $p < 0.01$, respectively). For both symbiotic and asymbiotic species, the highest rates were measured in colonies submitted to NiUr enrichment (Tukey test; $p < 0.001$), with a 15-fold and 6-fold increase for *A. muricata* and *P. damicornis* respectively, and 5-fold increase for *D. arbuscula* compared to those of control corals.

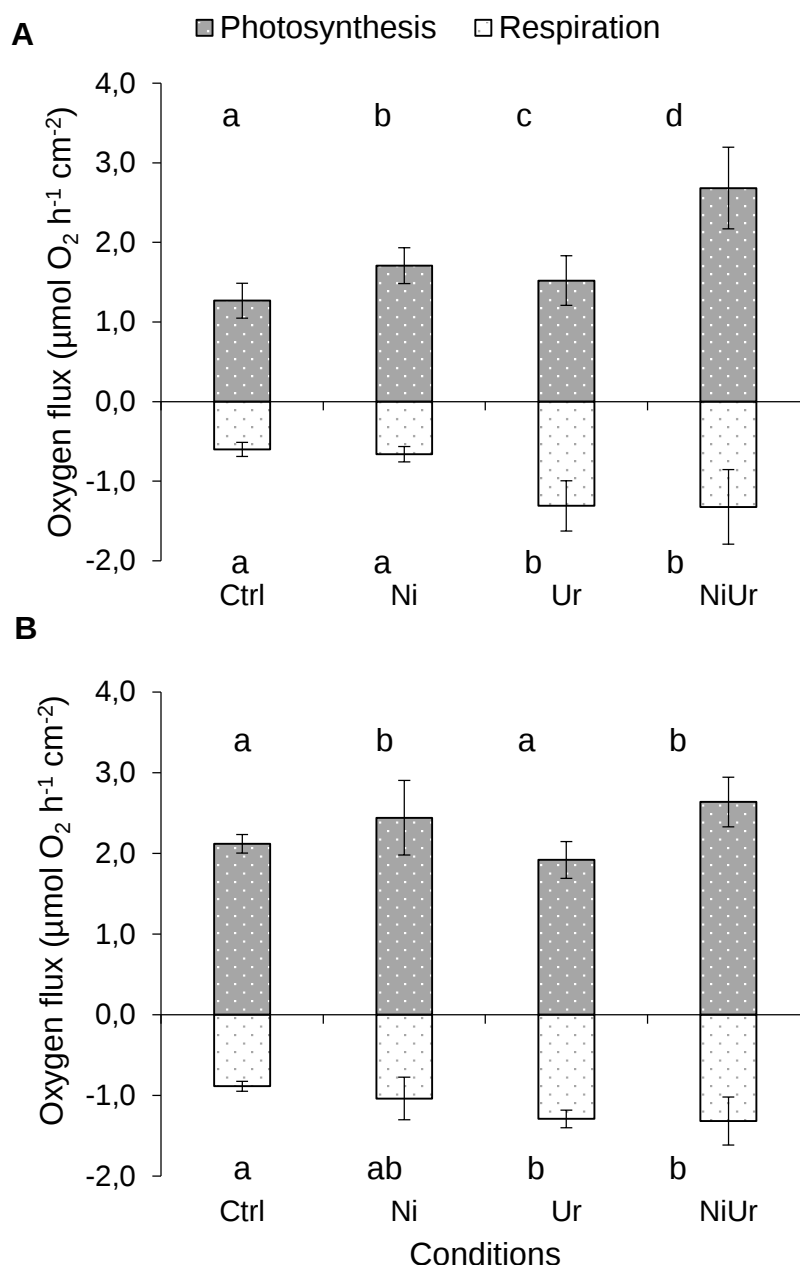


Figure 37. *Acropora muricata* (A) and *Pocillopora damicornis* (B) gross photosynthesis and respiration rates (mean $\pm$ SD, $n = 3$) measured in aquaria exposed for four weeks (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ctrl); to higher concentrations in nickel ($3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) (Ni); to higher urea concentrations ($5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ur); and to both higher concentrations in nickel and urea (NiUr).

Ni enrichment enhanced the short-term day calcification rates ($\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ d}^{-1}$) in both symbiotic species, while Ur enrichment had no effect ($p < 0.001$ and $p > 0.05$, respectively; Tableau 12, 13; Figure 40A, B, C). For these species, the highest calcification rates were reached under NiUr enrichment, and were 1.42 and 1.54-fold higher compared to the control condition, for *P. damicornis* and *A. muricata*, respectively (Tukey test; $p < 0.001$ and $p < 0.001$). Calcification rates

of *D. arbuscula* were 5- to 10-fold lower than for symbiotic corals (Figure 40C). Ni, Ur or NiUr enrichment had no effect on its calcification rates ($p>0.05$; Tableau 14).

Ni enrichment also stimulated the long-term growth rates ($\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$) of all species, inducing a 1.62-, 1.64- and 1.49-fold increase, respectively, for *A. muricata*, *P. damicornis* and *D. arbuscula* ($p<0.001$, $p<0.001$ and $p<0.05$; Tableau 12, 13, 14; Figure 41A, B, C). Only the growth rates of *A. muricata* were increased by Ur enrichment ($p<0.05$; Tableau 12). Under NiUr enrichment, the growth rates were 1.27-, 1.19- and 1.11-fold higher, respectively for *A. muricata*, *P. damicornis* and *D. arbuscula*, compared to colonies only exposed to Ni enrichment (Tukey test; $p<0.05$).

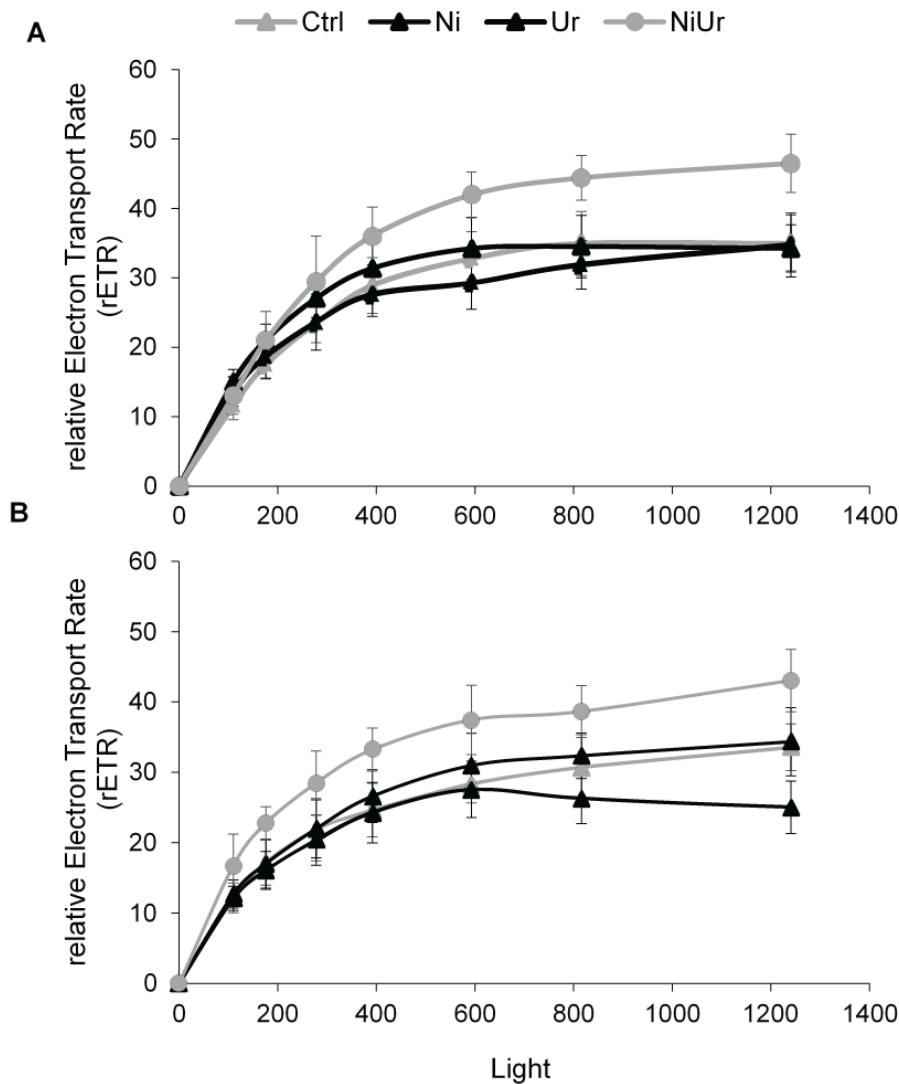


Figure 38. Relative electron transport rate (rETR) *vs.* irradiance (PAR) for *Acropora muricata* (A) and *Pocillopora damicornis* (B) (mean $\pm$ SD, $n=5$) exposed for four weeks (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ctrl); to higher concentrations in nickel ($3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) (Ni); to higher urea concentrations ($5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ur); and to both higher concentrations in nickel and urea (NiUr).

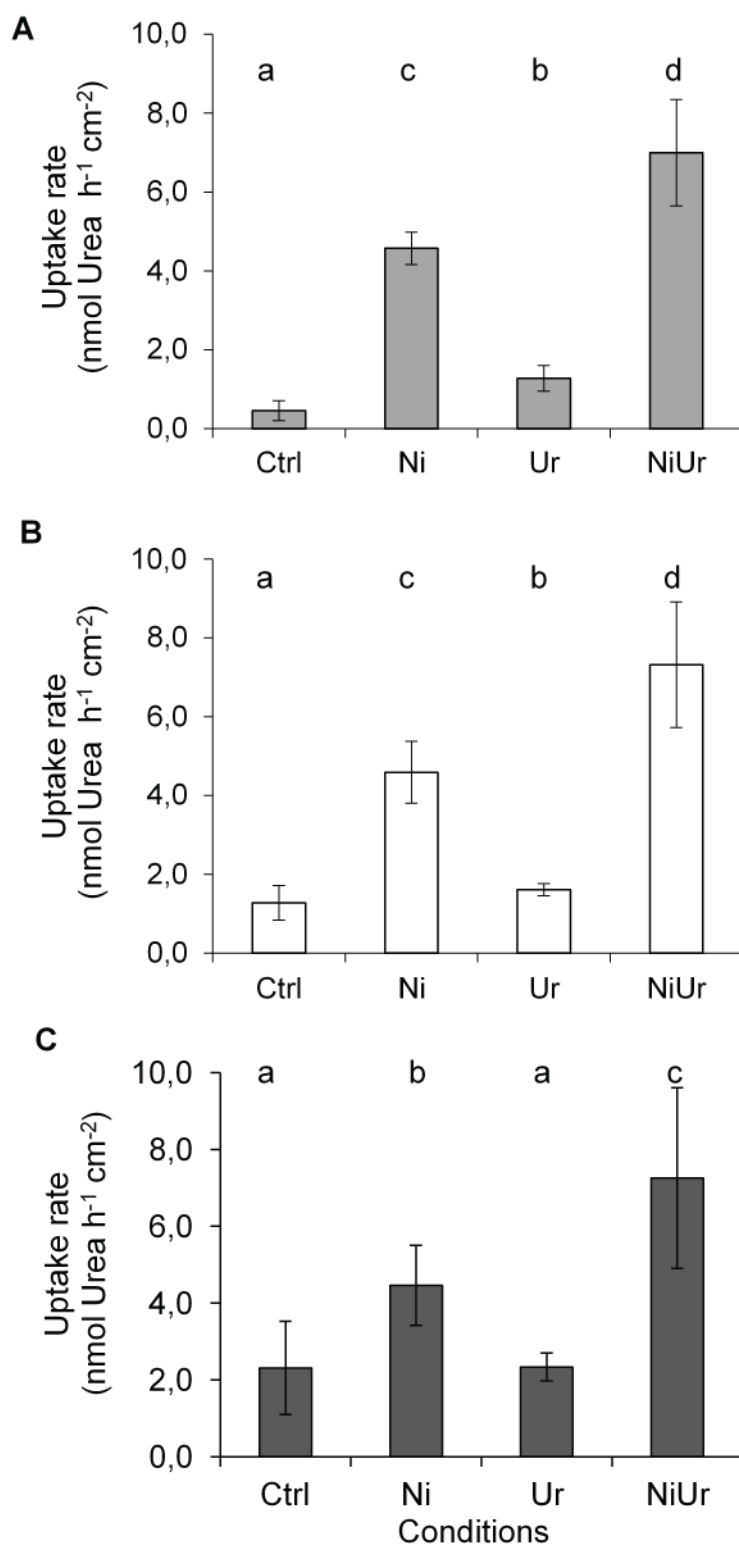


Figure 39. *Acropora muricata* (A), *Pocillopora damicornis* (B) and *Dendrophyllia sp.* (C) uptake rates of urea (mean $\pm$ SD, $n = 3$) measured in aquaria after a four weeks exposure (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ctrl); to higher concentrations in nickel ($3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) (Ni); to higher urea concentrations ($5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ur); and to both higher concentrations in nickel and urea (NiUr).

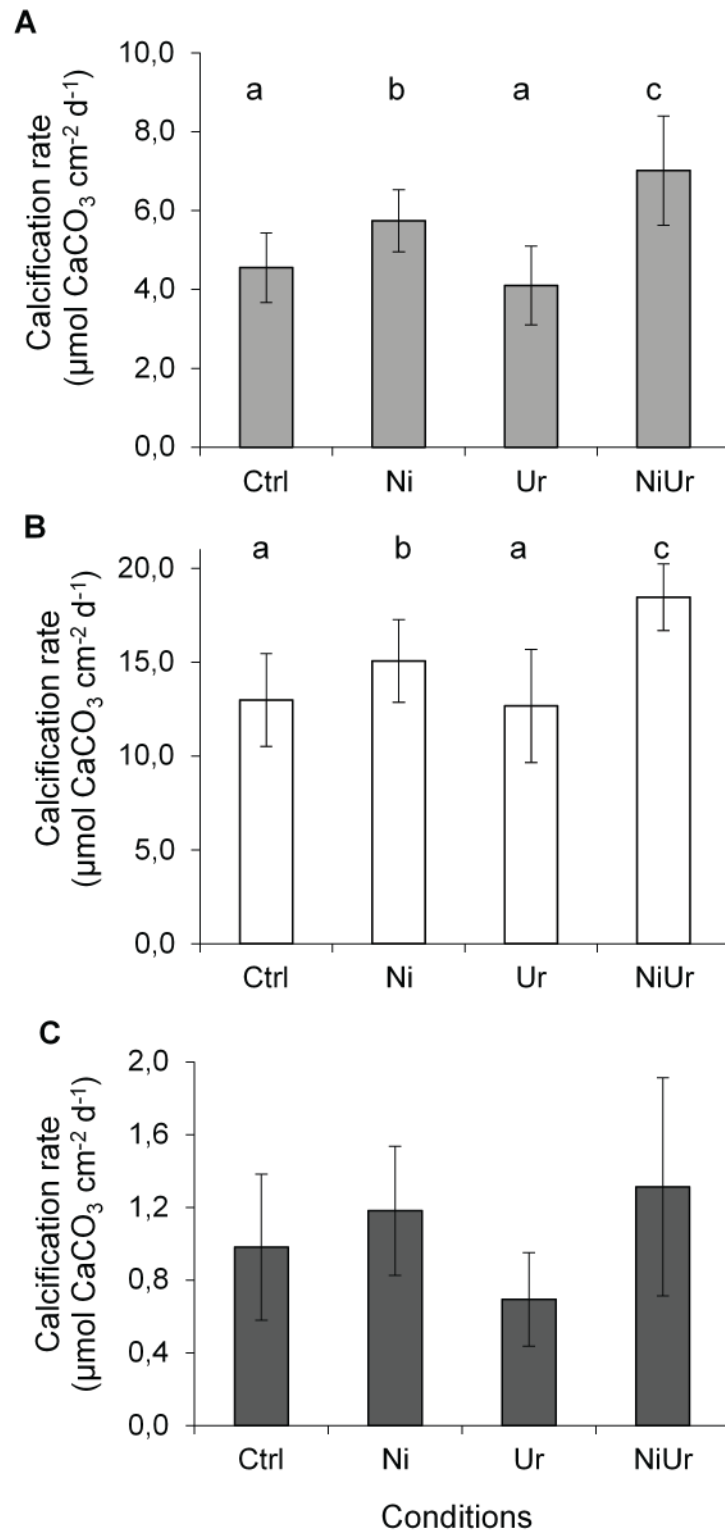


Figure 40. Calcification rates of *Acropora muricata* (A), *Pocillopora damicornis* (B) and *Dendrophyllia sp.* (C) (mean $\pm$ SD, $n = 3$) measured in aquaria after four weeks exposed (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ctrl); to higher concentrations in nickel ($3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) (Ni); to higher urea concentrations ($5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ur); and to both higher concentrations in nickel and urea (NiUr).

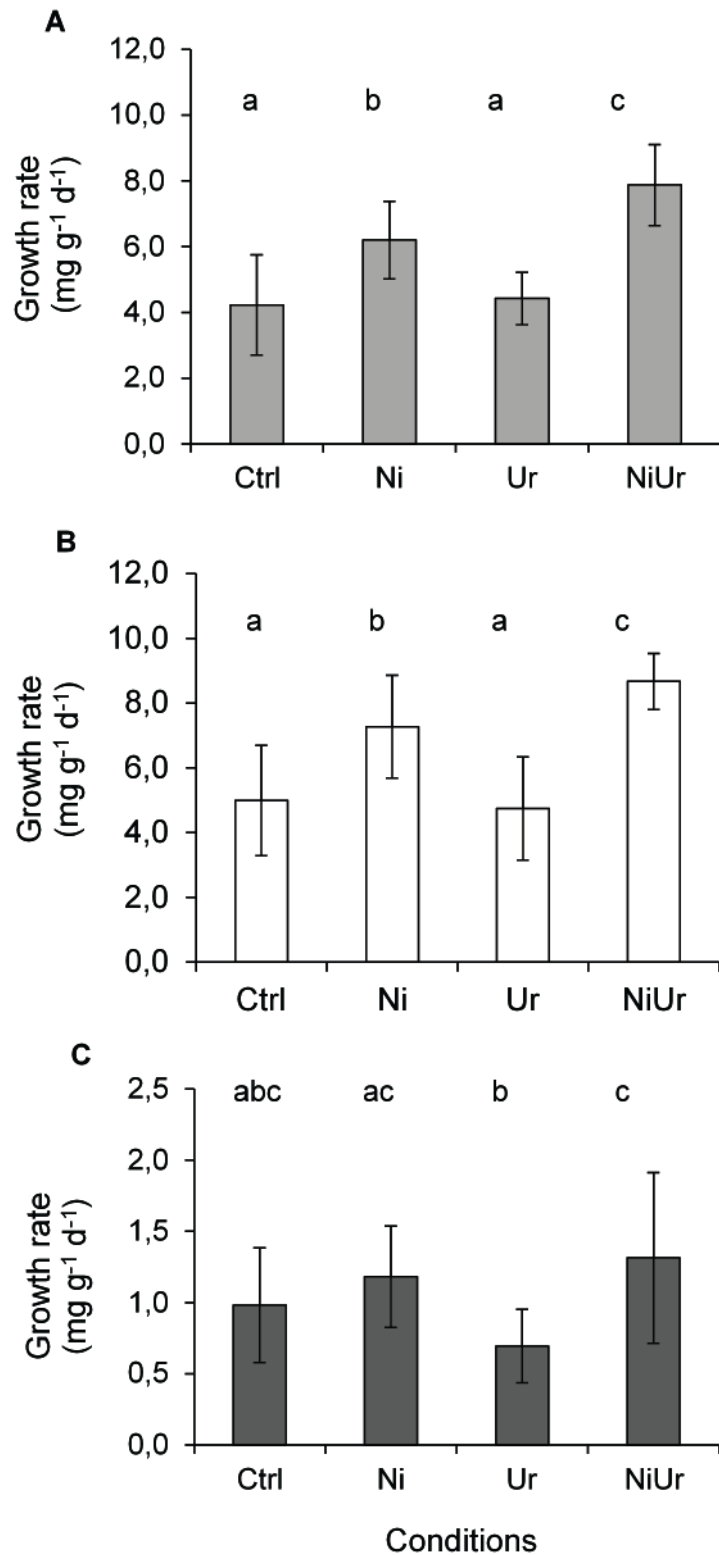


Figure 41. Growth rates of *Acropora muricata* (A), *Pocillopora damicornis* (B) (mean $\pm$ SD, n = 5) and *Dendrophyllia* sp. (C) (mean $\pm$ SD, n = 4) measured in aquaria after four weeks exposed (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ctrl); to higher concentrations in nickel ($3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) (Ni); to higher urea concentrations ($5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ur); and to both higher concentrations in nickel and urea (NiUr).

Tableau 12. Summary of two-way ANOVAs testing the combined effect of two nickel (ambient: 0.12 $\mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: 3.50 $\mu\text{g L}^{-1}$) and two urea concentrations (ambient: 0.26 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and enriched: 5.52 $\mu\text{mol L}^{-1}$) on *Acropora muricata* physiological parameters during the 4-weeks experiment.

<i>Acropora muricata</i>				
Source of variation	SS	df	F-ratio	p-Values
<i>Symbiodinium.cm⁻²</i>				
Nickel	3.273x10 ¹⁰	1	5.195	0.052
Urea	3.884x10 ⁹	1	0.617	0.455
Nickel x Urea	9.412x10 ⁸	1	0.149	0.709
Error	5.04x10 ⁹	20		
Total chlorophyll.cm⁻²				
Nickel	0.047	1	25.082	0.001**
Urea	0.000	1	0.242	0.636
Nickel x Urea	0.021	1	3.766	0.041*
Error	0.015	20		
Gross photosynthesis				
Nickel	1.129	1	9.820	0.014*
Urea	0.993	1	8.419	0.042*
Nickel x Urea	1.922	1	16.719	0.003**
Error	0.920	20		
Respiration				
Nickel	0.004	1	0.047	0.833
Urea	1.408	1	16.796	0.003**
Nickel x Urea	0.002	1	0.019	0.893
Error	0.671	20		
F_v/F_m				
Nickel	0.006	1	3.242	0.08
Urea	0.00	1	0.919	0.343
Nickel x Urea	0.005	1	2.862	0.097
Error	0.071	36		
rETR_{max}				
Nickel	336.98	1	3.241	0.123
Urea	269.88	1	2.2021	0.287
Nickel x Urea	414.09	1	12.5849	0.001**
Error	1184.54	36		
Urea uptake rate				
Nickel	1.45x10 ⁻⁴	1	270.187	0.000***
Urea	1.58x10 ⁻⁵	1	29.355	0.000***
Nickel x Urea	3.84x10 ⁻⁶	1	7.14	0.015*
Error	1.08x10 ⁻⁵	20		
Calcification rate				
Nickel	25.256	1	23.368	0.000***
Urea	1.009	1	0.933	0.346
Nickel x Urea	24.464	1	24.129	0.000***
Error	21.616	20		
Growth rate				
Nickel	73.696	1	43.93	0.000***
Urea	8.73	1	5.204	0.028*
Nickel x Urea	80.439	1	46.242	0.000***
Error	60.392	3		

Tableau 13. Summary of two-way ANOVAs testing the combined effect of two nickel (ambient: 0.12 $\mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: 3.50 $\mu\text{g L}^{-1}$) and two urea concentrations (ambient: 0.26 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and enriched: 5.52 $\mu\text{mol L}^{-1}$) on *Pocillopora damicornis* physiological parameters during the 4-weeks experiment.

<i>Pocillopora damicornis</i>				
Source of variation	SS	df	F-ratio	p-Values
<i>Symbiodinium.cm</i>⁻²				
Nickel	3.372x10 ¹⁰	1	1.067	0.332
Urea	3.714x10 ¹¹	1	11.754	0.009**
Nickel x Urea	3.655x10 ¹¹	1	10.012	0.009**
Error	2.528x10 ¹¹	20		
Total chlorophyll.cm ⁻²				
Nickel	0.092	1	6.205	0.037*
Urea	0.011	1	0.709	0.424
Nickel x Urea	0.181	1	8.738	0.004**
Error	0.119	20		
Gross photosynthesis				
Nickel	0.812	1	8.750	0.018*
Urea	0.000	1	0.000	0.989
Nickel x Urea	0.917	1	9.258	0.012*
Error	0.743	20		
Respiration				
Nickel	0.024	1	0.548	0.480
Urea	0.351	1	8.080	0.022*
Nickel x Urea	0.012	1	0.276	0.613
Error	0.347	20		
F_v/F_m				
Nickel	0.001	1	1.006	0.322
Urea	0.001	1	0.638	0.429
Nickel x Urea	0.002	1	1.511	0.226
Error	0.067	36		
rETR_{max}				
Nickel	256.7	1	0.729	0.102
Urea	170.2	1	1.725	0.197
Nickel x Urea	457.7	1	4.641	0.038*
Error	3550.1	36		
Urea uptake rate				
Nickel	1.22x10 ⁻⁴	1	145.023	0.000***
Urea	1.40x10 ⁻⁵	1	16.728	0.000***
Nickel x Urea	8.59x10 ⁻⁶	1	10.228	0.004**
Error	1.68x10 ⁻⁵	20		
Calcification rate				
Nickel	93.108	1	16.039	0.000***
Urea	14.307	1	2.465	0.132
Nickel x Urea	100.691	1	17.564	0.000***
Error	116.098	20		
Growth rate				
Nickel	96.384	1	46.401	0.000***
Urea	3.342	1	1.609	0.213
Nickel x Urea	106.762	1	50.255	0.000***
Error	74.779	36		

Tableau 14. Summary of two-way ANOVAs testing the combined effect of two nickel (ambient: $0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) and two urea concentrations (ambient: $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$ and enriched: $5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) on *Dendrophyllia sp.* physiological parameters during the 4-weeks experiment.

Source of variation	<i>Dendrophyllia sp.</i>			
	SS	df	F-ratio	p-Values
Urea uptake rate				
Nickel	8.76×10^{-5}	1	26.154	0.000***
Urea	1.09×10^{-5}	1	3.277	0.89
Nickel x Urea	6.31×10^{-5}	1	15.884	0.018*
Error	5.35×10^{-5}	16		
Calcification rate				
Nickel	1.195	1	2.167	0.166
Urea	2.554	1	4.633	0.052
Nickel x Urea	0.019	1	0.034	0.857
Error	6.616	16		
Growth rate				
Nickel	1.345	1	7.537	0.011*
Urea	0.048	1	0.271	0.606
Nickel x Urea	1.450	1	9.963	0.017*
Error	4.995	28		

Tableau 15. Summary of $rETR_{\text{max}}$ and F_v/F_m meaning values of *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis* measured in aquaria after four weeks exposed (chronic exposure) to ambient nickel and urea concentrations ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.26 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ctrl); to higher concentrations in nickel ($3.50 \mu\text{g L}^{-1}$) (Ni); to higher urea concentrations ($5.52 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Ur); and to both higher concentrations in nickel and urea (NiUr).

	<i>A. muricata</i>	<i>P. damicornis</i>
$rETR_{\text{max}}$		
Ctrl	37.38 ± 6.46	35.17 ± 7.6
Ni	36.75 ± 7.15	39.16 ± 3.39
Ur	36.14 ± 3.62	32.53 ± 7.43
NiUr	$48.38 \pm 5.05^{**}$	$50.05 \pm 10.12^*$
F_v/F_m		
Ctrl	0.521 ± 0.03	0.518 ± 0.05
Ni	0.522 ± 0.04	0.515 ± 0.04
Ur	0.510 ± 0.05	0.512 ± 0.04
NiUr	0.531 ± 0.05	0.522 ± 0.05

4. Discussion

This study brings new and major insights into the effects on coral physiology of (i) nickel, a metal widely found throughout the environment and (ii) urea, a nitrogen source, which was largely ignored in studies on coral physiology. The major finding is that coral calcification is enhanced under a nickel or a combined nickel and urea enrichment. The increased long-term calcification rate of the asymbiotic coral *D. arbuscula*, suggests that nickel and urea have a direct effect on the calcification process. The results obtained with symbiotic corals -an enhancement of the rates of photosynthesis, and a significant increase in both long-term and short-term calcification rates, above those measured in asymbiotic corals- further suggest an indirect effect of photosynthesis on calcification.

As only demonstrated in phytoplankton so far (Dupont et al., 2008a ; Morel & Price, 2003 ; Price & Morel, 1990), and here for corals, nickel availability is essential for the proper functioning of the urease. A shortage of nickel indeed impairs the urease catalytic activity, as previously observed in phytoplankton (Muyssen et al., 2004). Nickel enrichment strongly stimulated urea uptake rates of the three tested coral species. The maximization of the urease activity inside the coral tissue by nickel created a urea gradient from outside to inside coral tissue, which stimulated urea transport and resulted in higher incorporation rates. Since urea uptake is concentration dependent (Grover et al., 2006), we also observed an enhancement of urea uptake rates in corals maintained under urea enrichment. The highest uptake rates were logically observed when both urea (the substrate) and nickel (the enzyme-component) were simultaneously available in excess to corals.

In parallel to the stimulation of urea uptake rates, nickel significantly surged calcification and growth rates of both symbiotic coral species. It has been suggested, but never demonstrated, that urea hydrolysis by urease could enhance calcification by two mechanisms (1) by producing NH_3 , which neutralizes protons formed during calcification and shifts the equilibrium towards the precipitation of CaCO_3 and (2) by supplying CO_2 to the calcification process (Barnes & Crossland, 1976 ; Campbell & Speeg, 1969 ; Crossland & Barnes, 1974). The incorporation of urea-derived carbon into skeleton was indeed demonstrated in a previous study with the use of ^{14}C -labelled urea (Crossland & Barnes, 1974), but the actual importance of urea degradation for calcification was not investigated. We demonstrate in this study that the enhancement of urea uptake and hydrolysis following both nickel and urea enrichment significantly stimulated the long-term calcification rates (*i.e.* growth) of the three coral species investigated. Since calcification was greatly enhanced in the asymbiotic coral species- *i.e.* in absence of photosynthesis- the effect of increased urease activity

on calcification was mainly direct, through one or both processes described above. These observations are in line with several studies that have examined the impact of fish excretion (inducing high concentrations of urea and ammonium) on coral growth and which have consistently measured >50% higher growth rates when corals were surrounded by fish herds (Crandall & Teece, 2012 ; Holbrook et al., 2008 ; Liberman et al., 1995 ; Meyer & Schultz, 1985 ; Meyer et al., 1983).

Although there was a direct effect of urea degradation on coral calcification, we also observed, in symbiotic corals, a small indirect effect, through photosynthesis stimulation. Indeed, while the growth rates of the asymbiotic coral *D. arbuscula* was stimulated by 49% under urea and nickel enrichment, the rates of the symbiotic species (*P. damicornis* and *A. muricata*) were enhanced by 64% and 62% under the same conditions. These results suggest that photosynthesis may have induced an additional increase of 10 to 15% in calcification rates. This effect was likely through an enhancement of the photosynthetic and respiration rates under urea or urea/nickel enrichment, which provided calcification with additional photosynthates and metabolic inorganic carbon respectively (Furla et al., 2000).

This stimulation of the photosynthetic process can be explained by various factors among which, an increase in chlorophyll concentrations observed in coral colonies subjected to nickel and both nickel and urea enrichment. Chlorophyll is a molecule composed of magnesium, which constitutes its metal core. While magnesium (Mg^{2+}) is the preferential metal for chlorophyll synthesis, Küpper et al. (1996) showed that nickel, as a bivalent cation, has the ability to replace magnesium in the composition of plant chlorophyll. Thus in presence of higher nickel concentrations, chlorophyll synthesis might have been stimulated. The higher photosynthetic rates can also be explained by the stimulation of urease activity by nickel, as previously mentioned. Indeed, urea hydrolysis by urease could be involved in photosynthesis by producing NH_4^+ (resulting from the combination of NH_3 and H^+ formed during the calcification process). As it has been widely demonstrated that dissolved inorganic nitrogen (including NH_4^+) has the ability to boost coral photosynthesis (Ferrier-Pagès et al., 2000 ; Hoegh-Guldberg & Smith, 1989), an increased production of ammonium in the presence of nickel and urea could largely explain greater photosynthesis rates in corals supplied with metals compared to control corals.

The increase of photosynthesis by nickel reveals a different action mode of this metal compared to copper, for which enrichments lessen the photosynthetic rates in colonies of *A. cervicornis* (Bielmyer et al., 2010). According to these authors, this decrease of photosynthetic rates

following a copper supply resulted from a loss of symbionts and a reduced carbonic anhydrase activity, which may have affected the symbiont by reducing the CO₂ available for photosynthesis.

While many studies to date have focused on the effects of dissolved inorganic nitrogen on the metabolism of corals (Dunn et al., 2012 ; Ezzat et al., 2015, 2016 ; Sawall et al., 2011), this study is one of the few to investigate the effects of dissolved organic nitrogen, urea. A previous one assessed the effects of phosphate, urea and ammonium fertilization on a patch reef of the Great Barrier Reef, but as urea and ammonium were added simultaneously, their respective role on the observed calcification decline was impossible to determine (Kinsey & Davies, 1979). The results obtained in our study show that even though both symbiotic species have increased urea incorporation rates when subjected to moderate urea enrichment alone (5.52 µmol L⁻¹), their level of sensitivity to urea is different. At this concentration of 5.52 µmol L⁻¹, colonies of *A. muricata* have significantly increased rETR_{max}, photosynthesis and growth values. On the contrary, colonies of *P. damicornis* and *D. arbuscula*, did not significantly changed their metabolism, likely because urea concentration was not sufficient to boost urease activity.

Conclusion

This study reveals for the first time the beneficial interactions between nickel and urea for coral calcification and photosynthesis. Nickel, which is toxic at very high concentrations, appears to be essential for both the symbionts and the host cells at moderate concentrations, stimulating the incorporation of urea and, as a consequence, the main physiological parameters. According to our results, it can be assumed that corals in some fringing reefs, benefiting from seawater highly enriched in nickel, as it is the case for example in New Caledonia, may have advantages and might be able to use urea more effectively as a carbon and nitrogen source. While there are still a lot of controversial results regarding the impacts of dissolved inorganic nitrogen enrichment on coral health and resistance to climate change, this work provides evidence that a source of dissolved organic nitrogen such as urea, through its by-products, might play a key role in coral metabolism by boosting both photosynthesis and calcification processes. Thus, although additional experiments are still needed to define the urea threshold at which, coral physiological parameters are stimulated, it can be suggested that urea, for which hotspots are regularly measured in reef waters (Crandall & Teece, 2012), may alleviate the negative consequences of thermal stress on corals.

Acknowledgments

T. Biscéré was beneficiary of a PhD grant (CIFRE N°2015/0301, France) supported by the Koniambo Nickel SAS and Ginger Soproner companies in New Caledonia. This work was supported by CNRT “Nickel and its environment”, Nouméa, New Caledonia (GRANT N°9PS2013). We wish to thank Magali Boussion of the Centre Scientifique de Monaco (France) for her assistance during all the experiment.

4.1.4 Effets du réchauffement des eaux et d'un enrichissement en manganèse et en fer sur les coraux (RESULTATS PERSONNELS)

Synthèse des principaux résultats obtenus

Cette expérience a été réalisée durant la seconde année de thèse et visait à déterminer les effets du manganèse et du fer, indépendamment ou en cocktail, chez *S. pistillata* dans le cadre d'un stress thermique (**Publication n°4** : Biscéré et al. 2018). Les concentrations testées étaient de 4.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour le manganèse et 3.0 $\mu\text{g L}^{-1}$ pour le fer.

Les résultats obtenus révèlent pour la première fois le rôle essentiel du manganèse au sein des coraux, et spécialement dans un contexte de réchauffement climatique. Alors que le stress thermique a diminué la quasi-totalité des paramètres physiologiques chez les coraux contrôles ne bénéficiant pas d'un apport en métal (Figure 42), l'enrichissement en manganèse a permis à la fois de stimuler les paramètres photosynthétiques et les paramètres de croissance malgré l'augmentation de la température. Ainsi, comparés aux coraux contrôles à 32°C, la concentration en chlorophylle a été augmentée de 36% (Figure 43), l'ETR de 79% (Figure 46), le taux de photosynthèse brute de 29% (Figure 44), et l'efficacité photosynthétique de 40% (Figure 45). La stimulation des paramètres photosynthétiques découlerait principalement de la place du manganèse au sein de l'OEC. Toujours par rapport aux coraux contrôles incubés à 32°C, les taux de calcification des colonies soumises à un enrichissement en Mn ont été plus que doublés (Figure 47) et les taux de croissance ont été stimulés de 94% (Figure 48), permettant de maintenir des taux de calcification et de croissance similaires à ceux de coraux incubés dans des conditions normales. Ce maintien, malgré une surproduction de ROS liée au stress thermique, souligne l'importance du manganèse comme cofacteur de la SOD. De plus, le manganèse aurait la capacité de se substituer au zinc dans l'anhydrase carbonique pour former une peroxydase renforçant encore davantage les défenses antioxydantes (Lionetto et al., 2016 ; Okrasa & Kazlauskas, 2006). Ces résultats suggèrent que les récifs bénéficiant de concentrations légèrement plus élevées en Mn pourraient être plus prompts à

faire face à une élévation de la température des eaux. Par ailleurs, l'importante stimulation des paramètres photosynthétiques, tels que l'ETR, le F_v/F_m ou des taux de photosynthèse bruts, également observée à 26°C laisse penser que le manganèse pourrait être un élément limitant pour les coraux en conditions normales.

Ces travaux ont également permis de confirmer la variabilité des réponses physiologiques des coraux face à un enrichissement en fer, et de mettre en évidence l'absence de synergie entre le fer et un stress thermique. En effet, alors que deux études précédentes menées sur les effets du fer sur les coraux, ont montré qu'une concentration de $0.34 \mu\text{g L}^{-1}$ de fer augmentait la densité en *Symbiodinium* de *S. pistillata* (Ferrier-Pagès et al., 2001), mais n'affectait pas celle de *P. verrucosa* (Rädecker et al., 2017). Dans notre cas, $3.0 \mu\text{g L}^{-1}$ de fer ont suffi à engendrer un blanchissement des colonies avec une diminution de la densité en symbiotes de 11% (Figure 43). Malgré la diminution du nombre de symbiotes, aucun effet du fer sur les taux de photosynthèse n'a été observé (Figure 44). En revanche, contrairement aux effets stimulants du manganèse lors d'un stress thermique, une diminution d'environ 28% a été mesurée à la fois pour les taux de calcification à court terme et de croissance à long terme à 26°C. Ces résultats confirment l'observation réalisée par Ferrier-Pagès et al. (2001) sur la même espèce. Enfin, le fer semble contrebalancer l'effet du manganèse à 32°C décrit précédemment, en diminuant de 21% les taux de calcification des colonies exposées au double enrichissement en fer et en manganèse (Figure 47).

Evidence for mitigation of coral bleaching by manganese

En révision à Scientific Reports | Septembre 2018

Biscéré T.^{1,2,3,*}, Ferrier-Pagès C.⁴, Gilbert A.², Pichler T.⁵, Houllbrèque F.¹

¹ IRD, ENTROPIE (UMR 9220), BP A5, 98848 Nouméa cedex, New-Caledonia

² Ginger Soproner, BP 3583, 98846 Nouméa cedex, New-Caledonia

³ Sorbonne Université, Collège Doctoral, F-75005 Paris, France

⁴ Centre Scientifique de Monaco, 8 quai Antoine 1er, 98000 Monaco, France

⁵ Department of Geosciences, University of Bremen, 28359 Bremen, Germany

Abstract

Unprecedented mass coral bleaching events due to global warming and overall seawater pollution have been observed worldwide over the last decades. Although metals are often considered as toxic substances for corals, some are essential at nanomolar concentrations for physiological processes such as photosynthesis and antioxidant defenses.

This study was designed to elucidate, the individual and combined effects of nanomolar seawater enrichment in manganese (Mn) and iron (Fe), on the main physiological traits of *Stylophora pistillata*, maintained under normal growth and thermal stress conditions. We provide, for the first time, evidence that Mn is a key trace element for coral symbionts, enhancing cellular chlorophyll concentrations, photosynthetic efficiency and gross photosynthetic rates at ambient temperature. Our experiment also highlights the key role of Mn in increasing coral resistance to heat stress-induced bleaching. While Mn-enriched corals did not bleach and did not reduce their rates of photosynthesis and calcification, control corals experienced significant bleaching. On the contrary to Mn, Fe enrichment not only impaired calcification but induced significant bleaching. Such information is an important step towards a better understanding of the response of corals to seawater enrichment in metals. It can also explain, to some extent, species susceptibility to environmental stress.

Introduction

Coral reefs are one of the most biodiverse, complex and productive ecosystems on Earth (Hoegh-Guldberg et al., 2009 ; Moberg & Folke, 1999). Over the last decades, rising sea surface temperatures, owing to global warming, have triggered unprecedented mass bleaching events, during which corals lose their symbiotic algae and then undergo nutrient starvation, decreased growth and possible mortality (*e.g.* Hughes et al. 2017). Thermal stress-induced bleaching is often due to an over-production of damaging reactive oxygen species (ROS; (Weis, 2008)). Levels of ROS within the coral tissue are usually regulated by antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (SOD), peroxidases and catalases (Cunning & Baker, 2013 ; Muller-Parker et al., 2015 ; Shcolnick & Keren, 2006). These enzymes can either neutralize free radicals of ROS by accepting or donating electron(s) to eliminate the unpaired condition of the radical or may directly react with the radicals and destroy them, or make them less reactive (Lü et al., 2010). During thermal stress, ROS exceed the enzymes' ability to detoxify them, leading to the direct damage of proteins, lipids or DNA (Halliwell, 2006 ; Weis, 2008).

In addition to global change-related disturbances, coral reefs have also to cope with the local deterioration of the seawater quality, due to increased pollution in inorganic and organic nutrients, particle loads and sedimentation (Cooper et al., 2009). Many reefs around the world (*e.g.* Costa Rica, Panama, Red Sea, Thailand, New Caledonia) are also exposed to elevated metal concentrations (Ali et al., 2011 ; Biscéré et al., 2015, 2017 ; Fujita et al., 2014 ; Guzmán & Jiménez, 1992 ; Tanaka et al., 2013 ; Whitall et al., 2014), brought by urban storm water run-off, industrial effluents, mining-operations and atmospheric contaminants (Reichelt & Jones, 1994). Experimental studies have emphasized the harmful effect of high concentrations of metals on coral reproduction and early life stages (Gissi et al., 2017 ; Leigh-Smith et al., 2018 ; Reichelt-Brushett & Harrison, 2000, 2004, 2005 ; Reichelt-Brushett & Hudspeth, 2016). The only three studies which have focused on the combined effects of thermal stress and metal pollution (copper and nickel) (Biscéré et al., 2015 ; Fonseca et al., 2017 ; Negri & Hoogenboom, 2011), have highlighted an increased bleaching susceptibility of adult corals under metal pollution (Biscéré et al., 2017 ; Fonseca et al., 2017) and a reduced thermal tolerance of coral larvae (Negri & Hoogenboom, 2011).

Although many metals, such as mercury (Bastidas & García, 2004), copper (Sabdon, 2009) or lead (Reichelt-Brushett & Harrison, 2005), are toxic for living organisms, even at nanomolar concentrations, some of them can play key roles in the functioning of photosynthetic organisms (*e.g.* phytoplankton, plants, algae) (reviewed by Dalcorsio et al., 2014). For example, manganese (Mn) and iron (Fe), whose concentrations in the tropical and subtropical coastal seawaters can

reach $10.8 \mu\text{g L}^{-1}$ and $2.61 \mu\text{g L}^{-1}$, respectively (Chan et al., 2014 ; Mokhtar et al., 2012 ; Moreton et al., 2009 ; Srichandan et al., 2016), are key elements of photosynthetic molecules. Mn is indeed an essential component of the Oxygen Evolving Complex (OEC) of photosystem II, whereas Fe is needed for the structure of the chlorophyll, of the photosystems I and II, the cytochrome b6f complex, and the ferredoxin (Geider & La Roche, 1994 ; Greene et al., 1991 ; Wells et al., 2011). Both are also cofactors of the antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase (MnSOD and FeSOD) (Richier, 2005 ; Wolfe-Simon et al., 2005), which continuously scavenge ROS within the coral tissue as described above (Richier, 2005 ; Rodriguez et al., 2016 ; Twining & Baines, 2013 ; Wolfe-Simon et al., 2005). With the exception of a single coral study, showing that iron limitation increases coral bleaching susceptibility (Shick et al., 2011), all others have been performed on plants or phytoplankton. They showed that metal limitation impairs the photosynthetic efficiency of photosystem II (Greene et al., 1991 ; Peers & Price, 2004 ; Shi et al., 2007) and enhances the oxidative load, by decreasing antioxidant enzymes' activity and ROS consumption (Peers & Price, 2004).

The aim of this work was to investigate the individual and combined effects of different levels of manganese (Mn) and iron (Fe), on the main physiological traits of the scleractinian coral species *Stylophora pistillata*, maintained under ambient temperature and thermal stress conditions. The hypotheses were that i) Natural, *in situ* concentrations of Fe and Mn are not a limiting factor for coral productivity under ambient temperature conditions ii) Fe and Mn can become limiting nutrients for coral productivity due to an increase need of metals for the synthesis of antioxidant enzymes or for chlorophyll repair We thus hypothesize that an enrichment in Mn and/or Fe can increase the coral resistance to bleaching; iii) we also hypothesize that a combined enrichment in manganese and iron has additive effects compared to an enrichment in either manganese or iron alone.

Results

Multivariate analysis: Principal Coordinate Analysis (PCoA) comparison of coral physiological traits maintained under the eight Mn-Fe-temperature conditions revealed a similar response between duplicated tanks (Figure 42). PCoA yielded two principal components, PCO1 and PCO2 that explain 51% and 28% of the total variance respectively. The first component (PCO1), is defined by positive correlations between Mn enrichment and photosynthetic (P_g , $rETR_{max}$ and F_v/F_m , Chl concentrations) or growth parameters (calcification, growth rates) ($r > 0.7$). PCO1 also demonstrates that Fe enrichment at 32°C has an opposite effect than manganese.

The second component (PCO₂) separates corals exposed to ambient and high temperatures and is defined by high weights from the “respiration” parameter ($r > 0.7$).

Effect of thermal stress (32°C) alone on control corals (not exposed to metal enrichment): as expected, thermal stress decreased symbiont density, chlorophyll content and P_g by 18%, 11% and 56%, respectively, compared to 26°C (ANOVA; $p < 0.001$; Fig. Figure 43A, B and Figure 44). No thermal stress effect was observed on the F_v/F_m (ANOVA; $p > 0.05$; Figure 45), but reduced $rETR_{max}$ by 41% (ANOVA; $p < 0.001$; Figure 46), respiration rates by 20% in all conditions (ANOVA; $p < 0.05$; Figure 44), calcification and growth rates by 59% and 47% respectively (LSD test; $p < 0.001$; Figure 47 and Figure 48).

Combined effect of iron enrichment and thermal stress: at 26°C, Fe enrichment decreased symbiont density by 11% compared to the control condition (LSD test; $p < 0.05$; Figure 43A), but had no effect on chl content, P_g and respiration rates, as well as on the F_v/F_m and $rETR_{max}$ (ANOVA; $p > 0.05$; Figure 43B, Figure 44, Figure 45 and Figure 46). Nevertheless, calcification and growth rates were decreased by ca. 28% compared to the control condition (LSD test; $p < 0.01$; Figure 47 and Figure 48). No interactive effect between temperature and Fe enrichment was observed (ANOVA; $p > 0.05$). At 32°C and under Fe enrichment, thermal stress reduced symbiont density by 35%, P_g rates and $rETR_{max}$ by 65% and 45% respectively compared to those of Fe corals at 26°C (ANOVA; $p < 0.001$; Figure 43A, Figure 44 and Figure 46). As well, thermal stress reduced growth and calcification rates by 40% and 59% respectively compared to those of Fe corals at 26°C (LSD test; $p < 0.001$; Figure 47 and Figure 48).

Combined effect of manganese or manganese-iron enrichment and thermal stress: At 26°C, no effect of Mn or Mn-Fe enrichment was observed on symbiont density (Figure 43A) and on the calcification and growth rates (LSD test; $p > 0.05$; Figure 47 and Figure 48). However, both enrichments stimulated chlorophyll concentrations by 30%, as well as P_g and $rETR_{max}$ by 69% and 29% compared to the controls at 26°C (ANOVA; $p < 0.001$; Figure 43B, Figure 44 and Figure 46). F_v/F_m was also enhanced by ca. 40% (LSD test; $p < 0.001$; Figure 45).

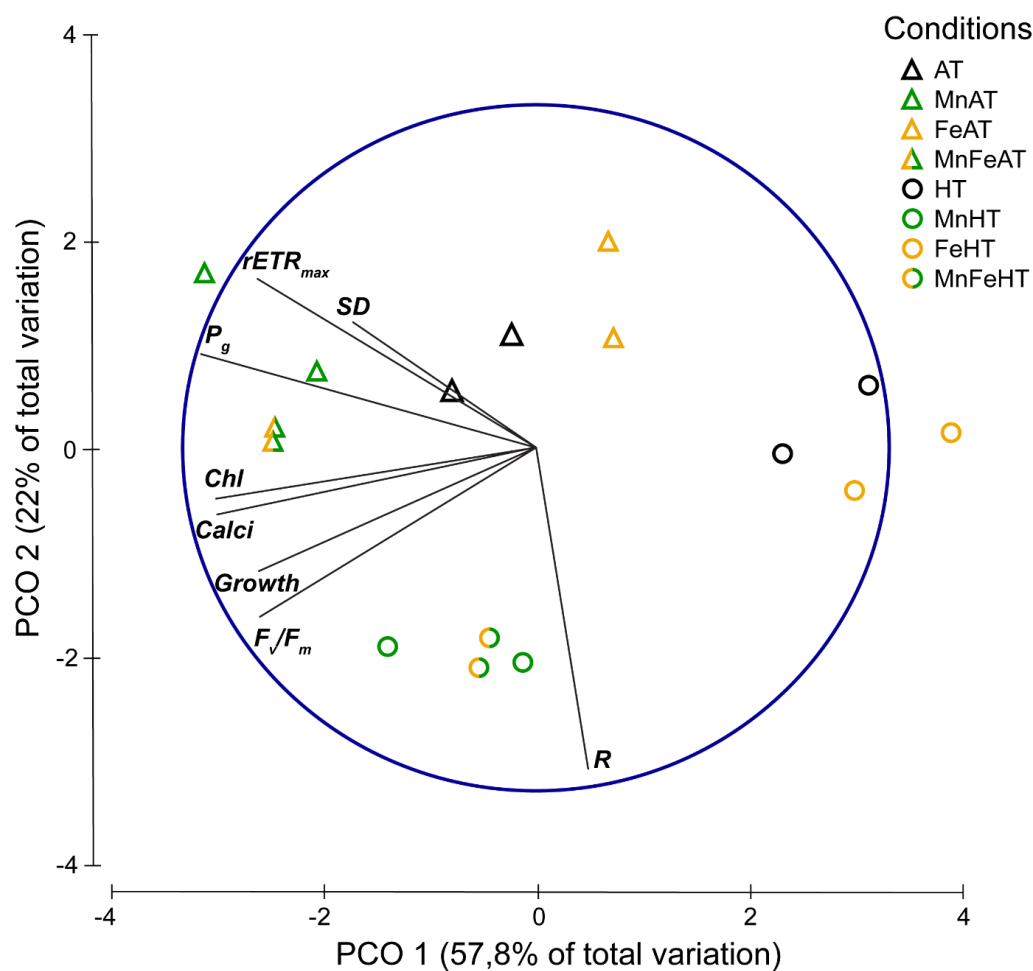


Figure 42. Principal Coordinate Analysis (PCoA) comparison of colony physiological traits maintained during six weeks either at 26 (AT) or 32°C (HT) to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$); to higher manganese concentrations ($4.1 \mu\text{g L}^{-1}$) (Mn); to higher iron concentrations ($3.0 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fe); and to both higher concentrations in manganese and iron (MnFe). SD , $rETR_{max}$, P_g , Chl , $Calci$, $Growth$, F_v/F_m and R represent, respectively, the *Symbiodinium* density, the maximum electron transport rate, the gross photosynthetic rate, the chlorophyll concentration, the calcification rate, the growth rate, the photosynthetic efficiency and the respiration rate.

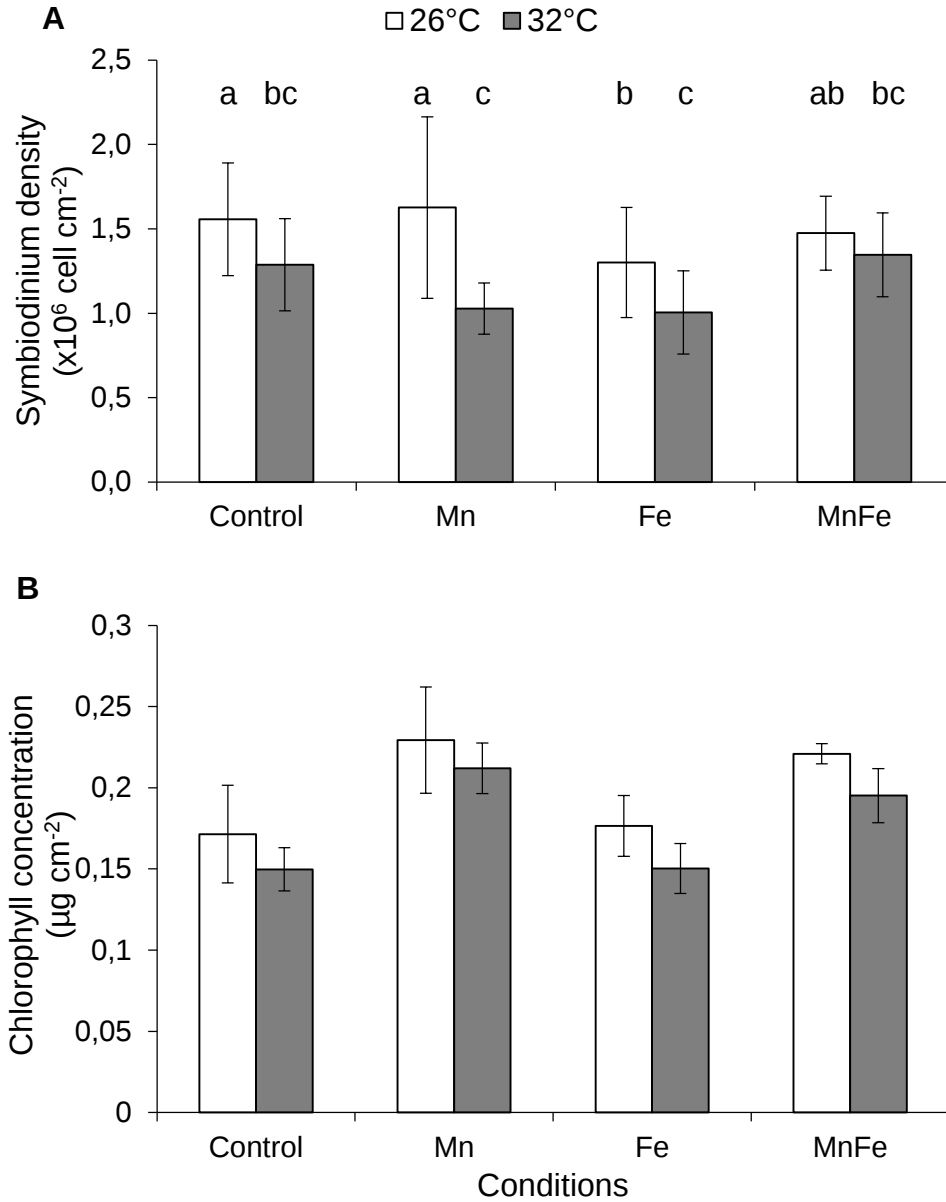


Figure 43. *Symbiodinium* density (A) and total chlorophyll concentration (B) of *Stylophora pistillata* (mean $\pm$ SD, $n = 3$) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$) (Control); to higher manganese concentrations ($4.1 \mu\text{g L}^{-1}$) (Mn); to higher iron concentrations ($3.0 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fe); and to both higher concentrations in manganese and iron (MnFe).

No interactive effect was observed between temperature and Mn or Mn-Fe enrichment on the tissue parameters, P_g or respiration rates and the F_v/F_m (ANOVA; $p > 0.05$, Figure 43A, B, Figure 44 and Figure 45). Although chlorophyll concentrations were stimulated by 36% in Mn enriched colonies at 32°C compared to the ones of control corals at 26°C (ANOVA; $p < 0.001$; Figure 43B), thermal stress reduced the symbiont density by 34% and 13% in Mn and MnFe corals, P_g by 52% and 41% and $rETR_{\text{max}}$ by 39% and 44% compared to those of control corals at 26°C

(ANOVA; $p < 0.001$; Figure 43A, Figure 44 and Figure 46). However, P_g and $rETR_{max}$ remained significantly higher (29% and ca. 79%, respectively) than those of control corals submitted to the same thermal stress (ANOVA; $p < 0.001$; Figure 44 and Figure 46). Finally, a significant interaction was observed between Mn and temperature on calcification and growth rates (ANOVA; $p < 0.01$, Figure 47 and Figure 48). Both rates were enhanced by thermal stress and Mn addition compared to control corals (LSD test; $p < 0.001$). Mn enriched colonies at high temperature maintained the same calcification and growth rates than at 26°C (LSD test; $p > 0.05$). At 32°C, Fe however interacted with Mn enrichment as MnFe enriched corals decreased their calcification rates by 21% compared to those of Mn enriched corals under high temperature (LSD test; $p < 0.05$).

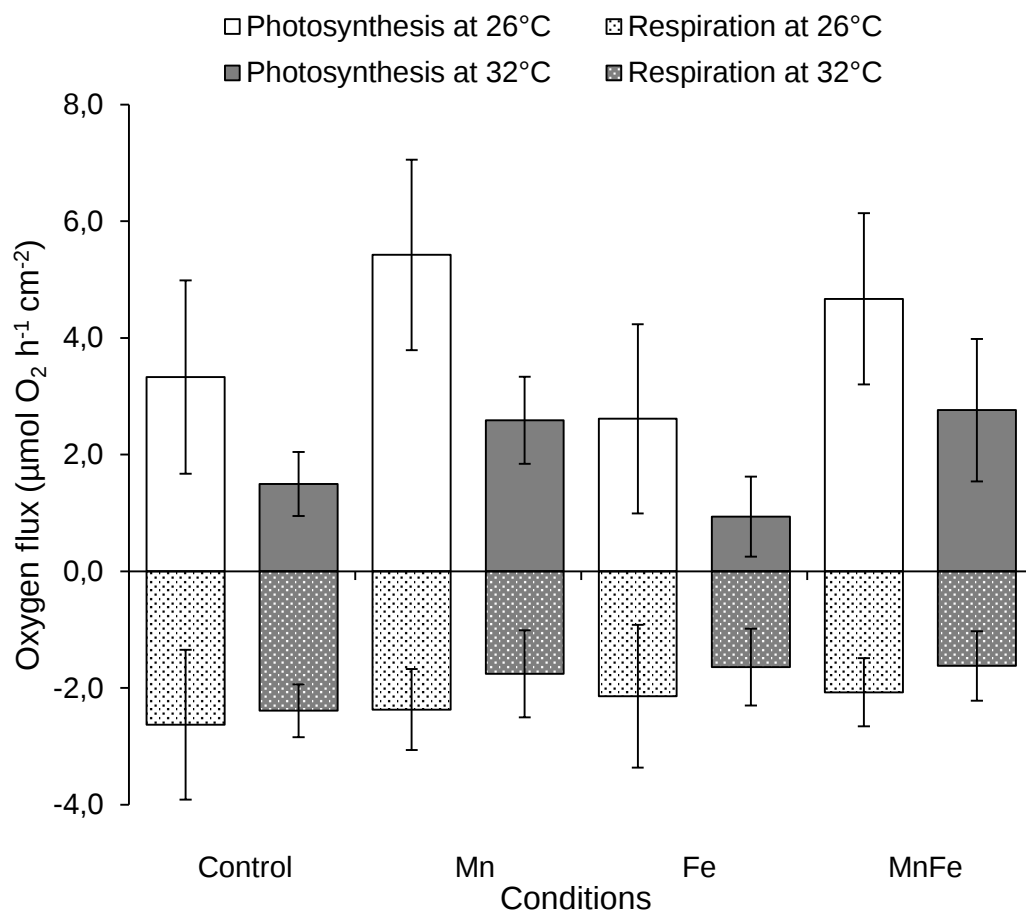


Figure 44. Photosynthetic and respiration rates of *Stylophora pistillata* (mean $\pm$ SD, $n = 3$) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $< 0.22 \mu\text{g L}^{-1}$) (Control); to higher manganese concentrations ($4.1 \mu\text{g L}^{-1}$) (Mn); to higher iron concentrations ($3.0 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fe); and to both higher concentrations in manganese and iron (MnFe).

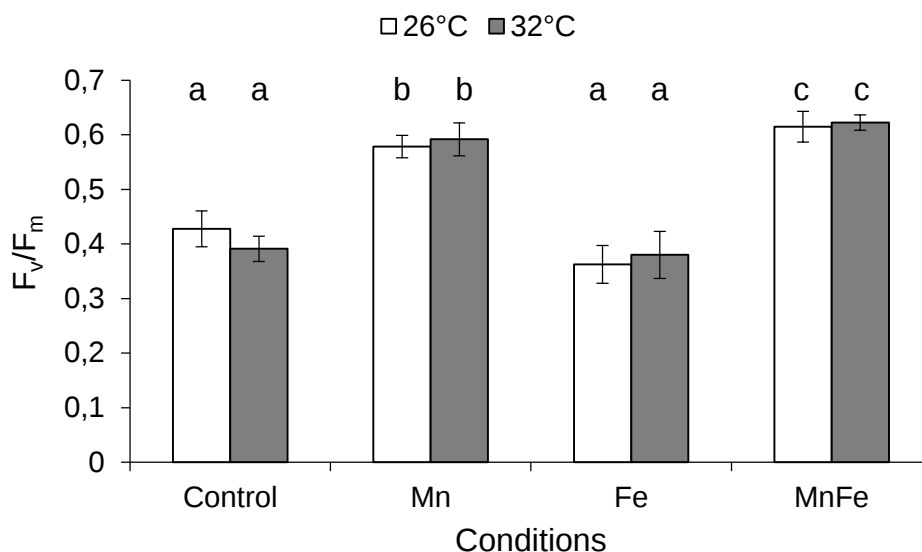


Figure 45. *Stylophora pistillata* photosynthetic efficiency (F_v/F_m) (mean $\pm$ SD, $n = 5$) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$) (Control); to higher manganese concentrations ($4.1 \mu\text{g L}^{-1}$) (Mn); to higher iron concentrations ($3.0 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fe); and to both higher concentrations in manganese and iron (MnFe).

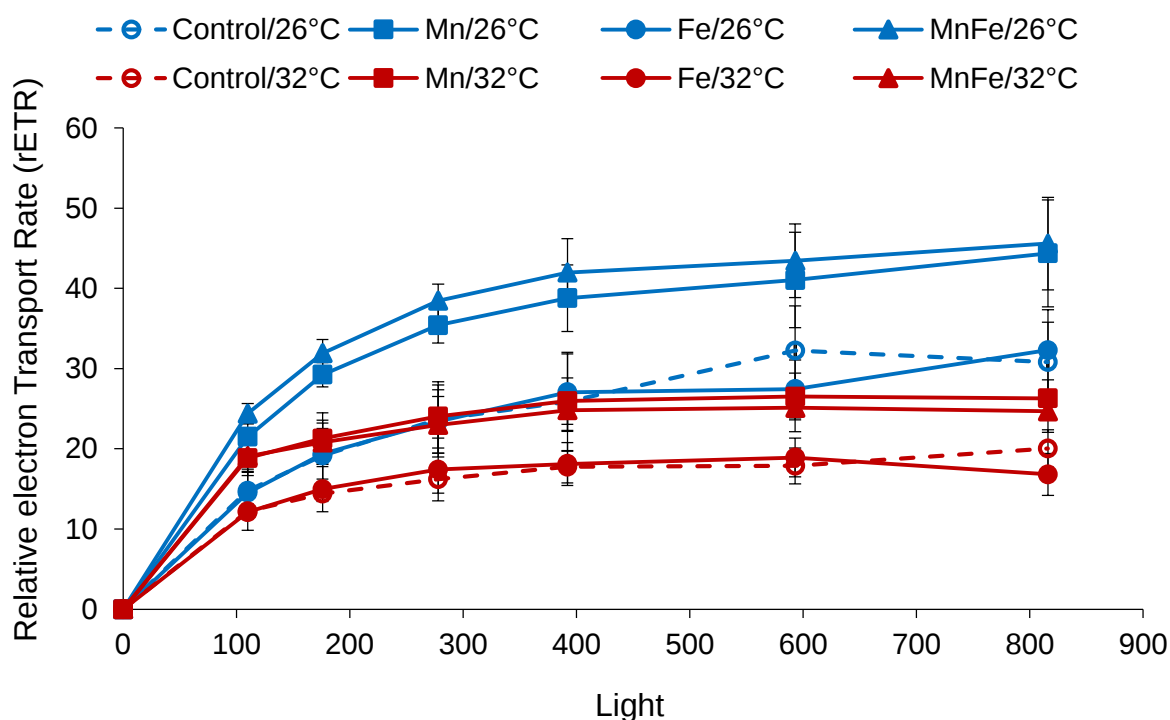


Figure 46. Relative electron transport rates (rETR) of *Stylophora pistillata* (mean $\pm$ SD, $n = 5$) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$) (Control); to higher manganese concentrations ($4.1 \mu\text{g L}^{-1}$) (Mn); to higher iron concentrations ($3.0 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fe); and to both higher concentrations in manganese and iron (MnFe).

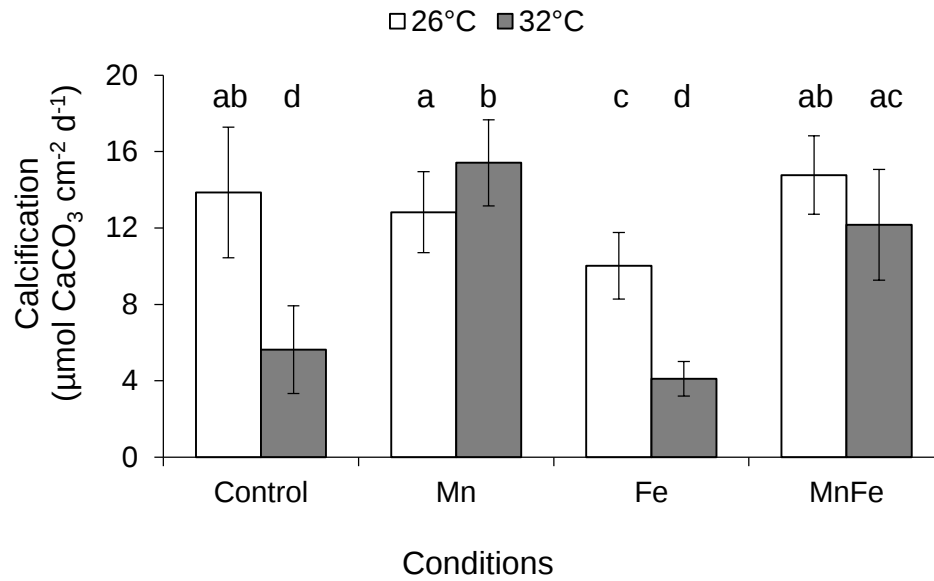


Figure 47. *Stylophora pistillata* calcification rates (mean $\pm$ SD, $n = 3$) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$) (Control); to higher manganese concentrations ($4.1 \mu\text{g L}^{-1}$) (Mn); to higher iron concentrations ($3.0 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fe); and to both higher concentrations in manganese and iron (MnFe).

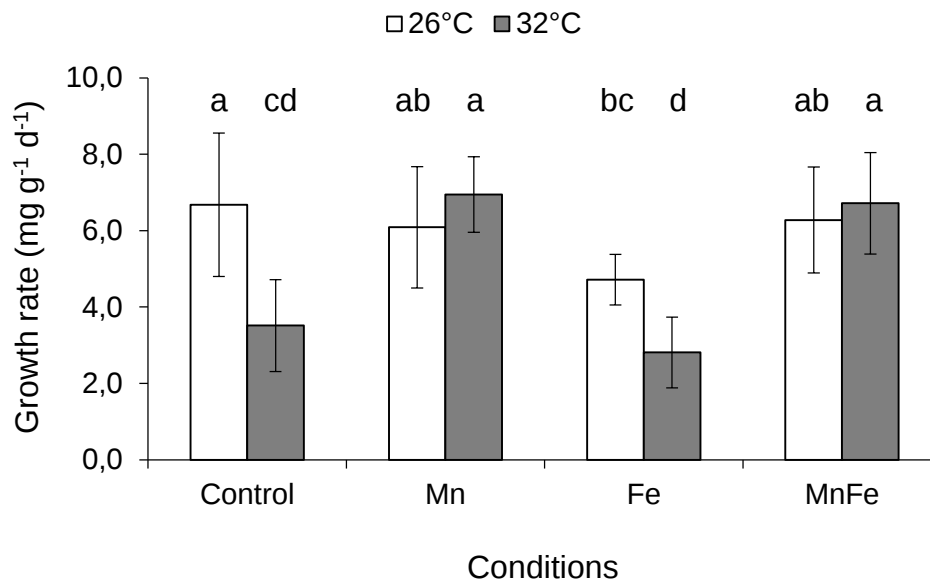


Figure 48. *Stylophora pistillata* growth rates (mean $\pm$ SD, $n = 5$) exposed during six weeks either at 26 or 32°C to ambient manganese and iron concentrations (0.06 and $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$) (Control); to higher manganese concentrations ($4.1 \mu\text{g L}^{-1}$) (Mn); to higher iron concentrations ($3.0 \mu\text{g L}^{-1}$) (Fe); and to both higher concentrations in manganese and iron (MnFe).

Discussion

While massive bleaching events intensify around the world, there is a need to identify the environmental factors, which can increase the resistance and resilience of corals to thermal-stress induced bleaching. Here, we provide the first evidence that Mn is a key trace element for the coral - *Symbiodinium* association. It directly enhances symbiont photosynthesis, and indirectly host metabolism, since symbionts translocate most of their photosynthates to the animal host. Mn thus mitigates the negative impact of short-term thermal stress on coral bleaching. We have also observed that seawater enrichment with $3 \mu\text{g Fe L}^{-1}$ induced a decrease in calcification rates and counteracts the positive effects of Mn on coral bleaching. Finally, we did not find any link in this study between rates of photosynthesis and calcification, suggesting that inorganic carbon may be a limiting factor for corals under manganese enrichment.

Results obtained in this study first clearly show that Mn is a limiting nutrient for coral photosynthesis, at natural seawater concentrations ($0.06 \mu\text{g Mn L}^{-1}$) such as those measured outside New Caledonia's barrier reef (Moreton et al., 2009). Photosynthetic efficiency (F_v/F_m , $rETR_{\text{max}}$) as well as chlorophyll concentrations and gross photosynthetic rates were all enhanced under $4 \mu\text{g Mn L}^{-1}$ enrichment, suggesting that corals have high requirements in Mn. Although such Mn stimulation has been previously documented for phytoplankton photosynthesis (Cao et al., 2011), it was unknown for *Symbiodinium in hospite*. Manganese is involved in several photosynthetic processes, which overall explain the higher rates of carbon fixation observed under normal growth conditions. This metal enters into the composition of the oxygen-evolving complex (OEC) of photosystem II (Diner & Babcock, 1996 ; Ghanotakis & Yocum, 1990 ; Hill & Ralph, 2008), which splits water molecules into electrons, protons and oxygen and shuttles the electrons into the photosystem II reaction center. Mn is also directly involved in chlorophyll synthesis, via the isoprenoid biosynthetic pathway, as demonstrated in phytoplankton and plants (Lidon et al., 2004 ; Millaleo et al., 2010 ; Wilkinson & Ohki, 1988).

Our experiment also highlights the key role of Mn in increasing coral resistance to heat stress-induced bleaching. At high temperature, Mn-enriched corals presented higher chlorophyll concentrations, photosynthetic and calcification rates than control corals, which experienced significant bleaching, likely due to high oxidative stress (Hill et al., 2011 ; Muller-Parker et al., 2015). In addition to enter into the composition of photosynthetic molecules, Mn is a key component of anti-oxidant enzymes, such as manganese superoxide dismutase (MnSOD) (Krueger et al., 2015). This metallo-enzyme, located in *Symbiodinium* (Lin et al., 2015 ; Zhang et al., 2013), is used to eliminate ROS, which are continuously produced through photosynthesis (Weis, 2008). SOD thus

protects the whole symbiotic association from photosynthetic and thermal stress-induced ROS, and thereby avoids chlorophyll degradation (Downs et al., 2002 ; Macfie & Taylor, 1992) (as observed in the present study) and likely DNA damage, protein unfolding and lipid peroxidation (Halliwell, 2006 ; Weis, 2008). Moreover, when Mn replace zinc at the active site of the carbonic anhydrase molecule, this later shows a peroxidase activity with bicarbonate-dependent activity (Lionetto et al., 2016 ; Okrasa & Kazlauskas, 2006). As such, it can detoxify the H₂O₂ produced during thermal stress inside the coral cells. Our results therefore show that bleaching is delayed by at least two weeks in presence of manganese but the long-term effect of manganese on the bleaching susceptibility of corals remains to be tested.

Although Mn enrichment allowed corals to maintain maximal rates of photosynthesis and calcification during thermal stress, we did not observe in this study a coupling between photosynthesis and calcification. Following the stimulation of photosynthesis, we could have expected to observe an increase in the rates of short- and/or long-term calcification. Such correlation between photosynthesis and calcification is well known (Gattuso et al., 1999). Calcification rates of scleractinian corals are indeed enhanced in the light compared to the dark and this process is called Light Enhanced Calcification (LEC) (reviewed by Gattuso et al., 1999). This can be primarily attributed to the photosynthetic activity of the symbionts, which has several impacts, such as the provision of essential molecules for the organic matrix synthesis or the elevation of pH at the site of calcification (Allemand et al., 2011 ; Gattuso et al., 1999 ; Tremblay et al., 2016). A link between photosynthesis and calcification has been observed with nickel enrichment, another trace element, which stimulated calcification in *Pocillopora damicornis* and *Acropora muricata* directly and indirectly through the stimulation of photosynthesis (Biscéré et al., 2018). The lack of calcification enhancement in manganese-enriched corals at 26°C could be explained by a potential limitation in dissolved inorganic carbon (DIC) or a competition for DIC between photosynthesis and calcification, as already observed in previous experiments involving nutrient, iron or cobalt enrichments (Biscéré et al., 2015 ; Ferrier-Pagès et al., 2001 ; Marubini & Davies, 1996 ; Stambler et al., 1991). Overall, corals living in a DIC scarce environment may experience DIC limitation and invest a great deal of energy into concentrating carbon at the photosynthesis site (Tansik et al., 2017).

Varying effects of iron exposure on corals have been observed in the literature and seem to depend on its concentration in seawater. As iron is involved in metabolic processes such as nitrogen fixation, antioxidant defenses, photosynthetic electron transfer or chlorophyll biosynthesis (Downs et al., 2002 ; Shcolnick & Keren, 2006 ; Wolfe-Simon et al., 2005), a complete

lack of iron in seawater was shown to induce coral bleaching (Shick et al., 2011). A slight enrichment ($0.28 \mu\text{g L}^{-1}$) enhanced photosynthesis, but significantly decreased calcification, likely due to a competition between these two processes for dissolved inorganic carbon (DIC, Ferrier-Pagès et al., 2001). The highest enrichment used in this study ($3 \mu\text{g L}^{-1}$), comparable to concentrations measured in some reefs along the New Caledonia's coast (Moreton et al., 2009), not only impaired calcification, but induced significant bleaching. Wells et al. (2011) showed that the intracellular ROS production within *S. pistillata* endosymbionts was increased when exposed to Fe-enriched seawater. Such increased ROS level can explain the bleaching observed in this experiment and the subsequent decrease in calcification rate. Indeed, the loss of symbionts induces starvation and decreased energy, which is essential for calcification.

Two interesting interactions between iron and manganese enrichment were observed in this study. A synergetic interaction between Mn and Fe enrichments, which stimulated the photosynthetic efficiency, has been recorded. This observation suggests that *Symbiodinium* photosynthesis is more dependent on the quantity of available electron brought by the O_2 evolving complex (Mn-dependent) than by molecules ensuring the transfer of these electrons (Fe-dependent), since an enrichment only in Fe does not modify the rates of photosynthesis. , In addition, there was a strong negative effect of Fe on coral calcification, since Fe enrichment partially inhibited the positive effect of manganese on calcification rates under thermal stress.

In summary, our paper highlights the importance of taking into account seawater metal concentrations to explain the heat-stress induced changes in coral physiology. Overall, Mn appeared as a limiting nutrient for coral photosynthesis and antioxidant capacity. Mn enrichment thus increased rates of photosynthesis and calcification, and decreased the bleaching susceptibility of *S. pistillata* (Figure 49). According to our results, high Mn concentrations in seawater can potentially explain the between-reef variability in bleaching susceptibility. Different uptake or assimilation rates of Mn between coral species can also explain species-specific bleaching. For example, reefs in New Caledonia, which have the specificity to be located in Mn-enriched waters, experienced their first massive bleaching event only in February 2016. However, the degree heating weeks (DHW) had yet already exceeded 8°C-Weeks (threshold values normally leading to widespread bleaching and mortality) several times in the past (in 1980, 1996, 2005) without causing coral bleaching ([https://coralreefwatch.noaa.gov/satellite/vs/melanesia.php#Amedee NewCaledonia](https://coralreefwatch.noaa.gov/satellite/vs/melanesia.php#Amedee_NewCaledonia)). More in-depth studies are however needed to confirm or rule out this hypothesis. In addition, this study has explored short-term exposure time to Mn enrichment, and/or to thermal stress. More studies are needed to refine the role of Mn enrichment in the mitigation of coral bleaching. Indeed,

responses of corals are highly dynamic and tend to change with increasing accumulation of stress; the beneficial role of Mn on symbiont's photosynthesis may therefore change with the length or the amplitude of the stress. Otherwise, it has also to be noticed that metal pollution is never based on a unique metal enrichment, and we clearly showed that metal interactions have to be considered when assessing the response of corals to thermal stress. Fe enrichment significantly impaired coral calcification, through processes that remain to be investigated. Finally, in the future, reefs will also experience increased ocean acidification, which not only will impact corals directly, but also indirectly through changes in the metal water chemistry (Millero et al., 2009). Additional experiments, simultaneously testing the effects of acidification and warming on manganese uptake rates are thus needed to provide a better understanding of the metal role in the limitation of coral bleaching phenomenon.

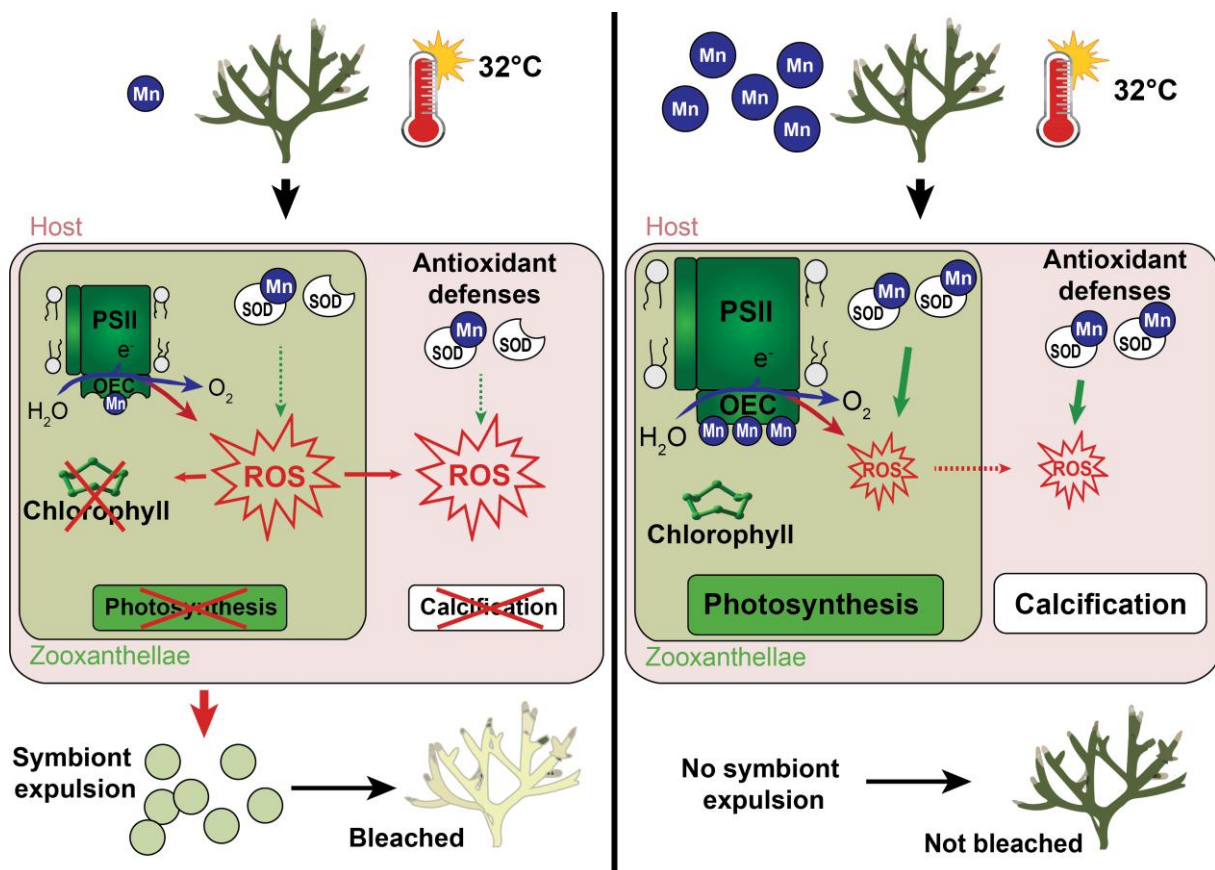


Figure 49. Schematic diagram summarizing the effects of a manganese enrichment on adult coral physiology under ambient temperature or thermal stress. Mn increases coral resistance to heat stress-induced bleaching by boosting all physiological parameters compared to control corals, which experienced significant bleaching likely due to oxidative stress. The fact that (1) Mn enters into the composition of the oxygen-evolving complex (OEC) of photosystem II, (2) Mn is directly involved in chlorophyll synthesis and (3) Mn is also a key component of anti-oxidant enzymes, such as Mn superoxide dismutase (MnSOD) (used to eliminate ROS during thermal stress), justify the stimulating properties of this metal.

Methods

Coral collection and experimental setup

Effects of manganese and iron enrichment alone or together associated with a thermal stress on coral physiology were assessed on the scleractinian coral, *Stylophora pistillata*, originating from the Red Sea and grown in aquaria at the Centre Scientifique de Monaco. To perform this experiment, 384 apex (2-cm long) (*i.e.* microcolonies) were sampled from six large mother colonies. Microcolonies were then hung on nylon wires, evenly distributed in 16 tanks (25 L) before the three weeks recovering period under controlled conditions. To improve recovery, corals received nauplii of *Artemia salina* twice a week. Tanks were supplied with filtered seawater pumped from 40 meters depth, renewed at a rate of 12 L h⁻¹. Temperature (26 or 32 ± 0.2°C) was controlled all along the experiment by heaters connected to Elli-Well PC 902/T controllers. Corals were illuminated by eight 400 W metal halide lamps (HPIT, Philips) at an irradiance of 200 ± 10 μmol photons m⁻² s⁻¹ (photoperiod was 12h:12h light:dark). Once a week, light was controlled by a LI-COR data logger (LI-1000) connected to a spherical quantum sensor (LI-193).

After the recovery, eight experimental conditions in a cross factor design (with manganese, iron and temperature as factors) were tested in duplicate. In other words, 4 metal conditions under two temperatures (26°C and 32°C) were achieved in duplicate: 1) control (C), with 0.06 ± 0.05 μg Mn L⁻¹ (Morley et al., 1997) and < 0.22 μg Fe L⁻¹ (Ferrier-Pagès et al., 2001), 2) manganese enrichment (4.1 ± 0.75 μg Mn L⁻¹), 3) iron enrichment (3.00 ± 0.2 μg Fe L⁻¹) and 4) manganese-iron enrichment at the two above concentrations (MnFe) (Supplementary Figure 50 and Tableau 16). Concentrations were chosen to be ecologically relevant and correspond to the highest concentration measured along the coast of New-Caledonia (Moreton et al., 2009).

Tableau 16. Metal concentrations in each incubation condition at T₀, T₀ + 3 weeks and T₀ + 6 weeks. Ctrl: Control; Mn: Manganese enriched; Fe: Iron enriched; MnFe: Both manganese and iron enriched.

Time	Conditions							
	Ctrl		Mn		Fe		MnFe	
	Mn	Fe	Mn	Fe	Mn	Fe	Mn	Fe
T₀	<3	<2	4.9	<2	<3	2.5	4.4	3.0
T₀ + 3 weeks	<3	<2	3.9	<2	<3	3.1	4.1	3.4
T₀ + 6 weeks	<3	<2	3.8	<2	<3	3.6	3.9	2.7

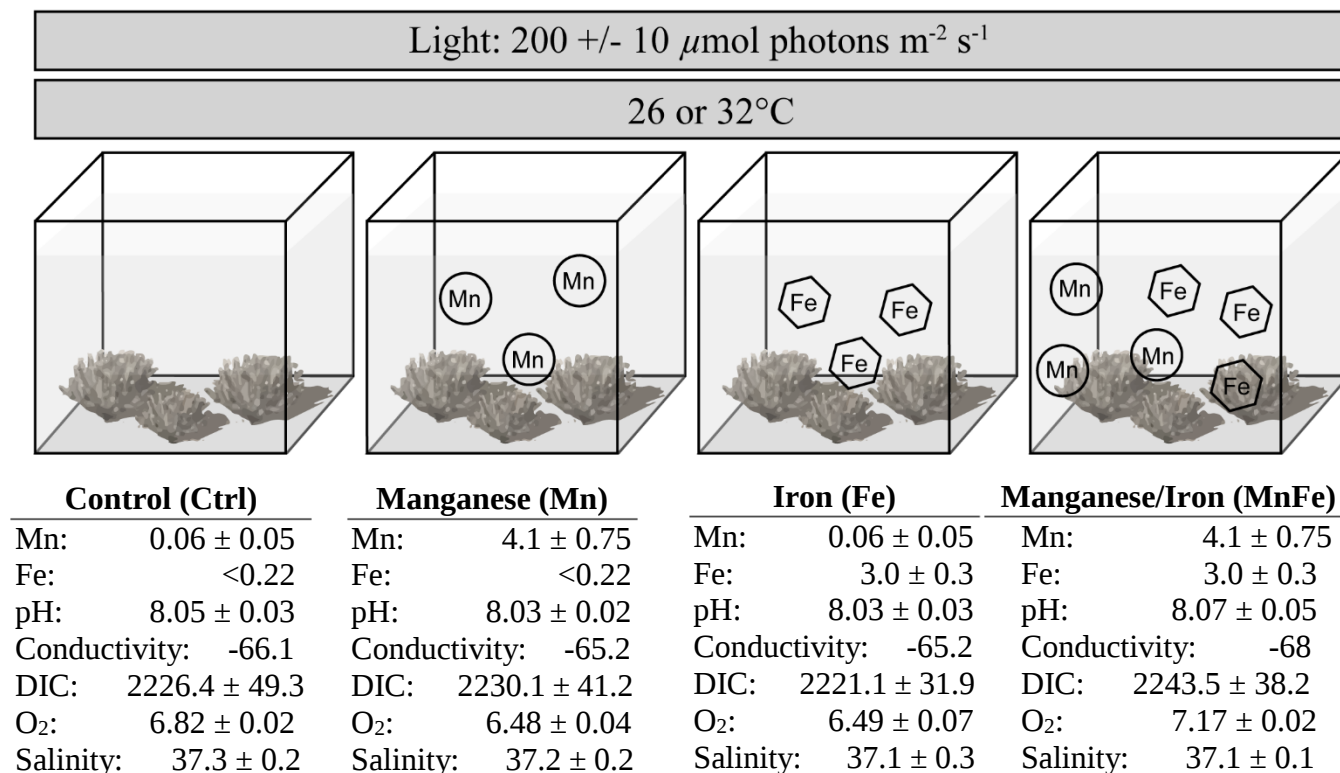


Figure 50. Experimental set up with eight conditions in a crossed factor design. Every condition was in duplicate. Control (Ctrl): ambient concentrations of manganese and iron; Manganese (Mn): higher manganese concentrations; Iron (Fe): higher iron concentrations; Manganese/Iron (MnFe): higher manganese and iron concentrations. Seawater parameters are shown below each condition. Mn and Fe are in $\mu\text{g L}^{-1}$; Conductivity in mV; DIC in $\mu\text{mol L}^{-1}$; O₂ in mg L^{-1} .

Two peristaltic pumps (ISMATEC) ensured the metal enrichments by continuously supplying the experimental tanks with 15 mL h⁻¹ of a solution of stable manganese (MnCl₂, Humeau, France) or stable iron (FeCl₂, Humeau, France).. In order to avoid any concentration gradient in the tank and to ensure a good seawater brewing, tanks were equipped with a submersible pump (Aquarium system, micro-jet MC 320, Mentor, OH, USA). After three weeks under metal enrichment, temperature was gradually increased during one week up to 32°C (1°C per day) in two tanks of each metal condition and maintained for an additional two weeks without stopping metal enrichment. Photosynthetic efficiency, growth rates, calcification rates, and tissue parameters (zooxanthellae density, chlorophyll and protein concentration) were measured at the beginning of the experiment, after three weeks of metal enrichment and at the end of the two weeks of thermal stress.

Metals enrichment were realized with their divalent forms, Fe^{2+} and Mn^{2+} , because they are the most soluble form of these metals and are considered as the most bioavailable (Campbell et al., 1995 ; Fairbrother et al., 2007). While Mn^{2+} remains largely bioavailable in the time due to its very long half-life time (Morgan, 1967), the half-life of the Fe^{2+} ions is only of few minutes at 30°C (Santana-Casiano et al., 2005 ; Sunda, 2001). Thus, in order to be sure that the concentrations in the tanks match with the concentrations desired, seawater samples have been realized in each tank to measure metal concentrations. Samples were filtered using a 0.2 μm filter and were acidified with 1% of ultrapure concentrated nitric acid (HNO_3), before sending for analysis (see supplementary materials for values; Tableau 16).

Concentrations of Mn and Fe were determined by sector field inductively coupled plasma-mass spectrometry (SF-ICP-MS) using a Thermo Element 2 instrument. Mass spectra were collected in medium resolution and MeOH was added to enhance ionization. Based on repeat measurements, as well as external and internal standards analytical uncertainty was estimated to be better than 5 %. All reagents used were analytical grade quality or better.

Photosynthetic parameters

All the photosynthetic parameters were measured as described in Biscéré et al. (Biscéré et al., 2018). Thus, photosynthetic efficiency (F_v/F_m) of the coral symbiont and the relative electron transport rate (rETR) of their Photosystem II (PSII) were firstly measured early in the morning with a DIVING-PAM fluorometer (Walz, Germany) ($n = 5$ for each tank). Then, immediately after, respiration (R) and gross photosynthesis rates (Pg) were assessed on three apex from each tank under their own living conditions (temperature, metal enrichment, light). Finally, samples were frozen at -20°C to further estimate their *Symbiodinium* density and chlorophyll concentrations. Respiration and gross photosynthesis rates, as well as *Symbiodinium* density and chlorophyll concentration were normalized per unit surface area (cm^2). This one was estimated by weighting apex before and after dipping in hot paraffin. The weight of paraffin gave the surface area thanks to a linear regression of known surfaces against paraffin weight (Stimson & Kinzie, 1991).

Growth parameters

As for photosynthetic parameters, methods to measure growth and calcification rates are fully described in Biscéré et al. (2018). Long-term calcification was assessed using the buoyant weight technique (Davies, 1989), when short-term calcification rates were estimated using the alkalinity anomaly technique (Chisholm & Gattuso, 1991). Five microcolonies in each tank were

weekly weighted all along the experiment to measure the long-term calcification, which was calculated as the daily change in dry weight and expressed in $\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$. However, only three microcolonies were used to estimate short-term calcification rates at each time because data being expressed as $\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{d}^{-1}$, samples needed to be dried immediately after to measure their surface area.

Statistical analysis

Principal Coordinate Analysis (PCoA) was performed on a multidimensional similarity matrix based on the Euclidian distance between all experimental conditions, using normalized parameters (F_v/F_m , ETR, growth rates, calcification rates, photosynthetic and respiration rates, *Symbiodinium* and chlorophyll concentrations). PCoA was optimized with vector overlays of raw Pearson correlations (limited to $r > 0.6$). All similarity analyses were performed using PRIMER 6 statistical software (Clarke & Warwick, 2001).

Three-way ANOVAs were used to test the effects of manganese and iron concentrations, thermal stress and their interactions on the 8 coral physiological parameters assessed. All the statistical results are given in the supplementary table 1. Data were first tested for normality and homoscedasticity using Shapiro Wilk's test and Bartlett's test respectively. For normality requirements, all data were transformed according to the Box-Cox transformation (Box & Cox, 1964), except for respiration rates, for which the square root transformation was applied. When the ANOVA determined significant differences between factors, a post-hoc pair-wise Least Significant Difference (LSD) test was performed to assign differences to specific factors. Individual differences revealed by the LSD test are represented by letters on the figures. All data are expressed as mean $\pm$ SD. All tests were performed using R software.

Acknowledgements

T. Biscéré was beneficiary of a PhD grant (CIFRE N° 2015/0301, France) supported by the Koniambo Nickel SAS and Ginger Soproner companies in New Caledonia. We wish to thank Magali Boussion and Cécile Rottier of the Centre Scientifique de Monaco (France) for her assistance during all the experiment.

Author contributions

Conceived and designed the experiments: T.B., F.H. and C.F.P. Performed the experiments: T.B. Analysed the data: T.B. A.G. and F.H.. Contributed reagents/materials/analysis tools: F.H., C.F.P. and T.P. Wrote the paper: T.B., F.H., C.F.P.

Additional informations

Supplementary information accompanies this paper at doi: 10.5281/zenodo.1297194

Dataset used for the statistical analysis is available at doi: 10.5281/zenodo.1288931

Competing interests - We declare we have no competing interests

4.2 Interaction métaux et acidification des océans

4.2.1 Effets de l'acidification des océans sur la spéciation des métaux

Le pH étant un facteur physico-chimique majeur qui gouverne de nombreux processus chimiques et biologiques, l'acidification des océans influencera fortement la spéciation des métaux, qu'elle soit organique ou inorganique, et donc leur biodisponibilité. En premier lieu, la plupart des métaux étant plus solubles dans une eau acide, leur charge sous forme libre devrait augmenter avec l'OA (Millero et al., 2009). De plus, la distribution dans l'eau de mer d'éléments inorganiques se complexant avec les ETMs est intimement liée au pH (cf. 2.2.1). Ainsi, la diminution des concentrations en ion hydroxyde (OH^-) et carbonate (CO_3^{2-}), responsables de la formation de complexes inorganiques avec certains métaux divalent (Cu^{2+}) ou trivalent (Fe^{3+}), engendrera une augmentation de la fraction libre pour les métaux concernés (Byrne, 2002 ; Millero, 2001a, b). En revanche, les concentrations des métaux étant déjà majoritairement présents sous formes libres (Fe^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+}) ou qui se complexent principalement avec les ions chlorides (comme le cuivre Cu(I)) dans les conditions actuelles ne devraient pas varier beaucoup. Le tableau suivant estime les concentrations possibles des formes inorganiques les plus communes pour les métaux étudiés en fonction de différents pH (Millero et al., 2009) (Tableau 17).

Toutefois, pour de nombreux métaux, la fraction inorganique ne représente qu'une très faible part des concentrations totales, et c'est la modification des relations avec la fraction particulière qui influencera majoritairement la concentration des ETMs. Malheureusement, l'effet du pH sur les complexes organiques est largement méconnu, notamment en raison de la forte hétérogénéité de la composition des ligands et de la méconnaissance de leurs structures (Millero et

al., 2009). Cependant, les groupements carboxyle (-COOH) et phénolique (-OH) présents sur la matière organique et probablement responsables de la chélation des métaux étant sensibles au pH, l'OA modifiera sûrement leur potentiel chélateur (Millero et al., 2009). De même, les sites d'adsorption des métaux sur la matière organique étant pour la plupart chargés négativement, une baisse du pH devrait diminuer leur capacité à les adsorber (Wilde et al., 2006). Une étude récente a tenté d'estimer l'évolution de la concentration des complexes organiques selon les différents scénarii prédits à l'IPCC (Stockdale et al., 2016). Elle prévoit une chute des concentrations des complexes organiques impliquant le manganèse, le cuivre ou encore le zinc, mais une augmentation de ceux impliquant le fer, le cobalt ou le nickel (Tableau 18).

Tableau 17. Évolution de la spéciation inorganique des métaux étudiés en fonction du pH, à 25°C et pour une salinité de 35. Proportion donnée en %.

pH	8.1	8	7.9	7.8	7.7	7.6	7.5	7.4
Cuivre								
Cu ²⁺	7.67	9.64	12.04	14.92	18.32	22.26	26.75	31.76
CuOH ⁺	4.70	4.70	4.66	4.59	4.47	4.30	4.12	3.88
CuCO ₃	66.98	68.51	69.25	69.14	68.14	66.25	63.50	59.96
Cu(CO ₃) ₂ ²⁻	18.34	15.26	12.49	10.05	7.95	6.18	4.70	3.55
Fer								
Fe ²⁺	65.99	70.42	74.57	78.36	81.76	84.75	87.33	89.53
FeCO ₃	32.00	27.78	23.81	20.16	16.89	14.00	11.51	9.39
FeOH	1.40	1.20	1.01	0.84	0.69	0.57	0.47	0.38
Nickel								
Ni ²⁺	68.29	72.48	76.37	79.91	83.10	85.79	88.15	90.12
NiCO ₃	30.29	26.15	22.30	18.80	15.69	12.97	10.63	8.64
Cobalt								
Co ²⁺	92.58	93.81	94.84	95.69	96.39	96.97	97.44	97.82
CoCO ₃	5.30	4.37	3.57	2.91	2.35	1.89	1.51	1.21
CoOH	1.45	1.16	0.93	0.75	0.60	0.48	0.38	0.30
Zinc								
Zn ²⁺	80.58	84.41	87.45	89.85	91.74	93.22	94.38	95.29
ZnOH ⁺	5.65	4.70	3.87	3.15	2.56	2.06	1.66	1.33
ZnCO ₃	7.16	6.10	5.10	4.20	3.47	2.82	2.28	1.83
Manganèse								
Mn ²⁺	97.34	97.70	98.08	98.36	98.60	98.77	98.93	99.05

Tableau 18. Estimation de l'évolution des complexes organiques pour les métaux étudiés selon les différents scénarii de l'IPCC.

Scénario	Aujourd'hui 8.1	RCP 2.6 ~8.05	RCP 4.5 ~7.95	RCP 6.0 ~7.85	RCP 8.5 ~7.75
Cuivre (nmol L ⁻¹)	642	640 (-0.2%)	636 (-0.9%)	633 (-1.4%)	628 (-2.1%)
Fer (nmol L ⁻¹)	205	206 (+0.2%)	206 (+0.5%)	207 (+0.7%)	207 (+0.9%)
Nickel (nmol L ⁻¹)	1.33	1.36 (+3%)	1.39 (+5%)	1.44 (+8%)	1.52 (+14%)
Cobalt (pmol L ⁻¹)	4.51	4.60 (+2%)	4.65 (+3%)	4.76 (+6%)	4.95 (+10%)
Zinc (nmol L ⁻¹)	0.91	0.89 (-1%)	0.86 (-4%)	0.84 (-7%)	0.81 (-10%)
Manganèse (nmol L ⁻¹)	8.67	8.64 (-0.3%)	8.53 (-1.6%)	8.44 (-2.7%)	8.28 (-4.5%)

Enfin, le pH peut également affecter indirectement les réactions d'oxydo-réductions de certains métaux. Par exemple, la réaction de réduction du Cu(II) en Cu(I) étant plus lente à fortes concentrations en ions carbonate, l'OA devrait la favoriser et donc augmenter la proportion de Cu(I), dont les effets sur l'écosystème sont inconnus (Millero et al., 2009 ; Millero, 1991, 2001b). De même, l'influence du pH sur la production d'O₂⁻, de HO₂ et de H₂O₂ peut modifier le cycle redox des métaux comme le fer ou le cuivre. Par exemple, à pH 7.4, la demi-vie d'O₂⁻ chuterait de 20%, ce qui limiterait son pouvoir réducteur sur le cuivre et le fer (Rose & Waite, 2005 ; Voelker et al., 2000), tandis qu'au contraire, la surproduction de HO₂ attendue avec l'OA (Rose et al., 2008) formant *in fine* du H₂O₂, favoriserait l'oxydation du fer (Bielski, 1978 ; Millero et al., 2009). Par ailleurs, le temps de demi-vie des métaux étant fonction du pH, il pourra également changer. Celui du Fe(II) par exemple passerait de 1 mn à pH 8.1 à 24 mn à pH 7.4, le rendant ainsi beaucoup plus biodisponible (Figure 51) (Breitbarth et al., 2010 ; Millero et al., 2009).

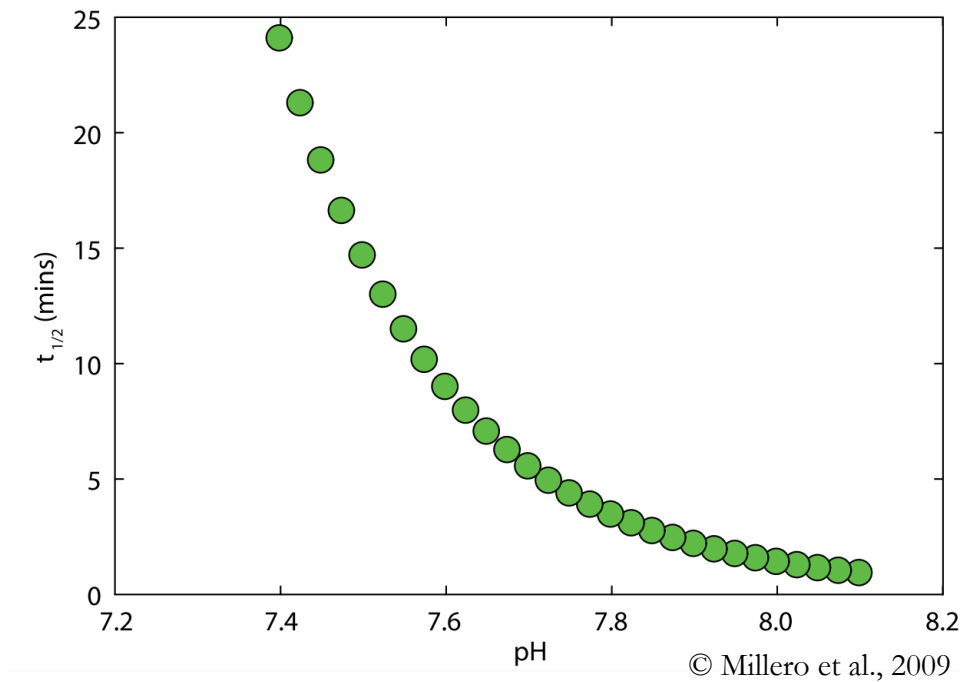


Figure 51. Augmentation du temps de demi-vie du Fe(II) en fonction du pH à 25°C.

Bien que la spéciation des ETMs soit vouée à changer avec les changements climatiques, la complexité des réactions et le nombre de paramètres impliqués rendent extrêmement difficiles les prévisions. De plus, les différences dans les cycles biogéochimiques et les caractéristiques physico-chimiques font de chaque métal un cas particulier.

4.2.2 Effets de l'acidification des océans et des métaux sur les coraux

En dépit des nombreuses interactions existantes entre l'OA et les métaux, seulement deux études ont été réalisées à ce sujet chez les coraux. Sur ces deux études, une seule s'attache aux conséquences de cette interaction sur les paramètres physiologiques des coraux (Bielmyer et al., 2018). La seconde s'est uniquement penchée sur les effets de l'OA sur les taux d'incorporation du zinc (Houlbrèque et al., 2012).

Les résultats obtenus sur les taux d'incorporation des ETMs mettent en évidence une diminution graduelle du facteur de concentration du zinc en fonction du pH et une modification de sa cinétique d'incorporation chez *S. pistillata* (Houlbrèque et al., 2012). En effet, alors que le CF atteint 658.8 à pH 8.1, il n'est que de 522.7 à pH 7.8 et chute à 260.8 à pH 7.5. Si cette diminution pourrait être le résultat d'une moindre nécessité du zinc pour le corail à pH plus faible notamment pour l'activité de l'AC (Lane & Morel, 2000), elle pourrait également découler du blocage de sa voie

de transport principale dans les tissus coralliens à cause de l'augmentation de la concentration en ions H^+ (Santore et al., 2002). Aussi, dans l'hypothèse où les coraux utiliseraient préférentiellement les formes $ZnOH^+$ ou $ZnCO_3$ à la place de la forme libre Zn^{2+} , l'OA pourrait limiter leur biodisponibilité pour les coraux en diminuant significativement leur concentration (**Tableau 17**) (Houlbrèque et al., 2012). Quant au cuivre, une diminution du pH ne semble pas affecter son taux d'incorporation chez *P. damicornis* et *A. cervicornis* (Bielmyer et al., 2018). Toutefois, les auteurs suggèrent que l'absence d'effet pourrait être due à la très courte durée d'exposition (96h) des coraux à ces conditions (enrichissement en Cu et faible pH). Cette même étude ne révèle presque aucun effet interactif du cuivre et du pH, si ce n'est sur l'activité de la glutathion réductase et de l'anhydrase carbonique chez *A. cervicornis* qui ont été fortement stimulées après 96h d'exposition à $20 \mu g\ Cu\ L^{-1}$ et une pCO_2 de 1000 ppm (pH 7.75). Aucune hypothèse n'a été formulée pour expliciter cette stimulation.

Ainsi, bien que les effets l'OA sur la spéciation des métaux soient davantage documentés que ceux du réchauffement des eaux, d'importantes lacunes existent quant aux potentiels effets de son interaction avec les métaux sur la physiologie corallienne. C'est dans l'objectif de réduire ces lacunes que les premiers travaux, décrits ci-dessous, ont été conduits.

4.2.3 Effets de l'acidification des océans et d'un enrichissement en cobalt sur les coraux (RESULTATS PERSONNELS)

Synthèse des principaux résultats obtenus

Cette étude croise à la fois des incubations *in situ* sur *A. muricata* et des expériences en aquarium, couplant un enrichissement en cobalt ($0.2 \mu g\ L^{-1}$) avec une augmentation de la pCO_2 , sur *A. muricata* et *S. pistillata*.

Si aucun effet d'interaction entre l'acidification de l'eau et l'enrichissement en cobalt n'a été observé, les résultats obtenus ont notamment permis de révéler pour la première fois une diminution de 28% des taux de croissance des deux espèces lors d'un faible apport en Co ($0.2 \mu g\ L^{-1}$). Par contre, cette même concentration a stimulé l'efficacité photosynthétique de *S. pistillata* et l'ETR des deux espèces. L'augmentation de la photosynthèse pourrait être liée, d'une part, au rôle du cobalt comme cofacteur de l'AC qui apporterait alors davantage de carbone inorganique à la photosynthèse (Panzeca et al., 2009), et d'autre part, à la stimulation de la production de la vitamine B_{12} , dans laquelle le cobalt tient une place centrale (cf. 3.2.2.1) (Agostini et al., 2009). Quant à la diminution de la calcification, elle pourrait résulter indirectement de la stimulation de la

photosynthèse qui induirait une compétition pour le DIC entre l'hôte et le symbiote. Par ailleurs, un excès de cobalt pourrait inhiber la calcification en limitant le taux d'incorporation de calcium (Blankenship & Wilbur, 1975), ce qui suggérerait alors que la concentration testée serait toxique pour l'hôte, mais pas pour le symbiote. Cependant, une concentration plus élevée, à l'instar de celle testée *in situ* ($1.06 \mu\text{g L}^{-1}$), mais toujours écologiquement pertinente, diminue drastiquement les taux de calcification de 70% chez *A. muricata* et affecte également sa photosynthèse en la réduisant de 34%, ce qui suggèrent que le seuil de toxicité est, ici, dépassé à la fois pour l'hôte et pour le symbiote.

Publication n°1

Responses of two scleractinian corals to cobalt pollution and ocean acidification

Plos One | Publiée en ligne en avril 2015

Tom Biscéré¹, Riccardo Rodolfo-Metalpa¹, Anne Lorrain², Laurent Chauvaud³, Julien Thébault³, Jacques Clavier³, Fanny Houlbrèque^{1*}

¹ Laboratoire d'Excellence « CORAIL », Institut de Recherche pour le Développement, ENTROPIE (UMR9220), BP A5, 98848 Nouméa cedex, New Caledonia.

² IRD/ R 195 LEMAR, IRD Nouméa, BP A5, 98848 Nouméa cedex, New Caledonia

³ Université de Brest, Institut Universitaire Européen de la Mer, Laboratoire des sciences de l'environnement marin (UMR6539 CNRS/IRD/UBO), rue Dumont d'Urville, 29280 Plouzané, France.

Biscéré, T., Rodolfo-Metalpa, R., Lorrain, A., Chauvaud, L., Thébault, J., Clavier, J., Houlbrèque, F., 2015. *Responses of two scleractinian corals to cobalt pollution and ocean acidification*. PLoS ONE 10, 1–18. doi:10.1371/journal.pone.0122898

Abstract

The effects of ocean acidification alone or in combination with warming on coral metabolism have been extensively investigated, whereas none of these studies consider that most coral reefs near shore are already impacted by other natural anthropogenic inputs such as metal pollution. It is likely that projected ocean acidification levels will aggravate coral reef health. We first investigated how ocean acidification interacts with one near shore locally abundant metal on the physiology of two major reef-building corals: *Stylophora pistillata* and *Acropora muricata*. Two pH

levels (pH_T 8.02; pCO_2 366 μatm and pH_T 7.75; pCO_2 1140 μatm) and two cobalt concentrations (natural, 0.03 $\mu g L^{-1}$ and polluted, 0.2 $\mu g L^{-1}$) were tested during five weeks in aquaria. We found that, for both species, cobalt input decreased significantly their growth rates by 28% while it stimulated their photosystem II, with higher values of $rETR_{max}$ (relative Electron Transport Rate). Elevated pCO_2 levels acted differently on the coral $rETR_{max}$ values and did not affect their growth rates. No consistent interaction was found between pCO_2 levels and cobalt concentrations. We also measured *in situ* the effect of higher cobalt concentrations ($1.06 \pm 0.16 \mu g L^{-1}$) on *A. muricata* using benthic chamber experiments. At this elevated concentration, cobalt decreased simultaneously coral growth and photosynthetic rates, indicating that the toxic threshold for this pollutant has been reached for both host cells and zooxanthellae. Our results from both aquaria and *in situ* experiments, suggest that these coral species are not particularly sensitive to high pCO_2 conditions but they are to ecologically relevant cobalt concentrations. Our study reveals that some reefs may be yet subjected to deleterious pollution levels, and even if no interaction between pCO_2 levels and cobalt concentration has been found, it is likely that coral metabolism will be weakened if they are subjected to additional threats such as temperature increase, other heavy metals, and eutrophication.

Introduction

Recent studies have highlighted how coral reefs are extremely delicate systems and how they may easily be altered by human activities (*e.g.* Hughes et al., 2003). Among the main sources of pollution threatening them, metals are conservative in nature, persisting in the environment for long periods (Reichelt-Brushett, 2012). Major inputs of heavy metals to the marine environment include urban storm water run-off, industrial effluents, mining operations, and atmospheric contaminants in both particulate and dissolved forms (Reichelt & Jones, 1994). Furthermore, motor vehicle emissions, disposal of sewage sludge, dredged spoil, ash and antifouling paints for marine vessels and structures also yield appreciable concentrations of heavy metals to the ocean (Kennish, 1997 ; Reichelt-Brushett, 2012 ; Tanaka et al., 2013). Metal pollution affects many reefs worldwide (*e.g.* Costa Rica, Panama, Red Sea, Thailand, Tuvalu, Puerto Rico) (Ali et al., 2011 ; Fujita et al., 2014 ; Guzmán & Jiménez, 1992 ; Tanaka et al., 2013 ; Whitall et al., 2014). Among them, coral reefs of New Caledonia (Pacific Ocean) are particularly concerned by this issue. New Caledonia is among the five major nickel producers in the world and extended portions of its fringing reefs are impacted by extensive nickel mining activities (Wantiez, 2008), which contribute primarily to metal discharges (Fichez et al., 2005 ; Hédouin et al., 2006 ; Metian et al., 2008). Among these metals, cobalt is associated with nickel in the laterites of the mining sites and the most recent

mines in New Caledonia, and throughout the world, launch the mining of cobalt, as a by-product of the treatment of nickel. Experimental studies on metal potential effects on corals mainly investigated their reproduction and early life stages. They can be summarized in the following: inhibition of coral fertilization and reduced reproductive success (Reichelt-Brushett & Harrison, 1999, 2005 ; Reichelt-Brushett & Michalek-Wagner, 2005), decreased settlement and survival of coral larvae (Reichelt-Brushett & Harrison, 2000); changes in the rates of photosynthesis resulted in a decrease in coral calcification and growth rates during the juvenile polyp stage (Ferrier-Pagès et al., 2001 ; Harland & Brown, 1989); loss of zooxanthellae in coral tissue (also called “coral bleaching”) (Harland & Brown, 1989 ; Sabdono, 2009); enhanced coral mortality (Mitchellmore et al., 2007 ; Sabdono, 2009). All these experimental studies, using very high metal levels, highlighted the harmful role played by metals when in excess. However, it has never pointed out potential beneficial effects due to metals like cobalt (Co), copper (Cu), zinc (Zn), manganese (Mn) and iron (Fe) at moderate and representative levels. These metals are indeed essential for the health and growth of corals since they are cofactors of many enzymes (Brown & Depledge, 1998 ; Morel et al., 1994). Amongst metals, cobalt might play an important role. For example, the vitamin B₁₂, also called cobalamine (due to its cobalt nucleus), is involved in the metabolism of all animals and many phytoplanktonic species (Croft et al., 2005), and stimulates *in hospite* zooxanthellae growth (Agostini et al., 2009). Carbonic anhydrases are ubiquitous enzymes known to act as catalysts for the interconversion between CO₂ and HCO₃⁻, and it can play an important role when calcification is carbon limited such as under ocean acidification scenarios. However, so far no study has been performed on the direct effect of a cobalt input on coral metabolism.

In addition to waterborne pollutants, the ultimate danger that corals have to face is climate change (*e.g.* Hoegh-Guldberg et al., 2008). Atmospheric CO₂ levels have nearly doubled since pre-industrial times. As CO₂ diffuses in seawater, it behaves like a weak acid leading to a drop in pH on a global scale (Orr et al., 2005). About a third of anthropogenic CO₂ emissions has been absorbed by the oceans, driving the process of ocean acidification during which absorbed CO₂ transforms into carbonic acid, increasing the concentrations of H⁺, bicarbonate (HCO₃⁻), and dissolved carbon dioxide (CO₂), while lowering carbonate (CO₃²⁻) concentrations and seawater pH (Caldeira & Wickett, 2003 ; Orr et al., 2005). The current consensus estimate is that by the end of this century the rate of calcification in scleractinian corals will decrease by 17-37% as a result of reduced seawater [CO₃²⁻] due to a doubling of preindustrial levels of atmospheric *p*CO₂ (Gattuso et al., 1999 ; Kleypas, 1999) but coral response to acidification is in fact not unequivocal and still puzzling. It has been shown that some tropical species are able to calcify under high *p*CO₂ levels (Atkinson et al., 1995 ; Comeau et al., 2013 ; Houlbrèque et al., 2012 ; Krief et al., 2010). Comeau

et al. (2013), testing eight tropical species demonstrated that response of tropical coral reef communities to ocean acidification was heterogeneous.

To date, no work has studied the combined effect of ocean acidification and metal impacts on corals. Houlbrèque *et al.* (2012) pointed out that zinc uptake rates in *Stylophora pistillata* were higher under normal pH conditions (pH_T 8.1) compared to lower ones (pH_T 7.5), suggesting that ocean acidification might also change the incorporation of metals. Depending on whether metals are essential or not, changes in their uptake rates might have radical consequences on coral metabolism.

Here we tested in laboratory conditions the combined effect of ocean acidification and cobalt concentrations on two coral species separately. We also investigated *in situ* the effects of higher cobalt concentrations on coral metabolism through benthic chamber experiments.

Materials and Methods

1 - Aquaria experiment

Coral collection and experimental setup

Stylophora pistillata and *Acropora muricata* were collected in the lagoon of New Caledonia, on the reef of Îlot Maître (22°19.702' S; 166°24.626' E). A license has issued by the “Province Sud” to allow this collection. One hundred twenty terminal portions of branches (2-cm long) for each coral species were cut from 10 parent colonies. After collection, *S. pistillata* microcolonies have been hung on nylon wires and suspended on the aquaria, while *A. muricata* microcolonies have been glued (Holdfast epoxy) to 2 x 2 cm plastic plates and set up at the bottom of the aquaria. All microcolonies were positioned with the apex in front of the artificial light source. They recovered for one month in the laboratory of the Aquarium des Lagons (Nouméa) under controlled conditions as described below. Microcolonies were randomly assigned to one of the 8 experimental tanks of 20 L volume ($n = 15$ per species per tank) supplied with 100 μm -filtered seawater pumped from 5 meter depth in front of the Aquarium. In each tank, seawater was renewed at a rate of 16.5 L h⁻¹ and mixed using a submersible pump (Aquarium system, micro-jet MC 320, Mentor, OH, USA). Temperature ($26 \pm 0.1^\circ\text{C}$) and salinity (35.70 ± 0.02) were kept constant using heaters connected to electronic controllers ($\pm 0.2^\circ\text{C}$ accuracy) and routinely verified using an YSI MPS 556 probe (YSI, USA). Corals received a constant irradiance of $120 \pm 10 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (photoperiod was 12h:12h light:dark) using four neon Aquablue plus (Blue-white, 15000 Kelvin,

Giesemann, Germany). They were fed twice a week during the recovery period and once a week during the experiment with nauplii of *Artemia salina* (ca. 120 ± 50 nauplii L⁻¹).

After the recovery, four tanks were set-up at ambient pH (pH_T 8.02 ± 0.03 ; $p\text{CO}_2$ 366 μatm) and four others at pH level projected for the end of the century (pH_T 7.75 ± 0.06 ; $p\text{CO}_2$ 1140 μatm) (IPCC 2014). pH was controlled using a pH-stat system (IKS, Karlsbad, accuracy ± 0.05 pH unit) by bubbling independently pure CO₂ in each tank that were continuously aerated with CO₂-free air. For each $p\text{CO}_2$ condition, two tanks received a natural cobalt concentration of the seawater pumped in front of the Aquarium (Natural: 0.035 ± 0.007 $\mu\text{g L}^{-1}$), and two others were enriched in cobalt (Polluted: 0.222 ± 0.006 $\mu\text{g L}^{-1}$). For that, a peristaltic pump (ISMATEC), together with seawater flow-through, continuously supplied the experimental tanks with solution of stable cobalt (CoNO₃, CPAchem, Bulgaria) at a rate 50 ml h⁻¹. Throughout the experiment, cobalt concentrations have been analyzed once a week by the AEL laboratory (*Analytical Environmental Laboratory*) of Nouméa, according to the protocol described in Moreton et al. (2009).

Colonies were maintained under these experimental conditions for five weeks, after which their photosynthetic efficiency and growth rates were measured.

Seawater carbonate chemistry

Seawater pH values were continuously monitored by a pH-stat system, which electrodes were calibrated using NBS solutions (Seawater National Bureau of *Standards*) and adjusted every day to the desired pH_T (Total Scale) using a pH meter with a glass electrode (Eutech Instruments EcoScan) calibrated with Tris/HCl referenced solutions (Dickson et al., 2007); standards provided by A.G. Dickson, batch 13). Mean pH_T were calculated from hydrogen ion concentrations of each measurement and then re-converted back to pH (Dickson et al., 2007). Total alkalinity was measured twice a week on water samples collected in glass bottles, filtered at 0.45 μm (GF/F Whatman) and stored in the dark at 4°C to avoid biological alteration. The pH was measured at 0.1 ml increments of 0.01 N HCl at 25°C using a Metrohm titration system (848 Titrino Plus). Three replicated 20 mL sub-samples were analyzed. Total alkalinity (A_T) was calculated from the Gran function applied to pH variations from 4.2 to 3.0 as mEq L⁻¹ from the slope of the curve HCl volume versus pH. Titrations of A_T standards provided by A.G. Dickson (batch 121) were within 0.85 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ of the nominal value. Mean A_T of seawater was 2.341 ± 0.047 mmol kg⁻¹ ($n = 40$). CO₂ and saturation states of aragonite (Ω_{ara}) were calculated from pH_T, mean A_T, temperature, and salinity using the free access CO₂ Systat package.

Photosynthetic efficiency measurements

Photosynthetic efficiency (F_v/F_m) and the relative electron transport rate (rETR) of the Photosystem II (PSII) of zooxanthellae *in hospite* were measured using a DIVING-PAM fluorometer (Walz, Germany) ($n = 10$ for each species and each tank). During measurements light sources were switched off. Ambient light level at the aquarium room was $< 10 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ and did not substantially affect the coral F_v/F_m . After 15 min of dark adaptation (after Hoegh-Guldberg & Jones, 1999), the first measurements were performed. The initial fluorescence (F_0) was measured by applying a weak pulsed red light (3 μs , LED 650 nm) on dark-adapted colonies. A saturating pulse (800 ms) of bright actinic light ($8,000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) was then applied to give the maximum fluorescence value (F_m). Variable fluorescence (F_v) was calculated as $F_m - F_0$. At the end of all F_v/F_m measurements, light was switched on and the corals were allowed to recover under light conditions for 1 h after which rapid light curves (RLC) were generated by illuminating corals for 10-s periods, eight times from 0 to ca. $3000 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, and the coral maximum relative electron transport rate (rETR_{max}) was assessed and compared between the different treatments.

During measurements, the 8-mm optical fibre was maintained perpendicular to the coral's surface using a black-jacket at a fixed distance of 5-mm (Rodolfo-Metalpa et al., 2008). This system created a quasi-darkness status allowing the rapid re-oxidation of primary electron acceptor (Ralph & Gademann, 2005). The same setting was also used during F_v/F_m measurements to guarantee correct distance of the optical fiber to the coral.

It is worth noting that to calculate ETR using RLCs, some assumptions were made. First, because we did not measure the different tissue absorptances between species, we used the relative ETR (*sensu* Ralph & Gademann, 2005) which does not account for the fraction of incident light absorbed (Enríquez et al., 2005). rETR was therefore uniquely used to compare data from different treatments and not between species. Another source of significant errors when measuring rETR is a likely different symbiont density between samples which can lead to a significant change in reflected light and thus in absorptance. As we measured ETR only one time at the end of the experiment and as the zooxanthellae density did not change between treatments (see Tableau 19), we are confident that our measurements of rETR reflect coral response to treatment uniquely. It should be noted that pre-configured protocols designed for measuring ETR by PAM fluorometry permit rapid assessment of the light adapted state of corals without allowing sufficient time for steady state conditions to be established, which is required to correctly evaluate the photosynthetic response to light (*i.e.* ETR vs Irradiance curve (Enríquez & Borowitzka, 2010)). However, our

approach was to contrast ETRs between different treatments and therefore contrast relative differences in the responses observed. In no way we measured absolute electron transport rates to contrast relative patterns in light utilization of the two studied species.

Growth rates

Microcolonies were weighted ($n = 7$ for each species and each tank) using the buoyant weight technique (Davies, 1989). Samples were weighed using a Mettler AT200 electronic balance (readability 0.1 mg) in seawater of known density as measured by an YSI MPS 556 probe (YSI, USA). For *A. muricata*, for which samples were attached to plastic plates, they were weighed before and after attachment to tagged plastic plates, and the difference (plate and glue weight) was subtracted from the total weight. The net buoyant weight of the corals (total coral weight *minus* the weight of each plate) was converted into dry weight using the density of the pure aragonite (2.94 g cm^{-3}). Their net calcification rates were calculated as the daily change in dry weight between the initial and the final weight and expressed in $\text{mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Zooxanthellae and chlorophyll content

At the end of the incubation microcolonies ($n = 3$ per each species and tank) were collected and frozen (-20°C) for zooxanthellae and total chlorophyll (chl) measurements. Tissue was removed from coral colonies using an air pick (Rodolfo-Metalpa et al., 2009) and the slurry was homogenised with a Potter tissue grinder. For each sample, the number of zooxanthellae was counted five times by light microscopy using a Neubauer's cell. Chlorophylls were extracted twice in 100% acetone (24 h at 4°C). The extracts were centrifuged at 10,000 g for 15 min and the absorbances were read at 630, 663, 750 nm. Chlorophyll concentrations were computed according to the spectrometric equations of Jeffrey & Humphrey (1975). All measurements were normalized to the nubbin surface area, which was measured using the aluminum foil technique (Marsh, 1970).

2 - *In situ* experiment

In situ experiments were conducted during two consecutive sunny days at the end of August 2012 during the winter Austral season. The study site was located at Tabou Reef ($22^{\circ}28.845' \text{ S}$; $166^{\circ}26.806' \text{ E}$) in the southwest New Caledonia lagoon at a depth of 5 m. Three colonies of ca. 15 cm long of *A. muricata* were sampled by scuba diving near to the study site. Their bare skeleton (due to the collect) was covered by a layer of Holdfast epoxy to avoid the development of algae on this part. Specimens were then transferred to benthic chambers left opened until the beginning of the experiment. Four transparent PVC benthic chambers of 0.19 m diameter and 6.4 L volume

were used simultaneously, three chambers containing *A. muricata* colonies and a control one without coral colony to account for seawater microbial activity. Each chamber was hermetically connected to an YSI 6920 multiparameter probe. Seawater was recirculated between the chamber and the probe at a water flow of 2 L min^{-1} using an adjustable submersible pump alimented by waterproof batteries (Point et al., 2007) (Figure 52). Photosynthetically active radiation (PAR, 400-700 nm) irradiance ($I, \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) was measured adjacent to experimental chambers using quantum sensors (LI-192 SA coupled to a Li-1400 LI-COR). Oxygen, temperature, salinity and depth were recorded every minute inside each chamber with the YSI 6920 multiparameter probe.

During two consecutive days, for each species, six successive incubations of one hour were performed from 11:00 am to 9:00 pm, to encompass the full range of daily irradiance levels, including dark. The first series of incubations has been realized at seawater natural cobalt concentration (less than quantification limit measured by Point et al. (2007)). The second series of incubations have been performed on the same coral colonies but 10 ml of a $17 \mu\text{mol l}^{-1}$ cobalt solution have been injected in each chamber at the beginning of each incubation (CoNO_3 , CPAchem, Bulgaria). Final cobalt concentration into the chambers was equal to $1.06 \pm 0.16 \mu\text{g l}^{-1}$ (*i.e.* Polluted). Between incubations, enclosures were left open for at least 30 mn to restore ambient conditions.

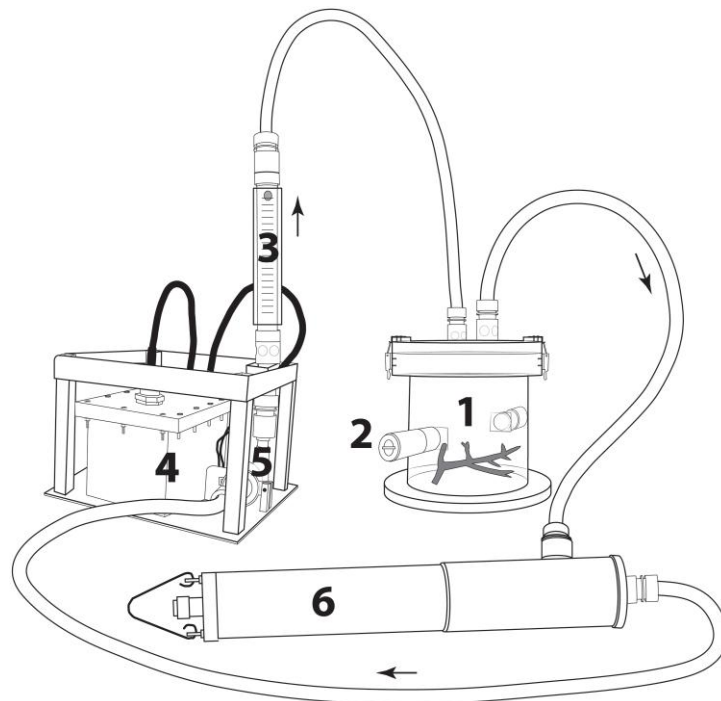


Figure 52. Schematic representation of the experimental system. 1- Benthic chamber with a coral colony, 2- Seawater sampling port, 3- Flow meter, 4- Battery in a waterproof housing, 5-

Adjustable submersible pump, 6- Multiparameter probe. The arrows indicate the direction of the water flux.

Photosynthetic, respiration and calcification rates

Photosynthetic and respiration rates, as well as calcification rates associated to *A. muricata* metabolism were measured during the *in situ* incubations at different light levels and in the dark. At the beginning and at the end of each of the six incubations, seawater samples were collected with 450 ml syringes in each chamber for pH and total alkalinity (A_T) measurements. pH was measured immediately on board using a pH-meter (Radiometer pH240) calibrated with TRIS/HCl (2-amino-2-hydroxymethyl-1, 3-propanediol) and 2-aminopyridine/HCl buffer solutions in synthetic seawater of salinity 35. Samples were then filtered through 0.7 μm Whatman glass-fiber filters (GF/F) and stored in 250 ml bottles in the dark. Total alkalinity ($\mu\text{mol kg}^{-1}$) was further determined on 20 ml subsamples (6 replicates) by Gran automatic potentiometric titration (Radiometer, Titrilab TIM 865) using 0.01 M HCl (see above “Seawater carbonate chemistry” for further details). Total alkalinity values were corrected for ammonium concentrations which were analyzed on board with the fluorometric method (Holmes et al., 1999) (Turner Trilogy fluorometer). These concentrations were negligible and did not modify A_T values. The mean standard deviation of replicate measurements was less than 0.003 mmol L^{-1} .

Calcification rates at each light level and in the dark were estimated using the alkalinity anomaly technique (Chisholm & Gattuso, 1991) as the difference between the final and the initial A_T values of each incubation. Calcification rates (C_{net} , $\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ h}^{-1}$) were estimated for each incubation using the following equation:

$$C_{net} = \frac{\Delta A_T \times v}{\Delta t \times 2}$$

where ΔA_T is the variation of total alkalinity during incubation ($\mu\text{mol L}^{-1}$), v is the volume of the benthic chamber (L) and Δt is the incubation time (h).

Oxygen production and consumption rates were measured by the oxygen sensor of the YSI probe which was calibrated before each experiment against air saturated with moisture. Rates of photosynthesis and respiration were estimated by regressing oxygen data against time. Net photosynthetic rates were calculated according to the following equation:

$$P_{net} = (\Delta O_2 \times v)$$

where P_{net} is the rate of net photosynthesis ($\mu\text{mol O}_2 \text{ h}^{-1}$); v is the volume of the chamber (L); $\Delta[\text{O}_2]$ is the dissolved oxygen variation ($\mu\text{mol O}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$) during the 1 h incubation.

At the end of all the incubations coral colonies were frozen (-20°C) for further analyses. Photosynthesis, respiration and calcification rates were normalized by unit surface skeleton (cm^2), which was measured using measured using the aluminum foil technique (Marsh, 1970).

For each colony, a Michaelis-Menten model (Lederman & Tett, 1981 ; Vermaat, 2009) was iteratively fitted using non-linear regression (Gauss-Newton algorithm) to P_{net} versus *in situ* PAR irradiance (I , $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), according to the following equation:

$$P_{net} = \frac{P_{max} \times I}{K_m + I} - R$$

where P_{max} is the gross maximal production rate ($\mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$), K_m is the half saturation constant ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), and R is the respiration in the dark ($\mu\text{mol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$).

From the equation above, P_{max} and K_m have been calculated:

$$P_{max} = \frac{(P_{net} + R) \times (K_m + I)}{I} - R$$

$$K_m = \frac{(P_{max} \times I)}{C_{net} + R} - I$$

The same procedure was also used to fit calcification rates (C_{net}) versus Irradiance values. Equations 6 and 7 were therefore used to calculate maximum fitted calcification values (C_{max}) as follow:

$$C_{net} = \frac{C_{max} \times I}{K_m + I} - C_{dark}$$

$$C_{max} = \frac{(C_{net} + C_{dark}) \times (K_m + I)}{I} - C_{dark}$$

where C_{max} is the gross maximal calcification rate ($\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$), K_m is the half saturation constant ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), and C_{dark} is the calcification rate measured in the dark (*i.e.* dissolution, $\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$).

Statistical analysis

For the aquaria experiment, three-way ANOVA factorial analyses were used to test the effects of pH (normal and low), cobalt (normal and polluted) and tanks (two replicates), independently for each of the two species. All data were tested for the assumptions of normality and homoscedasticity using Shapiro Wilk's test and Cochran's c-test respectively. After verification of the absence of significant differences between tanks (ANOVA, $p > 0.05$), data were pooled before proceeding to test for main effect using two-way ANOVAs. Two-way ANOVAs were used to test the effects of pH_T and cobalt concentrations on zooxanthellae density, chl concentration, net calcification rate, photosynthetic efficiency (F_v/F_m) and maximum electron transport rate ($rETR_{max}$). All the tests were performed using PRISM software (Statsoft). When the ANOVA determined a significant difference, a Tukey's honest significant difference test (HSD) was used to attribute differences between specific factors. All data are expressed as the mean $\pm$ SD. For each *in situ* experiment P_{max} , K_m and R , as well as C_{max} and C_{dark} were compared between cobalt concentrations (*i.e.* natural vs. polluted) using F-test according to (Ritz & Streibig, 2008).

Results**1- Aquaria experiment**

Zooxanthellae density did not differ between experimental treatments (2-way ANOVA, $p > 0.05$; Tableau 19) for both *S. pistillata* (pooled data, $1.06 \times 10^6 \pm 2.26 \times 10^5$ cells cm^{-2}) and *A. muricata* (pooled data, $1.21 \times 10^6 \pm 1.84 \times 10^5$ cells cm^{-2}). Chl *a* concentrations slightly but significantly varied between pCO_2 (6.04 ± 1.9 and 7.10 ± 1.1 μg chl cm^{-2} at pH_T 8.1 and 7.8 respectively) and its interaction with cobalt (6.04 ± 1.9 and 7.10 ± 1.1 μg chl cm^{-2} at Natural and Polluted concentrations respectively) for *S. pistillata* (interaction $pCO_2 \times Metal$ $F_{1,20} = 12.38$, $p = 0.002$; Tableau 19), but not for *A. muricata* (pooled data: 6.389 ± 1.242 μg chl cm^{-2} ; Tableau 19).

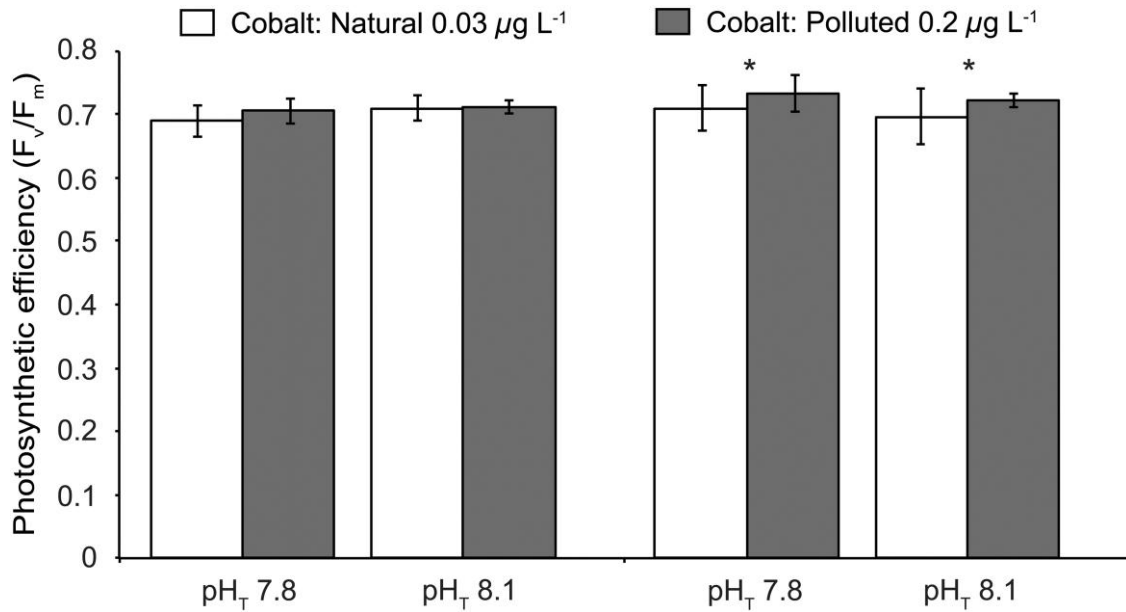


Figure 53. Effective photosynthetic efficiency (F_v/F_m) measured on dark adapted *Stylophora pistillata* and *Acropora muricata* colonies exposed during five weeks to two pH_T conditions (pH_T 7.8 or 8.1) and two cobalt concentrations (Natural and Polluted). Stars indicate statistically significant differences (Tukey's test, $p < 0.05$). Each point represents the mean $\pm$ SD ($n = 10$).

Concerning their photosynthetic properties, both coral species did not show uniform responses to experimental treatments (Figure 53, Figure 54). For *S. pistillata*, F_v/F_m and $rETR_{max}$ significantly differed between treatments (2-way ANOVA, $p < 0.05$, $p < 0.01$ respectively; Tableau 19). F_v/F_m was not affected by pCO_2 treatment (2-way ANOVA, $p > 0.05$; Tableau 19) but was enhanced by cobalt with higher values at the polluted metal concentration (Tukey test, $p < 0.05$), while $rETR_{max}$ values showed an interaction between pCO_2 and cobalt (2-way ANOVA, $F_{1,36} = 5.30$, $p = 0.027$; Tableau 19). On the opposite, *A. muricata* F_v/F_m were not affected by both cobalt concentration and pCO_2 treatments (2-way ANOVA, $p > 0.05$; Tableau 19), while $rETR_{max}$ values for this species significantly varied between treatments (2-way ANOVA, $p > 0.05$; Tableau 19). They increased at polluted cobalt concentrations but decreased at elevated pCO_2 level (Tukey test, $p < 0.01$ and $p < 0.05$ respectively) (Figure 54).

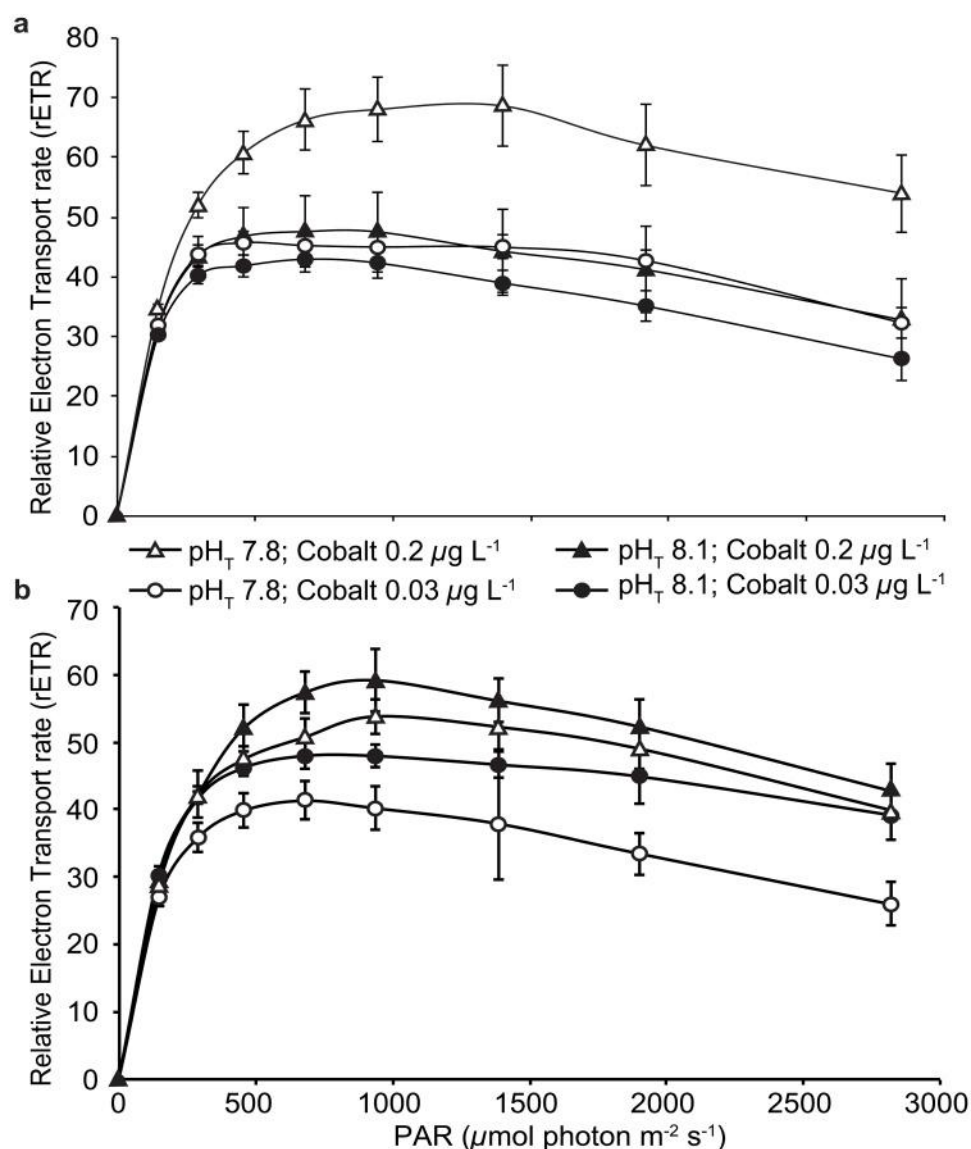


Figure 54. Relative electron transport rate (rETR) versus irradiance (PAR) for colonies of *Stylophora pistillata* (a) and *Acropora muricata* (b) (mean $\pm$ SD, n = 10) exposed during five weeks to two pH_T conditions (pH_T 7.8 or 8.1) and two cobalt concentrations (Natural and Polluted).

Coral growth rates for both species were not significantly affected by $p\text{CO}_2$ treatments but significantly by cobalt (2-way ANOVA, $p > 0.05$; Tableau 19 and Figure 55). Polluted cobalt concentrations significantly decreased their growth rates (Tukey test, $p < 0.01$) with values of $4.68 \pm 1.44 \text{ mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ and $6.88 \pm 1.62 \text{ mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ for *S. pistillata* and 3.57 ± 1.31 and $4.66 \pm 1.48 \text{ mg g}^{-1} \text{ d}^{-1}$ for *A. muricata* at polluted and natural cobalt concentration respectively.

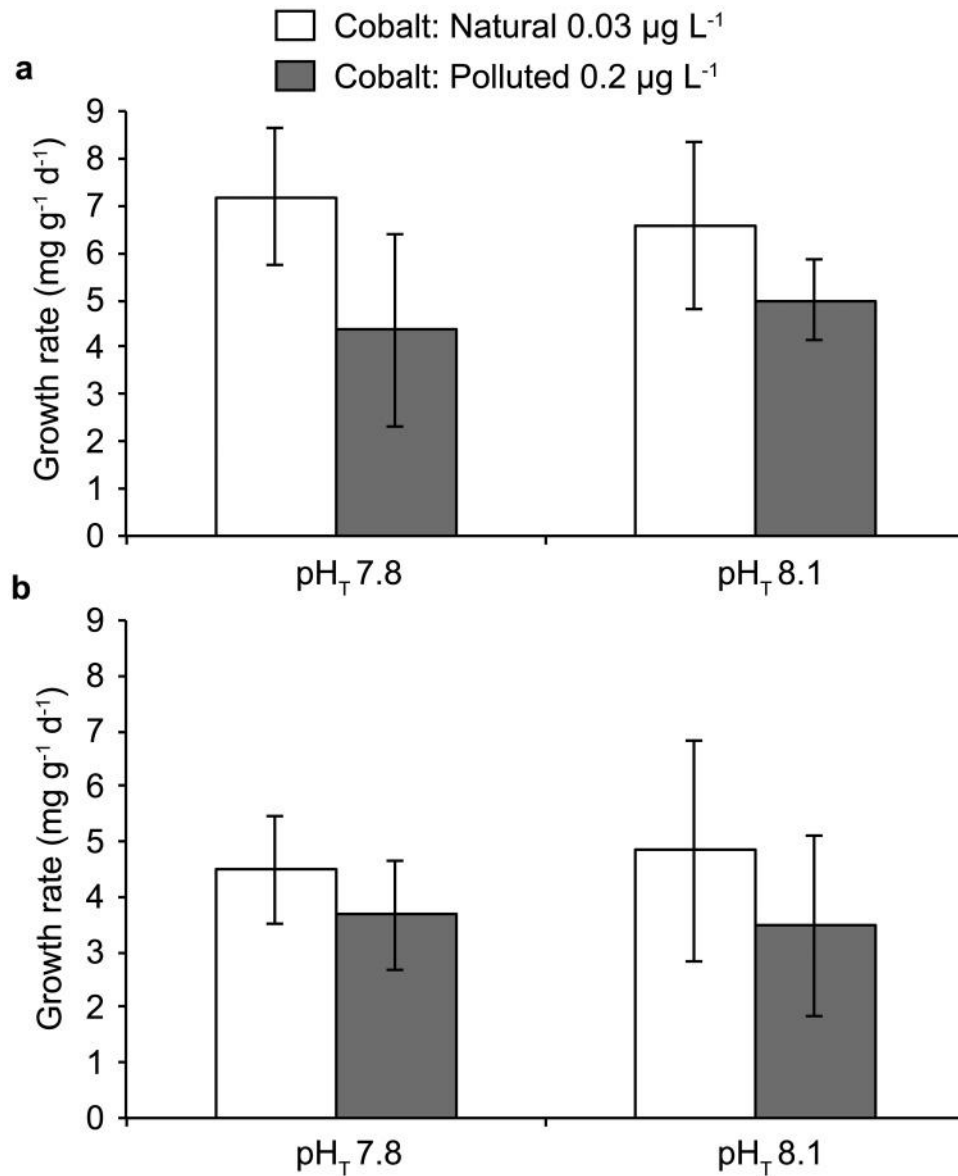


Figure 55. Growth rate (mg g⁻¹ d⁻¹) measured for *Stylophora pistillata* (a) and *Acropora muricata* (b) colonies after five weeks of incubation under two pH_T conditions (pH_T 7.8 or 8.1) and two cobalt concentrations (Natural and Polluted). Data are mean ± SD (*n* = 14).

2 - *In situ* experiment

Rates of maximal gross photosynthesis ($P_{\max}$) per unit surface area were significantly lower on *A. muricata* incubated with cobalt than exposed to natural concentrations (0.77 vs. 1.16 µmol O₂ cm⁻² h⁻¹; F-test = 15.05, *p* = 0.000; Figure 56a). Cobalt also significantly affected (F-test = 12.51, *p* = 0.001) the half saturation constant (K_m), with much lower values measured for colonies incubated with a cobalt supply (115.29 vs. 408.41 µmol photons m⁻² s⁻¹). No significant differences in the respiration rates were found (R = -0.28 vs. -0.24 µmol O₂ cm⁻² s⁻¹, respectively) (F-test = 15.05, *p* > 0.05).

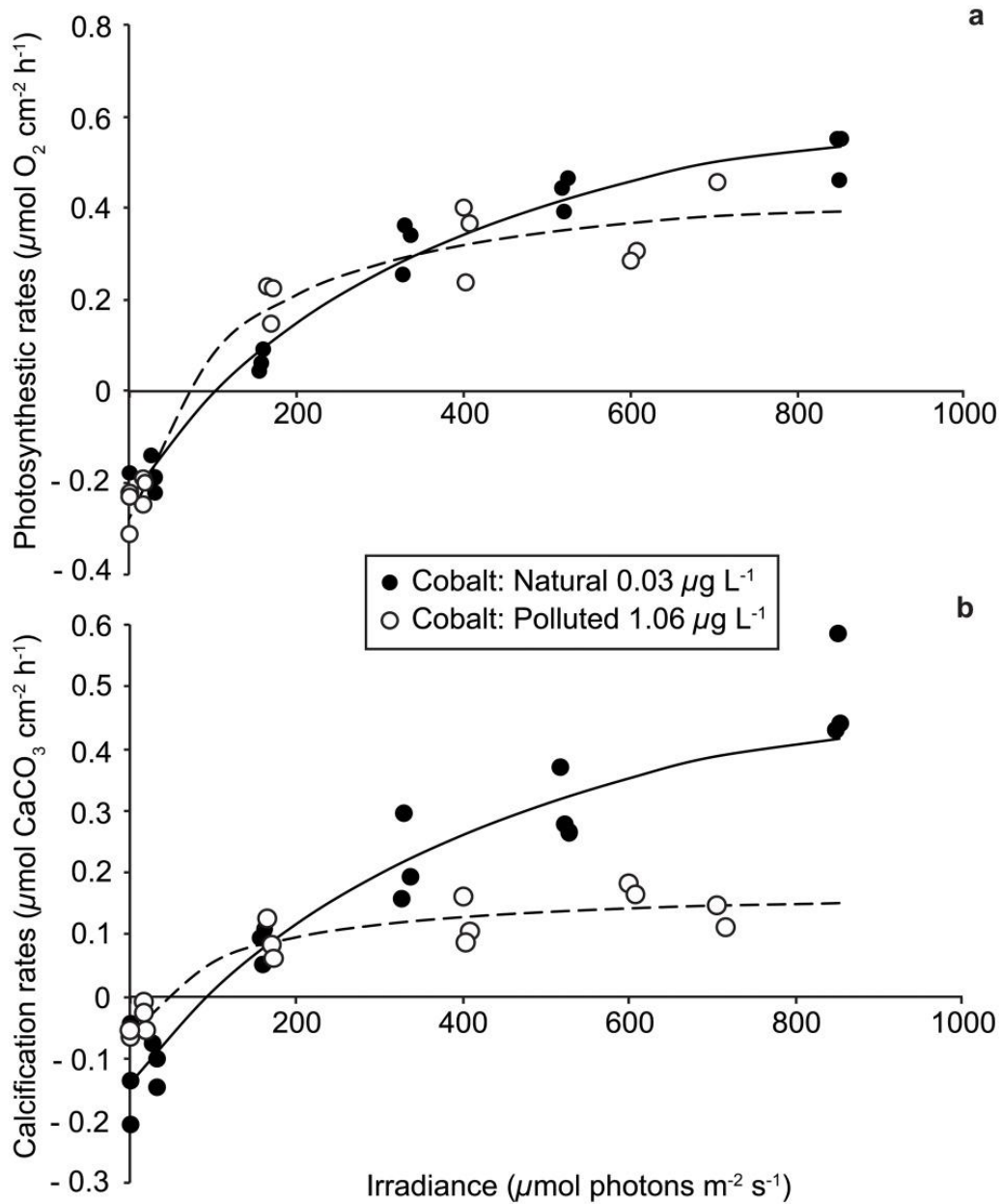


Figure 56. *Acropora muricata* photosynthetic (a) and calcification rates (b) measured *in situ* during benthic chamber incubations at Natural ($<0.03 \mu\text{g L}^{-1}$) and Polluted ($1.06 \mu\text{g L}^{-1}$) cobalt concentrations.

Cobalt significantly affected the growth of *A. muricata* (Figure 56b), with both maximal light calcification (C_{max} : F-test = 6.33, $p = 0.02$) and dark calcification rates (C_{dark} : F-test = 4.80, $p = 0.04$) lower for corals submitted to cobalt (0.120 and $0.030 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ for C_{max} and C_{dark} respectively) than in natural seawater (0.453 and $0.070 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$ for C_{max} and C_{dark} respectively).

Tableau 19. Summary of two-way ANOVAs testing, in aquaria, the effect of pCO₂ (366 and 1140 ppm) and cobalt concentrations (Natural, 0.03 µg L⁻¹ and Polluted, 0.2 µg L⁻¹) on *Stylophora pistillata* and *Acropora muricata* main physiological parameters.

<i>Stylophora pistillata</i>					<i>Acropora muricata</i>			
Source of variation	SS	df	F-ratio	p-Values	SS	df	F-ratio	p-Values
Zooxanthellae								
pCO ₂	948x10 ⁸	1	1.92	0.18	820x10 ⁸	1	2.23	0.15
Cobalt	320x10 ⁸	1	0.65	0.43	531x10 ⁸	1	0.014	0.91
pCO ₂ x cobalt	21x10 ¹⁰	1	4.33	0.51	136x10 ⁸	1	0.37	0.55
Error	987x10 ⁹	20			736x10 ⁹	20		
Chlorophyll <i>a</i>								
pCO ₂	12.96	1	6.54	0.019*	2.969	1	1.837	0.19
Cobalt	6.74	1	3.40	0.08	0.627	1	0.388	0.54
pCO ₂ x cobalt	24.55	1	12.38	0.002*	0.002	1	0.001	0.927
Error	39.64	20			32.31	20		
ETR_{max}								
pCO ₂	1569	1	13.15	0.001*	253	1	4.14	0.049*
Cobalt	1950	1	16.35	0.000*	1000	1	16.38	0.000*
pCO ₂ x cobalt	633	1	5.30	0.027*	8	1	0.13	0.721
Error	4295	36			2198	36		
F_v/F_m								
pCO ₂	0.002	1	1.555	0.22	0.002	1	4.040	0.052
Cobalt	0.006	1	6.27	0.017*	0.001	1	1.858	0.181
pCO ₂ x cobalt	0.000	1	0.012	0.912	0.000	1	0.956	0.335
Error	0.035	36			0.015	36		
Growth rate								
pCO ₂	0.01	1	0.00	0.956	0.08	1	0.038	0.845
Cobalt	68.37	1	28.71	0.000*	16.45	1	8.210	0.006*
pCO ₂ x cobalt	5.48	1	2.30	0.135	1.11	1	0.553	0.46
Error	123.83	52			104.19	52		

Discussion

Ocean acidification is one of the major threats that tropical coral reefs are facing during this century. Key life functions in corals, such as growth and photosynthesis, have been shown to be affected by high pCO₂ levels (*i.e.* Kleypas, 1999 ; Orr et al., 2005). In addition, near shore coral reefs are often already weakened by coastal human impacts, such as metal pollution, but the combination of ocean acidification and these other anthropogenic pollution forms has not been investigated yet. Thus, this study (*i*) examined, in laboratory conditions, the responses of two corals to the combination of metal pollution (here the cobalt) and ocean acidification and (*ii*) determined *in situ* whether a cobalt input alters the main coral physiological parameters. Cobalt levels added

into the experimental tanks and the benthic chambers are realistic since they are in the range of maximal concentrations measured along the coasts of New Caledonia (Moreton et al., 2009). Our experiments highlighted that even a moderate cobalt concentration ($0.2 \mu\text{g L}^{-1}$), and without interaction with acidification, adversely affects the growth of both coral species and that an increase in cobalt concentration to $1.06 \mu\text{g L}^{-1}$ leads not only to coral growth decrease, but also to an inhibition of their photosynthesis process.

Effect of cobalt enrichment on coral physiology

One of the major results of this study is that, at cobalt concentrations regularly measured along the New Caledonian coasts for example ($0.2 \mu\text{g L}^{-1}$) (Moreton et al., 2009) a decrease of 28% in growth rates is already observed for both species. Furthermore, *in situ* incubations of *A. muricata* colonies at a higher concentration (ca. $1 \mu\text{g L}^{-1}$) confirmed these results, revealing coral calcification rates of 70% lower than at normal cobalt concentrations. Although no study so far have measured the effects of cobalt on coral growth, our result is in agreement with Blankenship & Wilbur (1975) which demonstrated, for a coccolithophoridae species, *Cricosphaera carterae* that a cobalt concentration of $200 \mu\text{moles L}^{-1}$ led to a decrease in calcium ion incorporation rates. Therefore, our results suggest that near shore reef corals may greatly suffer from metal pollution and, in turn, may be less prone to resist to other anthropogenic stresses.

As calcification and photosynthesis mechanisms are coupled in symbiotic corals (Gattuso et al., 1999), one should expect that the decrease in calcification rates observed in the present study was combined to an inhibition of the photosynthetic efficiency and/or the zooxanthellae. However, during the laboratory experiment, the F_v/F_m measured in *S. pistillata* and *A. muricata* (ranging from 0.6 to 0.7), exposed to an ecologically relevant enrichment in cobalt ($0.2 \mu\text{g L}^{-1}$), revealed that their photosynthetic processes were stimulated by such moderate cobalt input and were operating at their maximum capacity (Fitt et al., 2001). Rather, this moderate cobalt concentration stimulates the $rETR_{\text{max}}$ values in *S. pistillata* and *A. muricata*. On the other hand, their zooxanthellae concentrations did not change, suggesting that, unlike iron (Ferrier-Pagès et al., 2001), cobalt addition did not stimulate symbiont densities but would rather stimulate the photosynthetic efficiency of these algal cells. This is consistent with previous studies performed on the same coral species, showing a stimulation of $rETR_{\text{max}}$ values in response to a moderate zinc or iron input (Ferrier-Pagès et al., 2001, 2005). Two hypotheses may explain this stimulation: (i) as cobalt is a cofactor of the carbonic anhydrase, an additional input would stimulate this enzyme and would bring additional inorganic carbon to the photosynthetic process (Panzeca et al., 2009 ; Price & Morel, 1990); (ii) as coral gastric activity harbors a bacterial community able to produce the B_{12}

vitamin, named cobalamin (due to its cobalt core), an enhancement of this vitamin production could stimulate the photosynthetic process (Agostini et al., 2012).

When cobalt was equal to ca. $1 \mu\text{g L}^{-1}$, in the *in situ* experiments, photosynthetic rates per unit surface area decreased, suggesting that the toxic threshold for zooxanthellae in *A. muricata* was reached. This result is consistent with previous studies, in which a clear inhibition of the photosynthetic efficiency of the two branching corals *Acropora cervicornis* and *Pocillopora damicornis* was observed, when they are exposed to elevated copper levels between 4 and $20 \mu\text{g L}^{-1}$ (Bielmyer et al., 2010). Furthermore, as metals are mostly accumulated in coral tissues and more particularly in symbiotic algae (Ferrier-Pagès et al., 2005), their expulsion is thought to be a mechanism of metal detoxification. Although our *in situ* incubations were too short to detect a change in the zooxanthellae density and no measurements have been performed, it is likely that the cobalt level tested reached the zooxanthellae toxic threshold affecting whole coral metabolic functions. Zooxanthellae expulsion was observed for *Acropora formosa* and *Porites lutea* exposed to extreme copper and iron concentrations, from 10 to 100 times higher than the concentrations measured in coral reef surrounding waters (Harland & Brown, 1989 ; Jones, 1997). In conclusion, our results show that while extreme cobalt concentrations may be lethal for corals, reducing calcification and photosynthetic metabolism, a moderate concentration effect may be more species-specific. Two hypotheses may likely explain this antagonism: (i) algae and host may be in competition for inorganic carbon for photosynthesis and calcification (Ferrier-Pagès et al., 2001 ; Marubini & Davies, 1996 ; Stambler et al., 1991) but the coral ability to compete for this substrate may be highly species-specific with some species able to preferentially allocate inorganic carbon to the photosynthetic process; (ii) moderate cobalt concentration might be toxic for the host cells but not yet for the zooxanthellae. Despite these observations, identifying the mechanisms underlying the enhancement of the photosynthetic process or the calcification decrease is beyond the scope of our study and we suggest that further research should be conducted.

Effect of $p\text{CO}_2$ increase on coral physiology

Higher $p\text{CO}_2$ levels did not affect the photosynthetic efficiency of both coral species but caused an opposite effect on their rETR_{max} values, stimulating *S. pistillata* and inhibiting *A. muricata*. Previous studies focused on the effects of ocean acidification on photosynthetic processes gave ambiguous results. While the lack of impact for *S. pistillata* have been already noticed during short-term studies (Burris et al., 1983 ; Godinot et al., 2011 ; Houlbrèque et al., 2012 ; Reynaud et al., 2003 ; Schneider & Erez, 2006) and are consistent with the assertion that corals do not rely on dissolved CO_2 for their photosynthesis (Gattuso et al., 1999); other studies rather highlighted a

detrimental effect of $p\text{CO}_2$ on the coral photosynthetic efficiency (Iguchi et al., 2012 ; Kaniewska et al., 2012). Response heterogeneity among corals would be linked to the symbiont types (Brading et al., 2011).

No change in the growth rates of *S. pistillata* and *A. muricata* was detected between the different $p\text{CO}_2$ conditions. These results confirm a recent study performed on *S. pistillata*, where all coral fragments submitted for one month to high $p\text{CO}_2$ conditions (2,039 μatm) survived and showed equivalent calcification rates to corals submitted to normal conditions (Houlbrèque et al., 2012). Although these results should be taken with caution, since corals were incubated during short periods to low pH, it is consistent with some previous studies showing that some corals are able to calcify at low-pH seawater (Jury et al., 2010 ; Krief et al., 2010 ; Ries et al., 2009 ; Rodolfo-Metalpa et al., 2009). Coral species like *S. pistillata* and *A. muricata* would be part of a “low-sensitivity” group to $p\text{CO}_2$ (Langdon & Atkinson, 2005) and to the “potential winners” that would be able to control pH at their calcification site (Venn et al., 2013) and would outcompete species unable to do it (Comeau et al., 2013). Furthermore, ocean warming should also be taken into consideration as (Reynaud et al., 2003) showed that *S. pistillata* was insensitive to doubled $p\text{CO}_2$ at 25°C but on the other hand experienced a 50% reduction in calcification rate at a higher temperature (+3°C). So, based on changes in temperature, some coral species like *S. pistillata* could shift between insensitivity and high sensitivity to $p\text{CO}_2$ increase.

Even if no interaction between $p\text{CO}_2$ levels and cobalt concentration has been revealed in our study for these two coral species, it is likely that coral colonies, for which growth rates already decrease by 28% when submitted to a moderate cobalt input, will be weakened if they are subjected to additional threats (*i.e.* temperature increase, other metal pollution, eutrophication). Indeed, when their temperature threshold has been exceeded or when corals are submitted to a poor seawater quality, it has been widely demonstrated that they stop their growth and expel their zooxanthellae (*e.g.* Ferrier-Pagès et al., 2000 ; Hoegh-Guldberg, 1999 ; Marubini & Davies, 1996) and so a cobalt pollution would exacerbate these phenomena.

It is also likely that species originally classified into the “highly sensitive group” such as *Porites lutea* or *Acropora cervicornis* for example (Jury et al., 2010) will be probably more drastically affected by metal inputs. In addition, our results only correspond to a five weeks incubation experiment and as it has been demonstrated that metals accumulate in coral tissues (Jury et al., 2010), a longer-term experiment should induce a stronger calcification inhibition and an overrun of the toxicity threshold for the zooxanthellae. Previous studies performed on other marine organisms like copepods and polychaetes demonstrated that metal pollution increases their

sensitivity to ocean acidification (Jury et al., 2010) and the present study clearly indicates that it is also the case for corals.

Acknowledgements

We wish to thank R. Farman, L. Foure and the technical staff of the Aquarium des Lagons (Nouméa) for their welcome and assistance in tank maintenance. Part of this study was supported by the Laboratoire d'Excellence (LabEX Corail), the Institut de Recherche pour le Développement (IRD) and the Institut National des Sciences de l'Univers (INSU) through the PNEC/CYTRIX IBANOE program of Initiative Structurante Ecosphère Continentale et Côtière (EC2CO). We would like to thank E. Amice and the crew of the R/V ALIS for their help during the benthic chamber experiment, as well as M. Milazzo for statistical advice. This is ENTROPIE scientific contribution n. 27.

Chapitre 5

Discussion générale

Perspectives

CHAPITRE 5 | DISCUSSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'objectif de ce travail de thèse était d'apporter des éléments de réponse quant aux effets biologiques d'une exposition chronique des coraux aux principaux métaux présents dans le lagon calédonien, dans un contexte de changement climatique. Ainsi, après nous être intéressés aux effets de ces métaux, à des concentrations représentatives du milieu et dans des conditions « ambiantes », sur la physiologie corallienne, nous avons évalué si ces enrichissements métalliques constituaient un atout supplémentaire permettant d'augmenter la résistance/résilience des récifs coralliens ou bien au contraire s'ils agissaient en synergie avec le réchauffement ou l'acidification des océans.

Pour ce faire, plusieurs expériences ont été menées, à la fois *in situ* et en aquarium, sur diverses espèces représentatives du lagon calédonien. Les résultats obtenus apportent sans conteste un nouveau regard sur le rôle des métaux au sein des écosystèmes coralliens et soulignent l'importance de les considérer en parallèle des changements globaux.

5.1 Les coraux face aux enrichissements métalliques

5.1.1 Le nickel et le manganèse, de puissants stimulants

Les résultats les plus surprenants obtenus au cours de cette thèse concernent principalement le nickel et le manganèse. Alors qu'ils ne sont impliqués tous deux que dans quelques mécanismes (cf. 3.2.2), ceux-ci ont fortement stimulé le métabolisme des espèces coralliennes testées. Ainsi, une concentration de $3.5 \mu\text{g L}^{-1}$ de nickel a engendré à la fois une augmentation de la calcification de l'hôte et de la photosynthèse des symbiotes. La stimulation de la calcification par le nickel se ferait au travers d'une stimulation de l'uréase (dont le nickel est le cofacteur), cette enzyme hydrolyse en effet l'urée en carbone inorganique et en ammoniac (Crossland & Barnes, 1974) (Figure 57 (1)). Le CO_2 servirait alors de substrat pour le processus de calcification et le NH_3 , en éliminant les protons issus de la calcification, maintiendrait un pH élevé dans l'ECM et favoriserait donc la biominéralisation. La photosynthèse, dont la stimulation sous enrichissement en urée n'a jamais été observée auparavant, pourrait profiter, elle aussi, du CO_2 libéré par l'hydrolyse de l'urée et de l'ammonium (NH_4^+) produit par la réaction entre le NH_3 et les protons (Figure 57 (2)). Toutefois, afin de confirmer définitivement ces hypothèses, il serait intéressant par exemple de réaliser des incubations de colonies coralliennes avec de l' ^{15}N -urée ou

de l' ^{13}C -urée (Seemann et al., 2013 ; Tanaka et al., 2015) en parallèle d'un enrichissement ou non en nickel, afin de vérifier leur dynamique d'incorporation en présence de ce métal, et également d'identifier la destination exacte du $^{15}\text{NH}_3$ ou du $^{13}\text{CO}_2$ produits lors de leur hydrolyse. Par ailleurs, l'uréase catalysant la réaction dans les deux sens, un enrichissement en Ni pourrait également engendrer une augmentation de la formation d'urée à l'intérieur des tissus coralliens. La présence d'uréase au sein des *Symbiodinium* ayant été mise en évidence (Barnes & Crossland, 1976), un recyclage de l'urée a lieu à l'intérieur de l'organisme et pourrait être stimulé par le nickel, ce qui permettrait de maintenir un environnement propice à la calcification (Figure 57 (3)).

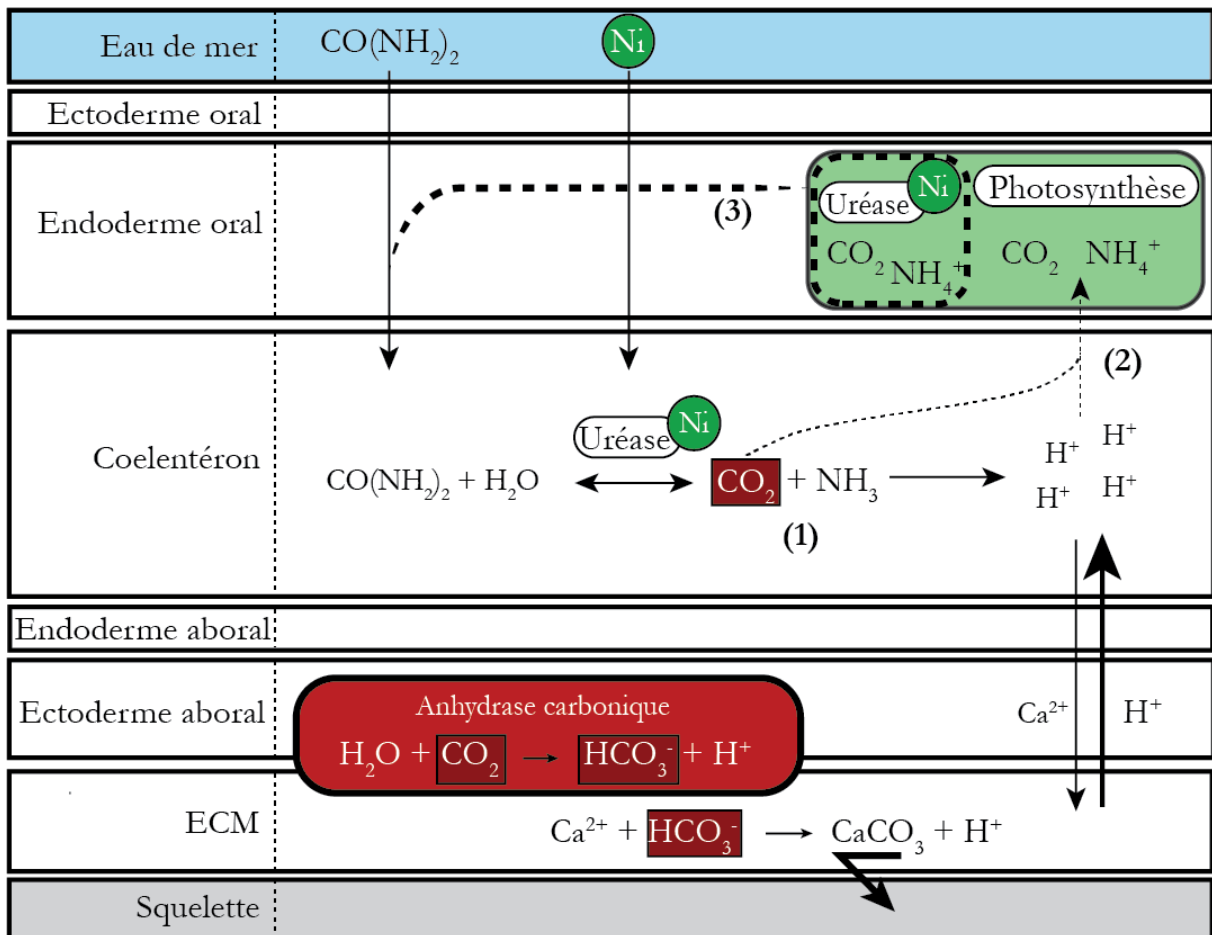


Figure 57. Schéma récapitulatif de l'effet supposé du nickel sur la physiologie corallienne. Traits en surépaisseurs : stimulation du processus ; Traits en pointillés : voies d'utilisation possibles à explorer **(1)** Stimulation de la calcification par hydrolyse de l'urée (en rouge, utilisation principale du CO_2) ; **(2)** Stimulation de la photosynthèse par le CO_2 et le recyclage de l'ammonium ; **(3)** Production d'urée comme déchet métabolique et formation d'un cycle dynamique.

Le nickel stimulant l'incorporation d'urée, puis le métabolisme corallien, il serait intéressant également de tester son effet *in situ* dans des zones très riches en urée. Par exemple, autour des îlots d'Entrecasteaux, où les concentrations en urée sont élevées (Lorrain et al., 2017) ou dans des zones

où la production récifale est particulièrement élevée (Conover & Gustavson, 1999 ; McDonald et al., 2006 ; Walsh et al., 2001).

Le manganèse, quant à lui, a fortement augmenté la photosynthèse des symbiotes. Alors qu'une telle stimulation n'avait jamais été observée, elle était pourtant prédictible puisque le manganèse joue un rôle crucial dans la photosynthèse oxygénique en tant que cofacteur l'OEC (cf. 3.2.2) (Raven et al., 1999). Toutefois, en dépit de cette stimulation et selon le principe de la Light Enhanced Calcification (Allemand et al., 2011), les taux de calcification auraient pu être augmentés, ce qui n'a pas été le cas. Afin de tenter de comprendre pourquoi la calcification n'a pas été augmentée, il serait intéressant d'envisager une expérience similaire utilisant du bicarbonate marqué ($\text{H}^{14}\text{CO}_3^-$) (Lyndby et al., 2018), afin d'identifier son utilisation dans le corail lors d'un enrichissement en manganèse, celui-ci pouvant être majoritairement utilisé par l'augmentation de la photosynthèse, ce qui limiterait l'augmentation des taux de calcification. Par ailleurs, les métaux étant souvent associés à une lourde charge en MES, il serait également intéressant de voir si la turbidité de l'eau influence le besoin en manganèse (Sunda, 2012). Des expériences en aquarium soumettant des coraux à un enrichissement en manganèse ou non, couplé à un gradient d'intensité lumineuse permettraient de savoir si un apport supplémentaire en Mn maintiendrait une photosynthèse efficace malgré une diminution de l'intensité lumineuse, telle que celle qui peut être observée dans un environnement turbide.

5.1.2 Les effets contrastés du cobalt et du fer

A la différence du manganèse et du nickel, un enrichissement en cobalt ou en fer a engendré des réponses physiologiques divergentes, que ça soit au sein même des expériences réalisées ou en comparaison avec des études précédentes.

Ainsi, un faible enrichissement de $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$ de cobalt a généré une inhibition de la croissance des coraux, en dépit de la stimulation simultanée du processus photosynthétique et de son rôle de cofacteur de l'AC. Diverses hypothèses ont été suggérées pour expliquer ces observations : (i) une stimulation de la production de la vitamine B_{12} , qui nécessite du cobalt et qui est crucial pour les symbiotes (Agostini et al., 2012 ; Panzeca et al., 2009), pourrait avoir augmentée les capacités photosynthétiques des symbiotes (Figure 58 (1)) ; (ii) une stimulation de l'AC par le cobalt apporterait davantage de substrat à la photosynthèse (Figure 58 (2)) ; (iii) un déséquilibre dans l'attribution du DIC en faveur des symbiotes stimulerait leur photosynthèse et inhiberait la calcification de l'hôte (Figure 58 (3)) ; (iv) un blocage de la pompe à calcium par le cobalt

diminuerait les taux de calcification (Figure 58 (4)). Toutefois, des expériences supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ou infirmer ces hypothèses. Il pourrait tout d'abord être envisagé de mesurer l'évolution des concentrations en vitamine B₁₂ et des taux de photosynthèse lors d'un enrichissement en cobalt, afin de confirmer la corrélation entre ces deux paramètres. Par ailleurs, réaliser des incubations croisant la méthode du double marquage du calcium et du bicarbonate (⁴⁵Ca-H¹⁴CO₃) (Furla et al., 2000) avec un enrichissement en cobalt pourrait permettre de mettre en évidence, à la fois, un éventuel déséquilibre entre les symbiotes et l'hôte pour l'acquisition du DIC et l'inhibition de la pompe à calcium. Enfin, le cobalt étant capable de se substituer au zinc en tant que cofacteur de l'AC (Price & Morel, 1990), il serait également pertinent de réaliser des cinétiques d'incorporation des radiotraceurs ⁶⁵Zn et ⁵⁷Co lors d'enrichissements en cobalt et/ou en zinc et de mesurer l'activité de cette enzyme en parallèle.

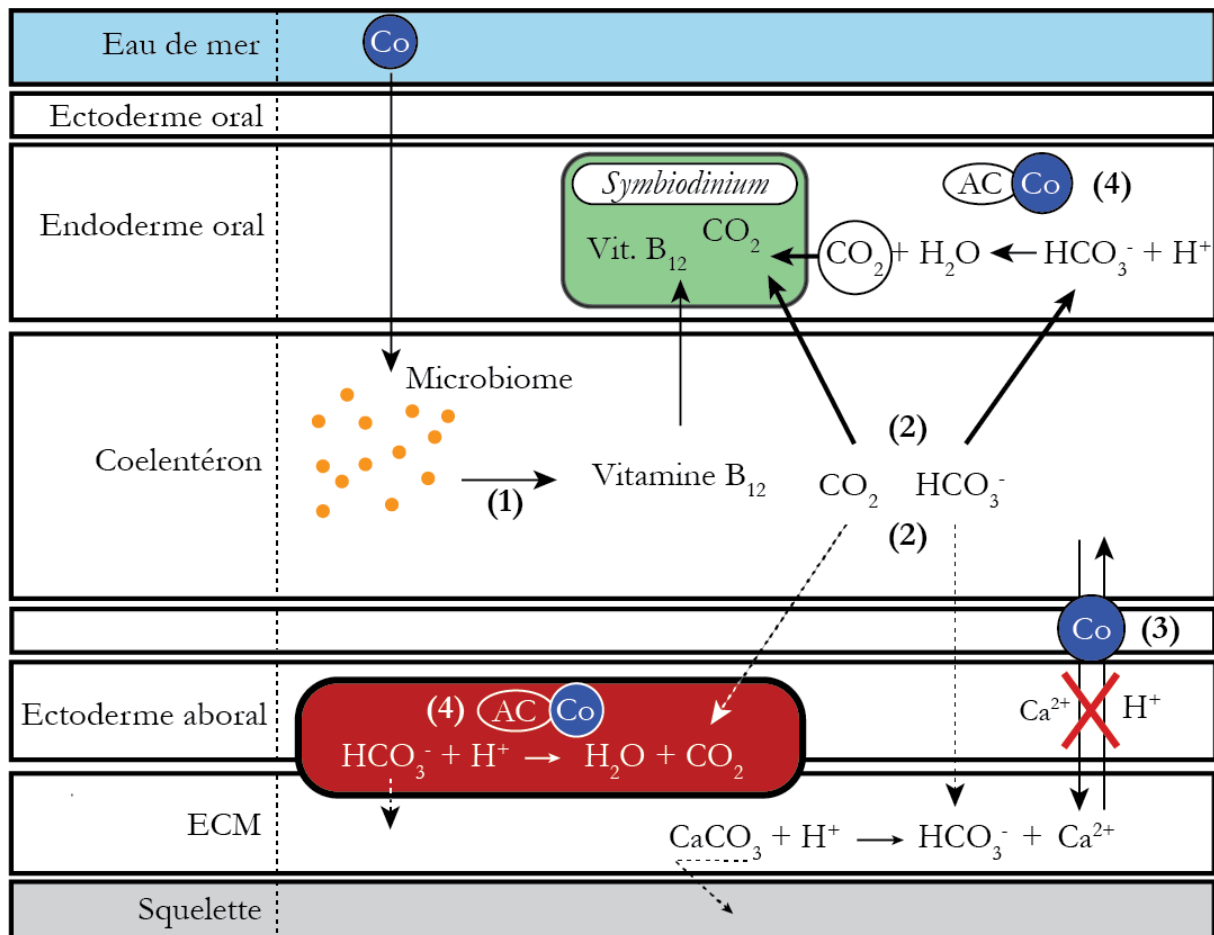


Figure 58. Schéma récapitulatif de l'effet supposé du cobalt sur le métabolisme des coraux. Traits en surépaisseurs : voies stimulées ; Traits en pointillés : voies inhibées (1) Stimulation de la production de vitamine B₁₂, puis de la photosynthèse des symbiotes ; (2) Attribution préférentielle du DIC aux symbiotes ; (3) Inhibition de l'incorporation de calcium par le cobalt ; (4) Stimulation de l'anhydrase carbonique par le cobalt.

Les résultats ont également mis en évidence qu'une concentration plus élevée en cobalt de $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ était toxique pour les symbiotes et l'hôte, en diminuant à la fois la photosynthèse et la calcification. Cela souligne donc la faible tolérance des coraux à une concentration en cobalt déjà atteinte sur certains récifs comme par exemple en Mer Rouge (Tableau 6). Cette sensibilité élevée au cobalt pourrait également découler de son importante propension à s'accumuler dans les coraux, puisque son CF est très élevé (693.2 ± 54.1) comparé au manganèse (55.2 ± 2.9) ou au fer (153.6 ± 6.3) (Metian et al., 2015).

Quant au fer, alors qu'il est considéré comme le métal le plus important et qu'il est impliqué dans de nombreux processus, les effets de son enrichissement donnent des résultats très contrastés. Deux précédentes études ont montré une stimulation ou une absence d'effet sur la croissance des symbiotes en présence de $0.34 \mu\text{g L}^{-1}$ de fer (Ferrier-Pagès et al., 2001 ; Rådecker et al., 2017), dans notre cas c'est une diminution de la densité en *Symbiodinium* qui a été observée pour $3.0 \mu\text{g L}^{-1}$. À l'instar d'une carence en fer (Shick et al., 2011), un excès semble donc augmenter la susceptibilité des coraux à blanchir. Des expériences supplémentaires visant à mesurer la concentration en ROS ou l'activité de la SOD lors d'un enrichissement en fer permettrait de confirmer l'apparition d'un stress oxydant et justifierait le blanchissement observé. Par ailleurs, l'absence de stimulation de la photosynthèse, en dépit du rôle du fer dans plusieurs molécules assurant le transfert des électrons dans la chaîne photosynthétique, est surprenante. Il a été montré qu'une carence en fer induisait un processus de photoprotection en convertissant la diadinoxanthine en diatoxanthine. Il serait intéressant de vérifier qu'un excès de fer n'induit pas ce même phénomène en mesurant leurs concentrations respectives, ainsi que l'efficacité de la voie non photochimique (mesures par exemple de la fraction d'énergie dissipée sous forme de chaleur, le quenching non-photochimique (NPQ), par PAM fluorimétrie). Le fer étant également impliqué dans l'activité de la nitrogénase (Eady & Smith, 1979), son enrichissement pourrait améliorer l'efficacité de l'incorporation d'azote et tous les processus qui en dépendent, comme notamment l'activité des diazotrophes endosymbiotiques présents dans les tissus coralliens. Cela a été mis en évidence, pour l'instant, uniquement pour le plancton diazotrophe (Guieu et al., 2018). Enfin, les résultats divergents concernant les effets d'un enrichissement en fer sur les coraux (Ferrier-Pagès et al., 2001 ; Rådecker et al., 2017, Biscéré et al., 2018) pourraient se justifier par des différences de concentrations en cuivre entre les différents lieux d'expérimentation. En effet, il a été montré que le cuivre était nécessaire à l'absorption du fer chez les micro-algues (Sunda, 2012), et des effets de co-limitation ont déjà été observés chez des diatomées (Annett et al., 2008 ; Peers et al., 2005). Il serait donc éventuellement possible que le fer disponible lors des enrichissements ne soit pas réellement incorporé par les coraux, expliquant les effets divergents obtenus. Les futures expériences testant

les effets du fer sur les coraux devraient considérer simultanément les teneurs en cuivre du milieu et estimer les cinétiques d'incorporation de ces deux métaux.

5.1.3 D'autres métaux à considérer

Bien que nous ayons testé durant cette thèse les métaux préférentiellement retrouvés dans les roches latéritiques, d'autres métaux présentant une importance substantielle pour les organismes vivants mériteraient une attention particulière. Outre les métaux ne possédant aucun rôle biologique connu et donc naturellement toxique, comme l'arsenic, le plomb ou encore le mercure, certains métaux comme le zinc sont susceptibles d'influencer la physiologie des coraux.

Le zinc notamment possède de nombreux rôles biologiques et un apport modéré pourrait probablement stimuler le métabolisme corallien. Par exemple, il a été montré d'une part que le zinc ne déclenchait pas de stress oxydant sur les coraux en dessous de $1000 \mu\text{g L}^{-1}$ (Deschaseaux et al., 2018) et qu'il pouvait stimuler leur capacité photosynthétique dès $0.65 \mu\text{g L}^{-1}$ (Ferrier-Pagès et al., 2005). Par ailleurs, son rôle de cofacteur au sein de l'AC et de l'alkaline phosphatase est déterminant pour l'acquisition du carbone et du phosphate inorganique. Il pourrait ainsi être envisagé d'étudier plus en détails ses effets sur l'appareil photosynthétique et les processus de calcification, en présence de cobalt qui a la propriété de pouvoir le remplacer.

5.2 Les métaux dans un contexte de changement climatique

Les connaissances disponibles au sujet de l'interaction entre les métaux et les changements climatiques sur les coraux sont extrêmement minces et ont prestement besoin d'être approfondies. Alors que cette thèse apporte sans conteste des informations novatrices sur cette thématique, d'autres métaux et d'autres interactions restent encore à tester. Si le cobalt et le fer ne semblent pas interagir, respectivement, avec l'acidification des océans et une augmentation de la température, le nickel et le manganèse ont eu deux effets opposés lors d'un stress thermique : le premier aggravant les effets néfastes de ce stress, tandis que le second a, au contraire, augmenté la tolérance des coraux.

5.2.1 Influence des métaux sur les coraux dans un océan plus chaud

Il a été montré à travers cette thèse qu'un enrichissement en nickel augmentait l'effet néfaste d'une augmentation de la température sur la calcification des coraux. Cet effet synergique pourrait découler de la stimulation, toujours effective, de la photosynthèse à 32°C, qui, couplée au stress thermique, induit alors une large surproduction de ROS. Il serait intéressant de tester cette hypothèse en mesurant les concentrations en ROS, ainsi que l'activité de la SOD (sachant qu'une Ni-SOD a déjà été identifiée chez des micro-algues (Dupont et al., 2008a), lors d'un stress thermique et d'un enrichissement en nickel.

A l'inverse du nickel, un enrichissement en manganèse a permis de maintenir le métabolisme corallien lors d'un stress thermique à un niveau équivalent à celui observé à température ambiante, que ce soit pour la photosynthèse des symbiotes ou pour la calcification de l'hôte (Figure 49). Cela s'est traduit *in fine* par une diminution de la susceptibilité des coraux au blanchissement. Il semble tout d'abord primordial d'évaluer spécifiquement, lors d'expériences complémentaires, le rôle du manganèse dans le contrôle du stress oxydant au sein de l'holobionte en mesurant l'activité de la Mn-SOD et de l'AC, ainsi que les concentrations en ROS, dans des coraux bénéficiant ou non d'un apport en Mn et soumis à un stress thermique. La Mn-SOD étant l'une des plus actives (Wolfe-Simon et al., 2006), sa stimulation pourrait significativement améliorer la résistance des coraux.

Par ailleurs, en partant du constat que les récifs de Nouvelle-Calédonie sont baignés par des eaux chargées en métaux, et qu'ils n'ont subi qu'un seul et unique évènement de blanchissement massif à large échelle malgré plusieurs épisodes de stress thermique dépassant les seuils d'alarmes mis en place par la NOAA (années 1980, 1996, 2005, 2016) (Figure 59), il serait intéressant de tenter d'identifier une corrélation entre la susceptibilité des coraux à blanchir *in situ* et les concentrations en métaux environnantes. Pour ce faire, des expériences complémentaires seraient réalisées, visant à exposer des coraux à un enrichissement en manganèse seul ou en cocktail avec les principaux métaux trouvés dans le lagon calédonien, couplé à une augmentation graduelle de la température. Elles permettraient de savoir, d'une part si le manganèse seul augmente la tolérance des coraux au stress thermique et d'autre part, si les conditions métalliques *in situ* pourraient expliquer le faible taux de blanchissement enregistré en Nouvelle-Calédonie. Alors qu'il est prévu que les événements de blanchissement s'intensifient et se rapprochent dans les années à venir (Heron et al., 2017), et au vu des résultats obtenus ici, il semble indispensable d'associer le suivi des

récifs avec la mesure des concentrations en ETMs, afin de mettre en évidence une potentielle corrélation entre la susceptibilité des coraux à blanchir et les concentrations en métaux.

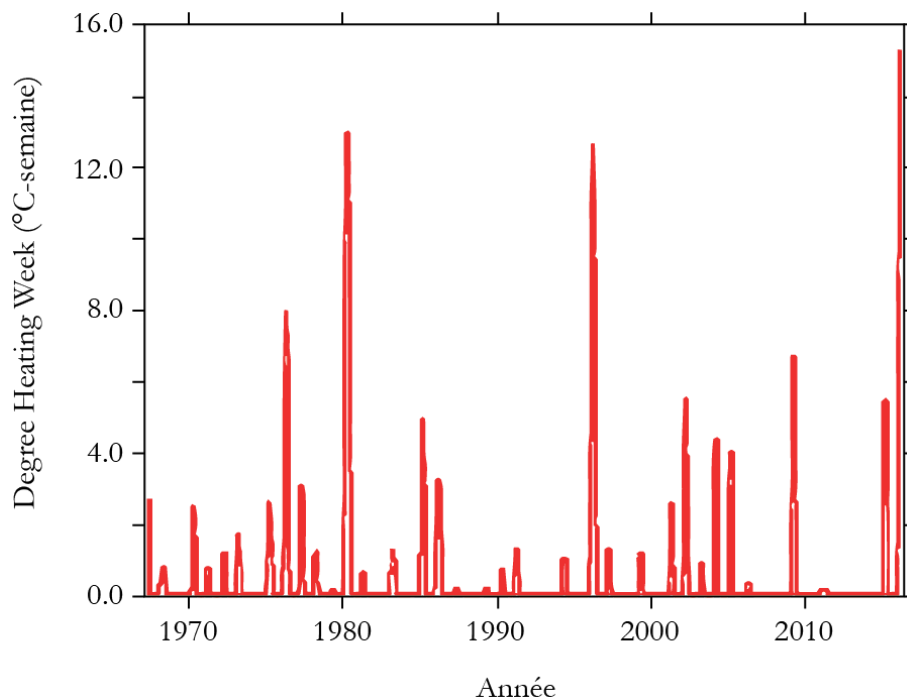


Figure 59. Évolution de l'indice DHW sur les dernières décennies au sein du lagon Sud-Ouest de la Nouvelle-Calédonie

5.2.2 Influence des métaux sur les coraux dans un océan acidifié

Les effets de l'interaction entre les métaux et l'acidification des océans sur les coraux sont encore très largement méconnus. Ce doctorat ne m'a permis de tester que les effets simultanés de l'acidification et du cobalt. Pourtant, l'OA est le facteur le plus susceptible de modifier les disponibilités en métaux (cf. 4.2.1). Il a d'ailleurs été mis en évidence que l'OA diminuait les taux d'incorporation du zinc (Houlbrèque et al., 2012), or, comme déjà évoqué précédemment, le cobalt est capable de se substituer au zinc en cas de carence, notamment chez l'AC (Jakuba et al., 2008 ; Saito & Goepfert, 2008). Il est donc étonnant que l'expérience menée sur le cobalt ait révélé une diminution de la calcification. Il serait intéressant d'étudier la dynamique d'incorporation du cobalt dans les coraux à pH plus faible, ainsi que l'activité de l'AC par exemple, pour savoir si l'absorption du cobalt ne serait pas elle aussi limitée.

Par ailleurs, au vu de l'implication de la réaction d'hydrolyse de l'urée dans la régulation du pH au site de calcification (Figure 57), il serait intéressant d'étudier l'effet de l'acidification sur les coraux lors d'un enrichissement en nickel et en urée. Les coraux pourraient peut-être pallier à la diminution des ions carbonates et hydroxydes et s'affranchir de leur pouvoir tampon, notamment

pendant la nuit (Figure 15), en utilisant le NH_3 libéré par l'uréase et ainsi aider à maintenir des taux de calcification élevés dans des eaux présentant des $p\text{CO}_2$ élevées.

Le cuivre et le fer sont les deux métaux dont la biodisponibilité devrait être la plus fortement augmentée par l'OA (Tableau 17). Des expériences complémentaires devraient ainsi être réalisées pour tester notamment les effets de l'OA sur leurs cinétiques d'incorporation. La seule étude existante croisant l'OA et le cuivre, met en évidence l'effet contrasté de leur interaction. Alors qu'une $p\text{CO}_2$ et une concentration en cuivre plus élevées semblent stimuler l'activité de la glutathion réductase (une enzyme permettant de régénérer la glutathion peroxydase) et de l'anhydrase carbonique, aucune réponse particulière n'est observée de la part de la catalase et de la glutathion peroxydase (deux enzymes neutralisant le peroxyde d'hydrogène H_2O_2), ce qui suggère l'absence d'un stress oxydant intense (Bielmyer et al., 2018).

5.3 Conclusion et perspectives générales

Alors que l'effet de certains métaux sur la physiologie de coraux adultes avait déjà été très succinctement étudié auparavant (cuivre, zinc, fer), la plupart des métaux testés durant cette thèse l'ont été pour la première fois (manganèse, cobalt et nickel). Les résultats obtenus représentent donc un apport significatif à la compréhension, d'une part, des relations existantes entre les coraux adultes et les métaux et d'autre part, des interactions entre les métaux et les changements globaux actuels.

Si la grande majorité des études, portant notamment sur les jeunes stades de vie, mettent en avant la toxicité des métaux, les résultats observés sous enrichissement en manganèse et en nickel confirment qu'ils ne doivent pas forcément être considérés comme toxiques dès lors que leurs concentrations sont un peu plus importantes. En effet, si les concentrations ne sont que légèrement augmentées, alors les métaux semblent pouvoir au contraire stimuler le métabolisme corallien. Toutefois, ce n'est pas systématique comme en témoignent les résultats pour le fer et le cobalt. La variabilité des réponses observées avec les différents métaux démontre que la réalisation de parallèle entre deux métaux doit être effectuée avec prudence.

5.3.1 Cocktail métallique

Dans l'environnement, bien qu'il puisse y avoir des prédominances comme pour le fer en Nouvelle-Calédonie, les métaux ne sont jamais enrichis seul. Or, bien qu'il soit nécessaire de

comprendre comment chaque métal influence individuellement le métabolisme corallien, notre étude montre qu'il est également important de les considérer en cocktail en raison de potentielles synergies ou co-limitation. Certains métaux possédant des propriétés physico-chimiques parfois semblables, ils ont alors la capacité de se remplacer les uns les autres au sein des sites actifs des métallo-enzymes en cas de carence du métal principal, à l'instar du cobalt et du zinc pour l'anhydrase carbonique. Toutefois, au-delà de cet avantage, il est également possible que certains métaux aient une plus grande affinité pour le site actif d'une enzyme que le métal dédié, entraînant ainsi un blocage de la fonction de la molécule.

Le fer semble par exemple limiter les effets bénéfiques du manganèse (cf. 4.1.4). Or, il est de loin le principal constituant des sédiments latéritiques, comme en témoignent les concentrations mesurées dans le lagon calédonien (Tableau 8), et pourrait donc annihiler les effets du manganèse observés en aquarium. De même, alors que l'argent ne possède aucun rôle biologique connu, il est caractérisé dans la colonne d'eau par un profil nutritif (Queguiner, 2011) et son CF au sein des coraux est très important ($CF_{14\text{jours}} = 2573$) (Métian et al. 2015). Bien que sa concentration ne soit jamais prise en considération dans les mesures réalisées, au vu de son CF dans les coraux, une faible concentration pourrait suffire à entraver l'absorption des autres métaux, si toutefois ils utilisent les mêmes voies d'assimilation. Au contraire, il serait intéressant de croiser le nickel et le manganèse, qui stimulent respectivement la calcification et la photosynthèse, afin de savoir à quel point le métabolisme corallien peut être augmentée.

Ces quelques exemples témoignent de la divergence qu'ils seraient possibles d'observer entre les résultats obtenus en aquarium et *in situ*, et confirment la difficulté de les transposer de l'un à l'autre, si l'on ne considère pas également les interactions entre les métaux eux-mêmes.

5.3.1 Le réchauffement et l'acidification des eaux, des stress simultanés

Alors que le réchauffement et l'acidification des eaux ont été étudiés séparément lors de nos expériences, ces deux phénomènes sont interdépendants et il conviendrait de les étudier simultanément également. Ainsi, il a déjà été suggéré que l'augmentation des capacités photosynthétiques observée *in situ* dans des eaux plus acides n'améliorerait en rien la résistance des coraux à un stress thermique (Noonan & Fabricius, 2016). Cette augmentation étant uniquement due à la stimulation de la photosynthèse des symbiotes, les bénéfices disparaissent en même temps que leur expulsion des coraux lors du blanchissement induit par le stress thermique. L'étude réalisée

durant cette thèse aux résurgences volcaniques de CO₂ et les observations effectuées lors de la dernière mission en PNG en juin 2018 rejoignent cette théorie.

Ainsi, si l'on croise l'OA et le réchauffement des eaux avec un enrichissement métallique, les résultats pourraient alors être bien différents. Par exemple, l'OA augmentant la disponibilité du fer ou du cuivre pour les coraux (Tableau 17), ceux-ci pourraient alors augmenter la susceptibilité des coraux à blanchir en induisant un stress oxydant et donc favoriser le blanchissement lié au stress thermique. Au contraire, l'OA stimulant les capacités photosynthétiques des symbiotes, et le manganèse permettant d'augmenter la tolérance des coraux à une élévation des températures, alors la combinaison des deux pourraient aboutir à une plus grande tolérance des coraux au réchauffement.

5.3.3 Fraction particulaire

Le choix de ne s'intéresser qu'à la fraction dissoute repose en général essentiellement sur le fait qu'elle est considérée comme la forme la plus assimilable (Campbell, 1995 ; Fairbrother et al., 2007). Bien que ça soit effectivement le cas pour les organismes pleinement autotrophes comme le phytoplancton (Sunda, 2012), qui représente une large part de la demande en métaux dans les océans, les coraux possèdent également la capacité d'acquérir des nutriments via la nutrition hétérotrophe. Or, selon les métaux, la fraction particulaire est largement dominante (cf. 3.1.2) et pourrait constituer une source d'apport non négligeable, surtout dans le cas où le métal bénéficie directement à l'hôte, comme pour le nickel (Biscéré et al., 2017, 2018). De plus, aucune étude n'ayant couplé les deux types d'apports (particulaire et dissous), aucune information n'est disponible à propos d'une potentielle préférence de la part des coraux pour une des deux formes.

Toutefois, les résultats obtenus récemment pour *S. pistillata*, mettant en évidence un apport significatif d'ETMs aux symbiotes par la nutrition hétérotrophe (Ferrier-Pagès et al., 2018), démontrent qu'il serait pertinent d'y accorder davantage d'importance. Des expériences supplémentaires couplant un apport dissous de métaux non radioactifs parallèlement à un apport organique (*Artemia*) marqué avec un traceur radioactif pourraient permettre d'identifier la voie d'assimilation préférentielle. Les proies pouvant potentiellement libérées des métaux sous formes dissoutes, il conviendrait au préalable d'estimer les quantités relarguées, afin de ne pas surestimer l'apport hétérotrophe. Aussi, des expériences distinctes utilisant chacune des deux formes permettraient de savoir si les métaux acquis par différentes voies sont utilisés de la même façon dans le métabolisme et produisent des effets similaires.

5.3.4 Coraux acclimatés

Les expériences réalisées durant cette thèse ont presque toujours été effectuées avec des coraux provenant de milieux non impactés. Pourtant, la dynamique évolutive fait que les coraux régulièrement, voire constamment, exposés à des conditions différentes pourraient s'acclimater ou s'adapter à ces nouvelles conditions. Ce phénomène d'acclimatation a déjà été mis en avant pour l'acidification des océans par exemple. Alors que de nombreuses études en aquarium soulignent une grande variabilité des réponses à l'OA (Anthony et al., 2008 ; Comeau et al., 2017), les études *in situ* au niveau des résurgences volcaniques où les coraux sont soumis depuis longtemps à des conditions extrêmes de pH, tendent à montrer que ceux-ci se seraient acclimatés en ayant des capacités photosynthétiques plus importantes (Rodolfo-Metalpa et al., 2011 ; Noonan & Fabricius, 2016 ; cf. 2.4.3).

Partant du principe que les coraux pourraient également s'acclimater à des concentrations métalliques plus importantes, il serait très intéressant de réaliser des expériences similaires avec des coraux provenant de zones enrichies en métaux. D'une part, leur tolérance à la potentielle toxicité des métaux pourrait être bien supérieure, et d'autre part, ils pourraient avoir développés des mécanismes d'adaptation aux plus fortes concentrations dans l'eau, en favorisant par exemple le transport passif à travers les membranes, moins coûteux, ou en ayant de meilleures capacités de séquestration. De même, il a été montré que certains gènes impliqués dans la gestion des défenses antioxydantes (ferritin, Zn^{2+} -metalloprotéase, Mn-SOD) sont surexprimés lors d'un stress thermique (Császár et al., 2009), or toutes ces enzymes dépendent d'un métal qui pourrait alors favoriser leur expression lors d'un enrichissement et donc diminuer la sensibilité des coraux à l'augmentation de la température.

Il serait envisageable, par exemple, d'échantillonner des coraux au fond de la baie de Vavouto (Nouvelle-Calédonie) où les concentrations en métaux sont particulièrement élevées, et de comparer leur seuil de blanchissement avec celui de coraux prélevés à la barrière par exemple (et donc non soumis à un quelconque enrichissement). De même, les coraux de la Mer Rouge, qui seraient davantage thermo-tolérant que dans le reste du monde (Krueger et al., 2017), vivent dans un environnement particulièrement riche en métaux (Tableau 6). Ainsi, reproduire des expériences similaires en soumettant des espèces communes à la Mer Rouge et à la Nouvelle-Calédonie, comme *S. pistillata*, à des métaux largement présents en Mer Rouge comme le nickel ou le manganèse (Tableau 6) et à un stress thermique, afin d'identifier de potentielles adaptations aux métaux, qui

pourraient par exemple expliquer l'importante thermo-tolérance des coraux de Mer Rouge (Krueger et al., 2017).

5.3.5 Au-delà de la physiologie corallienne

La totalité des expériences menées au cours de cette thèse se sont concentrées sur l'effet des métaux et des changements climatiques sur la physiologie des coraux, toutefois de nombreux autres paramètres seraient à étudier, afin de cerner pleinement l'effet des métaux.

Par exemple, le microbiome des coraux regroupe de très nombreux micro-organismes. Or, les micro-organismes jouent un rôle primordial dans les cycles biogéochimiques des métaux, il pourrait donc être intéressant d'observer s'il existe des changements dans le microbiome de coraux vivants dans des zones riches en métaux. Un microbiome adapté pourrait éventuellement bloquer la toxicité de certains métaux en les rendant non biodisponible ou au contraire les rendre davantage biodisponible. Nous avons vu également que la vitamine B₁₂ produite uniquement par le microbiome (Agostini et al., 2009) pouvait potentiellement avoir un rôle dans la stimulation de la photosynthèse par le cobalt.

Par ailleurs, étudier la réponse du transcriptome ou du génome face à un enrichissement métabolique permettrait également de mieux comprendre l'effet des métaux et de détecter de potentielles formes d'adaptation. Par exemple, il a été montré qu'une concentration de 30 µg L⁻¹ de cuivre inhibait l'expression de deux gènes impliqués dans les processus de calcification (Schwarz et al., 2013).

Enfin, il serait intéressant de regarder l'effet des métaux à l'échelle des communautés, afin d'observer d'éventuelles prédominances de certaines formes ou de certains genres coralliens en fonction des conditions métalliques. Calculer les CF d'un panel d'espèces soumis à différents enrichissements métalliques, par exemple, pourrait être un point de départ pour identifier les espèces potentiellement sensibles à un enrichissement. Ce type d'étude a déjà été réalisé pour l'acidification des océans et a notamment permis d'identifier des genres « gagnants » et des genres « perdants » (Fabricius et al., 2011).

ANNEXES

Annexe 1 : Publication n°6

Suitability of the high $p\text{CO}_2$ shallow water hydrothermal system at Ambitle Island (Papua New Guinea) to study the effect of high $p\text{CO}_2$ on coral reefs

T. Pichler^{1*}, T. Biscéré², J. Kinch³, M. Zampighi², F. Houlbrèque², R. Rodolfo-Metalpa²

¹ Geosciences, University of Bremen, Klagenfurter Str. 2-4, 28359 Bremen, Germany

² IRD, ENTROPIE (UMR 9220), BP A5, 98848 Nouméa Cedex, New Caledonia

³ National Fisheries College, PO Box 239, Kavieng, New Ireland Province 611, Papua New Guinea

Abstract

Volcanic CO_2 seeps have been successfully used to predict *in situ* coral reef responses to ocean acidification. In such natural laboratories, toxic contaminants, often characteristic of hydrothermal vents have rarely been reported. Here, we measured the physicochemical conditions, seawater carbonate chemistry and trace elements at the shallow water hydrothermal vents in Tutum Bay, Ambitle Island, New Ireland Province, Papua New Guinea.

We found that the intense CO_2 emission constantly expose coral reefs that are located throughout Tutum Bay to seawater pH_T of 7.6 to 7.7. Arsenic and silica were enriched by up to six times in surface seawater, while bottom concentrations, although somewhat enriched in As, were similar to other coral reef areas around the world. Manganese, cesium, iron and zinc levels were slightly higher as well, but values also fell into the range of values reported for other coastal environments. Our measurements suggest that Tutum Bay is a suitable site to study the response of coral reefs to high $p\text{CO}_2$. Considering, however, that arsenic is a common metal in hydrothermal fluids, its characterization should be an integral element of any study that uses volcanic CO_2 seeps as natural laboratories for ocean acidification.

1. Introduction

Oceanic uptake of anthropogenic carbon dioxide (CO₂) and the associated alteration of ocean carbonate chemistry (*i.e.*, ocean acidification, OA), might affect various physiological parameters at different life stages of marine organisms, from reproduction, through larval phases and to their adult stages involving molecular, physiological, developmental and behavioral processes (Doney et al., 2009). Ocean acidification is also expected to cause changes in biodiversity and ecosystem functioning at global scales within this century (Yang et al., 2016). Calcifying species, such as coral reefs, which harbor a large part of the world's ocean biodiversity (Reaka-Kudla, 1997), will likely be most affected by OA since calcification and dissolution rates seem to be linked to seawater carbonate chemistry (Allemand et al., 2011). In general, many laboratory experiments and field observations showed a decline in coral net calcification (*e.g.*, De'ath et al., 2009; Erez et al., 2011) and an increase in the dissolution rates of carbonate skeletons (Enochs et al., 2015 ; Wisshak et al., 2012) and reef sediments (Eyre et al., 2018) associated with lower aragonite saturation states.

Currently, our ability to predict the impact of OA on coral reefs remains limited and predictions are still uncertain. This is because the quasi totality of studies that have been conducted were unable to recreate in their experiments the variability (physical, chemical, biological) of real-world coral reefs; the number of biotic and abiotic factors which can affect the coral metabolism in the wild (*e.g.*, light irradiance, natural food, natural changes in the main environmental parameter, etc.); and the complex, sometimes poorly understood interactions among species, and habitats. In 2008, Hall-Spencer and co-authors used submarine shallow volcanic CO₂ vents of Ischia in the Gulf of Naples, Italy as a natural analogue for future, more acidic conditions. There natural CO₂ vents with continuous emissions of near-pure CO₂ from below the seafloor alter the ambient seawater chemistry, thus providing an environment to study long-term responses to future acidification levels (Barshis, 2015 ; Stillman & Paganini, 2015). Although several natural limitations exist using these sites as analogues for future conditions (Fabricius et al., 2014 ; Hall-Spencer et al., 2008 ; Vizzini et al., 2013), CO₂ vents provide the best known system to study long-term effects of OA on coral reefs. This is because the acidified seawater conditions found at such sites occurs on sufficiently large spatial and temporal scales to integrate ecosystem processes, such as allowing resident species to acclimatize or adapt (*e.g.*, Calosi et al., 2013; Rodolfo-Metalpa et al., 2011).

Following the pioneering studies at Ischia, other CO₂ vents were used to assess organism response to OA. Other vent sites include Vulcano, Panarea and Columbretes in the Mediterranean Sea (; Boatta et al., 2013; Caramanna et al., 2012; Linares et al., 2015); one in New Zealand (Brinkman & Smith, 2015); two in Japan (Agostini et al., 2015 ; Inoue et al., 2013); two in Papua

New Guinea (PNG) at the d'Entrecasteaux Island (Fabricius et al., 2011); Taiwan (Chen et al., 2015), Indonesia (Januar et al., 2016), Azores (reviewed by Couto et al., 2015), Mexico (Pettit et al., 2013 ; Prol-Ledesma et al., 2013), and at the Commonwealth of the Northern Mariana Islands (Enochs et al., 2015). With the exception of the two identified vent sites in PNG, which allowed to partially replicate field observations (Fabricius et al., 2011), in general each vent site is unique and limited in space. Vent sites differ in their geographical occurrence (temperate, tropical and sub-tropical), depth, habitats, geomorphology, species distribution, making it difficult to compare conclusions between studies.

In order to better identify commonality in OA response and to isolate factors that are responsible for any specific ecosystem effect, future research needs to replicate such observations in a larger number of natural laboratories, such as new CO₂ vents, semi-closed lagoons (Barkley et al., 2015) or extreme environments (Camp et al., 2017, 2018). With this in mind, we examined a CO₂ vent site surrounding an apparent rich and diverse coral reef in Tutum Bay, Ambitle Island, New Ireland Province in PNG, first described by Pichler & Dix (1996). For this site already exists a complete chemical description of the hydrothermal fluids, sediments pore waters including trace elements contents as well as a general census of some key-habitat species, including archaea and bacteria (*e.g.*, Akerman et al., 2011; Karlen et al., 2010; Meyer-Dombard et al., 2012).

Compared to the large number of chemical measurements made for the hydrothermal fluids in Tutum Bay, only rare pH and seawater carbonate chemistry measurements data have been reported. The elements Mn, Cs, Fe, Zn, and specially As, which are typical for hydrothermal vents were elevated compared to seawater. The problem of metal pollution, however is not specific to coral reefs around CO₂ vents as many reefs worldwide (*e.g.* Costa Rica, Panama, Red Sea, Thailand, New Caledonia) can have high metal levels (Ali et al., 2011 ; Biscéré et al., 2015, 2017 ; Fujita et al., 2014 ; Guzmán & Jiménez, 1992 ; Moreton et al., 2009 ; Tanaka et al., 2013 ; Whitall et al., 2014). While many experimental studies have emphasized the harmful effect of high concentrations of metals on coral reproduction and early life stages (Gissi et al., 2017 ; Reichelt-Brushett & Harrison, 2000, 2004, 2005 ; Reichelt-Brushett & Hudspeth, 2016), it has also been shown that some of them can play key roles in the functioning of corals (Biscéré et al., 2017, 2018 ; Ferrier-Pagès et al., 2001). Zinc for example is essential for the health and growth of corals as it is a cofactor of more than 300 enzymes involved in several metabolic pathways (Houlbrèque et al., 2012).

Here we evaluated the environmental and physicochemical conditions in Tutum Bay based on data collected during two research periods in September 2016 and May 2017. The aim of this research was: i) to assess the seawater carbonate chemistry of Tutum Bay and to define a coral reef

area which is chronically affected by OA-like conditions and therefore suitable to be established as a living and natural laboratory for OA studies; and ii) to assess the concentrations of trace elements in seawater in the study area. In addition, the potential biological effect of contaminants on coral reefs is also discussed in reference to the literature on the effects of metals on sessile marine organisms.

2. Materials and methods

2.1. Study site

Submarine hydrothermal venting activity is located at Tutum Bay, Ambitle Island (04° 03' S, 153° 34' E; NW) of New Ireland Province, PNG (Figure 60). Tutum Bay is characterized by a well-developed and diverse fringing coral reef surrounded by medium-to coarse-grained mixed carbonate-volcaniclastic sand and gravel (Pichler & Dix, 1996 ; Pichler et al., 1999b). As described by Pichler et al (1999), there are at least four main hot vents at around 8 m depth, and hundreds of both dispersed and diffuse seeps. Hot vents discharge a clear, two-phase fluid from discrete ports, 10 to 15 cm in diameter, while seeps discharged streams of gas bubbles emerging directly through the sandy to pebbly unconsolidated sediment. Gas composition of both seepages contained 93 to 98% CO₂, with minor amounts of nitrogen (N₂, 2 to 5%), methane (CH₄, < 2%), oxygen, <1%), a trace of helium and, most importantly, no traces of sulfur compounds, such as H₂S (Pichler et al. 1999).

In September 2016 and May 2017 we worked at Tutum Bay on board the Research Vessel *Alis*, during eight and seven days respectively. A reference site, which had a similar topography but with seawater pH at its normal value (*i.e.*, 8.0 pH_T unit) was found one mile to the south of Tutum Bay.

2.2. Acquisition of field data and sample collection

During the first research period in September 2017, a 50 m long benthic transect was fixed in shallow water at around 4 m depth (Figure 60). Here, three SeaFET (stations 1, 2, and 3) measuring pH_T (total scale) and one YSI 600 OMS-M probe, measuring depth, salinity, oxygen and temperature in combination to the SeaFET at station 1 (St 1) were deployed measuring at 10-min intervals for 6 days. Seawater samples were collected twice a day along the benthic transect. In the same way seawater samples were also collected from nine fixed stations around the benthic transect (stations 4-12, Figure 60). Seawater samples were also collected two times a day at the reference site where the one YSI 600 OMS-M probe was secured at 5 m depth for 36 h. pH values were

immediately measured onboard, while water samples were preserved for the measurement of total alkalinity (see below).

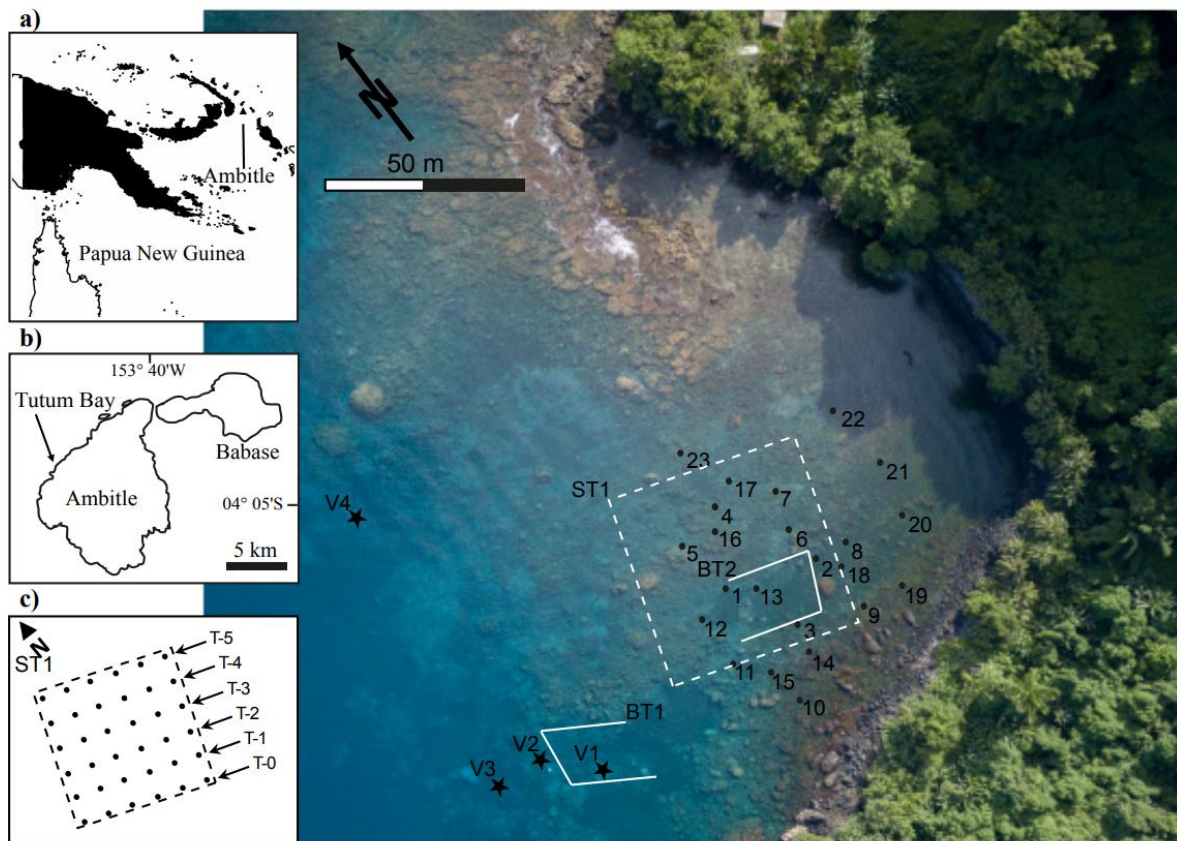


Figure 60. Aerial picture of Tutum Bay showing the benthic transect (white line); the area investigated for trace elements in seawater (dashed square, also in panel C); the position of the 23 stations where the pH was measured during two cruises in September 2016 and May 2017 using SeaFETs. Stars indicate the position of the four main massive vents. Reference site was around 1 mile south of Tutum Bay.

To assess the hydrothermally derived physicochemical gradients at the study site, a 3-D sampling grid (Figure 60) was constructed using metered rope in combination with a Bad Elf® WAAS GPS. Six transects (T0 to T5) with a 10 m spacing were established and samples were collected at different tide levels during three subsequent days (Figure 60). Three, four and two transects were sampled respectively on the 17th, 18th and 19th September 2016. During the three days of sampling, surface and bottom seawater (36, 48 and 24 samples, respectively) were collected simultaneously by a team of two divers into 20-mL syringes at 0.2 m below sea surface and at 0.5 m above seafloor. In particular, transect 2 (T2 in Figure 60) was always sampled during the three consecutive days to assess any potential temporal variability. The water level (tide) was monitored at one minute intervals during the three sampling days using a combination of two Onset HOBO pressure loggers, one measuring water pressure and the other measuring barometric pressure. This

combination allowed for compensation of changes in atmospheric pressure and measurements were used to corroborate depth variations measured by the YSI 600 OMS-M probes. In addition to seawater samples taken inside the study area, normal seawater was also sampled at the reference site and from the four major hydrothermal vents. Those samples (*i.e.*, reference and vents) were considered the respective end members for the physicochemical composition of Tutum Bay seawater.

In order to collect the fluid discharged from the main hydrothermal vents without the entrainment of ambient seawater, samples were collected by inserting a Teflon tube as far as possible into the vent orifice or covering the vent orifice with a Teflon funnel. Samples were collected into 60 mL syringes once the temperature of the discharge through either the tube or funnel was identical to the maximum temperature of each vent. On return to the Research Vessel, the pH was measured immediately and the samples were filtered to $< 0.2 \mu\text{m}$. A 10-mL aliquot was acidified with ultrapure HNO_3 and stored in high density polyethylene bottles for later laboratory analyses of Si and As. Conductivity was measured using a Myron Ultrameter 6P.

During the second research period in May 2017, one SeaFET and one YSI probe were secured close to the benthic transect (station 13) used in September 2016, while another set of instruments were deployed at the reference site, and left there during four consecutive days. Unfortunately, due to technical issues, the SeaFET recorded only for 24 h. Two other instruments were subsequently moved each 24 h period (from ca. 10 am) among sites within the bay to give ten 24-h cycles of pH and temperature (stations 14 to 23). The GPS position of each site was recorded using a portable Garmin GPSMAP 60CSx and recorded aerially by drone imaging (a buoy was positioned at the sea surface) (Figure 60).

2.3. Carbonate chemistry measurements

After collection seawater samples were brought on board the Research Vessel and the temperature as well as pH were measured immediately. pH was measured in total scale (pH_T) for the benthic transect and general seawater carbonate chemistry measurements at Tutum Bay (these parameters were also measured by the SeaFETs) using National Bureau of Standards (NBS) along the grid of collection for the hydrothermally derived physicochemical gradients. pH in total scale (pH_T) was measured using a pH-meter and electrode (Methrom 913 pH meter) calibrated using TRIS buffers (A.G. Dickson, batch #T28, Scripps Institute of Oceanography). Discrete water samples were also taken at the start and end of each SeaFET deployment to corroborate or correct the pH_T measurements. pH in NBS scale (pH_NBS) was measured using a Hanna Instruments Halo

Bluetooth probe in conjunction with the Hanna Lab app on an Apple iPad. The pH probe was calibrated at the beginning and checked at the end of each series of measurements. In between each sample, fresh seawater (pH 8.08) was measured as a reference check for electrode drift.

Seawater samples were filtered through 0.45- μm Whatman filters using a Nalgene vacuum system and stored at 4 °C in the dark for further testing at the Institut de Recherche pour le Développement (IRD) in New Caledonia. Total alkalinity (A_T) was determined using an autotitrator (TIM865 Titrab, Radiometer). Three replicate 20 mL sub-samples were analyzed at 25 °C. The pH was measured at 0.02 mL increments of 0.01 N HCl. Total alkalinity was calculated from the Gran function applied to pH from 4.2 to 3.0, as mEq L^{-1} from the slope of the pH *vs* HCl curve. Results were corrected against A_T standards provided by A.G. Dickson (batch #155). Parameters of the carbonate system [$p\text{CO}_2$, CO_3^{2-} , HCO_3^- and saturation state of calcite (Ω_{calc}) and aragonite (Ω_{arag})] were calculated from pH_T (min, mean and max values per station); mean A_T , temperature and salinity (34 ‰) were tested using the free-access CO2SYS package.

2.4. Trace element calculations and concentration maps

The seawater reference, study area samples and vent samples were analyzed for silica (Si) and arsenic (As) content in the Geochemistry and Hydrogeology laboratory at the University of Bremen. Silica was analyzed by ICP-OES using a Perkin Elmer Optima 7300 instrument. The samples were diluted 10-fold to decrease salt loading of the instrument. To improve the detection of Si, its ionization was facilitated by adding 5 % methanol to each sample (*e.g.*, Hu and Liu, 2004; Wu and Pichler, 2014). Instrument drift and memory effects were monitored by adding a blank and drift monitor solution after each 10 samples. The NIST Trace 1643e and IAPSO K15 solutions were used as external certified references. Based on repeat measurements and comparison to 1643e analytical uncertainty was determined to be better than 2 % for the Si analyses. Arsenic was analyzed by hydride generation – atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) using a PS Analytical Millennium Excalibur instrument following a well-established method (Price et al., 2007). The accuracy and precision of the measurements were verified by adding a blank and drift monitor solution after each 10 samples and using the NIST Trace 1643e and IAPSO K15 solutions as external certified references. Analytical uncertainty was determined to be better than 5 %.

Contour maps for pH_{NBS} , As and hydrothermal component, *i.e.*, the percentage of hydrothermal fluid (HF) present in Tutum Bay seawater were created with the computer code Surfer using data collected from transects T0, T2, T3 and T5 on September 18th 2016. Kriging was used for interpolation between sampling points to cover a total area of 70 x 70 m (*e.g.*, Bárdossy

and Bárdossy, 1984). The element silica (Si) was chosen as an indicator of hydrothermal fluid because its concentration difference between the reference seawater and hydrothermal fluid was the largest of all elements previously measured in Tutum Bay (Pichler et al., 1999b). Considering the short distances of less than 100 m and thus short residence times in the actual area of interest, conservative behavior was assumed for Si (see also the discussion). Based on the Si concentrations the hydrothermal component in Tutum Bay seawater was calculated using a simple mass balance equation:

$$C_{TBW} = x C_{SW} + y C_{HF} \quad (1)$$

where C_{TBW} is the Si concentration in Tutum Bay seawater; C_{SW} , the Si concentration in reference seawater and C_{HF} , the silica concentration in the hydrothermal fluid.

In the same way, the abundances of for Li, Be, Rb, Sr, Mo, Sb, Cs, Ba, Tl, Al, V, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Pb and U were also calculated based on their previously reported concentrations (Pichler et al., 1999) and using the mass balance equation (1). All data were presented as mean $\pm$ standard deviation if not specified.

3. Results

3.1. Tutum Bay seawater carbonate chemistry

Data recorded from the three SeaFETs along the benthic transect in September 2016 (six days, stations 1, 2 and 3) and in May 2017 (six days, station 13) showed that pH_T values were always below the ones measured at the reference station (Tableau 20; pH_T 8.01 ± 0.03 , suggesting that the area was permanently exposed to acidic conditions (Figure 61, Supplementary Tableau 23, Supplementary Figure 64). Mean pH_T and Ω_{arag} values were respectively 7.64 ± 0.1 and 1.83 ± 0.36 (Sts 1-3 13 pooled). The highest and lowest pH data measured were 7.35 pH_T (St 13) and 7.93 pH_T (St 3), corresponding at a range in Ω_{arag} of 0.95 and 3.14, respectively. All around the benthic transect, at stations 4 to 12, which had been measured twice per day during six consecutive days in September 2016, the mean pH_T varied between 7.57 ± 0.09 (St 9) and 7.79 ± 0.04 pH_T (St 4) (Supplementary Tableau 24).

Data from the SeaFETs recorded in May 2017 from different stations in Tutum Bay (St 14 to 23; Supplementary Figure 65, Supplementary Tableau 25) showed that the average pH_T of seawater in Tutum Bay ranged from 7.51 ± 0.14 (St 14) to 7.83 ± 0.09 (St 23), corresponding to

0.5 to 0.2 pH units lower than at the reference station (8.01 ± 0.03). The average Ω_{arag} range for Tutum Bay was 2.14 ± 0.66 (Tableau 20).

Tableau 20. Seawater temperature and pH_T measured at the reference site (St Ref), and at the vents site in Tutum Bay. Carbonate chemistry parameters were calculated with CO₂sys using the temperature and pH_T data collected either by the SeaFETs at 10-min logging interval (stations 1-3 and 13-23), or two times a day by SCUBA diving (stations 4-12), or both (station Ref). Other setting were: mean total alkalinity ($\mathcal{A}_T = 2158.5$ and $2182.6 \mu\text{mol kg}^{-1}$, for St. Ref and Tutum Bay stations, respectively; $n = 28$ and 95 , respectively), and salinity (34). Mean pH were calculated after conversion of data to hydrogen ion concentrations. Number of samples n is in brackets.

Station		T (°C)	pH_T	$p\text{CO}_2$ μatm	CO_2 $\mu\text{mol kg}^{-1}$	HCO_3^- $\mu\text{mol kg}^{-1}$	CO_3^{2-} $\mu\text{mol kg}^{-1}$	C_T $\mu\text{mol kg}^{-1}$	Ω_{calc}	Ω_{arag}
St Ref (158)	Mean	30.37	8.009	412	10	1629	214	1854	5.25	3.52
	SD	0.12	0.035	43	1	33	13	21	0.32	0.22
	Min	29.84	7.917	347	9	1575	181	1820	4.44	2.97
	Max	30.93	8.066	532	13	1712	235	1906	5.78	3.87
St 1-3, 13 (3174)	Mean	30.53	7.637	1140	29	1912	111	2052	2.74	1.83
	SD	0.12	0.100	306	8	55	22	40	0.54	0.36
	Min	30.19	7.346	515	13	1716	58	1920	1.42	0.95
	Max	30.91	7.933	2369	59	2044	191	2162	4.69	3.14
St 4-12 (108)	Mean	30.52	7.713	973	24	1873	128	2024	3.13	2.10
	SD	0.12	0.110	305	8	64	26	46	0.64	0.43
	Min	30.34	7.463	553	14	1740	75	1935	1.85	1.24
	Max	31.00	7.908	1774	44	2002	181	2121	4.44	2.97
St 14-23 (1589)	Mean	30.60	7.679	1025	25	1867	130	2022	3.19	2.14
	SD	0.23	0.161	478	12	99	40	69	0.98	0.66
	Min	30.08	7.155	336	8	1572	39	1829	0.97	0.65
	Max	31.48	8.081	3770	93	2090	249	2222	6.11	4.10

Tidal range in Tutum Bay varied by a maximum of 1 m (Figure 61), which corresponded to a water pressure of ca. 10 KPa (0.1 bar). This change in water pressure was concomitant to a change in pH, *i.e.*, higher pH values were recorded consistently at high tide.

Salinity (34 ‰), temperature (30 to 31 °C), $\mathcal{A}_T$ (2158.5 and $2182.6 \mu\text{mol kg}^{-1}$, for Sts Ref and the Tutum Bay stations, respectively) and dissolved oxygen (5 to 6 mg L^{-1}) did not significantly differ between Tutum Bay and the reference site (data not shown).

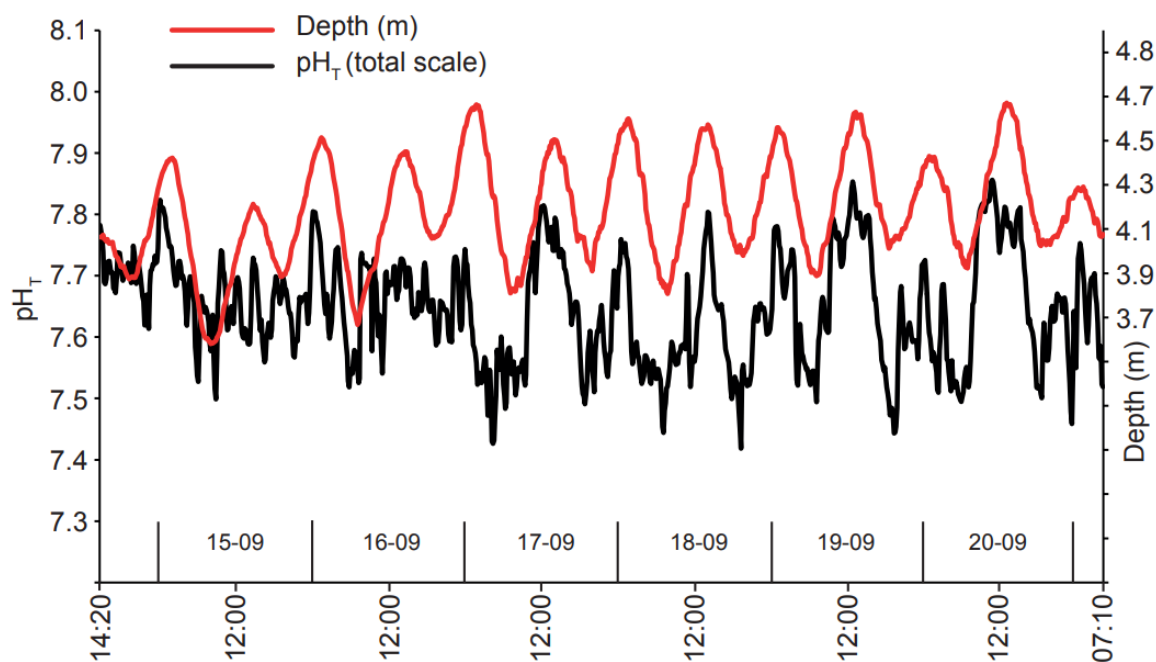


Figure 61. Sea level and pH_T (total scale) variations recorded in Tutum Bay at station 1 from the 14th to 21th September 2016. One YSI 600 OMS-M probe was coupled to one SeaFET recording at 10-min logging interval depth (m) and pH_T . The tick mark on the X-axis inside the chart denoted midnight.

3.2. Chemical composition of Tutum Bay seawater

Average seawater ($n = 2$) from the reference site had a pH_{NBS} of 8.08 pH units and Si and As concentrations were 0.04 mg L^{-1} and $1.42 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectively (Supplementary Tableau 26). The average vent water ($n = 4$) had a pH_{NBS} of 6.17 and Si and As concentrations were 97.6 mg L^{-1} and $928 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$, respectively. Thus, relative to reference seawater, Si was enriched in the hydrothermal fluids by a factor of about 2,400 and As by about 650. Electrical conductivity, which is an approximate measure of total dissolved solids (TDS) was one order of magnitude higher in the reference seawater than in the hydrothermal fluids. Relative to the reference seawater, only Mn ($3.2 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), Cs ($1.8 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$), Fe ($1.8 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) and Zn ($1.8 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$) were somewhat enriched (Tableau 21), while the remaining trace elements were similar to ambient seawater.

Tableau 21. Trace elements measured (Si and As; see Supplementary Table S2) and calculated at the reference station, from the vents and at the study site ST1 in Tutum Bay. To calculate the mean, standard deviation, minimum and maximum values, all data from the transect T0-T5, both bottom and surface seawater, were pooled.

Element ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Reference seawater	Vent Water	Study site ST1 seawater			
			Mean	St. Dev.	Min	Max
Silice (mg L^{-1})	0.04	97.6	0.8	0.3	0.3	2.2
Arsenic	1.4	928	7.5	2.5	2.8	15.1
Lithium	137	980	143	3.0	137	155
Beryllium	0.3	1.3	0.3	0.0	0.3	0.3
Rubidium	104	350	106	0.9	104	109
Strontium	7991	7088	7984	3.2	7971	7991
Molybdate	10.4	4.7	10.3	0.0	10.2	10.3
Antimony	0.5	8.1	0.6	0.0	0.5	0.7
Cesium	0.6	57.9	1.0	0.2	0.6	1.8
Baryum	10.0	54.9	10.4	0.2	10.0	11.0
Tantalum	0.3	4.5	0.3	0.0	0.3	0.3
Aluminium	17.0	31.2	17.1	0.1	17.0	17.3
Vanadium	1.7	0.3	1.6	0.0	1.6	1.6
Manganese	1.6	440	5.1	1.6	1.6	11.2
Iron	15.0	1458	26.6	5.1	15.0	46.6
Cobalt	0.03	0.33	0.03	0.0	0.03	0.04
Nickel	1.8	0.9	1.8	0.0	1.8	1.8
Copper	0.2	1.8	0.2	0.0	0.2	0.3
Zinc	0.3	31.1	0.5	0.1	0.3	1.0
Lead	0.1	0.4	0.1	0.0	0.1	0.1
Uranium	2.9	0.2	2.9	0.0	2.9	2.9

3.3. Effects of the hydrothermal fluids on the seawater pH and metal concentrations

The Si and As concentrations, as well as pH systematically and significantly differed between surface and bottom water sample. At any point at the study site area, surface water had always significantly (ANOVA, $p < 0.001$) lower pH and higher Si and As concentrations than bottom water (Figure 62; Supplementary Figure 66; Supplementary Tableau 26). The average concentration of As in surface water was $8.99 \mu\text{g L}^{-1}$ and in bottom water $5.94 \mu\text{g L}^{-1}$, a difference of approximately 34 %. The average concentration of Si in surface water was 1.06 mg L^{-1} and in bottom water 0.64 mg L^{-1} , a difference of approximately 39 %. The average pH_{NBS} in surface water

was 7.58 and in bottom water 7.71, a difference of approximately 24 %. With 50.6 mS cm^{-1} compared to 50.8 mS cm^{-1} , surface seawater had a slightly lower electrical conductivity than bottom water. The amount of hydrothermal fluid present in seawater of the study area ranged between 0.3 % and 1.5 % and showed the same layering as pH and As.

Transect 2 (T2 in Figure 60c) was sampled on three consecutive days to assess temporal variability (Supplementary Tableau 27). The values for pH, Si and As, both for bottom and surface samples, varied by up to 30 % between the sample dates. This variation was systematic in the sense that the ratio between Si and As remained approximately constant, and that both Si and As concentrations at the study site were negatively correlated to pH (Figure 63). Therefore, their concentrations were directly related to the observed variation in pH as a result of tide level (see above).

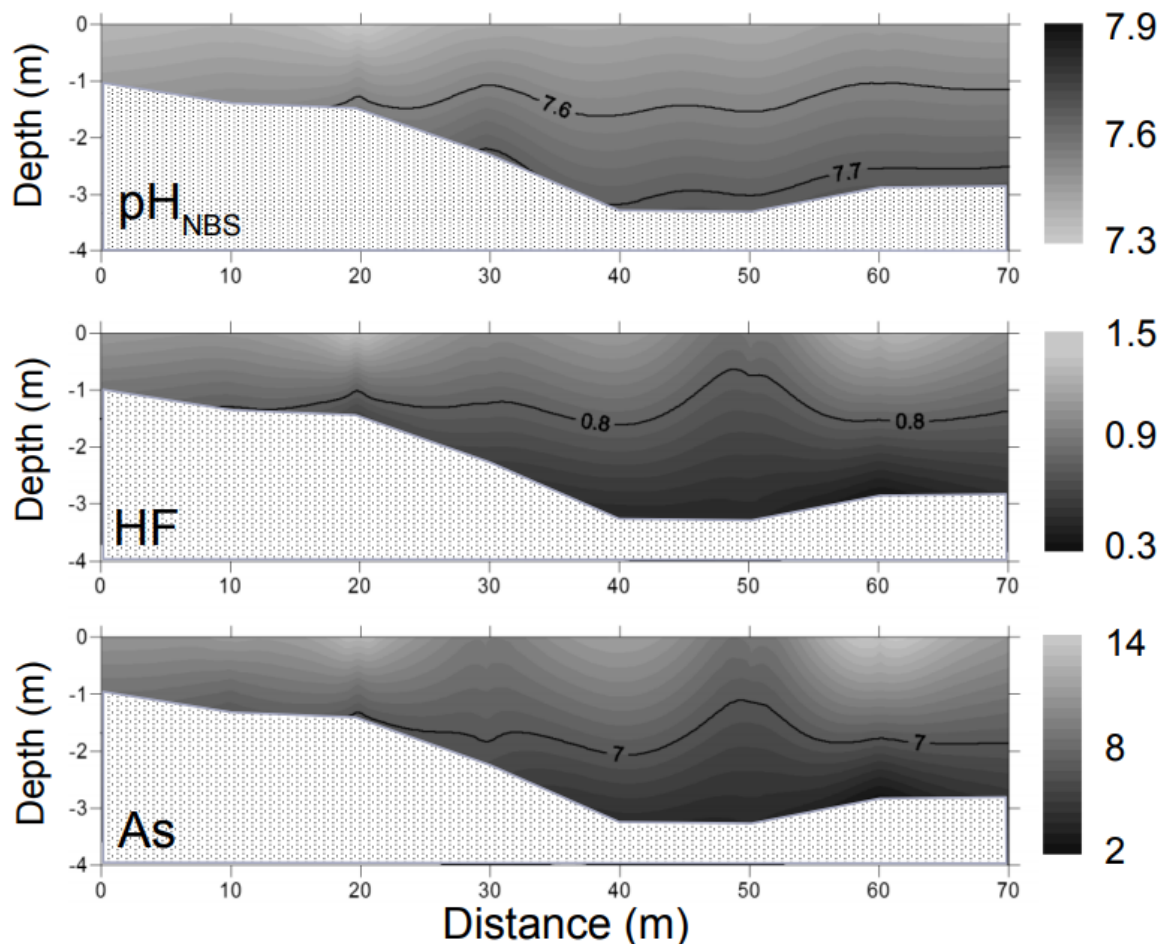


Figure 62. Cross sections of: (a) seawater pH_{NBS} ; (b) the hydrothermal fluid (HF); (c) arsenic content (As) through the center of the study area in Fig. 1, and parallel to transects T2 and T3 in Fig. 1c. The direction of the section was from the inner bay toward the vents (from 0 to 70 m distant).

4. Discussion

Extreme environments such as CO₂ vents have become popular since the first study by Hall-Spencer and colleagues (Hall-Spencer et al., 2008) at the Ischia in Italy revealed the opportunities offered by these natural sites in assessing the ecosystem scale effects of ocean acidification. Even though CO₂ vents are not perfect analogues of future conditions, they should be one of the best natural settings to investigate individual physiological responses and ecosystem functioning changes to extreme conditions. The main limitations in using these systems as proxies to assess the future of coral reefs are: i) the large variation in pH, often approaching undersaturated conditions or even ambient unaffected $p\text{CO}_2$ values; ii) the limited area of the reef actually affected by the vent emissions (*i.e.*, tens to hundreds of meter squares); and iii) the water quality of the area, as shallow-water hydrothermal vents can frequently introduce large amounts of potentially toxic elements and gases (*e.g.*, Dando et al., 1999).

With regards to Tutum Bay, our measurements and observations showed that Tutum Bay is an opportune candidate to study the effects of ocean acidification on reef organisms, although the fluids emitted by the vents marginally enrich the sea water in Tutum Bay with arsenic and other trace elements.

4.1 Temporal and spatial variability of pH in Tutum Bay

Hydrothermal activity is a dynamic process that can undergo changes in physicochemical conditions through time either waxing or waning due to changes in geological conditions (*e.g.*, German and Von Damm, 2003). Particularly, volcanic activity can have profound short-term effects (Chiodini et al., 2006). Since 1994, when the lead author of this study started the first of seven expeditions to Tutum Bay, hydrothermal activity and thus the physicochemical conditions in Tutum Bay have remained stable. Discharge rates, as well as the chemical composition of hydrothermal fluid and gas has remained constant. Radiocarbon age dating has estimated the last eruption of Ambitle volcano to be approximately 2,300 years ago (Licence et al., 1987) and it is likely that hydrothermal activity within Tutum Bay commenced around that time.

Our measurements, made during two cruises in September 2016 and May 2017, as well as during the last cruise in June 2018 (data not shown), revealed that almost 6,000 m² of coral reef area in Tutum Bay are exposed to seawater with a pH well below modern values. The large amount of CO₂ emitted by the four main vents and the hundreds of smaller seeps all around Tutum Bay maintain the seawater mass at a mean pH_T of 7.68 ± 0.14 from the surface to approximately 6 m

depth. As expected in an area with CO₂ venting (*e.g.*, Kerrison et al., 2011), seawater pH values varied in the bay (Figure 66), regardless however it was frequently measured below the values predicted for the future (*i.e.*, pH_T < 7.8). Indeed, only 6 % of the total seawater pH measurements in Tutum Bay were above 7.9 pH_T units, while 38 % were between 7.7 and 7.9, which correspond to a Ω_{ara} of 2 to 3, and 56 % were below 7.7. Therefore, corals in Tutum Bay rarely benefited from recovery periods at what could be considered “normal” conditions.

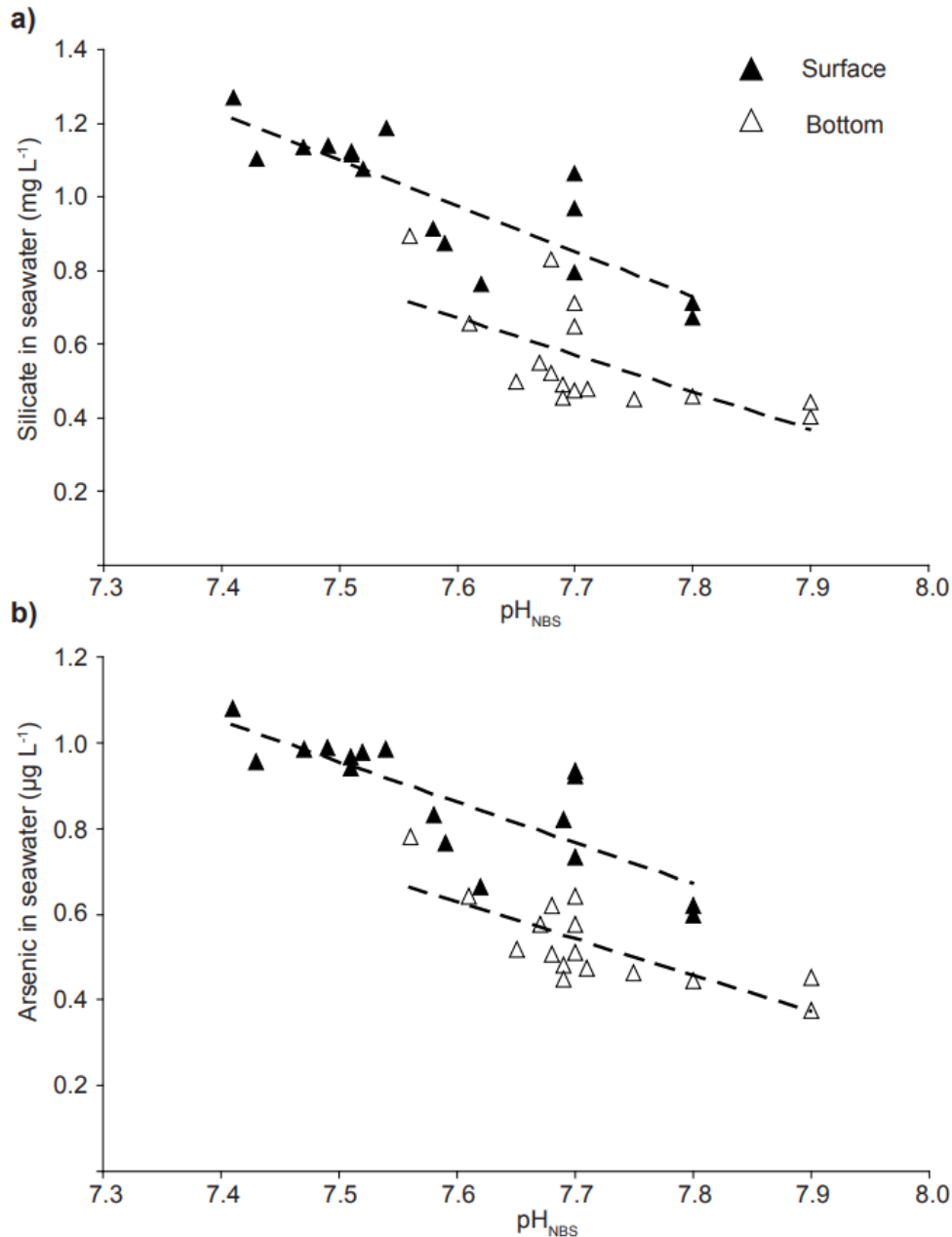


Figure 63. Relationships between silica content (a), arsenic content (b) and seawater pH measured along transect T2 at the study area in Fig. 1 which was sampled during three consecutive days. a) Linear relationships were: $y = -1.2426x + 10.42$ ($r^2=0.695$) and $y = -1.0298x + 8.5026$ ($r^2 = 0.405$) for surface and for bottom samples, respectively. b) Linear relationships were: $y = -9.5192x + 80.954$ ($r^2 = 0.639$) and $y = -8.6073x + 71.7$ ($r^2 = 0.586$) for surface and for bottom samples, respectively.

4.2. *Hydrothermal fluids and chemical composition of seawater in Tutum Bay*

Trace element enrichment is a typical feature in most hydrothermal systems (*e.g.*, Dando et al., 1999; Aiuppa et al., 2006; Villanueva-Estrada et al., 2013) and surprisingly, only a few studies that used such settings for studies of a more biological nature have measured trace elements (*e.g.*, Boatta et al., 2013; Chan et al., 2014; Hung et al., 2018). Most studies limited their measurements to the main gas composition (*i.e.*, CO₂, H₂S, CH₄, N₂, O₂), although determining the seawater trace element composition should be fundamental to assessing the real suitability of a vent system for the study of OA effects on marine organisms.

In Tutum Bay, the four vents, in addition to a number of minor vents and hundreds of seeps, constantly emit a huge amount of gas and fluids at a discharge rate as high as 400 L min⁻¹ (Pichler et al., 1999b). The gas discharge is composed of more than 95 % CO₂ with minor CH₄, N₂ and O₂ (Pichler et al., 1999b). The most important point, however, was the complete absence of H₂S and consequently there should be no detrimental effect from the gas phase other than a decrease in seawater pH. In contrast, as most of the above cited CO₂ vents, seawater at the Ambitle Bay is enriched in trace elements, especially in arsenic, since vents and seeps at this site discharge around 1.5 Kg of toxic arsenic form (AsIII) per day (Pichler et al., 2006). During our research, we found that vent water contains up to 928 µg L⁻¹ of As, and 97.6 mg L⁻¹ of Si. Because Si was enriched in the hydrothermal fluids by a factor of 2,400 compared to 650 for As, the abundance of hydrothermal fluid in Tutum Bay seawater was calculated based on the concentration of Si, rather than As. This allowed for a better arithmetic separation between individual samples during calculating of the contour maps. More importantly, however, Si concentrations were consistently by about 24 % higher than those for As, *i.e.*, the Si/As ratio in Tutum Bay seawater was higher than that in the hydrothermal fluid. There are two possible explanations for this observation, one was that either Si was added or As was removed from Tutum Bay seawater between the time of hydrothermal discharge and the time of sampling. The addition of Si from a source other than the hydrothermal fluid is inconceivable since Si concentrations in seawater around Ambitle Island and the region are inherently low (Pichler et al., 1999b ; Treguer et al., 1995) indicating that there are no Si source, such as dust or dissolution of Si bearing phases. The second explanation that As was removed between the time of hydrothermal discharge and the sampling time was more likely and would be consistent with previous observations. Pichler et al. (1999b) concluded that As removal due to sorption by ferrihydrite (HFO) was an effective mechanism to decrease the input of hydrothermal As and to remove As from Tutum Bay seawater. Once discharged As(III) oxides to

As(V) and quickly and efficiently becomes adsorbed (ca. 98.6%, Price and Pichler, 2005) onto the abundant HFO which then precipitates when the hydrothermal fluids mix with ambient seawater in a not bioavailable form (Pichler et al., 1999). While ferrihydrite can also adsorb and incorporate Si during precipitation (*e.g.*, Berquo et al., 2007; Swedlund et al., 2010), the affinity for As should be much larger. That was confirmed by comparing the Si/As ratio in the hydrothermal fluid to that in ferrihydrite. Based on the average concentrations of Si and As concentrations in seven Tutum Bay ferrihydrite samples (Pichler & Veizer, 1999) the Si/As ratio in ferrihydrite precipitated from Tutum Bay hydrothermal fluids is approximately 1.5, while the ratio in the hydrothermal fluid is 99.5. In the absence of Si incorporating organisms, such as abundant diatoms or radiolarian (*e.g.*, Harper and Knoll, 1975), incorporation into ferrihydrite would be the only sink for Si in Tutum Bay. Thus, while there is apparently some removal of Si, the amount seemed to be negligible, *e.g.*, approximately 65 times lower than for As. Since approximately 24 % of As were removed, the relative maximum amount of Si removed would be only 0.4 %.

In Tutum Bay, As and Si concentrations are higher in surface seawater than at the bottom, where the corals are. Arsenic in bottom seawater in Tutum Bay were around $5.9 \pm 1.7 \mu\text{g L}^{-1}$ (Supplementary Tableau 26), a value that is more than 40 % lower than the allowed concentration of As in drinking water (WHO, 2011). That amount is furthermore diminished due to adsorption of As by ferrihydrite, which is abundant in Tutum Bay (Pichler and Veizer, 1999; Pichler et al., 1999b). In conclusion, because of its tremendous affinity to ferrihydrite, As is almost completely removed from the hydrothermal fluid and scarcely present in seawater.

The low concentrations of hydrothermal fluid in the bottom water are not surprising given the physicochemical conditions of the fluid discharge. The vent fluids have a salinity of about 3 ‰ (compared to 34 ‰ for seawater), which combined with their discharge temperature of more than 90 °C, makes them relatively buoyant. As a result, the hydrothermal fluid rises to the surface, where it then dissipates.

Although seawater in Tutum Bay was already reported to be to some extent enriched (or depleted) in some trace elements (Price et al., 2013) we were also interested to determine their concentrations at our study site. Since only minimal amounts of Si (0.4 %) were removed between discharges and sampling (see above) it was permissible to use its concentrations in Tutum Bay seawater to calculate the abundance of several trace elements introduced via hydrothermal activity. Based on the same analysis as for As, the relative enrichments presented in Tableau 21 should be regarded as maximum values, since it is likely that similar to As, some amounts could have been removed from Tutum Bay seawater in the time span between discharge and sampling, as indicated

by elevated concentrations in ferrihydrite and aragonite (Pichler and Veizer, 1999; Pichler and Veizer, 2004). As a result, only Mn, Cs, Fe and Zn were slightly more concentrated in Tutum Bay when compared to the reference seawater (Table 2). These values, although elevated, are in the same range concentrations usually measured in most coastal coral reefs. For instance, for manganese and iron, maximal concentrations around respectively $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ and $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$ have been already measured in different reefs (Bergquist & Boyle, 2006 ; Morley et al., 1997 ; Obata et al., 2008), which remain comparable to what has been measured for these two elements in the present study. For zinc, concentrations can reach $0.4 \mu\text{g L}^{-1}$ in the coral reefs of Aqaba (Ruiz-Pino et al., 1991), which is only 4 times lower than what has been measured in Tutum Bay. Most of the concentrations found in the study area are within the range of values reported in coastal reefs worldwide (**Tableau 22**). Indeed, only manganese (Mn) and especially arsenic (As) were in larger concentrations than in other coastal coral reefs, though it is difficult to generalize since these two metals are rarely measured. On the other hand, arsenic concentrations, even if higher, were far below the Criterion Continuous Concentration (CCC) of $36 \mu\text{g L}^{-1}$ given for marine organisms by the National Recommended Water Quality Criteria of the U.S. Environmental Protection Agency, which represents the highest concentration of metals in surface water to which an aquatic community can be exposed indefinitely without resulting in an unacceptable harm.

4.3. Effects of arsenic and trace elements on corals and other marine benthic organisms

Trace elements are naturally present in seawater and in general they are bioconcentrated in marine invertebrates by one order of magnitude (Eisler, 1981 ; Simkiss & Taylor, 1989). Some trace elements, such as iron (Fe), manganese (Mn), copper (Cu) and zinc (Zn) are essential and beneficial for the organism's metabolism (Rainbow, 2002). Others, such cadmium (Cd), lead (Pb) and arsenic (As) seemingly do not have any biological function and can be toxic (Rainbow, 2002).

Elevated concentrations of trace metals are well known to negatively affect coral health (*e.g.*, (Bastidas & García, 1999 ; Bielmyer et al., 2010 ; Chen et al., 2010 ; Edinger et al., 1998 ; Fabricius, 2005 ; Ferrier-Pagès et al., 2001 ; Guzmán & Jiménez, 1992 ; Mitchelmore et al., 2007). For example, at slightly elevated cobalt concentrations of $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$, a decrease of 28 % in growth rates was observed for the two adult scleractinian coral species (Biscéré et al., 2015). Yet, some studies highlighted that the fertilization success or the early life stage of corals were not so sensitive to higher metal concentrations with relatively high NOEC (No Observed Effect Concentration). Thus, while no effect of Co was observed, the most toxic metal was copper (Cu) with a NOEC around $10 \mu\text{g L}^{-1}$. The sensitivity to Zn was highly species-specific, where the first effect appeared around $10 \mu\text{g Zn L}^{-1}$ for *Acropora tenuis*, nevertheless these two concentrations were much higher

than the one calculated for Tutum Bay (Reichelt-Brushett & Harrison, 2005 ; Reichelt-Brushett & Hudspith, 2016). Otherwise, metals at moderate concentration can also play an essential metabolic role. The range of concentrations calculated for Tutum bay such as $1.8 \mu\text{g Ni L}^{-1}$ or $5.1 \mu\text{g Mn L}^{-1}$, Biscéré et al. (2017 and 2018) show, respectively an enhancement of the calcification rates of *Acropora muricata* and *Pocillopora damicornis* and a stimulation of the photosynthetic parameters of *Stylophora pistillata*.

Tableau 22. Comparison of main trace element concentrations from the study site ST1 in Tutum Bay with a range of concentrations found in coral reef throughout the world.

Region	Elements $\mu\text{g L}^{-1}$							
	As	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Pb
Tutum Bay – Papua <i>This study</i>	2.8- 15.1	1.6- 11.2	15.0- 46.6	0.03- 0.04	1.8- 1.8	0.2- 0.3	0.3- 1.0	0.1- 0.1
Gulf of Thailand <i>Censi et al. 2006</i>	-	-	-	0.01- 0.402	0.259- 4.201	0.459- 2.084	0.302- 1.733	-
New-Caledonia <i>Moreton et al. 2009</i>	-	0.13- 2.53	0.08- 2.65	0.01- 0.13	0.13- 7.10	0.02- 1.63	-	-
Northern Red Sea <i>Ali et al. 2011</i>	-	-	9.10- 28.35	0.21- 0.52	2.33- 5.80	2.08- 5.23	7.18- 15.21	0.37- 0.80
Bay of Bengal <i>Srichandan et al. 2006</i> <i>Rejomon et al. 2008</i> <i>Rejomon et al. 2010</i>	-	0.72- 7.34	0.78- 13.71	0.03- 0.188	0.02- 3.56	0.44- 1.98	0.10- 3.55	0.11- 1.39
Singapore coast <i>Cuong et al. 2008</i>	0.335- 2.035	-	-	-	0.282- 0.784	0.228- 1.163	0.974- 3.662	0.009- 0.062
Australian east coast <i>Munksgaard & Parry 2001</i> <i>Haynes & Johnson 2000</i>	0.394- 1.350	-	0.142- 34.10	0.005- 0.068	0.009- 0.552	0.151- 1.04	0.018- 2.19	<0.002- 0.057
West India <i>Krishnan et al. 2007</i>	-	-	-	0.2- 0.43	0.99- 1.51	4.02- 11.26	10.79- 64.39	1.01- 3.64
South Korea <i>Lee et al. 1998</i>	-	-	-	-	-	0.17- 1.23	0.25- 4.91	0.03- 0.09
National Recommended Water Quality Criteria <i>US EPA 2006</i>	36	-	1000	-	8.2	3.1	81	8.1

The case of arsenic is more complicated because of the lack of studies dealing with its effect in coral reef ecosystems and especially for corals themselves. Benson and Summons (1981) showed that species living with endosymbionts such as the large *Tridacna* or *Hippopus* clams accumulated more As than other species, but As would be stocked in non-toxic organic form (trimethylarsoniumlactate and its derivatives). In addition, Pilson (1974) demonstrated the ability of *Pocillopora damicornis* to reduce arsenate (As V) to arsenite (As III) and suggested that this form,

although toxic as well, could be more easily excreted. Ruiz et al. (2013) found that As(III) was biosynthesized by *C. neritea* to the non-toxic tetramethylarsonium ion. So, between the possibilities of an efficient non-toxic storage and their excretion capabilities, corals should be well adapted to face higher arsenic concentrations. It is worth while to point out at this point that As concentrations although higher in Tutum Bay than in “normal” seawater are not really high. Not once were values higher than 10 µg/L, a value considered safe for human consumption (WHO, 2011). Thus, although arsenic concentrations in surface seawater at Tutum Bay were found to be slightly elevated and despite some affinity for As to incorporate into aragonite (Pichler and Veizer, 2004) no As was detected in Tutum Bay corals (Pichler et al., 2000). Assuming that a chronic exposition to moderate concentrations could in some ways affect coral metabolism, the toxic effect would compound the effect of pH, rather than counteracting it. Although it was not within the scope of our study to assess the effect of As on coral abundance at Tutum Bay, and further investigations and experiments will be needed, it was evident that abundance and diversity of coral species in Tutum Bay were not affected. Indeed, we observed quite similar diversity and coral abundances at both Tutum Bay and the reference site.

Acknowledgements

This study was funded by the French National Research Agency (ANR; project CARIOCA grant agreement no. ANR15CE02-0006-01, 2015), by the French grant scheme Fonds Pacifique (project AMBITLE grant agreement no. 1598, 2016), and by the Flotte Océanographique Française for using the research vessel Alis. We are grateful to the population of Tutum Bay in Ambitle for allowing us to conduct the study on their reefs, and to the National Research Institute, the Milne Bay Provincial Research Committee, the New Ireland Provincial Administration, and the Conservation and Environment Protection Authority of Papua New Guinea for permits. Thanks to the crew of the R/V Alis, to M. Hoogenboom and K. Fabricius for their invaluable contributions. We also thank J.-M. Bore for drone picture. This is an IRD-ENTROPIE contribution n. 0XXX.

Annexe 2 : Données supplémentaires publication n°6

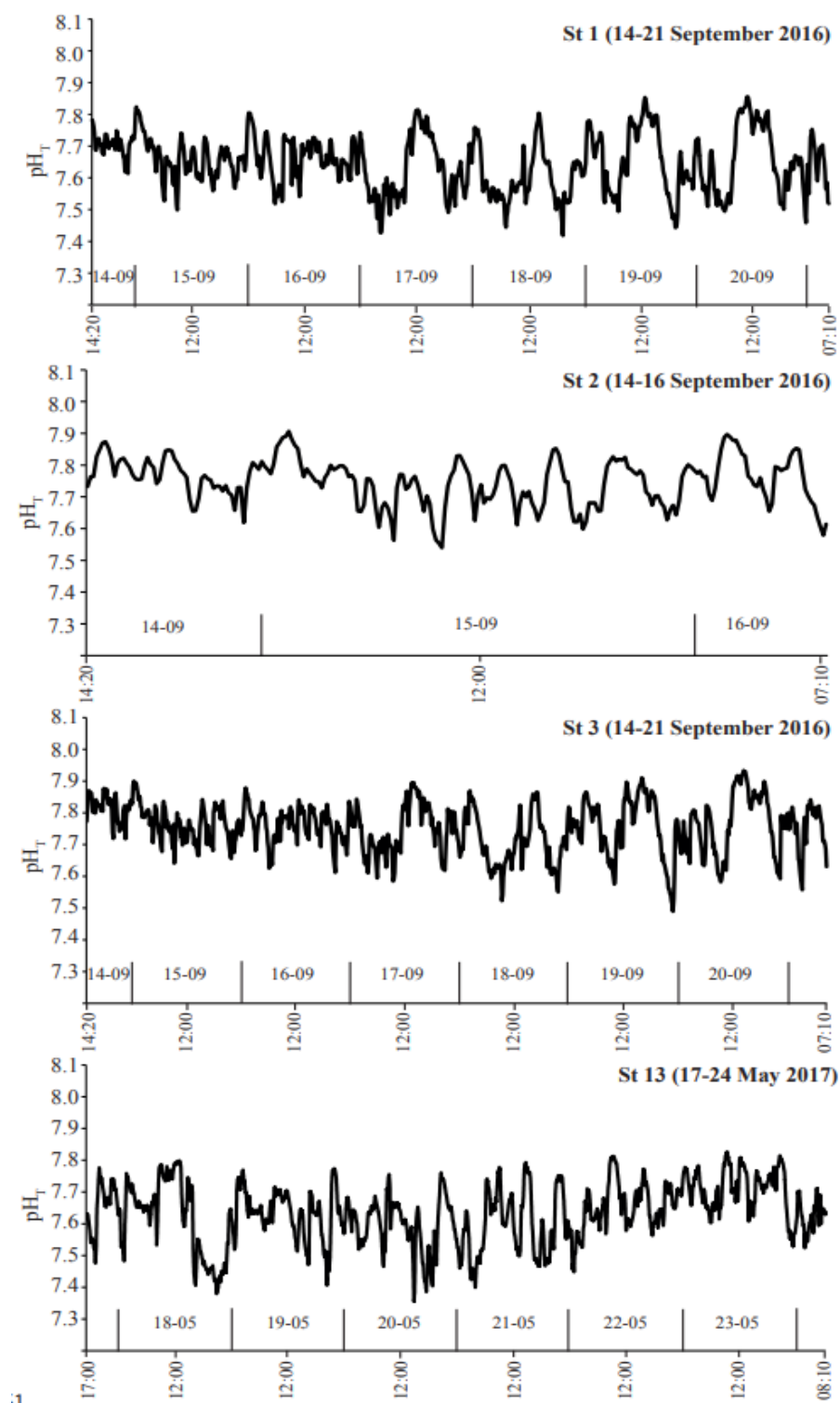


Figure 64. Data of seawater pH_T recorded at a 10-min logging interval by SeaFET at stations 1, 2, and 3, in September 2016, and at station 13 in May 2017. The tick mark on the X-axis inside the chart denoted midnight.

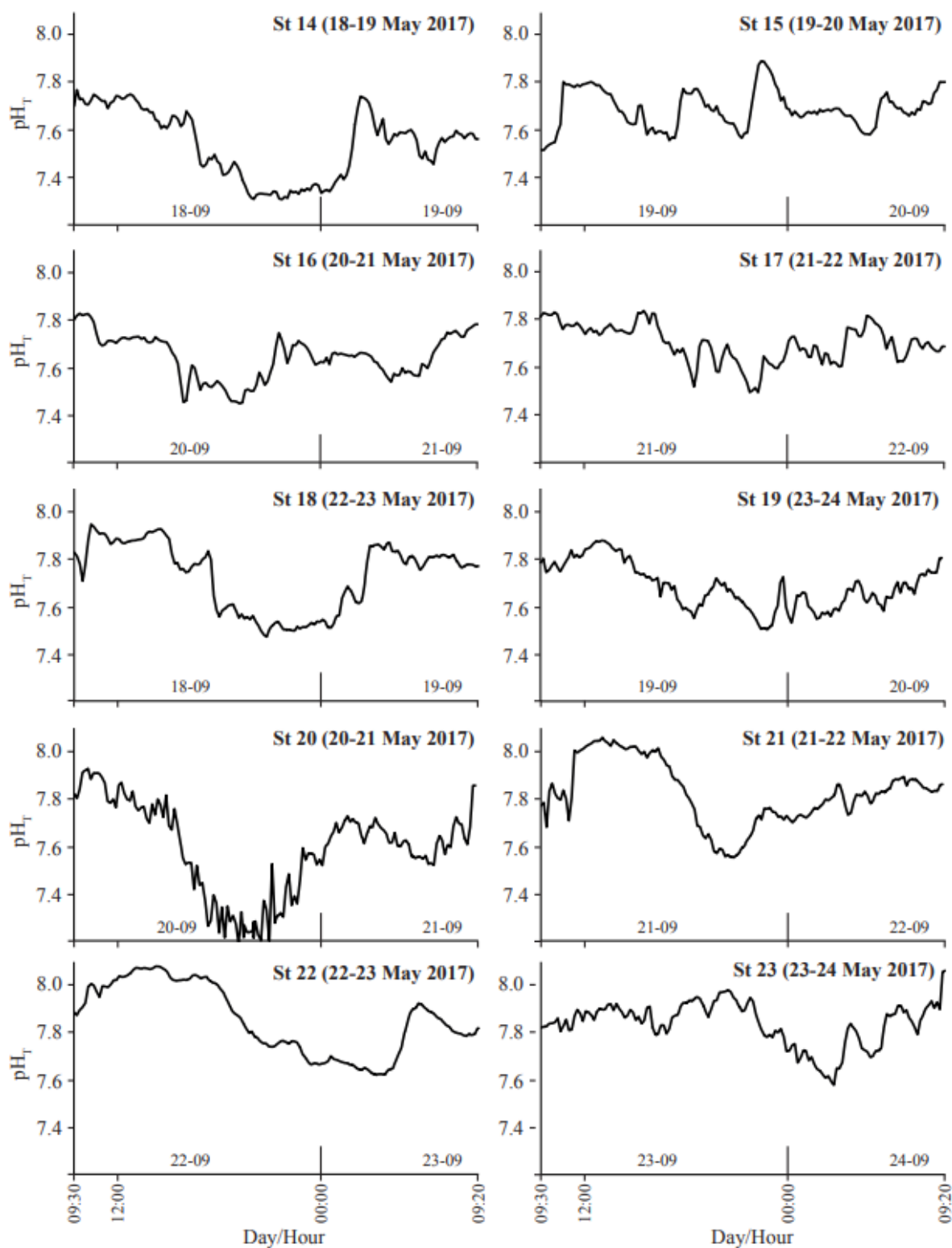


Figure 65. Daily variation in pH_T recorded at a 10-min logging interval by SeaFET at stations 14-23 in May 2017. The tick mark on the X-axis inside the chart denoted midnight.

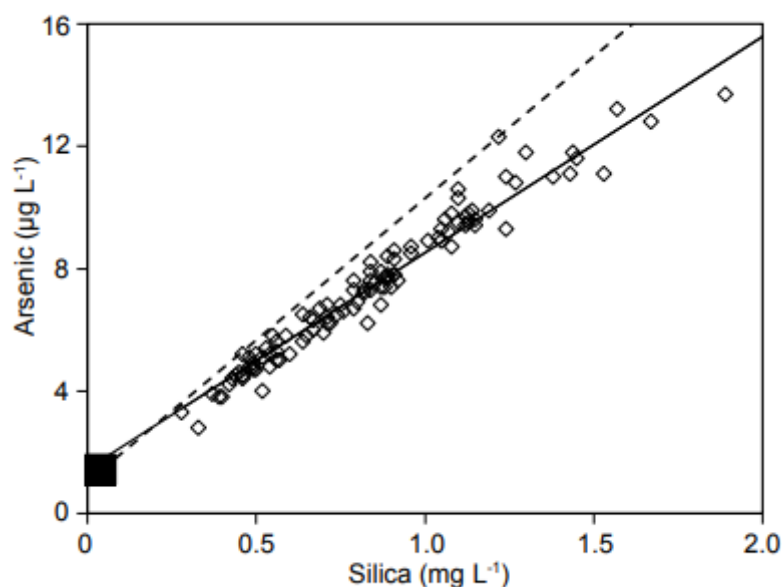


Figure 66. Contour maps for surface and bottom water pH_{NBS} , arsenic (As) and hydrothermal fluid (HF) collected from transects T0, T2, T3 and T5 on September 18th, 2016. The maps cover a total area of 70 x 70 m over the 50 x 50 m study area (*i.e.*, dashed square in Fig. 1).

Tableau 23. Seawater temperature and pH_{T} measured along the transect BT2 in 2016 (stations 1-3) and in 2017 (station 13) in Tutum Bay. Carbonate chemistry parameters were calculated with CO₂sys using the temperature and pH_{T} data collected by the SeaFETs at 10-min logging interval (number of samples *n* is in brackets), mean total alkalinity ($A_{\text{T}} = 2182.6 \mu\text{mol kg}^{-1}$; *n* = 95), and salinity (34). Mean pH were calculated after conversion of data to hydrogen ion concentrations.

Station		T (°C)	pH_{T}	$p\text{CO}_2$ μatm	CO_2 $\mu\text{mol kg}^{-1}$	HCO_3^- $\mu\text{mol kg}^{-1}$	CO_3^{2-} $\mu\text{mol kg}^{-1}$	C_{T} $\mu\text{mol kg}^{-1}$	Ω_{calc}	Ω_{arag}
St 1 (267)	Mean	30.61	7.736	881	22	1856	134	2012	3.30	2.21
	SD	0.06	0.076	183	5	49	20	33	0.48	0.32
	Min	30.49	7.540	555	14	1740	88	1935	2.17	1.46
	Max	30.74	7.907	1462	36	1969	181	2094	4.45	2.98
St 2 (974)	Mean	30.58	7.638	1138	28	1912	112	2052	2.74	1.84
	SD	0.09	0.090	263	7	50	20	36	0.50	0.33
	Min	30.37	7.419	638	16	1778	68	1960	1.68	1.13
	Max	30.80	7.856	1980	49	2019	166	2136	4.07	2.73
St 3 (981)	Mean	30.59	7.748	854	21	1848	138	2007	3.38	2.27
	SD	0.08	0.080	189	5	52	21	36	0.52	0.35
	Min	30.19	7.489	515	13	1716	80	1920	1.96	1.31
	Max	30.81	7.933	1660	41	1991	191	2112	4.69	3.14
St 13 (952)	Mean	30.51	7.625	1177	29	1921	108	2058	2.65	1.78
	SD	0.13	0.096	303	8	50	20	37	0.50	0.33
	Min	30.23	7.346	680	17	1801	58	1974	1.42	0.95
	Max	30.91	7.833	2369	59	2044	157	2162	3.85	2.57

Tableau 24. Seawater temperature and pH_T measured in 2016 at the reference site (station Ref) and two times per day and during 6 days around the transect BT2 (stations 4-12) in Tutum Bay. Carbonate chemistry parameters were calculated with CO₂sys using the temperature and pH_T data (number of samples n is in brackets), mean total alkalinity ($A_T = 2158.5$ and $2182.6 \mu\text{mol kg}^{-1}$, for Ref and Tutum Bay stations, respectively; $n = 28$ and 95 , respectively), and salinity (34). Mean

Station		T (°C)	pH _T	pCO ₂ μatm	CO ₂ μmol kg ⁻¹	HCO ₃ ⁻ μmol kg ⁻¹	CO ₃ ²⁻ μmol kg ⁻¹	C _T μmol kg ⁻¹	Ω _{calc}	Ω _{arag}
St Ref (12)	Mean	30.52	8.009	410	10	1628	215	1853	5.27	3.53
	SD	0.06	0.003	3	0	2	1	2	0.02	0.02
	Min	30.43	8.005	405	10	1625	213	1851	5.23	3.50
	Max	30.62	8.013	415	10	1632	216	1855	5.30	3.55
St 4 (12)	Mean	30.51	7.792	761	19	1826	146	1992	3.59	2.41
	SD	0.13	0.038	76	2	27	11	18	0.27	0.18
	Min	30.40	7.725	628	16	1777	128	1959	3.14	2.10
	Max	30.80	7.861	906	23	1872	166	2022	4.08	2.73
St 5 (12)	Mean	30.49	7.753	879	22	1847	138	2007	3.39	2.27
	SD	0.10	0.120	304	8	74	30	51	0.74	0.49
	Min	30.38	7.520	581	14	1753	85	1943	2.08	1.39
	Max	30.70	7.890	1537	38	1979	176	2102	4.32	2.89
St 6 (12)	Mean	30.53	7.732	904	23	1864	131	2018	3.22	2.16
	SD	0.10	0.074	189	5	45	18	32	0.45	0.30
	Min	30.40	7.589	730	18	1817	97	1985	2.39	1.60
	Max	30.74	7.806	1289	32	1948	150	2077	3.69	2.47
St 7 (12)	Mean	30.57	7.672	1076	27	1897	118	2042	2.89	1.94
	SD	0.11	0.108	329	8	58	24	43	0.58	0.39
	Min	30.42	7.463	752	19	1826	75	1991	1.85	1.24
	Max	30.76	7.795	1774	44	2002	147	2121	3.60	2.41
St 8 (12)	Mean	30.59	7.621	1231	31	1924	107	2061	2.62	1.76
	SD	0.10	0.119	345	9	66	27	48	0.66	0.44
	Min	30.42	7.510	722	18	1813	83	1983	2.04	1.37
	Max	30.70	7.810	1576	39	1982	152	2105	3.73	2.50
St 9 (12)	Mean	30.61	7.573	1375	34	1951	96	2081	2.36	1.58
	SD	0.17	0.093	310	8	47	19	36	0.47	0.32
	Min	30.44	7.468	943	23	1879	76	2027	1.86	1.24
	Max	31.00	7.710	1751	44	2001	125	2120	3.07	2.06
St 10 (12)	Mean	30.50	7.750	859	21	1853	136	2010	3.33	2.23
	SD	0.13	0.070	160	4	46	19	31	0.46	0.31
	Min	30.39	7.660	666	17	1793	112	1969	2.76	1.85
	Max	30.81	7.840	1074	27	1910	160	2049	3.92	2.63
St 11 (12)	Mean	30.43	7.739	886	22	1861	132	2015	3.25	2.18
	SD	0.07	0.070	162	4	45	18	31	0.45	0.30
	Min	30.34	7.647	684	17	1799	109	1974	2.68	1.79
	Max	30.56	7.830	1109	28	1918	157	2055	3.86	2.59
St 12 (12)	Mean	30.43	7.785	784	20	1830	145	1994	3.56	2.38
	SD	0.06	0.073	147	4	52	21	34	0.51	0.34
	Min	30.36	7.692	553	14	1740	120	1935	2.94	1.97
	Max	30.56	7.908	988	25	1892	181	2037	4.44	2.97

pH were calculated after conversion of data to hydrogen ion concentrations.

Tableau 25. Daily variations in seawater temperature and pH_T measured at the reference site (station Ref) and in Tutum Bay in 2017 (stations 14-23). Carbonate chemistry parameters were calculated with CO₂sys using the temperature and pH_T data collected by the SeaFETs at 10-min logging interval (number of samples n is in brackets), mean total alkalinity ($A_T = 2158.5$ and 2182.6

Station		T (°C)	pH _T	pCO ₂ μatm	CO ₂ μmol kg ⁻¹	HCO ₃ ⁻ μmol kg ⁻¹	CO ₃ ²⁻ μmol kg ⁻¹	C _T μmol kg ⁻¹	Ω _{calc}	Ω _{ara}
St Ref (146)	Mean	30.37	8.007	10	1629	214	10	1854	5.25	3.52
	SD	0.12	0.035	1	33	13	1	21	0.32	0.22
	Min	29.84	7.917	9	1575	181	9	1820	4.44	2.97
	Max	30.93	8.066	13	1712	235	13	1906	5.78	3.87
St 14 (144)	Mean	30.55	7.516	1552	39	1961	92	2091	2.25	1.51
	SD	0.12	0.144	565	14	65	26	52	0.65	0.43
	Min	30.34	7.308	800	20	1842	54	2002	1.33	0.89
	Max	30.81	7.772	2599	65	2054	140	2173	3.43	2.30
St 15 (145)	Mean	30.48	7.685	1006	25	1888	121	2034	2.98	2.00
	SD	0.09	0.080	209	5	48	19	34	0.48	0.32
	Min	30.38	7.518	573	14	1751	85	1942	2.08	1.39
	Max	30.74	7.895	1547	38	1979	177	2102	4.34	2.91
St 16 (144)	Mean	30.56	7.635	1147	29	1913	111	2053	2.73	1.83
	SD	0.09	0.093	280	7	50	20	37	0.50	0.33
	Min	30.40	7.449	683	17	1799	73	1973	1.80	1.21
	Max	30.79	7.831	1836	46	2006	157	2125	3.87	2.59
St 17 (145)	Mean	30.56	7.695	980	24	1881	124	2030	3.05	2.04
	SD	0.12	0.080	212	5	47	19	33	0.47	0.32
	Min	30.32	7.497	661	16	1789	81	1967	1.98	1.33
	Max	30.86	7.843	1630	41	1988	162	2110	3.97	2.66
St 18 (145)	Mean	30.45	7.704	960	24	1859	133	2016	3.27	2.19
	SD	0.12	0.145	378	9	88	35	61	0.87	0.58
	Min	30.08	7.472	493	12	1708	76	1914	1.88	1.26
	Max	30.62	7.949	1732	43	1999	194	2118	4.77	3.19
St 19 (144)	Mean	30.67	7.675	1035	26	1889	121	2036	2.97	1.99
	SD	0.18	0.096	250	6	58	23	41	0.58	0.39
	Min	30.44	7.503	597	15	1759	82	1948	2.01	1.35
	Max	31.15	7.880	1603	40	1985	173	2107	4.26	2.85
St 20 (144)	Mean	30.80	7.543	1455	36	1929	105	2070	2.57	1.73
	SD	0.29	0.195	788	19	93	38	74	0.93	0.62
	Min	30.43	7.155	522	13	1722	39	1924	0.97	0.65
	Max	31.48	7.928	3770	93	2090	188	2222	4.63	3.10
St 21 (144)	Mean	30.85	7.803	738	18	1790	161	1969	3.95	2.65
	SD	0.37	0.135	270	7	102	41	67	1.01	0.68
	Min	30.34	7.552	357	9	1590	92	1840	2.26	1.52
	Max	31.48	8.060	1419	35	1961	241	2088	5.94	3.98
St 22 (143)	Mean	30.58	7.831	685	17	1767	170	1954	4.18	2.80
	SD	0.23	0.148	270	7	117	47	76	1.16	0.78
	Min	30.23	7.621	336	8	1572	104	1829	2.55	1.71
	Max	31.04	8.081	1188	30	1931	249	2065	6.11	4.10
St 23 (145)	Mean	30.52	7.827	690	17	1790	161	1968	3.95	2.65
	SD	0.10	0.093	189	5	66	27	44	0.66	0.44
	Min	30.40	7.579	356	9	1599	95	1846	2.34	1.56
	Max	31.02	8.062	1323	33	1953	238	2081	5.84	3.91

μmol kg⁻¹, for Ref and Tutum Bay stations respectively; n = 28 and 95, respectively), and salinity (34). Mean pH were calculated after conversion of data to hydrogen ion concentrations.

Tableau 26. Data collected at the reference site; from the vents and at study site ST1 during three consecutive days. Bottom and surface seawater samples were collected each 10 meters along four off the six 50-m long transect (T0-T5).

Date	Transect	Position	Sampling	Depth (m)	Cond. (mS cm ⁻¹)	pH _{NBS}	Si (mg L ⁻¹)	As (µg L ⁻¹)	Si/As
17-Sep	Reference	-	-	0.2	51.2	8.08	0.04	1.3	0.031
18-Sep	Reference	-	-	0.2	51.2	8.07	0.04	1.4	0.029
18-Sep	Vent	-	-	6.7	6.3	6.14	99.0	931	0.106
19-Sep	Vent	-	-	7.9	6.3	6.15	96.4	929	0.104
19-Sep	Vent	-	-	9.0	6.3	6.18	97.6	917	0.106
17-Sep	Vent	-	-	9.1	6.2	6.19	97.4	935	0.104
17-Sep	T0	0	Surface	0.2	n.d.	n.d.	1.13	9.5	0.119
17-Sep	T0	10	Surface	0.2	n.d.	n.d.	1.15	9.4	0.122
17-Sep	T0	20	Surface	0.2	n.d.	n.d.	0.90	7.4	0.122
17-Sep	T0	30	Surface	0.2	n.d.	n.d.	1.05	9.3	0.113
17-Sep	T0	40	Surface	0.2	n.d.	n.d.	0.82	7.3	0.113
17-Sep	T0	50	Surface	0.2	50.7	7.70	0.96	8.5	0.113
17-Sep	T2	0	Surface	0.2	50.8	7.70	1.07	9.2	0.116
17-Sep	T2	10	Surface	0.2	50.8	7.70	0.79	7.3	0.108
17-Sep	T2	20	Surface	0.2	51.0	7.80	0.67	6.0	0.112
17-Sep	T2	30	Surface	0.2	51.0	7.80	0.71	6.2	0.115
17-Sep	T2	40	Surface	0.2	50.6	7.70	1.24	9.3	0.133
17-Sep	T2	50	Surface	0.2	n.d.	n.d.	0.54	4.8	0.114
17-Sep	T5	0	Surface	0.2	50.6	7.70	1.43	11.1	0.129
17-Sep	T5	10	Surface	0.2	50.2	7.80	1.67	12.8	0.130
17-Sep	T5	20	Surface	0.2	50.8	7.90	0.56	5.3	0.106
17-Sep	T5	30	Surface	0.2	50.8	7.80	0.70	5.9	0.119
17-Sep	T5	40	Surface	0.2	50.8	7.80	0.75	6.8	0.109
17-Sep	T5	50	Surface	0.2	50.8	7.80	0.72	6.2	0.116
18-Sep	T0	0	Surface	0.2	50.4	7.43	1.1	10.3	0.104
18-Sep	T0	10	Surface	0.2	50.3	7.39	1.30	11.8	0.111
18-Sep	T0	20	Surface	0.2	50.5	7.41	1.01	8.9	0.113
18-Sep	T0	30	Surface	0.2	50.3	7.36	1.10	10.6	0.104
18-Sep	T0	40	Surface	0.2	50.3	7.34	0.91	8.6	0.106
18-Sep	T0	50	Surface	0.2	50.3	7.43	1.22	12.3	0.098
18-Sep	T2	0	Surface	0.2	50.5	7.49	1.14	9.9	0.115
18-Sep	T2	10	Surface	0.2	50.3	7.43	1.10	9.5	0.116
18-Sep	T2	20	Surface	0.2	50.4	7.51	1.12	9.4	0.119
18-Sep	T2	30	Surface	0.2	50.3	7.41	1.27	10.8	0.117
18-Sep	T2	40	Surface	0.2	50.7	7.69	1.44	11.8	0.122
18-Sep	T2	50	Surface	0.2	50.4	7.54	1.19	9.9	0.120
18-Sep	T3	0	Surface	0.2	50.1	7.34	1.89	13.7	0.138
18-Sep	T3	10	Surface	0.2	50.6	7.71	0.84	7.6	0.111
18-Sep	T3	20	Surface	0.2	50.7	7.65	0.85	7.5	0.113
18-Sep	T3	30	Surface	0.2	50.7	7.64	0.91	7.8	0.116
18-Sep	T3	40	Surface	0.2	50.6	7.58	1.05	8.9	0.119
18-Sep	T3	50	Surface	0.2	50.7	7.64	0.87	6.8	0.128
18-Sep	T5	0	Surface	0.2	49.9	7.39	2.23	15.1	0.147
18-Sep	T5	10	Surface	0.2	50.4	7.57	1.45	11.6	0.126
18-Sep	T5	20	Surface	0.2	50.4	7.62	0.87	7.4	0.119
18-Sep	T5	30	Surface	0.2	50.6	7.67	0.88	7.4	0.119
18-Sep	T5	40	Surface	0.2	50.7	7.70	0.82	7.2	0.115
18-Sep	T5	50	Surface	0.2	50.7	7.69	0.91	7.8	0.117
19-Sep	T2	0	Surface	0.2	51.0	7.62	0.76	6.6	0.115
19-Sep	T2	10	Surface	0.2	50.9	7.58	0.91	8.3	0.110
19-Sep	T2	20	Surface	0.2	50.8	7.51	1.12	9.7	0.116
19-Sep	T2	30	Surface	0.2	50.9	7.59	0.88	7.7	0.114
19-Sep	T2	40	Surface	0.2	50.6	7.47	1.13	9.8	0.115

Annexes

19-Sep	T2	50	Surface	0.2	50.9	7.52	1.08	9.8	0.110
19-Sep	T3	0	Surface	0.2	50.5	7.17	1.57	13.2	0.119
19-Sep	T3	10	Surface	0.2	50.6	7.36	1.24	11.0	0.113
19-Sep	T3	20	Surface	0.2	50.5	7.23	1.53	11.1	0.137
19-Sep	T3	30	Surface	0.2	50.7	7.41	1.38	11.0	0.125
19-Sep	T3	40	Surface	0.2	51.1	7.71	0.56	5.0	0.112
19-Sep	T3	50	Surface	0.2	50.9	7.61	0.84	7.3	0.115
Date	Transect	Position	Sampling	Depth (m)	Cond. (mS cm ⁻¹)	pH _{NBS}	Si (mg L ⁻¹)	As (µg L ⁻¹)	Si/As
17-Sep	T0	0	Bottom	0.5	50.9	7.80	1.06	9.6	0.110
17-Sep	T0	10	Bottom	1.0	n.d.	n.d.	1.04	9.0	0.115
17-Sep	T0	20	Bottom	1.0	n.d.	n.d.	0.59	5.8	0.102
17-Sep	T0	30	Bottom	2.5	n.d.	n.d.	0.46	5.2	0.089
17-Sep	T0	40	Bottom	3.2	n.d.	n.d.	0.37	3.9	0.097
17-Sep	T0	50	Bottom	3.0	n.d.	n.d.	0.42	4.2	0.099
17-Sep	T2	0	Bottom	1.0	50.9	7.70	0.71	6.4	0.111
17-Sep	T2	10	Bottom	2.0	51.0	7.70	0.65	5.8	0.113
17-Sep	T2	20	Bottom	2.8	50.9	7.80	0.46	4.5	0.103
17-Sep	T2	30	Bottom	3.0	n.d.	n.d.	0.57	5.0	0.114
17-Sep	T2	40	Bottom	3.0	51.0	7.90	0.40	3.8	0.107
17-Sep	T2	50	Bottom	2.8	51.0	7.90	0.44	4.5	0.099
17-Sep	T5	0	Bottom	1.0	50.9	7.70	0.84	7.9	0.107
17-Sep	T5	10	Bottom	2.0	50.9	7.90	0.56	5.6	0.101
17-Sep	T5	20	Bottom	2.0	51.0	7.80	0.43	4.4	0.097
17-Sep	T5	30	Bottom	3.0	51.0	7.80	0.33	2.8	0.115
17-Sep	T5	40	Bottom	2.0	50.8	7.70	0.92	7.6	0.121
17-Sep	T5	50	Bottom	3.2	51.1	8.00	0.28	3.3	0.085
18-Sep	T0	0	Bottom	0.5	50.3	7.48	0.87	7.9	0.111
18-Sep	T0	10	Bottom	1.0	50.5	7.53	0.84	8.2	0.102
18-Sep	T0	20	Bottom	1.0	50.5	7.58	0.64	6.5	0.098
18-Sep	T0	30	Bottom	2.5	50.6	7.63	0.53	5.4	0.098
18-Sep	T0	40	Bottom	3.2	50.7	7.59	0.54	5.2	0.103
18-Sep	T0	50	Bottom	3.0	50.7	7.56	0.50	4.7	0.106
18-Sep	T2	0	Bottom	1.0	50.5	7.55	1.15	9.6	0.120
18-Sep	T2	10	Bottom	1.0	50.5	7.56	0.89	7.8	0.114
18-Sep	T2	20	Bottom	2.0	50.5	7.68	0.83	6.2	0.134
18-Sep	T2	30	Bottom	2.9	50.6	7.68	0.52	5.1	0.103
18-Sep	T2	40	Bottom	2.9	50.7	7.69	0.49	4.8	0.102
18-Sep	T2	50	Bottom	2.4	50.7	7.69	0.46	4.5	0.101
18-Sep	T3	0	Bottom	1.5	50.5	7.59	1.08	8.7	0.124
18-Sep	T3	10	Bottom	1.7	50.7	7.73	0.80	6.9	0.116
18-Sep	T3	20	Bottom	1.3	50.8	7.71	0.67	6.3	0.106
18-Sep	T3	30	Bottom	1.0	50.8	7.69	0.79	6.7	0.119
18-Sep	T3	40	Bottom	2.0	50.1	7.74	0.60	5.2	0.117
18-Sep	T3	50	Bottom	1.5	50.8	7.81	0.49	4.9	0.101
18-Sep	T5	0	Bottom	1.0	50.6	7.68	0.96	8.7	0.111
18-Sep	T5	10	Bottom	2.0	50.8	7.77	0.79	7.6	0.104
18-Sep	T5	20	Bottom	2.0	50.8	7.78	0.69	6.7	0.104
18-Sep	T5	30	Bottom	3.0	50.8	7.75	0.49	4.7	0.104
18-Sep	T5	40	Bottom	2.0	50.9	7.78	0.46	4.4	0.103
18-Sep	T5	50	Bottom	3.2	50.9	7.90	0.39	3.8	0.104
19-Sep	T2	0	Bottom	1.0	51.1	7.61	0.66	6.4	0.103
19-Sep	T2	10	Bottom	1.0	51.2	7.67	0.55	5.8	0.095
19-Sep	T2	20	Bottom	2.0	51.2	7.65	0.50	5.2	0.096
19-Sep	T2	30	Bottom	2.9	51.2	7.70	0.48	5.1	0.093
19-Sep	T2	40	Bottom	2.9	51.0	7.71	0.48	4.8	0.101
19-Sep	T2	50	Bottom	2.4	51.1	7.75	0.45	4.6	0.097
19-Sep	T3	0	Bottom	1.5	51.0	7.62	0.89	8.4	0.106
19-Sep	T3	10	Bottom	1.7	51.0	7.67	0.71	6.8	0.105
19-Sep	T3	20	Bottom	1.3	51.0	7.69	0.64	5.6	0.114
19-Sep	T3	30	Bottom	1.0	51.1	7.61	0.74	6.5	0.113

Annexes

19-Sep	T3	40	Bottom	2.0	50.8	7.54	0.89	7.7	0.116
19-Sep	T3	50	Bottom	1.5	51.1	7.75	0.52	4.0	0.130

Tableau 27. Surface and bottom seawater samples repeatedly collected each 10 meters along transect T2 at study site ST1 during three consecutive days (data are from Supplementary Table S2).

Date	Location	Position (m)	Depth (m)	Cond. (mS cm ⁻¹)	pH _{NBS}	Si (mg L ⁻¹)	As (µg L ⁻¹)	Si/As
17-Sep	Surface	0	0.2	50.80	7.70	1.07	9.2	0.116
18-Sep	Surface	0	0.2	50.47	7.49	1.14	9.9	0.115
19-Sep	Surface	0	0.2	51.04	7.62	0.76	6.6	0.115
17-Sep	Surface	10	0.2	50.80	7.70	0.79	7.3	0.108
18-Sep	Surface	10	0.2	50.29	7.43	1.10	9.5	0.116
19-Sep	Surface	10	0.2	50.95	7.58	0.91	8.3	0.110
17-Sep	Surface	20	0.2	51.00	7.80	0.67	6.0	0.112
18-Sep	Surface	20	0.2	50.45	7.51	1.12	9.4	0.119
19-Sep	Surface	20	0.2	50.79	7.51	1.12	9.7	0.116
17-Sep	Surface	30	0.2	51.00	7.80	0.71	6.2	0.115
18-Sep	Surface	30	0.2	50.31	7.41	1.27	10.8	0.117
19-Sep	Surface	30	0.2	50.88	7.59	0.88	7.7	0.114
17-Sep	Surface	40	0.2	50.60	7.70	0.97	9.3	0.104
18-Sep	Surface	40	0.2	50.68	7.69	n.d.	8.2	n.d.
19-Sep	Surface	40	0.2	50.64	7.47	1.13	9.8	0.115
17-Sep	Surface	50	0.2	n.d.	n.d.	0.54	4.8	0.114
18-Sep	Surface	50	0.2	50.41	7.54	1.19	9.9	0.120
19-Sep	Surface	50	0.2	50.88	7.52	1.08	9.8	0.110
17-Sep	Bottom	0	1.0	50.90	7.70	0.71	6.4	0.111
18-Sep	Bottom	0	1.0	50.49	n.d.	1.15	9.6	0.120
19-Sep	Bottom	0	1.0	51.09	7.61	0.66	6.4	0.103
17-Sep	Bottom	10	2.0	51.00	7.70	0.65	5.8	0.113
18-Sep	Bottom	10	1.0	50.53	7.56	0.89	7.8	0.114
19-Sep	Bottom	10	1.0	51.20	7.67	0.55	5.8	0.095
17-Sep	Bottom	20	2.8	50.90	7.80	0.46	4.5	0.103
18-Sep	Bottom	20	2.0	50.52	7.68	0.83	6.2	0.134
19-Sep	Bottom	20	2.0	51.20	7.65	0.50	5.2	0.096
17-Sep	Bottom	30	3.0	n.d.	n.d.	0.57	5.0	0.114
18-Sep	Bottom	30	2.9	50.63	7.68	0.52	5.1	0.103
19-Sep	Bottom	30	2.9	51.19	7.70	0.48	5.1	0.093
17-Sep	Bottom	40	3.0	51.00	7.90	0.40	3.8	0.107
18-Sep	Bottom	40	2.9	50.68	7.69	0.49	4.8	0.102
19-Sep	Bottom	40	2.9	51.01	7.71	0.48	4.8	0.101
17-Sep	Bottom	50	2.8	51.00	7.90	0.44	4.5	0.099
18-Sep	Bottom	50	2.4	50.66	7.69	0.46	4.5	0.101
19-Sep	Bottom	50	2.4	51.14	7.75	0.45	4.6	0.097

Annexe 3 : Données supplémentaires publication n°4

Tableau 28. Summary of three-way ANOVAs testing the combined effect of manganese (Mn) (ambient: $0.06 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $4.1 \mu\text{g L}^{-1}$) and iron concentrations (Fe) (ambient: $<0.22 \mu\text{g L}^{-1}$ and enriched: $3.0 \mu\text{g L}^{-1}$) and thermal stress (Temp) (ambient: 26°C and warm: 32°C) on *Stylophora pistillata* physiological parameters during the 6-weeks experiment.

<i>Stylophora pistillata</i>				
Source of variation	SS	df	F-ratio	p-Values
Symbiodinium.cm⁻²				
Mn	1.02×10^{11}	1	1.057	0.310
Fe	8.12×10^{10}	1	0.842	0.365
Temp	1.21×10^{12}	1	12.479	0.001**
Mn x Fe	3.70×10^{11}	1	3.831	0.01*
Mn x Temp	1.89×10^{10}	1	0.196	0.660
Fe x Temp	1.53×10^{11}	1	1.581	0.216
Mn x Fe x Temp	1.81×10^{11}	1	1.878	0.178
Error	3.77×10^{12}	40		
Total chlorophyll.cm⁻²				
Mn	3.2×10^{-2}	1	79.786	0.000***
Fe	2.89×10^{-4}	1	0.700	0.407
Temp	6.21×10^{-3}	1	15.087	0.000***
Mn x Fe	7.12×10^{-4}	1	1.728	0.196
Mn x Temp	1.8×10^{-5}	1	0.043	0.836
Fe x Temp	1.26×10^{-4}	1	0.306	0.582
Mn x Fe x Temp	1.1×10^{-5}	1	0.027	0.870
Error	1.6×10^{-2}	40		
Gross photosynthesis				
Mn	37.483	1	20.590	0.000***
Fe	2.588	1	1.421	0.240
Temp	51.141	1	28.093	0.000***
Mn x Fe	0.363	1	0.199	0.657
Mn x Temp	1.129	1	0.620	0.435
Fe x Temp	0.881	1	0.484	0.490
Mn x Fe x Temp	0.441	1	0.242	0.625
Error	72.817	40		
Respiration				
Mn	0.718	1	0.882	0.353
Fe	2.086	1	2.564	0.117
Temp	2.447	1	3.007	0.032*
Mn x Fe	0.483	1	0.593	0.445
Mn x Temp	0.079	1	0.096	0.757
Fe x Temp	0.007	1	0.009	0.924
Mn x Fe x Temp	0.134	1	0.164	0.687
Error	32.546	40		
F_v/F_m				

Annexes

Mn	0.831	1	511.831	0.000***
Fe	0.0005	1	0.332	0.565
Temp	0.0009	1	0.611	0.436
Mn x Fe	0.015	1	9.820	0.002**
Mn x Temp	0.006	1	3.725	0.057
Fe x Temp	0.0004	1	0.243	0.623
Mn x Fe x Temp	0.0011	1	0.673	0.414
Error	0.117	72		
rETR_{max}				
Mn	1301.7	1	27.621	0.000***
Fe	5.1	1	0.107	0.744
Temp	5901.3	1	125.224	0.000***
Mn x Fe	1	1	0.022	0.882
Mn x Temp	89.7	1	1.902	0.172
Fe x Temp	23.7	1	0.501	0.480
Mn x Fe x Temp	3.5	1	0.074	0.786
Error	3393.1	72		
Calcification rates				
Mn	348.7	1	64.779	0.000***
Fe	33.34	1	6.194	0.017*
Temp	150.67	1	27.990	0.000***
Mn x Fe	12.44	1	2.310	0.136
Mn x Temp	149.95	1	27.856	0.000***
Fe x Temp	6.18	1	1.147	0.290
Mn x Fe x Temp	7.25	1	1.384	0.005**
Error	215.32	40		
Growth rates				
Mn	93.027	1	53..011	0.000***
Fe	11.515	1	6.561	0.012*
Temp	14.84	1	8.456	0.004**
Mn x Fe	6.653	1	3.790	0.027*
Mn x Temp	55.926	1	31.869	0.000***
Fe x Temp	0.34	1	0.193	0.661
Mn x Fe x Temp	5.04	1	2.872	0.094
Error	126.349	72		

Annexe 4 : Tableau récapitulatif des effets des métaux sur les jeunes stades de vie des coraux

Tableau 29. Tableau récapitulatif des effets des métaux sur les jeunes stades de vie des coraux.

Métal (Concentration NC)	Espèces	Stade	EC ₅₀	Caractéristiques d'exposition	Observations	Publication
Cuivre (0.03 ± 0.03 µg L ⁻¹)	<i>A. aspera</i>	SR	36-121	(Gamètes 30 min) + 5h	-	Gissi et al., 2017
	<i>A. cytherae</i>	SR	69.4	Gamètes, 4.5h	-	Puisay et al., 2015
	<i>A. longicyathus</i>	SR	12-19.2	(Gamètes 30 min) + 5h	-	Reichelt-Brushett & Harrison, 2005
	<i>A. millepora</i>	SR	17.4 ± 1.1	Gamètes, 4h	-	Negri & Heyward, 2001
		ML	110 ± 20	Larves de 7j, 24h	-	
		ML	26 ± 0.98	Larves de 7j, 6h de pré-exposition et 18h avec corallines	-	Negri & Hoogenboom, 2011
	<i>A. pulchra</i>	SR	75.4	Gamètes, 4.5h	-	Puisay et al, 2015
	<i>A. surculosa</i>	SR	45.2	Gamètes, 5h	-	Victor & Richmond, 2005
			11.4	Gamètes, 12h	-	
	<i>A. tenuis</i>	SR	36-43.7	(Gamètes 30 min) + 5h	-	Reichelt-Brushett & Harrison, 2005
		ML	32 ± 0.86	Larves de 7j, 6h de pré-exposition et 18h avec corallines	-	Negri & Hoogenboom, 2011
		ML	32-37	Larves de 5j, 48h	-	Reichelt-Brushett & Harrison, 2000
	<i>A. tumida</i>	SL	80	Larves planula, 24h	-	Bao et al., 2011
	<i>A. spathulata</i>	SR	51-66	(Gamètes 30 min) + 5h	-	Leigh-Smith et al., 2018
	<i>M. capitata</i>	SR	16.6-31.7	Gamètes, 3h	-	Hédouin & Gates, 2013
	<i>G. aspera</i>	SR	14.5	(Gamètes 30 min) + 5h	-	Reichelt-Brushett & Harrison, 1999
			12-19.2		-	Reichelt-Brushett & Harrison, 2005
		SL	19-62	Larves de 5j, 72h	-	Reichelt-Brushett & Harrison, 2004
			54.123	Larves de 6j, 72h	-	
		MobL	21-23	Larves de 4 à 6j, 48h	-	
	<i>G. retiformis</i>	SR	15.5-30	(Gamètes 30 min) + 5h	-	Reichelt-Brushett & Harrison, 2005

Annexes

	<i>P. daedalea</i>	SR	27-30	-	Gissi et al., 2017
			73	-	Hudspith & Reichelt-Brushett, 2017
			30-37	-	Reichelt-Brushett & Hudspith, 2016
			26-36	-	Leigh-Smith et al., 2018
		MobL	33-39	Larves de 4 à 6j, 24h	Reichelt-Brushett & Harrison, 2004
	<i>P. acuta</i>	SR	92.1-145	(Gamètes 30 min) + 5h	Kwok et al., 2016
		SL	102-110	Larves de 4j, 48h	-
			101-107	Larves de 4j, 96h	-
		ML	-	Larves de 7j, 48h	Aucun effet jusqu'à 200 µg L ⁻¹
		N	45.4-47.7	-	-
	<i>P. ryukyuensis</i>	SR	<100	-	Heyward, 1988
	<i>P. damicornis</i>	SL	198	96h	Température à 27°C Hédouin et al., 2016
			141		Température à 30°C
Fer (480 ± 270 mg L⁻¹)		SL	87	48h	Esquivel, 1986
			57	96h	-
	<i>A. spathulata</i>	SR	35-95 mg L ⁻¹	(Gamètes 30 min) + 5h	Leigh-Smith et al., 2018
	<i>P. daedalea</i>	SR	21-29 mg L ⁻¹	-	-
		SL	165 mg L ⁻¹	Larves de 4.5j, 24h	-
			69 mg L ⁻¹	Larves de 4.5j, 48h	-
			47 mg L ⁻¹	Larves de 4.5j, 72h	-
Zinc (0.53 ± 0.53 µg L⁻¹)	<i>P. damicornis</i>	-	-	Larves planula, 7j d'exposition, 25°C	100 ppm de fer augmentent la peroxydation des lipides, les dommages à l'ADN, l'activité de la glutathion réductase et S-transférase Vijayavel et al., 2012
	<i>G. aspera</i>	SR	>500	(Gamètes 30 min) + 5h	Reichelt-Brushett & Harrison, 1999
	<i>A. tenuis</i>	SR	<10	-	Reichelt-Brushett & Harrison, 2005
	<i>P. ryukyuensis</i>	SR	<500	-	Heyward, 1988
	<i>F. chinensis</i>	SR	<1000	-	-
Nickel (1.11 ± 1.42 µg L⁻¹)	<i>A. aspera</i>	SR	>9220	(Gamètes 30 min) + 5h	Gissi et al., 2017
	<i>A. digitifera</i>	SR	3830-4870	-	-
	<i>P. daedalea</i>	SR	>4610	-	-

Annexes

			1160-1800	-	Reichelt-Brushett & Hudspith, 2016
	<i>G. aspera</i>	SR	>2000	(Gamètes 30 min) + 5h	Reichelt-Brushett & Harrison, 2005
	<i>P. damicornis</i>	SL	9000	Larves planula, 12, 24, 48 et 96h	Goh, 1991
		ML	9000	-	
Manganèse (2.44 ± 3.93 µg L⁻¹)	-	-	-	-	-
Cobalt (0.11 ± 0.18 µg L⁻¹)	<i>P. daedalea</i>	SR	-	(Gamètes 30 min) + 5h	Meilleur SR à 2500 µg L ⁻¹ Aucune synergie entre Ni et Co Reichelt-Brushett & Hudspith, 2016

SR : Succès reproducteur ; SL : survie larvaire ; ML : métamorphose des larves ; MobL : mobilité des larves ; N : activité de nage

BIBLIOGRAPHIE

A

- Abrego D., Ulstrup K.E., Willis B.L., Oppen M.J.H. Van, 2008. Species-specific interactions between algal endosymbionts and coral hosts define their bleaching response to heat and light stress. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275, 1648, p. 2273-2282.
- Achituv Y., Dubinsky Z., 1990. Evolution and zoogeography of coral reefs. *Ecosystems of the world*, 25, p. 1-9.
- Achterberg E.P., Van Den Berg C.M.G., 1997. Chemical speciation of chromium and nickel in the western Mediterranean. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 44, 3-4, p. 693-720.
- Agostini S., Suzuki Y., Higuchi T., Casareto B.E., Yoshinaga K., Nakano Y., Fujimura H., 2012. Biological and chemical characteristics of the coral gastric cavity. *Coral Reefs*, 31, 1, p. 147-156.
- Agostini S., Suzuki Y., Casareto B., 2009. Coral symbiotic complex: Hypothesis through vitamin B₁₂ for a new evaluation. *Journal of Coral Reef Studies*, 11, 1, p. 1-11.
- Agostini S., Wada S., Kon K., Omori A., Kohtsuka H., Fujimura H., Tsuchiya Y., Sato T., Shinagawa H., Yamada Y., Inaba K., 2015. Geochemistry of two shallow CO₂ seeps in Shikine Island (Japan) and their potential for ocean acidification research. *Regional Studies in Marine Science*, 2, p. 45-53.
- Aiuppa A., Avino R., Brusca L., Caliro S., Chiodini G., D'Alessandro W., Favara R., Federico C., Ginevra W., Inguaggiato S., Longo M., Pecoraino G., Valenza M., 2006. Mineral control of arsenic content in thermal waters from volcano-hosted hydrothermal systems: Insights from island of Ischia and Phlegrean Fields (Campanian Volcanic Province, Italy). *Chemical Geology*, 229, 4, p. 313-330.
- Akerman N.H., Price R.E., Pichler T., Amend J.P., 2011. Energy sources for chemolithotrophs in an arsenic- and iron-rich shallow-sea hydrothermal system. *Geobiology*, 9, 5, p. 436-445.
- Al-Horani F.A., Al-Moghrabi S.M., Beer D. de, 2003. The mechanism of calcification and its relation to photosynthesis and respiration in the scleractinian coral *Galaxea fascicularis*. *Marine Biology*, 142, 3, p. 419-426.
- Ali A. a. M., Hamed M. a., Abd El-Azim H., 2011. Heavy metals distribution in the coral reef ecosystems of the Northern Red Sea. *Helgoland Marine Research*, 65, 1, p. 67-80.
- Allemand D., Tambutté É., Zoccola D., Tambutté S., 2011. « Coral calcification, cells to reefs », dans *Coral reefs: an ecosystem in transition*, Springer N, p. 119-150.
- Allemand D., Ferrier-Pagès C., Furla P., Houlbrèque F., Puverel S., Reynaud S., Tambutté É., Tambutté S., Zoccola D., 2004. Biomineralisation in reef-building corals: From molecular mechanisms to environmental control. *Comptes Rendus - Palevol* 3, 3, 6-7 SPEC.ISS., p. 453-467.
- Allen G.R., 2008. Conservation hotspots of biodiversity and endemism for Indo-Pacific coral reef fishes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 18, p. 541-556.

- Allen H., 1993. The significance of trace metal speciation for water, sediment and soil quality criteria and standards. *Science of the Total Environment*, 134, 1988, p. 23-45.
- Allsopp M., Pambuccian S.E., Johnston P., Santillo D., 2008. *State of the World's Oceans*, Springer Science & Business Media.
- Ambatsian P., Fernex F., Bernat M., Parron C., Lecolle J., 1997. High metal inputs to closed seas: the New Caledonian lagoon. *Journal of Geochemical Exploration*, 59, 1, p. 59-74.
- Anderson C.R., Johnson H.A., Caputo N., Davis R.E., Torpey J.W., Tebo B.M., 2009. Mn(II) oxidation is catalyzed by heme peroxidases in « *Aurantimonas manganoxydans* » strain SI85-9A1 and *Erythrobacter* sp. strain SD-21. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 12, p. 4130-4138.
- Andersson A.J., Kuffner I.B., MacKenzie F.T., Jokiel P.L., Rodgers K.S., Tan A., 2009. Net loss of CaCO₃ from a subtropical calcifying community due to seawater acidification: Mesocosm-scale experimental evidence. *Biogeosciences*, 6, 8, p. 1811-1823.
- Andersson A.J., Gledhill D., 2013. Ocean acidification and coral reefs: Effects on breakdown, dissolution, and net ecosystem calcification. *Annual Review of Marine Science*, 5, 1, p. 321-348.
- Andréfouët S., Chagnaud N., Kranenburg C.J., 2009. Atlas of Western Indian Ocean coral reefs. *Centre IRD de Nouméa, New-Caledonia*.
- Annett A.L., Lapi S., Ruth T.J., Maldonado M.T., 2008. The effects of Cu and Fe availability on the growth and Cu:C ratios of marine diatoms. *Limnology and Oceanography*, 53, 6, p. 2451-2461.
- Anthony K.R.N., Kline D.I., Diaz-Pulido G., Dove S., Hoegh-Guldberg O., 2008. Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 45, p. 17442-17446.
- Anthony K.R.N., 1999. Coral suspension feeding on fine particulate matter. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 232, 1, p. 85-106.
- Anthony K.R.N., Hoogenboom M.O., Maynard J.A., Grottoli A.G., Middlebrook R., 2009. Energetics approach to predicting mortality risk from environmental stress: A case study of coral bleaching. *Functional Ecology*, 23, 3, p. 539-550.
- Aronson R.B., Macintyre I.G., Lewis S. a, Hilbun N.L., 2005. Emergent zonation and geographic convergence of coral reefs. *Ecology*, 86, 10, p. 2586-2600.
- Atkinson M.J., Carlson B., Crow G.L., 1995. Coral growth in high-nutrient, low-pH seawater: A case study of corals cultured at the Waikiki Aquarium, Honolulu, Hawaii. *Coral Reefs*, 14, p. 215-223.

B

- Baars O., Croot P.L., 2011. The speciation of dissolved zinc in the Atlantic sector of the Southern Ocean. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 58, 25-26, p. 2720-2732.
- Baker A.C., 2003. Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: Diversity, ecology, and biogeography of *Symbiodinium*. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 34, p. 661-689.

Bibliographie

- Bao V.W.W., Leung K.M.Y., Qiu J.W., Lam M.H.W., 2011. Acute toxicities of five commonly used antifouling booster biocides to selected subtropical and cosmopolitan marine species. *Marine Pollution Bulletin*, 62, 5, p. 1147-1151.
- Barbeau K., 2006. Photochemistry of organic iron (III) complexing ligands in oceanic systems. *Photochemistry and Photobiology*, 82, p. 1505-1516.
- Barceloux D., 1999. Nickel. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 37, 2, p. 239-258.
- Bárdossy A., Bárdossy G., 1984. Comparison of geostatistical calculations with the results of open pit mining at the Iharkut bauxite district, Hungary: A case study. *Journal of the International Association for Mathematical Geology*, 16, 2, p. 173-191.
- Barkley H.C., Cohen A.L., Golbuu Y., Starczak V.R., DeCarlo T.M., Shamberger K.E.F., 2015. Changes in coral reef communities across a natural gradient in seawater pH. *Science Advances*, 1, 5, p. e1500328-e1500328.
- Barnes D.J., Crossland C.J., 1976. Urease activity in the staghorn coral, *Acropora acuminata*. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry and*, 55, 3, p. 371-376.
- Baron M., Arellano J.B., Gorge J.L., 1995. Copper and Photosystem-II - a Controversial Relationship. *Physiologia Plantarum*, 94, 1, p. 174-180.
- Barott K.L., Venn A.A., Perez S.O., Tambutté S., Tresguerres M., 2015. Coral host cells acidify symbiotic algal microenvironment to promote photosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 2, p. 607-612.
- Barshis D.J., 2015. « Genomic potential for coral survival of climate change », dans *Coral Reefs in the Anthropocene*, Springer, p. 133-146.
- Bastidas C., García E., 1999. Metal content on the reef coral *Porites astreoides*: An evaluation of river influence and 35 years of chronology. *Marine Pollution Bulletin*, 38, 10, p. 899-907.
- Bastidas C., García E.M., 2004. Sublethal effects of mercury and its distribution in the coral *Porites astreoides*. *Marine Ecology Progress Series*, 267, p. 133-143.
- Baum G., Januar H.I., Ferse S.C.A., Kunzmann A., 2015. Local and regional impacts of pollution on coral reefs along the thousand islands north of the megacity Jakarta, Indonesia. *PLoS ONE*, 10, 9, p. 1-26.
- Becquer T., Quantin C., Rotte-Capet S., Ghanbaja J., Mustin C., Herbillon A.J., 2006. Sources of trace metals in ferralsols in New Caledonia. *European Journal of Soil Science*, 57, 2, p. 200-213.
- Becquer T., Quantin C., Sicot M., Boudot J.P., 2003. Chromium availability in ultramafic soils from New Caledonia. *Science of the Total Environment*, 301, 1-3, p. 251-261.
- Bednarz V.N., Grover R., Maguer J.-F., Fine M., Ferrier-Pagès C., 2017. The assimilation of diazotroph-derived nitrogen by scleractinian corals. *mBio*, 8, 1, p. 1-14.
- Benson A.A., Simmons R.E., 1981. Arsenic accumulation in Great Barrier Reef invertebrates. *Science*, 211, p. 482-483.
- Benzoni F., Lasne G., Pichon M., Payri C., 2008. Patterns of zooxanthellate Scleractinia biodiversity in New Caledonia. *11th International Coral Reef Symposium*.
- Benzoni F., Houllbrèque F., André L.V., Payri C., 2017. Plan d'action rapide et adaptatif en cas de blanchissement corallien : Le cas de la Nouvelle-Calédonie, épisode 2016, synthèse. p. 90.

Bibliographie

- Beraud E., Gevaert F., Rottier C., Ferrier-Pages C., 2013. The response of the scleractinian coral *Turbinaria reniformis* to thermal stress depends on the nitrogen status of the coral holobiont. *Journal of Experimental Biology*, 216, 14, p. 2665-2674.
- Bergquist B.A., Boyle E.A., 2006. Dissolved iron in the tropical and subtropical Atlantic Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 20, 1, p. 1-14.
- Berquo T.S., Banerjee S.K., Ford R.G., Penn R.L., Pichler T., 2007. High crystallinity Siderrihydrite: An insight into its Néel temperature and size dependence of magnetic properties. *Journal of Geophysical Research*, 112, p. 1-12.
- Bertucci A., Moya A., Tambutté S., Allemand D., Supuran C.T., Zoccola D., 2013. Carbonic anhydrases in anthozoan corals - A review. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 21, 6, p. 1437-1450.
- Bielmyer-Fraser G.K., Patel P., Capo T., Grosell M., 2018. Physiological responses of corals to ocean acidification and copper exposure. *Marine Pollution Bulletin*, 133, August, p. 781-790.
- Bielmyer G.K., Grosell M., Bhagooli R., Baker A.C., Langdon C., Gillette P., Capo T.R., 2010. Differential effects of copper on three species of scleractinian corals and their algal symbionts (*Symbiodinium* spp.). *Aquatic Toxicology*, 97, 2, p. 125-133.
- Bielski B.H.J., 1978. Reevaluation of the spectral and kinetic properties of HO₂ and O₂⁻ free radicals. *Photochemistry and Photobiology*, 28, 4-5, p. 645-649.
- Bijma J., Pörtner H.O., Yesson C., Rogers A.D., 2013. Climate change and the oceans - What does the future hold? *Marine Pollution Bulletin*, 74, 2, p. 495-505.
- Biscéré T., Ferrier-Pagès C., Grover R., Gilbert A., Rottier C., Wright A., Payri C., Houlbrèque F., 2018. Enhancement of coral calcification via the interplay of nickel and urease. *Aquatic Toxicology*, 200, May, p. 247-256.
- Biscéré T., Lorrain A., Rodolfo-Metalpa R., Gilbert A., Wright A., Devissi C., Peignon C., Farman R., Duveillbourg E., Payri C., Houlbrèque F., 2017. Nickel and ocean warming affect scleractinian coral growth. *Marine Pollution Bulletin*, 120, 1-2, p. 250-258.
- Biscéré T., Rodolfo-Metalpa R., Lorrain A., Chauvaud L., Thébault J., Clavier J., Houlbrèque F., 2015. Responses of two scleractinian corals to cobalt pollution and ocean acidification. *PLoS ONE*, 10, 4, p. 1-18.
- Blankenship M.L., Wilbur K.M., 1975. Cobalt effects on cell division and calcium uptake in the coccolithophorid *Cricosphaera carterae* (Haptophyceae). *Journal of Phycology*, 11, p. 211-219.
- Boatta F., D'Alessandro W., Gagliano A.L., Liotta M., Milazzo M., Rodolfo-Metalpa R., Hall-Spencer J.M., Parello F., 2013. Geochemical survey of Levante Bay, Vulcano Island (Italy), a natural laboratory for the study of ocean acidification. *Marine Pollution Bulletin*, 73, 2, p. 485-494.
- Bobicki E.R., Liu Q., Xu Z., 2014. Effect of microwave pre-treatment on ultramafic nickel ore slurry rheology. *Minerals Engineering*, 61, p. 97-104.
- Bonvallet J., Gay J.-C., Habert E., 2012. *Atlas de la Nouvelle Calédonie*, 231 p.
- Box G.E.P., Cox D.R., 1964. An analysis of transformations. *Journal of the Royal Statistical Society. Series B (Methodological)*, 26, 2, p. 211-252.
- Boyd P.W., Ellwood M.J., 2010. The biogeochemical cycle of iron in the ocean. *Nature Geoscience*, 3, 10, p. 675-682.

Bibliographie

- Boyer E.W., Howarth R.W., Galloway J.N., Dentener F.J., Green P.A., Vörösmarty C.J., 2006. Riverine nitrogen export from the continents to the coasts. *Global Biogeochemical Cycles*, 20, 1, p. 1-9.
- Boyle E.A., Chapnick S.D., Bai X.X., Spivack A., 1985. Trace metal enrichments in the Mediterranean Sea. *Earth and Planetary Science Letters*, 74, 4, p. 405-419.
- Brading P., E. W.M., Davey P., Smith D.J., Achterberg E.P., Suggett D.J., 2011. Differential effects of ocean acidification on growth and photosynthesis among phylotypes of *Symbiodinium* (*Dinophyceae*). *Limnology and oceanography*, 56, 3, p. 927-938.
- Breitbarth E., Bellerby R.J., Neill C.C., Ardelan M. V., Meyerhöfer M., Zöllner E., Croot P.L., Riebesell U., 2010. Ocean acidification affects iron speciation during a coastal seawater mesocosm experiment. *Biogeosciences*, 7, 3, p. 1065-1073.
- Brinkman T.J., Smith A.M., 2015. Effect of climate change on crustose coralline algae at a temperate vent site, White Island, New Zealand. *Marine and Freshwater Research*, 66, 4, p. 360-370.
- Brown B.E., Dunne R.P., Ambarsari I., Tissier M.D.A. Le, Satapoomin U., 1999. Seasonal fluctuations in environmental factors and variations in symbiotic algae and chlorophyll pigments in four Indo-Pacific coral species. *Marine Ecology Progress Series*, 191, p. 53-69.
- Brown B.E., Tissier M.D.A. Le, Bythell J.C., 1995. Mechanisms of bleaching deduced from histological studies of reef corals sampled during a natural bleaching event. *Marine Biology*, 122, 4, p. 655-663.
- Brown B.E., Tudhope A.W., Tissier M.D.A. Le, Scoffin T.P., 1991. A novel mechanism for iron incorporation into coral skeletons. *Coral Reefs*, 10, 4, p. 211-215.
- Brown M., Depledge M., 1998. « Determinants of trace metal concentrations in marine organisms », dans *Metal metabolism in aquatic environments*, Chapman, p. 185-188.
- Bruland K.W., Lohan M.C., 2006. Controls of trace metals in seawater. *The oceans and marine geochemistry*, 6, p. 23-47.
- Bruland K.W., 1980. Oceanographic distributions of cadmium, zinc, nickel, and copper in the North Pacific. *Earth and Planetary Science Letters*, 47, 2, p. 176-198.
- Bruno J., Bertness M.D., 2001. Positive interactions, facilitations and foundation species. *Marine community ecology*. Sinauer Associates, Inc Publishers, Sunderland, Massachusetts, p. 201-218.
- Buck K.N., Bruland K.W., 2007. The physicochemical speciation of dissolved iron in the Bering Sea, Alaska. *Limnology and Oceanography*, 52, 5, p. 1800-1808.
- Buck K.N., Selph K.E., Barbeau K.A., 2010. Iron-binding ligand production and copper speciation in an incubation experiment of Antarctic Peninsula shelf waters from the Bransfield Strait, Southern Ocean. *Marine Chemistry*, 122, 1-4, p. 148-159.
- Buddemeier R.W., Smith S. V., 1988. Coral reef growth in an era of rapidly rising sea level: predictions and suggestions for long-term research. *Coral Reefs*, 7, 1, p. 51-56.
- Burkepile D.E., Hay M.E., 2008. Herbivore species richness and feeding complementarity affect community structure and function on a coral reef. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 42, p. 16201-16206.
- Burris J.E., Porter J.W., Laing W.A., 1983. Effects of carbon dioxide concentration on coral photosynthesis. *Marine Biology*, 75, p. 113-116.

- Butler A., 1998. Acquisition and utilization of transition metal ions by marine organisms. *Science*, 281, July, p. 207-210.
- Byrne R.H., 2002. Inorganic speciation of dissolved elements in seawater: The influence of pH on concentration ratios. *Geochemical Transactions*, 3, 2, p. 11-16.

C

- Cai W.J., Ma Y., Hopkinson B.M., Grottoli A.G., Warner M.E., Ding Q., Hu X., Yuan X., Schoepf V., Xu H., Han C., Melman T.F., Hoadley K.D., Pettay D.T., Matsui Y., Baumann J.H., Levas S., Ying Y., Wang Y., 2016. Microelectrode characterization of coral daytime interior pH and carbonate chemistry. *Nature Communications*, 7, p. 1-8.
- Caldeira K., Wickett, 2003. Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425, September, p. 2003.
- Calosi P., Rastrick S.P.S., Graziano M., Thomas S.C., Baggini C., Carter H.A., Hall-Spencer J.M., Milazzo M., Spicer J.I., 2013. Distribution of sea urchins living near shallow water CO₂ vents is dependent upon species acid-base and ion-regulatory abilities. *Marine Pollution Bulletin*, 73, 2, p. 470-484.
- Calosi P., Rastrick S.P.S., Lombardi C., Guzman H.J. De, Jahnke M., Giangrande A., Hardege J.D., Spicer J.I., Gambi M., 2013. Adaptation and acclimatization to ocean acidification in marine ectotherms: An *in situ* transplant experiment with polychaetes at a shallow CO₂ vent system. *Proceedings of the Royal Society B*, 368, p. 20120444.
- Camp E.F., Nitschke M.R., Rodolfo-Metalpa R., Houlbreque F., Gardner S.G., Smith D.J., Zampighi M., Suggett D.J., 2017. Reef-building corals thrive within hot-acidified and deoxygenated waters. *Scientific Reports*, 7, 1, p. 1-9.
- Camp E.F., Schoepf V., Mumby P.J., Hardtke L.A., Rodolfo-metalpa R., Smith D.J., Suggett D.J., 2018. The future of coral reefs subject to rapid climate change: Lessons from natural extreme environments. *Frontiers in Marine Science*, 5, February, p. 1-21.
- Campbell J.W., Speeg K.V., 1969. Ammonia and biological deposition of calcium carbonate. *Nature*, 224, p. 725-726.
- Campbell P.G.C., Tessier A., Turner D.R., 1995. Metal speciation and bioavailability in aquatic systems. *IUPAC Series on analytical and physical chemistry of environmental systems*. Wiley, Chichester.
- Cantin N.E., Cohen A.L., Karnauskas K.B., Tarrant A.M., McCorkle D.C., 2010. Ocean warming slows coral growth in the central Red Sea. *Science*, 329, 5989, p. 322-325.
- Cao C., Sun S., Wang X., Liu W., Liang Y., 2011. Effects of manganese on the growth, photosystem II and SOD activity of the dinoflagellate *Amphidinium* sp. *Journal of Applied Phycology*, 23, 6, p. 1039-1043.
- Caramanna G., Voltattorni N., Maroto-Valer M., 2012. Is Panarea Island (Italy) a valid and cost-effective natural laboratory for the development of detection and monitoring techniques for submarine CO₂ seepage? *Greenhouse Gases: Science and Technology*, 2, 1, p. 9-19.
- Carey J., 1981. Nickel mining and refinery wastes in coral reef environments. 4th *International Coral Reef Symposium*, Manila (Philippines).
- Casperlindley C., Bjorkman O., 1998. Fluorescence quenching in 4 unicellular algae with different light harvestign and xanthophyll cycle pigments. *Photosynthesis research*, 56, 3, p. 277-289.

Bibliographie

- Cempel M., Nickel G., 2006. Nickel: A review of its sources and environmental toxicology. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15, 3, p. 375-382.
- Censi P., Spoto S.E., Saiano F., Sprovieri M., Mazzola S., Nardone G., Geronimo S.I. Di, Punturo R., Ottonello D., 2006. Heavy metals in coastal water systems. A case study from the northwestern Gulf of Thailand. *Chemosphere*, 64, 7, p. 1167-1176.
- Cervantes C., Campos-García J., Devars S., Gutiérrez-Corona F., Loza-Tavera H., Torres-Guzmán J.C., Moreno-Sánchez R., 2001. Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiology Reviews*, 25, 3, p. 335-347.
- Cesar H., 1996. Economic analysis of Indonesian coral reefs. *The World Bank*.
- Chan I., Hung J., Peng S., Tseng L., Ho T., 2014. Comparison of metal accumulation in the azooxanthellate scleractinian coral (*Tubastraea coccinea*) from different polluted environments. *Marine Pollution Bulletin*, 85, 2, p. 648-658.
- Chan N.C.S., Connolly S.R., 2013. Sensitivity of coral calcification to ocean acidification: A meta-analysis. *Global Change Biology*, 19, 1, p. 282-290.
- Chan P.C., Peller O.G., Kesner L., 1982. Copper(II)-catalyzed lipid peroxidation in liposomes and erythrocyte membranes. *Lipids*, 17, 5, p. 331-337.
- Chase Z., Paytan A., Johnson K.S., Street J., Chen Y., 2006. Input and cycling of iron in the Gulf of Aqaba, Red Sea. *Global Biogeochemical Cycles*, 20, 3, p. 1-11.
- Cheal A.J., MacNeil M.A., Cripps E., Emslie M.J., Jonker M., Schaffelke B., Sweatman H., 2010. Coral-macroalgal phase shifts or reef resilience: Links with diversity and functional roles of herbivorous fishes on the Great Barrier Reef. *Coral Reefs*, 29, 4, p. 1005-1015.
- Chen P.Y., Chen C.C., Chu L.F., McCarl B., 2015. Evaluating the economic damage of climate change on global coral reefs. *Global Environmental Change*, 30, p. 12-20.
- Chen T.R., Yu K.F., Li S., Price G.J., Shi Q., Wei G.J., 2010. Heavy metal pollution recorded in *Porites* corals from Daya Bay, northern South China Sea. *Marine Environmental Research*, 70, 3-4, p. 318-326.
- Chiodini G., Caliro S., Caramanna G., Granieri D., Minopoli C., Moretti R., Perotta L., Ventura G., 2006. Geochemistry of the submarine gaseous emissions of Panarea (Aeolian Islands, Southern Italy): Magmatic vs. hydrothermal origin and implications for volcanic surveillance. *Pure and Applied Geophysics*, 163, 4, p. 759-780.
- Chisholm J.R.M., Gattuso J.-P., 1991. Validation of the alkalinity anomaly technique for investigating calcification of photosynthesis in coral reef communities. *Limnology and Oceanography*, 36, 6, p. 1232-1239.
- Cho B.C., Park M.G., Shim J.H., Azam F., 1996. Significance of bacteria in urea dynamics in coastal surface waters. *Marine Ecology Progress Series*, 142, 1-3, p. 19-26.
- Cinner J.E. et al., 2016. Bright spots among the world's coral reefs. *Nature*, 535, 7612, p. 416-419.
- Clarke K.R., Warwick R.M., 2001. *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation 2nd edition*, PRIMER-E (dir.), Plymouth.
- Coale K.H., Bruland K.W., 1990. Spatial and temporal variability in copper complexation in the North Pacific. *Deep Sea Research Part A, Oceanographic Research Papers*, 37, 2, p. 317-336.

Bibliographie

- Coffroth M.A., 2005. Genetic diversity of symbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium*. *Protist*, 156, p. 19-34.
- Cohen A.L., McConnaughey T.A., 2003. Geochemical perspectives on coral mineralization. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54, 1, p. 151-187.
- Comeau S., Edmunds P.J., Spindel N.B., Carpenter R.C., 2013. The responses of eight coral reef calcifiers to increasing partial pressure of CO₂ do not exhibit a tipping point. *Limnology and Oceanography*, 58, 1, p. 388-398.
- Comeau S., Carpenter R.C., Edmunds P.J., 2013. Coral reef calcifiers buffer their response to ocean acidification using both bicarbonate and carbonate. *Proceedings of the Royal Society B*, 280, p. 20122374.
- Comeau S., Carpenter R.C., Edmunds P.J., 2017. Effects of pCO₂ on photosynthesis and respiration of tropical scleractinian corals and calcified algae. *ICES Journal of Marine Science*, 74, 4, p. 1092-1102.
- Comeau S., Carpenter R.C., Edmunds P.J., 2014. Effects of irradiance on the response of the coral *Acropora pulchra* and the calcifying alga *Hydrolithon reinboldii* to temperature elevation and ocean acidification. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 453, p. 28-35.
- Conley D.J., Paerl H.W., Howarth R.W., Boesch D.F., Seitzinger S.P., Havens K.E., Lancelot C., Likens G.E., 2009. Controlling eutrophication: Nitrogen and phosphorus. *Science*, 323, 5917, p. 1014-1015.
- Conover R.J., Gustavson K.R., 1999. Sources of urea in arctic seas: Zooplankton metabolism. *Marine Ecology Progress Series*, p. 41-54.
- Cook C.B., 1983. Metabolic interchange in algae-invertebrate symbiosis. *International Review of Cytology (USA)*.
- Cooper T.F., Gilmour J.P., Fabricius K.E., 2009. Bioindicators of changes in water quality on coral reefs: Review and recommendations for monitoring programmes. *Coral Reefs*, 28, 3, p. 589-606.
- Cornell S.E., Jickells T.D., Cape J.N., Rowland A.P., Duce R.A., 2003. Organic nitrogen deposition on land and coastal environments: A review of methods and data. *Atmospheric Environment*, 37, 16, p. 2173-2191.
- Costanza R., Groot R. de, Sutton P., Ploeg S. van der, Anderson S.J., Kubiszewski I., Farber S., Turner R.K., 2014. Changes in the global value of ecosystem services. *Global Environmental Change*, 26, 1, p. 152-158.
- Courtial L., Roberty S., Shick J.M., Houlbrèque F., Ferrier-Pagès C., 2017. Interactive effects of ultraviolet radiation and thermal stress on two reef-building corals. *Limnology and Oceanography*, 62, 3, p. 1000-1013.
- Couto R.P., Rodrigues A.S., Neto A.I., 2015. Shallow-water hydrothermal vents in the Azores (Portugal). *Revista de Gestão Costeira Integrada*, 15, 4, p. 495-505.
- Crandall J.B., Teece M.A., 2012. Urea is a dynamic pool of bioavailable nitrogen in coral reefs. *Coral Reefs*, 31, 1, p. 207-214.
- Croft M.T., Lawrence A.D., Raux-Deery E., Warren M.J., Smith A.G., 2005. Algae acquire vitamin B₁₂ through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature*, 438, 7064, p. 90-93.

Bibliographie

- Croot P.L., Bluhm K., Schlosser C., Streu P., Breitbarth E., Frew R., Ardelan M. van, 2008. Regeneration of Fe(II) during EIfEX and SOFeX. *Geophysical Research Letters*, 35, 19, p. 1-5.
- Crossland C.J., Barnes D.J., 1974. The role of metabolic nitrogen in coral calcification. *Marine Biology*, 28, 4, p. 325-332.
- Crossland C.J., 1984. Seasonal variations in the rates of calcification and productivity in the coral *Acropora formosa* on a high-latitude reef. *Marine Ecology Progress Series*, 15, p. 135-140.
- Cruz-Trinidad A., Geronimo R.C., Cabral R.B., Aliño P.M., 2011. How much are the Bolinao-Anda coral reefs worth? *Ocean and Coastal Management*, 54, 9, p. 696-705.
- Császár N.B.M., Seneca F.O., Oppen M.J.H. Van, 2009. Variation in antioxidant gene expression in the scleractinian coral *Acropora millepora* under laboratory thermal stress. *Marine Ecology Progress Series*, 392, p. 93-102.
- Cuif J.P., Dauphin Y., Gautret P., 1999. Compositional diversity of soluble mineralizing matrices in some recent coral skeletons compared to fine-scale growth structures of fibres: Discussion of consequences for biomineralization and diagenesis. *International Journal of Earth Sciences*, 88, 3, p. 582-592.
- Cunning R., Baker A.C., 2013. Excess algal symbionts increase the susceptibility of reef corals to bleaching. *Nature Climate Change*, 3, 3, p. 259-262.
- Cuong D.T., Karuppiiah S., Obbard J.P., 2008. Distribution of heavy metals in the dissolved and suspended phase of the sea-surface microlayer, seawater column and in sediments of Singapore's coastal environment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 138, 1-3, p. 255-272.

D

- D'Olivo J.P., McCulloch M.T., Judd K., 2013. Long-term records of coral calcification across the central Great Barrier Reef: Assessing the impacts of river runoff and climate change. *Coral Reefs*, 32, 4, p. 999-1012.
- Dalcorso G., Manara A., Piasentin S., Furini A., 2014. Nutrient metal elements in plants. *Metallomics*, 6, 10, p. 1770-1788.
- Dam J.W. van, Negri A.P., Uthicke S., Mueller J.F., 2011. Chemical pollution on coral reefs: Exposure and ecological effects. *Ecological Impacts of Toxic Chemicals*, August, p. 187-211.
- Dando P.R., Stüben D., Varnavas S.P., 1999. Hydrothermalism in the Mediterranean Sea. *Progress in Oceanography*, 44, 1-3, p. 333-367.
- Davies P., 1989. Short-term growth measurements of corals using an accurate buoyant weighing technique. *Marine Biology*, 101, p. 389-395.
- De'ath G., Fabricius K.E., Sweatman H., Puotinen M., 2012. The 27-year decline of coral cover on the Great Barrier Reef and its causes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 44, p. 17995-17999.
- De'ath G., Lough J.M., Fabricius K.E., 2009. Declining coral calcification on the Great Barrier Reef. *Science*, 323, January, p. 116-120.

Bibliographie

- Decarlo T.M., Comeau S., Cornwall C.E., McCulloch M.T., 2018. Coral resistance to ocean acidification linked to increased calcium at the site of calcification. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285, 1878.
- Denton G.R.W., Concepcion L.P., Wood H.R., Morrison R.J., 2005. Trace metals in sediments of four harbours in Guam. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 10, p. 1133-1141.
- Denton G.R.W., Burdon-Jones C., 1986. Trace metals in fish from the Great Barrier Reef. *Marine Pollution Bulletin*, 17, 5, p. 201-209.
- Deschaseaux E., Hardefeldt J., Jones G., Reichelt-Brushett A., 2018. High zinc exposure leads to reduced dimethylsulfoniopropionate (DMSP) levels in both the host and endosymbionts of the reef-building coral *Acropora aspera*. *Marine Pollution Bulletin*, 126, February, p. 93-100.
- Diaz-Pulido G., Anthony K.R.N., Kline D.I., Dove S., Hoegh-Guldberg O., 2012. Interactions between ocean acidification and warming on the mortality and dissolution of coralline algae. *Journal of Phycology*, 48, 1, p. 32-39.
- Diaz R.J., Rosenberg R., 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, 321, 5891, p. 926-929.
- Dickson A.G., Sabine C.L., Christian J.R., 2007. Guide to best practices for ocean CO₂ measurements. *PICES Special Publication 3*, 3, 8, p. 191.
- Diner B.A., Babcock G.T., 1996. « Structure, dynamics, and energy conversion efficiency in photosystem II », dans *Oxygenic Photosynthesis: The Light Reactions*, ORT D.R., YOCUM C.F. (dirs.), Kluwer Academic, p. 213-247.
- Done T.J., 1982. Patterns in the distribution of coral communities across the central Great Barrier Reef. *Coral Reefs*, 1, 2, p. 95-107.
- Done T., Whetton P., Jones R., Berkelmans R., Lough J., Skirving W., Wooldridge S., 2003. Global climate change and coral bleaching on the Great Barrier Reef. *Final Report to the State of Queensland Greenhouse Taskforce through the Department of Natural Resources and Mines Global*, July.
- Doney S.C., 2006. Plankton in a warmer world. *Nature*, 444, 12, p. 695-696.
- Doney S.C., Fabry V.J., Feely R.A., Kleypas J.A., 2009. Ocean acidification: The other CO₂ problem. *Annual Reviews*, p. 212-251.
- Donner S.D., Skirving W.J., Little C.M., Oppenheimer M., Hoegh-Gulberg O., 2005. Global assessment of coral bleaching and required rates of adaptation under climate change. *Global Change Biology*, 11, 12, p. 2251-2265.
- Douglas A.E., 2003. Coral bleaching - How and why? *Marine Pollution Bulletin*, 46, 4, p. 385-392.
- Douglas A.E., McAuley P.J., Davtes P.S., 1993. Algal symbiosis in Cnidaria. *Journal of Zoology*, 231, 1, p. 175-178.
- Downs C.A., Fauth J.E., Halas J.C., Dustan P., Bemiss J., Woodley C.M., 2002. Oxidative stress and seasonal coral bleaching. *Free Radical Biology and Medicine*, 33, 4, p. 533-543.
- Downs C.A., Heckathorn S.A., 1998. The mitochondrial small heat-shock protein protects NADH:ubiquinone oxidoreductase of the electron transport chain during heat stress in plants. *FEBS Letters*, 430, 3, p. 246-250.
- Downs C.A., Kramarsky-Winter E., Martinez J., Kushmaro A., Woodley C.M., Loya Y., Ostrander G.K., 2009. Symbiophagy as a cellular mechanism for coral bleaching. *Autophagy*, 5, 2, p. 211-216.

- Downs C.A., Ryan S.L., Heckathorn S.A., 1999. The chloroplast small heat-shock protein: Evidence for a general role in protecting photosystem II against oxidative stress and photoinhibition. *Journal of Plant Physiology*, 155, 4-5, p. 488-496.
- Drake J.L., Mass T., Haramaty L., Zelzion E., Bhattacharya D., Falkowski P.G., 2013. Proteomic analysis of skeletal organic matrix from the stony coral *Stylophora pistillata*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 19, p. 7958-7959.
- Droppa M., Horváth G., 1990. The role of copper in photosynthesis. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 9, 2, p. 111-123.
- Dunn J.G., Sammarco P.W., LaFleur G., 2012. Effects of phosphate on growth and skeletal density in the scleractinian coral *Acropora muricata*: A controlled experimental approach. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 411, p. 34-44.
- Dupont C.L., Barbeau K., Palenik B., 2008. Ni uptake and limitation in marine *Synechococcus* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 1, p. 23-31.
- Dupont C.L., Neupane K., Shearer J., Palenik B., 2008. Diversity, function and evolution of genes coding for putative Ni-containing superoxide dismutases. *Environmental Microbiology*, 10, 7, p. 1831-1843.

E

- Eady R.R., Smith B.E., 1979. « Physico-chemical properties of nitrogenase and its components », dans *A treatise on dinitrogen fixation*. Wiley-Interscience, p. 399-490.
- Eder K., Kirchgessner M., 1997. Nickel. *Handbook of Nutritionally Essential Mineral Elements*, p. 439-451.
- Edinger E.N., Jompa J., Limmon G. V., Widjatmoko W., Risk M.J., 1998. Reef degradation and coral biodiversity in Indonesia: Effects of land-based pollution, destructive fishing practices and changes over time. *Marine Pollution Bulletin*, 36, 8, p. 617-630.
- Edmunds P.J., Davies P.S., 1988. Post-illumination stimulation of respiration rate in the coral *Porites porites*. *Coral Reefs*, 7, 1, p. 7-9.
- Edmunds P.J., 2012. Effect of $p\text{CO}_2$ on the growth, respiration, and photophysiology of massive *Porites* spp. in Moorea, French Polynesia. *Marine Biology*, 159, 10, p. 2149-2160.
- Eisler R., 1981. *Trace metal concentrations in marine organisms*, Pergamon Press.
- El-Sorogy A.S., Mohamed M.A., Nour H.E., 2012. Heavy metals contamination of the Quaternary coral reefs, Red Sea coast, Egypt. *Environmental Earth Sciences*, 67, 3, p. 777-785.
- Elias M., 2002. Nickel laterite deposits – geological overview , resources and exploitation. *Giant Ore Deposits: Characteristics, genesis and exploration: CODES Special Publication 4*, Hobart, University of Tasmania, CODES Special Publication 4, p. 205-220.
- Enochs I.C., Manzello D.P., Carlton R.D., Graham D.M., Ruzicka R., Colella M.A., 2015. Ocean acidification enhances the bioerosion of a common coral reef sponge: Implications for the persistence of the Florida Reef Tract. *Bulletin of Marine Science*, 91, 2, p. 271-290.
- Enríquez S., Borowitzka M.A., 2010. « The use of the fluorescence signal in studies of seagrasses and macroalgae », dans *Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications*, Springer, p. 187-208.

- Enriquez S., Méndez E.R., Iglesias-Prieto R., 2005. Multiple scattering on coral skeletons enhances light absorption by symbiotic algae. *Limnology and Oceanography*, 50, 4, p. 1025-1032.
- Ent A. van der, Baker A.J.M., Reeves R.D., Pollard A.J., Schat H., 2013. Hyperaccumulators of metal and metalloid trace elements: Facts and fiction. *Plant and Soil*, 362, 1/2, p. 319-334.
- Erez J., Reynaud S., Silverman J., Schneider K., Allemand D., 2011. « Coral calcification under ocean acidification and global change », dans *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*, DUBINSKY Z., STAMBLER N. (dirs.), Springer S, p. 151-176.
- Ernez M., Lannoye R., 1991. Quantitative determination of photosynthetic disorders in stressed plant: Concept and methodology aspects. *Journées Scientifiques du Réseau Biotechnologies Vegetales*.
- Esquivel I.F., 1986. « Short-term bioassay on the planula of the reef coral *Pocillopora damicornis* », dans *Coral reef population biology. Technical report n°37*, JOKIEL P.L., RICHMOND R.H., ROGERS R.A. (dirs.), Hawaii Institut of Marine Biology, p. 465-472.
- Eyre B.D., Cyronak T., Drupp P., Carlo E.H. De, Sachs J.P., Andersson A.J., 2018. Coral reefs will transition to net dissolving before end of century. *Science*, 359, February, p. 908-911.
- Ezzat L., Fine M., Maguer J.-F., Grover R., Ferrier-Pagès C., 2017. Carbon and nitrogen acquisition in shallow and deep holobionts of the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Frontiers in Marine Science*, 4, April, p. 1-12.
- Ezzat L., Maguer J.-F., Grover R., Ferrier-Pagès C., 2015. New insights into carbon acquisition and exchanges within the coral-dinoflagellate symbiosis under NH_4^+ and NO_3^- supply. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282, 1812, p. 20150610.
- Ezzat L., Maguer J.F., Grover R., Ferrier-Pagès C., 2016. Limited phosphorus availability is the Achilles heel of tropical reef corals in a warming ocean. *Scientific Reports*, 6, August, p. 1-11.
- Ezzat L., Towle E., Irisson J.O., Langdon C., Ferrier-Pagès C., 2016. The relationship between heterotrophic feeding and inorganic nutrient availability in the scleractinian coral *T. reniformis* under a short-term temperature increase. *Limnology and Oceanography*, 61, 1, p. 89-102.

F

- Fabricius K.E., De G., Noonan S., Uthicke S., 2014. Ecological effects of ocean acidification and habitat complexity on reef-associated macroinvertebrate communities. *Proceedings of the Royal Society B*, 281, 12, p. 0-7.
- Fabricius K.E., 2005. Effects of terrestrial runoff on the ecology of corals and coral reefs: Review and synthesis. *Marine Pollution Bulletin*, 50, 2, p. 125-146.
- Fabricius K.E., De'ath G., Humphrey C., Zagorskis I., Schaffelke B., 2013. Intra-annual variation in turbidity in response to terrestrial runoff on near-shore coral reefs of the Great Barrier Reef. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 116, p. 57-65.
- Fabricius K.E., Langdon C., Uthicke S., Humphrey C., Noonan S., De'ath G., Okazaki R., Muehllehner N., Glas M.S., Lough J.M., 2011. Losers and winners in coral reefs acclimatized to elevated carbon dioxide concentrations. *Nature Climate Change*, 1, 3, p. 165-169.

Bibliographie

- Fabry V., Seibel B., 2008. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES Journal of Marine Science*, 65, 3, p. 414-432.
- Fagoonee I., Wilson H.B., Hassell M.P., Turner J.R., 1999. The dynamics of zooxanthellae populations: A long-term study in the field. *Science*, 283, February, p. 843-845.
- Fairbrother A., Wenstel R., Sappington K., Wood W., 2007. Framework for metals risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68, 2, p. 145-227.
- Fairoz M., Suzuki Y., Casareto B., Agostini S., Shiroma S., Charpy L., 2008. Role of organic matter in chemical symbiosis at coral reefs: Release of organic nitrogen and amino acids under heat stress. *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*, January 2017, p. 895-899.
- Falkowski P.G., Dubinsky Z., Muscatine L., Porter J.W., 1984. Light and the Bioenergetics of a Symbiotic Coral. *BioScience*, 34, 11, p. 705-709.
- Falter J.L., Atkinson M.J., Merrifield M.A., 2004. Mass-transfer limitation of nutrient uptake by a wave-dominated reef flat community. *Limnology and Oceanography*, 49, 5, p. 1820-1831.
- Fan S.M., 2008. Photochemical and biochemical controls on reactive oxygen and iron speciation in the pelagic surface ocean. *Marine Chemistry*, 109, 1-2, p. 152-164.
- Fassbender A.J., Alin S.R., Krembs C., Sutton A.J., Feely R.A., Newton J., 2017. Mapping the present to recognize the future: The magnitude and frequency of pH and Ω_{Ar} variability in Washington State. *Salish Sea Ecosystem Conference*.
- Feely R. a, Sabine C.L., Lee K., Berelson W., Kleypas J., Fabry V.J., Millero F.J., 2004. Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans. *Science*, 305, 5682, p. 362-366.
- Fernandez J.M., Ouillon S., Chevillon C., Douillet P., Fichez R., Le Gendre R., 2006. A combined modelling and geochemical study of the fate of terrigenous inputs from mixed natural and mining sources in a coral reef lagoon (New Caledonia). *Marine Pollution Bulletin*, 52, 3, p. 320-331.
- Ferrier-Pagès C., Gattuso J.P., Dallot S., Jaubert J., 2000. Effect of nutrient enrichment on growth and photosynthesis of the zooxanthellate coral *Stylophora pistillata*. *Coral Reefs*, 19, 2, p. 103-113.
- Ferrier-Pagès C., Houlbrèque F., Wyse E., Richard C., Allemand D., Boisson F., 2005. Bioaccumulation of zinc in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Coral Reefs*, 24, 4, p. 636-645.
- Ferrier-Pagès C., Schoelzke V., Jaubert J., Muscatine L., Hoegh-Guldberg O., 2001. Response of a scleractinian coral, *Stylophora pistillata*, to iron and nitrate enrichment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 259, p. 249-261.
- Ferrier-pagès C., Sauzéat L., Balter V., 2018. Coral bleaching is linked to the capacity of the animal host to supply essential metals to the symbionts. *Global Change Biology*, 24, March, p. 3145-3157.
- Ferrier M.D., 1991. Net uptake of dissolved free amino acids by four scleractinian corals. *Coral Reefs*, 10, 4, p. 183-187.
- Fichez R., Adjeroūd M., Bozec Y.-M., Breau L., Chancerelle Y., Chevillon C., Douillet P., Fernandez J.-M., Frouin P., Kulbicki M., Moreton B., Ouillon S., Payri C., Perez T., Sasal P., Thébault J., 2005. A review of selected indicators of particle, nutrient and metal inputs in coral reef lagoon systems. *Aquatic Living Resources*, 18, p. 125-147.

- Fine M., Loya Y., 2002. Endolithic algae: An alternative source of photoassimilates during coral bleaching. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 269, 1497, p. 1205-1210.
- Fitt W.K., McFarland I.F.K., Warner M.E., Chilcoat G.C., 2000. Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. *Limnology and Oceanography*, 45, 3, p. 677-685.
- Fitt W.K., Brown B.E., Warner M.E., Dunne R.P., 2001. Coral bleaching: Interpretation of thermal tolerance limits and thermal thresholds in tropical corals. *Coral Reefs*, 20, 1, p. 51-65.
- Fitzpatrick J.L., Nadella S., Bucking C., Balshine S., Wood C.M., 2008. The relative sensitivity of sperm, eggs and embryos to copper in the blue mussel (*Mytilus trossulus*). *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 147, 4, p. 441-449.
- Fonseca J. da S., Marangoni L.F. de B., Marques J.A., Bianchini A., 2017. Effects of increasing temperature alone and combined with copper exposure on biochemical and physiological parameters in the zooxanthellate scleractinian coral *Mussismilia harttii*. *Aquatic Toxicology*, 190, March, p. 121-132.
- Freudenthal H., 1962. *Symbiodinium* gen. nov. and *Symbiodinium microadriaticum* sp. nov., a zooxanthella: Taxonomy, life cycle, and morphology. *The Journal of Protozoology*, 9, 1, p. 45-52.
- Fujita M., Ide Y., Sato D., Kench P.S., Kuwahara Y., Yokoki H., Kayanne H., 2014. Heavy metal contamination of coastal lagoon sediments: Fongafale Islet, Funafuti Atoll, Tuvalu. *Chemosphere*, 95, p. 628-634.
- Furla P., Galgani I., Durand I., Allemand D., 2000. Sources and mechanisms of inorganic carbon transport for coral calcification and photosynthesis. *The Journal of experimental biology*, 203, p. 3445-3457.
- Furla P., Richier S., Allemand D., 2011. « Physiological adaptation to symbiosis in cnidarians », dans *Coral Reefs: an Ecosystem in Transition*, Springer, p. 187-195.
- Furnas M., Mitchell A., Skuza M., Brodie J., 2005. In the other 90%: Phytoplankton responses to enhanced nutrient availability in the Great Barrier Reef Lagoon. *Marine Pollution Bulletin*, 51, 1-4, p. 253-265.

G

- Ganea E., Harding J.J., 2000. α -Crystallin protects glucose 6-phosphate dehydrogenase against inactivation by malondialdehyde. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1500, 1, p. 49-58.
- Gattuso J.P., Frankignoulle M., Bourge I., Romaine S., Buddemeier R.W., 1998. Effect of calcium carbonate saturation of seawater on coral calcification. *Global and Planetary Change*, 18, 1-2, p. 37-46.
- Gattuso J.-P., Allemand D., Frankignoulle M., 1999. Photosynthesis and calcification at cellular, organismal and community levels in coral reefs: A review on interactions and control by carbonate chemistry. *American Zoologist*, 39, 1, p. 160-183.
- Geider R.J., Roche J. La, 1994. The role of iron in phytoplankton photosynthesis, and the potential for iron-limitation of primary productivity in the sea. *Photosynthesis Research*, 39, 3, p. 275-301.

Bibliographie

- Genty B., Briantais J.M., Baker N.R., 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, 990, 1, p. 87-92.
- German C.R., Damm K.L. Von, 2003. *Treatise on geochemistry*, HOLLAND H.D., TUREKIAN K.K. (dirs.), Elsevier London, 625 p.
- Ghani A., 2011. Effect of chromium toxicity on growth, chlorophyll and some mineral nutrients of *Brassica juncea* L. *Egyptian Academic Journal of biological Sciences*, 2, 1, p. 9-15.
- Ghanotakis D.F., Yocum C.F., 1990. Photosystem II and the oxygen evolving complex. *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*, 41, p. 255-276.
- Gilbert A.L., Guzmán H.M., 2001. Bioindication potential of carbonic anhydrase activity in anemones and corals. *Marine Pollution Bulletin*, 42, 9, p. 742-744.
- Gissi F., Stauber J.L., Binet M.T., Golding L.A., Adams M.S., Schlekot C.E., Garman E.R., Jolley D.F., 2016. A review of nickel toxicity to marine and estuarine tropical biota with particular reference to the South East Asian and Melanesian region. *Environmental Pollution*, 218, p. 1308-1323.
- Gissi F., Stauber J., Reichelt-Brushett A., Harrison P.L., Jolley D.F., 2017. Inhibition in fertilisation of coral gametes following exposure to nickel and copper. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 145, June, p. 32-41.
- Gledhill M., Buck K.N., 2012. The organic complexation of iron in the marine environment: A review. *Frontiers in Microbiology*, 3, FEB, p. 1-17.
- Glibert P.M., Harrison J., Heil C., Seitzinger S., 2006. Escalating worldwide use of urea - A global change contributing to coastal eutrophication. *Biogeochemistry*, 77, 3, p. 441-463.
- Godinot C., Grover R., Allemand D., Ferrier-Pages C., 2011. High phosphate uptake requirements of the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Journal of Experimental Biology*, 214, 16, p. 2749-2754.
- Godinot C., Houlbrèque F., Grover R., Ferrier-Pagès C., 2011. Coral uptake of inorganic phosphorus and nitrogen negatively affected by simultaneous changes in temperature and pH. *PLoS one*, 6, 9, p. e25024.
- Goh B., Chou L.M., 1997. Effects of the heavy metals copper and zinc on zooxanthellae cells in culture. *Environmental monitoring and assessment*, 44, p. 11-19.
- Goh P.L.B., 1991. Mortality and settlement success of *Pocillopora damicornis* planula larvae during recovery from low levels of nickel. *Pacific Science*, 45, 3, p. 276-286.
- Goldberg W.M., 2013. *The biology of reefs and reef organisms*, University of Chicago Press.
- Goreau T.F., Goreau N.I., 1959. The physiology of skeleton formation in corals. II. Calcium deposition by hermatypic corals under various conditions in the reef. *The Biological Bulletin*, 117, 2, p. 239-250.
- Gori A., Grover R., Orejas C., Sikorski S., Ferrier-Pagès C., 2014. Uptake of dissolved free amino acids by four cold-water coral species from the Mediterranean Sea. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 99, p. 42-50.
- Graham E.M., Baird A.H., Connolly S.R., 2008. Survival dynamics of scleractinian coral larvae and implications for dispersal. *Coral Reefs*, 27, 3, p. 529-539.

- Grant A.J., Graham K., Frankland S., Hinde R., 2003. Effect of copper on algal-host interactions in the symbiotic coral *Plesiastrea versipora*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41, 4, p. 383-390.
- Gratwicke B., Speight M.R., 2005a. The relationship between fish species richness, abundance and habitat complexity in a range of shallow tropical marine habitats. *Journal of Fish Biology*, 66, 3, p. 650-667.
- Gratwicke B., Speight M.R., 2005b. Effects of habitat complexity on Caribbean marine fish assemblages. *Marine Ecology-Progress Series*, 292, p. 301-310.
- Greene R.M., Geider R.J., Falkowski P.G., 1991. Effect of iron limitation on photosynthesis in a marine diatom. *Limnology and Oceanography*, 36, 8, p. 1772-1782.
- Grover R., Maguer J.-F., Allemand D., Ferrier-Pages C., 2008. Uptake of dissolved free amino acids by the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Journal of Experimental Biology*, 211, 6, p. 860-865.
- Grover R., Maguer J.-F., Allemand D., 2003. Nitrate uptake in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Limnology and Oceanography*, 48, 6, p. 2266-2274.
- Grover R., Maguer J.F., Reynaun-Vaganay S., Ferrier-Pages C., 2002. Uptake of ammonium by the scleractinian coral *Stylophora pistillata*: Effects of feeding, light and ammonium concentrations. *Limnology and Oceanography*, 47, 4, p. 782-790.
- Grover R., Maguer J.F., Allemand D., Ferrier-Pagès C., 2006. Urea uptake by the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 332, 2, p. 216-225.
- Guieu C., Bonnet S., Petrenko A., Menkes C., Chavagnac V., Desboeufs K., Maes C., Moutin T., 2018. Iron from a submarine source impacts the productive layer of the Western Tropical South Pacific (WTSP). *Scientific Reports*, 8, 1, p. 1-9.
- Guinotte J.M., Fabry V.J., 2008. Ocean acidification and its potential effects on marine ecosystems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1134, p. 320-342.
- Guo J., Lapi S., Ruth T.J., Maldonado M.T., 2012. The effects of iron and copper availability on the copper stoichiometry of marine phytoplankton. *Journal of Phycology*, 48, 2, p. 312-325.
- Guzmán H.M., Jiménez C.E., 1992. Contamination of coral reefs by heavy metals along the Caribbean coast of Central America (Costa Rica and Panama). *Marine Pollution Bulletin*, 24, 11, p. 554-561.

H

- Haapkylä J., Unsworth R.K.F., Flavell M., Bourne D.G., Schaffelke B., Willis B.L., 2011. Seasonal rainfall and runoff promote coral disease on an inshore reef. *PLoS ONE*, 6, 2, p. 1-10.
- Haas A.F., Naumann M.S., Struck U., Mayr C., el-Zibdah M., Wild C., 2010. Organic matter release by coral reef associated benthic algae in the Northern Red Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 389, 1-2, p. 53-60.
- Hall-Spencer J.M., Rodolfo-Metalpa R., Martin S., Ransome E., Fine M., Turner S.M., Rowley S.J., Tedesco D., Buia M.C., 2008. Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature*, 454, 7200, p. 96-99.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, 219, 1, p. 1-14.

Bibliographie

- Halliwell B., 2006. Free radicals in biology and medicine. *Plant Physiology*, 141, June, p. 312-322.
- Harland A.D., Brown B.E., 1989. Metal tolerance in the scleractinian coral *Porites lutea*. *Marine Pollution Bulletin*, 20, 7, p. 353-357.
- Harper H.E., Knoll A.H., 1975. Silica, diatoms, and Cenozoic radiolarian evolution. *Geology*, 3, 4, p. 175-177.
- Harrison P.L., Wallace C.C., Dubinsky Z., 1990. "Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals" dans *Ecosystems of the world: Coral reefs*. Elsevier, Amsterdam.
- Hart D.E., Kench P.S., 2007. Carbonate production of an emergent reef platform, Warraber Island, Torres Strait, Australia. *Coral Reefs*, 26, 1, p. 53-68.
- Haynes D., Johnson J.E., 2000. Organochlorine, heavy metal and polyaromatic hydrocarbon pollutant concentrations in the Great Barrier Reef (Australia) environment: A review. *Marine Pollution Bulletin*, 41, 7-12, p. 267-278.
- Hédouin L., Metian M., Teyssié J.L., Fowler S.W., Fichez R., Warnau M., 2006. Allometric relationships in the bioconcentration of heavy metals by the edible tropical clam *Gafrarium tumidum*. *Science of the Total Environment*, 366, 1, p. 154-163.
- Hédouin L., Gates R.D., 2013. Assessing fertilization success of the coral *Montipora capitata* under copper exposure: Does the night of spawning matter? *Marine Pollution Bulletin*, 66, 1-2, p. 221-224.
- Hédouin L., Metian M., Teyssié J.L., Oberhänsli F., Ferrier-Pagès C., Warnau M., 2016. Bioaccumulation of ⁶³Ni in the scleractinian coral *Stylophora pistillata* and isolated *Symbiodinium* using radiotracer techniques. *Chemosphere*, 156, p. 420-427.
- Hédouin L., Pringault O., Bustamante P., Fichez R., Warnau M., 2011. Validation of two tropical marine bivalves as bioindicators of mining contamination in the New Caledonia lagoon: Field transplantation experiments. *Water research*, 45, 2, p. 483-496.
- Hédouin L.S., Wolf R.E., Phillips J., Gates R.D., 2016. Improving the ecological relevance of toxicity tests on scleractinian corals: Influence of season, life stage, and seawater temperature. *Environmental Pollution*, 213, p. 240-253.
- Heintz T., Haapkylä J., Gilbert A., 2015. Coral health on reefs near mining sites in New Caledonia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 115, 2, p. 165-173.
- Herfort L., Thake B., Taubner I., 2008. Bicarbonate stimulation of calcification and photosynthesis in two hermatypic corals. *Journal of Phycology*, 44, 1, p. 91-98.
- Heron S.F., Eakin C.M., Douvère F., Anderson K.L., Day J.C., Geiger E., Hoegh-Guldberg O., Hooidek R. Van, Hughes T., Marshall P., 2017. Impacts of climate change on World Heritage coral reefs: A first global scientific assessment.
- Heyward A.J., 1988. Inhibitory effects of copper and zinc sulphates on fertilization in corals.
- Hill R., Brown C.M., DeZeeuw K., Campbell D.A., Ralph P.J., 2011. Increased rate of D1 repair in coral symbionts during bleaching is insufficient to counter accelerated photo-inactivation. *Limnology and Oceanography*, 56, 1, p. 139-146.
- Hill R., Ralph P.J., 2008. Impact of bleaching stress on the function of the oxygen evolving complex of zooxanthellae from scleractinian corals. *Journal of Phycology*, 44, 2, p. 299-310.

- Ho T.-Y., 2013. Nickel limitation of nitrogen fixation in *Trichodesmium*. *Limnology and Oceanography*, 58, 1, p. 112-120.
- Hoegh-Guldberg O., Hughes L., McIntyre S., Lindenmayer D.B., Parmesan C., Possingham H.P., Thomas C.D., 2008. Assisted colonization and rapid climate change. *Science*, 321, p. 345-346.
- Hoegh-Guldberg O., Hughes T., Anthony K., Caldeira K., Hatzioolos M., Kleypas J., 2009. Coral reefs and rapid climate change: impacts, risks and implications for tropical societies. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, p. 302004.
- Hoegh-Guldberg O., Harvell C.D., Sale P.F., Edwards A.J., Caldeira K., Knowlton N., Eakin C.M., 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*, 318, 2007, p. 1737-1742.
- Hoegh-Guldberg O., 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine Freshwater Research*, 50, p. 839-866.
- Hoegh-Guldberg O., Cai R., Poloczanska E.S., Brewer P.G., Sundby S., Hilmi K., Fabry V.J., Jung S., 2014. « The Ocean », dans *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part B: Regional Aspects*. BARROS V.R. et al. (dirs.). *Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Cambridge and New York, Cambridge University Press, p. 1655-1732.
- Hoegh-Guldberg O., Fine M., Skirving W., Johnstone R., Dove S., Strong A., 2005. Coral bleaching following wintry weather. *Limnology and Oceanography*, 50, 1, p. 265-271.
- Hoegh-Guldberg O., Jones R.J., 1999. Photoinhibition and photoprotection in symbiotic dinoflagellates from reef-building corals. *Marine Ecology Progress Series*, 183, July, p. 73-86.
- Hoegh-Guldberg O., Poloczanska E.S., Skirving W., Dove S., 2017. Coral reef ecosystems under climate change and ocean acidification. *Frontiers in Marine Science*, 4, 158.
- Hoegh-Guldberg O., Ridgway T., 2016. Coral bleaching hits Great Barrier Reef as global temperatures soar. *Green Left Weekly*, 1090, p. 10.
- Hoegh-Guldberg O., Smith G.J., 1989. Influence of the population density of zooxanthellae and supply of ammonium on the biomass and metabolic characteristics of the reef corals *Seriatopora hystrix* and *Stylophora pistillata*. *Marine Ecology Progress Series*, 57, p. 173-186.
- Hoffmann L.J., Breitbarth E., Boyd P.W., Hunter K.A., 2012. Influence of ocean warming and acidification on trace metal biogeochemistry. *Marine Ecology Progress Series*, 470, p. 191-205.
- Holbrook S.J., Brooks A.J., Schmitt R.J., Stewart H.L., 2008. Effects of sheltering fish on growth of their host corals. *Marine Biology*, 155, 5, p. 521-530.
- Holcomb M., Venn A.A., Tambutté E., Tambutté S., Allemand D., Trotter J., McCulloch M., 2014. Coral calcifying fluid pH dictates response to ocean acidification. *Scientific Reports*, 4, p. 1-4.
- Holmes R.M., Aminot A., Kérouel R., Hooker B.A., Peterson B.J., 1999. A simple and precise method for measuring ammonium in marine and freshwater ecosystems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 56, p. 1801-1808.
- Hönisch B. et al., 2012. The geological record of ocean acidification. *Science*, 335, 2012, p. 1058-1063.

- Houlbrèque F., Rodolfo-Metalpa R., Jeffree R., Oberhänsli F., Teyssié J.L., Boisson F., Al-Trabeen K., Ferrier-Pagès C., 2012. Effects of increased $p\text{CO}_2$ on zinc uptake and calcification in the tropical coral *Stylophora pistillata*. *Coral Reefs*, 31, 1, p. 101-109.
- Houlbrèque F., Ferrier-Pagès C., 2009. Heterotrophy in tropical scleractinian corals. *Biological Reviews*, 84, 1, p. 1-17.
- Houlbrèque F., Reynaud S., Godinot C., Oberhänsli F., Rodolfo-Metalpa R., Ferrier-Pagès C., 2015. Ocean acidification reduces feeding rates in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Limnology and Oceanography*, 60, 1, p. 89-99.
- Howard L.S., Brown B.E., 1984. Heavy metals and reef corals. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 22, p. 195-210.
- Howe P.L., Reichelt-Brushett A.J., Clark M.W., 2014. Investigating lethal and sublethal effects of the trace metals cadmium, cobalt, lead, nickel and zinc on the anemone *Aiptasia pulchella*, a cnidarian representative for ecotoxicology in tropical marine environments. *Marine and Freshwater Research*, 65, 6, p. 551-561.
- Hu M., Liu B., 2004. Mining and summarizing customer reviews. *Proceedings of the 2004 ACM SIGKDD international conference on Knowledge discovery and data mining - KDD '04*, p. 168.
- Hudspith M., Reichelt-Brushett A., Harrison P.L., 2017. Factors affecting the toxicity of trace metals to fertilization success in broadcast spawning marine invertebrates: A review. *Aquatic Toxicology*, 184, p. 1-13.
- Hughes T.P., Baird A.H., Bellwood D.R., Card M., Connolly S.R., Folke C., Grosberg R., Hoegh-Guldberg O., Jackson J.B.C., Kleypas J., Lough J.M., Marshall P., Nyström M., Palumbi S.R., Pandolfi J.M., Rosen B., Roughgarden J., 2003. Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *Science*, 301, 5635, p. 929-933.
- Hughes T.P., Rodrigues M.J., Bellwood D.R., Ceccarelli D., Hoegh-Guldberg O., McCook L., Moltschanowskyj N., Pratchett M.S., Steneck R.S., Willis B., 2007. Phase shifts, herbivory, and the resilience of coral reefs to climate change. *Current Biology*, 17, 4, p. 360-365.
- Hughes T.P. et al., 2017. Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature*, 543, 7645, p. 373-377.
- Hughes T.P., Kerry J.T., Baird A.H., Connolly S.R., Dietzel A., Eakin C.M., Heron S.F., Hoey A.S., Hoogenboom M.O., Liu G., McWilliam M.J., Pears R.J., Pratchett M.S., Skirving W.J., Stella J.S., Torda G., 2018. Global warming transforms coral reef assemblages. *Nature*, 556, 7702, p. 492-496.
- Hung J., Yeh H., Peng S., Chen C.T.A., 2018. Influence of submarine hydrothermalism on sulfur and metal accumulation in surface sediments in the Kueishantao venting field off northeastern Taiwan. *Marine Chemistry*, 198, March 2017, p. 88-96.

I

- Idjadi J.A., Edmunds P.J., 2006. Scleractinian corals as facilitators for other invertebrates on a Caribbean reef. *Marine Ecology Progress Series*, 319, Callaway 1998, p. 117-127.
- Iguchi A., Ozaki S., Nakamura T., Inoue M., Tanaka Y., Suzuki A., Kawahata H., Sakai K., 2012. Effects of acidified seawater on coral calcification and symbiotic algae on the massive coral *Porites australiensis*. *Marine Environmental Research*, 73, p. 32-36.

- Inoue M., Suzuki A., Nohara M., Kan H., Edward A., Kawahata H., 2004. Coral skeletal tin and copper concentrations at Pohnpei, Micronesia: Possible index for marine pollution by toxic anti-biofouling paints. *Environmental Pollution*, 129, 3, p. 399-407.
- Inoue S., Kayanne H., Yamamoto S., Kurihara H., 2013. Spatial community shift from hard to soft corals in acidified water. *Nature Climate Change*, 3, 7, p. 683-687.
- IPCC, 2014. *Climate Change 2014: Mitigation of Climate Change. Summary for Policymakers and Technical Summary*, 1-161 p.

J

- Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N., 2014. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdisciplinary Toxicology*, 7, 2, p. 60-72.
- Jakuba R.W., Moffett J.W., Dyhrman S.T., 2008. Evidence for the linked biogeochemical cycling of zinc, cobalt, and phosphorus in the western North Atlantic Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 22, 4, p. 1-13.
- Januar H.I., Zamani N.P., Soedarma D., Chasanah E., 2016. Changes in soft coral *Sarcophyton* sp. abundance and cytotoxicity at volcanic CO₂ seeps in Indonesia. *AIMS Environmental Science*, 3, 2, p. 239-248.
- Jayaraju N., Sundara Raja Reddy B.C., Reddy K.R., 2009. Heavy metal pollution in reef corals of Tuticorin Coast, southeast coast of India. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 18, 4, p. 445-454.
- Jeffrey S.W., Humphrey G.F., 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemical Physiology Pflanzen*, 167, 167, p. 191-194.
- Johnson M.D., Price N.N., Smith J.E., 2014. Contrasting effects of ocean acidification on tropical fleshy and calcareous algae. *PeerJ*, 2, p. e411.
- Jokiel P.L., 2011. The reef coral two compartment proton flux model: A new approach relating tissue-level physiological processes to gross corallum morphology. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 409, 1-2, p. 1-12.
- Jones R.J., 2004. Testing the 'photoinhibition' model of coral bleaching using chemical inhibitors. *Marine Ecology Progress Series*, 284, p. 133-145.
- Jones R.J., Hoegh-Guldberg O., Larkum A.W.D., Schreiber U., 1998. Temperature-induced bleaching of corals begins with impairment of the CO₂ fixation mechanism in zooxanthellae. *Plant, Cell and Environment*, 21, 12, p. 1219-1230.
- Jones R.J., 1997. Zooxanthellae loss as a bioassay for assessing stress in corals. *Marine Ecology Progress Series*, 149, 1-3, p. 163-171.
- Jones R.J., Yellowlees D., 1997. Regulation and control of intracellular algae (=zooxanthellae) in hard corals. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B*, 352, p. 457-468.
- Jury C.P., Whitehead R.F., Szamant A.M., 2010. Effects of variations in carbonate chemistry on the calcification rates of *Madracis auretenra* (= *Madracis mirabilis sensu* Wells, 1973): Bicarbonate concentrations best predict calcification rates. *Global Change Biology*, 16, 5, p. 1632-1644.

K

- Kadar E., Dyson O., Handy R.D., Al-Subiai S.N., 2013. Are reproduction impairments of free spawning marine invertebrates exposed to zero-valent nano-iron associated with dissolution of nanoparticles? *Nanotoxicology*, 7, 2, p. 135-143.
- Kaniewska P., Campbell P.R., Kline D.I., Rodriguez-Lanetty M., Miller D.J., Dove S., Hoegh-Guldberg O., 2012. Major cellular and physiological impacts of ocean acidification on a reef building coral. *PLoS ONE*, 7, 4.
- Karlen D.J., Price R.E., Pichler T., Garey J.R., 2010. Changes in benthic macrofauna associated with a shallow-water hydrothermal vent gradient in Papua New Guinea. *Pacific Science*, 64, 3, p. 391-404.
- Katranitsas A., Castritsi-Catharios J., Persoone G., 2003. The effects of a copper-based antifouling paint on mortality and enzymatic activity of a non-target marine organism. *Marine Pollution Bulletin*, 46, 11, p. 1491-1494.
- Kaur K., Gupta R., Saraf S.A., Saraf S.K., 2014. Zinc: The metal of life. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13, 4, p. 358-376.
- Kennish R., 1997. Seasonal patterns of food availability: Influences on the reproductive output and body condition of the herbivorous crab *Grapsus albolineatus*. *Oecologia*, 109, p. 209-218.
- Kerrison P., Hall-Spencer J.M., Suggett D.J., Hepburn L.J., Steinke M., 2011. Assessment of pH variability at a coastal CO₂ vent for ocean acidification studies. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 94, 2, p. 129-137.
- Kessler E., Arthur W., Brugger J.E., 1957. The influence of manganese and phosphate on delayed light emission, fluorescence, photoreduction and photosynthesis in algae. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 71, 2, p. 326-335.
- Khan B., Masiol M., Hofer A., Pavoni B., 2014. « Harmful Elements in Estuarine and Coastal Systems », dans *PHEs, Environment and Human Health*, BINI C., BECH J. (dirs.), p. 37-83.
- Kinsey D.W., Davies P.J., 1979. Effects of elevated nitrogen and phosphorus on coral reef growth. *Limnology and oceanography*, 24, 5, p. 935-940.
- Kleppel G.S., Dodge R.E., Reese C.J., 1989. Changes in pigmentation associated with the bleaching of stony corals. *Limnology and Oceanography*, 34, 7, p. 1331-1335.
- Kleypas J.A., 1999. Geochemical consequences of increased atmospheric carbon dioxide on coral reefs. *Science*, 284, 5411, p. 118-120.
- Kleypas J.A., Feely R.A., Fabry V.J., Langdon C., Sabine C.L., Robbins L.L., 2005. Impacts of ocean acidification on coral reefs and other marine calcifiers: A guide for future research. *Report of a workshop held*, 18, January, p. 85.
- Kleypas J.A., McManus J.W., Menez L.A.B., 1999. Environmental limits to coral reef development: Where do we draw the line? *American Zoologist*, 39, p. 146-159.
- Knutson T.R., McBride J. L., Chan J., Emanuel K., Holland G., Landsea C., Held I., Kossin J.P., Srivastava A.K., Sugi M., 2010. Progress article: Tropical cyclones and climate change. *Nature Geoscience*, 3, 3, p. 157-163.
- Koch M., Bowes G., Ross C., Zhang X.H., 2013. Climate change and ocean acidification effects on seagrasses and marine macroalgae. *Global Change Biology*, 19, 1, p. 103-132.

- Krajewska B., 2009. Ureases I. Functional, catalytic and kinetic properties: A review. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 59, 1-3, p. 9-21.
- Krief S., Hendy E.J., Fine M., Yam R., Meibom A., Foster G.L., Shemesh A., 2010. Physiological and isotopic responses of scleractinian corals to ocean acidification. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, 17, p. 4988-5001.
- Krishnan A.A., Krishnakumar P.K., Rajagopalan M., 2007. *Trichodesmium erythraeum* (Ehrenberg) bloom along the southwest coast of India (Arabian Sea) and its impact on trace metal concentrations in seawater. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 71, 3-4, p. 641-646.
- Kritzberg E.S., Duarte C.M., Wassmann P., 2010. Changes in Arctic marine bacterial carbon metabolism in response to increasing temperature. *Polar Biology*, 33, 12, p. 1673-1682.
- Kroeker K.J., Kordas R.L., Crim R.N., Singh G.G., 2010. Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms. *Ecology Letters*, 13, 11, p. 1419-1434.
- Krueger T., Hawkins T.D., Becker S., Pontasch S., Dove S., Hoegh-Guldberg O., Leggat W., Fisher P.L., Davy S.K., 2015. Differential coral bleaching-Contrasting the activity and response of enzymatic antioxidants in symbiotic partners under thermal stress. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 190, p. 15-25.
- Krueger T., Horwitz N., Bodin J., Giovani M., Escrig S., Meibom A., Fine M., 2017. Common reef-building coral in the Northern Red Sea resistant to elevated temperature and acidification. *Royal Society Open Science*, 4, p. 170038.
- Kuma K., Katsumoto A., Nishioka J., Matsunaga K., 1998. Size-fractionated iron concentrations and Fe(III) hydroxide solubilities in various coastal waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 47, 3, p. 275-283.
- Kump L.R., Pavlov A., Arthur M.A., 2005. Massive release of hydrogen sulfide to the surface ocean and atmosphere during intervals of oceanic anoxia. *Geology*, 33, 5, p. 397-400.
- Küpper H., Küpper F., Spiller M., 1996. Environmental relevance of heavy metal-substituted chlorophylls using the example of water plants. *Journal of Experimental Botany*, 47, 2, p. 259-266.
- Kuzminov F.I., Brown C.M., Fadeev V. V., Gorbunov M.Y., 2013. Effects of metal toxicity on photosynthetic processes in coral symbionts, *Symbiodinium* spp. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 446, August, p. 216-227.
- Kwok C.K., Lam K.Y., Leung S.M., Chui A.P.Y., Ang P.O., 2016. Copper and thermal perturbations on the early life processes of the hard coral *Platygyra acuta*. *Coral Reefs*, 35, 3, p. 827-838.

L

- Labrosse P., Fichez R., Farman R., Adams T., 2000. New Caledonia. *Seas at the millenium: an environmental evaluation*, 2, p. 723-736.
- LaJeunesse T.C., Bhagooli R., Hidaka M., DeVantier L., Done T., Schmidt G.W., Fitt W.K., Hoegh-Guldberg O., 2004. Closely related *Symbiodinium* spp. differ in relative dominance in coral reef host communities across environmental, latitudinal and biogeographic gradients. *Marine Ecology Progress Series*, 284, p. 147-161.

Bibliographie

- LaJeunesse T.C., 2001. Investigating the biodiversity, ecology, and phylogeny of endosymbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium* using the ITS region: In search of a « species » level marker. *Journal of Phycology*, 37, p. 866-880.
- Lane T.W., Morel F.M.M., 2000. Regulation of carbonic anhydrase expression by zinc, cobalt, and carbon dioxide in the marine diatom *Thalassiosira weissflogii*. *Plant physiology*, 123, 1, p. 345-352.
- Langdon C., Atkinson M.J., 2005. Effect of elevated $p\text{CO}_2$ on photosynthesis and calcification of corals and interactions with seasonal change in temperature/irradiance and nutrient enrichment. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 110, C9, p. n/a--n/a.
- Lapointe B.E., 1997. Nutrient thresholds for bottom-up control of macroalgal blooms on coral reefs in Jamaica and southeast Florida. *Limnology and Oceanography*, 42, 5part2, p. 1119-1131.
- Laurans Y., Pascal N., Binet T., Brander L., Clua E., David G., Rojat D., Seidl A., 2013. Economic valuation of ecosystem services from coral reefs in the South Pacific: Taking stock of recent experience. *Journal of Environmental Management*, 116, p. 135-144.
- Laurent J., Tambutté S., Tambutté E., Allemand D., Venn A., 2013. The influence of photosynthesis on host intracellular pH in scleractinian corals. *Journal of Experimental Biology*, 216, 8, p. 1398-1404.
- Lederman T., Tett P., 1981. Problems in modelling the photosynthesis-light relationship for phytoplankton. *Botanica Marina*, 24, 3, p. 125-134.
- Lee K.W., Kang H.S., Lee S.H., 1998. Trace elements in the Korean coastal environment. *Science of the Total Environment*, 214, 1-3, p. 11-19.
- Leigh-Smith J., Reichelt-Brushett A., Rose A.L., 2018. The characterization of iron (III) in seawater and related toxicity to early life stages of scleractinian corals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 37, 4, p. 1104-1114.
- Lema K.A., Clode P.L., Kilburn M.R., Thornton R., Willis B.L., Bourne D.G., 2016. Imaging the uptake of nitrogen-fixing bacteria into larvae of the coral *Acropora millepora*. *ISME Journal*, 10, 7, p. 1804-1808.
- Lenihan H.S., Hench J.L., Holbrook S.J., Schmitt R.J., Potoski M., 2015. Hydrodynamics influence coral performance through simultaneous direct and indirect effects. *Ecology*, 96, 6, p. 1540-1549.
- Lesser M.P., Stat M., Gates R.D., 2013. The endosymbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium* sp.) of corals are parasites and mutualists. *Coral Reefs*, 32, 3, p. 603-611.
- Lesser M.P., Weis V.M., Patterson M.R., Jokiel P.L., 1994. Effects of morphology and water motion on carbon delivery and productivity in the reef coral, *Pocillopora damicornis* (Linnaeus): Diffusion barriers, inorganic carbon limitation, and biochemical plasticity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 178, 2, p. 153-179.
- Lesser M.P., Mazel C.H., Gorbunov M.Y., Falkowski P.G., 2004. Discovery of symbiotic nitrogen-fixing cyanobacteria in corals. *Science*, 305, August, p. 997-1001.
- Lesser M.P., Slaterry M., Leichter J.J., 2009. Ecology of mesophotic coral reefs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1, 375, p. 1-8.

Bibliographie

- Levy O., Achituv Y., Yacobi Y.Z., Stambler Z., Dubinsky N., 2006. Diel 'tuning' of coral metabolism: Physiological responses to light cues. *Journal of Experimental Biology*, 209, 2, p. 273-283.
- Lewis S.E., Brodie J.E., Bainbridge Z.T., Rohde K.W., Davis A.M., Masters B.L., Maughan M., Devlin M.J., Mueller J.F., Schaffelke B., 2009. Herbicides: A new threat to the Great Barrier Reef. *Environmental Pollution*, 157, 8-9, p. 2470-2484.
- Lieberman T., Genin A., Loya Y., 1995. Effects on growth and reproduction of the coral *Stylophora pistillata* by the mutualistic damselfish *Dascyllus marginatus*. *Marine Biology*, 121, 4, p. 741-746.
- Libes S., 2011. *Introduction to marine biogeochemistry*, Academic Press, 928pp.
- Licence P.S., Terrill J.E., Fergusson L.J., 1987. Epithermal gold mineralisation. *Ambitle Island, Papua New Guinea: Proceedings Pacific Rim Congress*, 87, p. 26-29.
- Lidon F.C., Barreiro M.G., Ramalho J.C., 2004. Manganese accumulation in rice: Implications for photosynthetic functioning. *Journal of Plant Physiology*, 161, 11, p. 1235-1244.
- Lin S. et al., 2015. The *Symbiodinium kawagutii* genome illuminates dinoflagellate gene expression and coral symbiosis. *Science*, 350, 6261, p. 691-694.
- Linares C., Vidal M., Canals M., Kersting D.K., Amblas D., Aspillaga E., Cebrián E., Delgado-Huertas A., Díaz D., Garrabou J., Hereu B., Navarro L., Teixidó N., Ballesteros E., 2015. Persistent natural acidification drives major distribution shifts in marine benthic ecosystems. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282, 1818.
- Lionetto M.G., Caricato R., Giordano M.E., Schettino T., 2016. The complex relationship between metals and carbonic anhydrase: New insights and perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 17, 1.
- Lohan M.C., Statham P.J., Crawford D.W., 2002. Total dissolved zinc in the upper water column of the subarctic North East Pacific. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 49, 24-25, p. 5793-5808.
- Lomas M.W., Mark Trice T., Glibert P.M., Bronk D.A., McCarthy J.J., 2002. Temporal and spatial dynamics of urea uptake and regeneration rates and concentrations in Chesapeake Bay. *Estuaries*, 25, 3, p. 469-482.
- Lorrain A., Clavier J., Thébault J., Tremblay-Boyer L., Houlbrèque F., Amice E., Goff M. Le, Chauvaud L., 2015. Variability in diel and seasonal *in situ* metabolism of the tropical gastropod *Tectus niloticus*. *Aquatic Biology*, 23, 2, p. 167-182.
- Lorrain A., Houlbrèque F., Benzoni F., Barjon L., Tremblay-Boyer L., Menkes C., Gillikin D.P., Payri C., Jourdan H., Boussarie G., Verheyden A., Vidal E., 2017. Seabirds supply nitrogen to reef-building corals on remote Pacific islets. *Scientific Reports*, 7, 1, p. 1-11.
- Lü J.-M., Lin P.H., Yao Q., Chen C., 2010. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 14, 4, p. 840-860.
- Lund B.A., Henry Blackburn T., 1989. Urea turnover in a coastal marine sediment measured by a ¹⁴C-urea short-term incubation. *Journal of Microbiological Methods*, 9, 4, p. 297-308.
- Luoma S.N., 2017. « Processes affecting metal concentrations in estuarine and coastal marine sediments », dans *Heavy metals in the marine environment*, CRC Press, p. 51-66.

- Lüthi D., Floch M. Le, Bereiter B., Blunier T., Barnola J.M., Siegenthaler U., Raynaud D., Jouzel J., Fischer H., Kawamura K., Stocker T.F., 2008. High-resolution carbon dioxide concentration record 650,000-800,000 years before present. *Nature*, 453, 7193, p. 379-382.
- Lyndby N., Holm J.B., Wangpraseurt D., Grover R., Rottier C., Kühl M., Ferrier-Pagès C., 2018. Effect of feeding and thermal stress on photosynthesis, respiration and the carbon budget of the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*. *bioRxiv*, In Press.

M

- Macfie S.M., Taylor G.J., 1992. The effects of excess manganese on photosynthetic rate and concentration of chlorophyll in *Triticum aestivum* grown in solution culture. *Physiologia Plantarum*, 85, 3, p. 467-475.
- MacRae R.A., Fensome R.A., Williams G.L., 1996. Fossil dinoflagellate diversity, originations, and extinctions and their significance. *Canadian Journal of Botany*, 74, 11, p. 1687-1694.
- Madin J.S., Connolly S.R., 2006. Ecological consequences of major hydrodynamic disturbances on coral reefs. *Nature*, 444, 7118, p. 477-480.
- Madkour H.A., Abdelhalim M., El-Taher A., 2013. Assessment of heavy metals concentrations resulting natural inputs in Wadi El-Gemal surface sediments, Red Sea coast. *Life Sciences Journal*, 10, 4, p. 685-694.
- Maldonado M.T., Allen A.E., Chong J.S., Lin K., Leus D., Karpenko N., Harris S.L., 2006. Copper-dependent iron transport in coastal and oceanic diatoms. *Limnology and Oceanography*, 51, 4, p. 1729-1743.
- Maldonado M.T., Strzepek R.F., Sander S., Boyd P.W., 2005. Acquisition of iron bound to strong organic complexes, with different Fe binding groups and photochemical reactivities, by plankton communities in Fe-limited subantarctic waters. *Global Biogeochemical Cycles*, 19, GB4S23.
- Maldonado M.T., Price N.M., 2001. Reduction and transport of organically bound iron by *Thalassiosira oceanica* (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 37, p. 298-309.
- Marangoni L.F. de B., Marques J.A., Duarte G.A.S., Pereira C.M., Calderon E.N., Castro C.B. e., Bianchini A., 2017. Copper effects on biomarkers associated with photosynthesis, oxidative status and calcification in the Brazilian coral *Mussismilia hartii* (Scleractinia, Mussidae). *Marine Environmental Research*, 130, December, p. 248-257.
- Markich S., Warne M.S.J., Westbury A.-M., Roberts C.J., 2002. A compilation of data on the toxicity of chemicals to species in Australasia. part 3: Metals (2000-2009). *Australasian Journal of Ecotoxicology*, 8, p. 1-72.
- Marsh J.J., 1970. Primary productivity of reef-building calcareous red algae. *Ecology*, 51, 2, p. 255-263.
- Marshall A.T., 2002. Occurrence, distribution, and localisation of metals in Cnidarians. *Microscopy Research and Technique*, 56, 5, p. 341-357.
- Marubini F., Davies P.S., 1996. Nitrate increases zooxanthellae population density and reduces skeletogenesis in corals. *Marine Biology*, 127, 2, p. 319-328.
- Matear R.J., Hirst A.C., McNeil B.I., 2000. Changes in dissolved oxygen in the Southern Ocean with climate change. *Geochemistry Geophysics Geosystems*, 1, p. 1050.

Bibliographie

- McCloskey L.R., Muscatine L., 1984. Production and respiration in the Red Sea coral *Stylophora pistillata* as a function of depth. *Proceedings - Royal Society of London, Series B*, 222, 1227, p. 215-230.
- McCulloch M., Falter J., Trotter J., Montagna P., 2012. Coral resilience to ocean acidification and global warming through pH up-regulation. *Nature Climate Change*, 2, 8, p. 623-627.
- McCulloch M.T., D'Olivo J.P., Falter J., Holcomb M., Trotter J.A., 2017. Coral calcification in a changing world and the interactive dynamics of pH and DIC upregulation. *Nature Communications*, 8, May, p. 1-8.
- McDonald M.D., Smith C.P., Walsh P.J., 2006. The physiology and evolution of urea transport in fishes. *Journal of Membrane Biology*, 212, 2, p. 93-107.
- McManus J.W., Polsenberg J.F., 2004. Coral-algal phase shifts on coral reefs: Ecological and environmental aspects. *Progress in Oceanography*, 60, 2-4, p. 263-279.
- Meibom A., Cuif J.P., Hillion F., Constantz B.R., Juillet-Leclerc A., Dauphin Y., Watanabe T., Dunbar R.B., 2004. Distribution of magnesium in coral skeleton. *Geophysical Research Letters*, 31, 23, p. 1-4.
- Metian M., Bustamante P., Hédouin L., Warnau M., 2008. Accumulation of nine metals and one metalloid in the tropical scallop *Comptopallium radula* from coral reefs in New Caledonia. *Environmental Pollution*, 152, 3, p. 543-552.
- Metian M., Hédouin L., Ferrier-Pagès C., Teyssié J.L., Oberhansli F., Buschiazzi E., Warnau M., 2015. Metal bioconcentration in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*: Investigating the role of different components of the holobiont using radiotracers. *Environmental Monitoring and Assessment*, 187, 4.
- Meyer J.L., Schultz E.T., 1985. Migrating haemulid fishes as a source of nutrients and organic matter on coral reefs. *Limnology and Oceanography*, 30, 1, p. 146-156.
- Meyer J.L., Schultz E.T., Helfman G.S., 1983. Fish schools: An asset to corals. *Science*, 220, 4601, p. 1047-1049.
- Meyer-Dombard D.R., Price R.E., Pichler T., Amend J.P., 2012. Prokaryotic populations in arsenic-rich shallow-sea hydrothermal sediments of Ambitle Island, Papua New Guinea. *Geomicrobiology Journal*, 29, 1, p. 1-17.
- Mieog J.C., Oppen M.J.H. Van, Cantin N.E., Stam W.T., Olsen J.L., 2007. Real-time PCR reveals a high incidence of *Symbiodinium* clade D at low levels in four scleractinian corals across the Great Barrier Reef: Implications for symbiont shuffling. *Coral Reefs*, 26, 3, p. 449-457.
- Millaleo R., Reyes-Diaz M., Ivanov A., Mora M., Alberdi M., 2010. Manganese as essential and toxic element for plants: transport, accumulation and resistance mechanisms. *Journal of soil science and plant nutrition*, 10, 4, p. 470-481.
- Miller J.R., Miller S.M.O., 2007. « Sediment-Trace Metal Interactions », dans *Contaminated Rivers*, Springer, p. 33-67.
- Millero F.J., 1991. The oxidation of H₂S in Black Sea waters. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 38, p. S1139-S1150.
- Millero F.J., 2001a. Speciation of metals in natural waters. *Geochemical Transactions*, 2, June, p. 56-64.
- Millero F.J., 2001b. The physical chemistry of natural waters. *Wiley-Interscience series in geochemistry*.

Bibliographie

- Millero F., Woosley R., DiTrollo B., Waters J., 2009. Effect of ocean acidification on the speciation of metals in seawater. *Oceanography*, 22, 4, p. 72-85.
- Mitchelmore C.L., Verde E.A., Ringwood A.H., Weis V.M., 2003. Differential accumulation of heavy metals in the sea anemone *Anthopleura elegantissima* as a function of symbiotic state. *Aquatic Toxicology*, 64, 3, p. 317-329.
- Mitchelmore C.L., Verde E.A., Weis V.M., 2007. Uptake and partitioning of copper and cadmium in the coral *Pocillopora damicornis*. *Aquatic Toxicology*, 85, 1, p. 48-56.
- Moberg F., Folke C., 1999. Ecological goods and services of coral reef ecosystems. *Ecological Economics*, 29, 2, p. 215-233.
- Moffett J.W., Dupont C., 2007. Cu complexation by organic ligands in the sub-arctic NW Pacific and Bering Sea. *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 54, 4, p. 586-595.
- Moffett J.W., Zika R.G., 1988. Measurement of copper(I) in surface waters of the subtropical Atlantic and Gulf of Mexico. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 52, 7, p. 1849-1857.
- Mohammed T.A.A.A., Dar M.A., 2009. Ability of corals to accumulate heavy metals, northern red sea, Egypt. *Environmental Earth Sciences*, 59, 7, p. 1525-1534.
- Mokhtar M. Bin, Praveena S.M., Aris A.Z., Yong O.C., Lim A.P., 2012. Trace metal (Cd, Cu, Fe, Mn, Ni and Zn) accumulation in scleractinian corals: A record for Sabah, Borneo. *Marine Pollution Bulletin*, 64, 11, p. 2556-2563.
- Moore J.W., Ramamoorthy S., 1984. « Nickel », dans *Heavy Metals in Natural Waters: Applied Monitoring and Impact Assessment*, New York, NY, Springer New York, p. 161-181.
- Morel F.M.M., Reinfelder J.R., Roberts S.B., Chamberlain C.P., Lee J.G., Yee D., 1994. Zinc and carbon co-limitation of marine phytoplankton. *Nature*, 369, 6483, p. 740-742.
- Morel F.M.M., Milligan A.J., Saito M.A., Heinrich D.H., 2003. Marine bioinorganic chemistry: The role of trace metals in the oceanic cycles of major nutrients, 113-143. *Treatise on geochemistry*, edited by: Holland, H.D. and Turekian, K.K., 6.
- Morel F.M.M., Price N.M., 2003. The biogeochemical cycles of trace metals in the oceans. *Science*, 300, May, p. 944-947.
- Moreton B.M., Fernandez J.M., Dolbecq M.B.D., 2009. Development of a field preconcentration/elution unit for routine determination of dissolved metal concentrations by ICP-OES in marine waters: Application for monitoring of the New Caledonia Lagoon. *Geostandards and Geoanalytical Research*, 33, 2, p. 205-218.
- Morgan J., 1967. Chemical equilibria and kinetic properties of manganese in natural water. *Principles and applications of water chemistry*, p. 561-623.
- Morley N.H., Burton J.D., Tankere S.P.C., Martin J.M., 1997. Distribution and behaviour of some dissolved trace metals in the western Mediterranean Sea. *Deep-Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 44, 3-4, p. 675-691.
- Mudd G.M., 2010. Global trends and environmental issues in nickel mining: Sulfides versus laterites. *Ore Geology Reviews*, 38, 1-2, p. 9-26.
- Mullen K.M., Peters E.C., Harvell C.D., 2004. « Coral resistance to disease », dans *Coral health and disease*, Springer, p. 377-399.

Bibliographie

- Muller-Parker G., D'Elia C.F., Cook C.B., 2015. « Interactions between corals and their symbiotic algae », dans *Coral Reefs in the Anthropocene*, p. 99-116.
- Mumby P.J., 2009. Phase shifts and the stability of macroalgal communities on Caribbean coral reefs. *Coral Reefs*, 28, 3, p. 761-773.
- Munksgaard N.C., Parry D.L., 2001. Trace metals, arsenic and lead isotopes in dissolved and particulate phases of North Australian coastal and estuarine seawater. *Marine Chemistry*, 75, 3, p. 165-184.
- Murray J.W., Spell B., Paul B., 1983. « The contrasting geochemistry of manganese and chromium in the eastern tropical Pacific Ocean », dans *Trace metals in sea water*, Springer, p. 643-669.
- Muscatine L., Ferrier-Pagès C., Blackburn A., Gates R.D., Baghdasarian G., Allemand D., 1998. Cell-specific density of symbiotic dinoflagellates in tropical anthozoans. *Coral Reefs*, 17, 4, p. 329-337.
- Muscatine L., Porter J.W., Kaplan I.R., 1989. Resource partitioning by reef corals as determined from stable isotope composition. *Marine Biology*, 100, p. 185-193.
- Muscatine L., Porter J.W., 1977. Reef corals: Mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments. *BioScience*, 27, 7, p. 454-460.
- Muscatine L., 1990. The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. *Ecosystems of the world. Coral Reefs*.
- Muscatine L., Falkowski P.G., Porter J.W., Dubinsky Z., 1984. Fate of photosynthetic fixed carbon in light-and shade-adapted colonies of the symbiotic coral *Stylophora pistillata*. *Proceedings of the Royal Society of London: Biological Sciences*, 222, 1227, p. 181-202.
- Muscatine L., McCloskey L.R., Marian R.E., 1981. Estimating the daily contribution of carbon from zooxanthellae to coral animal respiration. *Limnology and Oceanography*, 26, 4, p. 601-611.
- Muscatine L., Cernichiari E., 1969. Assimilation of photosynthetic products of zooxanthellae by a reef coral. *The Biological Bulletin*, 137, 3, p. 506-523.
- Muyssen B.T.A., Brix K. V., Deforest D.K., Janssen C.R., 2004. Nickel essentiality and homeostasis in aquatic organisms. *Environmental Reviews*, 12, p. 113-131.

N

- Nath K., Singh D., Shyam S., Sharma Y.K., 2008. Effect of chromium and tannery effluent toxicity on metabolism and growth in cowpea (*Vigna sinensis* L . *Saviex Hassk*) seedling. *Research in Environment and Life Sciences*, 1, 3, p. 91-94.
- Negri A.P., Heyward A.J., 2001. Inhibition of coral fertilisation and larval metamorphosis by tributyltin and copper. *Marine Environmental Research*, 51, 1, p. 17-27.
- Negri A.P., Hoogenboom M.O., 2011. Water contamination reduces the tolerance of coral larvae to thermal stress. *PLoS ONE*, 6, 5.
- Nolan C. V., Fowler S.W., Teyssie J.L., 1992. Cobalt speciation and bioavailability in marine organisms. *Marine Ecology Progress Series*, 88, 2-3, p. 105-116.

- Noonan S.H.C., Fabricius K.E., Humphrey C., 2013. *Symbiodinium* community composition in scleractinian corals is not affected by life-long exposure to elevated carbon dioxide. *PLoS ONE*, 8, 5, p. 1-11.
- Noonan S.H.C., Fabricius K.E., 2016. Ocean acidification affects productivity but not the severity of thermal bleaching in some tropical corals. *ICES Journal of Marine Science*, 73, 3, p. 715-726.
- Nyström M., Nordemar I., Tedengren M., 2001. Simultaneous and sequential stress from increased temperature and copper on the metabolism of the hermatypic coral *Porites cylindrica*. *Marine Biology*, 138, 6, p. 1225-1231.

O

- Obata H., Shitashima K., Isshiki K., Nakayama E., 2008. Iron, manganese and aluminum in upper waters of the western South Pacific Ocean and its adjacent seas. *Journal of Oceanography*, 64, 2, p. 233-245.
- Okrasa K., Kazlauskas R.J., 2006. Manganese-substituted carbonic anhydrase as a new peroxidase. *Chemistry - A European Journal*, 12, 6, p. 1587-1596.
- Olgun N., Duggen S., Croot P.L., Delmelle P., Dietze H., Schacht U., Óskarsson N., Siebe C., Auer A., Garbe-Schönberg D., 2011. Surface ocean iron fertilization: The role of airborne volcanic ash from subduction zone and hot spot volcanoes and related iron fluxes into the Pacific Ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 25, 4, p. 1-15.
- Orr J.C. et al., 2005. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*, 437, p. 681-686.

P

- Packett R., Dougall C., Rohde K., Noble R., 2009. Agricultural lands are hot-spots for annual runoff polluting the southern Great Barrier Reef lagoon. *Marine Pollution Bulletin*, 58, 7, p. 976-986.
- Padilla-Gamiño J.L., Weatherby T.M., Waller R.G., Gates R.D., 2011. Formation and structural organization of the egg-sperm bundle of the scleractinian coral *Montipora capitata*. *Coral Reefs*, 30, 2, p. 371-380.
- Pan K., Wang W.X., 2012. Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China. *Science of the Total Environment*, 421-422, p. 3-16.
- Panzeca C., Beck A.J., Tovar-Sanchez A., Segovia-Zavala J., Taylor G.T., Gobler C.J., Sañudo-Wilhelmy S.A., 2009. Distributions of dissolved vitamin B₁₂ and Co in coastal and open-ocean environments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 85, 2, p. 223-230.
- Pascal N., 2010. « Valeur économique des services écosystémiques des récifs coralliens de Nouvelle-Calédonie ».
- Payri C.E. (dir.), 2018. *Nouvelle-Calédonie: archipel de corail*. IRD Editions/Solaris, Marseille/Nouméa, 288p.
- Peers G., Price N.M., 2004. A role for manganese in superoxide dismutases and growth of iron-deficient diatoms. *Limnology and Oceanography*, 49, 5, p. 1774-1783.

Bibliographie

- Peers G., Price N.M., 2006. Copper-containing plastocyanin used for electron transport by an oceanic diatom. *Nature*, **441**, 7091, p. 341-344.
- Peers G., Quesnel S.A., Price N.M., 2005. Copper requirements for iron acquisition and growth of coastal and oceanic diatoms. *Limnology and Oceanography*, **50**, 4, p. 1149-1158.
- Perez S., Weis V., 2006. Nitric oxide and cnidarian bleaching: An eviction notice mediates breakdown of a symbiosis. *Journal of Experimental Biology*, **209**, 14, p. 2804-2810.
- Peters E.C., Gassman N.J., Firman J.C., Richmond R.H., Power E.A., 1997. Ecotoxicology of tropical marine ecosystems. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **16**, 1, p. 12-40.
- Pettine M., Millero F.J., 1990. Chromium speciation in seawater: The probable role of hydrogen peroxide. *Limnology and Oceanography*, **35**, 3, p. 730-736.
- Pettit L.R., Hart M.B., Medina-Sánchez A.N., Smart C.W., Rodolfo-Metalpa R., Hall-Spencer J.M., Prol-Ledesma R.M., 2013. Benthic foraminifera show some resilience to ocean acidification in the northern Gulf of California, Mexico. *Marine Pollution Bulletin*, **73**, 2, p. 452-462.
- Pichler T., Biscéré T., Kinch J., Zampighi M., Houlbrèque F., Rodolfo-Metalpa R., 2018. Suitability of the shallow water hydrothermal system at Ambitle Island (Papua New Guinea) to study the effect of high $p\text{CO}_2$ on coral reefs. *Marine Pollution Bulletin*. In Press.
- Pichler T., Amend J.P., Garey J., Hallock P., Hsia N.P., Karlen D.J., Meyer-Dombard D.R., McCloskey B.J., Price R.E., 2006. A natural laboratory to study arsenic geobiocomplexity. *Eos*, **87**, 23, p. 223-225.
- Pichler T., Dix G.R., 1996. Hydrothermal venting within a coral reef ecosystem, Ambitle Island, Papua New Guinea. *Geology*, **24**, 5, p. 435-438.
- Pichler T., Heikoop J.M., Risk M.J., Veizer J., Campbell I.L., 2000. Hydrothermal effects on isotope and trace element records in modern reef corals: A study of *Porites lobata* from Tutum Bay, Ambitle Island, Papua New Guinea. *PALAIOS*, **15**, 3, p. 225-234.
- Pichler T., Veizer J., Hall G.E.M., 1999a. The natural input of extremely high arsenic concentrations into a coral reef ecosystem by hydrothermal fluids and its removal by Fe(III) oxyhydroxides. *Environmental Science and Technology*, **33**, 9, p. 1373-1378.
- Pichler T., Veizer J., 1999. Precipitation of Fe(III) oxyhydroxide deposits from shallow-water hydrothermal fluids in Tutum Bay, Ambitle Island, Papua New Guinea. *Chemical Geology*, **162**, 1, p. 15-31.
- Pichler T., Veizer J., 2004. The precipitation of aragonite from shallow-water hydrothermal fluids in a coral reef, Tutum Bay, Ambitle Island, Papua New Guinea. *Chemical Geology*, **207**, 1-2, p. 31-45.
- Pichler T., Veizer J., Hall G.E.M., 1999b. The chemical composition of shallow-water hydrothermal fluids in Tutum Bay, Ambitle Island, Papua New Guinea and their effect on ambient seawater. *Marine Chemistry*, **64**, 3, p. 229-252.
- Pierrot D., Lewis E., Wallace D.W.R., 2006. CO₂SYS DOS Program developed for CO₂ system calculations. ORNL/CDIAC-105. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, US Department of Energy, Oak Ridge, TN.
- Pilson M.E.Q., 1974. Arsenate uptake and reduction by *Pocillopora verrucosa*. *Limnology and Oceanography*, **19**, 2, p. 339-341.

Bibliographie

- Pogoreutz C., Rädecker N., Cárdenas A., Gärdes A., Wild C., Voolstra C.R., 2017. Nitrogen fixation aligns with nifH abundance and expression in two coral trophic functional groups. *Frontiers in Microbiology*, 8, 6, p. 1-7.
- Point D., Monperrus M., Tessier E., Amouroux D., Chauvaud L., Thouzeau G., Jean F., Amice E., Grall J., Leynaert A., Clavier J., Donard O.F.X., 2007. Biological control of trace metal and organometal benthic fluxes in a eutrophic lagoon (Thau Lagoon, Mediterranean Sea, France). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 72, 3, p. 457-471.
- Polovina J.J., Howell E.A., Abecassis M., 2008. Ocean's least productive waters are expanding. *Geophysical Research Letters*, 35, 3, p. 2-6.
- Pörtner H.O., 2008. Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: A physiologist's view. *Marine Ecology Progress Series*, 373, p. 203-217.
- Price N.M., Morel F.M.M., 1991. Colimitation of phytoplankton growth by nickel and nitrogen. *Limnology and Oceanography*, 36, September, p. 1071-1077.
- Price N., Morel F. m. M., 1990. Cadmium and cobalt substitution for zinc in a marine diatom. *Nature*, 344, p. 658-660.
- Price R.E., Amend J.P., Pichler T., 2007. Enhanced geochemical gradients in a marine shallow-water hydrothermal system: Unusual arsenic speciation in horizontal and vertical pore water profiles. *Applied Geochemistry*, 22, 12, p. 2595-2605.
- Price R.E., Pichler T., 2005. Distribution, speciation and bioavailability of arsenic in a shallow-water submarine hydrothermal system, Tutum Bay, Ambitle Island, PNG. *Chemical Geology*, 224, 1-3, p. 122-135.
- Price R.E., Savov I., Planer-Friedrich B., Bühring S.I., Amend J., Pichler T., 2013. Processes influencing extreme As enrichment in shallow-sea hydrothermal fluids of Milos Island, Greece. *Chemical Geology*, 348, p. 15-26.
- Prol-Ledesma R.M., Torres-Vera M.-A., Rodolfo-Metalpa R., Ángeles C., Lechuga Deveze C.H., Villanueva-Estrada R.E., Shumilin E., Robinson C., 2013. High heat flow and ocean acidification at a nascent rift in the northern Gulf of California. *Nature Communications*, 4, p. 1388.
- Puisay A., Pilon R., Hédouin L., 2015. High resistance of *Acropora* coral gametes facing copper exposure. *Chemosphere*, 120, p. 563-567.
- Putnam H.M., Barott K.L., Ainsworth T.D., Gates R.D., 2017. The vulnerability and resilience of reef-building corals. *Current Biology*, 27, 11, p. R528-R540.

Q

- Queguiner B., 2011. Introduction à l'étude des traceurs géochimiques. *Centre d'Océanologie de Marseille*, Aix-Marseille Université, p. 38.

R

- Rädecker N., Pogoreutz C., Ziegler M., Ashok A., Barreto M.M., Chaidez V., Grupstra C.G.B., Ng Y.M., Perna G., Aranda M., Voolstra C.R., 2017. Assessing the effects of iron enrichment

- across holobiont compartments reveals reduced microbial nitrogen fixation in the Red Sea coral *Pocillopora verrucosa*. *Ecology and Evolution*, 7, 16, p. 6614-6621.
- Rahmatullah M., Boyde T.R.C., 1980. Improvements in the determination of urea using diacetyl monoxime; methods with and without deproteinisation. *Clinica Chimica Acta*, 107, 1-2, p. 3-9.
- Rahmstorf S., 2007. A semi-empirical approach to projecting future sea-level rise. *Science*, 315, 5810, p. 368-370.
- Rainbow P., 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? *Environmental Pollution*, 120, 3, p. 497-507.
- Ralph P.J., Gademann R., Larkum A.W.D., Schreiber U., 1999. *In situ* underwater measurements of photosynthetic activity of coral zooxanthellae and other reef-dwelling dinoflagellate endosymbionts. *Marine Ecology Progress Series*, 180, p. 139-147.
- Ralph P.J., Gademann R., 2005. Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquatic Botany*, 82, 3, p. 222-237.
- Ranjbar Jafarabadi A., Riyahi Bakhtiari A., Maisano M., Pereira P., Cappello T., 2018. First record of bioaccumulation and bioconcentration of metals in scleractinian corals and their algal symbionts from Kharg and Lark coral reefs (Persian Gulf, Iran). *Science of the Total Environment*, 640-641, p. 1500-1511.
- Rathgeb A., Causon T., Krachler R., Hann S., 2016. Determination of size-dependent metal distribution in dissolved organic matter by SEC-UV/VIS-ICP-MS with special focus on changes in seawater. *Electrophoresis*, 37, 7-8, p. 1063-1071.
- Raven J.A., Evans M.C.W., Korb R.E., 1999. The role of trace metals in photosynthetic electron transport in O₂-evolving organisms. *Photosynthesis Research*, 60, p. 111-149.
- Raybaud V., Tambutté S., Ferrier-Pagès C., Reynaud S., Venn A.A., Tambutté É., Nival P., Allemand D., 2017. Computing the carbonate chemistry of the coral calcifying medium and its response to ocean acidification. *Journal of Theoretical Biology*, 424, p. 26-36.
- Reaka-Kudla M.L., 1997. « The global biodiversity of coral reefs: A comparison with rain forests », dans *Biodiversity II: Understanding and protecting our biological resources*, REAKA-KUDLA M., WILSON D., WILSON E. (dirs.), Washington D. C., Joseph Henry/National Academy Press, p. 83-108.
- Rees T.A.V., 1991. Are symbiotic algae nutrient deficient? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 243, 1308, p. 227-233.
- Reichelt-Brushett A.J., McOrist G., 2003. Trace metals in the living and nonliving components of scleractinian corals. *Marine Pollution Bulletin*, 46, 12, p. 1573-1582.
- Reichelt-Brushett A.J., Harrison P.L., 1999. The effect of copper, zinc and cadmium on fertilization success of gametes from scleractinian reef corals. *Marine Pollution Bulletin*, 38, 3, p. 182-187.
- Reichelt-Brushett A.J., Harrison P.L., 2000. The effect of copper on the settlement success of larvae from the scleractinian coral *Acropora tenuis*. *Marine Pollution Bulletin*, 41, 7-12, p. 385-391.
- Reichelt-Brushett A.J., Harrison P.L., 2004. Development of a sublethal test to determine the effects of copper and lead on scleractinian coral larvae. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47, p. 40-55.

Bibliographie

- Reichelt-Brushett A.J., Harrison P.L., 2005. The effect of selected trace metals on the fertilization success of several scleractinian coral species. *Coral Reefs*, 24, 4, p. 524-534.
- Reichelt-Brushett A.J., Hudspith M., 2016. The effects of metals of emerging concern on the fertilization success of gametes of the tropical scleractinian coral *Platygyra daedalea*. *Chemosphere*, 150, p. 398-406.
- Reichelt-Brushett A.J., Michalek-Wagner K., 2005. Effects of copper on the fertilization success of the soft coral *Lobophytum compactum*. *Aquatic toxicology*, 74, p. 280-284.
- Reichelt-Brushett A., 2012. Limitations and recommendations for ocean disposal of mine waste in the coral triangle. *Oceanography*. 25.4: 40-51
- Reichelt A.J., Jones G.B., 1994. Trace metals as tracers of dredging activity in cleveland bay-field and laboratory studies. *Marine and Freshwater Research*, 45, 7, p. 1237-1257.
- Rejomon G., Balachandran K.K., Nair M., Joseph T., Kumar P.K.D., Achuthankutty C.T., Nair K.K.C., Pillai N.G.K., 2008. Trace metal concentrations in zooplankton from the eastern Arabian Sea and western Bay of Bengal. *Environmental Forensics*, 9, 1, p. 22-32.
- Rejomon G., Kumar P.K.D., Nair M., Muraleedharan K.R., 2010. Trace metal dynamics in zooplankton from the Bay of Bengal during summer monsoon. *Environmental Toxicology*, 25, 6, p. 622-633.
- Reynaud S., Leclercq N., Romaine-Lioud S., Ferrier-Pagès C., Jaubert J., Gattuso J., 2003. Interacting effects of CO₂ partial pressure and temperature on photosynthesis and calcification in a scleractinian coral. *Global Change Biology*, 9, p. 1660-1668.
- Richard C., 2006. Mise au point de la technique de PAM (Pulse Amplitude Modulation) fluorimétrie pour la mesure des paramètres phgotosynthétiques des scléractiniaires à zooxanthelles, Mémoire EPHE, 122 p.
- Richer de Forges B., Garrigue C., 1997. « First observations of a major coral bleaching in New Caledonia ».
- Richier S., 2005. Symbiosis-induced adaptation to oxidative stress. *Journal of Experimental Biology*, 208, 2, p. 277-285.
- Richier S., Sabourault C., Courtiade J., Zucchini N., Allemand D., Furla P., 2006. Oxidative stress and apoptotic events during thermal stress in the symbiotic sea anemone, *Anemonia viridis*. *FEBS Journal*, 273, 18, p. 4186-4198.
- Richmond R.H., Tisthammer K.H., Spies N.P., 2018. The effects of anthropogenic stressors on reproduction and recruitment of corals and reef organisms. *Frontiers in Marine Science*, 5, July, p. 1-9.
- Ricke K.L., Orr J.C., Schneider K., Caldeira K., 2013. Risks to coral reefs from ocean carbonate chemistry changes in recent earth system model projections. *Environmental Research Letters*, 8, 3.
- Riegl B., Bruckner A., Coles S.L., Renaud P., Dodge R.E., 2009. Coral reefs: Threats and conservation in an era of global change. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1162, p. 136-186.
- Ries J.B., Cohen A.L., McCorkle D.C., 2009. Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification. *Geology*, 37, 12, p. 1131-1134.
- Ries J., 2011. Acid ocean cover up. *Biodiversity and Ecosystems*, 1, September, p. 1-2.

- Ritz C., Streibig J.C., 2008. *Nonlinear regression with R*, Springer Science & Business Media.
- Robineau B., Berthault L., Christmann P., 2011. Nouvelle-Calédonie, terre de Nickel. *Geosciences*, p. 50-57.
- Rodolfo-Metalpa R., Houlbrèque F., Tambutté É., Boisson F., Baggini C., Patti F.P., Jeffree R., Fine M., Foggo A., Gattuso J.-P., Hall-Spencer J.M., 2011. Coral and mollusc resistance to ocean acidification adversely affected by warming. *Nature Climate Change*, 1, 6, p. 308-312.
- Rodolfo-Metalpa R., Martin S., Ferrier-Pagès C., Gattuso J.-P., 2009. Response of the temperate coral *Cladocora caespitosa* to mid- and long-term exposure to $p\text{CO}_2$ and temperature levels projected in 2100. *Biogeosciences Discussions*, 6, 4, p. 7103-7131.
- Rodolfo-Metalpa R., Huot Y., Ferrier-Pagès C., 2008. Photosynthetic response of the Mediterranean zooxanthellate coral *Cladocora caespitosa* to the natural range of light and temperature. *The Journal of experimental biology*, 211, Pt 10, p. 1579-1586.
- Rodolfo-Metalpa R., Richard C., Allemand D., Bianchi C.N., Morri C., Ferrier-Pagès C., 2006. Response of zooxanthellae in symbiosis with the Mediterranean corals *Cladocora caespitosa* and *Oculina patagonica* to elevated temperatures. *Marine Biology*, 150, 1, p. 45-55.
- Rodriguez I.B., Ho T.Y., 2018. Trace metal requirements and interactions in *Symbiodinium kawagutii*. *Frontiers in Microbiology*, 9, FEB, p. 1-11.
- Rodriguez I.B., Lin S., Ho J., Ho T.Y., 2016. Effects of trace metal concentrations on the growth of the coral endosymbiont *Symbiodinium kawagutii*. *Frontiers in Microbiology*, 7, JAN, p. 1-10.
- Rose A.L., Waite T.D., 2005. Reduction of organically complexed ferric iron by superoxide in a simulated natural water. *Environmental Science and Technology*, 39, 8, p. 2645-2650.
- Rose A.L., Webb E.A., Waite T.D., Moffett J.W., 2008. Measurement and implications of nonphotochemically generated superoxide in the equatorial pacific ocean. *Environmental Science and Technology*, 42, 7, p. 2387-2393.
- Ross C., Ritson-Williams R., Olsen K., Paul V.J., 2013. Short-term and latent post-settlement effects associated with elevated temperature and oxidative stress on larvae from the coral *Porites astreoides*. *Coral Reefs*, 32, 1, p. 71-79.
- Rowan R., 1998. Review - Diversity and ecology of zooxanthellae on coral reefs. *Journal of Phycology*, 34, 3, p. 407-417.
- Rowan R., 2004. Coral bleaching: Thermal adaptation in reef coral symbionts. *Nature*, 430, 7001, p. 742.
- Roy E.G., Wells M.L., King D.W., Whitney D., 2008. Persistence of iron (II) in surface waters of the western subarctic Pacific. *Limnology and Oceanography*, 53, 1, p. 89-98.
- Rue E.E.L., Bruland K.K.W., 1995. Complexation of iron (III) by natural organic ligands in the Central North Pacific as determined by a new competitive ligand equilibration/adsorptive cathodic stripping. *Marine Chemistry*, 50, 1-4, p. 117-138.
- Ruiz-Chancho M.J., Pichler T., Price R.E., 2013. Arsenic occurrence and speciation in *Cyclope neritea*, a gastropod inhabiting the arsenic-rich marine shallow-water hydrothermal system off Milos Island, Greece. *Chemical Geology*, 348, p. 56-64.
- Ruiz-Pino D.P., Nicolas E., Béthoux J.P., Lambert C.E., 1991. Zinc budget in the Mediterranean Sea: A hypothesis for non-steady-state behavior. *Marine Chemistry*, 33, 1-2, p. 145-169.

S

- Sabdon A., 2009. Heavy metal levels and their potential toxic effect on coral *Galaxea fascicularis* from Java Sea, Indonesia. *Research Journal of Environmental Sciences*, 3, 1, p. 96-102.
- Sabine C.L., 2004. The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science*, 305, 5682, p. 367-371.
- Sadiq M., 1992. *Toxic metal chemistry in marine environments*, Marcel Dekker, Incorporated.
- Saito M.A., Goepfert T.J., 2008. Zinc-cobalt colimitation of *Phaeocystis antarctica*. *Limnology and Oceanography*, 53, 1, p. 266-275.
- Saito M.A., Moffett J.W., 2001. Complexation of cobalt by natural organic ligands in the Sargasso sea as determined by a new high-sensitivity electrochemical cobalt speciation method suitable for open ocean work. *Marine Chemistry*, 75, 1-2, p. 49-68.
- Saito M.A., Moffett J.W., DiTullio G.R., 2004. Cobalt and nickel in the Peru upwelling region: A major flux of labile cobalt utilized as a micronutrient. *Global Biogeochemical Cycles*, 18, 4, p. 1-14.
- Saito M.A., Rocap G., Moffett J.W., 2005. Production of cobalt binding ligands in a *Synechococcus* feature at the Costa Rica upwelling dome. *Limnology and Oceanography*, 50, 1, p. 279-290.
- Samperio-Ramos G., Santana Casiano J.M., González Dávila M., 2016. Effect of ocean warming and acidification on the Fe(II) oxidation rate in oligotrophic and eutrophic natural waters. *Biogeochemistry*, 128, 1-2, p. 19-34.
- Samson G., Morissette J.-C., Popovic R., 1988. Copper quenching of the variable fluorescence in *Dunaliella tertiolecta*. New evidence for a copper inhibition effect on PSII photochemistry. *Photochemistry and Photobiology*, 48, 3, p. 329-332.
- Santana-Casiano J.M., González-Dávila M., Millero F.J., 2005. Oxidation of nanomolar levels of Fe(II) with oxygen in natural waters. *Environmental science and technology*, 39, 7, p. 2073-2079.
- Santore R.C., Mathew R., Paquin P.R., DiToro D., 2002. Application of the biotic ligand model to predicting zinc toxicity to rainbow trout, fathead minnow, and *Daphnia magna*. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 133, 1-2, p. 271-285.
- Sarthou G., Bucciarelli E., Chever F., Hansard S.P., González-Dávila M., Santana-Casiano J.M., Planchon F., Speich S., 2011. Labile Fe(II) concentrations in the Atlantic sector of the Southern Ocean along a transect from the subtropical domain to the Weddell Sea Gyre. *Biogeosciences*, 8, 9, p. 2461-2479.
- Satoh Y., 1980. Production of urea by bacterial decomposition of organic matter including phytoplankton. *Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*, 65, 2, p. 295-301.
- Sauer K., 1980. A role for manganese in oxygen evolution in photosynthesis. *Accounts of Chemical Research*, 13, 8, 249-256.
- Sawall Y., Teichberg M.C., Seemann J., Litaay M., Jompa J., Richter C., 2011. Nutritional status and metabolism of the coral *Stylophora subseriata* along a eutrophication gradient in Spermonde Archipelago (Indonesia). *Coral Reefs*, 30, 3, p. 841-853.
- Schiff K., Diehl D., Valkirs A., 2004. Copper emissions from antifouling paint on recreational vessels. *Marine Pollution Bulletin*, 48, 3-4, p. 371-377.

- Schmidtko S., Stramma L., Visbeck M., 2017. Decline in global oceanic oxygen content during the past five decades. *Nature*, 542, 7641, p. 335-339.
- Schneider K., Erez J., 2006. The effect of carbonate chemistry on calcification and photosynthesis in the hermatypic coral *Acropora eurystoma*. *Limnology and Oceanography*, 51, 3, p. 1284-1293.
- Schreiber U., Gademann R., Ralph P.J., Larkum A.W.D., 1997. Assessment of photosynthetic performance of *Prochloron* in *Lissoclinum patella in hospite* by chlorophyll fluorescence measurements. *Plant and Cell Physiology*, 38, 8, p. 945-951.
- Schreiber U., Schliwa U., Bilger W., 1986. Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis Research*, 10, 1-2, p. 51-62.
- Schreiber U., Bilger W., 1993. « Progress in chlorophyll fluorescence research: Major developments during the past years in retrospect », dans *Progress in Botany/Fortschritte der Botanik*, Springer, p. 151-173.
- Schulz K.G., Zondervan I., Gerringa L.J.A., Timmermans K.R., Veldhuis M.J.W., Riebesell U., 2004. Effect of trace metal availability on coccolithophorid calcification. *Nature*, 430, p. 673-676.
- Schuur E.A.G. et al., 2015. Climate change and the permafrost carbon feedback. *Nature*, 520, 7546, p. 171-179.
- Schwarz J.A., Mitchelmore C.L., Jones R., O'Dea A., Seymour S., 2013. Exposure to copper induces oxidative and stress responses and DNA damage in the coral *Montastraea franksi*. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 157, 3, p. 272-279.
- Sebens K.P., Witting J., Helmuth B., 1997. Effects of water flow and branch spacing on particle capture by the reef coral *Madracis mirabilis* (Duchassaing and Michelotti). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 211, 1, p. 1-28.
- Seemann J., Berry K.L., Carballo-Bolaños R., Struck U., Leinfelder R.R., 2013. The use of ¹³C and ¹⁵N isotope labeling techniques to assess heterotrophy of corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 442, p. 88-95.
- Sentoku A., Ezaki Y., 2012. Constraints on the formation of colonies of the extant azooxanthellate scleractinian coral *Dendrophyllia arbuscula*. *Lethaia*, 45, 1, p. 62-70.
- Shaked Y., 2008. Iron redox dynamics in the surface waters of the Gulf of Aqaba, Red Sea. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72, 6, p. 1540-1554.
- Shanmugam P., Neelamani S., Ahn Y.H., Philip L., Hong G.H., 2007. Assessment of the levels of coastal marine pollution of Chennai city, Southern India. *Water Resources Management*, 21, 7, p. 1187-1206.
- Sharp J.H. et al., 2004. A direct instrument comparison for measurement of total dissolved nitrogen in seawater. *Marine Chemistry*, 84, 3-4, p. 181-193.
- Shaw M., Negri A., Fabricius K., Mueller J.F., 2009. Predicting water toxicity: Pairing passive sampling with bioassays on the Great Barrier Reef. *Aquatic Toxicology*, 95, 2, p. 108-116.
- Shcolnick S., Keren N., 2006. Metal homeostasis in cyanobacteria and chloroplasts. Balancing benefits and risks to the photosynthetic apparatus. *Plant Physiology*, 141, 3, p. 805-810.

Bibliographie

- Shi T., Sun Y., Falkowski P.G., 2007. Effects of iron limitation on the expression of metabolic genes in the marine cyanobacterium *Trichodesmium erythraeum* IMS101. *Environmental Microbiology*, 9, 12, p. 2945-2956.
- Shick J.M., Iglic K., Wells M.L., Trick C.G., Doyle J., Dunlap W.C., 2011. Responses to iron limitation in two colonies of *Stylophora pistillata* exposed to high temperature: Implications for coral bleaching. *Limnology and Oceanography*, 56, 3, p. 813-828.
- Sigel H., 2000. « Manganese in natural waters and earth's crust: Its availability to organisms », dans *Metal ions in biological systems*, CRC Press, p. 49-82.
- Silverstein R.N., Cunning R., Baker A.C., 2015. Change in algal symbiont communities after bleaching, not prior heat exposure, increases heat tolerance of reef corals. *Global Change Biology*, 21, 1, p. 236-249.
- Silverstein R.N., Cunning R., Baker A.C., 2017. Tenacious D: *Symbiodinium* in clade D remain in reef corals at both high and low temperature extremes despite impairment. *The Journal of Experimental Biology*, 220, 7, p. 1192-1196.
- Simkiss K., Taylor M.G., 1989. Convergence of cellular systems of metal detoxification. *Marine Environmental Research*, 28, 1-4, p. 211-214.
- Sipler R.E., Bronk D.A., 2014. « Dynamics of dissolved organic nitrogen », dans *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter (Second Edition)*, Elsevier, p. 127-232.
- Sirinawin W., Turner D.R., Westerlund S., 2000. Chromium (VI) distributions in the Arctic and the Atlantic Oceans and a reassessment of the oceanic Cr cycle. *Marine Chemistry*, 71, 265-282.
- Slowey J.F., Hood D.W., 1971. Copper, manganese and zinc concentrations in Gulf of Mexico waters. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 35, 2, p. 121-138.
- Smith D.C., Douglas A.E., 1987. *The biology of symbiosis*, Edward Arnold (Publishers) Ltd.
- Smith S. V., Swaney D.P., Talaue-McManus L., Bartley J.D., Sandhei P.T., McLaughlin C.J., Dupra V.C., Crossland C.J., Buddemeier R.W., Maxwell B. a., Wulff F., 2003. Humans, hydrology, and the distribution of inorganic nutrient loading to the ocean. *BioScience*, 53, 3, p. 235.
- Sorokin Y.I., 2013. *Coral reef ecology*, Springer Science & Business Media. Vol. 102.
- Spalding M.D., Grenfell A.M., 1997. New estimates of global and regional coral reef areas. *Coral Reefs*, 16, 4, p. 225-230.
- Spalding M., Ravilious C., Green E.P., 2001. *World atlas of coral reefs*, Univ of California Press.
- Srichandan S., Panigrahy R.C., Baliarsingh S.K., Rao B. S., Pati P., Sahu B.K., Sahu K.C., 2016. Distribution of trace metals in surface seawater and zooplankton of the Bay of Bengal, off Rushikulya estuary, East Coast of India. *Marine Pollution Bulletin*, 111, 1-2, p. 468-475.
- St John B.E., 1974. Heavy metals in the skeletal carbonate of scleractinian corals. *Proc. 2nd. Int. Coral Reef Symp.*, 2, p. 461-469.
- Stambler N., Popper N., Dubinsky Z., Stimson J.S., 1991. Effects of nutrient enrichment and water motion on the coral *Pocillopora damicornis*. *Pacific Science*, 45, 3, p. 299-307.
- Stanley G.D., 2003. The evolution of modern coral and their early history. *Earth-Science Reviews*, 60, p. 195-225.
- Stanley G.D., Fautin D.G., 2001. The Origins of Modern Corals. *Science*, 291, 5510, p. 1913-1914.

Bibliographie

- Stat M., Carter D., Hoegh-Guldberg O., 2006. The evolutionary history of *Symbiodinium* and scleractinian hosts-symbiosis, diversity, and the effect of climate change. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 8, 1, p. 23-43.
- Steen R.G., Muscatine L., 1987. Low temperature evokes rapid exocytosis of symbiotic algae by a sea anemone. *Biological Bulletin*, 172, 2, p. 246-263.
- Stillman J.H., Paganini A.W., 2015. Biochemical adaptation to ocean acidification. *Journal of Experimental Biology*, 218, 12, p. 1946-1955.
- Stimson J., 1997. The annual cycle of density of zooxanthellae in the tissues of field and laboratory-held *Pocillopora damicornis* (Linnaeus). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 214, 1-2, p. 35-48.
- Stimson J., Kinzie R.A., 1991. The temporal pattern and rate of release of zooxanthellae from the reef coral *Pocillopora damicornis* (Linnaeus) under nitrogen-enrichment and control conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 153, 1, p. 63-74.
- Stockdale A., Tipping E., Lofts S., Mortimer R.J.G., 2016. Effect of ocean acidification on organic and inorganic speciation of trace metals. *Environmental Science and Technology*, 50, 4, p. 1906-1913.
- Stoeckl N., Hicks C.C., Mills M., Fabricius K., Esparon M., Kroon F., Kaur K., Costanza R., 2011. The economic value of ecosystem services in the Great Barrier Reef: Our state of knowledge. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1219, 1, p. 113-133.
- Stolarski J., Kitahara M. V., Miller D.J., Cairns S.D., Mazur M., Meibom A., 2011. The ancient evolutionary origins of Scleractinia revealed by azooxanthellate corals. *BMC Evolutionary Biology*, 11, 1.
- Strahl J., Stolz I., Uthicke S., Vogel N., Noonan S.H.C., Fabricius K.E., 2015. Physiological and ecological performance differs in four coral taxa at a volcanic carbon dioxide seep. *Comparative Biochemistry and Physiology -Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 184, p. 179-186.
- Suggett D.J., Warner M.E., Leggat W., 2017. Symbiotic dinoflagellate functional diversity mediates coral survival under ecological crisis. *Trends in Ecology and Evolution*, 32, 10, p. 735-745.
- Sunda W.G., Huntsmann S., 1995. Cobalt and zinc interreplacement in marine phytoplankton biological and geochemical implications. *Limnology and Oceanography*, 40, 8, p. 1404-1417.
- Sunda W.G., 2001. Bioavailability and bioaccumulation of iron in the sea. *The biogeochemistry of iron in seawater*, p. 41-84.
- Sunda W.G., 2012. Feedback interactions between trace metal nutrients and phytoplankton in the ocean. *Frontiers in Microbiology*, 3, Jun, p. 1-22.
- Sunda W.G., Huntsman S.A., 1988. Effect of sunlight on redox cycles of manganese in the southwestern Sargasso Sea. *Deep Sea Research Part A, Oceanographic Research Papers*, 35, 8, p. 1297-1317.
- Sunda W.G., Huntsman S.A., 1994. Photoreduction of manganese oxides in seawater. *Marine Chemistry*, 46, 1-2, p. 133-152.
- Sunda W.G., Huntsman S.A., 1998. Processes regulating cellular metal accumulation and physiological effects: Phytoplankton as model systems. *Science of the Total Environment*, 219, 2-3, p. 165-181.

- Sutherland J.E., Costa M., 2002. « Nickel », dans *Heavy metals in the environment*, B. SARKAR (dir.), CRC Press, New-York.
- Suzuki Y., Casareto B., 2011. "The role of dissolved organic nitrogen (DON) in coral biology and reef ecology." dans *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*, Springer, p. 207-214.
- Swanson R., Hoegh-Guldberg O., 1998. Amino acid synthesis in the symbiotic sea anemone *Aiptasia pulchella*. *Marine Biology*, 131, 1, p. 83-93.
- Swedlund P.J., Miskelly G.M., McQuillan A.J., 2010. Silicic acid adsorption and oligomerization at the ferrihydrite-water interface: Interpretation of ATR-IR spectra based on a model surface structure. *Langmuir*, 26, 5, p. 3394-3401.
- Sweet M.J., Croquer A., Bythell J.C., 2011. Bacterial assemblages differ between compartments within the coral holobiont. *Coral Reefs*, 30, 1, p. 39-52.

T

- Tagliabue A., Bopp L., Dutay J.C., Bowie A.R., Chever F., Jean-Baptiste P., Bucciarelli E., Lannuzel D., Remenyi T., Sarthou G., Aumont O., Gehlen M., Jeandel C., 2010. Hydrothermal contribution to the oceanic dissolved iron inventory. *Nature Geoscience*, 3, 4, p. 252-256.
- Tambutté E., Allemand D., Zoccola D., Meibom A., Lotto S., Caminiti N., Tambutté S., 2007. Observations of the tissue-skeleton interface in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Coral Reefs*, 26, 3, p. 517-529.
- Tambutté E., Venn A.A., Holcomb M., Segonds N., Techer N., Zoccola D., Allemand D., Tambutté S., 2015. Morphological plasticity of the coral skeleton under CO₂-driven seawater acidification. *Nature Communications*, 6.
- Tanaka K., Ohde S., Cohen M.D., Snidvongs A., Ganmanee M., McLeod C.W., 2013. Metal contents of *Porites* corals from Khang Khao Island, Gulf of Thailand: Anthropogenic input of river runoff into a coral reef from urbanized areas, Bangkok. *Applied Geochemistry*, 37, p. 79-86.
- Tanaka Y., Grottoli A.G., Matsui Y., Suzuki A., Sakai K., 2015. Partitioning of nitrogen sources to algal endosymbionts of corals with long-term ¹⁵N-labelling and a mixing model. *Ecological Modelling*, 309-310, p. 163-169.
- Tansik A.L., Fitt W.K., Hopkinson B.M., 2017. Inorganic carbon is scarce for symbionts in scleractinian corals. *Limnology and Oceanography*, 62, 5, p. 2045-2055.
- Tanzil J.T.I., Brown B.E., Tudhope A.W., Dunne R.P., 2009. Decline in skeletal growth of the coral *Porites lutea* from the Andaman Sea, South Thailand between 1984 and 2005. *Coral Reefs*, 28, 2, p. 519-528.
- Tchernov D., Gorbunov M.Y., Vargas C. de, Narayan Yadav S., Milligan A.J., Haggblom M., Falkowski P.G., 2004. Membrane lipids of symbiotic algae are diagnostic of sensitivity to thermal bleaching in corals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101, 37, p. 13531-13535.
- Tebo B.M., Bargar J.R., Clement B.G., Dick G.J., Murray K.J., Parker D., Verity R., Webb S.M., 2004. Biogenic manganese oxides: Properties and mechanisms of formation. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 32, 1, p. 287-328.

- Terry J.P., Goff J., 2013. One hundred and thirty years since Darwin: « Reshaping » the theory of atoll formation. *Holocene*, 23, 4, p. 615-619.
- Therkildsen M.S., Lomstein B.A., 1994. Seasonal variation in sediment urea turnover in a shallow estuary. *Marine Ecology Progress Series*, 109, 1, p. 77-82.
- Tilman D., Fargione J., Wolff B., Antonio C.D., Dobson A., Howarth R., Schindler D., Schlesinger W.H., Simberloff D., Swackhamer D., 2001. Forecasting agriculturally driven environmental change. *Science*, 292, 5515, p. 281-284.
- Treguer P., Nelson D.M., Vanbennekom A.J., Demaster D.J., Leynaert A., Queguiner B., 1995. The silica balance in the world ocean: A reestimate. *Science*, 268, p. 375-379.
- Tremblay P., Grover R., Maguer J.F., Hoogenboom M., Ferrier-Pagès C., 2014. Carbon translocation from symbiont to host depends on irradiance and food availability in the tropical coral *Stylophora pistillata*. *Coral Reefs*, 33, 1, p. 1-13.
- Tremblay P., Grover R., Maguer J.F., Legendre L., Ferrier-Pagès C., 2012. Autotrophic carbon budget in coral tissue: a new ¹³C-based model of photosynthate translocation. *Journal of Experimental Biology*, 215, 8, p. 1384-1393.
- Tremblay P., Maguer J.F., Grover R., Ferrier-Pagès C., 2015. Trophic dynamics of scleractinian corals: Stable isotope evidence. *Journal of Experimental Biology*, 218, 8, p. 1223-1234.
- Tremblay P., Gori A., Maguer J.F., Hoogenboom M., Ferrier-Pagès C., 2016. Heterotrophy promotes the re-establishment of photosynthate translocation in a symbiotic coral after heat stress. *Scientific Reports*, 6, November, p. 1-14.
- Trench R.K., 1993. Microalgal-invertebrate symbioses - A review. *Endocytobiosis and Cell Research*, 9, 2-3, p. 135-175.
- Tribollet A., Godinot C., Atkinson M., Langdon C., 2009. Effects of elevated pCO₂ on dissolution of coral carbonates by microbial euendoliths. *Global Biogeochemical Cycles*, 23, 3, p. 1-7.
- Twining B.S., Baines S.B., 2013. The trace metal composition of marine phytoplankton. *Annual Review of Marine Science*, 5, 1, p. 191-215.
- Tyrrell T., 1999. The relative influences of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production. *Nature*, 400, p. 525-530.

V

- Vaqué D., Guadayol Ò., Peters F., Felipe J., Malits A., Pedrós-Alió C., 2009. Differential response of grazing and bacterial heterotrophic production to experimental warming in Antarctic waters. *Aquatic Microbial Ecology*, 54, 1, p. 101-112.
- Venn A.A., Tambutté E., Holcomb M., Laurent J., Allemand D., Tambutté S., 2013. Impact of seawater acidification on pH at the tissue-skeleton interface and calcification in reef corals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 5, p. 1634-1639.
- Venn A.A., Tambutté E., Lotto S., Zoccola D., Allemand D., Tambutté S., 2009. Imaging intracellular pH in a reef coral and symbiotic anemone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 39, p. 16574-16579.

- Venn A.A., Wilson M.A., Trapido-Rosenthal H.G., Keely B.J., Douglas A.E., 2006. The impact of coral bleaching on the pigment profile of the symbiotic alga, *Symbiodinium*. *Environment*, p. 2133-2142.
- Venn A., Tambutté E., Holcomb M., Allemand D., Tambutté S., 2011. Live tissue imaging shows reef corals elevate pH under their calcifying tissue relative to seawater. *PLoS ONE*, 6, 5.
- Vermaat J.E., 2009. Linking clonal growth patterns and ecophysiology allows the prediction of meadow-scale dynamics of seagrass beds. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 11, 2, p. 137-155.
- Vermeij M.J.A., Moorselaar I. van, Engelhard S., Hörnlein C., Vonk S.M., Visser P.M., 2010. The effects of nutrient enrichment and herbivore abundance on the ability of turf algae to overgrow coral in the Caribbean. *PLoS ONE*, 5, 12, p. 1-8.
- Victor S., Richmond R.H., 2005. Effect of copper on fertilization success in the reef coral *Acropora surculosa*. *Marine Pollution Bulletin*, 50, p. 1448-1451.
- Vieira C., Payri C., Clerck O. De, 2015. Overgrowth and killing of corals by the brown alga *Lobophora hederacea* (Dictyotales, *Phaeophyceae*) on healthy reefs in New Caledonia: A new case of the epizooism syndrome. *Phycological Research*, 63, 2, p. 152-153.
- Vieira C., Engelen A.H., Guentas L., Aires T., Houlbrèque F., Gaubert J., Serrão E.A., Clerck O. De, Payri C.E., 2016. Species specificity of bacteria associated to the brown seaweeds *Lobophora* (Dictyotales, *Phaeophyceae*) and their potential for induction of rapid coral bleaching in *Acropora muricata*. *Frontiers in Microbiology*, 7, MAR, p. 1-13.
- Vijayavel K., Downs C.A., Ostrander G.K., Richmond R.H., 2012. Oxidative DNA damage induced by iron chloride in the larvae of the lace coral *Pocillopora damicornis*. *Comparative Biochemistry and Physiology - C Toxicology and Pharmacology*, 155, 2, p. 275-280.
- Villanueva-Estrada R.E., Prol-Ledesma R.M., Rodríguez-Díaz A.A., Canet C., Armienta M.A., 2013. Arsenic in hot springs of Bahía Concepción, Baja California Peninsula, México. *Chemical Geology*, 348, p. 27-36.
- Vizzini S., Leonardo R. Di, Costa V., Tramati C.D., Luzzu F., Mazzola A., 2013. Trace element bias in the use of CO₂ vents as analogues for low pH environments: Implications for contamination levels in acidified oceans. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 134, p. 19-30.
- Voelker B.M., Sedlak D.L., Zafiriou O.C., 2000. Chemistry of superoxide radical in seawater: Reactions with organic Cu complexes. *Environmental Science and Technology*, 34, 6, p. 1036-1042.

W

- Wafar M.V.M., Wafar S., Kumar R.R., 1993. Nitrogen uptake kinetics of freshly isolated zooxanthellae. *Indian Journal of Marine Sciences*, 22, p. 83-88.
- Wafar M.V.M., Devassy V.P., Slawyk G., Goes J., Jayakumar D.A., Rajendran A., 1985. Nitrogen uptake by phytoplankton and zooxanthellae in a coral atoll. *Proceedings Fifth International Coral Reef Congress*, 6, p. 29-37.
- Wall M., Fietzke J., Schmidt G.M., Fink A., Hofmann L.C., Beer D. De, Fabricius K.E., 2016. Internal pH regulation facilitates *in situ* long-term acclimation of massive corals to end-of-century carbon dioxide conditions. *Scientific Reports*, 6, 1, p. 1-7.

- Walsh P., Wang Y., Campbell C., Boeck D.G., Wood C., 2001. Patterns of nitrogenous waste excretion and gill urea transporter mRNA expression in several species of marine fish. *Marine Biology*, 139, 5, p. 839-844.
- Wang Y., Qiao M., Liu Y., Zhu Y., 2012. Health risk assessment of heavy metals in soils and vegetables from wastewater irrigated area, Beijing-Tianjin city cluster, China. *Journal of Environmental Sciences*, 24, 4, p. 690-698.
- Wantiez L., 2008. Coral reefs of New Caledonia in 2006: Status report and monitoring network. *Revue D'Ecologie-La Terre Et La Vie*, 63, p. 117-132.
- Warner M.E., Chilcoat G.C., McFarland F.K., Fitt W.K., 2002. Seasonal fluctuations in the photosynthetic capacity of photosystem II in symbiotic dinoflagellates in the Caribbean reef-building coral *Montastraea*. *Marine Biology*, 141, 1, p. 31-38.
- Weis V.M., 2008. Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: Stress causes the collapse of symbiosis. *Journal of Experimental Biology*, 211, 19, p. 3059-3066.
- Wells M., Shick J.M., Long P., 2011. Effects of trace metal limitation on oxidative stress in zooxanthellae and its role in coral bleaching. *University of Maine, Office of Research and Sponsored Programs: Grant Reports*, p. 291.
- Whitall D., Mason A., Pait A., Brune L., Fulton M., Wirth E., Vandiver L., 2014. Organic and metal contamination in marine surface sediments of Guánica Bay, Puerto Rico. *Marine Pollution Bulletin*, 80, 1-2, p. 293-301.
- WHO, 2011. Guidelines for drinking-water quality. *World Health Organization*, 1, 3, p. 104-108.
- Wiedenmann J., D'Angelo C., Smith E.G., Hunt A.N., Legiret F.-E., Postle A.D., Achterberg E.P., 2013. Nutrient enrichment can increase the susceptibility of reef corals to bleaching. *Nature Climate Change*, 3, 2, p. 160-164.
- Wilde K.L., Stauber J.L., Markich S.J., Franklin N.M., Brown P.L., 2006. The effect of pH on the uptake and toxicity of copper and zinc in a tropical freshwater alga (*Chlorella* sp.). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 51, 2, p. 174-185.
- Wilkinson C., 2008. Status of coral reefs of the world: 2008 global coral reef monitoring network and reef and rainforest research centre. *Townsville, Australia*, 296.
- Wilkinson C.R., 1999. Global and local threats to coral reef functioning and existence: Review and predictions. *Marine and Freshwater Research*, 50, 8, p. 867-878.
- Wilkinson R.E., Ohki K., 1988. Influence of manganese deficiency and toxicity on isoprenoid syntheses. *Plant physiology*, 87, p. 841-846.
- Willis S.C., Winemiller K.O., Lopez-Fernandez H., 2005. Habitat structural complexity and morphological diversity of fish assemblages in a Neotropical floodplain river. *Oecologia*, 142, 2, p. 284-295.
- Wilson S.K., Graham N.A.J., Polunin N.V.C., 2007. Appraisal of visual assessments of habitat complexity and benthic composition on coral reefs. *Marine Biology*, 151, 3, p. 1069-1076.
- Wisshak M., Schonberg C.H.L., Form A., Freiwald A., 2012. Ocean acidification accelerates reef bioerosion. *PLoS ONE*, 7, 9, p. e45124.
- Wolfe-Simon F., Starovoytov V., Reinfelder J.R., Schofield O., Falkowski P.G., 2006. Localization and role of manganese superoxide dismutase in a marine diatom. *Plant physiology*, 142, 4, p. 1701-1709.

- Wolfe-Simon F., Grzebyk D., Schofield O., Falkowski P.G., 2005. The role and evolution of superoxide dismutases in algae. *Journal of Phycology*, 41, 3, p. 453-465.
- Woodroffe C.D., Biribo N., 2011. « Atolls », dans *Encyclopedia of Modern Coral Reefs: structure, form and process*, HOPLEY D. (dir.), The Netherlands: Springer, p. 51-71.
- Wooldridge S.A., 2013. Breakdown of the coral-algae symbiosis: Towards formalising a linkage between warm-water bleaching thresholds and the growth rate of the intracellular zooxanthellae. *Biogeosciences*, 10, 3, p. 1647-1658.
- Wooldridge S.A., 2010. Is the coral-algae symbiosis really « mutually beneficial » for the partners? *BioEssays*, 32, 7, p. 615-625.
- Wu D., Pichler T., 2014. Simultaneous speciation analysis of As, Sb and Se redox couples by SF-ICP-MS coupled to HPLC. *Analytical Methods*, 6, 14, p. 5112-5119.

Y

- Yakovleva I.M., Baird A.H., Yamamoto H.H., Bhagooli R., Nonaka M., Hidaka M., 2009. Algal symbionts increase oxidative damage and death in coral larvae at high temperatures. *Marine Ecology Progress Series*, 378, May, p. 105-112.
- Yang Y., Hansson L., Gattuso J.P., 2016. Data compilation on the biological response to ocean acidification: An update. *Earth System Science Data*, 8, 1, p. 79-87.
- Yonge C.M., Nicholls A.G., 1931. Studies on the physiology of corals. 3. Assimilation and excretion. *Brit. Mus.(Nat. Hist.), Sci. Sep., Great Barrier Reef Exped., 1928-29*, 1, p. 135-211.
- Yoshida M., Kuma K., Iwade S., Isoda Y., Takata H., Yamada M., 2006. Effect of aging time on the availability of freshly precipitated ferric hydroxide to coastal marine diatoms. *Marine Biology*, 149, 2, p. 379-392.
- Yost D.M., Jones R.J., Mitchelmore C.L., 2010. Alterations in dimethylsulfoniopropionate (DMSP) levels in the coral *Montastraea franksi* in response to copper exposure. *Aquatic Toxicology*, 98, 4, p. 367-373.

Z

- Zaneveld J.R., Burkepile D.E., Shantz A.A., Pritchard C.E., McMinds R., Payet J.P., Welsh R., Correa A.M.S., Lemoine N.P., Rosales S., Fuchs C., Maynard J.A., Thurber R.V., 2016. Overfishing and nutrient pollution interact with temperature to disrupt coral reefs down to microbial scales. *Nature Communications*, 7, May, p. 1-12.
- Zhang H., Zhuang Y., Gill J., Lin S., 2013. Proof that dinoflagellate spliced leader (DinoSL) is a useful hook for fishing dinoflagellate transcripts from mixed microbial samples: *Symbiodinium kawagutii* as a case study. *Protist*, 164, 4, p. 510-527.
- Zhang Z., Cheng H., Wang Y., Wang S., Xie F., Li S., 2010. Acrosome reaction of sperm in the mud crab *Scylla serrata* as a sensitive toxicity test for metal exposures. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 1, p. 96-104.
- Zoccola D., Ganot P., Bertucci A., Caminiti-Segonds N., Techer N., Voolstra C.R., Aranda M., Tambutté E., Allemand D., Casey J.R., Tambutté S., 2015. Bicarbonate transporters in

Bibliographie

corals point towards a key step in the evolution of cnidarian calcification. *Scientific Reports*, 5, p. 1-11.

Zoccola D., Tambutté E., Sénégas-Balas F., Michiels J.-F., Failla J.-P., Jaubert J., Allemand D., 1999. Cloning of a calcium channel $\alpha 1$ subunit from the reef-building coral, *Stylophora pistillata*. *Gene*, 227, 2, p. 157-167.