



**HAL**  
open science

# Importance des assemblages interspécifiques face aux variations environnementales. Étude intégrée comparative de différentes associations corail-bénitier

Isis Guibert

► **To cite this version:**

Isis Guibert. Importance des assemblages interspécifiques face aux variations environnementales. Étude intégrée comparative de différentes associations corail-bénitier. Biochimie, Biologie Moléculaire. Sorbonne Université, 2018. Français. NNT : 2018SORUS337 . tel-02772634

**HAL Id: tel-02772634**

**<https://theses.hal.science/tel-02772634>**

Submitted on 4 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale des Sciences de l'Environnement - 129

*CRIOBE USR3278 & ENTROPIE UMR250/9220*

## **Importance des assemblages interspécifiques face aux variations environnementales**

*Etude intégrée comparative de différentes associations corail-bénitier*

Par Isis Guibert

Thèse de doctorat de biologie et écologie moléculaire

Dirigée par Dr. Véronique Berteaux-Lecellier et Dr. Serge Planes

Présentée et soutenue publiquement le 14 décembre 2018

Devant un jury composé de :

Pr. Paola FURLA - Professeur des Universités, Université de Nice	Rapporteur
Dr. Christine PAILLARD - Directeur de Recherche, CNRS, Université de Bretagne Occidentale	Rapporteur
Dr. Medhi ADJEROUD - Directeur de Recherche, IRD	Examineur
Dr. Pierre GALAND - Directeur de Recherche, CNRS, Université Pierre et Marie Curie	Examineur
Dr. Véronique BERTEAUX-LECELLIER - Chargé de Recherche, CNRS, HDR	Directeur
Dr. Serge PLANES - Directeur de Recherche, CNRS DECU EPHE	Co-Directeur
Dr. Gaël LECELLIER - Maître de conférences HC, HDR, Université Paris Saclay	Invité
Dr. Isabelle BONNARD - Maître de conférences, Université de Perpignan	Invité
Dr. Xavier POCHON - Chercheur, Université d'Auckland	Invité







## Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Véronique Berteaux-Lecellier pour avoir accepté de diriger cette thèse. Merci beaucoup pour cette belle aventure, j'ai énormément apprécié travailler avec toi et tu m'as beaucoup appris. Merci à Serge Planes de m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse. Un grand merci à tous mes encadrants scientifiques : Gaël Lecellier, Isabelle Bonnard et Xavier Pochon. Merci Gaël d'avoir réveillé en moi la petite geek qui sommeillait, merci pour ta patience et ta disponibilité. Et merci à toi et Véronique pour votre soutien et le chocolat. Merci à Isabelle de m'avoir si bien accueillie au pays de la chimie et pour ton aide précieuse. Merci à Xavier pour cette aventure « extra bleu ciel » chez les kiwis. Je remercie aussi Claude Payri pour m'avoir accueillie au sein de l'équipe ENTROPIE.

Je tiens à remercier les membres du jury d'avoir accepté d'étudier et d'évaluer ce travail. Merci à Paola Furla et à Christine Paillard d'avoir acceptée la lourde mission de rapporteurs. Merci Pierre Galant et Medhi Adjeroud pour votre participation au jury. Merci également à Mayalen Zubia et Fanny Houlbrèque pour vos conseils et remarques constructives lors des comités de thèse.

Je tiens à remercier tous ceux qui, au quatre coins du monde, ont participé à faire de ces trois ans un beau périple. Un grand merci à tous les IRDiens pour m'avoir fait découvrir la Nouvelle-Calédonie. Mes premières pensées vont à Mathieu pour avoir apporté tant de joie dans cette dernière étape d'analyse et rédaction (et merci à Nathalie des JMJ...). Merci à Anne pour les moments détente et les crêpes. Un grand merci à Emmrick pour les heures « culture Kanak », sans toi je n'aurais pas vraiment connu la Calédonie. Merci à Tom et Alex, surtout pour ma nouvelle passion papou. Kévin, Valentine, Andréas et Oliver pour les chouettes moments à ramer. Merci à lilouche d'avoir pris soin de moi et pour les petites blagues. Germain, Jhouille, Céline et coach pour les bonnes bagarres ! Petite Julie pour les pauses ralages et Geek Julie pour le codage. Merci à Solène et ponyo. Merci aux lofteurs, à Aurore et Cyril. Baby Jojo pour pinus Island. Valou pour les pauses café et randonnées. Moultes merci à Lucas pour son aide précieuse, les bons moments et sa passion poisson partagée.

Many thanks to Ulla and Suong for their craziness ... I can't wait to see you in Vietnam! I also would like to thank Oli, especially for the baby walk! And thanks to my kiwi family: Anaïs, Rachelle, Andrej, Witold, Nikki, Kent, Bruce, Nina, Mark and James.

Un merci à mes amis de loin qui ont toujours été là pour moi. Mes curs, Helen, Carole et Marion. Raph, gaga et Manon pour les soirées marseillaises. Didine ma copine de toujours, Ugo, Ivan et Gauthier.

Evidement un grand merci aux Criobiens de France et de Polynésie. Merci à Loulou de m'avoir donné la main pour mes premiers pas en chimie. Merci à Mathieu pour le chocolat et les rigolades. Copine Carole, Caroline, Alex et Fabien du bâtiment ennemi ... je rigole. Merci aux filles, Delphine, Sana, Vanessa, Marie-Virginie et Anaïs. Un merci à l'équipe polynésienne. Patricia pour m'avoir formée, Vaimiti, Ophélie et Christine. Merci à Pascal et Franky pour leur aide. Merci à tous ceux qui ont fait partie de la « communauté », la liste est longue, vous vous reconnaitrez. Du fond du cœur un grand merci à la famille polynésienne. Merci à doudoune et doudou pour les 400 coups, Pipou et Pierre pour m'avoir sauvé la vie, Dudinou pour tous ces merveilleux moments, Mimi ma super colloc, Mon petit port pour les sorties scooters et bien plus, Lauric pour les bulles, Cricri pour tous ses bons conseils. Merci à Teva, Matoo, Vahine, Maeva, Christina évidemment, Hendrikje, Justine et Agathe. Simon et Marion : les copains ! Mille merci à Ewen d'avoir toujours été là pour moi, de m'avoir soutenue et d'avoir cru en moi.

Merci aussi de la part de toutes mes cicatrices et moi-même à tous ceux qui ont pansés mes blessures ... peut-être un peu moins à doudoune pour le citron vert ... :)

Mon plus grand merci va à ma famille. Merci d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir toujours aidé à réaliser mes rêves. Merci du fond du cœur d'être là, même malgré la distance.

# Sommaire

Remerciements.....	4
Sommaire.....	5
Table des illustrations.....	7
Table des tableaux.....	10
Liste des abréviations.....	11
<b>Chapitre 1 : Introduction</b> .....	14
1. L'écosystème corallien.....	14
1.1 Les récifs coralliens.....	14
1.2 Morphologie des holobiontes.....	15
1.3 Organismes associés : Symbiodiniaceae.....	19
1.4 Organismes associés : bactéries.....	21
2. Interaction entre espèces.....	23
2.1 Interactions intra-holobiontes.....	23
2.2 Interaction Inter-holobiontes.....	26
2.3 Réponses aux variations environnementales.....	29
3. Assemblages et environnement.....	32
3.1 Assemblages.....	32
3.2 Variation de la biodiversité et conséquences.....	33
4. Objectifs et présentation de la thèse.....	36
<b>Chapitre 2 : Differential effect of coral-giant clam assemblages on biofouling formation</b> .....	42
1. Introduction.....	44
2. Materials and methods.....	46
2.1 Sample collection and preparation.....	46
2.2 Data analysis.....	49
3. Results.....	49
3.1 Significant change of seawater composition between experiments but only slightly between assemblages.....	49
3.2 Difference of biofouling appearance according to the type of assemblages.....	50
3.3 Distinct taxonomic groups according to the assemblages.....	51
3.4 Different family and genus composition of the three main taxonomic groups according to the assemblages.....	52
3.5 Characterization of biofouling from each assemblage by specific species abundance and metabolic function of bacteria.....	54
3.6 Secondary metabolites released in seawater are related to each assemblage.....	57
4. Discussion.....	60
<b>Chapitre 3 : Dimethylsulfoniopropionate concentration in coral reef invertebrates varies according to species assemblages</b> .....	80
1. Introduction.....	82
2. Materials and methods.....	85
2.1 Corals and giant clam collection and experimental design.....	85
2.2 Metabolite extraction for dimethylsulfoniopropionate quantification.....	85
2.3 Nuclear magnetic resonance data acquisition and dimethylsulfoniopropionate quantification.....	86
2.4 DNA extraction, PCR amplification and sequencing for Symbiodiniaceae composition determination.....	87
2.5 Identification of candidate genes.....	87
3. Results.....	88
3.1 Analyses of dimethylsulfoniopropionate concentrations according to thermal stress, species and assemblages.....	88

3.2	Symbiodiniaceae composition by assemblage .....	90
3.3	Identification of candidate genes for dimethylsulfoniopropionate biosynthesis in <i>Tridacna maxima</i> .....	92
4.	Discussion .....	94
4.1	Dimethylsulfoniopropionate concentrations differ according to species and assemblages .....	94
4.2	Dimethylsulfoniopropionate production.....	95
<b>Chapitre 4 :</b>	<b>Metagenomics reveals distinct microbiotypes in the giant clams <i>Tridacna maxima</i></b> .....	<b>104</b>
1.	Introduction.....	106
2.	Materials and methods .....	109
2.1	Sample collection.....	109
2.2	DNA extraction, PCR amplification and sequencing.....	110
2.3	Microbial community analysis .....	111
2.4	Statistical analysis.....	112
3.	Results .....	112
3.1	Mortality of giant clams.....	112
3.2	The prokaryotic microbiome of giant clams.....	113
3.3	Bacterial functional roles.....	116
3.4	The Symbiodiniaceae composition of giant clams .....	118
4.	Discussion .....	118
4.1	The composition of the benthic species assemblage influences the health of giant clams.....	119
4.2	Microbiotypes in giant clams.....	120
<b>Chapitre 5 :</b>	<b>Analyse <i>in situ</i> des effets des assemblages de coraux-bénitiers sur leur croissance et le recrutement corallien</b> .....	<b>128</b>
1.	Introduction.....	129
2.	Matériel et méthode .....	131
2.1	Organisme d'études, récoltes et conception expérimentale .....	131
2.2	Analyse des recrues .....	133
2.3	Suivie de croissance.....	133
2.4	Analyses statistiques .....	133
3.	Résultats .....	134
3.1	Nombre de recrues.....	134
3.2	Taille des recrues.....	135
3.3	Etat de santé et appartenance taxonomique des recrues .....	136
3.4	Croissance et mortalité.....	137
4.	Discussion .....	139
4.1	Réponse des holobiontes aux assemblages .....	139
4.2	Effet des assemblages sur le recrutement corallien.....	141
<b>Chapitre 6 :</b>	<b>Discussion générale et perspectives</b> .....	<b>150</b>
1.	Bilan des connaissances et perspectives .....	150
2.	Conclusion .....	157
<b>Chapitre 7 :</b>	<b>Bibliographie</b> .....	<b>162</b>



## Table des illustrations

<b>Figure 1.1</b> : Association des coraux et des Symbiodiniaceae. <b>(A)</b> Colonie de corail, <b>(B)</b> polypes, <b>(C)</b> Symbiodiniaceae visibles dans tentacule, <b>(D)</b> schéma d'un polype, <b>(E)</b> schéma de l'ectoderme. D'après Courtial et al. (2018), adapté de Tambutté et al. (2007) et de Kvennefors et al. (2010).....	16
<b>Figure 1.2</b> : Biologie du bénytier. <b>(A)</b> Cycle de vie du bénytier (d'après King et al. (2012)), <b>(B)</b> Anatomie du bénytier (d'après <a href="https://pauaproject.wordpress.com/clam-biology/">https://pauaproject.wordpress.com/clam-biology/</a> ) .....	18
<b>Figure 1.3</b> : Exemples d'interactions et rôles possibles entre les coraux et leurs symbiontes, et entre les symbiontes. Adapté et modifié d'après Peixoto <i>et al.</i> (2017).....	24
<b>Figure 1.4</b> : Modèle de prédiction des conséquences d'un changement de biodiversité sur les récifs coralliens. Les flèches indiquent le sens des interactions. Modifié d'après Chaves-Fonnegra et al (2018).....	35
<b>Figure 2.1</b> : Photographs of aquarium's walls according to the assemblages <b>(a)</b> with or <b>(b)</b> without thermal stress. PAT: <i>P. damicornis</i> , <i>A. cytherea</i> and <i>T. maxima</i> ; PA: <i>P. damicornis</i> and <i>A. cytherea</i> ; P: <i>P. damicornis</i> ; T: <i>T. maxima</i> ; AT: <i>A. cytherea</i> and <i>T. maxima</i> ; W: no macroorganisms; stress temperature (ST); lagoon temperature (LT, control). Photographs: Isis Guibert. ....	51
<b>Figure 2.2</b> : Classical multidimensional scaling from the Jaccard's index of assemblages with <b>(a)</b> and without <b>(b)</b> control. PAT: <i>P. damicornis</i> , <i>A. cytherea</i> and <i>T. maxima</i> ; PA: <i>P. damicornis</i> and <i>A. cytherea</i> ; AT: <i>A. cytherea</i> and <i>T. maxima</i> ; P: <i>P. damicornis</i> ; T: <i>T. maxima</i> and W: no macroorganisms (control). ....	52
<b>Figure 2.3</b> : Venn diagrams of genera detected in the assemblages. <b>(a)</b> bacteria, <b>(b)</b> diatoms <b>(c)</b> algae. PAT: <i>P. damicornis</i> , <i>A. cytherea</i> and <i>T. maxima</i> ; PA: <i>P. damicornis</i> and <i>A. cytherea</i> ; P: <i>P. damicornis</i> and T: <i>T. maxima</i> . ....	54
<b>Figure 2.4</b> : Heatmap based on bacterial genera and showing specific 'barcode community fingerprints' for each assemblage. Communities' differences are showed on a relative scale, with enrichment (red) and depletion (blue) of sequence abundance calculated using the Ward's clustering method and a Pearson distance measure. T: <i>T. maxima</i> ; PAT: <i>P. damicornis</i> , <i>A. cytherea</i> and <i>T. maxima</i> ; P: <i>P. damicornis</i> ; PA: <i>P. damicornis</i> and <i>A. cytherea</i> . ....	55
<b>Figure 2.5</b> : Heatmap of bacterial "metabolism by phenotype". Data show functional differences derived from each assemblage on a relative scale with enrichment (red) and depletion (blue) of gene functions using a Pearson distance measure and the Ward's clustering method. T: <i>T. maxima</i> ; PAT: <i>P. damicornis</i> , <i>A. cytherea</i> and <i>T. maxima</i> ; P: <i>P. damicornis</i> ; PA: <i>P. damicornis</i> and <i>A. cytherea</i> . ....	57
<b>Figure 2.6</b> : Partial least Square Discriminant Analysis of organic extracts metabolites from seawater's aquariums. <b>(a)</b> Distribution of the metabolites on the first two components (Comp1 and Comp2) allowing the separation according to the assemblages. <b>(b)</b> Distribution on the fifth and six components (Comp5 and Comp6) providing the separation of PAT from other assemblages. PAT: <i>P. damicornis</i> , <i>A. cytherea</i> and <i>T. maxima</i> ; PA: <i>P. damicornis</i> and <i>A. cytherea</i> ; P: <i>P. damicornis</i> ; T: <i>T. maxima</i> ; AT: <i>A. cytherea</i> and <i>T. maxima</i> and SW: incoming seawater. ....	59
<b>Figure 3.1</b> : Mean concentrations of dimethylsulfoniopropionate (mg/mL) of <i>Pocillopora damicornis</i> (A) and <i>Acropora cytherea</i> (B) by assemblage. Assemblages: P: <i>P. damicornis</i> (nA = 25); A: <i>A. cytherea</i> (nB = 12); PA:	

*P. damicornis* and *A. cytherea* (nA = 16, nB = 16); AT: *A. cytherea* and *T. maxima* (nB = 8); PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima* (nA = 13, nB = 15). Letters in lower case indicate significant differences between means (Tuckey,  $p < 0.05$ ).....89

**Figure 3.2** : Mean concentrations of dimethylsulfonylpropionate (mg/mL) of *Tridacna maxima* by assemblage. Assemblages: T: *T. maxima* (n = 19); AT: *A. cytherea* and *T. maxima* (n = 9); PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima* (n = 14). Letters in lower case indicate significant differences between means (Tuckey,  $p < 0,05$ ).....90

**Figure 3.3** : Relative abundance of Symbiodiniaceae subclades in *Pocillopora damicornis* (A) and *Acropora cytherea* (B). All samples were collected at day 17 except those with a 0 in their name that were collected at day 12. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; A: *A. cytherea*; P: *P. damicornis*; 0: time 0 - day 12; (1-3): number of the experiment; L: lagoon temperature; S: thermal stress; (1-4): number of sample.....92

**Figure 3.4** : Putative pathway of dimethylsulfonylpropionate biosynthesis in *Tridacna maxima*. ID numbers of *T. maxima* peptides are indicated for each step.....93

**Figure 3.5** : Marine bacterial genera degrading DMSP or DMS in the water column, associated or not with corals and/or giant clams. DMSP-degrading (green circle) and DMS-degrading (brown circle) found in the water column, bacterial genera found in corals (blue oval) and in giant clams (green oval) (adapted from (Guibert et al., Submitted; Raina et al., 2010)).....97

**Figure 4.1** : Mortality frequencies of giant clams per aquarium during the acclimation period and during the stress period, according to the assemblages. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; PT: *T. maxima*; T: *P. damicornis* and *T. maxima*; L: lagoon temperature; S: thermal stress. Each circle represents one aquarium. .... 113

**Figure 4.2** : Heatmap from the pairwise correlation between microbiomes of clams in experimental benthic communities, and at control and elevated temperatures. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; T: *T. maxima*; (1-3): experiment number; L: lagoon temperature; S: thermal stress; (1-4): sample number. M: microbial community clusters (microbiotypes) Md: dying clam microbiotype ; 1-3: number of clam microbiotype. .... 114

**Figure 4.3** : Relative abundance of the 18 most abundant bacterial families in giant clams *T. maxima* grouped by microbiotype. 396 less abundant taxa are grouped under 'others'. Abbreviations of experimental assemblages: PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; T: *T. maxima*; 0: control; (1-3): experiment number; L: lagoon temperature; S: thermal stress; (1-4): sample number; D: dying clam; H: healthy clam. M: microbiotypes, Md: dying clam microbiotype; 1-3: number of clam microbiotype. .... 116

**Figure 4.4** : Taxonomy-based functional profiling of bacterial communities in giant clams (*Tridacna maxima*) by microbiotype. Enrichment (red) and decrease (blue) of functions are presented on a relative scale using a Pearson distance measure and the average clustering method. M: microbiotypes, Md: dying clam microbiotype; 1-3: number of clam microbiotype. .... 117

**Figure 5.1** : Photographies *in situ* des structures témoins et des assemblages à 1, 2 ou 3 espèces.....132

**Figure 5.2 :** Analyse des Correspondances Multiples selon l'état de santé et la famille des recrues. La couleur verte indique l'état (V : vivant ; M : mort) ; Le bleu indique la famille des recrues (PD : Pocilloporidae, AUTRE : Non Pocilloporidae) ; et le rouge indique les assemblages (A : *A. cyhterea* ; AT : *A. cyhterea* et *T. maxima* ; ST : structures témoin ; P : *P. damicornis* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhterea* ; PAT : *P. damicornis*, *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; T : *T. maxima*).....137

**Figure 6.1 :** Récapitulatif des effets des assemblages sur l'environnement, les holobiontes et les organismes associés aux holobiontes. Les flèches représentent des différences significatives pour les recrues et le dimethylsulfoniopropionate (DMSP) ; ou pour la mortalité des bénitiers une augmentation plus (↑↑) ou moins (↑) forte du nombre de morts. Les flèches rouge foncés indiquent un changement significatif déterminé au cours de l'étude *in situ* et les flèches orange au cours de l'étude *ex situ*. Le symbole ∅ symbolise une absence de changement significatif. Les tirets indiquent que l'analyse n'était pas possible. La croix rouge foncée indique la mortalité des recrues. Les NA indiquent que les analyses n'ont pas été effectuées. Les différents assemblages étudiés sont PAT : *P. damicornis*, *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhterea* ; AT : *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; P : *P. damicornis* ; A : *A. cyhterea* ; et T : *T. maxima*. Les ronds bleus P, A ou T indiquent les espèces étudiées.....151

**Figure 6.2 :** Effet des assemblages coraux-bénitiers sur la santé des bénitiers.....154

## Table des tableaux

**Table 2.1** : Accurate mass measurements, molecular formulas, and putative identification of the 5 determined VIPs. <sup>a</sup> [M+H - H<sub>2</sub>O]<sup>+</sup>, <sup>b</sup> [M+Na - FA<sub>1</sub>]<sup>+</sup>, <sup>c</sup> [M+Na - FA<sub>2</sub>]<sup>+</sup>, FA= fatty acid. .... 59

**Table 3.1** : Results of ANOVA test on DMSP concentrations by assemblage, species and temperature. Df: degree of freedom; SumSq: Sum square; Mean Sq: mean square. .... 88

**Tableau 5.1** : Nombre de recrues par site et par assemblage. Les étoiles désignent les p-value significatives. S (1-3) : Site ; A : *A. cyhterea* ; AT : *A. cyhterea* et *T. maxima* ; ST (1-3): structures témoin ; P : *P. damicornis* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhterea* ; PAT : *P. damicornis*, *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; T : *T. maxima*. .... 135

**Tableau 5.2** : Taille des recrues évaluée par le nombre de polypes en fonction des sites et des assemblages. Les étoiles désignent les p-value significatives ( $p < 0.001$ ). S (1-3) : Site ; A : *A. cyhterea* ; AT : *A. cyhterea* et *T. maxima* ; ST: structures témoin ; P : *P. damicornis* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhterea* ; PAT : *P. damicornis*, *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; T : *T. maxima*. .... 135

**Tableau 5.3** : Nombre d'organismes vivants ou morts par espèce selon les assemblages après 6 mois d'expérience. Les étoiles désignent une p-value significative ( $p < 0.01$ ). PAT : *P. damicornis*, *A. cyhterea* et *T. maxima* ; AT : *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhterea* ; T : *T. maxima*; P : *P. damicornis* ; A : *A. cyhterea*. .... 138

## Liste des abréviations

**ABH** : Hypothèse du Blanchiment Adaptatif (Adaptive Bleaching Hypothesis)

**ADN** : Acide désoxyribonucléique (DNA, Desoxy-ribonucleic Acid)

**ARN** : Acide ribonucléique (RNA, Ribonucleic Acid)

**BAM** : Adhérence des bactériophages au mucus (Bacteriophage Adherence to Mucus)

**CaCO<sub>3</sub>** : Carbonate de calcium (calcium carbonate)

**CCA** : Algues corallines encroûtantes (Crustose Coralline Algae)

**CPH** : Hypothèse de la probiotique des coraux (Coral Probiotic Hypothesis)

**DDAM** : Modèle de la matière organique dissoute, des maladies, des algues et des microbes  
(Dissolved organic matter, Disease, Algae and Microbes model)

**DMSP** : Diméthylsulphoniopropionate (Dimethylsulfoniopropionate)

**DOM** : Matière Organique Dissoute (Dissolved Organic Matter)

**ITS** : Espaceur Transcrit Interne (Internal Transcribed Spacer)

**MAA** : Acides Aminés de type Mycosporine (Mycosporine-like amino acid)

**PAF** : Facteur d'activation plaquettaire (Platelet-Activating Factor)

**TNF** : Facteur de nécrose tumorale (Tumor Necrosis Factor)



# **Chapitre 1**

## **Introduction**

# Chapitre 1 : Introduction

## 1. L'écosystème corallien

### 1.1 Les récifs coralliens

Les récifs coralliens couvrent 284 000 km<sup>2</sup> des eaux tropicales et subtropicales, soit moins de 1 % de la planète (Van Oppen & Gates, 2006). Malgré leur faible représentation, les récifs coralliens sont parmi les plus productifs et diverses du monde (Hughes et al., 2003). Ces écosystèmes fournissent d'importants biens et services tels que la pêche, la protection des côtes ou encore le tourisme. Ils contribuent largement à l'économie de certains pays côtiers et représentent des bénéfices mondiaux annuels atteignant 29 milliards d'euro en 2010 (Burke et al., 2011). Ainsi, des millions de personnes dépendent de ces écosystèmes. Les récifs coralliens font actuellement partie des habitats les plus diverses par unité de surface (Knowlton et al., 2010) et sont ainsi souvent cités comme des points chauds de biodiversité. Bien que la biodiversité récifale reste, à ce jour, difficile à mesurer ; on estime qu'au moins 25 % des espèces marines peuplent les récifs coralliens (Hoegh-Guldberg et al., 2007 ; Knowlton et al., 2010), soit de 25 000 à 60 000 espèces (Payri, 2018).

Les écosystèmes coralliens, formés principalement par les coraux scléactiniaires, sont en général retrouvés dans des environnements oligotrophes (pauvres en sels nutritifs), peu profonds, salins (33 à 36 psu), à faible sédimentation et où la température moyenne de l'eau est d'environ 28 °C (D'Elia & Wiebe, 1990 ; Kleypas, Mcmanus & Menez, 1999). Cependant, ces caractéristiques peuvent varier et certains récifs coralliens « marginaux » sont retrouvés dans des milieux « extrêmes ». Une étude réalisée à Moorea, en Polynésie Française a notamment démontré la présence de coraux dans un environnement à fort taux de sédiments (Rouzé et al., 2015). La comparaison de la couverture corallienne soumise à une sédimentation importante à celle soumise à des taux de sédimentation moyen a permis de mettre en évidence que les coraux de cet environnement extrême étaient plus abondants. D'autres études ont mis en évidence la présence de récifs coralliens faisant face à des pH faibles, notamment en Papouasie Nouvelle-Guinée (Fabricius et al., 2011) ou à de forts taux de salinité excédant 45 psu, comme en Mer d'Arabie (Rezai et al., 2004).



Toutes ces caractéristiques environnementales influent sur la structuration des communautés récifales. Parmi les macro-organismes, divers groupes taxonomiques sont représentés au sein des récifs tel que : les poissons, les mollusques, les cnidaires, les crustacés, les échinodermes, les algues, les éponges et les ascidies. Ces groupes sont largement représentés dans la région Indo-Pacifique qui est considérée comme le premier point chaud de la biodiversité marine. En effet, parmi les 1400 espèces de coraux durs recensés, 500 ont été trouvées dans la région Indo-Pacifique (Payri, 2018). De plus, les coraux abritent une grande partie de la faune cryptique (e.g. mollusques, crustacés) qui constitue une part importante de la biomasse des récifs coralliens (Reaka-Kudla, 1997). Le corail *Pocillopora damicornis* loge ainsi de nombreuses espèces cryptiques et plus de 35 espèces ont été collectées chez un même individu (Austin, Austin & Sale, 1980). En plus de ces associations avec des macro-organismes, les coraux vivent en interaction avec de nombreux micro-organismes, constituant alors un holobionte, tels que des algues microscopiques de la famille des Symbiodiniaceae, des bactéries, des virus ou encore des champignons (van Oppen et al., 2017). L'association avec les coraux n'est pas nécessaire à la survie de ces organismes et ils peuvent être retrouvés libres dans la colonne d'eau (Hofer, 2016).

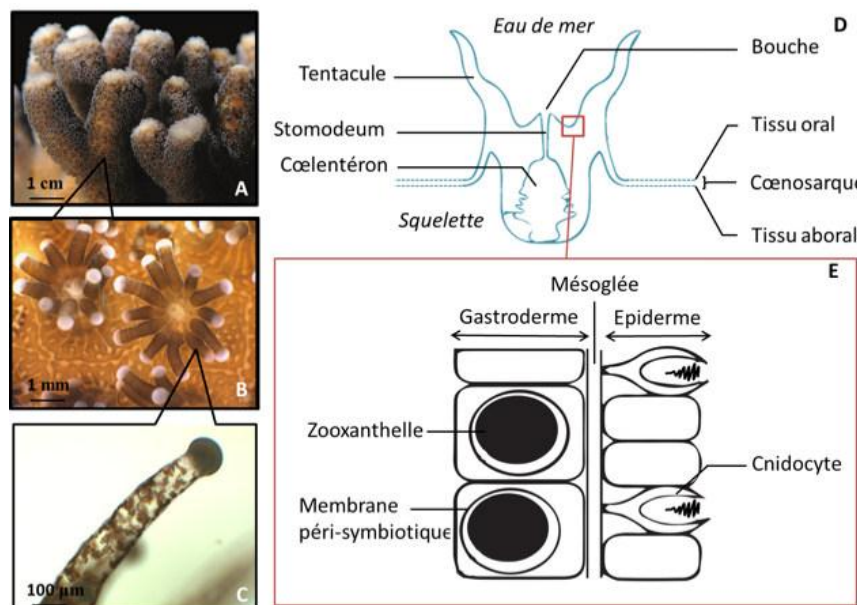
## 1.2 Morphologie des holobiontes

Les holobiontes sont des méta-organismes qui comprennent non seulement l'organisme hôte, corail ou bânitier par exemple, mais aussi des microorganismes, symbiontes ou non, tels que des bactéries, des archaea, des algues endolithiques ou encore des virus (Hester et al., 2016). Le concept d'holobionte, utilisé pour la première fois par Margulis et Chapman (1998), repose donc sur l'existence d'interactions entre l'hôte et ses organismes associés (Egan et al., 2013). Indépendamment du patrimoine génétique de l'hôte, la composition des communautés symbiotiques peut donc influencer sa physiologie et son état de santé (Kimes et al., 2010 ; Thurber et al., 2009). Certaines études réalisées sur des algues ont démontré que les symbiontes pouvaient fournir des services écologiques aux holobiontes (Egan et al., 2013 ; Lachnit, Wahl & Harder, 2010). Tout comme les Symbiodiniaceae, les bactéries et virus peuvent contribuer aux besoins énergétiques des hôtes, via la fixation d'azote ou l'approvisionnement et le recyclage des nutriments (Barott et al., 2011 ; Beman et al., 2007 ; Lesser, 2004 ; Olson et al., 2009). Néanmoins,

les symbiotes peuvent aussi être délétères pour l'hôte en contribuant négativement à sa survie et à son état de santé (Rosenberg et al., 2007).

### 1.2.1 Holobionte corail

Les coraux durs, ou scléractiniaires, font partie des holobiontes les plus étudiés car, tout comme les bédouins, ils possèdent la particularité de vivre en association symbiotique avec des algues photosynthétiques de la famille des Symbiodiniaceae (Baker, 2003 ; Fitt, Fisher & Trench, 1986 ; LaJeunesse et al., 2018). Les coraux sont composés de deux feuillets cellulaires et les Symbiodiniaceae se retrouvent au niveau du feuillet externe (ectoderme) du polype (Figure 1.1). Le feuillet interne, l'endoderme, délimite une cavité digestive (bouche) qui communique avec l'extérieur. Les tentacules qui entourent la bouche possèdent des cnidocytes. Ces dernières sont des cellules urticantes, caractéristiques de l'embranchement des cnidaires, qui permettent au corail de se défendre et de capturer des proies.



**Figure 1.1** : Association des coraux et des Symbiodiniaceae. **(A)** Colonie de corail, **(B)** polypes, **(C)** Symbiodiniaceae visibles dans tentacule, **(D)** schéma d'un polype, **(E)** schéma de l'ectoderme. D'après Courtial et al. (2018), adapté de Tambutté et al. (2007) et de Kvennefors et al. (2010).

Bien que tous les coraux soient capables de produire un squelette en carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ), ils possèdent des morphologies différentes. La forme des coraux dépend principalement

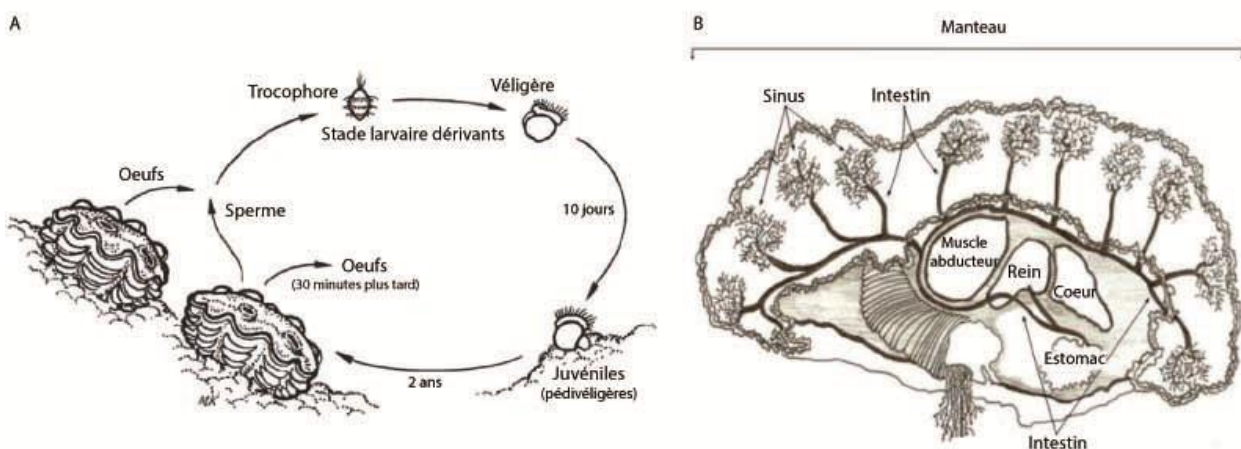
de l'espèce. On retrouve par exemple des coraux branchus (e.g. *Acropora* spp., *Pocillopora* spp.), foliacés (e.g. *Pavona* spp.), encroutants (e.g. *Montipora* spp.) ou encore massifs (e.g. *Porites* spp.).

Du fait de leur physiologie, les scléactiniaires peuvent utiliser l'autotrophie et/ou l'hétérotrophie pour se nourrir. L'hétérotrophie se caractérise par la capture de plancton (pico- à méso-) grâce aux tentacules ou au mucus recouvrant l'épiderme (Houlbrèque & Ferrier-Pagès, 2009). De plus, le mucus peut permettre l'adsorption de bactéries. Les coraux peuvent également se nourrir de matière organique en suspension (e.g. fragments d'animaux, excréments), dissoute (e.g. glucose, acides aminés) ou inorganique (*i.e* carbone inorganique exogène ; Allemand et al., 1998). Le caractère mixotrophe des coraux vient de leur association avec les Symbiodiniaceae. Ces derniers permettent l'autotrophie en fournissant à l'hôte jusqu'à 95 % de leur production en sucres, acides aminés et peptides (Muscatine & Porter, 1977).

Une des caractéristiques des coraux scléactiniaires, est la mise en place de stratégies de reproduction variées incluant la reproduction asexuée et sexuée. Les coraux peuvent se reproduire de manière asexuée par expulsion ou bourgeonnement de l'unité de base du corail, le polype (Sammarco, 1982 ; Wecker et al., 2018). Les espèces branchues, tels que les *Acropora*, peuvent utiliser la fragmentation comme moyen de dispersion (Highsmith, 1982). Enfin, certains coraux, dont des Pocilloporidae, utilisent une reproduction alternative via l'émission de larves produites de façon asexuée (Miller & Ayre, 2004). Ainsi, la reproduction asexuée entraîne la présence d'individus génétiquement identiques (clones). Deux modes de reproduction sexuée existent chez les coraux : les *broadcast-spawners* et les *brooders*. Les *broadcast-spawners* émettent les gamètes mâles et femelles dans la colonne d'eau tandis que chez les *brooders* seuls les gamètes mâles sont émis et dérivent dans la colonne d'eau afin de rencontrer un ovule à l'intérieur d'un polype (Baird, Guest & Willis, 2009). Ces deux types de fécondation entraînent la formation d'une larve, planula, qui va ensuite aller se fixer sur un substrat : c'est le recrutement. La fixation de la larve sur le substrat induit sa métamorphose en polype puis le développement d'une colonie corallienne (Harrison, 2011). Bien qu'une transmission maternelle existe, la plupart des holobiontes coralliens vont acquérir des Symbiodiniaceae de la colonne d'eau au stade larvaire ou après la métamorphose en polype (Hirose, Yamamoto & Nonaka, 2008 ; van Oppen, 2001).

## 1.2.2 Holobionte bénitier

À la différence des coraux qui peuvent acquérir des Symbiodiniaceae par transmission maternelle (transfert vertical), l'holobionte bénitier établit une symbiose avec les Symbiodiniaceae qu'une fois sa métamorphose terminée *via* le milieu environnemental (transfert horizontal). Les bénitiers sont des hermaphrodites protandres, c'est à dire que la reproduction est effectuée par émission de gamètes mâles puis après un temps de latence d'environ 30 minutes par l'émission d'ovocytes dans la colonne d'eau (Figure 1.2 ; Dubousquet, 2014 ; Kurihara et al., 2010). Les premiers stades de vie des bénitiers comprenant, la phase larvaire, le stade trochophore et le stade veliger, permettent leur dispersion. Par la suite la larve se transforme pour atteindre le stade pédivéligère qui va pouvoir se fixer sur un substrat favorable (Dumas et al., 2014). C'est au stade véligère que la larve va acquérir des Symbiodiniaceae de la colonne d'eau et les maintenir dans son estomac. Après la métamorphose avec son développement d'invaginations stomacales, les Symbiodiniaceae se retrouvent au niveau du manteau (Norton & Jones, 1992). Ainsi, l'holobionte forme une exosymbiose avec les Symbiodiniaceae qui ne sont pas intracellulaires mais extracellulaires. Bien qu'il ait longtemps été considéré que la symbiose se mettait en place après la métamorphose, une étude récente de Mies et ses collaborateurs (2016) a démontré qu'elle s'installe quatre jours après la fertilisation, au stade véligère. La survie des Symbiodiniaceae dans l'estomac des bénitiers entraîne aussi leur relargage via les fèces, en condition normale ou face à des stress thermiques, permettant aux bénitiers d'agir comme des « réservoirs » (Neo et al., 2015).



**Figure 1.2** : Biologie du bénitier. **(A)** Cycle de vie du bénitier (d'après King et al. (2012)), **(B)** Anatomie du bénitier (d'après <https://pauaproject.wordpress.com/clam-biology/>)

Les Symbiodiniaceae jouent un rôle important dans l'alimentation des bédouilles et semblent être à l'origine de leur croissance rapide comparativement aux autres bivalves. La fixation du carbone, par photosynthèse, permet de générer des composés énergétiques qui peuvent être excrétés par les Symbiodiniaceae ou ingérés par digestion des symbiotes (Dubinsky et al., 1990). Les bédouilles peuvent donc vivre exclusivement des produits de la photosynthèse si les conditions lumineuses sont optimales. L'autotrophie apporte un avantage aux bédouilles, leur permettant de mieux assimiler et conserver l'azote qui représente une ressource limitée dans les récifs coralliens (Hoegh-Guldberg, 1996 ; Muller-Parker & D'Elia, 2015). L'hétérotrophie peut aussi occuper une part importante de la nutrition des bédouilles, surtout au stade juvénile (Klumpp & Griffith, 1994). Les bédouilles peuvent filtrer de grandes quantités d'eau afin d'ingérer du plancton et sont capables de retenir la plupart des particules allant de 2 à 50  $\mu\text{m}$  (Fitt, Fisher & Trench, 1986 ; Klumpp, Bayne & Hawkins, 1992).

### **1.3 Organismes associés : Symbiodiniaceae**

Les Dinoflagellés de la famille des Symbiodiniaceae, autrefois appelés zooxanthelles, font partie des symbiotes les plus étudiés en raison de leur rôle majeur dans la production primaire des récifs coralliens (Cesar et al., 2000). Les différents genres de Symbiodiniaceae sont morphologiquement similaires, de forme coccoïde et de taille allant de 5  $\mu\text{m}$  à 15  $\mu\text{m}$  à l'état de cyste végétatif, c'est-à-dire au sein de l'hôte. Ils sont capables de vivre en association avec au moins 5 phyla différents comprenant les cnidaires, les mollusques, les plathelminthes, les porifères et les protistes (Stat, Carter & Hoegh-Guldberg, 2006). En échange des produits de la photosynthèse, les hôtes protègent les Symbiodiniaceae des prédateurs, délivrent des nutriments inorganiques (e.g. ammonium et phosphate) ou encore approvisionnent les symbiotes en carbone (Gattuso, Allemand & Frankignoulle, 1999 ; Stat, Carter & Hoegh-Guldberg, 2006).

Des études basées sur la phylogénie ribosomale, plastidique et mitochondriale ont permis de mettre en évidence différents clades de Symbiodiniaceae. Pour cela, le séquençage de différentes régions de l'ADN ribosomique nucléaire a été utilisé, tel que la petite sous-unité 18S (Rowan & Powers, 1992), la grande sous-unité 28S (Coffroth & Santos, 2005 ; Pochon et al., 2001), les séquences inter-géniques transcrites ITS1 et ITS2 (Pochon et al., 2001) ou encore le gène du

grand ARN ribosomique chloroplastique 23S (Pochon et al., 2001 ; Pochon & Gates, 2010). Ainsi, neuf clades notés de A à I (Baker, 2003 ; Pochon & Gates, 2010 ; Rowan & Powers, 1991 ; Stat, Carter & Hoeghuldberg, 2006 ; Stat, Morris & Gates, 2008), subdivisés en différents sous-clades, ont été identifiés.

Les clades A, B, C et D sont généralement retrouvés chez les scléractiniaires. Les clades A et C sont aussi souvent retrouvés chez les bénitiers. Les clades F, G et H ont été identifiés de manière beaucoup plus rare chez les coraux durs (Baker, 2003 ; LaJeunesse, 2001 ; Pochon et al., 2006 ; Schmidt-Roach et al., 2013). Le clade E n'a jusqu'à présent jamais été identifié chez les coraux et les bénitiers et se retrouve généralement à l'état libre et rarement chez les anémones du genre *Anthopleura* (LaJeunesse, 2001 ; Pochon et al., 2006). De même, le clade I a été identifié exclusivement chez les foraminifères (Pochon et al., 2006). Ainsi, les clades de Symbiodiniaceae ne se retrouvent pas chez les mêmes espèces et sont décrits comme « spécialistes » lorsqu'ils sont restreints à un taxon particulier d'hôtes ou comme « généralistes » lorsqu'ils s'associent à plusieurs hôtes. Ces termes sont aussi utilisés pour les hôtes qui peuvent arborer un seul ou plusieurs clades de Symbiodiniaceae (Fabina et al., 2012 ; Rowan, 1998 ; Rowan & Knowlton, 1995).

Les hôtes ont ainsi la capacité de sélectionner spécifiquement des Symbiodiniaceae. Lorsque l'acquisition des symbiontes se fait par transfert horizontal, les coraux seraient d'abord généralistes *via* l'utilisation d'attractifs chimio-sensoriels puis deviendraient sélectifs en déterminant des clades spécifiques pour une symbiose à long terme (Bay et al., 2011 ; Biquand et al., 2017 ; Dunn & Weis, 2009 ; Little, Oppen & Willis, 2004). Cette sélection spécifique pourrait favoriser la survie de certains hôtes qui acquièrent des Symbiodiniaceae adaptés aux conditions environnementales du milieu (Blackall, Wilson & Van Oppen, 2015 ; Cumbo, Baird & van Oppen, 2013 ; Torda et al., 2017). Néanmoins, les populations de Symbiodiniaceae peuvent changer au cours de la vie du corail, notamment en réponse à des changements environnementaux (Baker, 2001 ; Cunning, Vaughan, et al., 2015 ; Thornhill et al., 2010). L'hypothèse du Blanchissement Adaptatif (Adaptative Bleaching Hypothesis, ABH) émise dans les années 1990, stipule que le blanchissement serait une opportunité pour les coraux d'acquérir de nouveaux clades plus tolérants au stress perçu (Buddemeier & Fautin, 1993). En effet, l'association corail-Symbiodiniaceae est flexible et les coraux peuvent acquérir de nouveaux clades du milieu environnant (switching ; Buddemeier & Fautin, 1993) ou voir leurs

communautés de Symbiodiniaceae changer par augmentation ou diminution de certains types de clades (shuffling ; Fautin & Buddemeier, 2004).

Les différents clades de Symbiodiniaceae possèdent des physiologies distinctes entraînant des tolérances différentes aux conditions environnementales (Baker, 2003). Le clade A, souvent retrouvé à l'état libre, possède une croissance rapide et semble être opportuniste car il est retrouvé chez les coraux qui se rétablissent des épisodes de blanchissement (LaJeunesse, 2005 ; Toller, Rowan & Knowlton, 2001). Présent à des faibles profondeurs, il contribue à la photo-protection de l'hôte grâce à ses propriétés de protection contre les radiations solaires (Banaszak, Lajeunesse & Trench, 2000 ; Reynolds et al., 2008). Autre exemple, à température normale (~28 °C), le clade C confère un avantage aux coraux grâce à une bonne acquisition de l'azote, cependant lorsque la température augmente (~30 °C), le clade D deviendrait plus avantageux (Baker, 2003). Les clades peuvent aussi avoir des effets négatifs sur leurs hôtes ; il semblerait par exemple que certains coraux soient plus sensibles aux maladies lorsqu'ils arborent le clade A plutôt que le clade C ou D (Rouzé et al., 2016 ; Stat, Morris & Gates, 2008), ou encore que les larves de coraux et de bédouilles soient plus sensibles aux blanchissements lorsqu'ils arborent les clades B, D, E et F plutôt que les clades A et C (Mies et al., 2017).

#### **1.4 Organismes associés : bactéries**

Les procaryotes sont très probablement la composante la plus variée des communautés présentes au sein des récifs coralliens. Ils peuvent être retrouvés dans la colonne d'eau ou en association avec un hôte. Les bactéries font partie des organismes les plus abondants chez les holobiontes (Thurber et al., 2009). On les retrouve, par exemple, dans le mucus, les tissus ou encore les organes digestifs (Rohwer et al., 2002 ; Rosenberg et al., 2007). Les communautés bactériennes associées aux organismes sont différentes de celles retrouvées dans la colonne d'eau tant au niveau de leur diversité que de leur abondance suggérant une association spécifique (Rohwer et al., 2001 ; Röthig et al., 2017). Bien que des études se soient focalisées sur ces communautés chez les coraux ou les bivalves, elles restent peu étudiées chez les cnidaires, voire pas encore caractérisées chez les bédouilles.

D'après Kooperman et ses collaborateurs (2007), les communautés bactériennes présentes dans le mucus des coraux varient en fonction des conditions environnementales. De plus, certaines

études ont mis en évidence une différence des communautés inter-espèces (Rohwer et al., 2002 ; Ziegler et al., 2016) et intra-espèces entre les différentes structures des coraux (e.g. mucus, tissu, squelette ; Bourne & Munn, 2005 ; Rosenberg et al., 2007). La composition bactérienne peut aussi être affectée par la présence de virus qui pourrait favoriser le déclin de certains groupes bactériens (Bettarel et al., 2015). De plus, Littman et ses collaborateurs (2010), ont démontré que les communautés bactériennes étaient modifiées en fonction des clades de Symbiodiniaceae présents.

Tout comme les Symbiodiniaceae, les bactéries peuvent avoir des effets positifs ou délétères sur la survie et la santé de leurs hôtes. Chez les coraux, elles peuvent protéger leur hôte de l'attaque de pathogènes. En effet, les bactéries peuvent entrer en compétition, pour l'espace ou la nourriture, via la sécrétion de molécules telles que des substances antibiotiques (Ritchie, 2006 ; Rosenberg et al., 2007). Elles ont aussi la capacité de fournir leur hôte en azote et phosphore, composés non fournis par les Symbiodiniaceae (Ferrer & Szmant, 1988 ; Kooperman et al., 2007 ; Sorokin, 1973 ; Wilbur, 1983) ainsi que de dégrader des composés tels que la chitine (Ducklow & Mitchell, 1979). L'apport d'azote par ces communautés pourrait être crucial pour la survie des hôtes, particulièrement après la rupture de la symbiose entre les hôtes et les Symbiodiniaceae (Schlichter, Zscharnack & Krisch, 1995 ; Wilbur, 1983). Les bactéries jouent également un rôle important dans le métabolisme de leur hôte, notamment via le cycle du soufre (Raina et al., 2009 ; Wegley et al., 2007). Certaines alphaprotéobactéries recyclent les composés sulfurés produits par les Symbiodiniaceae, engendrant la création de produits qui peuvent être antioxydants ou antibactériens (Raina et al., 2010). De plus, les coraux ont la capacité de s'adapter rapidement aux changements environnementaux *via* la modification de leurs populations bactériennes. Ainsi, l'hypothèse de la probiotique des coraux (Coral Probiotic Hypothesis, CPH) postule que le changement de communautés bactériennes au sein des hôtes leur permettrait de s'adapter plus rapidement aux changements environnementaux que par mutation et sélection (Reshef et al., 2006). Cette association spécifique bactérie-corail apportant tous ces bénéfices, semble se mettre en place après le développement de la planula. L'acquisition des bactéries par transmission horizontale indique un probable rôle de ces dernières dans les premiers stades de vie des coraux et pourrait notamment avoir des effets positifs sur l'installation larvaire en fournissant des signaux d'installation lors de la rencontre de substrats appropriés (Aprill et al., 2009 ; Webster et al., 2004). Cependant, certaines bactéries opportunistes peuvent engendrer le développement de maladie voire la mort de leur hôte. C'est le cas des Vibrionaceae qui peuvent se développer à la suite de

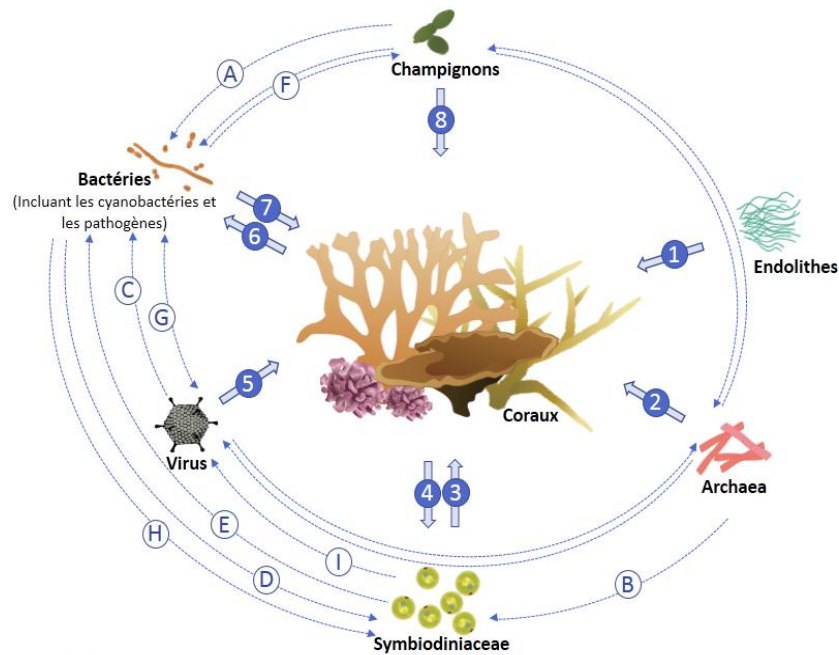


changements environnementaux tels que le réchauffement de la température de l'eau ou la pollution (Paillard et al., 2014 ; Rosenberg & Ben-Haim, 2002 ; Ziegler et al., 2016).

## **2. Interaction entre espèces**

### **2.1 Interactions intra-holobiontes**

Dans les récifs coralliens, un nombre important d'interactions entre symbiontes et hôtes interviennent. Ces interactions sont généralement mutualistes, apportant des bénéfices aussi bien à l'hôte qu'aux symbiontes, tels que l'échange de métabolites ayant des fonctions énergétiques, de nutrition, ou encore de protection, entre coraux et Symbiodiniaceae (Figure 1.3 ; Gordon & Leggat, 2010). Les Symbiodiniaceae fournissent 60 à 80 % du carbone fixé par photosynthèse aux coraux sous forme de glucose qui va être utilisé pour la reproduction, la respiration et la bio-calcification (Davy, Allemand & Weis, 2012 ; Tremblay et al., 2012). D'autres interactions sont moins connues et ne semblent bénéficier qu'à l'holobionte. Les champignons associés aux coraux ont un rôle de protection contre les rayons ultra-violetts via la production de métabolites nommés acides aminés mycosporine-like (MAAs ; Dunlap & Shick, 1998). La présence d'algues endolithiques dans le squelette des coraux pourrait permettre de maintenir en vie leur hôte blanchi grâce à la translocation de nutriments produits par photosynthèse (Fine & Loya, 2002). Concernant les bédouilles, à l'exception de l'association avec les Symbiodiniaceae, peu d'exemples d'interaction entre hôte et symbiontes ont été étudiés. Parmi ceux-ci, des études ont démontré que des biofilms bactériens sur les surfaces corallines peuvent produire ou dégrader des signaux induisant la colonisation du substrat par des larves de bédouilles (Johnson, Muir & Reysenbach, 1991 ; Neo et al., 2009). A ces interactions hôte-symbiontes, s'ajoute celles entre symbiontes au sein des hôtes. Tout comme les associations hôtes-symbiontes et l'environnement, elles vont influencer sur la physiologie et l'état de santé des organismes (Figure 1.3)



Exemples possibles de relation symbiontes - symbiontes

A	B	C	D	E	F	G	H	I
Disponibilité en C et S via le catabolisme du DMSP	Disponibilité en azote	Transfère de gènes bénéfiques	Disponibilité en azote	Source de C - S par production de DMSP et recyclage de S	Echange de sels nutritifs	Lyse des bactéries ou mort des virus	Blocage de la photosynthèse via des toxines	Contamination des Symbiodiniaceae

Exemples possibles de relation hôtes - symbiontes

- |   |   |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>1 Transfert de photosynthétats.</li> <li>2 Cycle de l'azote.</li> <li>3 Principal fournisseur de Carbone (permet la calcification). Production de DMSP (potentiel rôle d'antioxydant et de contrôle des bactéries). Protection contre les UV. Echange de métabolites. Production de nutriments inorganiques.</li> <li>4 Abrite et protège. Rôle dans le cycle des nutriments.</li> <li>5 Transfert de gènes. Rôle de protection par contrôle des bactéries pathogènes, des virus et des blooms algales. Engendre des maladies, des nécroses et du blanchissement.</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>6 Rôle dans le cycle des nutriments (e.g. S, C, N, P). Contrôle des pathogènes. Influence l'installation et la métamorphose des larves de coraux. Influence les communautés bactériennes.</li> <li>7 Abris, protection, source de nutriments</li> <li>8 Activité antimicrobienne. Rôle potentiel dans la biominéralisation. Protection contre les UV. Protection des cellules squelettogéniques. Potentiellement impliqué dans le cycle du carbone et de l'azote.</li> </ul> |
|---|---|

**Figure 1.3** : Exemples d'interactions et rôles possibles entre les coraux et leurs symbiontes, et entre les symbiontes. Adapté et modifié d'après Peixoto *et al.* (2017).

La symbiose entre Symbiodiniaceae et d'autres organismes associés, nécessaire à la survie de l'hôte, peut être maintenue grâce à des bactéries du groupe des Roseobactériales participant au cycle du soufre et augmentant la croissance des algues symbiotiques (Ritchie, 2011). Les Symbiodiniaceae participent à la production de composés diméthyle sulfatés, permettant la formation de diméthylsulfoniopropionate (DMSP), qui sont impliqués dans le système antioxydant des coraux et qui peuvent être utilisés par des bactéries associées aux coraux (Deschaseaux et al.,

2014 ; Raina et al., 2009, 2010). Les interactions bactéries-Symbiodiniaceae peuvent donc participer au « fitness » des holobiontes. Cependant, d'après une étude réalisée en 1997 (Kushmaro & Kushmaro, 1997), la rupture de la symbiose avec les Symbiodiniaceae pourrait aussi être engendrée par la présence d'une bactérie *Vibrio shiloi*, capable d'infecter l'hôte. La bactérie contamine des organismes possédant des Symbiodiniaceae par adhésion à des récepteurs  $\beta$ -galactosides lorsque la température de l'eau augmente de 17 °C à 26 °C. Par la suite, *V. shiloi* se multiplie et libère des toxines qui vont bloquer la photosynthèse (Figure 1.3) et conduire à la rupture de la symbiose entre l'hôte et les Symbiodiniaceae (Ben-Haim et al., 1999 ; Rosenberg & Falkovitz, 2004). Toutefois, cette interaction entre bactérie pathogène et Symbiodiniaceae peut être contrecarrée par la présence d'autres bactéries (Figure 1.3). En effet, les bactéries du genre *Roseabacter* et *Pseudoalteromonas* entraînent la mort partielle ou totale des *V. Shiloi* (Nissimov, Rosenberg & Munn, 2009). Les bactéries du genre *Vibrio* font partie des taxons de bactéries dominants chez les coraux quel que soit leur état de santé. Cependant les stress, tels que l'augmentation de la température, favorisent le développement des *Vibrio* spp. qui se retrouvent en proportion plus importante chez les coraux blanchis. Ainsi les changements environnementaux influencent les interactions microbiennes au sein des coraux pouvant alors bouleverser les communautés de bactéries « protectrices » et entraîner une dégradation de l'état de santé des coraux (Mouchka, Hewson & Harvell, 2010). Les *Vibrio* spp. sont aussi communément retrouvés en association avec des bivalves, prenant part à leur microflore. À la différence des coraux qui possèdent une immunité naturelle mais pas de système immunitaire adaptatif (Rosenberg et al., 2007), la prolifération de *Vibrio* spp. ou bactéries pathogènes est enrayée par le système immunitaire des bivalves *via* la phagocytose ou des réactions cytotoxiques *via* la production de composés par les hémocytes (Pruzzo, Gallo & Canesi, 2005).

Ainsi, diverses études ont émis l'hypothèse du rôle des bactéries dans la résistance des coraux aux maladies par compétition pour l'espace, compétition pour les nutriments ou par production d'antibiotiques (Reshef et al., 2006 ; Rosenberg et al., 2004). Malgré l'importance que ces interactions bactérie-bactérie pourraient avoir chez les invertébrés, ces processus « barrières » restent peu étudiés chez les coraux et binitiers bien qu'ils soient déjà reconnus comme importants chez les vertébrés (Mouchka, Hewson & Harvell, 2010).

En plus des bactéries, les virus jouent un rôle important dans les interactions hôte-symbionte et symbionte-symbionte. Néanmoins, ils font partie des symbiontes les moins étudiés chez les holobiontes coraux et, comme les bactéries, restent quasiment non-étudiés chez les holobiontes

bénitiers. En comparaison avec l'eau environnante, ils sont très abondants dans le mucus des coraux (Nguyen-Kim et al., 2014) et sont 5 à 25 fois plus nombreux que les bactéries (Bergh et al., 1989 ; Sweet & Bythell, 2017). Certains virus, tels que les phages, sont bénéfiques et peuvent contrôler la prolifération de pathogènes devenant des membres actifs du système immunitaire de l'holobionte (Figure 1.3 ; Barr et al., 2013 ; Barr, Youle & Rohwer, 2013 ; Efrony, Atad & Rosenberg, 2009). Ils peuvent aussi être délétères et entraîner la nécrose, le blanchissement ou la mort de l'holobionte. Environ 20 % des familles de virus détectées chez les coraux sont connues pour infecter des invertébrés ou pour être des virus spécifiques des invertébrés. Par exemple, la famille de virus Malacoherpesviridae peut infecter aussi bien les huîtres que les coraux (Van Oppen, Leong & Gates, 2009 ; Sweet & Bythell, 2017 ; Wood-Charlson et al., 2015). Lorsque les conditions environnementales changent, les virus vont lyser une partie des bactéries qui ne pourront plus subvenir à la nutrition et à la protection des coraux. Les stress environnementaux peuvent aussi activer des virus latents, phytophages, présent chez les Symbiodiniaceae entraînant de fortes mortalités chez ces symbiotes (Bettarel et al., 2015). Ces observations ont donné lieu à la création du modèle d'adhérence des bactériophages au mucus (BAM, Bacteriophage-adhering-to-mucus) suggérant une coévolution, des phages et du mucus, bénéfique pour les hôtes et pour les phages (Sweet & Bythell, 2017).

## 2.2 Interaction Inter-holobiontes

La diversité des organismes qui interagissent au sein des récifs coralliens est considérable et souvent peu décrite (Peixoto et al., 2017). Des algues, des éponges ou encore des poissons se retrouvent associés aux tissus d'organismes, tels que les coraux ou les bénitiers, ou en interaction avec ces derniers (Ainsworth, Thurber & Gates, 2010 ; Bourne et al., 2009 ; Rosenberg et al., 2007 ; Vicentuan-Cabaitan et al., 2013). Ces associations inter-holobiontes peuvent prendre différentes formes.

La compétition explique la majorité des interactions entre organismes sessiles (Turon et al., 1996). Les holobiontes vont entrer en compétition pour l'espace, la lumière ou encore la nourriture (Connell, 1976 ; Connell et al., 2004 ; Dayton, 1971 ; Turon et al., 1996). Deux comportements conduisant à la compétition sont à distinguer : les comportements d'agression (direct) tel que la croissance d'organismes sur d'autres organismes (surcroissance) ou l'attaque par contact ; et les

comportements de défense (indirect) pour la conservation de l'espace ou se protéger de l'invasion de larves (Chornesky, 1983 ; Connell et al., 2004 ; Lang, 1973). Les holobiontes coraux possèdent des filaments mésentériques pouvant dissoudre les tissus d'autres organismes via une digestion extracoelentérique (Lang, 1973). Les coraux peuvent attaquer plusieurs organismes en même temps et entraîner leur mort lorsqu'ils sont à plus ou moins 3 centimètres (Lang, 1973 ; Lang & Chornesky, 1990). Ce comportement confère donc un avantage aux coraux à faible croissance face à la surcroissance d'autres organismes (Wellington, 1980). En plus des filaments mésentériques, certains coraux peuvent développer des tentacules « sweeper » qui diffèrent des autres tentacules par leur taille et leur morphologie (Den Hartog, 1977 ; Wellington, 1980). Le développement de ces tentacules se fait généralement à la périphérie des coraux dans un but d'attaque ou de défense. Les « sweeper » tentacules peuvent donc servir à se défendre face à une agression *via* des filaments mésentériques ou pour se protéger de la surcroissance d'autres organismes (Chornesky, 1983 ; Den Hartog, 1977 ; Richardson, Dustan & Lang, 1979). Suite à une attaque, l'espèce *P. damicornis* va régénérer une partie de ses tissus et changer de comportement pour devenir agressive grâce au développement de tentacules « sweeper » (Wellington, 1980). Cependant, une étude récente a mis en évidence l'attaque de *P. damicornis* par des filaments mésentériques d'*Acropora yongei* sans aucune défense visible de la part des *Pocillopora* (Galtier d'Auriac et al., 2018) démontrant ainsi que les interactions peuvent varier pour une même espèce. Galtier d'Auriac et ses collaborateurs (Galtier d'Auriac et al., 2018) ont démontré qu'une même espèce, *Acropora cervicornis*, attaque ou non les coraux à proximité selon les espèces. De plus, ces attaques par filament mésentérique entraîneraient une stimulation de la production de facteur d'activation plaquettaire (PAF) et donc une inflammation importante des tissus chez le corail attaqué (Galtier d'Auriac et al., 2018). Ces exemples sont basés sur des interactions inter-holobiontes interspécifiques. Des interactions intraspécifiques sont aussi possibles. Bien que longtemps considérées comme exclusivement positives, par fusion entre coraux, ces interactions peuvent aussi impacter négativement la croissance et le taux de reproduction des organismes si les génotypes sont différents (Raymundo & Maypa, 2004 ; Rinkevich & Loya, 1985). D'autres exemples d'interactions interspécifiques par contact faisant intervenir des holobiontes coraux ou bânitier et d'autres holobiontes ont aussi été décrits. Les coraux sont connus pour interagir avec des éponges. Aerts et Soest (1997) ont comptabilisé plus de 3800 interactions éponge-corail sur 15 transects réalisés aux Caraïbes. Différents types d'interactions ont été déterminées. Des interactions positives, voire mutualistes, sont possibles lorsque par exemple les coraux fournissent un support aux éponges qui vont alors

protéger le corail de l'attaque d'autres éponges perforantes (Goreau & Hartmann, 1966). Les éponges peuvent aussi entrer en compétition pour l'espace par croissance sur les coraux ou dessous les coraux, telles que les éponges du groupe des Clionidae vivant en association avec des Symbiodiniaceae (Fang et al., 2017 ; Liao et al., 2007 ; Schönberg & Loh, 2005).

Un grand nombre d'interactions ne fait pas intervenir de contacts directs entre les holobiontes. Ainsi, beaucoup d'organismes sessiles utilisent l'allélopathie regroupant des interactions biochimiques directes ou indirectes, positives ou négatives. Les éponges du genre *Siphonodictyon* utilisent l'allélopathie *via* la production de « siphonodictine » qui entraîne la diminution de la croissance et de la respiration chez les polypes coralliens. Ces interactions peuvent aller jusqu'à entraîner la mort du corail (Singh & Thakur, 2016 ; Sullivan, Faulkner & Webb, 1983). Les coraux et les algues peuvent aussi entrer en compétition et s'inhiber entre eux par allélopathie (McCook, Jompa & Diaz-Pulido, 2001 ; Tanner, 1995). Les juvéniles de coraux sont particulièrement vulnérables à l'attaque de macro-algues (Soong & Chen, 2003 ; Villanueva, Yap & Montaño, 2005). Bien que de nombreux métabolites impliqués dans ces interactions restent inconnus, certaines études se sont attachées à déterminer ces molécules par l'utilisation de techniques de chimie variées (e.g. chromatographie en phase liquide couplée à un spectromètre de masse (LCMS), résonance magnétique nucléaire (RMN)). Andras et ses collaborateurs (2013) ont notamment démontré, par imagerie en spectrométrie de masse, que l'algue rouge *Phaeocolocarpus neurymenioides* entraîne le blanchissement du corail *Porites rus* *via* la production de neurymenolide A, un métabolite antibactérien.

Cependant, les coraux peuvent inhiber la croissance des algues, pousser par-dessus les algues et/ou entraîner leur mort (McCook, Jompa & Diaz-Pulido, 2001). Les coraux sont aussi sensibles aux métabolites relargués par les coraux mous. Les coraux mous produisent de nombreux métabolites secondaires, tels que des terpenoïdes, ayant des rôles de défense contre la prédation, de compétition pour l'espace ou encore d'antifouling (La barre, Coll & Sammarco, 1986 ; Chen et al., 2015 ; Coll et al., 1987 ; Dai, 1990). Ces agents allélopathiques peuvent donc agir sur la biologie des larves de coraux et inhiber leur recrutement, et vont donc potentiellement modifier les comportements des larves ainsi que la distribution des espèces au sein du récif (Da-Anoy et al., 2017 ; Maida, Sammarco & Coll, 1995a). Les larves de bénitiers possèdent un système chémosensoriel bien développé leur permettant de détecter les composés allélopathiques émis par les coraux pour ne pas s'y fixer (Calumpong et al., 2003 ; Dumas et al., 2014). Calumpong et ses collaborateurs (2003)

ont montré que les taux de survie des juvéniles *Tridacna squamosa* sur des coraux vivants, du genre *Porites*, étaient diminués ainsi que la croissance des juvéniles survivants. Les larves sont préférentiellement attirées par les composés chimiques émis par les algues corallines encroûtantes (CCA) ou par leurs congénères juvéniles (Dumas et al., 2014 ; Lang & Chornesky, 1990 ; Neo et al., 2009 ; Soo & Todd, 2014).

Toutes ces interactions entre holobiontes sont très variables et dépendent de nombreux facteurs tels que les espèces mises en jeu ou les conditions environnementales. Pour les organismes ayant des croissances et des besoins en énergie similaires, la production de métabolites de défense va alors déterminer leur succès au sein des récifs (Galtier d'Auriac et al., 2018). Toutes ces interactions vont donc influencer la structure et la composition des assemblages des organismes récifaux.

### **2.3 Réponses aux variations environnementales**

Les écosystèmes sont de plus en plus menacés par des stress naturels et anthropiques (Halpern et al., 2008). Les stress, ou perturbations, peuvent être définis comme tout changement environnemental réduisant la survie d'un organisme et pouvant entraîner une réponse physiologique ou génétique (Bijlsma & Loeschcke, 1997). Parmi les nombreux stress auxquels doivent faire face les écosystèmes coralliens, on peut citer la pollution, l'élévation de la température de l'eau qui devrait atteindre + 2°C d'ici le prochain siècle (Stocker et al., 2013) et l'acidification des océans (De'ath, Lough & Fabricius, 2009 ; Knowlton et al., 2010). Ces différents stress vont impacter les interactions entre les organismes, aussi bien intra-holobionte qu'inter-holobiontes.

Une conséquence très connue des stress environnementaux sur les holobiontes est le blanchissement. Ce phénomène provient de la dégradation des pigments photosynthétiques contenus dans les chloroplastes des Symbiodiniaceae et/ou la perte des Symbiodiniaceae (Bieri et al., 2016 ; Weis, 2008). Le blanchissement impacte les holobiontes symbiotiques et leurs interactions en réduisant leurs compétences de compétitivité ou *via* la mort des organismes si la rupture de l'association corail-Symbiodiniaceae persiste (McClanahan et al., 2018). Les organismes blanchis, tels que les coraux et les bénitiers, peuvent acquérir de nouveaux clades et/ou sous clades

de Symbiodiniaceae par « switching » afin d'augmenter leur résistance au stress exposé, suggérant une sélection positive des Symbiodiniaceae par l'hôte (Belda-Baillie et al., 1999 ; Buddemeier & Fautin, 1993 ; Cunning, Silverstein & Baker, 2015). Cependant, des investigations plus poussées de cette hypothèse (HAB) et le développement de techniques de biologie moléculaires plus exhaustives ont permis de mettre en évidence que le changement au sein des communautés de Symbiodiniaceae ne se fait pas toujours par « switching » mais peut aussi s'opérer par un changement de l'abondance des Symbiodiniaceae préexistants chez l'hôte par « shuffling », correspondant à une compétition intra-holobionte. Ainsi, le « shuffling » d'un clade présent à l'état de trace peut se faire au détriment d'un clade dominant mais sensible au stress perçu (Buddemeier & Fautin, 1993 ; Lajeunesse et al., 2010 ; Mieog et al., 2007). Les changements d'abondance de Symbiodiniaceae par « shuffling » peuvent engendrer une adaptation bénéfique pour les organismes et devenir stables même après un retour à des conditions habituelles (Cunning, Silverstein & Baker, 2015 ; Quigley, Willis & Kenkel, 2018).

Bien que de nombreuses études se soient focalisées sur le rôle des Symbiodiniaceae dans la résistance des coraux face aux changements environnementaux, les procaryotes et virus jouent un rôle important dans la réponse des hôtes aux variations environnementales (Morrow, Muller & Lesser, 2018). Le stress thermique entraîne, chez les coraux, une modification de la composition des communautés bactériennes interagissant avec les Symbiodiniaceae pouvant mener au blanchissement (Bourne et al., 2008). Les bactéries *Vibrio Shilonii* et *coralliilyticus* peuvent être, par exemple, responsables du blanchissement de coraux (Ben-Haim et al., 2003 ; Rosenberg & Falkovitz, 2004). Les coraux sont capables de s'adapter rapidement aux conditions environnementales en modifiant leur population de bactéries (Al-Dahash & Mahmoud, 2013 ; Rosenberg & Falkovitz, 2004), c'est l'hypothèse de la probiotique des coraux (CPH). En effet, de nombreuses études ont montré que les communautés de bactéries chez les coraux varient qualitativement et quantitativement lorsqu'ils sont soumis à un stress ou non (McDevitt-Irwin et al., 2017 ; Reshef et al., 2006 ; Rosenberg et al., 2007). Ces changements de communautés pourraient favoriser les bactéries produisant des nutriments ou des produits de la photosynthèse (e.g. cyanobactéries) pour pallier à la perte des Symbiodiniaceae suite à un stress (Fine & Loya, 2002 ; Reshef et al., 2006). Des changements quantitatifs et qualitatifs dans les communautés bactériennes liés à un stress se retrouvent aussi chez d'autres holobiontes tels que des mollusques ou des algues (Lokmer & Mathias Wegner, 2015 ; Stratil et al., 2013).



Les bactéries sont aussi impliquées dans les interactions inter-holobiontes, notamment entre coraux et algues. En effet, le DDAM modèle (Dissolved organic matter, Disease, Algae and Microbes) suggère que les algues (i) libèrent de la matière organique dissoute (DOM), qui (ii) facilite la croissance et la respiration des bactéries et pathogènes, benthiques ou présents dans la colonne d'eau, entraînant (iii) une mortalité des coraux (Barott & Rohwer, 2012). Plus la mortalité des coraux est grande, plus l'espace pour les algues augmente permettant à la dynamique du modèle DDAM de continuer (Barott & Rohwer, 2012). Ainsi les organismes composant le DDAM créent une boucle de rétroaction positive sur les récifs impactés par les stress anthropiques.

Les interactions entre éponges et coraux sont aussi sous l'influence des conditions environnementales. L'eutrophisation et l'augmentation des températures de l'eau sont en général délétères pour les coraux, ce qui va alors favoriser l'invasion des éponges qui y sont moins sensibles (Fang et al., 2017 ; Holmes, 2000 ; Schönberg & Ortiz, 2008). En effet, l'augmentation des températures est considérée comme un des facteurs les plus importants jouant sur la régulation de la production des composés allélochimiques (Erhard & Gross, 2005 ; Singh & Thakur, 2016). Ainsi, la production de composés toxiques produits par les éponges varie en fonction de la température avec une augmentation des activités biochimiques durant l'été qui permettrait l'inhibition du biofouling à la surface des éponges (Duckworth & Battershill, 2003 ; Page et al., 2005).

L'augmentation de la température peut aussi impacter le comportement des organismes et donc modifier leurs interactions. C'est le cas de certains exosymbiontes associés aux coraux, tels que les crabes et les crevettes, qui interagissent de manière positive (coopération) en condition normale, et négative (agression) lors d'un stress thermique. Lorsque le corail *P. damicornis* est soumis à un stress thermique, il entraîne la mort des crabes (*Trapezia cymodoce*) et crevettes (*Alpheus lottini*) qui entrent en compétition, possiblement pour l'accès aux ressources (Stella et al., 2014).

Ces études soulignent donc les retombées que peuvent avoir les variations environnementales, *via* les interactions intra et inter-holobiontes, sur les assemblages récifaux. Ainsi, il est important d'évaluer les réponses aux stress environnementaux des holobiontes en tenant compte aussi bien des interactions intra qu'inter-holobiontes.

### 3. Assemblages et environnement

#### 3.1 Assemblages

Les interactions intra et inter-holobionte jouent un rôle important sur la diversité des récifs coralliens en structurant les populations mais de nombreux autres facteurs interviennent. Les récifs coralliens sont connus pour leur grande biodiversité, particulièrement au niveau des lagons où les communautés benthiques sont très diverses (Kenyon et al., 2006). Entre les lagons, et principalement entre les différents habitats des atolls, les assemblages d'invertébrés benthiques sont très variables (Pante et al., 2006). Ces variations ont été largement étudiées dans le Pacifique, notamment en Polynésie française. Les assemblages de coraux de Polynésie française se distinguent par leur grande hétérogénéité spatiale entre les lagons (Adjeroud, 1997). S'ajoutent à ces variations inter-lagonaires, des variations intra-lagonaires (Adjeroud et al., 2000). Ainsi les assemblages sont influencés par des facteurs locaux et régionaux déterminant leur diversité, leur structure et la richesse corallienne (Bellwood & Hughes, 2001 ; Cornell & Karlson, 1996 ; Karlson, Cornell & Hughes, 2004). Ces facteurs s'ajoutent aux interactions entre espèces qui peuvent entraîner la présence ou l'absence de certaines espèces et donc modifier les assemblages. Les assemblages d'invertébrés benthiques sont majoritairement représentés par des coraux durs ; les mollusques et les échinodermes étant moins abondants et divers. Néanmoins, beaucoup d'espèces cryptiques ne sont en général pas prises en compte dans les analyses de biodiversité, pouvant expliquer la faible représentation de certains groupes tels que les mollusques (Adjeroud, 1997 ; Adjeroud et al., 2000). Les études de biodiversité utilisant l'ADN environnemental, permettant de détecter les espèces cryptiques marines, sont en plein essor et pourraient améliorer la compréhension de la structure des populations mais sont limitées par la dégradation de l'ADN du fait des UV ou des activités microbiennes et ne permettent que la détection d'espèces récemment présentes (Rees et al., 2014). En plus de ces études, les études des réseaux chimiques qui s'intéressent aux interactions chimiques entre organismes sont nécessaires pour comprendre la structure des communautés car elles apportent des informations sur l'écologie et la biologie des espèces ainsi que sur leurs fonctions au sein des communautés (Avila, Taboada & Núñez-Pons, 2007 ; Figuerola et al., 2011). Par exemple, Figuerola et ses collaborateurs (2011), à l'aide d'analyses taxonomiques, chimiques et cytologiques, ont permis de proposer un modèle d'interactions chimiques entre des groupes d'espèces benthiques des écosystèmes marins d'antarctique. Cependant, du fait de la complexité de ces

études, peu de réseaux chimiques ont déjà été analysés et les études sur les récifs coralliens sont souvent *ex-situ* du fait de la complexité des études *in situ*, et ne prennent généralement pas en compte la diversité des espèces retrouvées. Ce manque d'études se reflète dans l'application des résultats obtenus afin de préserver les récifs coralliens.

Une application majeure des études réalisées sur les organismes récifaux est la restauration. La restauration des récifs coralliens vise à faire revenir les récifs endommagés à leur état initial avant détérioration, en termes de diversité, structure et fonctions. Cette technique est très utilisée et expérimentée à travers le monde (Cesar et al., 2000), néanmoins aucune étude, à ma connaissance, met en exergue l'utilisation de la permaculture à des fins de restauration récifale. Le concept de permaculture a été développé dans les années 70 par Mollison et Holmgren, comme un système intégré et évolutif d'espèces végétales et animales pérennes, ou auto-entretenu, utiles à l'homme (Orion & Holmgren, 2015). Le but de la permaculture est de concevoir des systèmes de culture basés sur les schémas et les relations trouvés dans la nature pour répondre aux besoins de l'homme. Ainsi, la permaculture, en prenant en compte la diversité et les interactions entre espèces, peut être utilisée comme méthode de restauration des écosystèmes marins afin de lutter contre leur dégradation (Jones, 2012).

### **3.2 Variation de la biodiversité et conséquences**

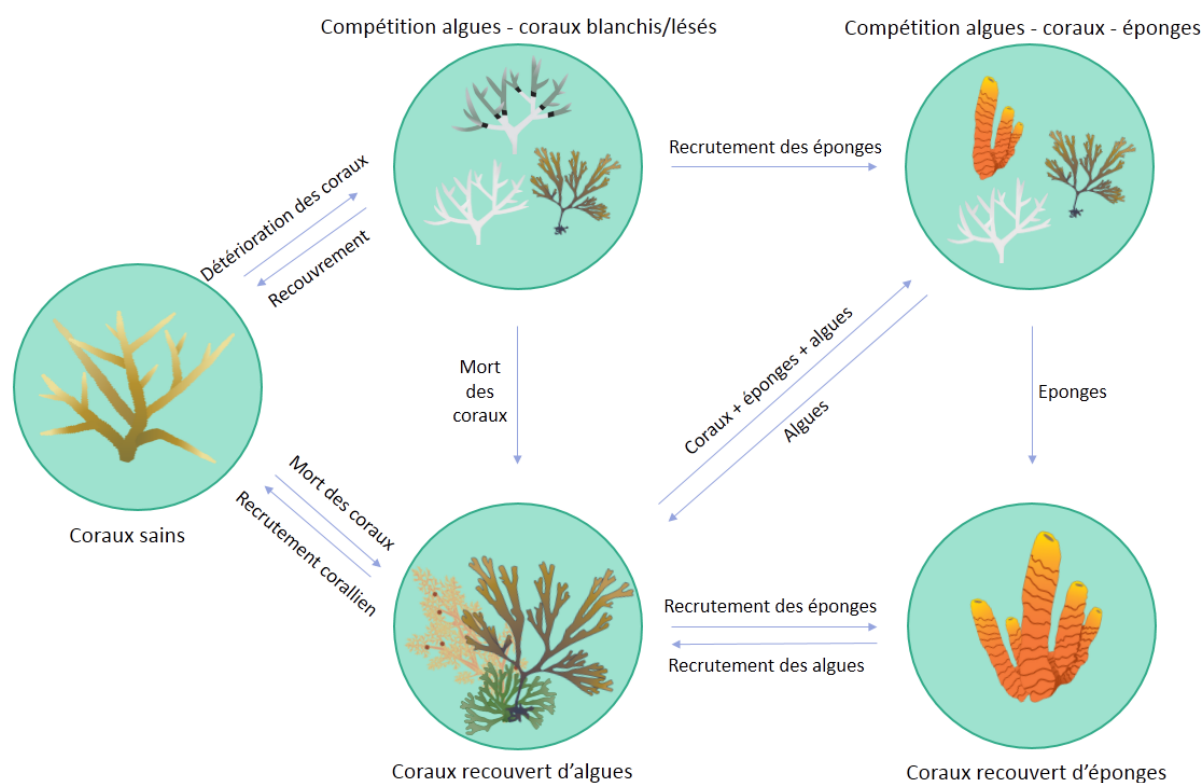
La dégradation des récifs coralliens est de plus en plus importante du fait de la combinaison des stress naturels aux stress anthropiques (Halpern et al., 2008 ; Payri, 2018). C'est dans les années 60s que les premières préoccupations sur la santé des récifs coralliens sont apparues avec des mortalités importantes de coraux liées aux étoiles de mer *Acanthaster planci* (Chesher, 1969). Par la suite, des préoccupations majeures sont apparues concernant l'élévation de la température ou encore l'acidification des océans qui engendrent des perturbations sur les organismes calcifiants, structurant les récifs coralliens (De'ath, Lough & Fabricius, 2009 ; Knowlton et al., 2010). Toutes ces perturbations combinées entraînent la destruction des récifs coralliens dont on estime la disparition à 60 % dans les 20 prochaines années (Cesar, Burke & Pet-soede, 2003). En effet, les stress peuvent causer la mort de certains organismes et donc réduire les interactions entre organismes. Cette destruction passe donc inévitablement par une variation et/ou une diminution de la biodiversité retrouvée au sein des récifs. Lorsque la perte de diversité est faible, elle entraîne la création

d'espace pour la fixation et le recrutement de nouvelles espèces et va donc jouer un rôle important dans la structuration des assemblages récifaux (Connell, 1976 ; Penin et al., 2010). Cependant, lorsque la perte de diversité est forte avec la mortalité de certains organismes clés, d'importants changements dans la structure des communautés peuvent se répercuter sur les écosystèmes et provoquer un « shift » d'écosystème à un autre (Scheffer et al., 2001).

Un des exemples les plus connus concerne le passage d'un écosystème corallien à un écosystème à dominance algale (McManus & Polsenberg, 2004). Lorsque les coraux meurent, leur surface est rapidement recouverte de biofouling qui correspond à la colonisation successive par des bactéries, des micro-algues et enfin des macro-algues (Dobretsov, Abed & Teplitski, 2013). Ce changement, qui peut prendre plusieurs années, devient dans certains cas persistant. Un des cas les plus connus est la dégradation du récif au nord de la Jamaïque suite à l'ouragan Allen. Le récif a été colonisé par les algues qui ont persisté du fait de la diminution d'invertébrés brouteurs (e.g. oursins *Diadema antillarum*) et de la surpêche des poissons herbivores (Hughes, 1994). Cependant, les changements d'écosystèmes ne sont pas toujours persistants, c'est le cas de certains assemblages coralliens de l'île de Moorea en Polynésie française. Suite à une grande perte de la couverture corallienne après un cyclone et quatre évènements de blanchissement, les algues sont devenues dominantes. Néanmoins, ce changement n'a pas persisté, un nouvel assemblage d'espèces coralliennes est apparu et après 14 ans, une couverture corallienne similaire à la précédente a été atteinte (Adjeroud et al., 2009).

Les écosystèmes coralliens peuvent aussi basculer vers des écosystèmes à dominance d'éponges. Certains récifs coralliens des Caraïbes possèdent une diversité et une biomasse en éponges supérieures à celles des coraux et des algues (Diaz & Rutzler, 2001 ; van Soest et al., 2012). Les éponges excavatrices, capables de creuser le squelette des coraux (Chaves-Fonnegra & Zea, 2011) tels que les holobiontes *Cliona* sp., sont de plus en plus abondantes dans certains récifs des Caraïbes ou du Pacifique (Carballo et al., 2013 ; López-Victoria & Zea, 2004 ; Ward-Paige et al., 2005). La transition d'écosystèmes coralliens vers des écosystèmes à dominance en éponges semble être liée à des perturbations anthropogéniques, notamment l'eutrophisation, qui favoriserait la mortalité des coraux et améliorerait la croissance des éponges (Ward-Paige et al., 2005). Cependant, les explosions d'éponges peuvent être contrôlées par les algues. Une étude récente de Chaves-Fonnegra (2018) propose un modèle, basé sur un suivi à long terme, afin d'étudier les interactions coraux – algues – éponges et de mieux comprendre les processus de transition d'écosystèmes. Lorsque les coraux se détériorent (e.g. blanchissement, maladie, mortalité partielle), ils vont être en

compétition avec des algues qui peuvent les recouvrir et entraîner une transition vers un écosystème algal (Figure 1.4). Cependant les éponges peuvent recruter sur les coraux s'ils sont détériorés et prendre le dessus sur les algues. Certaines colonies coralliennes peuvent entrer en compétition avec les éponges et les algues pendant plusieurs années (> 7 ans) avant de mourir. À ce stade, il est plus probable que les éponges deviennent majoritaires mais elles peuvent mourir par surcroissance des algues ou encore du fait de forts taux de sédimentation. Ainsi, les algues peuvent recruter sur les squelettes de coraux laissés à nu par les éponges mortes, et l'écosystème peut devenir à dominance algale. Le retour vers un écosystème corallien ne pourra se faire que par recrutement des coraux sur les algues tels que les algues corallines encroûtantes (crustose coralline algae, CCA). De manière intéressante, lorsque les coraux blanchis ou lésés entrent en compétition avec les algues et les éponges, ils ne peuvent pas retourner au stade précédent et vont très probablement mourir. Ce modèle démontre l'importance des interactions entre holobiontes et leur effet sur la biodiversité récifale suite aux perturbations naturelles et anthropiques.



**Figure 1.4 :** Modèle de prédiction des conséquences d'un changement de biodiversité sur les récifs coralliens. Les flèches indiquent le sens des interactions. Modifié d'après Chaves-Fonnegra et al (2018).

#### 4. Objectifs et présentation de la thèse

Bien que les interactions entre espèces récifales soient étudiées depuis de nombreuses années, tant au niveau chimique qu'écologique, rares sont les études qui étudient la physiologie des organismes en fonction des espèces environnantes. Une étude préliminaire a permis de mettre en évidence que le corail *P. damicornis* et le bénitier *Tridacna maxima* ne se comportent pas de la même manière lorsqu'ils sont seuls ou associés (Dubousquet, 2014 ; Dr Wecker P. comm. personnelle). Les analyses transcriptomiques et métabolomiques révèlent une expression différentielle chez ces deux holobiontes selon leur assemblage (seuls ou associés). En particulier chez le bénitier *T. maxima*, les gènes différentiellement exprimés lors d'un stress thermique le sont toujours face à ce même stress mais de façon retardée en présence de *P. damicornis*. Des changements sont aussi observés au niveau du métabolome des bénitiers, qui sont significativement différents lorsqu'ils sont associés à *P. damicornis*. Ainsi, la présence d'une espèce peut influencer sur l'expression génique et les métabolites produits de l'espèce voisine. Au vu de ces résultats préliminaires, l'étude des interactions inter-holobiontes coraux-bénitiers, selon les assemblages et les conditions environnementales, apparaît comme nécessaire afin de mieux comprendre les mécanismes qui régissent la structure des populations et de mieux pouvoir prédire la résilience des récifs coralliens.

C'est dans ce cadre que s'inscrit cette thèse dont le but est de d'évaluer l'importance des assemblages sur la biologie des holobiontes et leur environnement. Pour répondre à cette problématique, trois grandes questions ont été abordées :

- ❖ Le type d'assemblage a-t-il un effet sur l'environnement proche?
- ❖ La réponse des organismes aux variations environnementales dépend-elle des espèces avoisinantes?
- ❖ La structure des holobiontes dépend-elle des espèces avoisinantes?

Afin de répondre à ces questions, différents types d'assemblage de trois holobiontes ont été réalisés et la composition de leur environnement et des holobiontes eux mêmes a été caractérisée ainsi que leur état physiologique. Deux types d'expériences ont été menées : 1/ *ex situ* en aquarium, sur le modèle de l'expérience préliminaire, avec ou sans réchauffement de la température de l'eau et 2/ *in situ*, avec un suivi dans le lagon de Moorea pendant 6 mois.

Les trois holobiontes ; *P. damicornis*, *A. cytherea* et *T. maxima* ; ont été choisis car ce sont des espèces communes dans la région Indo-Pacifique et particulièrement en Polynésie française où l'on observe une dominance des familles Pocilloporidae et Acroporidae (Leray et al., 2012 ; Pratchett et al., 2013 ; Trapon, Pratchett & Penin, 2011). Toutes les trois retrouvées en zone lagonaire, une de leurs particularités est qu'elles se différencient par leur sensibilité face aux perturbations naturelles et anthropiques. Par exemple, face à une augmentation de la température de l'eau, *A. cytherea* est plus sensible que *P. damicornis* qui est plus sensible que *T. maxima*.

*Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758) fait partie des coraux du genre *Pocillopora* qui sont parmi les premiers à s'installer sur le récif (Grigg, 1983). Cette espèce pionnière est branchue et possède une croissance rapide. *P. damicornis* se reproduit de manière asexuée mais aussi sexuée par fécondation interne (Richmond & Jokiel, 1984). Parmi les coraux, *P. damicornis* fait office de modèle du fait des nombreuses études qui se sont intéressées aussi bien à sa reproduction, sa physiologie ou encore sa diversité génétique (Adjeroud et al., 2014 ; Adjeroud & Tsuchiya, 1999 ; Magalon, Adjeroud & Veuille, 2005 ; Schmidt-Roach et al., 2014).

*Acropora cytherea* (Dana, 1846) est une espèce du genre *Acropora* qui structure les récifs coralliens Indo-Pacifiques. *A. cytherea* est une espèce tabulaire à croissance rapide qui crée des « tables » consistant en de nombreuses branches horizontales (Wallace, 1999). Tout comme *P. damicornis*, *A. cytherea* se reproduit de manière sexué ou asexué, et est retrouvée dans des eaux peu profondes (<25 m ; Latypov, 2001 ; Wallace, 1999 ; Kenyon, 1992). Cependant, cette espèce est décrite comme peu résistante à l'augmentation de la température de l'eau et aux maladies (Richards et al., 2008).

*Tridacna maxima* (Röding, 1798) est l'espèce la plus largement répandue chez les bénomies, de l'Afrique de l'est et de la mer rouge jusqu'en Polynésie française (Othman, Goh & Todd, 2010). *T. maxima* à une taille moyenne de 10 à 20 cm et sa longévité moyenne varie entre 10 à 20 ans mais peut atteindre 50 ans (Ungvari et al., 2013). Tout comme *P. damicornis* et *A. cytherea*, cette espèce est retrouvée dans les eaux peu profondes (Gilbert et al., 2006).

Pour cette étude, j'ai utilisé une approche intégrative associant métabolomique, génomique, écophysiologie et cytologie. Ainsi, des prélèvements d'ADN ont permis de caractériser les organismes associés aux holobiontes et ceux présents dans l'environnement proche des assemblages grâce à la technique du métabarcodage. Afin de compléter ces données, les analyses

cytologiques ont permis l'identification de certains organismes. Les interactions entre organismes sessiles passant majoritairement par l'allélopathie, le métabolome des holobiontes ainsi que les métabolites présents dans l'eau ont été analysés. Enfin, le suivi écophysologique des espèces a permis d'évaluer leur état de santé. Lors de l'expérience *in situ*, la croissance des holobiontes ainsi que le recrutement corallien ont été étudiés.

Ainsi dans ce manuscrit, 4 chapitres sont consacrés à la présentation des différents résultats. Le premier porte sur l'analyse de l'effet des assemblages sur le biofouling, en condition de stress thermique ou non. Le second est consacré à l'analyse, chez les holobiontes, d'un bio-indicateur du stress, le DMSP. Le troisième porte sur l'étude du microbiome des bécotiers et enfin, le quatrième décrit l'effet des assemblages *in situ* sur le recrutement corallien et la croissance des holobiontes.







# Chapitre 2

## Differential effect of coral-giant clam assemblages on biofouling formation

Soumis : Guibert I, Bonnard I, Pochon X, Zubia M, Sidobre C, Lecellier G, Berteaux-Lecellier V. Differential effect of coral-giant clam assemblages on biofouling formation. *Scientific Reports*

## **Chapitre 2 : Differential effect of coral-giant clam assemblages on biofouling formation**

### **Contexte de l'étude et objectifs**

La dégradation des récifs coralliens peut entraîner le passage vers des écosystèmes à dominance algale. Cependant, les organismes sessiles sont capables de produire des métabolites afin de diminuer la croissance ou tuer les espèces avoisinantes, dont les algues. Dans ce chapitre, l'effet des assemblages multi-espèces sur le biofouling a été analysé. Les communautés composant le biofouling et les métabolites de l'eau des aquariums ont donc été caractérisés selon les différents assemblages de coraux et bénitiers testés. Ce chapitre a été rédigé sous la forme d'un article intitulé « Differential effect of coral-giant clam assemblages on biofouling formation » qui a été soumis à Scientific Reports.

### **Principaux résultats**

- ❖ L'apparence et la composition du biofouling varie selon les assemblages.
- ❖ L'assemblage des trois holobiontes entraîne l'inhibition du biofouling.
- ❖ L'effet antifouling serait dû à l'action conjointe d'un complexe de métabolites relargués par les holobiontes.

# Differential effect of coral-giant-clam assemblages on biofouling formation

**Running Head:** Effect of species assemblages on biofouling

Isis Guibert<sup>1,2,3\*</sup>, Isabelle Bonnard<sup>4</sup>, Xavier Pochon<sup>5,6</sup>, Mayalen Zubia<sup>7</sup>, Christine Sidobre<sup>2</sup>, Gaël Lecellier<sup>8,3</sup> and Véronique Berteaux-Lecellier<sup>3,2</sup>.

<sup>1</sup>Sorbonne Université, Collège Doctoral, F-75005 Paris, France

<sup>2</sup>USR3278 PSL CRIOBE CNRS-EPHE-UPVD, LabEx CORAIL, Papetoai, Moorea, French Polynesia

<sup>3</sup>UMR250/9220 ENTROPIE IRD-CNRS-UR, LabEx CORAIL, Promenade Roger-Laroque, Noumea cedex, New Caledonia, France

<sup>4</sup>USR3278 PSL CRIOBE CNRS-EPHE-UPVD, LabEx CORAIL, Université de Perpignan, 58 avenue Paul Alduy, 66860 Perpignan, France

<sup>5</sup>Coastal and Freshwater Group, Cawthron Institute, Private Bag 2, Nelson 7042, New Zealand

<sup>6</sup>Institute of Marine Science, University of Auckland, Private Bag 349, Warkworth 0941, New Zealand

<sup>7</sup>UMR241 EIO UPF-IRD-ILM-Ifremer, LabEx-CORAIL, BP 6570, 98702, Faa'a, Tahiti, French Polynesia

<sup>8</sup>Université de Paris-Saclay, UVSQ, 45 avenue des Etats-Unis, Versailles Cedex, France

\*Correspondence: Isis Guibert, [isis.guibert@orange.fr](mailto:isis.guibert@orange.fr)

## Abstract

Benthic sessile species have developed various defense mechanisms to face the direct pressure from their environment. While studies have mostly focused on the release of chemical compounds by single species, there exist limited data on multi-species assemblages. We used an integrative approach to explore the potential interactive effects of distinct assemblages of two corals species and one giant clam species on biofouling appearance and composition. Remarkably, we found distinct biofouling communities suggesting the importance of benthic sessile assemblages in biofouling control. Moreover, the assemblage of 3 species led to an inhibition of biofouling, likely through a complex of secondary metabolites. Our results highlight that through their different effect

on their near environment, species assemblages might be of utmost importance for their survival and therefore, should now be taken into account for sustainable management of coral reefs.

**Keywords:** Corals, Giant clams, Assemblages, Biofouling, Metabarcoding, Metabolomics

## 1. Introduction

Benthic sessile communities are under direct and constant pressure of their surrounding environment. Therefore, many species have developed various mechanisms such as direct and indirect biotic interactions to maximize their survival (Núñez-Pons & Avila, 2015). Each of these interactions can be either positive or negative and are responsible to a large extent for structuring communities (Stachowicz, 2001). Most studies on bioactive products have focused on the competition and defense processes that may lead to the discovery and commercialization of new bioactive metabolites (Puglisi et al., 2014).

In sessile coral reef organisms, numerous studies have identified a wide variety of secondary metabolites such as terpenoids (e.g. siphonodictine; Sullivan, Faulkner & Webb, 1983), saponins (e.g. muricins; Bandurraga & Fenical, 1985), macrolides (e.g. latrunculins; Kashman et al., 1985), and steroids (e.g. verumbsteroids ; Cao et al., 2014) that can reduce the growth or even lead to the death of neighboring species. The production of such secondary metabolites, mainly non-polar, synthesized constitutively or inducible (Quinn et al., 2016), strongly influences sessile organisms' behaviors in response to local competition or predation pressures. The latter are particularly pervasive in marine biofouling environments where strong developmental and organism-environment interactions take place (Railkin, 2004).

Biofouling is an ubiquitous phenomenon in the marine environment and a common feature of a wide variety of natural and artificial structures (Allison, 2003). Biofouling formation typically starts with the adhesion of dissolved organic matter onto a surface which leads to physiochemical changes (Guo, Ngo & Li, 2012) and to the development of a bacterial mat or early biofilm layer (Dobretsov, Abed & Teplitski, 2013). Successfully settled bacterial communities may influence the successive settlement of micro-algae (e.g. diatoms, cyanobacteria), fungi and protists, which are all precursors for colonization by larger fouling organisms or macrofouling (Railkin, 2004).

Biofouling formation onto a substrate, its growth rate and the type of species able to colonize this habitat are modulated by various interactions and involve complex biochemical, behavioral or physical mechanisms (von Ammon et al., 2017 ; Railkin, 2004). The external environment plays an important role in the biofouling formation, in particular through physical and chemical conditions (Leonard et al., 2017 ; Pereira Masi, Zalmon & Coutinho, 2016). For example, the availability of nutrients will play a critical role in the selection of early colonizers and the successive community composition of the biofouling (Li et al., 2017). Light and temperature increase also play important roles in enhancing the propagation of biofilm and biofouling (Farhat et al., 2016 ; Scandura et al., 2017). Besides these environmental factors, many antifouling agents have been characterized from sessile marine organisms, in particular antifouling molecules produced by sponges, soft corals, and seaweeds (Dobretsov, Abed & Teplitski, 2013 ; Dobretsov, Teplitski & Paul, 2009 ; Qian et al., 2015). Microorganisms associated with marine algae and invertebrates, such as epibionts, also possess antifouling potential (Dobretsov, Abed & Teplitski, 2013). Despite the growing knowledge that biofouling-associated antifouling compounds are damaging to both larval and adult stages of hard corals and giant clams (Diaz-Pulido et al., 2010 ; Gomez & Mingoa-Licuanan, 2006 ; Vieira et al., 2016), there exist very limited data on the actual processes and the specific molecules involved in antifouling activities of multiple interactive coral reef species. There is now growing evidence that hard corals release antifouling active substances (Puglisi et al., 2014), which can confer different competitive abilities to coral species against algae (Nugues & Bak, 2006).

Studies on Antarctic marine benthos have shown that by bringing together different defense strategies, species assemblages create a complex model of interaction which may help protect Antarctic organisms from competition, for space and fouling pressure notably (Figuerola et al., 2011). In coral reef ecosystems, the variety of antifouling compounds produced by sessile organisms, even among coral genera, prompted us to study the importance of species biodiversity and interaction on coral reefs' fitness. Our work investigated their potential cumulative effect on biofouling formation and their ability to minimize the dramatic impact that uncontrolled biofouling expansions (i.e shifts from coral to algal dominated reefs) may have on coral reef ecosystems.

Thus, in this study we combined cytological, metagenomic and metabolomic approaches to explore the interactive effects of multiple benthic species assemblages on the biofouling appearance and composition under normal and thermal stress conditions. Two common Indo-

Pacific scleractinian coral species, *Pocillopora damicornis* and *Acropora cytherea*, and the giant clam *Tridacna maxima* were artificially grouped in distinct assemblages, exposed to varying water temperatures, and their influence on algal biofouling formation was investigated.

## 2. Materials and methods

### 2.1 Sample collection and preparation

#### *Corals and giant clams collection*

*Acropora cytherea* (n=4) and *Pocillopora damicornis* (n=4) colonies were collected at low tide (~ 2 m) in Moorea lagoon, French Polynesia (17°30'S, 149°50'W fringing reef Linareva; Rouzé et al., 2015). The sampled colonies were then cut into nubbins using side-cutting pliers to produce a minimum of 45 small fragments each. All the samples were grown on tables in a common garden located in the lagoon area of the InterContinental Moorea Resort & Spa during an 8 months period. The giant clams *T. maxima* were bought at a French Polynesian nursery on Reao Island (18°28'S, 136°25'W; N°Tahiti: 139 519), and then acclimated in the common garden. The three species were placed on 3 different distant (> 3 m) tables in order to avoid inter-species' interactions. A CITES permit was obtained to allow for samples export (CITES – FR1698700087 – E).

#### *Experimental design*

One to three species were placed in aquariums. The different associations of organisms per aquarium are thereafter referred to as "assemblage". Five distinct assemblages of coral and/or giant clams species were studied: *P. damicornis* + *A. cytherea* + *T. maxima* (PAT); *P. damicornis* + *A. cytherea* (PA); *A. cytherea* + *T. maxima* (AT); *P. damicornis* (P) or *T. maxima* (T) alone. Three nubbins from 4 coral colonies per species (12 nubbins per coral species) and/or 12 giant clams were used for each assemblage. Therefore, the 40 L aquariums were composed of either 12 (assemblages T and P) or 24 (assemblages PA and AT) or 36 (assemblages PAT) organisms (Supplementary S1a). One aquarium without macroorganisms was kept as a control at lagoon temperature (W). Aquariums were randomly chosen to avoid a potential aquarium effect. Each aquarium was open-circuit with seawater pumped directly from Moorea Opunohu's bay. Two filters of 60 microns each were used



to remove sediment, and the water flow in aquariums was 20 L/h. The water temperature within aquariums was controlled with the Biotherm pro system (Hobby, Stukenbrock, Germany). Temperature/Light Data Loggers (P/N U22-001, Onset, Bourne, Massachusetts; or Ruskin, Ottawa, Canada) recorded temperature data every 10 minutes. All aquariums received the same light using LED lamps (PlanetPro ELOS, Verona, Italy), following a diurnal cycle.

The experiment was performed in duplicate (exp. A and B), spaced two weeks apart, except for the AT assemblage which was also studied in duplicate but during the same experiment (exp. C). In each of A and B experiments, 4 distinct assemblages were studied in parallel (assemblages PAT, PA, T and P; 2 aquariums per assemblage; n=8 aquariums per experiment). After an acclimation period of 12 days, for each set of assemblage, one of the two aquariums was maintained at the ambient lagoon temperature (27 °C; LT; control), and the second one was submitted to a stress temperature (ST). The stress temperature was performed as follows: increased 1 °C per day from day 12 to day 17 up to 32 °C where it was maintained for 3 days (from day 17 to day 19), before being decreased back to 27 °C (day 20). Similarly, in experiment C, after the acclimation period, two aquariums of AT assemblages were placed at lagoon temperature and the remaining two were exposed to the stress temperature (n=4 aquariums).

During the experiments, biofilm deposited on each aquarium wall was collected at day 12 and 20 using a cover glass slide, and stored in 70% ethanol at – 20 °C until further molecular analysis. Three replicates of water samples (40 mL) from aquariums were sampled at the same time and kept at – 20 °C until the analysis of nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ), nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ), phosphate ( $\text{PO}_4^{2-}$ ), ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) and silicate ( $\text{Si-OH}_4$ ; Technicon Autoanalyzer system, Southampton, United Kingdom). A synthesis of the tested samples as well as the statistics used are on Supplementary S1b and S1c.

### *Biofouling observation and cytology*

Throughout the experiments, photographs of the aquarium were taken (days 15 or 19) and daily observations of the biofouling were recorded.

At beginning of each experimental run, two sterile microscope cover glasses and two sterile glass slides were disposed in each aquarium. At the end of the experiment, the slides were observed in order to identify the most predominant genera per assemblage (Supplementary S1c).

*DNA extraction, PCR amplification and sequencing*

Biofilm DNAs were extracted using the CTAB-based protocol described in Rouzé et al. (Rouzé et al., 2017) and stored at – 20 °C until PCR amplification. Two different genetic markers were selected for metabarcoding analysis. The 16S ribosomal RNA V3/V4 region was amplified with the Bakt\_341 forward (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') and Bakt\_805 reverse (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3') primers (Marcelino & Verbruggen, 2016). The 18S ribosomal RNA V4 region was amplified with the primer pair D512for18S forward (5'-ATTCCAGCTCCAATAGCG-3') and the D978rev18S reverse (5'-GACTACGATGGTATCTAATC-3'), specifically designed for characterizing diatom communities (Blaxter, 2004). The primers were modified to include Illumina™ overhang adaptors as described by Kozich et al. (2013).

The polymerase chain reactions were performed (Supplementary S1c) and products were visualised on a 2% agarose gel. Samples were purified using magnetic beads (Agencourt Bioscience Corporation, Grand Rapids, Michigan), quantified (Qubit® 2.0 Fluorometer, Invitrogen, Carlsbad, California) and diluted at equimolar concentration to 3 ng/μL. Amplicons from DNA samples previously obtained from two high-latitude invasive species (*Ciona savignyi* and *Asterias amurensis*) from a previous study (Pochon et al., 2013), were used as internal quality controls. Nuclease-free UltraPure™ water (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts) was used as negative control. The samples were sent to New Zealand Genomics Limited at the University of Auckland for final high-throughput sequencing library preparation. Libraries were sequenced on a MiSeq Illumina™ platform using a 2 x 250 base-pair (bp) paired-end protocol.

*Metabolomic sample preparation and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) analysis*

Input pipe seawater (n=5) together with seawater from aquariums (n=23) were filtered using cartridges Strata-XL 100u polymeric reversed phase (Phenomenex, Torrance, California). Six litres of seawater per sample were filtered using an extraction chamber.

Samples were extracted from the Strata-XL cartridges and then centrifuged to separate the residual water. The organic phase was transferred in a glass hemolysis tube before drying under nitrogen flow and freeze-dried overnight. Before LC-MS analysis, organic extracts were prepared at a concentration of 1 mg/mL in methanol and filtrated on Uptidisk (PTFE, 0.2 mm, Interchim, San Diego, California).

LC-MS analyses were performed with an LCQ Fleet 2300 (Thermo Scientific) to determine metabolites in the seawater of each assemblages. The samples were analyzed using a positive ion mode with full scan MS window of 200-2000  $m/z$ . A quality control strategy was carried out using a Latin square design for samples, quality control and methanol blank samples in order to reduce the potential error of instrumental drift.

To determine the exact mass of secondary metabolites selected, LC-HRMS analyses were performed on a UHPLC system (Vanquish, Thermo Scientific) interfaced to a QTOF mass spectrometer (MaxisImpact I, Bruker Daltonics, Billerica, Massachusetts). Finally, to strengthen the putative identification of selected metabolites, LC-HRMS and LC-HRMSMS analyses were performed on a UHPLC system (Vanquish, Thermo Scientific) interfaced to an Orbitrap mass spectrometer (Q-exactive Plus Hybrid, Thermo Scientific, Supplementary S1c). Finally, metabolites were assigned according to literature and databases such as LIPID MAPS, Metlin or MarinLit (Blunt & Munro, 2017 ; Fahy et al., 2007 ; Guijas et al., 2018).

## **2.2 Data analysis**

Cytology, nutrients, metabarcoding and metabolomics methods are detailed in the Supplementary File S1c.

## **3. Results**

### **3.1 Significant change of seawater composition between experiments but only slightly between assemblages**

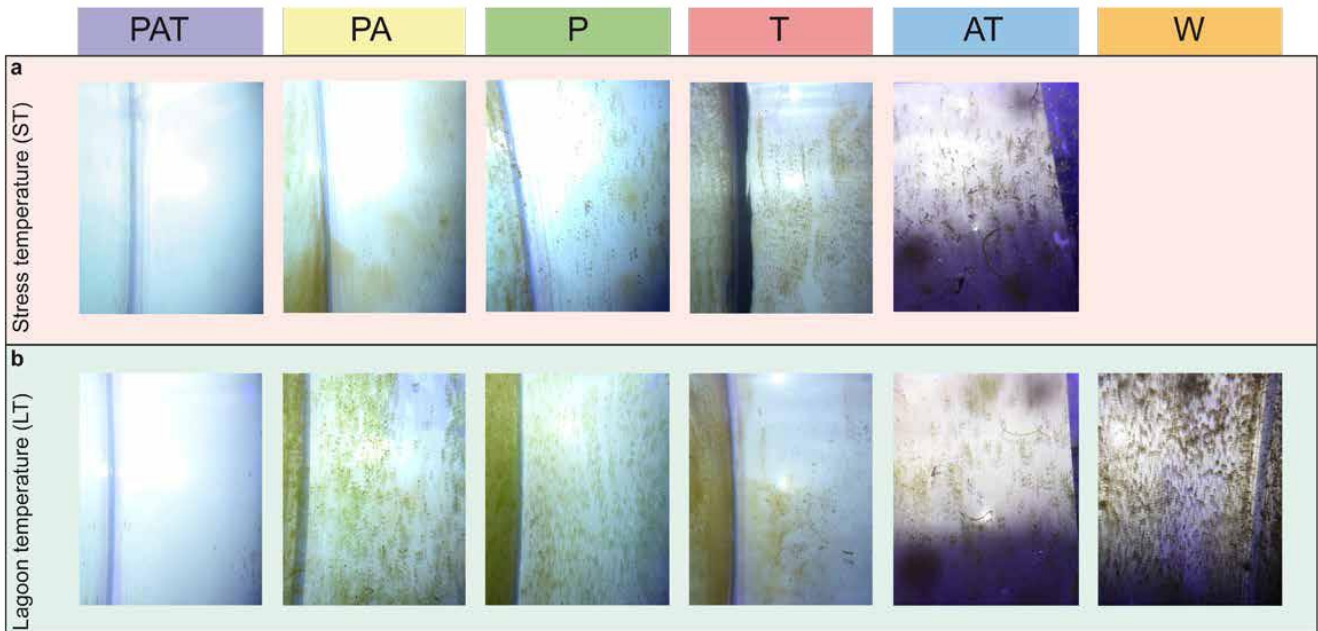
The principal component analysis of the seawater nutrients (Supplementary S2 and S3) enabled to distinguish each experiment. Nutrients were more abundant in the experiments A and C than in the experiment B, and Si-OH<sub>4</sub> were more abundant in the experiment A compared to the two others. For each experiment, slight significant variations of nutrient concentrations were observed between conditions (stress-lagoon temperature) or between assemblages. Whatever the

experiments,  $\text{NH}_4^+$  and  $\text{NO}_2^-$  concentrations were systematically higher in all assemblages containing giant clams (Tukey test  $p < 0.05$ ). Moreover,  $\text{NH}_4^+$  concentrations were higher in PAT assemblages than in T assemblages. However, while in the experiment A, the range of  $\text{NH}_4^+$  concentrations in PAT and T assemblages were of [1.493-3.016]  $\mu\text{mol/L}$  and of [1.059-1.287]  $\mu\text{mol/L}$ , respectively,  $\text{NH}_4^+$  concentrations in the experiment B were less than 1  $\mu\text{mol/L}$  (except for 1 sample) in PAT assemblages, which is lower than the range in T assemblage of the experiment A. Overall, the differences of water composition (relative and absolute concentrations) within experiments remained lower than the differences of water composition between experiments.

### **3.2 Difference of biofouling appearance according to the type of assemblages**

Ten days following the beginning of the acclimation period, the aquarium walls harbored various biofouling aspects that were specifically linked to the type of assemblages under investigation (Figure 2.1). This phenomenon was similar between the thermal stress and control conditions (compare ST – LT, Figure 2.1), was consistently observed at the end of all experiments and was reproducible. The walls of the aquariums containing PAT assemblage were clean with just a barely perceptible light green biofilm layer. Aquariums containing the T assemblage were covered with a brown biofouling and mucus. Brown and green biofouling were also perceptible on the aquarium walls of the P assemblage, contrasting with only a green layer apparent in the aquariums with either

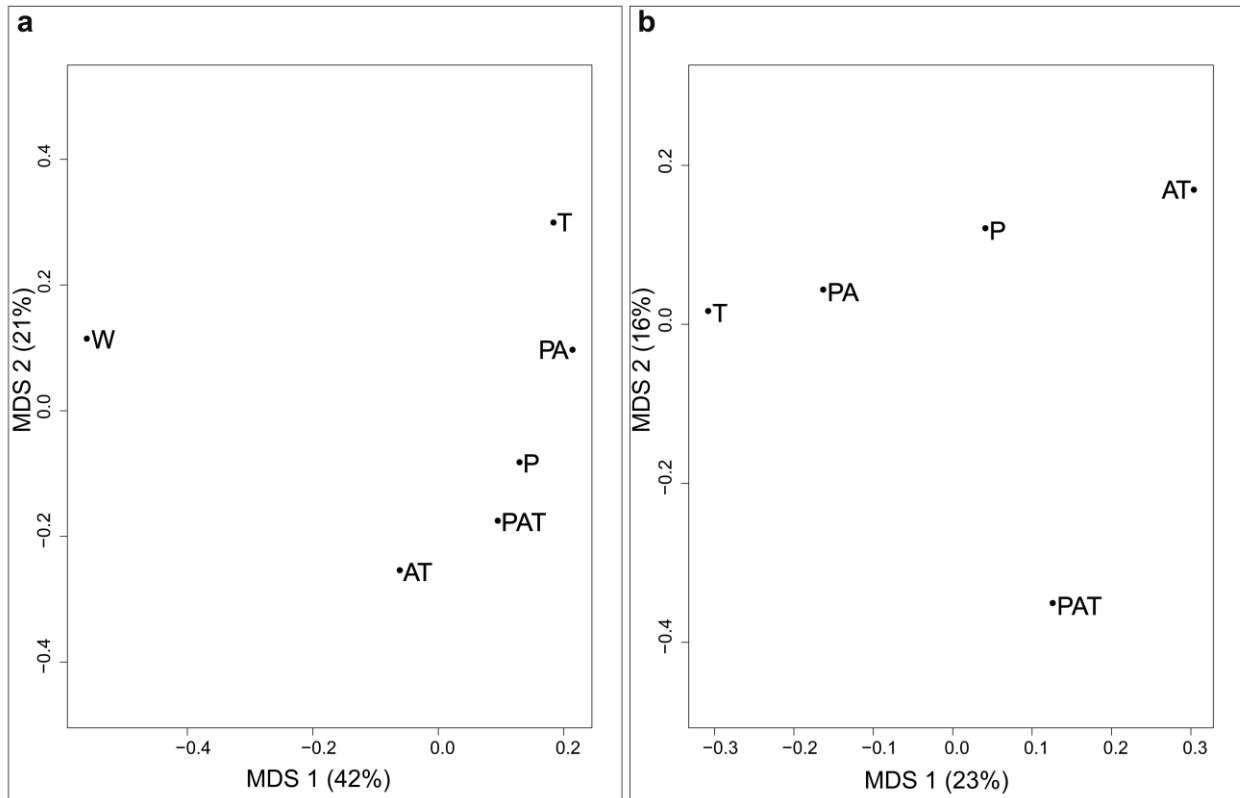
PA or AT assemblages. The most severe biofouling, e.g. murky aquarium walls, appeared in the W aquariums, devoid of macroorganisms.



**Figure 2.1** : Photographs of aquarium's walls according to the assemblages (a) with or (b) without thermal stress. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; PA: *P. damicornis* and *A. cytherea*; P: *P. damicornis*; T: *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; W: no macroorganisms; stress temperature (ST); lagoon temperature (LT, control). Photographs: Isis Guibert.

### 3.3 Distinct taxonomic groups according to the assemblages

Seven taxonomic groups were defined using cytological observations: Chlorophyta, diatoms (Bacillariophyta), cyanobacteria (Cyanophyta), dinoflagellates (Dinoflagellata), Ochrophyta, Rhodophyta and undetermined. Within these, identifications were assigned at the lowest possible taxonomic level (family or genus). We characterized 201 distinct associated taxa across all assemblages. Classical multidimensional scaling analysis of the 6 assemblages based on the Jaccard's Index (Figure 2.2a) showed a strong dissimilarity (separation on the first axis) between aquariums without (W) and with (PAT, PA, AT, P and T) macroorganisms. The second axis separated the remaining five assemblages from T to AT. After exclusion of the control in the analysis, a similar distribution than the second axis of the first classical multidimensional scaling (from T to AT) was directly observed on the first axis and the second axis mainly separated PAT from all others (Figure 2.2b).



**Figure 2.2 :** Classical multidimensional scaling from the Jaccard's index of assemblages with **(a)** and without **(b)** control. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; PA: *P. damicornis* and *A. cytherea*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; P: *P. damicornis*; T: *T. maxima* and W: no macroorganisms (control).

### 3.4 Different family and genus composition of the three main taxonomic groups according to the assemblages

We analysed the biofouling of PAT, PA, P and T assemblages using metabarcoding. After data processing of 1 202 179 paired-end reads, 711 313 contigs (16 505-83 708 per assemblage) with an average length of 420 bp (18S analysis) and 340 076 contigs (3 862-38 158 per assemblage) with an average length of 428 bp (16S analysis) were selected for taxonomic and functional analysis.

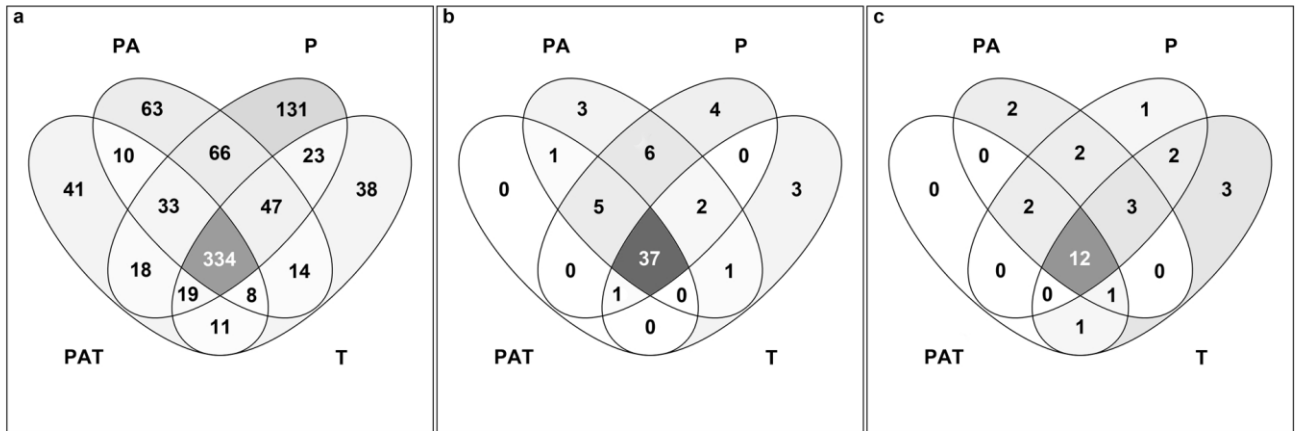
As the three main steps of biofouling are successively the development of bacteria, diatoms and algae, we focused on these three groups. The bacterial group composed of 13 847 unique contigs was divided into 44 phyla and 856 genera (Supplementary S4). Of the 8 330 unique contigs identified from the 18S analysis, 6 369 were assigned to the diatoms group (Ochrophyta phylum), which divided into 63 genera (Supplementary S5). For the algae analysis, 19 990 unique contigs were

assigned into 4 phyla (Chlorophyta, Euglenida, Eukaryota, Phaeophyceae) according to Silva database. From those phyla, 29 genera were identified (Supplementary S6).

In order to characterize the biofouling for each assemblage, we first compared the presence of families and genera for the three groups. Amongst the 28 characterized families of bacteria (Supplementary S7), 13 families were found in all assemblages and 3 were found exclusively in the T assemblage (*Methylocystaceae*, *Legionellaceae* and *Hyphomicrobiaceae*). We also noticed that 12 bacterial families were present in 2 or 3 assemblages sharing or not a common species. For example, 3 families (*Oceanopirillaceae*, *Halomonadaceae* and *Granulosinoccaceae*) were found in all assemblages containing *P. damicornis* (PAT, PA and P). Other families were found in 2 assemblages such as *Pseudoalteromonadaceae* in PA and T assemblages but not in the PAT assemblage. Amongst the 17 identified families of diatoms, 12 were common to all assemblages, 2 (undetermined *Ochromonadales* and undetermined *Coscinodiscophytina*) were common to PA and P assemblages and 3 (*Rhizosolenids*, *Dictyochophyceae* and undetermined *Pedinellales*) were found exclusively in the PA assemblage. For the algae group, 28 families were identified and 15 were common to all assemblages. No specific families were determined for the PAT assemblage but 2 were specific to PA (*Fucaceae* and undetermined *Eutroptiales*) and to T (*Ulvophyceae* and *Ceramiaceae*) assemblages. Furthermore, *Peridiniaceae*, undetermined *Rotaliida* and *Florideophyceae* families were identified in all assemblages except for the PAT assemblage (Supplementary S4-S6).

At genus level, a qualitative analysis revealed which genera of bacteria, diatom, and algae were common or specific to different assemblages (Figure 2.3). Out of the 856 bacterial genera assigned, 474, 576, 672 and 494 were observed in PAT, PA, P and T assemblages, respectively, among which 334 were common. However, 41, 63, 131 and 38 genera were specific to PAT, PA, P and T assemblages, respectively. Interestingly, 47 genera were common to all assemblages except PAT (Figure 2.3a). Few diatoms genera were found (63), but similarly to the bacterial group, 37 genera common to all assemblages were found (Figure 2.3b). No specific diatoms were observed in the PAT assemblage, but 3 genera in PA, 4 in P, and 3 in T assemblages were specifically observed. Noteworthy, 2 diatom genera (*Melosira* sp. and *Psammoneis* sp.) were common to all assemblages except PAT. Concerning the algae group, only 29 genera were assigned and 12 were common to all assemblages (Figure 2.3c). Similar to diatoms, no algal genera were specific to the PAT assemblage,

and 3 (undetermined *Peridiniceae*, undetermined *Florideophyceae* and undetermined *Rotaliida*) were common to all the assemblages except this one.

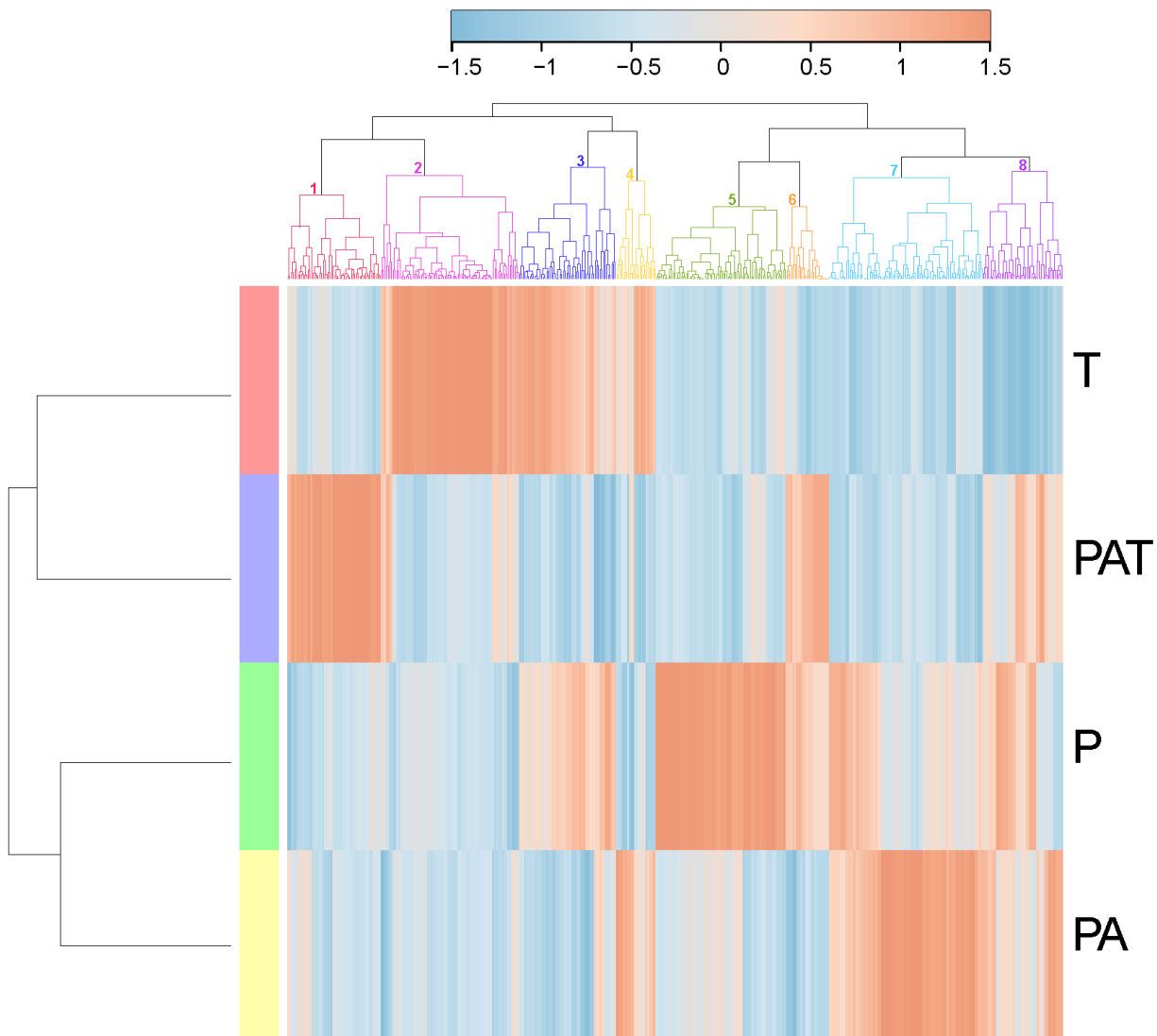


**Figure 2.3 :** Venn diagrams of genera detected in the assemblages. **(a)** bacteria, **(b)** diatoms **(c)** algae. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; PA: *P. damicornis* and *A. cytherea*; P: *P. damicornis* and *T. maxima*.

### 3.5 Characterization of biofouling from each assemblage by specific species abundance and metabolic function of bacteria

To complement the qualitative analysis, we analyzed the relative abundance of bacteria. All assemblages were dominated by *Rhodobacteraceae* (~25-45%). *Flavobacteriaceae* were also found in large quantities (~5-15%) in all assemblages (Supplementary S7). Nevertheless, the bacterial community composition yielded a specific “barcode community fingerprint” for each assemblage (Figure 2.4). As shown, the barcode fingerprint can be clustered into 8 sub-communities. These clusters were rarely found in the same abundance level between assemblages. In fact, high abundances (red color, Figure 2.4) of clusters 1, 2 and 5 are specific to PAT, T and P assemblages, respectively.

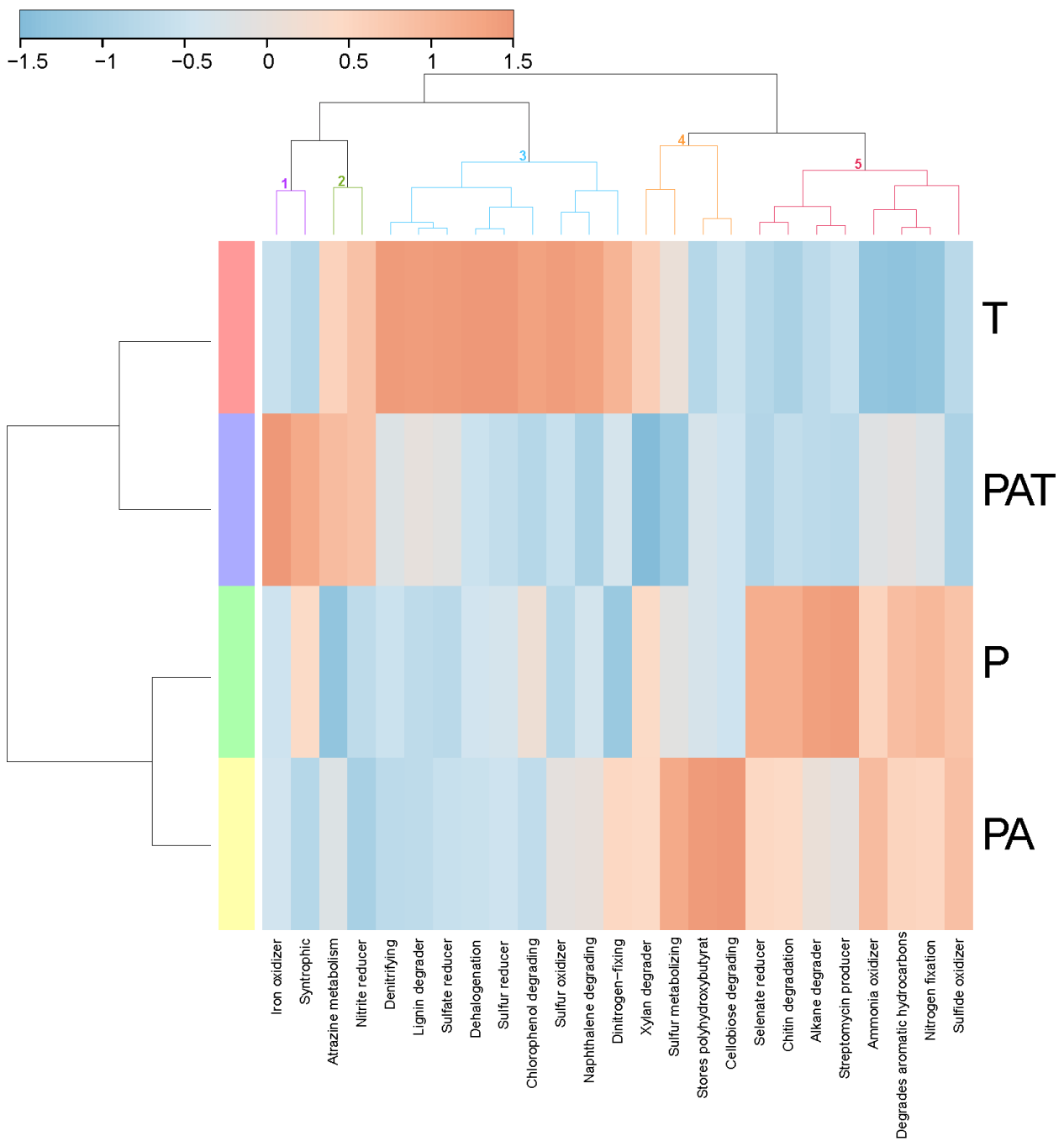




**Figure 2.4 :** Heatmap based on bacterial genera and showing specific ‘barcode community fingerprints’ for each assemblage. Communities’ differences are showed on a relative scale, with enrichment (red) and depletion (blue) of sequence abundance calculated using the Ward’s clustering method and a Pearson distance measure. T: *T. maxima*; PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; P: *P. damicornis*; PA: *P. damicornis* and *A. cytherea*.

We further compared the metabolic functions of bacterial communities within each assemblage (Figure 2.5). Similar to the qualitative analysis, bacterial functions were clustered according to the differential abundance of bacterial species and their putative associated functions. Amongst the 5 clusters, 3 were linked to specific assemblages. Cluster 1 was specific to PAT with an increase of bacteria with “iron oxidizer” and “syntrophic” functions. Cluster 3, where 9 bacterial functions increased, was specific to T, and cluster 4 where “sulfur metabolizing”, “stores polyhydroxybutyrate” and “cellobiose degrading” functions increased was specific to PA. Interestingly, the two other

clusters shared similar increase in bacterial functions between two assemblages. Cluster 2 showed an increase in “atrazine metabolism” and “nitrite reducer” functional responses in PAT and T assemblages. Increase of 8 bacterial functions in cluster 5 was common to P and PA assemblages amongst which “selenite reducer”, “chitin degradation”, “alkane degrader” and “streptomycin producer” were strongly represented. Consequently, PAT assemblage was closer to T assemblage than to PA and P assemblages.

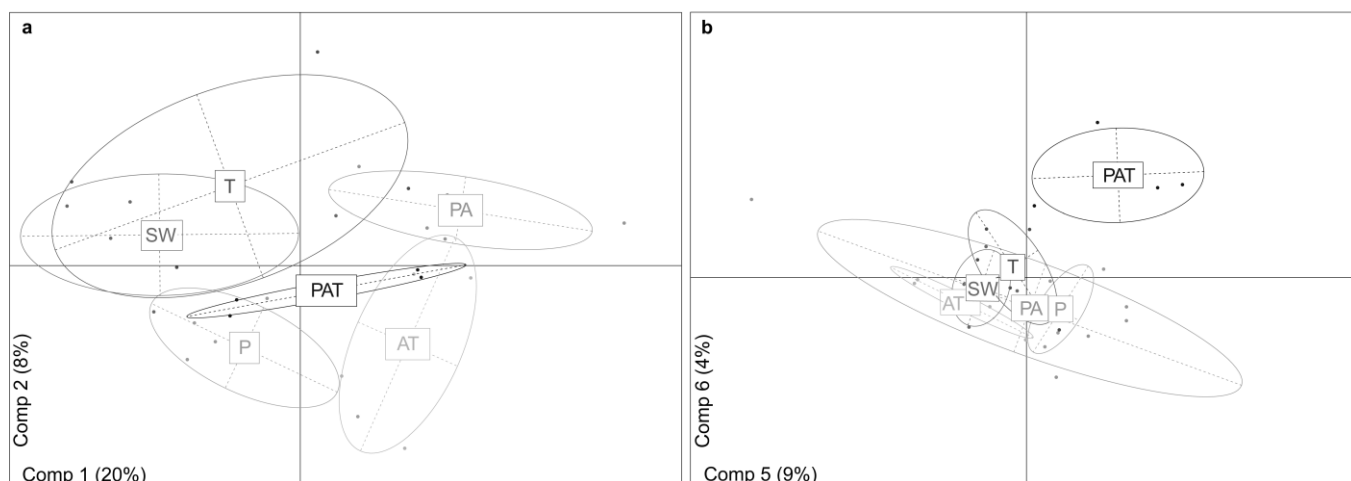


**Figure 2.5** : Heatmap of bacterial “metabolism by phenotype”. Data show functional differences derived from each assemblage on a relative scale with enrichment (red) and depletion (blue) of gene functions using a Pearson distance measure and the Ward’s clustering method. T: *T. maxima*; PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; P: *P. damicornis*; PA: *P. damicornis* and *A. cytherea*.

### 3.6 Secondary metabolites released in seawater are related to each assemblage

To determine if secondary metabolites might account for the difference of biofouling communities, a chemical analysis of the tanks’ seawater was performed. The overall LC-MS analysis

allowed for the detection of 1 488 distinct metabolites. A large majority of them (1 370), were detected in both assemblages and incoming seawater. Particularly, no specific metabolites were detected in PAT. A quantitative Partial least Square Discriminant Analysis on metabolites was then conducted to discriminate each assemblage. The first components discriminated every assemblage (Figure 2.6a), with PAT at the center of the plot, indicating an average mix of all metabolites rather than the emergence of new metabolites. In order to determine the Variable Importance in the Projection (VIP) potentially contributing to the inhibition of biofouling effect, we focused on the components which are clearly responsible for the separation of PAT from other assemblages (5th and 6th components, Figure 2.6b). Thereby, 55 metabolites were selected among which the most abundant were kept as VIPs (n=28). A similar approach was performed for the less abundant metabolites (68). Nevertheless, none of them were selected because none were specifically less abundant in PAT. The exact mass of VIPs was determined using LC-HRMS analyses with a High Resolutive QTOF mass spectrometer (Supplementary S8). From these masses, the molecular formulas were estimated and putative identifications were assessed for 5 VIPs on 28 most abundant VIPs (Table 2.1). Identifications were strengthened by full and fragmentation spectra issued from MS analyses with a Qexactive mass spectrometer. According to available literature and databases, VIPs were assigned to carotenoid (VIP 630) and lipids (VIPs 399, 425, 979 and 981). Using the absorption spectra, the carotenoid was identified as peridinin which exhibited a maximum wavelength at 473-475 nm (Jeffrey & Haxo, 1968 ; Zigmantas et al., 2002). For the 4 other VIPs, spectrum and proposed mechanisms of fragmentation in the literature leads to the putative identification of 3 VIPs among which two digalactosyldiacylglycerols (DGDG 18:5/20:5 and DGDG 20:5/18:4) (Cutignano et al., 2016 ; Imbs et al., 2015) and the brassicasterol (Mo et al., 2013). Based on mass and calculated formula, the last VIP might be a sterol.



**Figure 2.6** : Partial least Square Discriminant Analysis of organic extracts metabolites from seawater's aquariums. **(a)** Distribution of the metabolites on the first two components (Comp1 and Comp2) allowing the separation according to the assemblages. **(b)** Distribution on the fifth and six components (Comp5 and Comp6) providing the separation of PAT from other assemblages. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; PA: *P. damicornis* and *A. cytherea*; P: *P. damicornis*; T: *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima* and SW: incoming seawater.

**Table 2.1** : Accurate mass measurements, molecular formulas, and putative identification of the 5 determined VIPs. <sup>a</sup>  $[M+H - H_2O]^+$ , <sup>b</sup>  $[M+Na - FA_1]^+$ , <sup>c</sup>  $[M+Na - FA_2]^+$ , FA= fatty acid.

Ionic form	Experimental $m/z$	Calculated molecular formula	Calculated $m/z$	Mass error [ppm]	MS/MS fragmentation	Putative identification
$[M + H]^+$	399.3624	$C_{28}H_{47}O$	399.3621	0.6	281.3509 <sup>a</sup> , 297.2574, 255.2104, 135.1167	Brassicasterol
$[M + H]^+$	425.3413	$C_{29}H_{45}O_2$	425.3414	-0.3	407.3306 <sup>a</sup> , 191.1064, 173.0959	Sterol
$M^{o+}$	630.3539	$C_{39}H_{50}O_7$	630.3551	-1.9	603.7519, 553.3241, 520.0495, 487.2805	Peridinin
$[M + Na^+]$	979.5394	$C_{53}H_{80}O_{15}Na$	979.5389	0.5	705.3445 <sup>b</sup> , 677.3134 <sup>c</sup>	DGDG 18:5/20:5
$[M + Na^+]$	981.5551	$C_{53}H_{82}O_{15}Na$	981.5546	0.6	679.3299 <sup>b</sup> , 705.3453 <sup>c</sup>	DGDG 20:5/18:4

## 4. Discussion

This is the first study demonstrating that biofouling formation is strongly influenced by surrounding benthic sessile species. In particular, we show that in its most severe form, the resulting effect of a species-specific assemblage is biofouling inhibition. Biofouling is a complex sequential process, which can be modulated by many abiotic and biotic factors, ranging from external factors to intrinsic influence of the marine taxa participating in biofouling formation itself.

Among these factors, nutrients are known to influence growth and productivity of various organisms such as bacteria and algae. In our study, nutrient contents in the seawater of each aquarium were compatible with those observed in previous nutrient analyses from the Moorea lagoon (Nahon et al., 2013 ; Rouzé et al., 2015). An increase of silicates was notably observed during the wet season as well as after strong rains (Herrera-Silveira, 1994), as was the case for all aquariums of the A experiment. This link with external parameters can be explained by the design of our experiment, which consisted of an open-circuit with a water flow of 20 L/h per aquarium of 40 L. Therefore, the lagoon seawater composition mainly accounted for the significant variation of nutrient composition between the 3 experiments. As the effect of species assemblage on biofouling development was reproducible, this nutrient discrepancy between experiments could not account for the observed differences in biofouling development.

Studies have shown that bacteria, plankton and phytoplankton as well as dissolved organic and inorganic molecules are filtered from seawater and ingested by corals and bivalves (Houlbrèque et al., 2006 ; Piccinetti et al., 2016). This feeding can lead to a depletion of 30 to 45% of total chlorophyll a and picoplankton above a scleractinian coral dominated reef when compared with adjacent waters (Houlbrèque et al., 2006). *Tridacna* species are able to filter up to 58% of algal cells from their surrounding water (Neo et al., 2015). Moreover, a recent study has shown that corals are able to feed on diatoms such as *Thalassiosira* sp. (Piccinetti et al., 2016). In light of these results, and taking into account that giant clams filter large amounts of seawater (e.g. water filtration rate of one *Tridacna crocea* is 2-3 L/h) (Neo et al., 2015), filtering activities could reduce the number of species participating in biofouling development and so could disrupt some steps of biofouling formation. Therefore, whenever another heterotrophic species is added to an assemblage, the community of microorganisms within the aquariums' seawater could be modified (e.g. additive depletion of microorganisms). Such modifications could account for the differences in biofouling composition

and development observed between assemblages, the stronger impact of these additive depletion effects leading to the inhibition of biofouling (e.g. lack of key species required for biofouling progression). Biofouling development was strongly inhibited in the three species assemblages, PAT, of which aquarium water was depleted of 47 bacteria, 2 diatoms and 3 algae genera when compared to the other assemblages. Among these lacking organisms, some bacterial taxa e.g. Rhodobacteraceae that are important biofilm precursors (Elifantz et al., 2013), could be required for effective biofouling formation. Further studies of giant clam and coral filter-feeding species interactions will be helpful to better understanding their respective putative roles in depleting the microorganisms involved in biofouling progression. However, our experimental conditions with high seawater renewal and successive samplings led to four organisms per species at the end of the experiments. Therefore, corals and giant clams' nutrition alone cannot be responsible for the disappearance of biofouling key species. Even though relevant, this hypothesis is not sufficient to account for the observed difference in biofouling development.

In contrast to ingested filtered organisms, those associated with invertebrate species, bacteria and microalgae, have been well characterized. Bacteria have been found living on the surface, in the tissues and in the mucus of coral species (Kooperman et al., 2007 ; Lee et al., 2016 ; Sharp, Distel & Paul, 2012). Because mucus contains a lot of inorganic phosphate and dissolved organic carbon, it is suspected as an effective inducer of bacterial growth (Nakajima et al., 2009). Moreover, the diversity and quantity of the hosted bacteria differs not only between species but also according to their environment (Meistertzheim et al., 2016). Dobrestov and collaborators (2013) have shown that numerous bacteria associated with corals possess an anti-bacterial activity, and antibacterial compounds in coral mucus have notably been found to select specific bacterial population leading to an antifouling effect (Ralston & Swain, 2009). Interestingly, 7 bacterial species were specifically found in PAT assemblages. Among them, bacteria belonging to the genus *Lysobacter* which are able to degrade biofilm and could contribute to the observed antifouling effect (Gökçen, Vilcinskas & Wiesner, 2014). Corals and giant clams are known to produce bioactive compounds such as sterols which are described as chemical defensive substances (Wang et al., 2008 ; Withers et al., 1982). Indeed, living corals are free of fouling and this particularity come from the production of secondary metabolites, especially sterols playing key roles in allelopathy with the ability to inhibit the growth of organisms around them (Wang et al., 2008). Thereby, a fouling-resistant composition, non-toxic for the environment and applicable on immersed equipment, was made with sterols (Tyson &

Reynolds, 2011). Even though no specific metabolite to the PAT assemblage was detected, suggesting that no new compound is produced in this context, 5 VIPs characterizing the PAT assemblage were highlighted. Among them, one was assigned to carotenoids and 4 to lipids. The carotenoid, identified as peridinin, is a specific pigment found in *Symbiodinium* dinoflagellates from corals and giant clams (Jeffrey & Haxo, 1968). Interestingly, like most of the carotenoids, peridinin exhibits an inhibitory activity even at low concentration. As peridinin can inhibit cell proliferation and can exhibit a cytotoxic activity (Ishikawa et al., 2016 ; Tsushima et al., 1995), it might contribute to the biofouling inhibition observed in PAT assemblage. Moreover, among the lipids identified, one was assigned to brassicasterol and two to DGDG. Brassicasterol is found in various marine organisms such as cnidarians, sponges or diatoms (Abou-Hussein, Badr & Youssef, 2014 ; Nawi et al., 2014 ; Samorì et al., 2018). In addition to having significant anti-inflammatory properties (Samorì et al., 2018), this sterol exhibits activity against organisms such as protozoans (Carreira de Paula et al., 2015). Furthermore, DGDG are also found in marine organisms, especially in *Symbiodinium* from both corals and giant clams (Awai, Matsuoka & Shioi, 2012 ; Kneeland, 2011). Digalactosyldiacylglycerols possess strong nitric oxide inhibitory properties leading to antiviral activity (Banskota et al., 2013 ; Ríos-Ibarra et al., 2014). Moreover, DGDG have been identified as antifouling agent demonstrating repellent activity notably of blue mussels (Katsuoka et al., 1990). These data suggest that a synergism of secondary metabolites might lead to antifouling activity as it has already been assumed in a previous study (Ramasamy & Balasubramanian, 2012). Therefore, in the present study, either due to their abundance as VIPs or to their synergism, carotenoid and lipids might be responsible for the biofouling inhibition specifically observed in PAT assemblage. In this regard, as mucus is continuously released by both corals and giant clams (Soo & Todd, 2014), we cannot exclude that mucus flocs and/or secreted molecules such as antibiotics could adhere to the aquarium's walls, playing a role in biofouling production. This effect will be, as discussed for nutrition, dependent on the different species present in the aquarium, with possible positive or negative interactions.

Regardless of the mechanisms involved in this inhibition, our experimental results suggest that biofouling develops differently depending on the type and complexity of the sessile species assemblages, and this may have important implications in coral reef ecology. Global warming, ocean acidification, and local human impacts are considered as the main causes of coral reefs deterioration globally (Arias-González et al., 2017 ; Hoegh-Guldberg et al., 2007 ; Meltvedt & Jadot, 2014). The



combination of these factors usually prevent resilience of coral reefs, and favour the shift from coral-dominated to algal-dominated reef ecosystems (Diaz-Pulido & McCook, 2002 ; Hauri et al., 2010 ; McManus & Polsenberg, 2004). Our discovery of an assemblage dependent antifouling activity is all the more important that biofouling inhibition occurs even in increased temperature condition. Another major point of our results is that the loss of one species in a three species assemblage leads to a change in the algal inhibition spectrum, the two species assemblage being less active against or more prone to algal development. Despite the timeliness of understanding ecological shifts towards algal-dominated tropical habitats, a gap of knowledge still exists about the mechanisms governing these shifts (Jorissen et al., 2016). It is well known that coral reefs taxa, e.g. scleractinian corals species, are differentially sensitive to environmental stressors (Loya et al., 2001 ; Ries, Cohen & McCorkle, 2009 ; Rodolfo-Metalpa et al., 2011) and that, among sessile species, giant clams are notably more resistant than corals to sea water warming (Andréfouët et al., 2013 ; Buck, Rosenthal & Ulrich, 2002). Therefore, environmental stress raises sequential and differential loss of species. This selective loss of species may impact the structuration of coral reefs benthic communities, leading to a change in the species interaction network and therefore, as exemplified by our work, might strongly impact their defence mechanisms against prerequisite steps of algal development. On the contrary, maintaining the diversity may temper this coral-algal shift. Hence, our study pinpoints that sessile coral reef species diversity, distribution and fitness might strongly influence this coral-algal shift, underlining the putative dramatic consequences of the decrease in biodiversity and the health of coral reefs.

Beyond the biofouling phenotypes, with its extreme form translating into biofouling inhibition, the present study also highlighted the functional interactions resulting from sessile species assemblages. Our data showed that specific communities of bacteria, diatoms and algae characterized the biofouling composition of each assemblage. The bacterial functional profiling revealed an increase of “stores polyhydroxybutyrate” in PA assemblage that could be linked to a need of energy storage molecule or to a stress (Ali, Shaban & Tantawy, 2014). In line with this interpretation, microbiomes in PA assemblages included species of *Pseudoalteromonaceae* that are able to degrade a form of polyhydroxybutyrate referred to as poly-3-hydroxybutyrate (Mergaert & Swings, 1996). Other functions such as sulfur reducer, iron oxidizer, streptomycin producer and cellobiose degrading were, respectively, strictly found in T, PAT, P and PA. Additionally, some specific functions such as nitrite reducer and atrazine metabolism for T and PAT or degrade aromatic

hydrocarbon for PAT, P and PA, are shared by some but not all of the assemblages. Therefore, the presence of nitrite reducer activities in both PAT and T assemblages could account for the systematically higher level of  $\text{NH}_4^+$  in these assemblages. Such common features between some specific assemblages highlight the potential cumulative functional effect of the addition of one species in an assemblage, such as degrading aromatic hydrocarbons produced by P in PAT and PA as well as some emergent functions such as iron oxidizer in PAT. Therefore, all these combinations of functions provide a specific capacity to an assemblage for responding to changing environmental conditions. Such a trait can be related to the beneficial effect of plant assemblages for the growth, productivity and protection against pathogens and others, such as in permaculture where combinations of plants are used to enhance resistance and productivity (Bane, 2012).

Considering the resulting functional aspects of various species assemblages, with some positive and/or negative interactions, together with their effect on biofouling development, our data support the notion that marine species assemblages should be integrally part of future coral reefs restoration plans as is already the case for terrestrial restoration.

## **Acknowledgements**

This work was supported by LabexCorail and CNRS fundings. Isis Guibert PhD was supported by Pierre and Marie Curie University – Doctoral school 129. We are grateful to the Academie Française for their financial support through the Walter-Zellidja Grant. The authors thank Dr. Claude Payri and Dr. Catherine Gobin for her precious help on diatoms identification and Delphine Raviglione for his help with the metabolomics analysis. We acknowledge the InterContinental Resort & Spa Moorea and the Moorea Dolphin Center for providing coral garden protected area. We also thank Franck Lerouvreur, Pascal Ung, Ewen Morin and all the students from CRIOBE who helped us on the field.

## Supplementary data

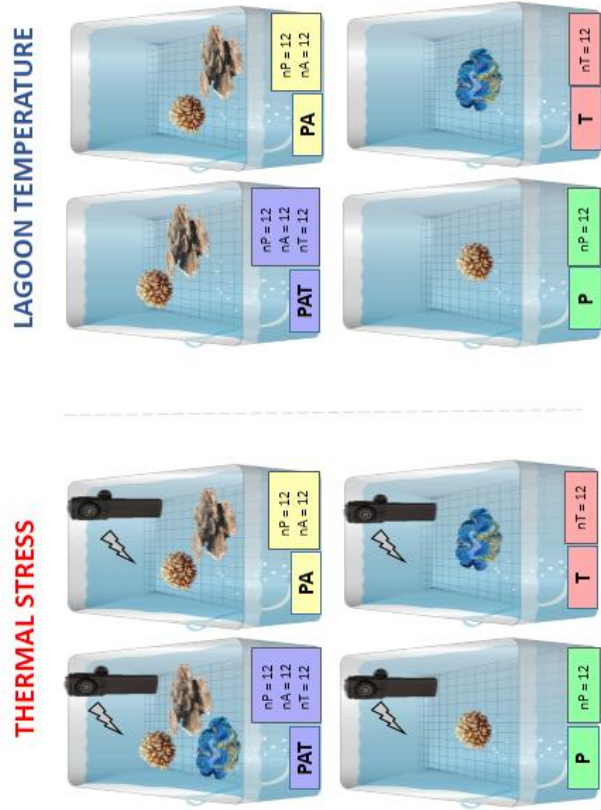
### Supplementary data S1

#### **Table of contents**

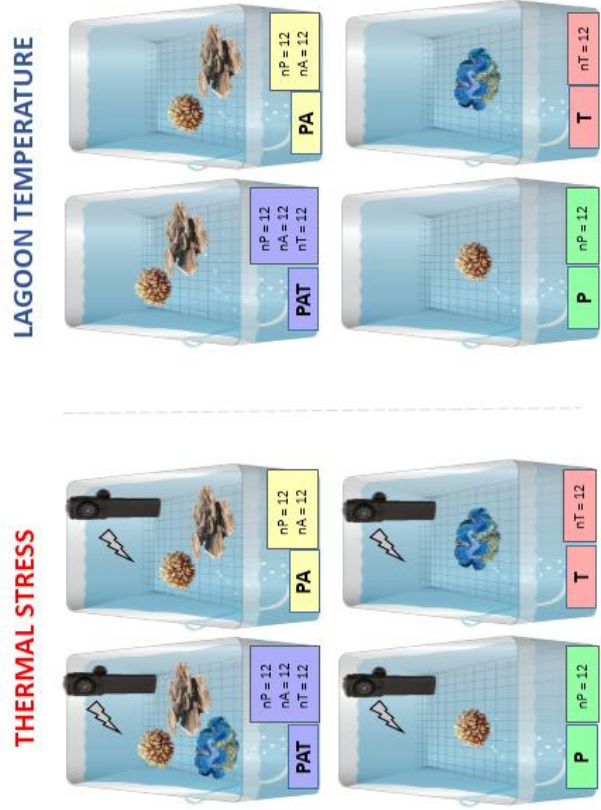
<b>S1a: Experimental design</b> .....	66
<b>S1b: Studied samples</b> .....	68
<b>S1c: Detailed Materials and methods</b> .....	69
<i>Biofouling observation and cytology</i> .....	69
<i>DNA extraction, PCR amplification and sequencing</i> .....	69
<i>Metabolomic sample preparation and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) analysis</i> .....	69
<u>Data analysis</u> .....	71
<i>Cytology data analysis</i> .....	71
<i>Nutrients data analysis</i> .....	72
<i>Metabarcoding data processing pipeline</i> .....	72
<i>LC-MS data pre-processing and metabolomic statistical analysis</i> .....	73


**S1a: Experimental design**

**Experiment A**



**Experiment B**




  
**P:** *Pocillopora damicornis*  
**A:** *Acropora cytherea*  
**T:** *Tridacna maxima*

**S1a: Experimental design**

**Experiment C**



**S1b: Studied samples**

Assemblages	PAT.S.	PAT.L	PA.S	PA.L	P.S	P.L	T.S	T.L	AT.S	AT.L
Day 12 (T0)										
Day 17 (T1)										
Day 19 (T2)										
Day 20 (T3)										

Samples:

- Metabarcoding
- Metabolomics
- Cytology
- Nutrient

Assemblages:

- P: *P. damicornis*
- A: *A. cytherea*
- T: *T. maxima*
- S: Thermal Stress
- L: Lagoon temperature

### **Supplementary S1c:**

#### ***Biofouling observation and cytology***

Throughout the experiments, photographs of the aquarium were taken (days 15 or 19) using a Panasonic DMC-FT5 or a Go-Pro Hero 2 and daily observations of the biofouling were recorded.

At beginning of each experimental run, two sterile microscope cover glasses and two sterile glass slides were disposed in each aquarium. At the end of the experiments, microscope cover glasses were incubated in 7.4% paraformaldehyde for 15 minutes, rinsed twice with PBS X1 (80 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> and 20 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2 H<sub>2</sub>O), and then disposed on a glass slide in one drop of mounting medium (Sigma, Kawasaki, Japan). Cover glasses were finally sealed on with nail polish. Concerning glass slides, a clean cover glass was directly disposed on their surface with a drop of mounting medium at the end of each experiment. All slides were observed using an Axio Imager microscope (Zeiss, Oberkochen, Germany) coupled with an EOS 100D camera, in order to identify the most predominant genera per assemblage.

#### ***DNA extraction, PCR amplification and sequencing***

The polymerase chain reactions were performed in 50 µL volumes with the reaction mixture containing 5 µL GC enhancer, 1 µL of each primer (10 pmol/µL), 30 µl AmpliTaq Gold® 360 PCR Master Mix (Life Technologies, Carlsbad, California) and using 10 to 50 ng of template DNA. The PCR was performed under the follow thermocycling conditions: initial denaturation at 95 °C for 3 min, then 40 or 45 cycles consisting of denaturation at 94 °C for 30 s, annealing at 52 °C for 30 s, elongation at 72 °C for 90 s, and a final elongation at 72 °C for 7 min. PCR products were visualised on a 2% agarose gel.

#### ***Metabolomic sample preparation and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS) analysis***

Input pipe seawater (n=5) together with seawater from aquariums (n=23) were filtered using cartridges Strata-XL 100u polymeric reversed phase (Phenomenex, Torrance, California). Strata-XL cartridges were first conditioned with 40 mL ethanol–chloroform 1/1 (v/v) and then washed with 100 mL distilled water. Six litres of seawater per sample were filtered using an extraction chamber and the cartridges were washed again with 800 mL distilled water. They were left to dry for twenty minutes on the extraction chamber and finally stored at – 80 °C.

Samples were extracted from the Strata-XL cartridges with 10 mL dichloromethane-methanol 7/3 (v/v), then centrifuged 10 minutes at 3500 rpm to separate the residual water. The aqueous phase was discarded, and the organic phase was transferred in a glass hemolysis tube before drying under nitrogen flow and freeze-dried overnight. Samples were stored at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

LC-MS analyses were performed to determine metabolites in the seawater of each assemblages using an LCQ Fleet 2300 with an LC-ESI-MS system equipped with an electrospray ionization source, an Accela LC pump, and an ion trap from Thermo Scientific® (Waltham, Massachusetts). The organic extracts were separated using a Kinetex® C6-phenyl column (1.7  $\mu\text{m}$ , 100 Å, 150 x 2.1 mm; Phenomenex) with a pre-column operating at  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The mobile phase was composed of water (A) and acetonitrile (B) (both with 0.1% v/v formic acid). A linear gradient was applied from 35% B held for 2 min to 65% B in 8 min, from 65% to 100% B in 20 min followed by 5 min of 100% B, then return to 35% B in 5 min and stay 5 min in post-run. The flow rate was 270  $\mu\text{L}/\text{min}$ . The samples were analyzed using a positive ion mode with full scan MS window of 200-2000  $m/z$ , recorded at a scan rate of 2 scans/s, the sample cone voltage was 4 kV, the capillary temperature  $280\text{ }^{\circ}\text{C}$  and the gas flows 29 and 5 arbitrary units (AU) for sheath and auxiliary gas, respectively. A quality control strategy was carried out using a Latin square design for samples, quality control (QC) and methanol blank samples in order to reduce the potential error of instrumental drift. Five QCs and methanol blanks were analysed at the beginning of the sequence, every seven samples and at the end.

To determine the exact mass of secondary metabolites selected, LC-HRMS analyses were performed on a UHPLC system (Vanquish, Thermo Scientific) interfaced to a QTOF mass spectrometer (MaxisImpact I, Bruker Daltonics, Billerica, Massachusetts). The chromatographic separation was conducted on the same column than for LC-MS analyses (Kinetex C6-phenyl column) thermostated at  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ . The mobile phases were (A) water and (B) acetonitrile, both with 0.1% v/v formic acid. The gradient elution program was: 0 min, 50% B; 2 min, 50% B; 15 min, 100% B; 20 min, 100% B; 22 min, 50% B; 30 min, 50%B. The flow rate was 0.5 mL/min and the injection volume 5  $\mu\text{L}$ .

The QTOF MS system was equipped with an electrospray ionization source (ESI) and operated in positive mode over the range  $m/z$  80–1600 with a scan rate of 0.8 Hz. Source parameters were: capillary voltage, 300 V; nebulizer pressure, 43.5 psi ( $\text{N}_2$ ); drying gas, 120 psi ( $\text{N}_2$ ); and drying temperature,  $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ . A QTOF external calibration was daily performed with a sodium formate



solution, and a segment (0.1–0.25 min) in every chromatogram was used for internal calibration, using a calibrant injection at the beginning of every run. The sodium formate calibration mixture consists of 10 mM sodium formate in a mixture of water/isopropanol (v/v, 1:1). The instrument provided a typical resolving power of 36000–40000 during calibration (39274 at  $m/z$  226.1593, 36923 at  $m/z$  430.9137, and 36274 at  $m/z$  702.8636).

To strengthen the putative identification of selected metabolites, LC-HRMS and LC-HRMSMS analyses were carried out on an Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 UHPLC system (composed with a Dionex Ultimate 3000 diode array detector, a Vanquish pump and autosampler, Thermo Scientific, San Jose, CA, USA) with the same column, same elution system, and same operating conditions than for LC-MS analyses. MS analyses were conducted on a Q-exactive Plus Hybrid Quadrupole-Orbitrap mass spectrometer (Thermo Scientific) equipped with a HESI source. Source parameters were as follows : spray voltage positive polarity 3.5 kV, capillary temperature 320 °C, auxiliary gas temperature 200 °C, gas flows 35 and 10 AU for sheath and auxiliary gas respectively. Full MS scans were acquired over the range  $m/z$  200–2000 with a mass resolution of 35,000 and a AGC target at  $1.10^6$ . In MS2, mass resolution was 17,500, AGC target  $2.10^5$ , maximum ion fill time 200 ms, isolation window 4.0  $m/z$ , normalized collision energy 25 and 35. Parallel reaction monitoring was targeted on the VIP mass list. A lock mass ( $m/z$  391.28429-C<sub>24</sub>H<sub>38</sub>O<sub>4</sub>-diisooctylphthalate) has been used as internal standard for mass accuracy enhancement during spectral data acquisition.

### **Data analysis**

As the observed biofouling was similar independently of thermal conditions and replicates, all data issued from same assemblages were pooled for each data analysis.

All statistical analysis were performed with the R v3.4.0 or v3.2.5 (for metabolomics) statistical computing environment (R core team, 2014) with appropriate packages mentioned above.

### ***Cytology data analysis***

A presence/absence matrix of the listed taxa according to the assemblage was created (vegan package). In order to evaluate the community variations between assemblages, we used a classical multidimensional scaling (MDS, stat package) analysis based on a dissimilarity matrix constructed with the Jaccard index (Jaccard, 1912).

### ***Nutrients data analysis***

A Principal Components Analysis on log + 1-transformed environmental data as well as ANOVA and the post hoc Tukey test were performed.

### ***Metabarcoding data processing pipeline***

To produce Operational Taxonomic Units (OTUs) and associated statistics, sequence data were analysed following the Miseq standard operating procedure (SOP) using MOTHUR (v1.39.5; <http://www.mothur.org/>) (Kozich et al., 2013). Briefly, sequence reads were assembled into contigs and amplicons' adaptors were removed. After trimming sequences to improve quality (Quality Control $\geq$ 35), they were split into two different groups according to the genetic markers (bacterial 16S and eukaryotic 18S). Unique sequences were selected and counted for each group. Using K-mer search method, sequences were aligned to the Silva full-length sequences and taxonomy references (Silva-vr128) (Pruesse et al., 2007). Insertions or deletions were removed using the "screen.seqs" command and filtered to remove the overhangs at both ends of the sequences. Unique sequences were selected again to eliminate the potential redundancy created during sequence trimming. A pre-cluster step was used to split sequences in pre-clusters with up to 2 differences between sequences, and the VSEARCH algorithm was employed to remove chimeras (Rognes et al., 2016). Pre-cluster sequences were assigned (classify.seqs) using the Silva database with a cutoff level of 80, and mitochondria and chloroplast assignments were removed with the remove.lineage command. Operational Taxonomic Units were then clustered under a 0.03 cutoff level. The phylotypes of our sequences were determined according to their taxonomic classification. In order to go deeper in the taxonomy of the cyanobacteria, we created a reference database issued from top hit of the chloroplast sequences assigned by Silva database blasted to Genbank (Supplementary S9). Then, we assigned all these OTUs with the newly created database.

To analyze the bacterial and algal communities in the assemblages, lists of OTUs assigned at different taxonomic levels were created and visualized on the Venny website (2.1.0, <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny//index.html>) (Oliveros, 2015).

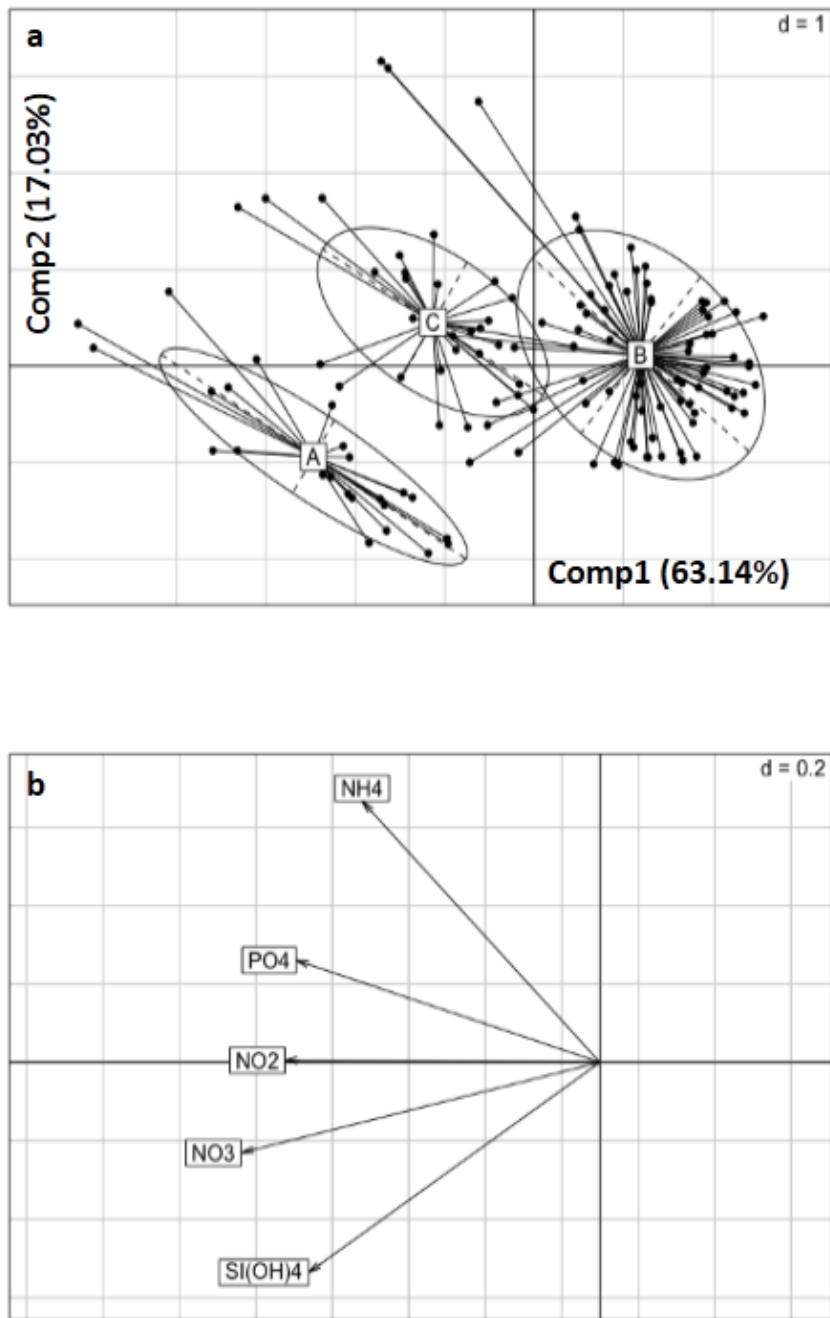
Using the files created with the phylotype analysis, the bacterial function and community assemblages were determined using METAGENassist (Arndt et al., 2012). After filtering our data on interquartile range (Hackstadt & Hess, 2009), 465 variables out of 912 were normalized over sample by sum and over taxa by range scaling. Oxygen requirement and metabolism of bacteria were

visualized with a heatmap using Euclidean distance measure and the Ward's clustering method (Ward, 1963). OTUs and reads Tables used for the analysis are available in the Supplementary S4-S6.

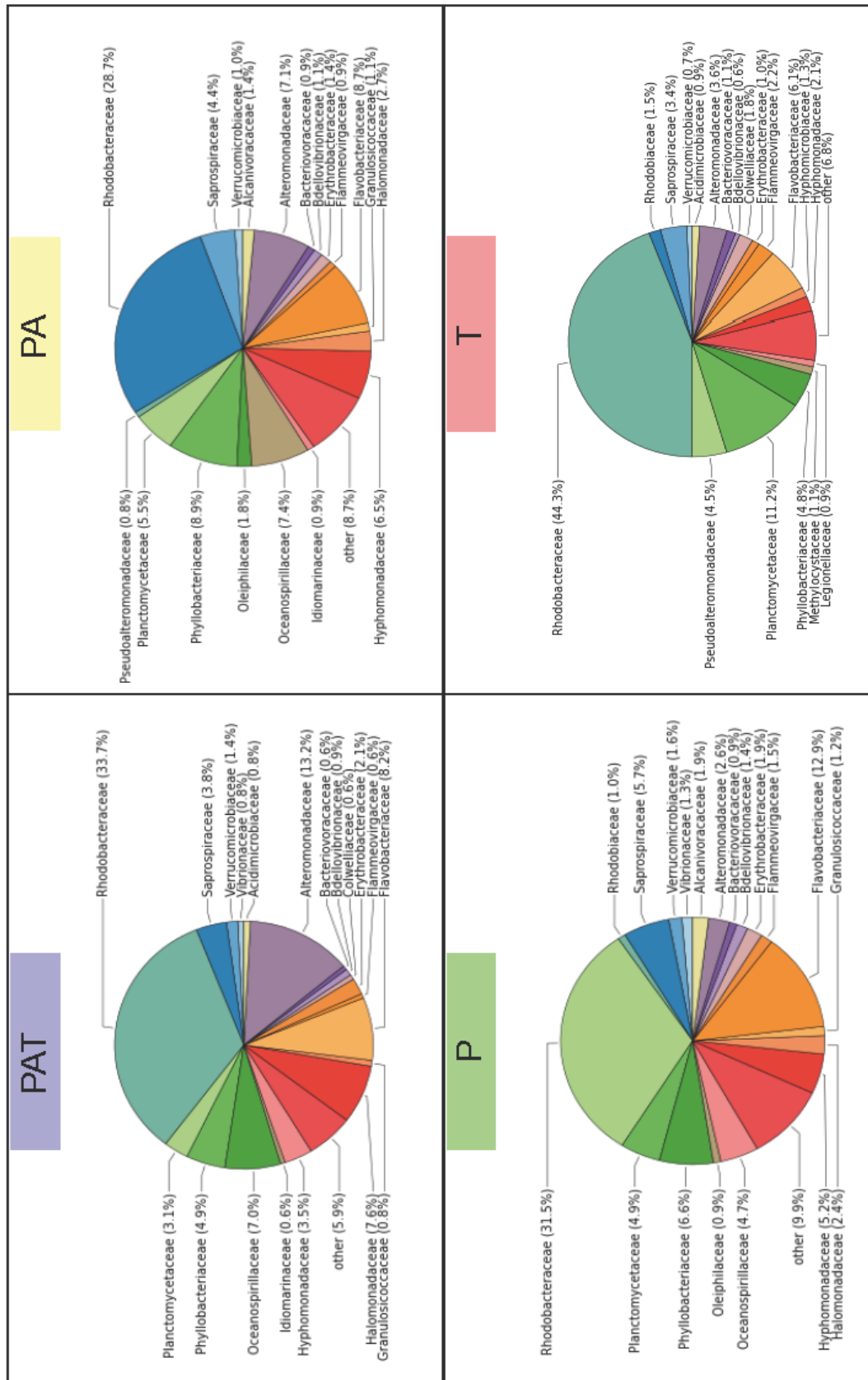
### ***LC-MS data pre-processing and metabolomic statistical analysis***

LC-MS raw data were converted to netCDF files with Xconvert from Thermo Scientific™ Xcalibur™ software (version 2.1). The data were analysed with an XCMS pipeline using R (XCMS version 1.46.0, R version 3.2.5) (Smith et al., 2006). Several steps were necessary for XCMS processing with the following parameters: feature detection (step = 0.2, mzdif = 0.4, fwhm = 30, snthresh = 30), time range reduction (c(360, 1920)), alignment (minfrac = 0.20, mzwid = 0.25, bw = 30 and 10), retention time correction (profstep = 1, method = obiwrap). The data matrix of the variables corresponding to metabolites was made using a diffreport with the XCMS package. Before statistical analysis, quality of the samples was investigated using the quality controls and methanol blanks.

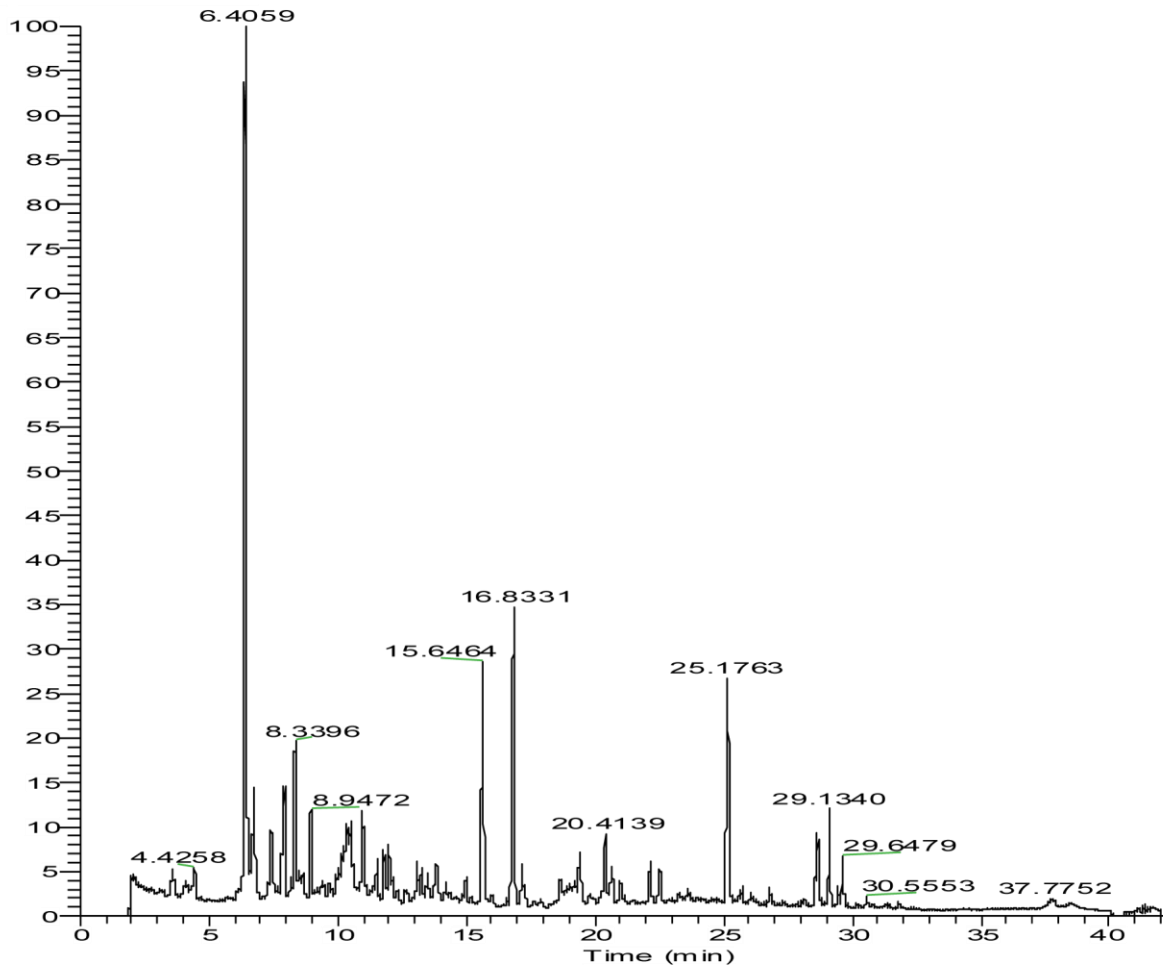
A Partial Least Square Discriminant Analysis (PLS-DA, MixOmics package) (Rohart et al., 2017) was performed to identify the molecules that best distinguished the different assemblages. Quality controls and methanol blanks were removed for the statistical analysis. Metabolites which separate PAT assemblage from the other were selected using a  $\text{cosx} > 0.2$  &  $\text{cosy} > 0.2$ , a  $\text{cosx} > 0.5$  or a  $\text{cosx} > 0.5$  &  $\text{cosy} > 0.001$ . From these metabolites, VIPs (Variable Importance in the Projection) abundant in PAT assemblage were selected from individuals' boxplot.



**Figure S3** : Principal components analysis of seawater nutrients. **(a)** Individual factor map, A,B and C: name of the 3 experiments **(b)** Variables factor map; ammonium (NH<sub>4</sub>), phosphate (PO<sub>4</sub>), nitrate (NO<sub>2</sub>), nitrite (NO<sub>3</sub>), silicate (Si(OH)<sub>4</sub>).



**Figure S7** : Pie chart of bacteria families in each assemblage. PAT: *P. damicornis*, *A. cyhterea*, *T. maxima*; PA: *P. damicornis*, *A. cyhterea*; P: *P. damicornis*; T: *T. maxima*.



**Figure S8** : Representative LC-MS profile of seawater from PAT assemblages. Total ion chromatogram (TIC) from ESI+ analysis on a LCQ Fleet system. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea*, *T. maxima*.







# Chapitre 3

## **Dimethylsulfoniopropionate concentration in coral reef invertebrates varies according to species assemblages**

Pour soumission : Guibert I, Bourdeux F, Bonnard I, Pochon X, Doubousquet V, Raharivelomanana P, Berteaux-Lecellier V, Lecellier G. Dimethylsulfoniopropionate concentration in coral reef invertebrates varies according to species assemblages.

*Journal of Experimental Biology*

## Chapitre 3 : Dimethylsulfoniopropionate concentration in coral reef invertebrates varies according to species assemblages

### Contexte de l'étude et objectifs

Le diméthylsulfoniopropionate (DMSP) est une molécule soufrée qui se retrouve chez les coraux, Symbiodiniaceae et certaines bactéries marines. Parmi ses nombreux rôles biologiques, le DMSP est décrit comme un biomarqueur du stress. Dans le chapitre précédent, il est suggéré que chaque organisme interagit avec et sur les organismes voisins par le biais de la production de molécules avec des effets cumulatifs en fonction des assemblages. Dans ce chapitre, l'étude vise à détecter si ces interactions moléculaires peuvent être source de stress pour les organismes composant l'assemblage. Ainsi, les concentrations de DMSP de coraux et de bédouilles en condition de stress thermique ou non ont été mesurées par RMN dans différents assemblages. De plus, les différents clades de Symbiodiniaceae ont été identifiés pour chaque espèce et assemblage par une analyse de metabarcodes. Par ailleurs, les gènes impliqués dans le cycle de biosynthèse du DMSP chez *T. maxima* ont été recherchés. Ce chapitre a été rédigé sous la forme d'un article intitulé «Dimethylsulfoniopropionate concentration in coral reef invertebrates varies according to species assemblages» en vue d'être soumis à Journal of Experimental Biology.

### Principaux résultats

- ❖ Les taux de DMSP varient en fonction des espèces.
- ❖ Les bédouilles, comme les coraux, possèdent la voie métabolique de biosynthèse du DMSP semblable à celle identifiée chez les algues marines.
- ❖ Les différents clades de *Symbiodiniaceae* et leurs proportions relatives ne sont pas corrélés aux quantités de DMSP mesurées chez les trois holobiontes étudiés.
- ❖ Cette étude montre que les assemblages à espèces multiples entraînent une augmentation de la concentration en DMSP ; ce qui suggère que l'activité de ce composé soufré, et donc le « niveau de stress », pourrait être proportionnel au nombre d'espèces présentes.

# Dimethylsulfoniopropionate concentration in coral reef invertebrates varies according to species assemblages

**Running Head:** Multiple species assemblages drive dimethylsulfoniopropionate concentration

Isis Guibert<sup>1,2,3\*</sup>, Flavien Bourdreux<sup>4</sup>, Isabelle Bonnard<sup>5</sup>, Xavier Pochon<sup>6,7</sup>, Vaimiti Dubousquet<sup>8</sup>, Phila Raharivelomanana<sup>9</sup>, Véronique Berteaux-Lecellier<sup>3,2</sup> and Gaël Lecellier<sup>4,3</sup>.

<sup>1</sup>Sorbonne Université, Collège Doctoral, F-75005 Paris, France

<sup>2</sup>USR3278 PSL CRIOBE CNRS-EPHE-UPVD, LabEx CORAIL, Papetoai, Moorea, French Polynesia

<sup>3</sup>UMR250/9220 ENTROPIE IRD-CNRS-UR, LabEx CORAIL, Promenade Roger-Laroque, Noumea cedex, New Caledonia, France

<sup>4</sup>Université de Paris-Saclay, UVSQ, 45 avenue des Etats-Unis, Versailles Cedex, France

<sup>5</sup>USR3278 PSL CRIOBE CNRS-EPHE-UPVD, LabEx CORAIL, Université de Perpignan, 58 avenue Paul Alduy, 66860 Perpignan, France

<sup>6</sup>Coastal and Freshwater Group, Cawthron Institute, Private Bag 2, Nelson 7042, New Zealand

<sup>7</sup>Institute of Marine Science, University of Auckland, Private Bag 349, Warkworth 0941, New Zealand

<sup>8</sup>Délégation à la recherche, Government of French Polynesia, BP 20981, 98713 Papeete, Tahiti, French Polynesia

<sup>9</sup>UMR241 EIO, Université de la Polynésie française, BP 6570, 98702, Faa'a, Tahiti, French Polynesia

\*Correspondence: Isis Guibert, [isis.guibert@orange.fr](mailto:isis.guibert@orange.fr)

## Summary statement

Various assemblages of corals and giant clams affect their metabolism in dimethylsulfoniopropionate, a key compound of marine sulfur cycle.

## Abstract

Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) is a key compound in the marine sulfur cycle, and is produced in large amount in coral reefs. In addition to Symbiodiniaceae, corals and associated bacteria have

recently been noted as acting in DMSP metabolism. Numerous ecological studies have focused on DMSP concentrations in corals, which led to the hypothesis that increases in DMSP levels might be a general response to stress. Here we used multiple species assemblages of three common Indo-Pacific holobionts, the scleractinian corals *Pocillopora damicornis* and *Acropora cytherea*, and the giant clam *Tridacna maxima* and examined the DMSP concentrations associated with each species, depending on assemblages and thermal conditions. Our work showed that the concentration of DMSP correlated positively with increasing complexity in multiple species assemblages of *A. cytherea* and *T. maxima*. To determine the potential importance of symbiotic dinoflagellates in DMSP production, we then explored the relative abundance of Symbiodiniaceae clades in relation to DMSP levels using metabarcoding, and found no significant correlation between these factors. Finally, our work revealed the existence of an alga-like DMSP pathway in giant clams, suggesting for the first time that, like corals, giant clams may also contribute to DMSP production. Taken together, our results demonstrated that corals and giant clams play important roles in the sulfur cycle. Because DMSP production varies according to species and close environment, this study offers new perspectives for future global sulfur cycling research.

**Keywords:** Corals, giant clams, assemblages, DMSP, Symbiodiniaceae, NMR, metabarcoding

## 1. Introduction

Coral reefs have been described as dimethylsulfoniopropionate (DMSP) hotspots (Broadbent, Jones & Jones, 2002 ; Hill, Dacey & Krupp, 1995). This compound is an important metabolite that plays a central role in the marine sulfur cycle (Raina et al., 2013). It is involved in numerous cellular and ecological processes. Among several known functions, DMSP possesses antioxidant properties (Deschaseaux et al., 2014 ; Downs et al., 2002) as evidenced by cellular increase of DMSP under CO<sub>2</sub> depletion (Sunda et al., 2002). Dimethylsulfoniopropionate has other protective physiological functions, notably serving as an osmolyte and cryoprotectant in marine algae (Kirst et al., 1991 ; Trevena et al., 2000). Acting as a signaling molecule, DMSP is also involved in antiviral defense mechanisms and sulfide detoxification (Evans et al., 2006 ; Havill, Ingold & Pearson, 1985 ; Seymour et al., 2010). Numerous studies have recently drawn attention to variations of DMSP concentration in organisms subjected to environmental changes. Marine algae and/or

coral studies have demonstrated that DMSP concentration changes with light intensity and salinity, as well as in response to oxidative stressors (Van Alstyne et al., 2016 ; Van Rijssel & Gieskes, 2002 ; Sunda et al., 2002 ; Yost, Jones & Mitchelmore, 2010). DMSP is therefore believed to be involved in organisms' stress response, especially in coral species (Aguilar et al., 2017 ; Yost, Jones & Mitchelmore, 2010). Dimethylsulfoniopropionate has also been extensively studied for its role in climate regulation (Rap et al., 2013). Indeed, DMSP can be converted into dimethylsulfide (DMS), a trace gas that is a source of reduced sulfur and which takes part in cloud formation (Nunes et al., 2016 ; Simó, 2001). Consequently, sensitive methodologies such as nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy have been developed for accurate detection and quantification of DMSP (Rap et al., 2013 ; Tapiolas et al., 2013).

Dimethylsulfoniopropionate is widespread in organisms from plants to marine animals; it has been recorded notably in graminoids, rhodophytes, mussels and also in benthic flatworms (Van Alstyne, Schupp & Slattery, 2006 ; Becker et al., 2011 ; Kocsis et al., 1998 ; White et al., 1995). To date, pathways of DMSP biosynthesis have been characterized in higher plants (Hanson et al., 1994 ; Kocsis et al., 1998), marine algae such as Symbiodiniaceae (Keller, Bellows & Guillard, 1989 ; Stefels, 2000) and more recently in corals, with methionine as a common precursor (Aguilar et al., 2017). Higher plants and marine algae use two different DMSP biosynthetic pathways, while corals harbor an algal-like pathway (Aguilar et al., 2017 ; Stefels, 2000). Indeed, similarly to marine algae, coral species such as *Acropora* sp. encode the enzymatic machinery required to biosynthesize DMSP (specific aminotransferase, reductase, methyltransferase and decarboxylase enzymes) (Aguilar et al., 2017 ; Raina et al., 2013). Even though the specific biosynthesis pathway has not yet been studied in other marine organisms, DMSP has been found in other coral taxa (e.g Pocilloporidae, Poritidae) and sessile organisms such as giant clams and anemones (Van Alstyne, Schupp & Slattery, 2006 ; Hill, Dacey & Edward, 2000). The concentrations of DMSP were higher in corals (*Acropora* sp., *Heliopora* sp., *Pavona* sp.) and giant clams (*Tridacna maxima* and *Tridacna squamosal*) than in other animals (Van Alstyne, Schupp & Slattery, 2006 ; Hill, Dacey & Edward, 2000). Dinoflagellates of the family Symbiodiniaceae account for most of the DMSP production in coral reefs (Van Alstyne, Dominique & Muller-Parker, 2009 ; Steinke et al., 2011). This family is currently classified into nine divergent lineages, hereafter referred to as clades A to I (Pochon & Gates, 2010), of which seven have recently been elevated to genus level (LaJeunesse et al., 2018), with clades A-D commonly found in symbiosis with scleractinian corals and giant clams (Neo et al., 2015). Symbiodiniaceae can possess a DMSP-lyase activity leading to the conversion of DMSP into DMS that differs among clades

(Yost & Mitchelmore, 2009). Thus, the presence or proportion of different Symbiodiniaceae clades within a host may influence the variation of DMSP concentration often observed between coral species (Van Alstyne & Puglisi, 2007). Additionally, the differences observed in coral studies could also be the result of other symbionts hosted by corals. Indeed, certain bacteria possess crucial genes for DMSP degradation such as homologs of the *dmdA* gene that are involved in the demethylation pathway or of the *dddD* gene known to be involved in the degradation of DMSP into DMS (Howard et al., 2006 ; Littman et al., 2009 ; Raina et al., 2010 ; Todd et al., 2007). These homologs have been found in Proteobacteria that are common in coral species and are probably also common to all major phylogenetic groups of marine bacteria. The hypothesis that bacteria from coral microbiomes play an important role in the DMSP cycle is supported by Raina and collaborators (2009) demonstrating that a large range of bacteria from *Acropora* species possess methyl-sulfur metabolizing capabilities (Raina et al., 2010). Most of these bacteria have been recently described in microbiomes of giant clams (Guibert et al., Submitted). Moreover, DMSP production in heterotrophic bacteria has also been recently highlighted (Curson et al., 2017).

It is well known that coral symbionts such as dinoflagellates (Symbiodiniaceae) and bacteria vary according to environmental conditions (Cunning, Yost, et al., 2015a ; Sharp et al., 2017a ; Silverstein, Cunning & Baker, 2015 ; Ziegler et al., 2017), and are therefore assumed to account for their host fitness (Rosenberg & Zilber-Rosenberg, 2011). Moreover, some studies have underlined the role of benthic species assemblages on coral reef dynamics (Adjeroud et al., 2013), as well as on giant clam fitness (Guibert et al., Submitted). To better understand how benthic species assemblages could influence their respective fitness, we artificially combined three coral reef builders, two coral species (*Pocillopora damicornis*; Linnaeus, 1758 and *Acropora cytherea*; Dana, 1846), and one giant clam species (*Tridacna maxima*; Röding, 1798), and measured DMSP concentration in each species by NMR spectroscopy. To determine the putative role of Symbiodiniaceae in DMSP production, we assessed the Symbiodiniaceae composition of the three species, using a metagenomics approach. We also examined whether giant clams contribute to DMSP production by scoring *T. maxima*'s transcriptome for enzymes involved in the DMSP biosynthesis. Finally, because DMSP is a stress biomarker, the experiments were performed either at lagoon temperature or under thermal stress.

## 2. Materials and methods

### 2.1 Corals and giant clam collection and experimental design

The coral and giant clam samples as well as the experimental design used in this study were described previously (Guibert et al., Submitted). Briefly, coral species of *A. cytherea* and *P. damicornis* were collected in Moorea lagoon, French Polynesia (17°30'S, 149°50'W, Linareva fringing reef) (Rouzé et al., 2015). For each species, 4 colonies were sampled and nubbinized in 45 small fragments. Giant clams of the species *T. maxima* were purchased from a French Polynesian nursery on Reao Island (18°28'S, 136°25'W; N°Tahiti: 139 519). Corals nubbins and giant clams were reared in a common garden. A CITES permit was obtained to allow for sample export (CITES – FR1698700087 – E).

Experiments in open-circuit aquariums (20 L/h), using assemblages of one *P. damicornis* (P, n = 4 aquariums) or *T. maxima* (T, n = 4 aquariums), two *P. damicornis* + *A. cytherea* (PA, n = 4 aquariums) or *A. cytherea* + *T. maxima* (AT, n = 4 aquariums) and three species *P. damicornis* + *A. cytherea* + *T. maxima* (PAT, n = 4 aquariums), were conducted either under thermal stress (S, n = 10) or at lagoon temperature (L, n = 10). For the aquariums under thermal stress, after 12 days of acclimation (time 0), temperature was increased by 1°C per day until reaching 32°C on day 17. Three samples per coral colony (n = 4x4 nubbins per species) and 12 giant clams were used when required in an assemblage. Corals and giant clams were sampled at days 12 and 17, immediately snap-frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until further analysis.

### 2.2 Metabolite extraction for dimethylsulfoniopropionate quantification

Coral samples were lyophilized overnight and 1 to 1.5 g of powder were obtained for extraction. The extraction protocol was adapted from Tapiolas and collaborators (2013). In total, 51 *A. cytherea* and 54 *P. damicornis* samples were extracted with 3 mL of HPLC-grade methanol (CH<sub>3</sub>OH). After 5 minutes of sonication (35 kHz Transsonic 950/H, Elma, Germany) at room temperature, extracts were shaken for 3 hours. A second extraction with an additional 2 mL of CH<sub>3</sub>OH was performed using 5 minutes of sonication and 5 minutes with shaking. The two extracts were then pooled and dried using a vacuum centrifuge drier (Genevac EC-2 plus, Genevac, UK)

before being stored at -20°C until NMR analysis. Samples were lyophilized overnight and weighed to obtain the quantity extracted.

Giant clam samples (n= 42) were lyophilized overnight and 0.1 to 0.5 g of powder were obtained for extraction. Protocol extraction was adapted from Mohamadi (2014). Solid-liquid extractions were performed using 2 mL of H<sub>2</sub>O and 0.5 mL of HPLC-grade methanol (CH<sub>3</sub>OH) prior to vortexing. After adding 1.5 mL of CH<sub>3</sub>OH and 2 mL of dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), the solutions were mixed using a vortex and sonicated for 10 minutes. The solid-liquid extraction was carried out three times and the three extracts were pooled and centrifuged at 2050 g for 20 min in order to separate the polar and apolar phases. The apolar extracts were pooled as for the polar extracts and lyophilized. In this study, only the hydroalcoholic (polar) extract of the giant clam samples was analyzed.

All extracts were resolubilized in 500 µL of deuterium oxide (D<sub>2</sub>O), vortex mixed and transferred into a 5 mm NMR tube, then analyzed immediately by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy.

### **2.3 Nuclear magnetic resonance data acquisition and dimethylsulfoniopropionate quantification**

All <sup>1</sup>H spectra were recorded on a Bruker Avance 1 spectrometer (Bruker, Germany) at 300 MHz in the same conditions with 128 transients; chemical shifts are reported in ppm from TMS. Signal to noise ratios were determined by NMR analysis on the topspin 2.1 Bruker software.

A calibration curve of DMSP was done under the same conditions as the samples with 128 transients (Figure S1). The Noise region was the same for all samples. The Signal region a (3.41 ppm to 3.34 ppm) was used for *A. Cytherea* and *P. damicornis* samples because there were no overlapping signals (Figure S2). The Signal region b (2.86 ppm to 2.80 ppm) was used for *T. maxima* samples because of overlapping signals on region a and no overlapping signal on region b. Anova and *ad hoc* pairwise comparisons (Tuckey test) were performed using R software (R core team, 2014).



## 2.4 DNA extraction, PCR amplification and sequencing for Symbiodiniaceae composition determination

Coral DNA extractions (n = 2 to 9 per assemblage) were performed following a CTAB-based protocol (Rouzé et al., 2017). Symbiodiniaceae diversity was studied using the internal transcribed spacer 2 (ITS2) genetic marker. The ITS2 region of the nuclear ribosomal array was amplified using the forward primer “its-Dino” (5'-GTGAATTGCAGAACTCCGTG-3') and the reverse primer “ITS2-Rev2” (5'-GCCTCCGCTTACTTATATGCT-3') (Pochon et al., 2001 ; Stat et al., 2009). Illumina™ overhang adaptors were included in the primers as described by Kozich et al. (2013). PCR amplification and sequencing were performed as described in Guibert and collaborators (Submitted).

Symbiodiniaceae composition analysis of *A. cytherea* and *P. damicornis* samples was adapted from the Arif et al. (2014) pipeline in mothur v1.39 (Schloss et al., 2009). An ITS2 database (Arif et al., 2014) was used to annotate the sequences via BLASTN. The relative abundance of Symbiodiniaceae subclades was represented using R (Reshape2 and ggplot2 packages).

## 2.5 Identification of candidate genes

A previous predicted peptide data set of *T. maxima* metatranscriptome (Dubousquet et al., 2016) was blasted against a custom database at a threshold of  $10^{-3}$ . This database contained molluscan and cnidarian sequences extracted from the Protein database of NCBI filtered with the DMSP enzyme names or EC numbers and from the DMSP candidate genes previously identified in *Acropora millepora* (Aguilar et al., 2017) (Supplementary S3, sheet 2). The selected sequences were blasted against the whole NCBI Protein database and all sequences with a top hit with a plant or algae or bacteria taxonomy were removed as false positives (Supplementary S3, sheet 1).

A differential gene expression analysis was then performed from previous RNAseq reads of *T. maxima* under a thermal stress at 32°C for 5 days (Bioproject: PRJNA309928). Transcript quantification of the above selected sequences was performed with RSEM (Li & Dewey, 2011) across 14 samples of the Bioproject (8 biological samples: BOTx and BT0 as the control group and 6 BTx biological samples as the Heating group; Dubousquet et al., 2016) and the differential expression between the 2 groups was performed with the edgeRun package (Dimont et al., 2015) with a number of iterations of 50,000.

### 3. Results

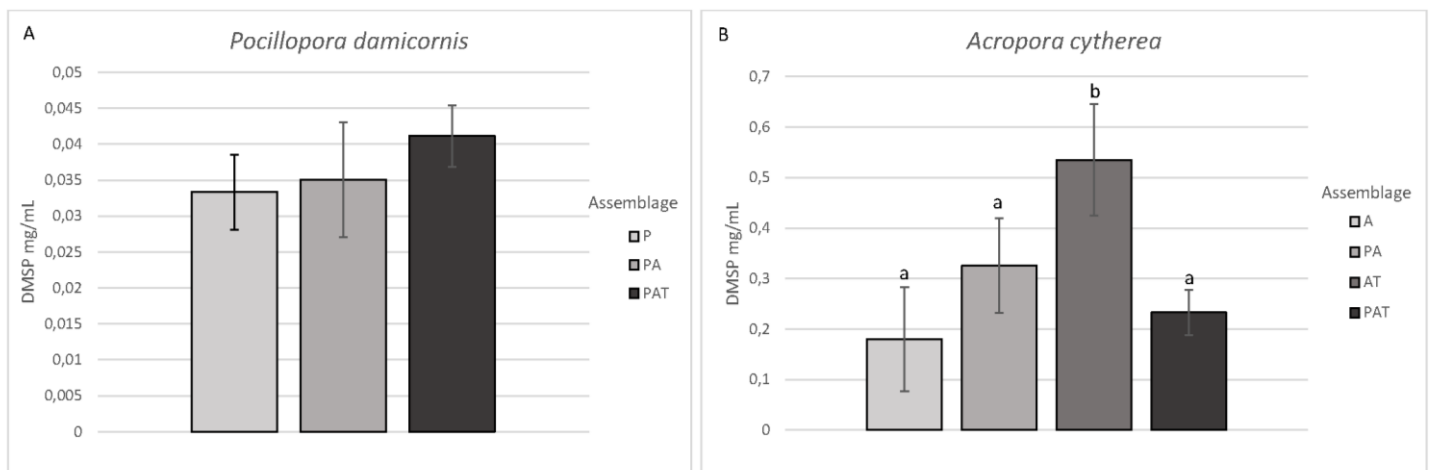
#### 3.1 Analyses of dimethylsulfoniopropionate concentrations according to thermal stress, species and assemblages

Dimethylsulfoniopropionate concentration was evaluated by  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy in the three species: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima* (Supplementary S4). An Anova test (Table 3.1) revealed significant differences between assemblages ( $p = 6.3\text{e-}16$ ) or species ( $p = 2\text{e-}16$ ) with a significant interaction between both of them ( $p < 5\%$ ). Even close to the alpha level, the interaction between assemblages and temperatures was not significant. Thus, the subsequent analyses were performed only between assemblages according to species.

**Table 3.1** : Results of ANOVA test on DMSP concentrations by assemblage, species and temperature. Df: degree of freedom; SumSq: Sum square; Mean Sq: mean square.

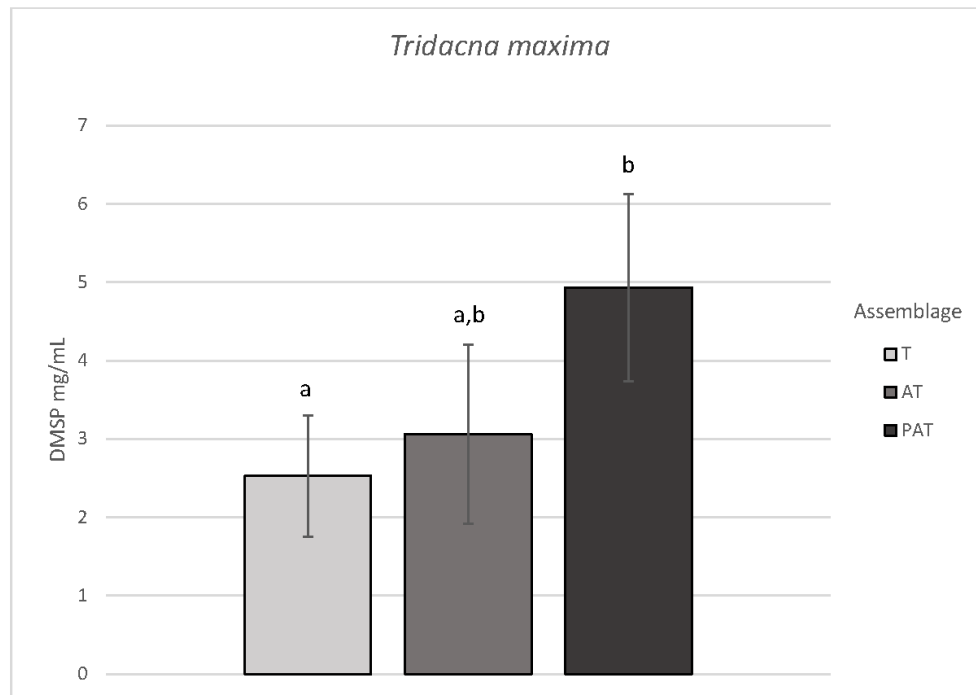
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	p value
Assemblage	5	126,23	25,25	22,120	6.3e-16 ***
Temperature	1	0,01	0,01	0,011	0,9154
Species	2	186,18	93,09	81,567	< 2e-16 ***
Assemblage: temperature	4	10,53	2,63	2,306	0,0617
Assemblage: species	2	19,74	9,87	8,647	0.0003 ***
Temperature: species	2	0,02	0,01	0,009	0,9908
Assemblage: temperature: species	2	0,90	0,45	0,395	0,6745
Residuals	128	146,08	1,14		

In corals, the concentrations of DMSP were from 5 to 10-fold lower in *P. damicornis* than in *A. cytherea* (Tuckey test,  $p < 0.001$ ), with means between 0.10 and 0.12 mg/mL for *P. damicornis* and between 0.54 to 1.60 mg/mL for *A. cytherea* (Figure 3.1). While DMSP concentrations were similar whatever the assemblage in *P. damicornis* (Figure 3.1A), or AT assemblages in *A. cytherea* exhibited a significant higher DMSP concentration (1.60 mg/mL) than the other assemblages (from 0.54 to 0.98 mg/mL; Figure 3.1B).



**Figure 3.1** : Mean concentrations of dimethylsulfoniopropionate (mg/mL) of *Pocillopora damicornis* (A) and *Acropora cytherea* (B) by assemblage. Assemblages: P: *P. damicornis* (nA = 25); A: *A. cytherea* (nB = 12); PA: *P. damicornis* and *A. cytherea* (nA = 16, nB = 16); AT: *A. cytherea* and *T. maxima* (nB = 8); PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima* (nA = 13, nB = 15). Letters in lower case indicate significant differences between means (Tuckey,  $p < 0.05$ ).

In *T. maxima*, mean DMSP concentrations increased with the increasing complexity of assemblages: from 2.52 mg/mL for *T. maxima* alone to 4.93 mg/mL in the PAT assemblage (Figure 3.2). A significant difference was found between T and PAT assemblages ( $p < 0.005$ ).



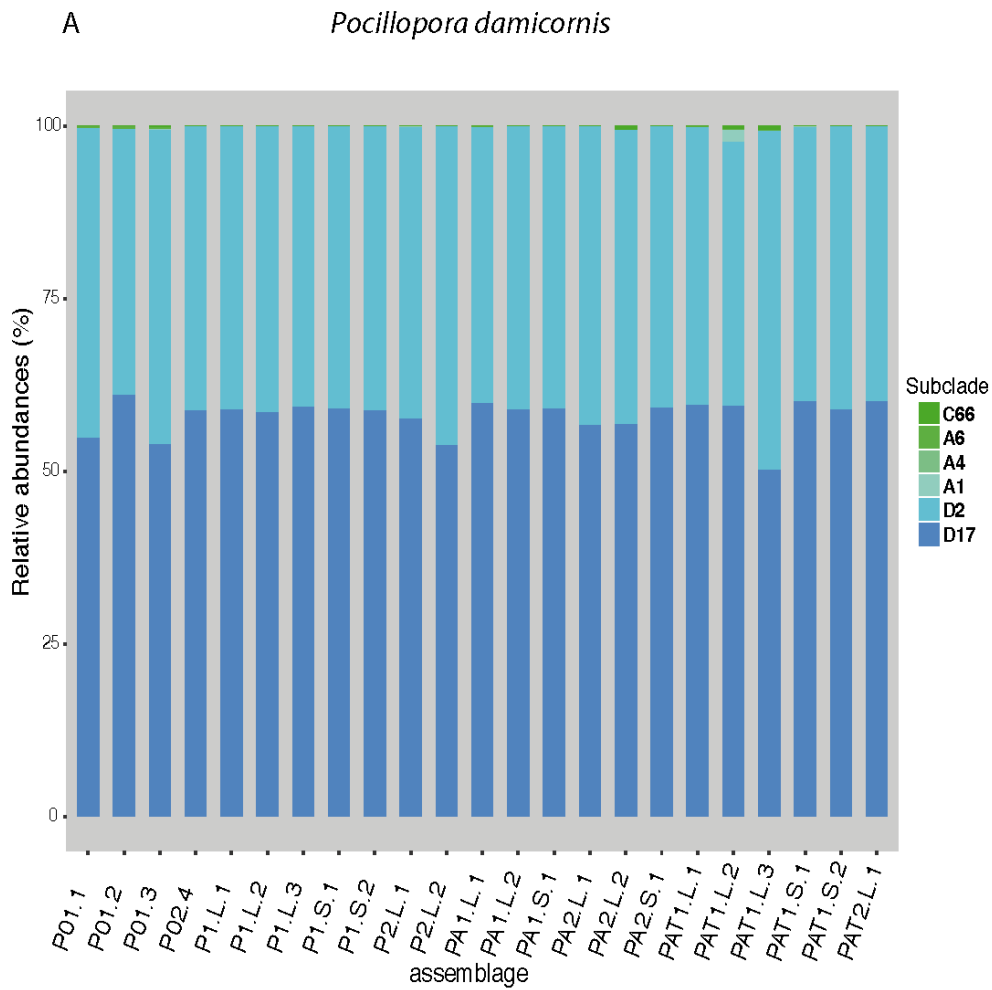
**Figure 3.2** : Mean concentrations of dimethylsulfoniopropionate (mg/mL) of *Tridacna maxima* by assemblage. Assemblages: T: *T. maxima* (n = 19); AT: *A. cytherea* and *T. maxima* (n = 9); PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima* (n = 14). Letters in lower case indicate significant differences between means (Tuckey,  $p < 0,05$ ).

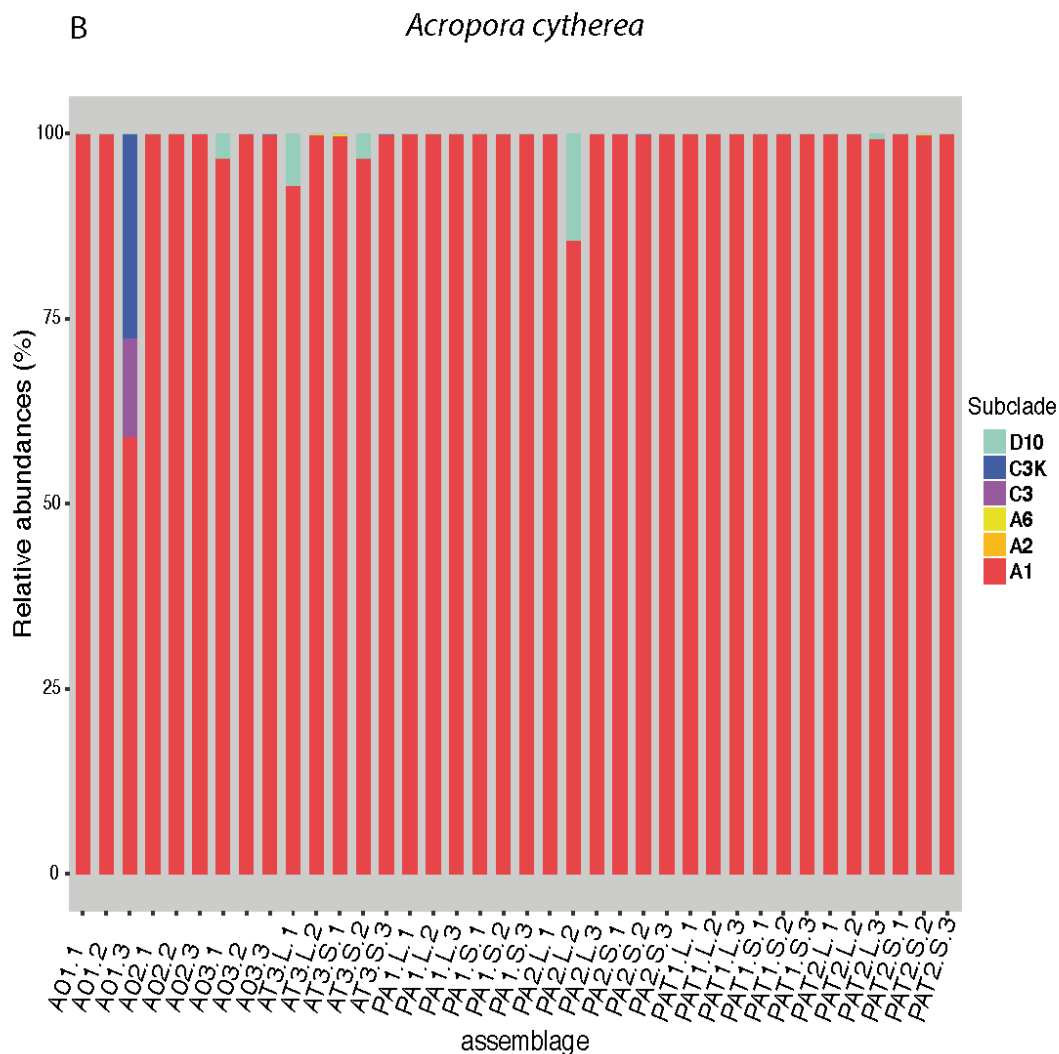
### 3.2 Symbiodiniaceae composition by assemblage

The relative abundances of Symbiodiniaceae clade and subclade genotypes associated with the different assemblages and thermal stress were measured (Figure 3.3 and Supplementary S5). Among the three clades (A, C and D) detected in the samples, clade D was the dominant lineage in *P. damicornis* nubbins (> 90%; Figure 3.3a). Two D subclades were systematically detected in all nubbins. The subclade D17 represented more than half of the relative abundance (58-60%) and subclade D2 ranged from 39 to 44%. Clades A and C were only detected as background clades with subclades A1, A4, A6 and C66 sporadically present in the nubbins, either alone or associated, regardless of temperature levels and/or assemblages.

Three clades (A, C and D) were also detected in *A. cytherea* (Figure 3.3b), although clade A largely dominated in all nubbins (n=38), 24 of which harbored this clade exclusively. Subclade A1 was dominant in the Symbiodiniaceae composition of all *A. cytherea* nubbins, with the presence of A2 subclade only once, or A6, 5 times, both subclades at a background level (< 1%). Clade C was

detected in 9 nubbins at the background level (< 0.2%) except for one nubbin (A01.3 composed of 59% A and 41% C). The two C subclades, C3 and C3K were found concomitantly (in 4 nubbins) or not (in 2 and 3 nubbins respectively). Finally, clade D only represented by subclade D10 was found in 5 nubbins. Two of them were present above the background level (7% and 14%) and 3 below 5%. No correlation between clade, subclade assemblage or temperature was found.





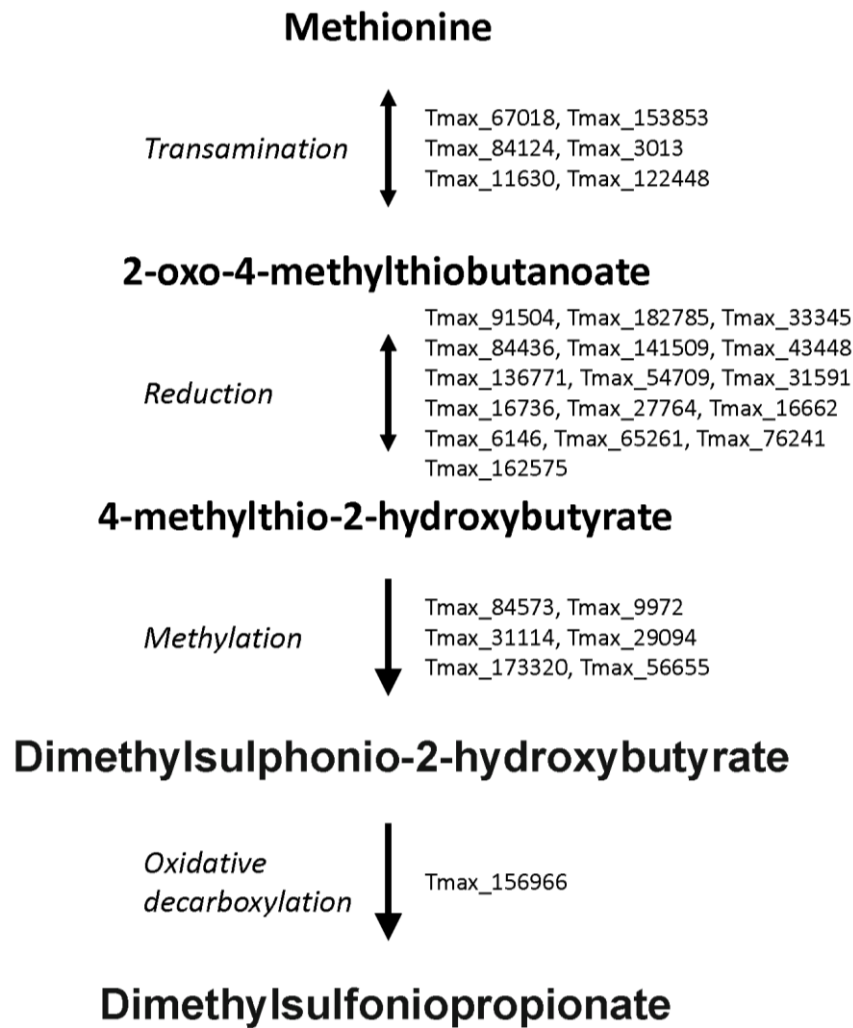
**Figure 3.3** : Relative abundance of Symbiodiniaceae subclades in *Pocillopora damicornis* (A) and *Acropora cytherea* (B). All samples were collected at day 17 except those with a 0 in their name that were collected at day 12. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; A: *A. cytherea*; P: *P. damicornis*; 0: time 0 - day 12; (1-3): number of the experiment; L: lagoon temperature; S: thermal stress; (1-4): number of sample.

### 3.3 Identification of candidate genes for dimethylsulfoniopropionate biosynthesis in

#### *Tridacna maxima*

The *T. maxima* predicted peptide data set blasted against a DMSP enzyme custom database allowed the selection of 475 predicted peptides potentially involved in pathways of DMSP biosynthesis (Supplementary S3 and S6, sheet 2). After a functional clustering, all these peptides with possible roles in DMSP synthesis were found with at least 1 homolog per step. Among them, 69 were significantly (False Discovery Rate < 0.05) up-regulated during a thermal stress

(Supplementary S6, sheet 1), More precisely, 29 peptides homolog to those of the coral pathway were detected: 6 homologs of AT1 and AT5 for transamination step, 16 for the reduction step, 6 homologs of REDOX2,3,4,6 and 10, for the methylation step of METHYL 1 and 2, and one homolog of DECARB3 for the decarboxylation step (Figure 3.4).



**Figure 3.4 :** Putative pathway of dimethylsulfonylpropionate biosynthesis in *Tridacna maxima*. ID numbers of *T. maxima* peptides are indicated for each step.

## 4. Discussion

### 4.1 Dimethylsulfoniopropionate concentrations differ according to species and assemblages

Dimethylsulfoniopropionate concentrations varied among the three invertebrate species analyzed. In *A. cytherea*, DMSP concentrations were 5 to 10-fold higher than in *P. damicornis*. A previous study performed on Pocilloporidae and Acroporidae, measured a DMSP density in *P. damicornis* and *A. millepora*, respectively of 0.333 nmol/mm<sup>2</sup> and of 2.473 nmol/mm<sup>2</sup> (Tapiolas et al., 2013). Also, similar DMSP densities were found in three different species from the Pocilloporidae family, while it is highly variable in Acroporidae. Consistent with these studies, our results showed DMSP concentrations in *A. cytherea* to be 10-fold higher than in *P. damicornis*. As we used different approaches for NMR quantification for corals and giant clams, we were not able to compare concentrations between corals and clams. However, beyond differences between species, our results disclosed that the DMSP concentrations might vary in a species according to its close environment, namely interspecies assemblages.

Except for *P. damicornis*, in which DMSP concentrations remained similar whatever their environmental context (P, PA and PAT), significant variations of DMSP concentrations were observed in *A. cytherea* and *T. maxima*. However, these variations occurred in different environmental contexts. For *A. cytherea*, DMSP concentration increased in AT assemblages but not in PAT assemblages, whereas for *T. maxima*, it increased in PAT assemblages but not in AT. In corals, increases in DMSP have been associated with direct sunlight, thermal stress, air exposure or oxidative stressors (Deschaseaux et al., 2014 ; Raina et al., 2013 ; Yost, Jones & Mitchelmore, 2010). These previous results suggested that holobionts respond to stress through increasing their DMSP concentration (Yost, Jones & Mitchelmore, 2010). For *A. cytherea*, the increase in the AT assemblage could suggest that the presence of giant clams in its close environment could act as a stressor, whereas the association between the two corals does not lead to any increase in DMSP. However, when *P. damicornis* is also present in the assemblage (PAT), this stressor effect disappeared. Therefore the presence of *P. damicornis* prevents the clams' negative effect, highlighting possible yet uncharacterized interspecies communication responses. It is also known that, depending on the species, the increase in DMSP is not always observed under the same stressors. For example, a decrease in salinity leads to an increase of DMSP in *A. millepora*, but no similar effect was observed in *Stylophora pistillata* and *P. damicornis* (Gardner et al., 2016). In the present study, contrary to *A.*



*cytherea*, the DMSP concentration in giant clams was increased in PAT assemblages rather than in AT assemblages. For giant clams, the presence of the two coral species seems to be more stressful than the sole presence of *A. cytherea*. We have previously shown that giant clam mortality occurred in both AT and PAT assemblages (Guibert et al., Submitted). However, giant clam DMSP increases occurred only in PAT assemblages; we did not find any correlation between health status and DMSP levels in giant clams. Taken together, these results suggest that “health status” (i.e. declining clams) does not lead to a significant change in DMSP level. Further, our short thermal stress period, one day at 32°C, was not long enough to detect a significant DMSP increase following a thermal stress. Altogether, our results suggest that the observed increase in DMSP per assemblage might be due to the involvement of this multifaceted sulfur compound in the sulfur cycle rather than in response to a temperature increase.

#### **4.2 Dimethylsulfoniopropionate production**

The variations in DMSP concentrations among Symbiodiniaceae symbiotic species have been essentially attributed to the types and densities of their symbiotic dinoflagellates (Van Alstyne, Schupp & Slattery, 2006). Significant DMSP variation also exists between Symbiodiniaceae clades (Van Alstyne, Schupp & Slattery, 2006 ; Deschaseaux et al., 2014 ; Yost & Mitchelmore, 2009). Consequently, the types and densities of Symbiodiniaceae possibly impact the DMSP concentrations in holobionts, by translocating DMSP to their hosts (Hill et al., 2004 ; Yost & Mitchelmore, 2010). Nevertheless, DMSP concentrations and the types of clades in our samples are not correlated. While the DMSP concentration of *A. cytherea* was high in AT assemblages and low in PAT assemblages, the relative abundance of clade A and D were similar in both assemblages. If Symbiodiniaceae are indeed responsible for the DMSP concentrations, we have to assume that their density should be higher in *A. cytherea* nubbins in AT than in other assemblages. For *P. damicornis*, no significant differences in DMSP levels were observed between the assemblages and subclades D17 and D2 were simultaneously present in all nubbins as permanent clades. If Symbiodiniaceae are the major DMSP producers, the similar DMSP concentration between assemblages would imply that Symbiodiniaceae densities did not vary in *P. damicornis* between assemblages. Moreover, as DMSP concentrations in *P. damicornis* nubbins are between 5 and 10-fold lower than in *A. cytherea* nubbins, and since clade D has been described as a lower DMSP producer than clade C (Deschaseaux

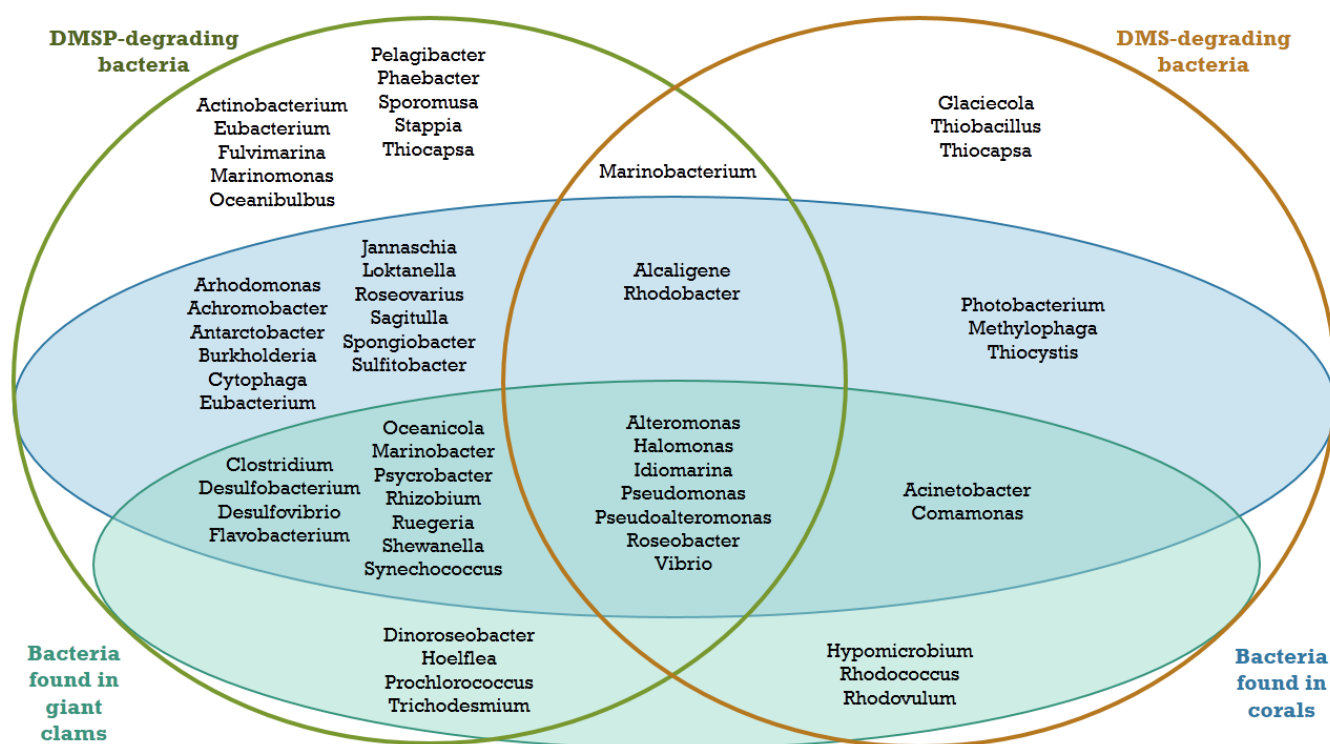
et al., 2014), we can also hypothesize that clade D is a lower DMSP producer than clade A, a permanent clade in *A. cytherea*. Another non-exclusive alternative hypothesis for explaining the difference in DMSP production between *A. cytherea* and *P. damicornis* relies on a difference in Symbiodiniaceae densities between these two coral species, as observed in our previous work, *A. cytherea* harboring more Symbiodiniaceae than *P. damicornis* in Moorea (Rouzé et al., 2017). Regarding giant clams, as for corals, Symbiodiniaceae types are not sufficient to account for DMSP concentrations variations between assemblages. At the individual level, giant clams in the same assemblage, with either 99% of clade C66 or 99% of clade A6 did not exhibit any difference in DMSP concentration (Guibert et al., Submitted). Thus, even if the Symbiodiniaceae are well known DMSP producers, our results suggested that Symbiodiniaceae genotypes did not account for the DMSP variations observed in our study.

In addition to Symbiodiniaceae, corals and giant clams harbor numerous other associated organisms, including various families of bacteria. Raina and collaborators (2010) reported that more than 65% of the bacteria genera playing a role in DMSP/DMS metabolism can be found in association with coral species. The bacterial communities associated within the giant clams of this experiment have already been characterized (Guibert et al., Submitted). By overlapping the data from both studies, we demonstrated that a large number of bacteria genera described as involved in the degradation of DMSP or DMS in corals was also associated with giant clam *T. maxima* (Figure 3.5). This suggests that in giant clams the microbial communities are also structured by the presence of DMSP and indicate that bacteria could influence the DMSP concentration in these organisms. However, as for Symbiodiniaceae, no link was found between bacterial composition and assemblages in *T. maxima*. Altogether our results suggested that the variation of DMSP concentration observed did not result from Symbiodiniaceae or bacteria genera present in the sample, but might result from differences in Symbiodiniaceae densities.

However, recent studies have highlighted the existence of DMSP biosynthesis pathways in animals, and in corals notably (Aguilar et al., 2017 ; Raina et al., 2013). The increase in DMSP concentration measured in some assemblages might also be due to an enhancement in DMSP biosynthesis by the hosts, including giant clams. Relevantly, here we show for the first time that, similarly to corals, the giant clam *T. maxima* possesses genes involved in the DMSP biosynthesis pathways. Candidate genes selected from a *T. maxima* de novo transcriptome, beyond being homologous to DMSP alga-like pathway genes (top blast hit) are also overexpressed during a thermal stress event. As at least one candidate gene for each step of the alga-like pathway has been

found, we assume that the whole pathway is present in *T. maxima*. To decipher the involvement of each holobiont partner in the DMSP biosynthesis, future studies on holobiont gene expression by assemblage are now required.

Our study on the influence of interspecies assemblages on DMSP concentrations in corals and giant clams revealed notable differences, not only depending on the assemblage but also between species. We showed that DMSP concentration in *P. damicornis* is similar regardless of the assemblage involved, while it is higher in *A. cytherea* when associated with *T. maxima* and higher in *T. maxima* when associated with both corals. Our results also show that hosted Symbiodiniaceae in corals, and for *T. maxima*, Symbiodiniaceae and bacteria genera, cannot account for the DMSP differences observed. Finally, as for corals, the highlighting of the alga-like DMSP biosynthesis pathway in *T. maxima* suggested that the host might importantly contribute to DMSP production.

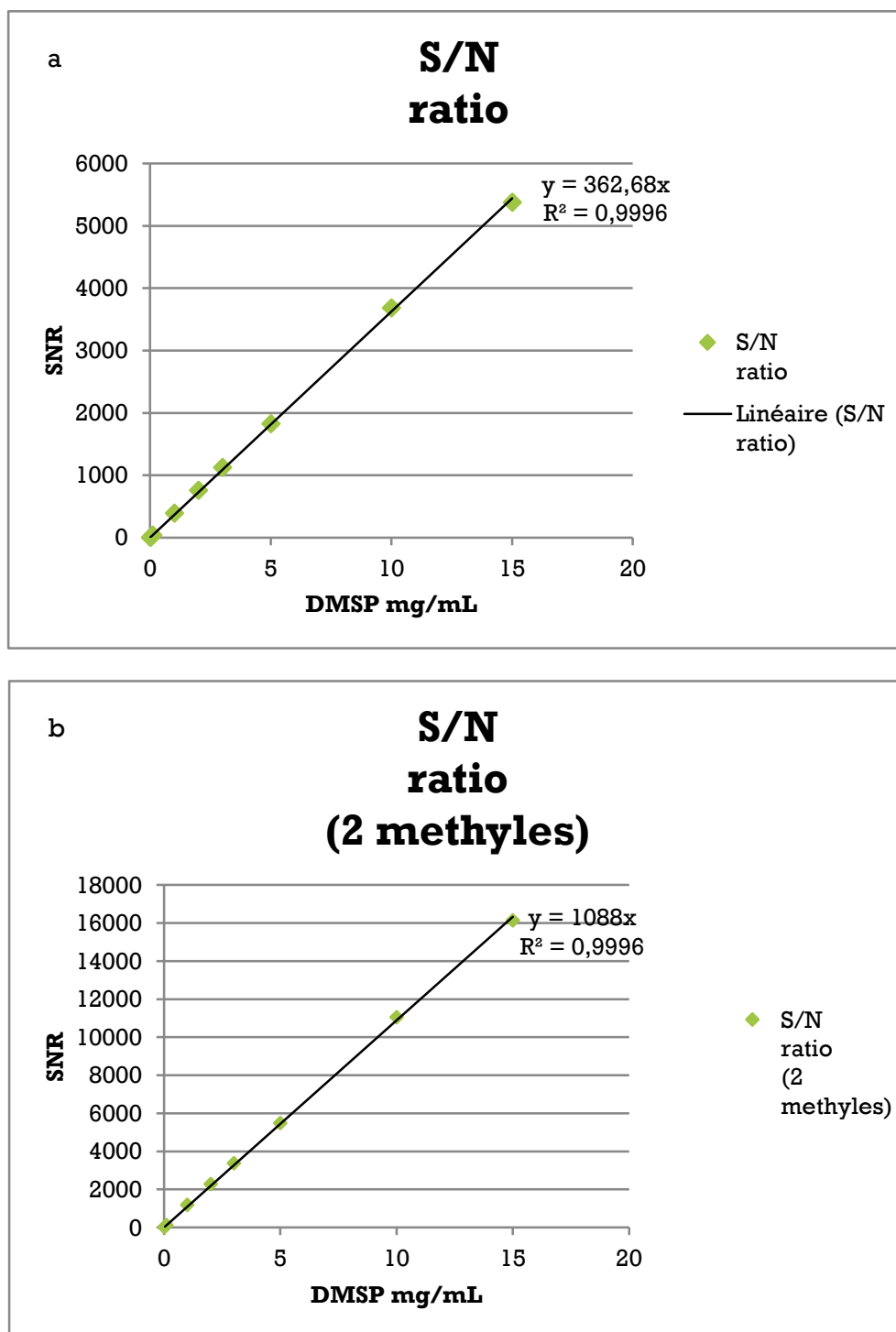


**Figure 3.5 :** Marine bacterial genera degrading DMSP or DMS in the water column, associated or not with corals and/or giant clams. DMSP-degrading (green circle) and DMS-degrading (brown circle) found in the water column, bacterial genera found in corals (blue oval) and in giant clams (green oval) (adapted from (Guibert et al., Submitted; Raina et al., 2010)).

## **Acknowledgements**

This work was supported by LabexCorail “SynTox”. I. Guibert was a fellow of Sorbonne University – Doctoral School 129. We acknowledge the InterContinental Resort & Spa Moorea and the Moorea Dolphin Center for providing a coral garden protected area. We also thank Franck Lerouvreur, Pascal Ung, Ewen Morin and all the students from CRIOBE who helped us in the field. We are much indebted to Roy Benyon for English improvement of the manuscript.

Supplementary data



**Figure S1** : Calibration curve of DMSP for corals (a) or giant clams (b). Signal to noise ratios (SNR) were determined by NMR analysis from standard DMSP concentration.

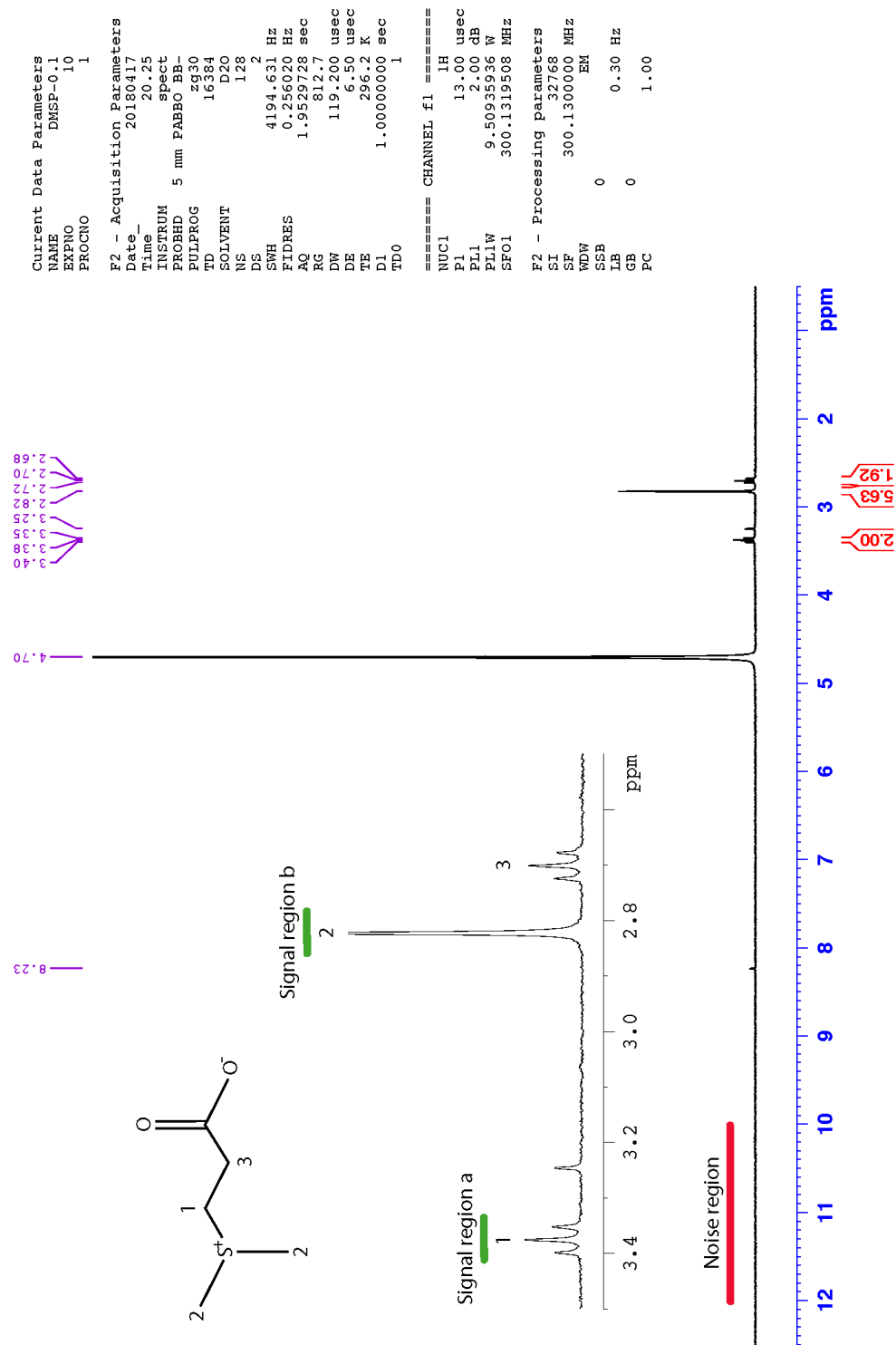


Figure S2 : . Representation of the Noise region, the Signal region a (used for *Acropora Cytherea* and *Pocillopora damicornis*) and b (for *Tridacna maxima*).







# Chapitre 4

## Metagenomics reveals distinct microbiotypes in the giant clams *Tridacna maxima*

Pour soumission : Guibert I, Lecellier G, Gergely Torda, Pochon X, Berteaux-Lecellier V.  
Metagenomics reveals distinct microbiotypes in the giant clams *Tridacna maxima*.  
*Microbiome Journal*

## Chapitre 4 : Metagenomics reveals distinct microbiotypes in the giant clams *Tridacna maxima*

### Contexte de l'étude et objectifs

Les micro-organismes composant les holobiontes participent au « fitness » de leurs hôtes par l'apport de propriétés spécifiques. Ainsi, les Symbiodiniaceae sélectionnés par l'hôte entraînent des tolérances différentes de l'holobionte aux conditions environnementales ; il en est de même pour les bactéries associées. Sachant que *T. maxima* se comporte différemment lorsqu'il est seul ou associé à une autre espèce (e.g *P. damicornis*, Dubousquet, 2014), dans ce chapitre, les micro-organismes composant l'holobionte *T. maxima*, Symbiodiniaceae et bactéries, ont été caractérisés dans différentes conditions afin de déterminer si les assemblages et/ou un stress thermique influent sur la composition du microbiome des bécotiers ainsi que sur leur état de santé. Ce chapitre a été rédigé sous la forme d'un article intitulé « Metagenomics reveals distinct microbiotypes in the giant clams *Tridacna maxima* » en vue d'être soumis à Microbiome.

### Principaux résultats

- ❖ Les assemblages influencent l'état de santé des bécotiers : La présence d' *A. cytherea* entraîne une augmentation de la fréquence de mortalité des bécotiers.
- ❖ Le stress thermique couplé à la présence d' *A. cytherea* accentue la fréquence de mortalité des bécotiers.
- ❖ La diversité des Symbiodiniaceae n'est pas corrélée aux assemblages et au stress thermique, mais la présence de Symbiodiniaceae clade D pourrait être liée à la taille des bécotiers.
- ❖ Au moins trois microbiotypes existent chez les bécotiers, indépendamment des assemblages et du stress thermique.
- ❖ La composition des communautés bactériennes varie en fonction de l'état de santé des bécotiers et permet la distinction d'un microbiotype spécifique aux bécotiers agonisants.

# Metagenomics reveals distinct microbiotypes in the giant clams *Tridacna maxima*

**Running Head:** Metagenomics reveals distinct microbiotypes in the giant clam *Tridacna maxima*

Isis Guibert<sup>1,2,3\*</sup>, Gaël Lecellier<sup>2,3,4</sup>, Gergely Torda<sup>5</sup>, Xavier Pochon<sup>6,7</sup> and Véronique Berteaux-Lecellier<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup>Sorbonne Université, Collège Doctoral, F-75005 paris, France

<sup>2</sup>USR3278 PSL CRIOBE CNRS-EPHE-UPVD, LabEx CORAIL, Papetoai, Moorea, French Polynesia

<sup>3</sup>UMR250/9220 ENTROPIE IRD-CNRS-UR, LabEx CORAIL, Promenade Roger-Laroque, Noumea cedex, New Caledonia, France

<sup>4</sup>Université de Paris-Saclay, UVSQ, 45 avenue des Etats-Unis, Versailles Cedex, France

<sup>5</sup>ARC, Center of Excellence for Coral Reef Studies, James Cook University, Townsville, QLD, 4811, Australia

<sup>6</sup>Coastal and Freshwater Group, Cawthron Institute, Private Bag 2, Nelson 7042, New Zealand

<sup>7</sup>Institute of Marine Science, University of Auckland, Private Bag 349, Warkworth 0941, New Zealand

\*Correspondence: Isis Guibert, isis.guibert@orange.fr

## Abstract

**Background:** Giant clams and scleractinian (reef-building) corals are keystone species of coral reef ecosystems. The basis of their ecological success is a complex and fine-tuned symbiotic relationship with microbes. While the effect of environmental change on the composition of the coral microbiome has been heavily studied, we know very little about the composition and sensitivity of the microbiome associated with clams. Here we explore the influence of increasing temperature on the microbial community (bacteria and dinoflagellates from the family Symbiodiniaceae) harbored by giant clams, maintained either in isolation or exposed to other reef species. We created artificial benthic assemblages using two coral species (*Pocillopora damicornis* and *Acropora cytherea*) and

one giant clam species (*Tridacna maxima*) and studied the microbial community in the latter using metagenomics.

**Results:** Our results led to three major conclusions. First, the health status of giant clams depended on the composition of the benthic species assemblages. Second, we discovered distinct microbiotypes in the studied *T. maxima* population, one of which was disproportionately dominated by Vibrionaceae and directly linked to clam mortality. Third, neither the increase in water temperature nor the composition of the benthic assemblage had a significant effect on the composition of the Symbiodiniaceae and bacterial communities of *T. maxima*.

**Conclusions:** Altogether, our results suggest that at least three microbiotypes naturally exist in the studied clam populations, regardless of water temperature. These microbiotypes plausibly provide similar functions to the clam host via alternate molecular pathways as well as microbiotype-specific functions. This redundancy in functions among microbiotypes together with their specificities provides hope that a giant clam population can tolerate some levels of environmental variations such as increased temperature. However, a particular attention as to be drawn on their surrounding benthic species, according to which clams can succumb to infections by pathogenic bacteria, especially in increased water temperature context.

**Keywords:** Giant clams, Assemblages, Microbiome, Symbiodiniaceae, Microbiotype

## 1. Introduction

Giant clams (*Hippopus* and *Tridacna* spp.) are emblematic and keystone species of Indo-West Pacific coral reef ecosystems. These filter-feeding organisms play a wide range of ecological roles: their calcium carbonate shell is a substrate for colonization, they provide food for numerous reef organisms, act as shelter and contribute to primary production on the reef (Cabaitan, Gomez & Aliño, 2008 ; Neo et al., 2015). As some other marine bivalves, giant clams live in close partnership with unicellular dinoflagellate algae from the family Symbiodiniaceae (Gosling, 2015b ; Yonge, 1975) that satisfy the majority of the clams' carbon and energy needs (Klumpp & Griffith, 1994 ; Trench, Wethey & Porter, 1981). This partnership with Symbiodiniaceae is established horizontally (acquired from environment), only after metamorphosis from larva to juvenile (Fitt & Trench, 1981). Formerly known as nine clades of a single dinoflagellate genus (*Symbiodinium*) (Pochon & Gates, 2010) seven clades have recently been re-classified to genus level (LaJeunesse et al., 2018). Microbiome profiling

studies using the ITS2 and/or the LSU nuclear and chloroplast markers have recorded clade A (genus *Symbiodinium*), C (genus *Cladocopium*), D (genus *Durusdinium*) and G (genus *Gerakladium*) in giant clams (DeBoer et al., 2012; Ikeda et al., 2017 ; Pochon et al., Submitted). These genera are also found in cnidarians (Pochon, LaJeunesse & Pawlowski, 2004 ; Pochon, Putnam & Gates, 2014), but in contrast to the typically intracellular symbiosis with corals, algae reside in the clams' siphonal mantle extracellularly (Fitt & Trench, 1981).

Giant clams can harbor one single algal genus or an assemblage of multiple genera (Baillie, Belda-Baillie & Maruyama, 2000 ; DeBoer et al., 2012). While *Tridacna crocea* is predominantly associated with one genus at a time (*Symbiodinium*, *Cladocopium* or, less frequently, *Durusdinium*), *Tridacna squamosa* and *Tridacna maxima* typically harbor multiple genera simultaneously (DeBoer et al., 2012 ; Ikeda et al., 2017), except in the Red Sea where they exclusively associate with *Symbiodinium spp.* (Pappas et al., 2017). This species-specific symbiosis with Symbiodiniaceae can be disrupted by environmental change that – similar to corals – can lead the expulsion or apoptosis of the photosynthetic symbionts (Buck, Rosenthal et Ulrich, 2002 ; Leggat, 2004 ; Dubousquet 2014 ; Dubousquet et al., 2016) and cause clam bleaching and, subsequently, death. Indeed, mass bleaching and mortality of giant clams related to thermal stress and high solar irradiance, often associated with extreme low tides, has been recorded in the past (Adessi, 2001 ; Andréfouët et al., 2013). Bleaching has been widely studied in Scleractinian, and it is understood that the composition of the Symbiodiniaceae community in corals shifts in response to environmental change (Berkelmans & van Oppen, 2006 ; Cooper et al., 2011 ; Cunning, Yost, et al., 2015b ; Silverstein, Cunning & Baker, 2015). This plasticity of the eukaryotic microbial community, combined with specific physiological traits of each Symbiodiniaceae genus (Baker 2003 ; Pochon et al., 2010 ; Rowan, 1998) gave rise to the Adaptive Bleaching Hypothesis (originally developed for corals; Buddemeier and Fautin, 1993) that posits that the coral holobiont can adapt to rising ocean temperatures through the flexibility of the symbiotic algal community. Contrary to corals, however, only few studies have scrutinized the nature of the symbiosis between Symbiodiniaceae and tridacnids. DeBoer and collaborators (2012) showed that giant clams that harbour *Symbiodinium* (formerly known as 'clade A'), a typically temperature and light resistant algal genus in corals, are more sensitive to thermal and light stress than those that harbour *Cladocopium*. This result is, however, inconsistent with a recent report on tridacnids of the Red Sea, where *Symbiodinium* was found as the unique algal genus in clams that lived in high temperature and salinity conditions (Pappas et al., 2017). The role and flexibility of the Symbiodiniaceae assemblage of giant clams

needs clarification in order to better understand the threats and adaptive capacity of these important reef organisms.

It is increasingly recognized that symbiotic microorganisms other than Symbiodiniaceae also greatly contribute to the physiological performance of complex marine metaorganisms, such as the coral holobiont (Rosenberg et al., 2007), or, plausibly, giant clams. The prokaryotic microbial community, for example, plays a significant role in the coral's nutrient cycling and immune defense (reviewed in Bourne et al. 2017) (Welsh et al., 2017). Similarly to the Symbiodiniaceae community, the composition of the prokaryotic microbial community changes with the coral's environment (Al-Dahash 2013 ; Ziegler et al., 2016 ; 2017 ; Bourne et al., 2008 ; Thurber et al., 2009), and as a counterpart of the Adaptive Bleaching Hypothesis (Buddemeier & Fautin, 1993), the Coral Probiotic Hypothesis has been proposed (CPH, Reshef *et al.*, 2006). Bacterial community changes are not always beneficial, however: opportunistic pathogenic taxa, such as Vibrionaceae, can colonize corals and lead to coral disease and the death of the colony (Rosenberg & Ben-haim, 2002 ; Rouzé et al., 2016 ; Ziegler et al., 2016). While the abundance of metagenomic studies on corals describes the diversity of microbes in the coral holobiont, their exact roles and functions remain unclear (Sharp et al., 2017b ; Wegley et al., 2007). Even less is known about the prokaryotic community of bivalves, where most microbial studies have focused on pathogenic bacteria that cause disease or mortality (Gosling, 2015a ; Travers et al., 2014 ; Zannella et al., 2017) or pose a human health risk via direct consumption (Gosling, 2015a ; Le Guyader et al., 2006 ; Kaas et al., Submitted). Bivalves filter through large volumes of water for feeding and hence accumulate a diverse suite of microorganisms that are not directly associated with their normal physiology, making it particularly challenging to understand the composition and role of the clam core microbiome. Assuming a similarly important role of microbes in the healthy functioning and adaptive capacity of the bivalve holobiont as recognized in corals, it is critical to better understand what influences the composition of the clam microbiome.

While it is well known that the initial establishment of the giant clams-Symbiodiniaceae symbiosis occurs horizontally in the first stage of giant clam's life, (Fitt & Trench, 1981 ; Jameson, 1976) nothing is known about its bacterial community. Much more is known in corals where it is well assumed that a bacterial part of its microbiome is vertically transmitted (transmitted to the offspring, i.e. (Ainsworth et al., 2015 ; Leite, Leão, et al., 2017) and another part is acquired horizontally and therefore highly depends on the environment (i.e., (Al-Dahash & Mahmoud, 2013 ; Leite et al., 2018). The Symbiodiniaceae composition of the reef benthos has been found to influence the

Symbiodiniaceae composition of some symbiotic metazoans, e.g. nudibranchs (Wecker et al., 2015), suggesting that the environmental microbiome (dinoflagellate algae as well as prokaryotes) that is available for uptake might also greatly depend on existing benthic communities. To test the importance of the benthic composition on giant clam microbial composition, and hence their microbial community and physiological performance, we created artificial coral reef assemblages comprising of the clam *T. maxima* and two common Indo-Pacific scleractinian coral species, *Pocillopora damicornis* and *Acropora cytherea*. The fitness of *T. maxima* was monitored in different assemblages under control and increase water temperature condition and its associated bacterial and algal communities was followed using metagenomics

## 2. Materials and methods

### 2.1 Sample collection

Four colonies of each of two coral species, *Acropora cytherea* and *P. damicornis* were collected in the Moorea lagoon, French Polynesia (Linareva site, 17°30'S, 149°50'W; Rouzé et al., 2015) and fragmented in 45 nubbins each. Two cohorts of giant clams *T. maxima* (cohort 1: 4 cm-long individuals, n = 150; and cohort 2: 8 cm-long individuals, n = 70), were bought from a clam nursery (N° Tahiti: 139 519) on Reao Island (18°28'S, 136°25'W). The coral nubbins and giant clams were kept on underwater racks for eight months in the Moorea lagoon, at the coral nursery ground of the InterContinental Moorea Resort & Spa. Each species was kept on a separate rack at 3 m depth below chart datum, the racks separated by 3 m to minimize interspecific interactions during this acclimation period.

We constructed artificial benthic assemblages for increase water temperature experiments composed of either one, two or three species: *P. damicornis* + *A. cytherea* + *T. maxima* (PAT); *A. cytherea* + *T. maxima* (AT) and *T. maxima* alone (T) (Supplementary S1). To set up the experiments, 12 specimens of each species of a given assemblage were used: three nubbins from each of four distinct colonies per coral species and 12 giant clam individuals. Two open-circuit 40 L aquaria were set up per assemblage, with seawater pumped directly from Moorea's Opunohu bay at a flow rate of 20 L/h and filtered through two successive filters of 60 microns to remove sediments. After 12 days of acclimation (T0) at lagoon temperature (nearly 27°C, L), one aquarium per assemblage was

maintained at lagoon temperature while a thermal stress (S) was applied to the second one. The temperature was increased by 1°C per day until reaching 32 °C at day 17 (T1). The water temperature was controlled in each aquarium with the Biotherm pro system (Hobby, Stukenbrock, Germany). Temperature data were recorded every 10 minutes with Temperature/Light Data Loggers (P/N U22-001, Onset, Bourne, Massachusetts; or Ruskin, Ottawa, Canada). All aquaria received the same light using LED lamps (PlanetPro ELOS, Verona, Italy), following a diurnal cycle.

Giant clams were sampled at days 12 (T0) and 17 (T1) by dissecting a small piece of the mantle and storing these in 70 % ethanol at - 20 °C until molecular analysis. The remaining part of the clams' mantle were stored at - 80 °C for further studies. The experiments were performed twice for each benthic species assemblage, spaced two weeks apart, except for the AT assemblage which was also studied in duplicate but during the same experiment. For each of the experiments, the aquaria were randomly chosen to avoid a potential aquarium effect. The health of giant clams was monitored daily by visual observations (closure reactivity, color, mantle aspect) and mortalities were recorded

## 2.2 DNA extraction, PCR amplification and sequencing

Genomic DNA of giant clams from the main study were isolated following the bench protocol for animal tissues (DNEasy Blood and Tissue Kit, Qiagen) after rinsing the sample with sterile freshwater. Three different genetic markers were selected for metabarcoding. The bacterial 16S ribosomal RNA gene's V3/V4 region was amplified with the "Bakt\_341" forward (5' - CCTACGGGNGGCWGCAG- 3') and "Bakt\_805" reverse (5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC- 3') primers (Marcelino & Verbruggen, 2016). Symbiodiniaceae diversity was analyzed with two genetic markers. The ITS2 region of the nuclear ribosomal array was amplified with the "itsD" forward (5' - GTGAATTGCAGAACTCCGTG- 3') and "ITS2-Rev2" reverse (5' -GCCTCCGCTTACTTATATGCT- 3') primers (Pochon et al., 2010). The chloroplast cp23S-rDNA domain V region was amplified with the forward primer "23SHYPERUP" (5' -TCAGTACAAATAATATGCTG- 3') and the reverse primer "23SHYPERDN" (5' -GTTATCGCCCCAATTAAACAGT- 3') (Manning & Gates, 2008). The primers were modified to include Illumina™ overhang adaptors as described by Kozich et al. (2013).

Polymerase chain reactions were performed using 10 to 50 ng of template DNA in 50 µL volumes with the reaction mixture containing 5 µL GC enhancer, 1 µL of each primer (10 pmol/µL) and 30 µL AmpliTaq Gold® 360 PCR Master Mix (Life Technologies, Carlsbad, California). After a



denaturing step of 3 min at 95 °C, 40 or 45 cycles consisting of 30 s at 94 °C, 30 s at 52 °C and 90 s at 72 °C, were performed followed by a final elongation at 72 °C for 7 min. Amplicons were visualised on a 2% agarose gel. Samples were purified using magnetic beads (Agencourt Bioscience Corporation, Grand Rapids, Michigan), quantified (Qubit® 2.0 Fluorometer, Invitrogen, Carlsbad, California) and diluted to 3 ng/μL concentration. Internal quality controls were used with two amplicons from DNA samples of *Ciona savignyi* and *Asterias amurensis* (Pochon et al., 2013). Nuclease-free UltraPure™ water (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts) was used as negative control. The final HTS library preparation and paired-end run sequencing (MiSeq Illumina™ platform, 2 x 250 pb) was performed by New Zealand Genomics Ltd. at the University of Auckland. Raw data are available on Bioproject, n° PRJNA494911 (NCBI).

### 2.3 Microbial community analysis

Prokaryotic microbial community analyses were performed using the MiSeq standard operating procedure (SOP) in MOTHUR (v1.39.5; <http://www.mothur.org/>) to produce Operational Taxonomic Units (OTUs) (Kozich et al., 2013). Briefly, sequence reads were assembled into contigs and amplicon adaptors removed, then trimmed to improve quality (Quality Control  $\geq$  35) and splitted into two groups based on genetic markers (bacterial 16S and 23S). Unique sequences were selected and counted for bacterial Operational Taxonomic Units (OTUs). Sequences were aligned to the Silva full-length sequences and taxonomy references (Silva-vr128) using the K-mer search method (Pruesse et al., 2007). The “screen.seqs” command was used to remove insertions or deletions and the sequences were filtered to remove the overhangs at both ends. Unique sequences were selected again to eliminate the potential redundancy created during sequence trimming. A pre-cluster step (2 bp difference) was performed, and the VSEARCH algorithm was employed to remove chimeras (Rognes et al., 2016). The Silva database was used to assign sequences with a cutoff level of 80, and mitochondria and chloroplast assignments were removed. Operational Taxonomic Units were then clustered under a 0.03 cutoff level and phylotypes were determined by taxonomic classification.

To analyze the alpha diversity, samples were subsampled to 8,911 sequences and then clustered into OTUs with a cutoff of  $\leq$  0.03. Chao1 and Inverse Simpson indices were performed in MOTHUR (Chao, 1984 ; Schloss et al., 2009 ; Simpson, 1949). To assess the putative functional

profiles of the bacterial community of giant clams, METAGENassist (Arndt et al., 2012) was used for automated taxon-to-phenotype mapping. During METAGENassist's own data processing, data filtering was based on interquartile range (Hackstadt & Hess, 2009) and variables with over 50 percent zeroes were removed. The 288 remaining variables (OTUs) were normalized over sample by sum and range scaling. Data were analyzed for "metabolism by phenotype" using a Pearson distance measure and an average clustering method to visualize the top 28 features in a heatmap.

Analysis of the Symbiodiniaceae community were adapted from Arif et al. (Arif et al., 2014). Sequences were annotated via BLASTN using an ITS2 database (Arif et al., 2014) and a custom 23S database (Supplementary S2) (Takabayashi et al., 2012).

## 2.4 Statistical analysis

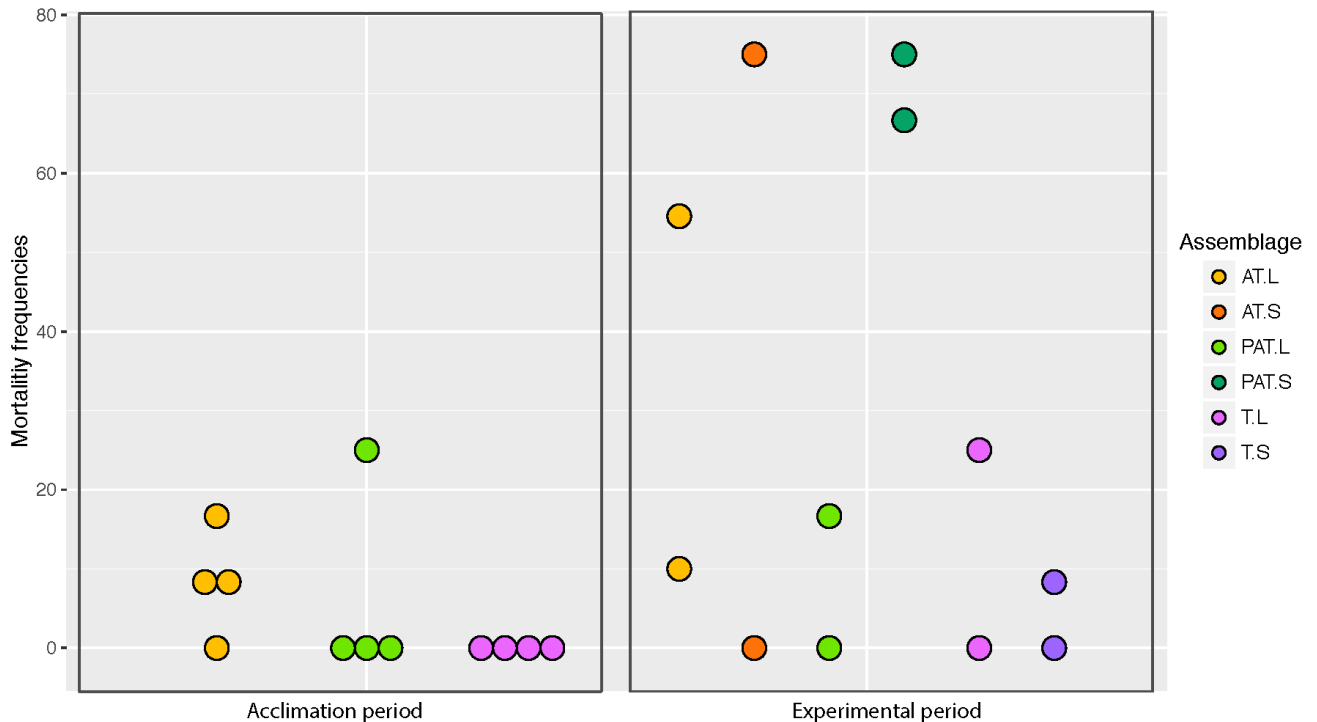
All statistical analyses were performed using R v3.4.2 (Oliveros, 2015 ; R core team, 2014). For the bacterial correlation analysis, the raw counts per sample were homogenized to counts per million and centered. Pairwise correlation was performed with the Pearson method and clustered with the Ward method. The relative abundances of bacterial families were performed following Röthig et al. (Röthig *et al.*, 2017) and using Venny for determining the presence/absence of bacterial families (2.1.0, <http://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny//index.html>). The Symbiodiniaceae composition was analyzed following the same workflow as for bacterial relative abundances. Data manipulation and visualization was done using the R packages (reshape2 and ggplot2). A logistic regression was performed on the giant clams health data.

## 3. Results

### 3.1 Mortality of giant clams

Mortalities of *T. maxima* were observed during the experiments (Figure 4.1; Supplementary S3). During the 12 days of the acclimation period no mortality was observed in T assemblages (four aquaria), some mortalities of clams were observed in three of four aquaria with AT assemblages and one of four aquaria with PAT assemblages. Logit analysis did not reveal that the death frequencies are significant between assemblages ( $p = 0.9263$ ) with a range of response (death probability) from  $8.3 \cdot 10^{-2}$  to  $6.3 \cdot 10^{-2}$  and  $5.4 \cdot 10^{-10}$  for AT, PAT and T respectively. During the five days following

acclimation, all assemblages suffered from clam mortality with frequencies varying according to thermal conditions (L or S) and assemblage composition ( $p = 0.003$ ). Mortality was highest for AT (L and S) and PAT (S) assemblages with a range of response of 0.33, 0.39 and 0.71 respectively.



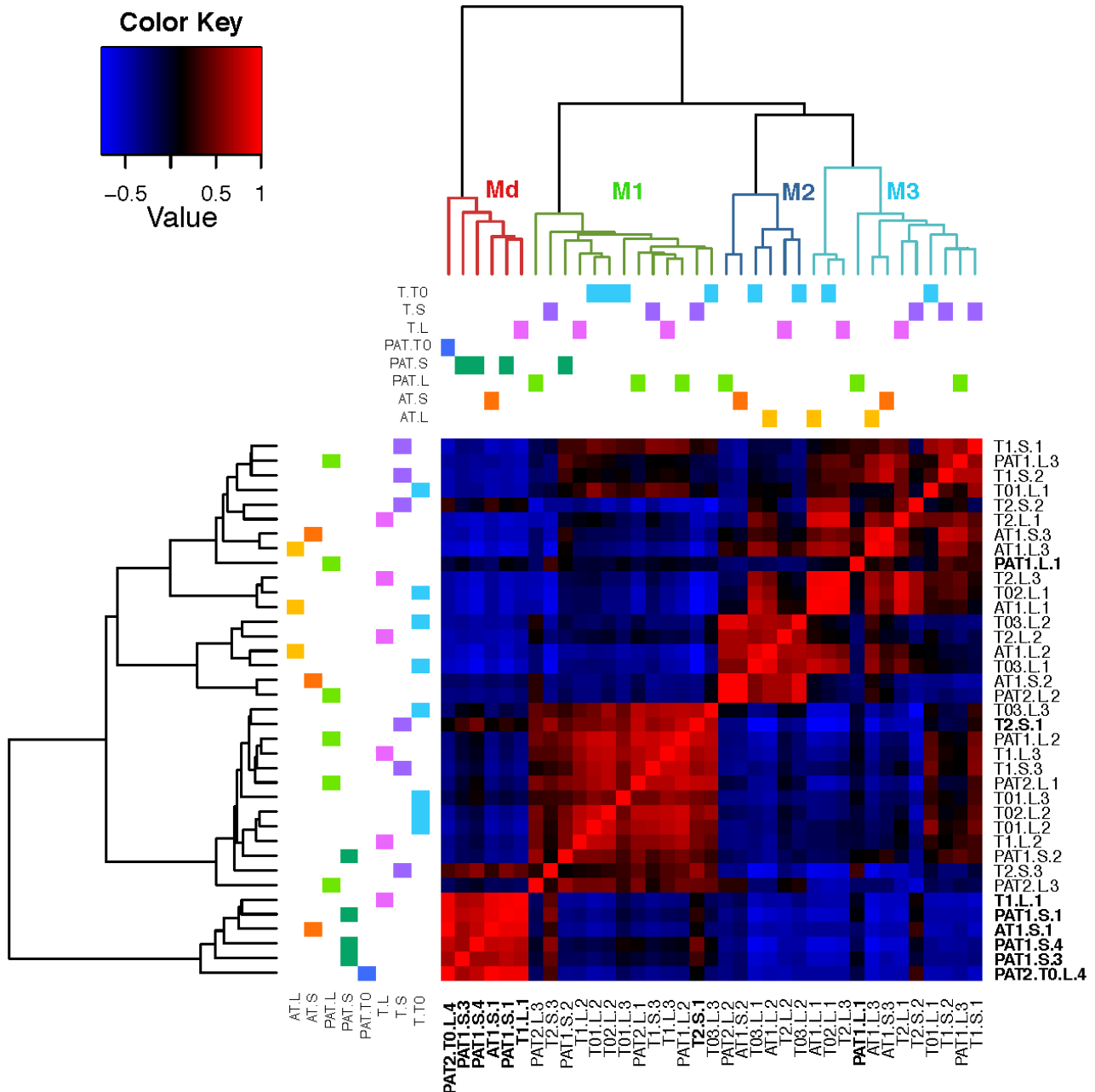
**Figure 4.1 :** Mortality frequencies of giant clams per aquarium during the acclimation period and during the stress period, according to the assemblages. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; PT: *T. maxima*; T: *P. damicornis* and *T. maxima*; L: lagoon temperature; S: thermal stress. Each circle represents one aquarium.

### 3.2 The prokaryotic microbiome of giant clams

The microbiome of 37 giant clams was characterized. Due to unexpected mortality, the sample numbers differ among experimental conditions ( $n = 8$  in T and 1 in PAT at the end of acclimation, T0; and  $n = 3$  in AT.L ;  $n = 3$  in AT.S;  $n = 6$  in PAT.L;  $n = 4$  in PAT.S;  $n = 6$  in T.L and  $n = 6$  in T.S at day 17, T1). Eight individuals showed obvious signs of declining health and therefore were further notified as “dying”.

The 16S DNA gene libraries yielded 716,100 sequences from which 693,609 sequences (8,911-33,115 per sample) were selected with an average length of 448 bp. The selected sequences were assigned to 43 phyla subdivided in 415 bacterium families (Supplementary S4). The pairwise correlation of microbiomes among samples yielded four distinct microbial community clusters,

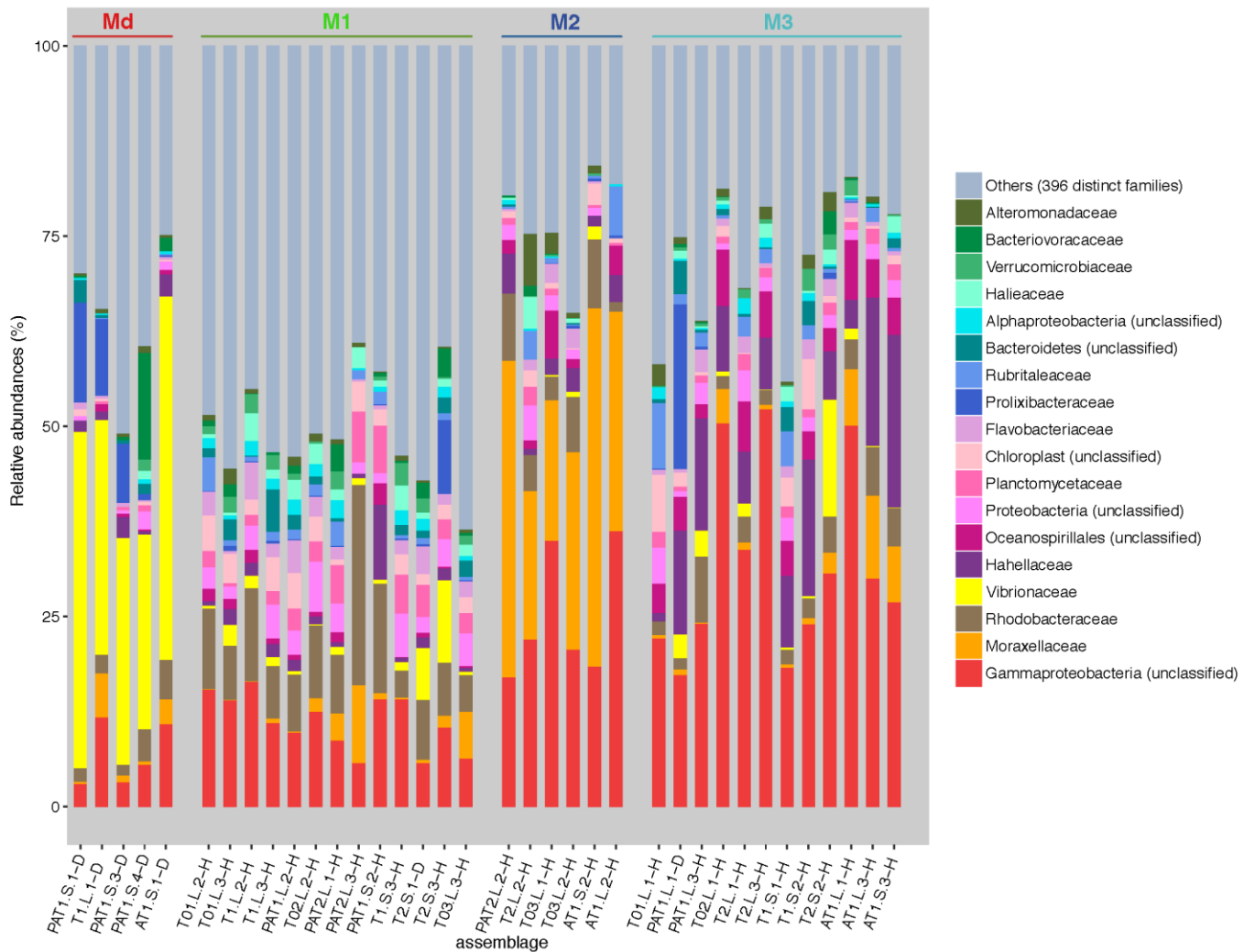
hereafter referred to as microbiotypes (Figure 4.2). The microbiotypes did not correlate with neither the composition of the experimental assemblages (chi-squared test, Monte Carlo  $p = 0.14$ ), nor the thermal conditions ( $p = 0.12$ ). However, one microbiotype (Md) was exclusively characteristic to dying clams (six of eight dying clams shared this microbiotype). Two further dying clams that did not cluster under Md, but instead fell into the microbiotype M1 (T2.S.1) and M3 (PAT1.L.1), while also sharing similarities with Md, as well as two other healthy clams from the S treatment (T2.S.2; T2.S.3).



**Figure 4.2 :** Heatmap from the pairwise correlation between microbiomes of clams in experimental benthic communities, and at control and elevated temperatures. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; T: *T. maxima*; (1-3): experiment number; L: lagoon temperature; S: thermal stress; (1-4): sample number. M: microbial community clusters (microbiotypes) Md: dying clam microbiotype ; 1-3: number of clam microbiotype.

Bacterial species richness measured by chao1 (Supplementary S5) ranged from 1,205 to 5,934 per sample, with the lowest average bacterial species richness found in M1 (1,682). The average index of bacterial species richness was slightly higher in Md (2,386) and increased greatly in M3 and M2 (3,057 and 3,294 respectively). Thus, significant differences were determined between M1 and M2 – M3 ( $p_{M1:M2} = 0.0072$ ;  $p_{M1:M3} = 0.0056$ ). Species diversity, measured by the Inverse Simpson Index (Supplementary S5), ranged from six to nine in microbiotypes M1, M3 and Md and was significantly different from M2 (56.5 ;  $p_{M1:Md} = 0.0018$ ;  $p_{M1:M2} = 0.0013$ ;  $p_{M1:M3} = 0.0005$ ).

The most abundant bacterial family in the Md microbiotype was Vibrionaceae, and within that, *Catenococcus spp.*, present in five samples (T1.L1; PAT1.S.1; PAT1.S.3; PAT1.S.4 and PAT2.T0.L.4; Figure 4.3). The M1 microbiotype was characterized by a higher proportion of Rhodobacteraceae and a lower proportion of Gammaproteobacteria. The M2 microbiotype was dominated by Moraxellaceae and an unclassified Gammaproteobacteria. The M3 microbiotype harbored a higher level of Gammaproteobacteria combined with a higher abundance of Hahellaceae.

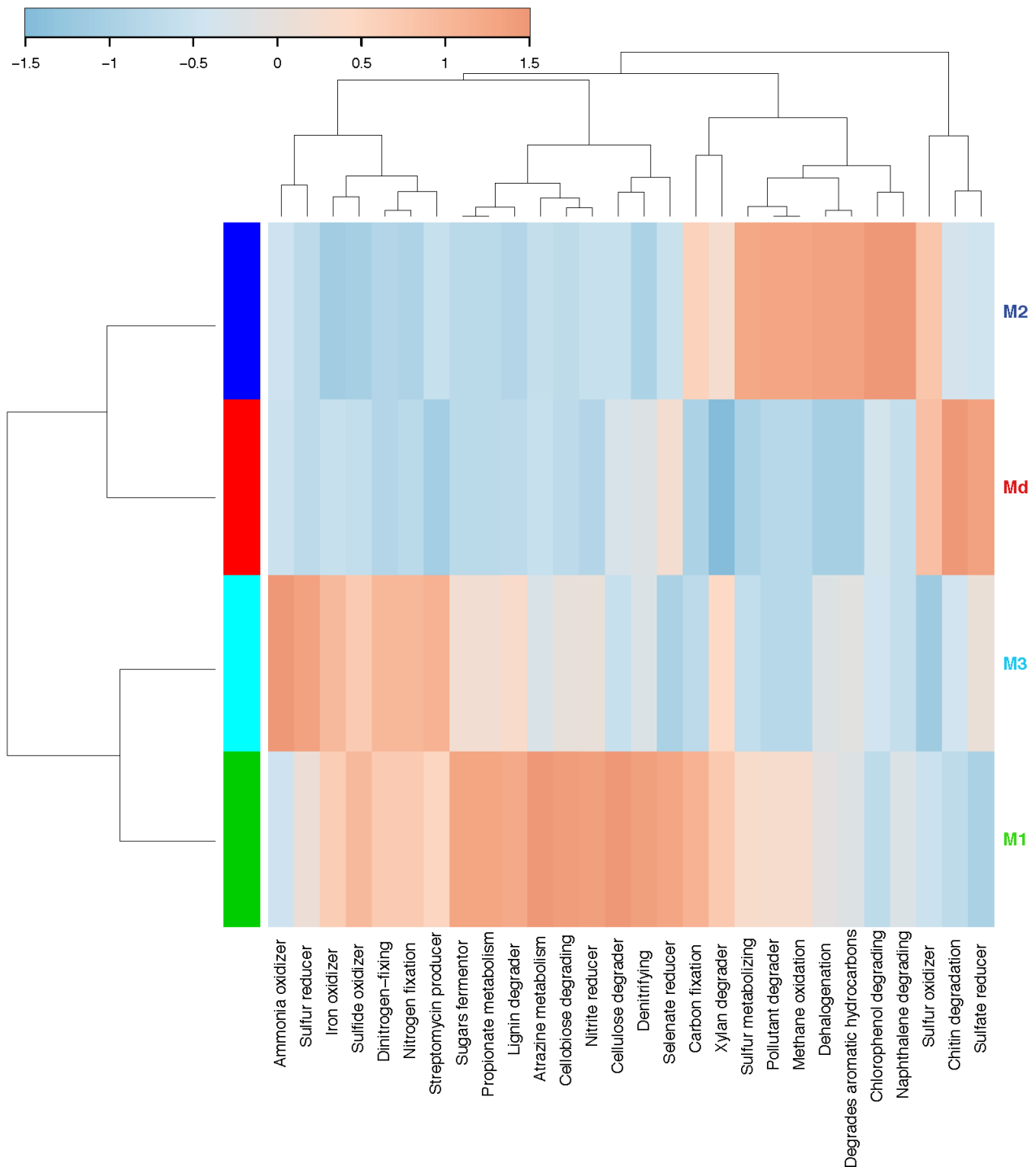


**Figure 4.3 :** Relative abundance of the 18 most abundant bacterial families in giant clams *T. maxima* grouped by microbiotype. 396 less abundant taxa are grouped under ‘others’. Abbreviations of experimental assemblages: PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; T: *T. maxima*; 0: control; (1-3): experiment number; L: lagoon temperature; S: thermal stress; (1-4): sample number; D: dying clam; H: healthy clam. M: microbiotypes, Md: dying clam microbiotype; 1-3: number of clam microbiotype.

### 3.3 Bacterial functional roles

To scrutinize putative functional differences of bacterial communities of *T. maxima* in experimental treatments, we applied a taxonomy-based profiling using METAGENassist (Figure 4.4). This functional clustering clearly distinguished Md, M2 and M1-M3 microbiotype functions. Md was mainly characterized by activities responsible for the degradation of organic material, particularly an increase in sulfate and selenate reducers and chitin degradation. Sulfur oxidizer was a shared function with M2. The microbiotype M2 was characterized by enhanced sulfur and methane metabolism, dehalogenation, as well as functions related to the degradation of various aromatic

molecules (e.g. naphthalene and chlorophenol). The M1 and M3 microbiotypes both had an increase in processes involved in sulfur and nitrogen metabolism, and lignin and xylan degradation. The diversity of enhanced functions involved in nitrogen metabolism was higher in M3, while those involved in saccharide and polyphenol metabolism were higher in M1.



**Figure 4.4 :** Taxonomy-based functional profiling of bacterial communities in giant clams (*Tridacna maxima*) by microbiotype. Enrichment (red) and decrease (blue) of functions are presented on a relative scale using a Pearson distance measure and the average clustering method. M: microbiotypes, Md: dying clam microbiotype; 1-3: number of clam microbiotype.

### 3.4 The Symbiodiniaceae composition of giant clams

The composition of the Symbiodiniaceae was determined for 36 giant clam samples by Illumina sequencing of the ITS2 DNA region (1,364,551 sequence reads in total) and the 23S rRNA gene (3,115,502 sequences in total). After filtering, 1,209,269 ITS2 sequences were kept with a median length of 289 bp, representing 45,951 unique sequences; while 2,740,830 23S gene sequences were kept with a median length of 196 bp representing 29,420 unique sequences. The average number of ITS2 and 23S sequences per sample were 33,591 and 76,134, respectively.

The ITS2 marker identified *Symbiodinium*, *Cladocopium* and *Durusdinium*, while the 23S marker detected *Symbiodinium*, *Cladocopium* and *Gerakladium* in our giant clam samples (Supplementary S6). With both markers *Symbiodinium* was present in all 36 samples and was the dominant clade in all except 2 samples, where *Cladocopium* was the dominant algal genus. At a higher taxonomic resolution, we found two species of *Symbiodinium* with ITS2, A6 and A1, with A1 only found as background species. Only one species of *Cladocopium* (C66) and *Durusdinium* (D17) were assigned in our samples. The 23S marker discriminated only one species in each of the algal genera present: A3, C3 and G9. *Symbiodinium* A6 (ITS2) and A3 (23S) were found in all samples. *Cladocopium* C3 (23S) co-occurred with *Cladocopium* C66 (ITS2) except for seven of 23 samples where only C66 was detected at a low levels. *Durusdinium* D17 and *Gerakladium* G9 were detected in only 3 samples, AT1.L.1, AT1.S.1 and AT1.S.3 and T03.L.2, AT1.L.1 and AT1.S.3, respectively. Overall, Symbiodiniaceae composition did not correlate to any of the four microbiotypes, or any experimental condition.

## 4. Discussion

Microbiomes, including viruses, bacteria and fungi, are an integral part of multicellular organisms, contributing to their health and physiological performance. Despite a surge of interest in this research focus, very few invertebrate microbiomes have been studied, with the notable exception of insects. The current study has characterized for the first time the bacterial microbiome of giant clams. The microbiome of giant clams is particularly interesting because clams are exposed to an extreme abundance and diversity of microbes through filter-feeding, and because they live in symbiosis with dinoflagellate algae. In this context, we tested an adaptation of both the Adaptive



Bleaching Hypothesis (ABH) and the Coral Probiotic Hypothesis (CPH) by the concomitant analysis of the clams' prokaryotic and algal microbiome under different environmental contexts (benthic species assemblage and temperature). We showed that the presence of the coral *Acropora cytherea* in an assemblage negatively affects the health of the giant clam *Tridacna maxima*, and that this effect is amplified under temperature stress. Our results showed that nearly all clams with compromised health were characterized by a distinct microbiome in which the Vibrionaceae family was enriched. Interestingly, the prokaryotic microbiome of healthy clams fell in three clusters irrespective of the composition of the benthic assemblage, the clams' symbiotic algal composition, or water temperature.

#### **4.1 The composition of the benthic species assemblage influences the health of giant clams**

The first remarkable result of this work is that frequency of clam mortality is influenced by the benthic species that surround them. When *A. Cytherea* was present in the assemblage (PAT and AT), clam mortality increased. This pattern was particularly striking for PAT under increased temperature. Benthic species, particularly corals are highly competitive (Figuerola et al., 2011) and have been classified based on their aggressiveness (Abelson & Loya, 1999 ; Álvarez-Noriega et al., 2018 ; Horwitz, Hoogenboom & Fine, 2017 ; Lang & Chornesky, 1990). Corals compete either by direct physical contact or via the production and secretion of secondary metabolites that can weaken or kill neighbouring organisms (Ben-Ari, Paz & Sher, 2018 ; Gao et al., 2013 ; Garcia-Arredondo et al., 2016 ; Pochon et al., 2007 ; Puglisi et al., 2014 ; Wang et al., 2008). These metabolites are produced by the coral host itself or by their associated microorganisms, some of which are known to synthesize toxic compounds (Leal et al., 2013 ; Puglisi et al., 2014). Added to a potential direct effect of a toxic metabolite produced by *A. cytherea* or by its associated organisms, the decline and subsequent death of giant clams could also be the consequence of anti-inflammatory molecules produced by corals (Cooper et al., 2014 ; Khalesi, 2012), reducing the immune response of clams against microbial pathogens. An immune depression associated with the reproductive period and/or increase of water temperature has also been linked to vibriosis in poikilotherm organisms, including molluscs (Hooper et al., 2014 ; Matozzo & Marin, 2011 ; Travers et al., 2008, 2009). As nearly all dying clams harbored a typical microbiome mainly composed of Vibrionaceae (*Catenococcus spp.* or an unclassified genus) we hypothesize that the combined effect of secondary

metabolites from *Acropora* corals and increased water temperature might suppressed the clams defenses against *Vibrio* infection. Interestingly, the microbiome of two healthy clams showed similarities to that of dying clams. The relative proportion of Vibrionaceae in these two clams is higher than in other members of their microbiotype (11-15% of total bacterial families, compared with < 3% in other healthy clams and 25-50% in the majority of dying clams), suggesting that these clams had a compromised health. Our results suggest that the relative proportion of Vibrionaceae could be used as an early indicator of clam health in natural populations.

## 4.2 Microbiotypes in giant clams

We used multiple genetic markers for profiling the Symbiodiniaceae diversity in giant clams, the advantages of which have recently been highlighted by Pochon et al. (Submitted). As expected, using both *ITS2* and *23S* markers, we found a higher level of taxonomic diversity, including the detection of free living Symbiodiniaceae species in clam samples. Indeed, beyond the identification of *Symbiodinium* and *Cladocopium* species, *ITS2* and *23S* allowed the detection of *Durusdinium* and *Gerakladium* species in some of our samples. In accordance with (Pochon et al., Submitted), *Symbiodinium tridacnidorum* (Lee et al., 2015; former subclade A6/A3,) was the dominant species in all but in two of 36 samples. In these remaining 2 samples, subclade C66/C3 of *Cladocopium* species was dominant. Interestingly, *Durusdinium* was detected only in young giant clams in our study, supporting the hypothesis that this algal genus is restricted to juvenile clams (Ikeda et al., 2017 ; Weber, 2009). Importantly, the composition of the clam Symbiodiniaceae community did not reveal any correlation with the composition of the experimental benthic species assemblages, nor to thermal condition, or to a particular microbiotype. Similarly, microbiome analysis did not highlight any link with species assemblages or thermal status. The major prokaryotic phyla found in the microbiome of *T. maxima* are those commonly found in marine invertebrates. Among them are Proteobacteria that assist in food digestion in bivalves and contribute to the host's nitrogen uptake (Harris, 1993); and Bacteroidetes that play an important role in bivalve immunity by limiting of the establishment of potentially pathogenic bacterial species (Leite, Jude-Lemeilleur, et al., 2017). The most abundant families were *Gammaproteobacteria*, *Moraxellaceae* and *Rhodobacteraceae*. These are common marine bacterial families and some of them are described as symbionts of aquatic organisms such as *Rhodobacteraceae* (Milan et al., 2018). Interestingly, similarly to human

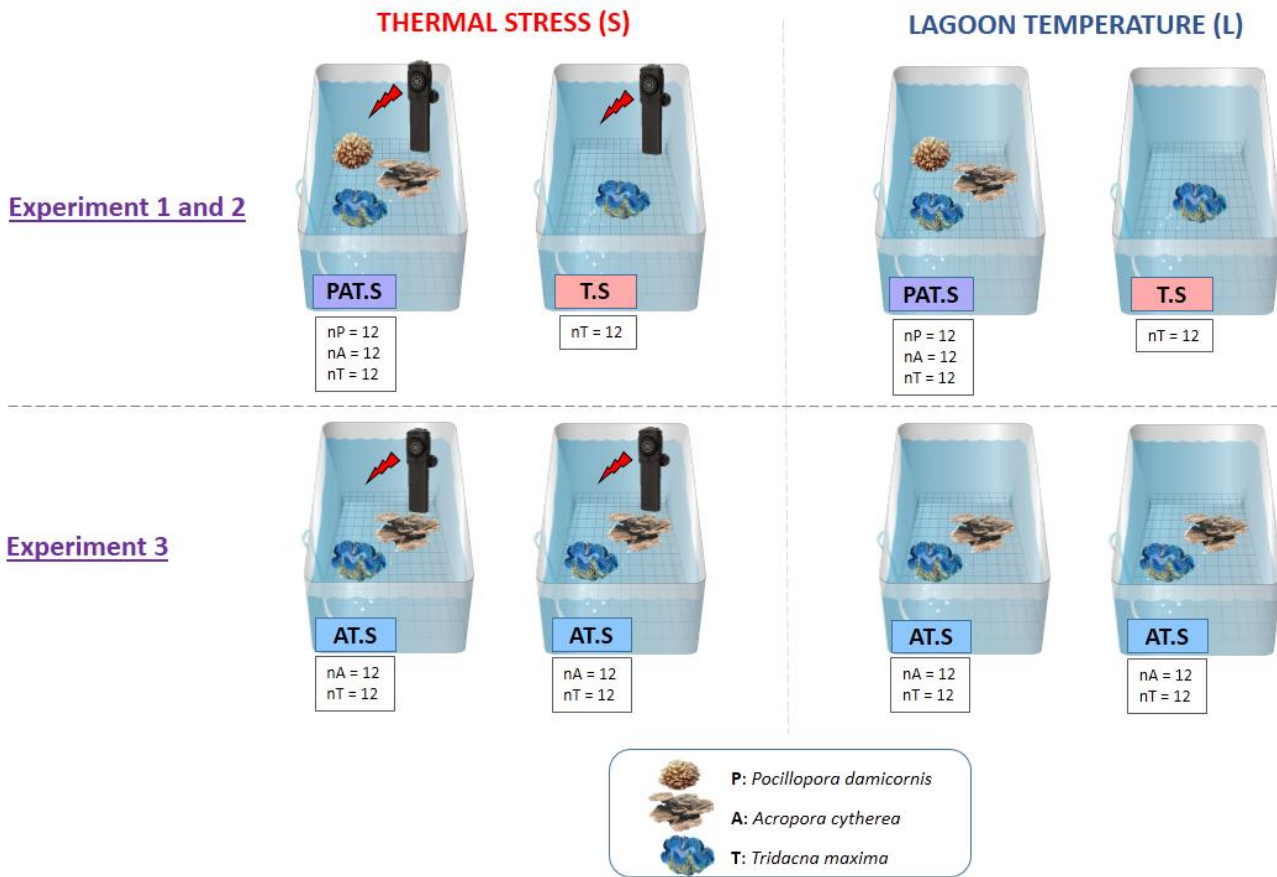
enterotypes (Arumugam et al., 2013), *T. maxima* individuals harboured distinct microbiotypes (M1-M3). All three microbiotypes found in this study were clearly defined by their bacterial community composition. These differences in microbial community composition, together with the systematic co-occurrence of certain bacterial taxa create distinct functional biomarkers to the clam host. Thus, microbiotypes can use different pathways to achieve similar overall functions. For example, sulfur metabolism mostly involved sulfur reduction and sulfide oxidizing in M3, sulfide oxidizing in M1, and sulfur oxidizing, as well as an undetailed sulfur metabolic pathway in M2. Some of the most enriched functions were also specific to a microbiotype, thus providing to its host specific metabolic capacities. For example, M1 and M3 were mostly characterized by lignin and xylan degradation with an emphasis on cellulose degradation in M1. The most characteristic functions in M2 are related to pollutant degradation (aromatic compounds such as naphthalene or chlorophenol). We found all three microbiotypes in every experimental benthic species assemblages, under both control and increased temperature, and in samples issued from two different cohorts (both size of clams), suggesting that similarly to humans, microbiotypes are not driven by the environment or genetic factors. In fact, we found that at least 3 microbiotypes could exist in clams collected from two cohorts of the same lagoon. This suggests that different microbiotypes can most likely confer similar functions to host organisms that allows them to thrive in the same environment. The existence of metabolic microbiotype-linked singularities necessarily confers some specific functional properties to their hosting clam, and therefore, by bringing different metabolic functions in a population, will influence the clam population acclimatation to an environmental change. Moreover, despite the stable microbiotype pattern, as observed for dying clams, shift in their microbiome can occur under specific conditions. Therefore, even if no change in prokaryotic microbiome has been observed during our thermal stress, in favour, as observed in sponges, of a microbiome stability upon increased temperature (Erwin et al., 2013 ; Simister et al., 2012), our results do not exclude that a more intense thermal stress will influence the composition of *Tridacna maxima* microbiome as for *Crassostrea gigas* (Lokmer & Mathias Wegner, 2015).

Our work suggests that the coral reef benthic diversity combined to increased temperature might impact their immune defence and therefore might influence benthic community behaviour under environmental changes. Hence, our findings strongly suggest that, as it is the case for terrestrial restoration, marine species assemblages should be integrally part of coral reef conservation strategies.

## **Acknowledgements**

This work was supported by LabexCorail and CNRS fundings. IG was a fellow of Sorbonne University – Doctoral school 129. We are grateful to the Academie française for their financial support through the Walter-Zellidja Grant and Cawthron Institute for hosting IG to do metabarcoding. We acknowledge the InterContinental Resort & Spa Moorea and the Moorea Dolphin Center for providing coral garden protected area. We also thank Franck Lerouvreur, Pascal Ung, Ewen Morin and students from CRIOBE who helped with fieldwork.

### Supplementary data



**Figure S1** : Design of the experiment 1,2 and 3.

**Table S3** : Numbering of remaining giant clams in the aquariums during the acclimation period and experimental period according to health status. d0: seeding in the aquarium, Alive: number of healthy giant clams, Death= number of dying giant clams, Pred: death by predation. PAT: *P. damicornis*, *A. cytherea* and *T. maxima*; AT: *A. cytherea* and *T. maxima*; T: *T. maxima*; L: lagoon temperature; S: thermal stress.

Assemblage	Experiment	Condition	Health status	d0	Acclimation period	Experimental period
T	1	L	Death		0	3
			Alive	12	12	9
T	2	L	Death		0	0
			Alive	12	12	12
T	1	S	Death		0	0
			Alive	12	12	12
T	2	S	Death		0	1
			Alive	12	12	7
AT	1	L	Pred		0	1
			Death		1	6
AT	2	L	Alive	12	11	4
			Death		2	1
AT	1	S	Alive	12	10	9
			Death		1	0
AT	2	S	Alive	12	11	10
			Death		0	9
PAT	1	L	Alive	12	12	3
			Death		0	2
PAT	2	L	Alive	12	12	10
			Death		0	0
PAT	1	S	Alive	12	9	12
			Death		3	6
PAT	2	S	Alive	12	9	3
			Death		0	9
PAT	1	S	Alive	12	12	3
			Death		0	9

**Table S5** : Summary statistics of 16s DNA-based bacterial community composition of giant clams according to their groups using inverse simpson and chao1 index. \* Based on subsampled sequences (n=8,411). G: groups; AVG: average; SD: standard deviation.

Microbiotype	Legend	No. of raw Sequences	No. of sequences	No. of OTUs	invsimpson	chao
Md	AT1.S.1	17759	16961	295	2,4	1530
Md	PAT1.S.1	11585	10968	277	3,9	1847
Md	PAT1.S.3	9303	8911	218	6,3	1490
Md	PAT1.S.4	18651	18290	296	12,7	1260
Md	T1.L.1	27661	26959	196	8,3	5803
<b>Md AVM</b>		<b>16992</b>	<b>16418</b>	<b>256</b>	<b>6,7</b>	<b>2386</b>
<b>Md SD</b>		<b>7168</b>	<b>7088</b>	<b>46</b>	<b>4,0</b>	<b>1922</b>
M1	PAT1.L.2	16451	15520	1036	47,7	1775
M1	PAT1.S.2	26894	26397	412	26,0	1432
M1	PAT2.L.1	21643	21024	592	63,6	1205
M1	PAT2.L.3	9597	9327	311	3,0	1342
M1	T01.L.2	31499	30266	572	64,2	1494
M1	T01.L.3	25355	22857	405	19,4	1635
M1	T02.L.2	13583	13308	528	85,3	2370
M1	T03.L.3	21356	20189	843	42,1	1514
M1	T1.L.2	33733	33115	426	44,5	2180
M1	T1.L.3	30631	29616	732	71,9	1644
M1	T1.S.3	25349	24722	916	167,5	2241
M1	T2.S.1	12698	12296	622	81,1	1373
M1	T2.S.3	21521	21243	334	17,8	1666
<b>M1 AVM</b>		<b>22332</b>	<b>21529</b>	<b>595</b>	<b>56,5</b>	<b>1682</b>
<b>M1 SD</b>		<b>7584</b>	<b>7369</b>	<b>229</b>	<b>42,0</b>	<b>366</b>
M2	AT1.L.2	11047	10906	247	4,3	3533
M2	AT1.S.2	10101	9952	260	3,0	4084
M2	PAT2.L.2	16790	16571	198	3,9	1942
M2	T03.L.1	19493	19019	456	6,8	2204
M2	T03.L.2	23692	23192	367	16,7	2486
M2	T2.L.2	26430	25853	290	13,2	5515
<b>M2 AVM</b>		<b>17926</b>	<b>17582</b>	<b>303</b>	<b>8,0</b>	<b>3294</b>
<b>M2 SD</b>		<b>6601</b>	<b>6415</b>	<b>93</b>	<b>5,6</b>	<b>1363</b>
M3	AT1.L.1	18831	18418	621	5,3	4789
M3	AT1.L.3	12918	12487	431	7,9	3548
M3	AT1.S.3	26714	25973	439	4,4	2235
M3	PAT1.L.1	25933	25032	333	3,6	1363
M3	PAT1.L.3	12566	12300	403	16,7	2188
M3	T01.L.1	24284	23919	329	26,4	2213
M3	T02.L.1	21937	21179	540	3,7	3315
M3	T1.S.1	16984	16638	481	8,4	1899
M3	T1.S.2	9191	9034	368	6,0	4034
M3	T2.L.1	25858	23866	298	8,3	2075
M3	T2.L.3	28681	28218	373	4,8	5934
M3	T2.S.2	9381	9079	349	9,6	3095
<b>M3 AVM</b>		<b>19440</b>	<b>18845</b>	<b>414</b>	<b>8,8</b>	<b>3057</b>
<b>M3 SD</b>		<b>7095</b>	<b>6831</b>	<b>95</b>	<b>6,6</b>	<b>1344</b>





# Chapitre 5

**Analyse *in situ* des effets des assemblages de coraux-bénitiers sur leur croissance et le recrutement corallien**

## Chapitre 5 : Analyse *in situ* des effets des assemblages de coraux-bénitiers sur leur croissance et le recrutement corallien

### Contexte de l'étude et objectifs

Les interactions entre espèces impactent la dynamique des assemblages récifaux agissant sur tous les stades de vie des organismes. Dans ce chapitre, nous avons voulu comprendre l'effet des assemblages en milieu lagunaire sur les holobiontes et leurs recrues. Pour ce faire, des mini-récifs artificiels de différents assemblages ont été créés afin d'étudier la croissance des coraux et des bénitiers composant ces assemblages. De plus, après 6 mois d'expérience, la famille taxonomique, l'état, le nombre et la taille des recrues coralliennes ont été analysés. Ce chapitre a été rédigé sous la forme d'un article intitulé « Influence des assemblages sur la croissance des holobiontes et le recrutement corallien ».

### Principaux résultats

- ❖ Le nombre de bénitiers morts est plus important avec un assemblage monospécifique T.
- ❖ Le nombre de recrues coralliennes varie en fonction des sites et des assemblages.
- ❖ Les assemblages de *P. damicornis* influencent les familles de coraux recrutés en favorisant les coraux de la même famille.

# Analyse *in situ* des effets des assemblages de coraux-bénitiers sur leur croissance et le recrutement corallien.

Isis Guibert<sup>1,2,3\*</sup>, Gaël Lecellier<sup>2,3,4</sup>, et Véronique Berteaux-Lecellier<sup>2,3</sup>.

<sup>1</sup>Sorbonne Université, Collège Doctoral, F-75005 paris, France

<sup>2</sup>USR3278 PSL CRIOBE CNRS-EPHE-UPVD, LabEx CORAIL, Papetoai, Moorea, Polynésie française

<sup>3</sup>UMR250/9220 ENTROPIE IRD-CNRS-UR, LabEx CORAIL, Promenade Roger-Laroque, Nouméa cedex, Nouvelle-Calédonie, France

<sup>4</sup>Université de Paris-Saclay, UVSQ, 45 avenue des Etats-Unis, Versailles Cedex, France

\*Correspondance: Isis Guibert, isis.guibert@orange.fr

**Mots clés:** Recrues, Croissance, Coraux, Bénitiers, Assemblages

## 1. Introduction

Les organismes sessiles, tels que les coraux et les bénitiers, sont des espèces clés participant à la construction des récifs coralliens (Alvarez-Filip et al., 2013 ; Neo et al., 2015). L'abondance et la diversité de ces espèces varient et engendrent des hétérogénéités spatiales (Adjerdoud et al., 2005). Les différents assemblages d'organismes sessiles se reflètent au travers de différents facteurs agissant sur tous les stades de vie des organismes notamment au niveau du recrutement, de la croissance, de la longévité ou encore des taux de remplacement d'une espèce par une autre (Penin et al., 2010 ; Tanner, Hughes & Connell, 1994). Les interactions entre espèces jouent un rôle important dans la structure et la dynamique des assemblages récifaux. Ces interactions, positives ou négatives, tels que la fusion ou la compétition impactent la croissance des organismes (Connell et al., 2004 ; Forsman et al., 2015 ; Lang & Chornesky, 1990). En effet, les espèces sessiles, notamment les coraux, ont développé des mécanismes spécialisés pour survivre face aux organismes benthiques environnants, incluant la production de métabolites actifs dont certains sont des composés allélopathiques (Sammarco & Coll, 1992 ; Sammarco, Coll & La Barre, 1985 ; Zimmer & Butman, 2000). L'action de ces composés varient en intensité allant des répulsifs aux toxines et pouvant agir à des distances plus ou moins grandes (Slattery et al., 1997 ; Slattery, Starmer & Paul,

2001). Ainsi, les métabolites vont agir sur la santé des organismes, leur croissance ainsi que sur leur comportement (Bornancin et al., 2017 ; Whittaker & Feeny, 1971).

Les phases d'installation larvaire, de métamorphose puis de recrutement des coraux font partie des étapes vulnérables du développement des coraux (Birrell, McCook, et al., 2008). Le recrutement des coraux dépend notamment de la réponse des larves et des recrues à différents stimuli environnementaux (Birrell, Mccook, et al., 2008 ; McCook, Jompa & Diaz-Pulido, 2001) dont ceux de métabolites à effet attractif ou répulsif sur les larves (Da-Anoy et al., 2017 ; Penin et al., 2010). Les larves de coraux vont ainsi répondre positivement ou négativement en fonction de ces signaux d'installation perçus de leur environnement (Ritson-Williams et al., 2009), ayant alors des conséquences sur le recrutement corallien et donc sur la structure des assemblages. Ces signaux sont envoyés par différents organismes allant des bactéries aux invertébrés (Da-Anoy et al., 2017 ; Hadfield, 2011 ; Harrington et al., 2004 ; Webster et al., 2004). De nombreuses études ont démontré que les algues corallines encroûtantes (CCA) influencent l'installation et la métamorphose des larves de coraux (Diaz-Pulido et al., 2010 ; Golbuu & Richmond, 2007 ; Harrington et al., 2004 ; Heyward & Negri, 1999). Les larves de coraux ont des préférences envers les algues encroûtantes qui peuvent entraîner ou inhiber l'installation larvaire (Harrington et al., 2004). Les différents effets positifs ou négatifs des algues sur le recrutement larvaire s'expliquent, en partie, par les différences morphologiques et chimiques selon la taxonomie des algues (Birrell, Mccook, et al., 2008 ; Diaz-Pulido et al., 2010). Par transmission des métabolites dans l'eau, les algues peuvent ainsi influencer l'installation larvaire à distance avant l'arrivée sur la surface d'installation (Birrell, McCook, et al., 2008). Les signaux chimiques peuvent être eux-mêmes influencés par différents facteurs, tel que le courant, qui vont jouer sur leur diffusion (Maida, Sammarco & Coll, 1995b). Les algues peuvent aussi modifier l'environnement chimique, par exemple *via* la modification du pH de l'eau, et ainsi inhiber l'installation larvaire (McConnaughey, 2000). En plus des algues encroûtantes, les coraux eux-mêmes peuvent influencer l'installation et le recrutement larvaire. Une étude récente a mis en évidence que les larves de *Pocillopora damicornis* présentaient de fort taux de mortalité et d'inhibition de l'installation larvaire lorsqu'elles étaient exposées à des extraits de coraux hétérospécifiques (*Porites cylindrica* et *Sarcophyton glaucum*) tandis que les extraits de coraux conspécifiques (*P. damicornis*) entraînaient l'installation larvaire (Da-Anoy et al., 2017). Une fois l'installation larvaire réussie, les jeunes recrues vont devoir entrer en compétition pour l'espace afin d'éviter l'abrasion ou la surcroissance des espèces avoisinantes (Box & Mumby, 2007 ; Vermeij et al., 2009). Le taux de mortalité des jeunes recrues est très élevé chez les coraux (Wilson & Harrison,

2005). La mortalité varie en fonction du temps, de l'espace et de la taxonomie des recrues, jouant un rôle important dans la structure des populations (Babcock & Mundy, 1996 ; Penin et al., 2010).

Afin de mieux comprendre le rôle des interactions entre espèce dans la structuration des communautés récifales, cette étude explore les effets assemblages sur la croissance des holobiontes ainsi que sur le recrutement corallien. Trois espèces clés des récifs coralliens ont donc été sélectionnées pour réaliser des assemblages : deux espèces de corail, *Pocillopora damicornis* et *Acropora cytherea* appartenant aux genres qui recrutent le plus dans le Pacifique (Harriott, 1999), et une espèce de bénitier, *Tridacna maxima*. Les résultats suggèrent un effet site sur le recrutement corallien, la taille des recrues ainsi que la croissance des boutures coraux utilisés pour les assemblages. S'ajoute à cet effet site, un effet assemblage sur le recrutement corallien (nombre et famille des recrues) et la mortalité des bénitiers.

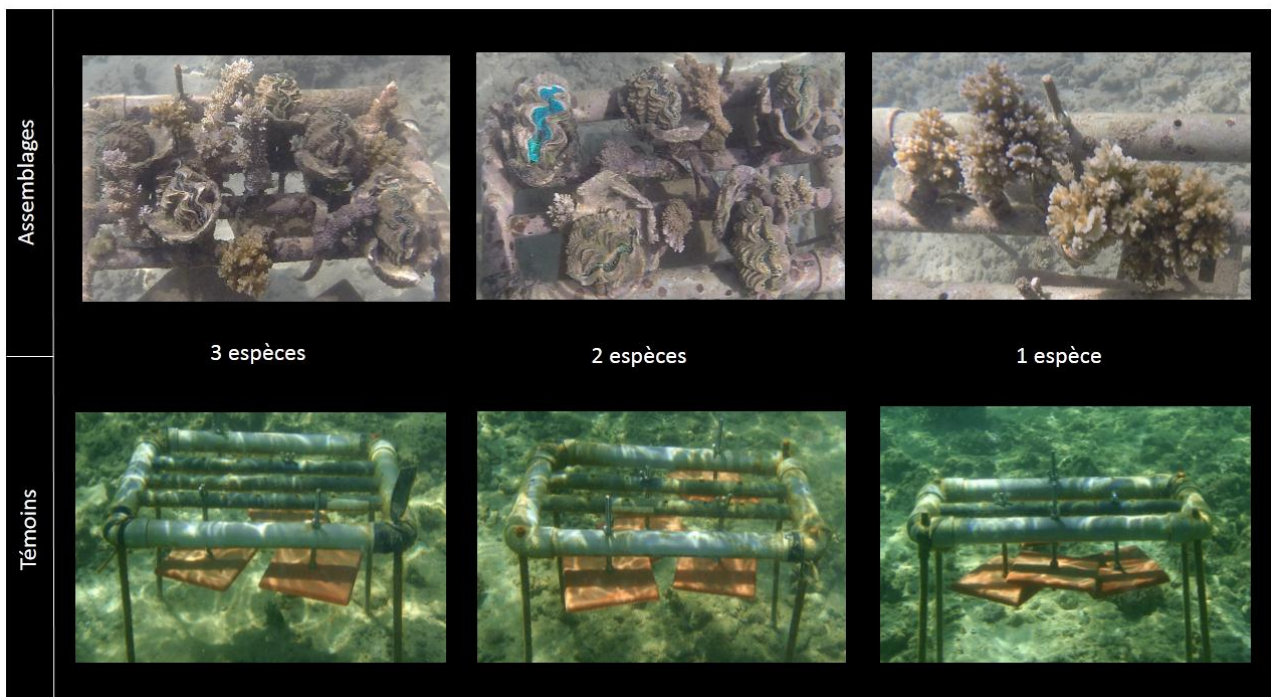
## 2. Matériel et méthode

### 2.1 Organisme d'études, récoltes et conception expérimentale

Des colonies de *Pocillopora damicornis* (n=5) et d'*Acropora cytherea* (n=5) ont été récoltées dans le lagon de Moorea en Polynésie Française (17°30'S, 149°50'W récif frangeant de Linareva ; Rouzé et al., 2015). Chaque colonie a ensuite été fragmentée afin de produire environ 45 boutures par colonies. Chaque bouture a été collée sur un socle en plastique fixé sur une patte à vis. Les bénitiers de l'espèce *Tridacna maxima* ont été achetés à une ferme aquacole de l'île de Reao en Polynésie Française (18°28'S, 136°25'W; N°Tahiti: 139 519). Afin d'éviter leur prédation, les bénitiers ont été placés dans des moitiés de coquilles de bénitiers, elles-mêmes collées à un socle identique à ceux des boutures. Les boutures et les bénitiers ont été placés par espèce dans une pépinière, à 4 m de profondeur, sur des tables espacées de 3 m dans le but d'éviter des interactions inter-espèces.

Après 6 mois (Novembre - Avril), les boutures et les bénitiers ont été placés sur des mini-récifs artificiels dans le lagon de Moorea dans la concession maritime du Pearl Resort Hotel et suivis pendant 6 mois (Décembre à Mai). Différents mini-récifs ont été réalisés avec des assemblages des trois espèces (PAT : *P. damicornis*, *A. cytherea* et *T. maxima*), de deux espèces (PA : *P. damicornis* et *A. cytherea* ; AT : *A. cytherea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima*) ou avec une seule

espèce (P : *P. damicornis* ; A : *A. cytherea* ; T : *T. maxima*). Pour chacun des assemblages, 5 bénitiers ou 5 boutures de corail (une par colonie) ont été utilisés. Les individus ont été espacés de 12 cm pour chacun des assemblages. La taille et la forme des mini-récifs étant proportionnelle au nombre d'espèces, trois structures de mini-récifs ont été utilisées (Figure 5.1). Ainsi, trois structures pour chaque taille et formes, sans espèces, ont été utilisées comme témoin : ST1, structure utilisée pour les assemblages à une espèce ; ST2, structure utilisée pour les assemblages à 2 espèces ; et ST3, structure utilisée pour les assemblages à 3 espèces. Chaque mini-récif a été doté de 4 plaques de recrutement disposées à l'horizontal sous les assemblages. Une distance de 15 cm entre la structure des assemblages et les plaques de recrutement a été respectée pour tous les mini-récifs. Pour un site donné, les mini-récifs (1 par assemblages) ont été espacés de 1 mètre et disposés en quinconce (Annexe 1). Les mini-récifs et leur disposition ont été reproduits dans trois sites différents, espacés de plus de 3 mètres. Pour chaque mini-récif, les individus ont été disposés à 50 cm du sol. Au total, 60 individus par espèces ont été suivis. Pour chacun des sites, la température et la luminosité ont été enregistrées à l'aide de data logger (P/N U22-001, Onset, Bourne, Massachusetts).



**Figure 5.1 :** Photographies *in situ* des structures témoins et des assemblages à 1, 2 ou 3 espèces.

## 2.2 Analyse des recrues

Parmi les 4 plaques de recrutement par structure, une a été gardée pour l'analyse des communautés algales (dessus les plaques,  $n = 30$ ) et trois ont été analysées pour le recrutement (côté et dessous des plaques,  $n = 90$ ). Après 6 mois, suivant le protocole de Penin et ses collaborateurs (2010), les plaques ont été récoltées, photographiées, puis laissées dans de l'eau de javel (3,33 %) pendant 2 jours et ensuite séchées au soleil avant observation à la loupe binoculaire. A ce stade de développement, les recrues ne peuvent pas être identifiées au niveau du genre, ainsi les recrues ont été catégorisées selon leur famille taxonomique (Annexe 2 ; Babcock et al., 2003 ; Penin et al., 2010). Pour évaluer la taille des recrues, le nombre de polypes par recrues a été déterminé en comptant le nombre de calices. Les recrues mortes se dénotent des vivantes, notamment par leur couleur grisâtre, et ont été comptabilisées comme telles.

## 2.3 Suivie de croissance

La croissance des organismes a été suivie tout au long de l'expérience par des mesures mensuelles de la hauteur et de la largeur pour les coraux, et seulement de la largeur pour les bénitiers. Afin de ne pas déplacer les organismes, pour éviter d'éventuels stress, les mesures ont été faites *in situ* grâce à un pied à coulisse. Les relevés ont été effectués selon les conditions météorologiques aux jours 0, 15, 38, 93 et 146 pour les bénitiers et 0, 27, 38, 93 et 146 pour les coraux. La mortalité des coraux et des bénitiers a été suivie tout au long de l'expérience.

## 2.4 Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées sous R avec l'utilisation des packages randomForest, ade4, rpart et lattice (R core team, 2014). Les différences de taille et volume ont été testées avec des ANOVA paramétriques et le nombre et taille des recrues avec une régression linéaire généralisée selon une loi de Poisson et des tests de conformité ou d'homogénéité. Un test *ad hoc* de Tuckey a été utilisé pour les comparaisons individuelles des ANOVA et celui de l'écart standardisé pour les écarts du  $\chi^2$ . Les données de croissances ont été analysées par espèce. Le volume corallien

a été estimé sur la base d'un cylindre ( $V=\pi*(largeur/2)^2*hauteur$ ). La différence de volume a été déterminée comme l'écart de volume entre le jour 146 et 0 (delta volume).

### 3. Résultats

#### 3.1 Nombre de recrues

Le nombre de recrues, toutes familles taxonomiques confondues, a été analysé par site et assemblage (Tableau 5.1). L'analyse anova globale ainsi que l'approche par forêts d'arbres décisionnels de l'ensemble des données démontrent un effet site très fort ( $p = 5.27.10^{-7}$  – importance de la variable 89) puis un effet assemblage de plus faible ampleur ( $p = 0.0283$  ; ANOVA - importance de la variable 11).

La comparaison des sites entre eux met en évidence un recrutement plus important sur le site 1 par rapport aux deux autres sites ( $p = 1.288.10^{-12}$ , test de conformité,  $stdS1 = 7.27$ ,  $stdS2 = -2.46$ ,  $stdS3 = -4.82$ ). De manière intéressante, aucune disproportion significative n'a été décelée par structure et assemblage selon les sites (test d'homogénéité). L'effet site a donc un impact sur la quantité globale de recrues mais pas sur les différences de quantité de recrues selon les assemblages. Dans la suite des analyses, le nombre de recrues a donc été additionné pour tous les sites par assemblage afin d'analyser l'effet assemblage.

Le nombre de recrues est significativement différent selon les assemblages ( $p = 0.01789$ , test de conformité, Tableau 5.1). Les assemblages P recrutent plus que les autres ( $std = 2.12$ ) tandis que les assemblages A et ST1 recrutent moins que les autres assemblages ( $std = -2.25$ ). La comparaison des structures témoin entre elles, met en évidence un recrutement significativement moins important sur les structures contrôle ST1.



**Tableau 5.1** : Nombre de recrues par site et par assemblage. Les étoiles désignent les p-value significatives. S (1-3) : Site ; A : *A. cyhterea* ; AT : *A. cyhterea* et *T. maxima* ; ST (1-3): structures témoin ; P : *P. damicornis* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhterea* ; PAT : *P. damicornis*, *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; T : *T. maxima*.

Site	A	AT	ST1	ST2	ST3	P	PA	PAT	PT	T
S1	7	12	8	10	15	16	15	17	15	15
S2	1	2	3	7	8	9	5	10	11	4
S3	5	3	2	4	4	8	8	3	3	3
Total	13*	17	13*	21	27	33*	28	30	29	22

### 3.2 Taille des recrues

Afin d'estimer la taille des recrues, le nombre de polypes par recrue a été comptabilisé (Tableau 5.2). Le nombre moyen de polypes d'une recrue par assemblage varie de 5,09 à 24,34. L'analyse de l'ensemble des données révèle un fort effet site ( $p = 2.73.10^{-5}$ , ANOVA). La comparaison entre les sites met en évidence une taille des recrues plus grande sur le site 1 (Site 2-1 :  $p = 0.018004$  ; site 3-1,  $p = 0.0002341$  ; ANOVA). Les assemblages et le type de structure n'influencent pas de manière significative la taille des recrues.

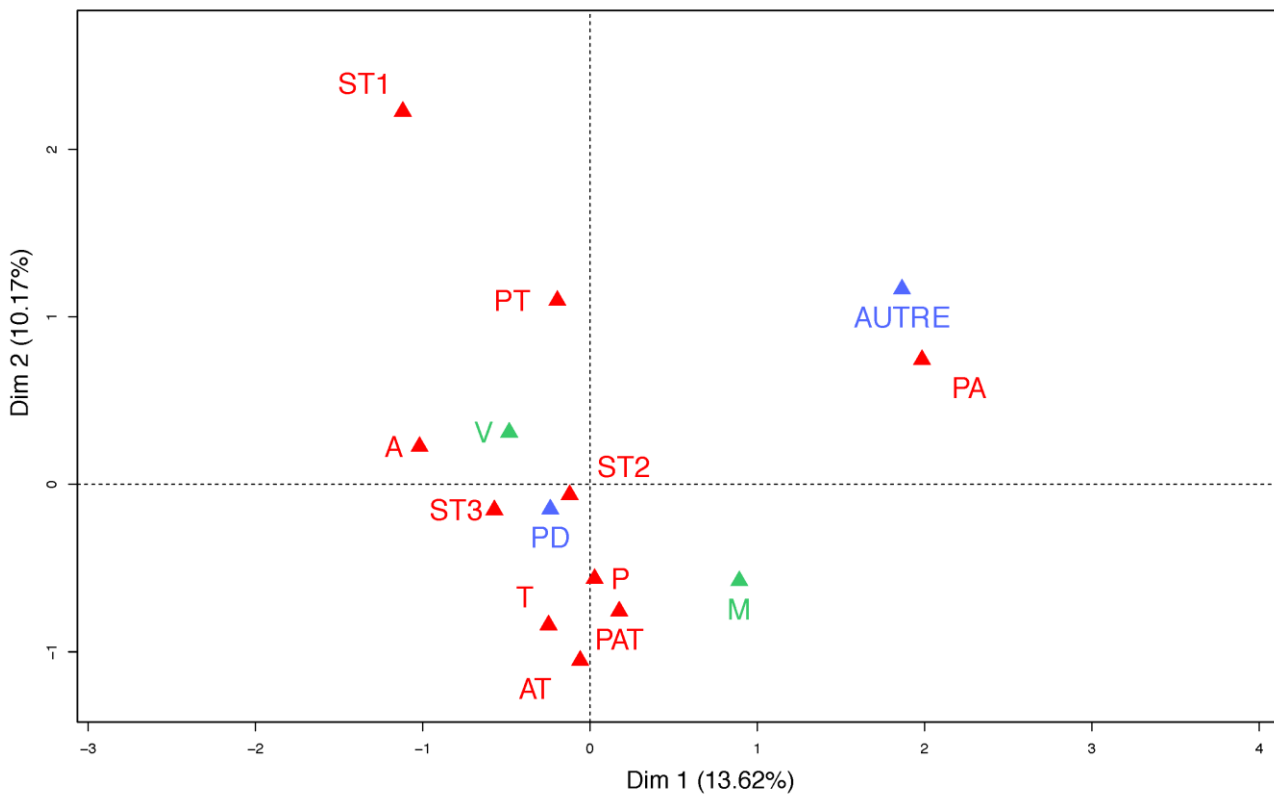
**Tableau 5.2** : Taille des recrues évaluée par le nombre de polypes en fonction des sites et des assemblages. Les étoiles désignent les p-value significatives ( $p < 0.001$ ). S (1-3) : Site ; A : *A. cyhterea* ; AT : *A. cyhterea* et *T. maxima* ; ST: structures témoin ; P : *P. damicornis* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhterea* ; PAT : *P. damicornis*, *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; T : *T. maxima*.

	A	AT	ST	P	PA	PAT	PT	T
Site 1***	24.34	15.21	17.37	14.73	10.81	17.24	18.64	15.54
n =	7.00	12.00	33.00	16.00	13.00	17.00	15.00	15.00
Site 2	6.30	15.40	9.47	9.53	7.98	9.34	8.92	10.81
n =	1.00	2.00	18.00	9.00	5.00	10.00	11.00	4.00
Site 3	8.03	5.09	5.62	9.96	6.46	5.44	11.02	7.56
n =	5.00	3.00	10.00	8.00	8.00	3.00	3.00	3.00

### 3.3 Etat de santé et appartenance taxonomique des recrues

Chaque recrue a été caractérisée en fonction de son état de santé, vivante (V) ou morte (M), et de sa famille, Pocilloporidae (PD) ou non (AUTRE). Au total 206 recrues sont des Pocilloporidae et 25 recrues appartiennent à d'autres familles. En moyenne, 2 à 3 recrues AUTRE et 20 à 21 recrues PD ont été comptabilisées par assemblage. Une analyse des correspondances multiples (ACM) a permis d'associer l'état de santé, l'appartenance taxonomique des recrues à certains assemblages (Figure 5.2). Les deux premiers axes, représentant respectivement 13,55 et 10,32 % de la variance totale, permettent de distinguer les différentes variables : Autre, M, PD et V. Ils révèlent que les assemblages P et PAT sont ceux qui recrutent proportionnellement le plus de PD ( $n_P = 30$  et  $n_{PAT} = 28$ ). Bien que faiblement représentées, les recrues AUTRE sont au nombre de 10/25 pour les assemblages PA. Ainsi l'appartenance taxonomique des recrues est significativement différente en fonction des assemblages ( $p = 0.0009$ , test d'homogénéité).

Le nombre moyen par assemblage de recrues retrouvées mortes est de 9 tandis qu'il est de 15 pour celles retrouvées vivantes. L'état de santé des recrues est significativement différent en fonction des assemblages ( $p = 0.004$ , test de conformité). Aucune recrue morte n'a été observée sur les assemblages ST1 ( $\text{stdresM} = -2.73 < -1.96$ ) tandis que le plus grand nombre de recrues mortes ( $n = 17$ ,  $\text{stdresM} = 3.44 > 1.96$ ) a été observé sur PA.



**Figure 5.2 :** Analyse des Correspondances Multiples selon l'état de santé et la famille des recrues. La couleur verte indique l'état (V : vivant ; M : mort) ; Le bleu indique la famille des recrues (PD : Pocilloporidae, AUTRE : Non Pocilloporidae) ; et le rouge indique les assemblages (A : *A. cyhterea* ; AT : *A. cyhterea* et *T. maxima* ; ST : structures témoin ; P : *P. damicornis* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhterea* ; PAT : *P. damicornis*, *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; T : *T. maxima*).

### 3.4 Croissance et mortalité

La mortalité des organismes des assemblages a été évaluée au cours du suivi sur chacun des sites (Tableau 5.3). Pour les bénitiers, la mortalité et la survie sont significativement différents selon l'assemblage ( $p = 0.006$ , test d'homogénéité). On observe une mortalité plus importante pour les bénitiers des assemblages T ( $n = 9$ ) tandis que le nombre de mort pour les assemblages AT est le plus faible ( $n = 1$ ). Aucune différence significative n'a été trouvée en fonction des sites, il s'agit d'un effet assemblage strict. Concernant les coraux, le nombre de recrues mortes par assemblage pour chacune des espèces était de 0 ou 1, ne permettant pas d'évaluer un effet assemblage ou site.

**Tableau 5.3** : Nombre d'organismes vivants ou morts par espèce selon les assemblages après 6 mois d'expérience. Les étoiles désignent une p-value significative ( $p < 0.01$ ). PAT : *P. damicornis*, *A. cytherea* et *T. maxima* ; AT : *A. cytherea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; PA : *P. damicornis* et *A. cytherea* ; T : *T. maxima* ; P : *P. damicornis* ; A : *A. cytherea*.

Assemblages	<i>Tridacna maxima</i>				<i>Pocillopora damicornis</i>				<i>Acropora cytherea</i>			
	PAT	AT	PT	T	PAT	PA	PT	P	PAT	PA	AT	A
<b>Nb vivants</b>	12	14	12	6	14	14	15	14	14	15	15	15
<b>Nb morts</b>	3	1	3	9**	1	1	0	1	1	0	0	0

Un suivi de croissance a été réalisé tout au long de l'expérience via des mesures de largeurs (pour les trois organismes) et de hauteurs (pour les coraux). Pour les bénitiers, aucune différence significative (ANOVA) n'a été observée en fonction des assemblages et des sites. Pour les coraux, un phénomène de fusion intraspécifique a été observé entre certaines colonies (Annexe 3) lorsqu'elles étaient en assemblage monospécifique. Néanmoins, la séparation entre les deux colonies étant bien visible à l'œil nu, le volume et le delta du volume ont été calculés pour chaque bouture. Les observations mensuelles des boutures ont révélé des traces de morsure chez les coraux, en particulier chez les *A. cytherea* des assemblages A du site 3, induisant des deltas de croissance négatifs. Concernant les volumes des *A. cytherea*, une interaction a été mise en évidence entre les facteurs Assemblages et Site ( $V_{PAT}$  et  $V_{AT} > V_{PA} > V_{AT}$  au site 1 et 2, et  $V_{AT} > V_{PA} > V_A > V_{PAT}$  au site 3). Il est à noter que l'analyse du delta volume supérieur, c'est-à-dire du delta volume des *A. cytherea* ne prenant en compte que les croissances positives, ne révèle aucune différence significative. A l'inverse, le volume et le delta volume des *P. damicornis* ne présentent aucune différence significative tandis que le delta volume supérieur met en évidence une interaction entre les assemblages et les sites ( $p_{Assemblage:Site} = 0.033$  ; ANOVA). Concernant cette interaction, le site 2 est différent des autres sites pour le volume delta supérieur PAT de *P. damicornis* (site 2  $V_{PAT} > V_{PA} > V_P$  et  $V_{PT}$ , sites 1 et 3 :  $V_P$  et  $V_{PA} > V_{PT} > V_{PAT}$ ). Pour *P. damicornis*, le delta volume supérieur des assemblages PAT ( $p = 0.0009$ ) et PT ( $p = 0.018$ ) du site 3 est significativement plus faible que celui de l'assemblage PAT du site 2.

## 4. Discussion

### 4.1 Réponse des holobiontes aux assemblages

De nombreuses études de restauration récifale *via* la transplantation de boutures coralliennes ont été réalisées. Ammar et ses collaborateurs (2000) ont mis en évidence des mortalités élevées des boutures de coraux branchus (Pocilloporidae, Acroporidae) fixées sur un socle après 1 ans *in situ*. Dans notre étude, la mortalité corallienne a été très faible (*A. cytherea* : 1,67 % et *P. damicornis* : 5 %), indépendamment de l'assemblage et du site. De nombreux paramètres peuvent influencer sur la mortalité des coraux, comme la technique d'attachement de la bouture, la sédimentation ou encore la force des vagues (Ammar et al., 2000 ; Clark & Edwards, 1994). Dans cette étude, les mini-récifs ont été surélevés à 50 cm du sol, réduisant le recouvrement des coraux par les sédiments, et disposés dans une zone à faible courant. De plus, la technique d'attachement des boutures utilisée via une fixation à l'aide de colle sur un socle en plastique pourrait être liée à la faible mortalité corallienne observée. En effet, le taux de mortalité des boutures coralliennes semble diminuer lorsqu'elles ne sont pas directement en contact avec le socle en plastique mais fixés à l'aide d'époxy (Ammar et al., 2000). Enfin, le temps de suivi de cette étude (6 mois) est inférieur à celui de l'étude de Ammar et ses collaborateurs (2000), pouvant expliquer les différences de mortalités observées. Le taux de mortalité sur un même site semble augmenter fortement entre 6 mois et 1 ans (Ammar et al., 2000), ainsi bien que les boutures utilisées pour les mini-récifs avaient été placés au préalable en pépinière pendant 6 mois, le temps de suivi a pu influencer les résultats obtenus. Il est à noter que certaines boutures de même espèce mais colonies différentes ont fusionné malgré l'espacement de 12 cm entre chaque bouture. Cette fusion résulte probablement d'une diminution de l'espacement entre les coraux, lié à leur croissance et orientation. La fusion augmente la taille de la colonie corallienne pouvant alors entraîner des conséquences bénéfiques tel que l'augmentation de la croissance, de la compétitivité ou encore la baisse de mortalité (Hughes & Jackson, 1980 ; Lang & Chornesky, 1990 ; Raymundo & Maypa, 2004). Au contraire des coraux, une mortalité importante a été observée chez les bénitiers, principalement dans les assemblages mono-espèce (T). Le suivi réalisé ne permet pas de mettre en évidence si la mortalité provient d'une prédation préférentielle (poisson, mollusques) ou d'un état de santé affaibli en lien avec l'assemblage. Un relargage de métabolites spécifiques aux assemblages pourrait par exemple influencer la prédation ou l'état de santé des bénitiers. Les bénitiers sont une source

important de nourriture au sein des récifs coralliens et ils possèdent donc de nombreux mécanismes de défense contre la prédation. Parmi ces mécanismes, les bénitiers utilisent le camouflage en faisant correspondre la couleur de leur manteau avec celle du substrat (Todd, Lee & Chou, 2009). Les bénitiers des assemblages monospèce (T) ont pu être plus exposés que les autres bénitiers de par leur couleur et l'absence de coraux pouvant réduire l'accessibilité des proies par les prédateurs. Un autre mécanisme de défense utilisé par les bénitiers consiste à s'agréger entre conspécifique (Huang, Todd & Guest, 2007). Bien que les assemblages monospécifiques permettaient l'agrégation de 5 bénitiers, le nombre et la distance entre les bénitiers (12 cm) étaient probablement inadéquats pour se défendre.

Malgré les nombreuses études de restauration récifale réalisées, aucune, à ma connaissance, n'a testé l'effet des assemblages de coraux et bénitiers sur leur croissance. Pourtant, la taille et les capacités de croissance de ces invertébrés constructeurs de récifs va influencer sur la structure des populations et donc sur la résilience et la persistance de ces espèces au sein des récifs (Done, 1988). Les coraux, notamment les Pocilloporidae et les Acroporidae, sont connus pour entrer en compétition (Galtier d'Auriac et al., 2018). La compétition nécessite aux coraux d'utiliser une partie de leur énergie (Connell et al., 2004) ; ainsi cette énergie ne pourra pas être allouée à d'autres fonctions tel que la croissance par exemple. On peut donc supposer qu'en fonction des assemblages, notamment PA, la croissance sera impactée. De manière intéressante, après 6 mois d'expérience *in situ*, la croissance des bénitiers et des coraux n'a pas variée en fonction des assemblages. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce résultat. Tout d'abord, il est possible que peu d'énergie soit nécessaire à la compétition de ces organismes (Connell et al., 2004). De plus, les coraux et les bénitiers étant des organismes à croissance lente, notre expérience de 6 mois est peut être trop courte pour démontrer un impact des assemblages sur la croissance (Ammar et al., 2000 ; Calumpong et al., 2003). Bien que la compétition passe par l'émission de métabolites chez les invertébrés (Sammarco, Coll & La Barre, 1985), elle est beaucoup plus intense lorsque les coraux sont proches. Ces derniers peuvent entraîner la nécrose des tissus d'autres coraux *via* l'utilisation de tentacules « sweeper » ou de filaments mésentériques (Chornesky, 1983 ; Den Hartog, 1977 ; Richardson, Dustan & Lang, 1979 ; Wellington, 1980). Ainsi, il est aussi possible que l'espacement entre les individus, dans cette étude, ait été trop grand pour entraîner de fortes compétitions. Malgré l'absence de différence en fonction des assemblages, des différences entre les sites ont été mises en évidence. De manière générale, le site 3 se dénote des autres sites. La position

géographique du site 3 (Annexe 1), plus ombragé lié à la présence de poteaux en béton et éloigné de la rivière pourrait expliquer ces différences. Néanmoins, aucun effet clair de réduction de la croissance pour tous les assemblages n'a été mis en évidence pour ce site. De plus, une partie des boutures de coraux, notamment les *A. cytherea* des assemblages A du site 3, a été prédatée impactant négativement la croissance de ces boutures. Des espèces corallivores, tel que *Rhinecanthus* sp., ont été observées tout au long de l'expérience. Certaines espèces ayant des préférences alimentaires ciblant certains genres de coraux, tel que le genre *Acropora* pour les chaetodon, pourraient expliquer que les *Acropora* aient été préférentiellement prédatés (Cole, Pratchett & Jones, 2008). Les poissons corallivores ont aussi des préférences territoriales pouvant expliquer une prédation plus importante au site 3, mais les territoires varient en fonction de la couverture corallienne et des espèces de poissons présentes (Tricas, 1989). Ainsi, la prédation des *A. cytherea* du site 3 pourrait s'expliquer par la présence d'un prédateur corallivore présent que sur ce site. La préférence pour les boutures de l'assemblage pourrait s'expliquer par une plus grande accessibilité. En effet, les boutures de *P. damicornis* ou la présence de bénitiers se refermant à l'approche de prédateurs ont pu diminuer l'accessibilité des *A. cytherea* pour les prédateurs.

#### **4.2 Effet des assemblages sur le recrutement corallien**

Les familles Pocilloporidae et Acroporidae recrutent de manière préférentielle de décembre à Mars sur les récifs de l'île de Moorea, avec toutefois, certaines années, un pic de recrutement entre septembre et décembre pour les Acroporidae (Adjeroud, Penin & Carroll, 2007). Ainsi, la grande proportion de recrues appartenant à la famille des Pocilloporidae observée dans cette étude correspond à ces précédentes études qui ont noté un grand nombre de recrues de la famille des Pocilloporidae (> 60 %) à Moorea mais aussi au sein d'autres récifs subtropicaux (Harriott, 1992, 1999 ; Harriott & Banks, 1995). Le nombre de recrues par site a été significativement différent avec un recrutement plus important sur le site 1. Le recrutement est influencé par de nombreux facteurs biotiques (prédation, compétition) et abiotiques (variabilité environnementale : courants, luminosité, sédimentation) (Boch & Morse, 2012 ; Richmond & Hunter, 1990). Ainsi, le site 1 moins encastré que les autres sites (Annexe 1) pourrait bénéficier d'une courantologie plus favorable au recrutement.

Bien que cette étude soit la première à utiliser des plaques de recrutement sous des mini-récifs artificiels au sein du lagon de Moorea, les résultats obtenus peuvent être comparés à ceux provenant des études sur la pente externe du lagon de Moorea. Ces études ayant utilisé des plaques de recrutement et obtenus des résultats similaires au recrutement naturel, l'effet plaque sur le nombre et la taxonomie des recrues est à exclure (Adjeroud, Penin & Carroll, 2007 ; Penin et al., 2010). Un maximum de 35 recrues par plaques de recrutement, entre 2000 et 2003, a été mis en évidence par Adjeroud et ses collaborateurs (2007). Le nombre de recrues est donc légèrement supérieur à celui de notre étude, ce qui pourrait être expliqué par la courte durée de notre expérience. Cependant, la densité de recrues selon la surface des plaques (au-dessus, sur les côtés ou en dessous) est similaire à celle observée dans cette étude avec une majorité de recrues sous les plaques. Une des hypothèses pour expliquer cette tendance est la présence de poissons brouteurs capables de racler les plaques de recrutement (Adjeroud, Penin & Carroll, 2007 ; Penin et al., 2010). Cette hypothèse semble peu probable dans notre étude puisqu'aucune trace de morsure n'était clairement visible sur les plaques de recrutement qui étaient couvertes par des algues (Annexe 4). Les algues sont capables d'inhiber ou d'entraîner le recrutement corallien via l'émission de métabolites (allélopathie ; Bulleri et al., 2018 ; Harrington et al., 2004 ; Price, 2010). Ainsi, la présence d'algues sur le dessus de la plaque a pu influencer le nombre et les espèces de recrues observées.

En plus des algues, un grand nombre d'invertébrés marins sont capables d'émettre des métabolites bioactifs (Figuerola et al., 2011 ; Harrington et al., 2004 ; Heyward & Negri, 1999). De manière intéressante, des extraits de coraux testés sur des recrues coralliennes ont permis d'induire ou d'inhiber le recrutement en fonction des espèces (Fearon & Cameron, 1997 ; Heyward & Negri, 1999). De plus, l'effet allélopathique semble agir plus ou moins fortement en fonction de la distance du corail émetteur et de la larve (Da-Anoy et al., 2017). Ainsi, les mortalités de recrues observées sur les plaques des assemblages PA pourraient être liées à la forte proximité des espèces présentes. En effet, la compétition entre *Pocillopora sp.* et *Acropora sp.* est connue et l'hypothèse d'un effet synergique n'est pas à exclure (Galtier d'Auriac et al., 2018 ; Gunthorpe & Cameron, 1990). De plus, le nombre de recrues appartenant à la famille des Pocilloporidae était plus important au niveau des assemblages P. Ce résultat corrobore l'étude de Da-anoy et ses collaborateurs (2017), qui ont mis en évidence que les extraits de coraux conspécifiques influençaient de manière positive la survie et l'installation des larves jouant un rôle important dans le recrutement corallien et donc la distribution des espèces au sein des récifs.



Les assemblages et les variations de biodiversité ont donc un effet sur la distribution des espèces coralliennes. Cette étude met en évidence l'importance des interactions entre espèces et leurs conséquences sur la distribution spatiale des espèces. Des études à plus long terme sont nécessaire afin de comprendre au mieux les variations de recrutement corallien et de déterminer la résilience des récifs coralliens en fonction des espèces présentes.

## **Remerciements**

Nous remercions chaleureusement le Pearl Resort Hotel pour nous avoir offert l'opportunité de réaliser notre expérience au sein de leur concession. Merci à Pascal Ung et Franck Lerouvreur pour leur aide dans la mise en place des mini-récifs artificiels. Nous remercions Vetea Liao pour son expertise et ses conseils sur le recrutement corallien. Merci aux étudiants du CRIOBE qui nous ont aidés à la pépinière.

Annexe 1

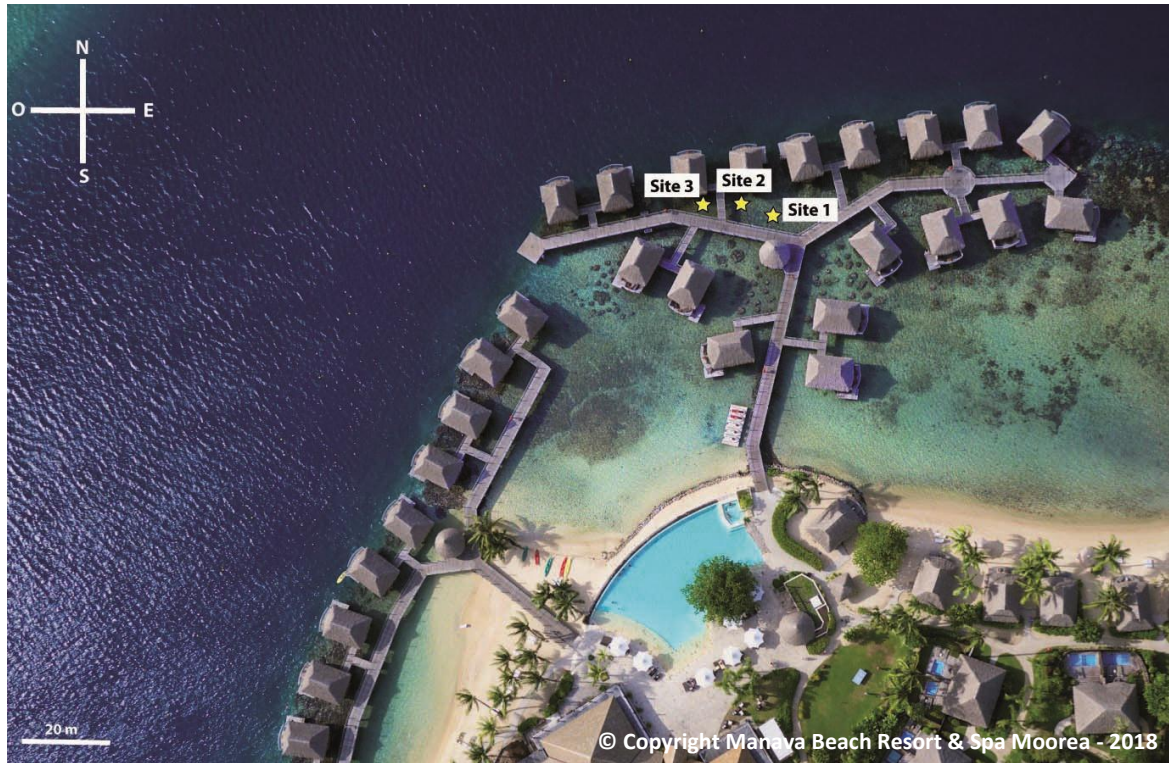


Figure 1a : Emplacement des sites de l'étude *in situ* sur la concession du Pearl Resort Hôtel.

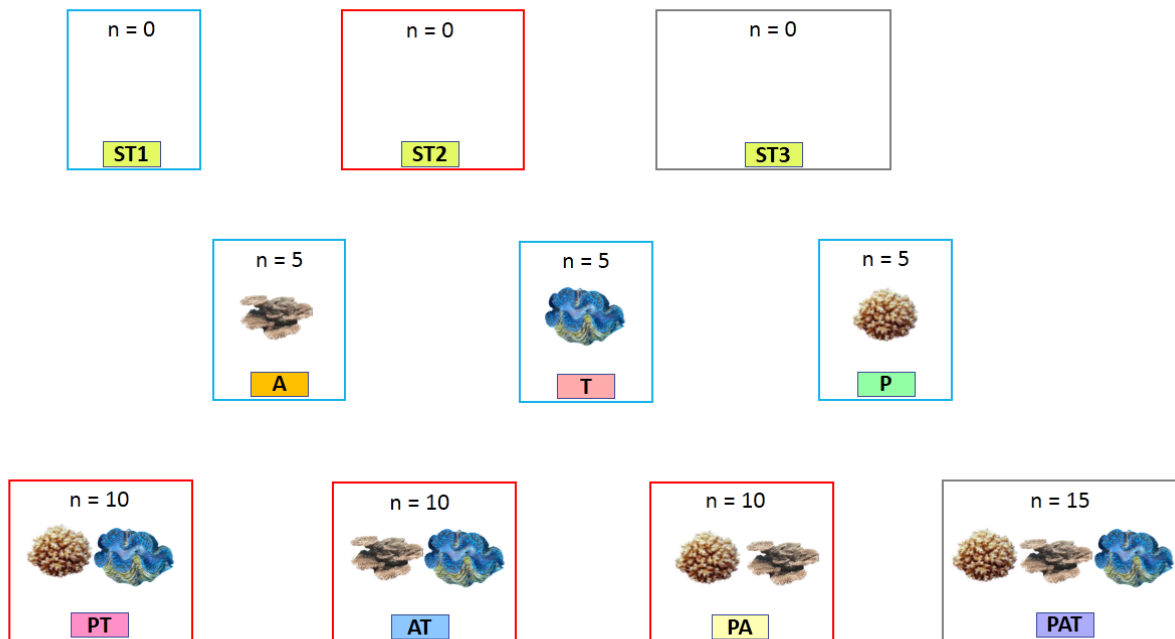
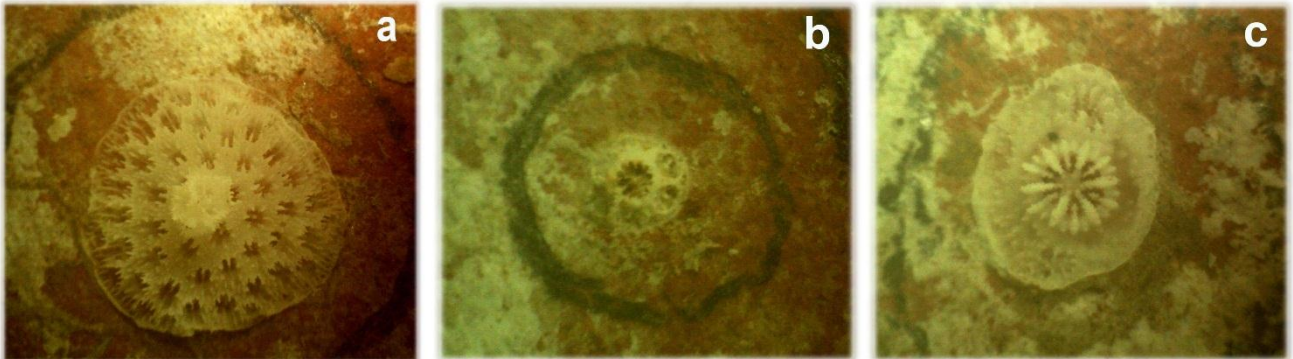


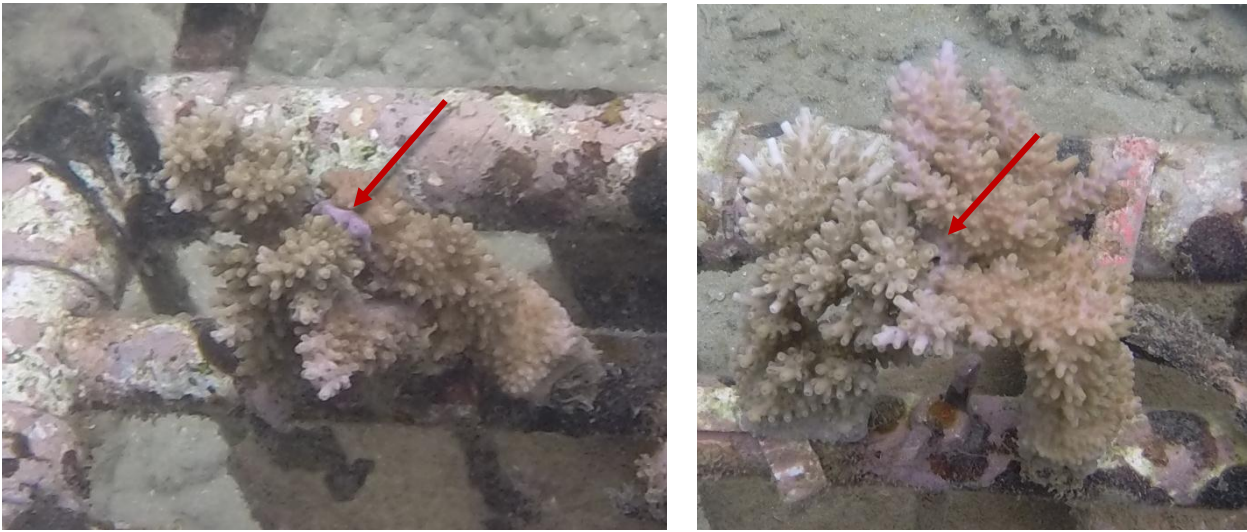
Figure 1b : Représentation schématique de l'organisation des mini-récifs au sein d'un site. Pour chaque espèce, 5 colonies ont été utilisées par assemblages. Les mini-récifs témoins sont ST1, ST2 et ST3 en fonction de la taille des mini-récifs. Les assemblages étudiés sont PAT : *P. damicornis*, *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhterea* ; AT : *A. cyhterea* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; P : *P. damicornis* ; A : *A. cyhterea* ; et T : *T. maxima*.

## Annexe 2

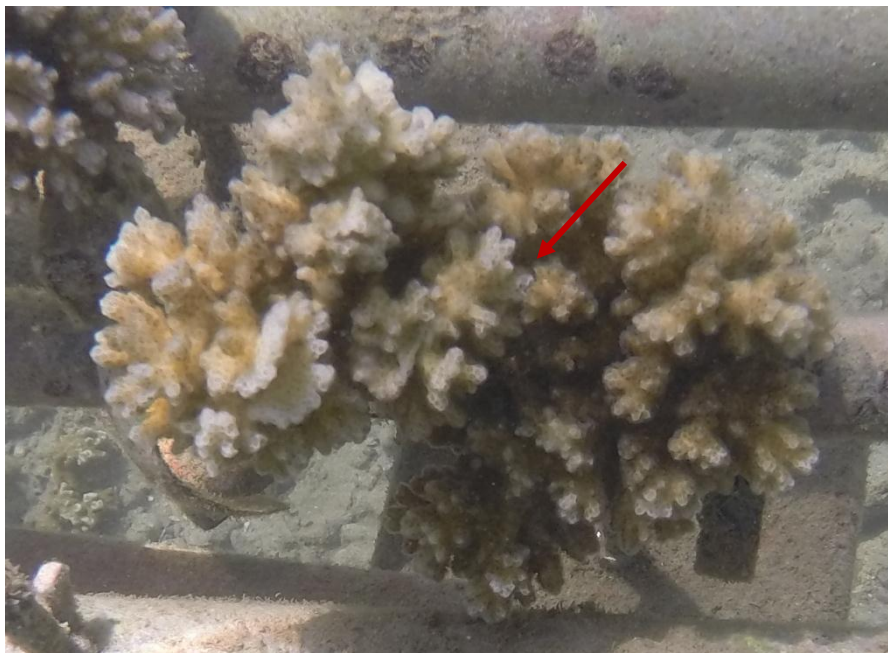


**Figure 2** : Photographie de recrues coralliennes. **a** : recrue corallienne de 48 polypes appartenant à la famille des Pocilloporidae ; **b** : recrue corallienne de 7 polypes appartenant à la famille des Pocilloporidae étant morte pendant l'expérience (couleur grisée) ; **c** : recrue corallienne de 2 polypes classée dans la famille AUTRE.

### Annexe 3

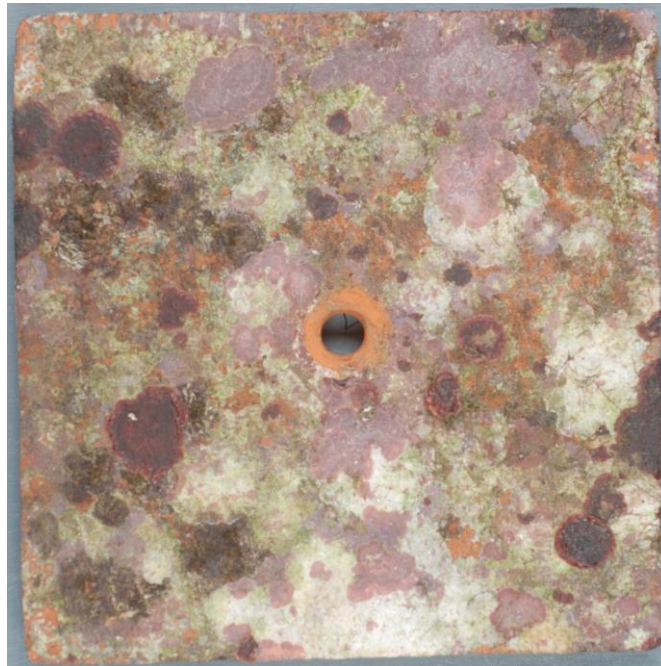


**Figure 3a** : Exemple de fusion entre deux colonies différentes d'*Acropora cytherea*. Les flèches indiquent l'endroit de la fusion.



**Figure 3b** : Exemple de fusion entre deux colonies différentes de *Pocillopora damicornis*. La flèche indique l'endroit de la fusion.

## Annexe 4



**Figure 4** : Photographie de plaque de recrutement recouverte d'algues sur la face supérieur.



# Chapitre 6

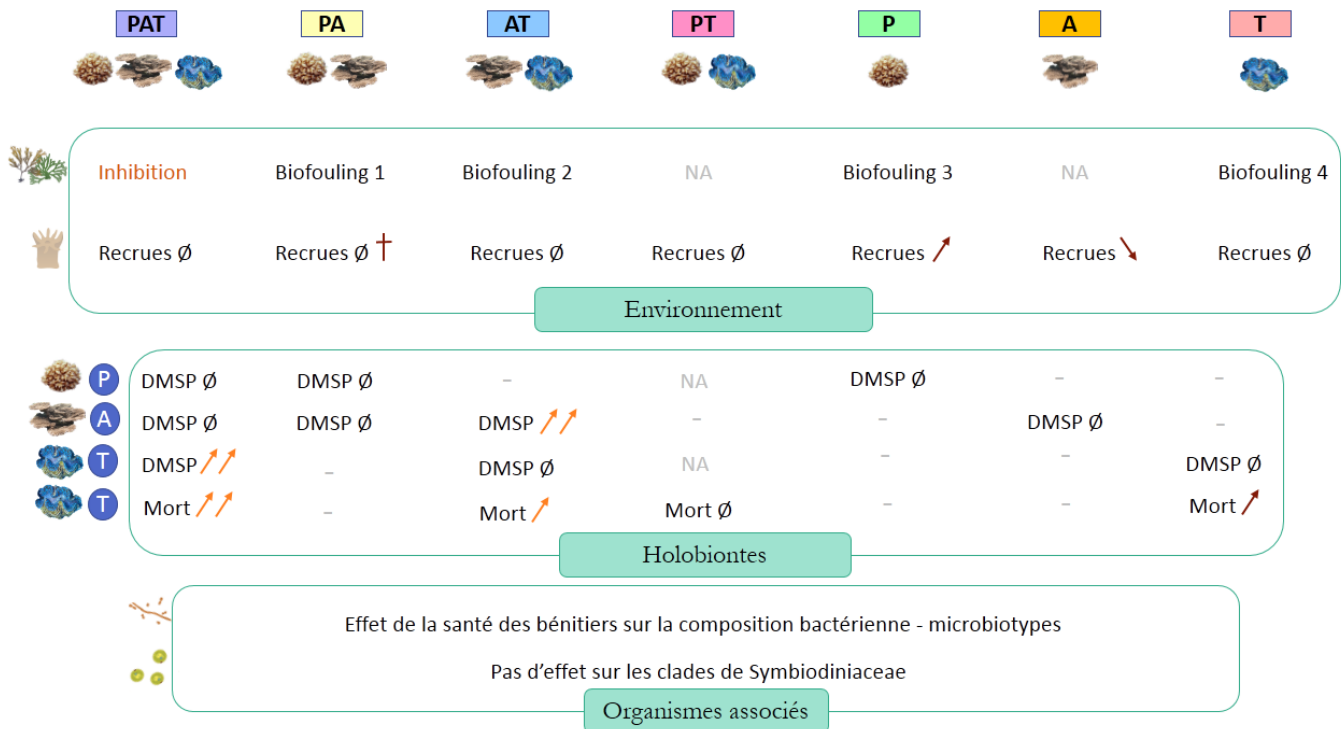
## Discussion générale et perspectives

## Chapitre 6 : Discussion générale et perspectives

### 1. Bilan des connaissances et perspectives

Au cours des dernières années, les recherches sur la biologie des espèces composant les récifs coralliens se sont majoritairement focalisées sur les réponses des individus face à des variations environnementales dont le réchauffement climatique et l'acidification des océans. De plus, l'arrivée des nouvelles technologies dont le développement des analyses « omiques », a permis une investigation plus exhaustive des molécules présentes dans les organismes. Cependant, les études menées dans les années 70-90 ont démontré clairement que les récifs coralliens sont le siège de constantes interactions, particulièrement entre les invertébrés constructeurs de récifs (Connell et al., 2004 ; Forsman et al., 2015 ; Lang & Chornesky, 1990). Ainsi, l'objectif de cette thèse a été d'étudier l'impact de différents assemblages de macro-organismes benthiques sur leur environnement, leur biologie et ce dans différentes conditions environnementales. En résumé, les principaux résultats ont révélé un effet des assemblages sur le développement du biofouling, le recrutement corallien, la concentration en DMSP et l'état de santé des bécards (Figure 6.1).





**Figure 6.1** : Récapitulatif des effets des assemblages sur l’environnement, les holobiontes et les organismes associés aux holobiontes. Les flèches représentent des différences significatives pour les recrues et le diméthylsulfoniopropionate (DMSP) ; ou pour la mortalité des béditiers une augmentation plus (↑↑) ou moins (†) forte du nombre de morts. Les flèches rouge foncés indiquent un changement significatif déterminé au cours de l’étude *in situ* et les flèches orange au cours de l’étude *ex situ*. Le symbole  $\emptyset$  symbolise une absence de changement significatif. Les tirets indiquent que l’analyse n’était pas possible. La croix rouge foncée indique la mortalité des recrues. Les NA indiquent que les analyses n’ont pas été effectuées. Les différents assemblages étudiés sont PAT : *P. damicornis*, *A. cyhthera* et *T. maxima* ; PA : *P. damicornis* et *A. cyhthera* ; AT : *A. cyhthera* et *T. maxima* ; PT : *P. damicornis* et *T. maxima* ; P : *P. damicornis* ; A : *A. cyhthera* ; et T : *T. maxima*. Les ronds bleus P, A ou T indiquent les espèces étudiées.

S’agissant d’interactions indirectes, tous ces effets observés résultent d’une communication d’ordre chimique. On sait par ailleurs que les organismes sessiles sont connus pour sécréter des métabolites afin, par exemple, d’inhiber la colonisation de macro ou micro-organismes (Dobretsov, Abed & Teplitski, 2013 ; McCook, 2001 ; Ritchie, 2006). Chez les coraux, Quinn et ses collaborateurs (2016) ont démontré que leur métabolome était modifié en cas d’interaction avec des organismes de genre différent. Dans cette thèse, l’analyse de l’effet des assemblages multi-espèces a révélé un effet sur le biofouling, avec une inhibition du biofouling pour l’assemblage à trois espèces. Bien que ces résultats aient été obtenus en aquarium, l’utilisation d’un circuit ouvert et d’un réplicat d’expérience réalisé à plusieurs semaines d’intervalle laissent à penser que des effets similaires devraient être trouvés en condition *in situ*. Concernant cet effet antifouling, il serait intéressant

d'analyser les activités bactéricides et bactériostatiques des extraits bruts de coraux et de bénitiers, seuls ou mélangés, sur des bactéries marines pionnières du biofouling afin de déterminer si les métabolites d'intérêt proviennent d'un seul ou des trois organismes et s'il s'agit d'un effet synergique ou simplement additif. Les bactéries testées pourraient être aussi isolées directement de l'eau du lagon. En effet, d'après Figuerola et ses collaborateurs (2011), le choix des bactéries est important et l'étude des activités antifouling sur des bactéries isolées de l'eau environnante des invertébrés étudiés donnerait des résultats plus proches des conditions naturelles. Néanmoins, il est possible que l'action des métabolites ne soit possible que dans un espace confiné (e.g. aquarium) ou seulement sur des surfaces proches. Dans l'expérience *in situ*, une plaque de recrutement par mini-récif a été récoltée et grattée dans le but d'étudier les communautés algales présentes en fonction des assemblages. L'analyse de ces extraits par métabarcodage pourrait permettre de démontrer que les assemblages ont un effet sur le biofouling même lorsque l'espace n'est pas confiné et à une certaine distance (15 cm). Enfin, étant donné que les macro- et micro-organismes environnants (chapitre 2) ainsi que le nombre et la taxonomie des recrues (chapitre 5) diffèrent selon les assemblages, les interactions coraux-bénitiers pourraient engendrer la production de métabolites pro ou anti-recrutement. Ainsi, les extraits bruts de coraux et de bénitiers issus de différents assemblages pourraient également être testés sur des larves de coraux. Il est aussi nécessaire de tester l'effet des assemblages sur le recrutement corallien à plus long terme afin de supprimer un éventuel biais lié aux saisons et périodes de recrutement.

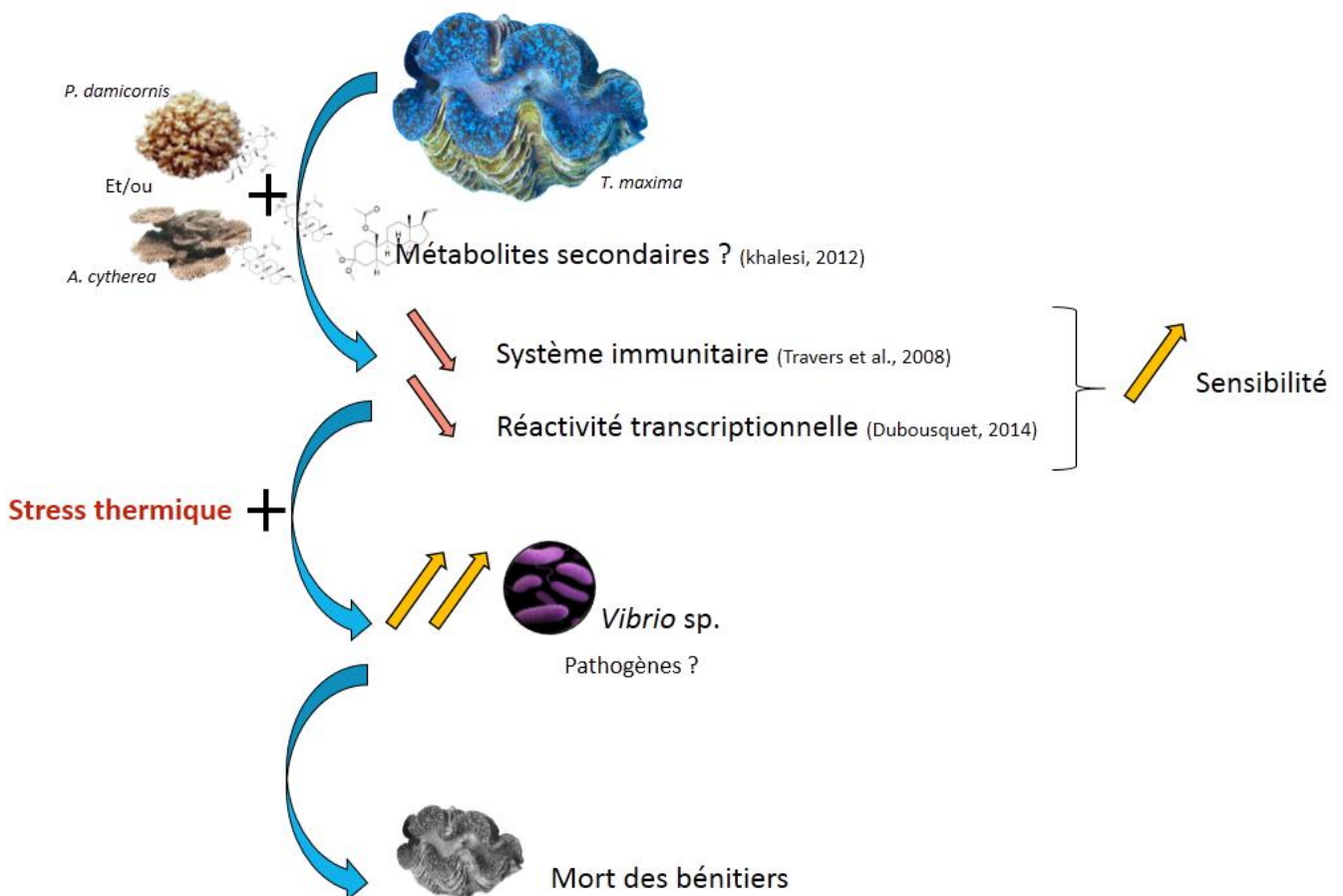
Ces effets sur l'environnement, assemblage dépendant, peuvent être la conséquence de changements métaboliques des organismes benthiques présents. Les résultats de l'analyse des concentrations de diméthylsulfoniopropionate (DMSP) ont révélé notamment une variation de concentration de ce métabolite chez *A. cytherea* et *T. maxima* en fonction des assemblages. Afin d'évaluer si les assemblages ont un effet majeur sur le métabolome global des individus, les données de métabolomique des coraux et des bénitiers des expériences en aquarium pourraient être analysées. Ces données seraient comparées à celles de l'expérience *in situ*, puisque des prélèvements en vue d'analyses métabolomiques ont été effectués pour tous les individus à la fin de l'expérience. Le DMSP possède de nombreux rôles et est notamment considéré comme un biomarqueur du stress (Deschaseaux et al., 2014 ; Jones et al., 2007 ; Raina et al., 2013) ; ainsi ces premiers résultats suggèrent qu'en fonction des assemblages, les espèces pourraient être plus ou moins stressées. L'analyse des métabolites fournit un aperçu des régulations moléculaires en

quantifiant les métabolites à un temps donné chez les organismes (Sogin et al., 2016). Les changements du métabolome sont le reflet de l'expression des gènes et des protéines (Bundy, Davey & Viant, 2009 ; Sogin et al., 2014). Ainsi, il serait intéressant lors d'un futur projet, d'analyser les échantillons d'ARN prélevés pour les trois espèces lors des expériences *in* et *ex situ*. Ainsi, l'analyse des ARN permettrait de déterminer les éventuels effets du stress et des assemblages sur les holobiontes *via* l'étude de gènes codant pour des protéines chaperonnes par exemple, bioindicatrices d'un stress (Downs et al., 2000). De nombreuses études ont notamment démontré une augmentation de gènes codant pour ces protéines chez les coraux exposés à un stress thermique (Császár, Seneca & Van Oppen, 2009 ; Rosic et al., 2011). De plus, lors de l'étude préliminaire, les bécotiers associés à *P. damicornis* en condition de stress thermique ont présenté un retard de l'augmentation de l'expression de nombreux gènes, dont ceux codant pour des protéines chaperonnes en comparaison avec les bécotiers seuls (Dubousquet 2014). Ces résultats suggèrent que la présence de *P. damicornis* affecte les voies de réponse du bécotier et qu'il en serait de même dans les assemblages PAT.

L'analyse des microbiomes a révélé la prolifération des vibrionacés lors de l'agonie des bécotiers. Comme suggéré, il pourrait provenir d'une déficience des défenses immunitaires auquel s'ajouterait une diminution de la réactivité transcriptionnelle lorsque les bécotiers sont associées aux coraux (Figure 6.2 ; Dubousquet, 2014 ; Travers et al., 2008). En effet, de la même manière que *P. damicornis*, *A. cytherea* pourrait retarder l'expression de nombreux gènes chez les bécotiers. Les extraits d'Acroporidae possèdent des activités biologiques plus diverses que les Pocilloporidae, et sont notamment cytotoxiques ou néfastes pour le système immunitaire (Khalesi, 2012). Ainsi, *via* le relargage de métabolites, la présence d'*A. cytherea* à proximité d'un bécotier, accentuerait probablement son déficit immunitaire des bécotiers, contrairement à *P. damicornis* qui n'entraîne pas la mort des bécotiers dans les assemblages PT (Dubousquet, 2014). Afin de déterminer si de telles différences existent, une analyse de l'immunité des bécotiers en fonction des assemblages pourrait être réalisée *via* l'étude de paramètres tels le dénombrement des hémocytes ou l'indice de phagocytose (Travers et al., 2008). De plus, on sait que l'augmentation de la température rend les holobiontes plus sensibles au pathogènes et influence aussi la physiologie des Vibrionacés souvent décrits comme température-dépendants (Lee et al., 2001 ; Travers et al., 2009). Les espèces bactériennes majoritaires du genre *Vibrio*, identifiées chez les bécotiers agonisants lors de l'expérience *ex situ*, n'ont à notre connaissance pas été décrites comme pathogènes. Ainsi pour

savoir si les *Vibrio* identifiés sont la cause des mortalités observées, des expériences d'infection pourraient être réalisées. Etant donné que la température, le temps et le degré d'exposition jouent sur cette mortalité (Travers et al., 2009), les expériences d'infection pourraient être testées avec plusieurs températures sur plusieurs jours. Afin de réaliser le même genre d'expériences sur les différents assemblages, une infection par injection pourrait permettre d'infecter seulement les bénitiers (De Decker et al., 2011) afin d'éviter une potentielle contamination des coraux. Au préalable, il serait donc judicieux d'analyser les données de métabarcodage des coraux pour caractériser les espèces de *Vibrio* sp. présentes dans leur microbiome, et ainsi déterminer si *A. cytherea* ne pourrait pas être la source de l'infection des bénitiers.

Pour mieux comprendre les mécanismes cellulaires mis en jeu lors de la mort des bénitiers,



**Figure 6.2 :** Effet des assemblages coraux-bénitiers sur la santé des bénitiers.

les ARN des bénitiers à l'agonie provenant principalement des assemblages PAT et AT pourraient

être analysés (chapitre 4). Etant donné que les bécitiers à l'agonie avaient un décollement du manteau, il serait intéressant d'étudier les gènes impliqués dans les mécanismes de mort cellulaire, tel que les gènes codant pour le facteur de nécrose tumorale (TNF, Tumor Necrosis Factor) ou les caspases impliquées dans l'apoptose (Nikoletopoulou, Kyriakakis & Tavernarakis, 2014 ; Romero, Novoa & Figueras, 2015). La comparaison des transcriptomes pourrait permettre de déterminer si les mécanismes entraînant l'agonie des bécitiers sont les mêmes quel que soit l'assemblage. De manière intéressante, les bécitiers morts lors de l'expérience *in situ* (chapitre 5) étaient en monoassemblage T, alors que ceux des expériences *ex situ* étaient dans des assemblages PAT et AT (chapitre 4). À la différence de l'expérience *ex situ*, lors des observations bimensuelles *in situ* aucun « signe » d'agonie tel que le décollement du manteau n'a été observé ; les coquilles des bécitiers ont à chaque fois été retrouvées vides sur ou près de mini-récifs. Il est donc vraisemblable que les modalités de la mortalité soient différentes, prédation par exemple, dans le contexte *in situ*. L'étude du microbiome et du transcriptome des bécitiers de l'expérience *in situ* pourrait déterminer si les bécitiers des assemblages T étaient à l'agonie comme ceux des assemblages *ex situ* PAT et AT. De plus, l'analyse du microbiome des bécitiers *in situ*, mettrait en évidence si les microbiotypes déterminés chez les bécitiers *ex situ* sont similaires ou non. Des études réalisées sur des invertébrés de la même espèce *ex* ou *in situ* ont démontré des différences au niveau des microbiomes. Néanmoins les aquariums n'étaient pas en circuit ouvert (Kooperman et al., 2007 ; Webster et al., 2011). De plus, il est peu probable que les bactéries présentes dans l'eau influencent la composition bactérienne des holobiontes, étant donné que les microbiotypes des bécitiers n'étaient pas différents en fonction des expériences 1 et 2 (chapitre 4) alors qu'elles ont été réalisées à un mois d'intervalle avec notamment des différences de pluviométrie (chapitre 2). Bien qu'à notre connaissance, aucune étude n'ait analysé les bactéries des bécitiers et celles présentes dans l'eau avoisinante, il a été démontré que la composition bactérienne de l'eau et des coraux était très différente (Röthig et al., 2016, 2017). On peut donc supposer que les bactéries présentes dans l'eau n'influencent pas de manière significative la composition du microbiome des holobiontes. Cependant, les bécitiers, de par leur biologie, ont une plus grande activité de filtration que les coraux et pourraient donc avoir plus de bactéries communes avec l'eau. Au cours de l'expérience *in situ*, 3 réplicats de 800 mL à 1 L d'eau par site ont été récoltés en février et filtrés sur des filtres permettant la rétention des bactéries. L'analyse des bactéries présentes sur ces filtres pourrait nous donner une bonne indication des éventuelles différences de composition bactérienne. Néanmoins, les prélèvements de bécitiers ont été réalisés en mai et seule une partie du manteau a été récoltée.

Il serait donc intéressant de réaliser une expérience *in situ* avec des bécotiers et de prélever l'eau et les différentes parties des tissus le même jour afin de pouvoir comparer les compositions microbiennes. Par ailleurs, pour un temps donné, le nombre d'échantillon par assemblage de l'expérience *in situ* (n = 5) a été plus important que celui de l'expérience *ex situ* (n = 4). De plus, le nombre de bécotiers morts a été moins important pendant l'expérience *in situ* par rapport à l'expérience *ex situ*. L'analyse des bécotiers *in situ* devrait augmenter la puissance des tests statistiques et ainsi dévoiler l'influence des assemblages sur la composition des microbiotypes.

Tout comme les bécotiers, la composition bactérienne des coraux a été étudiée. L'analyse statistique de ces données est facilement réalisable afin de déterminer si les coraux possèdent des microbiotypes, et si la composition bactérienne varie en fonction des assemblages chez les coraux. Des variations de composition bactériennes entre différentes espèces de coraux ont d'ores et déjà été mise en évidence (Morrow et al., 2012 ; Rohwer et al., 2002), il serait donc intéressant de regarder si des résultats similaires existent entre les deux espèces (*P. damicornis* et *A. cytherea*). Comme pour les bécotiers, il est possible qu'un effet assemblage passe inaperçu dans l'expérience en aquariums, ainsi l'ADN des coraux *in situ* pourrait être analysé en complément.

Des analyses supplémentaires en métabarcodage permettraient de compléter l'étude des organismes associés aux holobiontes, tel que la détermination des champignons qui n'a pas pu être réalisée par métabarcodage du fait d'amplifications non réussies probablement dû aux amorces sélectionnées ou aux conditions d'amplification. Bien que moins étudiés, les champignons et les endolithes jouent eux aussi des rôles importants pour les holobiontes tel que le transfert de photosynthétats ou encore d'activité antimicrobienne (Figure 1.3, Introduction ; Amend, Barshis & Oliver, 2011). Ainsi la compréhension des réponses de l'holobionte passe aussi par l'étude de ces organismes. De plus, les holobiontes, tel que les macro-algues *via* des composés allélochimiques, peuvent agir sur la composition en microorganismes d'autres holobiontes (e.g. coraux) qui contrôlent une partie leur réponse et leur adaptation aux changements environnementaux (Morrow et al., 2011). La corrélation des analyses des algues récoltées sur les plaques de recrutement et des microorganismes des holobiontes des mini-récifs permettrait d'élucider un éventuel effet allélochimique.

## 2. Conclusion

En étudiant différentes espèces, ce travail de thèse a permis d'apporter de nouvelles connaissances sur l'effet des assemblages sur leur environnement proche, ainsi que sur les holobiontes et leurs organismes associées (Figure 6.1). Bien que les résultats obtenus aient soulevé de nombreuses questions qui offrent des perspectives d'études pour les années à venir, ce travail a clairement mis en évidence l'importance des assemblages et la nécessité d'utiliser une combinaison d'approches multidisciplinaires pour mieux comprendre les processus biologiques qui régissent les organismes constructeurs de récifs coralliens.

Au cours de nos analyses nous avons démontrés que les holobiontes répondent différemment en fonction des assemblages et semblent pouvoir utiliser différentes stratégies de défense, protection et/ou compétition selon les situations comme le démontre l'inhibition du biofouling lorsque les trois organismes sont associés, ou encore l'effet positif de l'assemblage P et négatif de l'assemblage PA sur le recrutement corallien. Bien que les interactions entre coraux et bédouilles semblent complexes et requièrent des analyses plus poussées, les nouvelles technologies permettent une avancée majeure dans la compréhension des réponses des organismes. Il est nécessaire de continuer à utiliser ces technologies pour améliorer les bases de données. Par exemple, l'augmentation des recherches en écologie chimique sur des organismes marins au cours des dernières années permet d'ores et déjà l'identification de nombreux métabolites. Malgré cela, le métabolome des coraux et des bédouilles restent complexes et de nombreux métabolites sont encore inconnus. La compréhension de la structure des populations récifales passe aussi par l'étude à l'échelle locale d'un plus grand nombre d'espèce. Ce projet s'est focalisé sur trois espèces dominantes des récifs de Polynésie française, néanmoins la conception d'études à plus grande échelle avec plus d'espèces apporterait des informations cruciales sur les récifs coralliens.

Enfin, ces résultats offrent des perspectives futures concernant les projets de restauration récifale. La restauration récifale est un des moyens de gestions des récifs coralliens qui est perçu comme un outil essentiel à la persistance des récifs coralliens face à leur détérioration rapide due aux nombreuses perturbations qu'ils subissent (van Oppen et al., 2017). Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a étudié l'effet des assemblages pour augmenter la résilience des organismes lors de transplantation sur des récifs endommagés. Pourtant, certains assemblages semblent plus bénéfiques que d'autres sur les holobiontes. Ainsi, au même titre que la permaculture

utilisée en milieu terrestre pour favoriser des cultures agricoles durables et résilientes, il serait possible de transplanter différentes espèces en assemblages afin d'augmenter leur résilience et la biodiversité. Ce type de projet nécessiterait des études à l'échelle locale, en prenant en compte la diversité existante ou ayant existé.







# Chapitre 7

## Bibliographie

## Chapitre 7 : Bibliographie

### A

- ABELSON A., & LOYA Y., 1999, « Interspecific aggression among stony corals in eilat, Red Sea : A hierarchy of aggression ability and related parameters », *Bulletin of Marine Science*, 65, 3, p. 851-860.
- ABOU-HUSSEIN D.R., BADR J.M., & YOUSSEF D.T.A., 2014, « Dragmacidoside: A new nucleoside from the red sea sponge *Dragmacidon coccinea* », *Natural Product Research*, 28, 15, p. 1134-1141.
- ADESSI L., 2001, « Giant clam bleaching in the lagoon of Takapoto atoll (French Polynesia) », *Coral reefs*, 19, p. 220.
- ADJEROUD M., MICHONNEAU F., EDMUNDS P.J., CHANCERELLE Y., LOMA T.L. DE, PENIN L., THIBAUT L., VIDAL-DUPIOL J., SALVAT B., & GALZIN R., 2009, « Recurrent disturbances, recovery trajectories, and resilience of coral assemblages on a South Central Pacific reef », *Coral Reefs*, 28, 3, p. 775-780.
- ADJEROUD M., 1997, « Factors influencing spatial patterns on coral reefs around Moorea, French Polynesia », *Marine Ecology Progress Series*, 159, 1, p. 105-119.
- ADJEROUD M., ANDRÉFOUËT S., PAYRI C., OREMPÜLLER J., ADJEROUD M., & ANDRÉFOUËT S., 2000, « Physical factors of different communities between atoll Tuamotu Archipelago ( French Polynesia) », *Marine Ecology Progress Series*, 196, p. 25-38.
- ADJEROUD M., BRIAND M.J., KAYAL M., & DUMAS P., 2013, « Coral assemblages in Tonga: Spatial patterns, replenishment capacities, and implications for conservation strategies », *Environmental Monitoring and Assessment*, 185, 7, p. 5763-5773.
- ADJEROUD M., CHANCERELLE Y., SCHRIMM M., PEREZ T., LECCHINI D., GALZIN R., & SALVAT B., 2005, « Detecting the effects of natural disturbances on coral assemblages in French Polynesia: A decade survey at multiple scales », *Aquatic Living Resources*, 18, 2, p. 111-123.
- ADJEROUD M., GUÉRÉCHEAU A., VIDAL-DUPIOL J., FLOT J.F., ARNAUD-HAOND S., & BONHOMME F., 2014, « Genetic diversity, clonality and connectivity in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*: A multi-scale analysis in an insular, fragmented reef system », *Marine Biology*, 161, 3, p. 531-541.
- ADJEROUD M., PENIN L., & CARROLL A., 2007, « Spatio-temporal heterogeneity in coral recruitment around Moorea, French Polynesia: Implications for population maintenance », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 341, 2, p. 204-218.
- ADJEROUD M., & TSUCHIYA M., 1999, « Genetic variation and clonality in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis* in the Ryukyu Archipelago, southern Japan », *Marine Biology*, 134, p. 753-760.
- AERTS L.A.M., & SOEST R.W.M. VAN, 1997, « Quantification of sponge/coral interactions in a physically stressed reef community, NE Colombia », *Marine Ecology Progress Series*, 148, 1-3, p. 125-134.
- AGUILAR C., RAINA J.-B., MOTTI C.A., FÔRET S., HAYWARD D.C., LAPEYRE B., BOURNE D.G., & MILLER D.J., 2017, « Transcriptomic analysis of the response of *Acropora millepora* to hypo-osmotic stress provides insights into DMSP biosynthesis by corals », *BMC Genomics*, 18, p. 612-626.
- AINSWORTH T.D., KRAUSE L., BRIDGE T., TORDA G., RAINA J.-B., ZAKRZEWSKI M., GATES R.D., PADILLA-GAMIÑO J.L., SPALDING H.L., SMITH C., WOOLSEY E.S., BOURNE D.G., BONGAERTS P., HOEGH-GULDBERG O., & LEGGAT W., 2015, « The coral core microbiome identifies rare bacterial taxa as ubiquitous endosymbionts », *The ISME Journal*, 9, 10, p. 2261-2274.

- AINSWORTH T.D., THURBER R.V., & GATES R.D., 2010, « The future of coral reefs: A microbial perspective. », *Trends in ecology & evolution*, 25, 4, p. 233-240.
- AL-DAHASH L.M., & MAHMOUD H.M., 2013, « Harboring oil-degrading bacteria: A potential mechanism of adaptation and survival in corals inhabiting oil-contaminated reefs », *Marine Pollution Bulletin*, 72, 2, p. 364-374.
- ALI A.A., SHABAN K.A., & TANTAWY E.A., 2014, « Effect of Poly- $\beta$ -Hydroxybutyrate (PHB) and glycogen producing endophytic bacteria on yield, growth and nutrient contents in rice cultivated in saline soil », *Applied Science Reports*, 8, 3, p. 134-142.
- ALLEMAND D., TAMBUTTE E., GIRARD J., JAUBERT J., TAMBUTTE E., GIRARD J., & JAUBERT J., 1998, « Organic matrix synthesis in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*: Role in biomineralization and potential target of the organotin tributyltin », *The Journal of experimental biology*, 201, p. 2001-2009.
- ALLISON D.G., 2003, « The Biofilm Matrix », *Biofouling*, 19, 2, p. 139-150.
- ALSTYNE K.L. VAN, DOMINIQUE V.J., & MULLER-PARKER G., 2009, « Is dimethylsulfoniopropionate (DMSP) produced by the symbionts or the host in an anemone-zooxanthella symbiosis? », *Coral Reefs*, 28, 1, p. 167-176.
- ALSTYNE K.L. VAN, GIFFORD S.A., DOHMAN J.M., & SAVEDO M.M., 2016, « Effects of environmental changes, tissue types and reproduction on the emissions of dimethyl sulfide from seaweeds that form green tides », *Environmental Chemistry*, 13, 2, p. 220-230.
- ALSTYNE K.L. VAN, & PUGLISI M.P., 2007, « DMSP in marine macroalgae and macroinvertebrates: Distribution, function, and ecological impacts », *Aquatic Sciences*, 69, 3, p. 394-402.
- ALSTYNE K.L. VAN, SCHUPP P., & SLATTERY M., 2006, « The distribution of dimethylsulfoniopropionate in tropical Pacific coral reef invertebrates », *Coral Reefs*, 25, 3, p. 321-327.
- ALVAREZ-FILIP L., CARRICART-GANIVET J.P., HORTA-PUGA G., & IGLESIAS-PRIETO R., 2013, « Shifts in coral-assembly composition do not ensure persistence of reef functionality », *Scientific reports*, 3, p. 1-5.
- ÁLVAREZ-NORIEGA M., BAIRD A.H., DORNELAS M., MADIN J.S., & CONNOLLY S.R., 2018, « Negligible effect of competition on coral colony growth », *Ecology*, 99, 6, p. 1347-1356.
- AMEND A.S., BARSHIS D.J., & OLIVER T.A., 2011, « Coral-associated marine fungi form novel lineages and heterogeneous assemblages », *The ISME Journal*, 6, 10, p. 1291-1301.
- AMMAR M.S. A, AMIN E.M., GUNDAKER D., & MUELLER W.E.G., 2000, « One rational strategy for restoration of coral reefs: Application of molecular biological tools to select sites for rehabilitation by asexual recruits », *Marine Pollution Bulletin*, 40, 7, p. 618-627.
- AMMON U. VON, WOOD S.A., LAROCHE O., ZAIKO A., TAIT L., LAVERY S., INGLIS G., & POCHON X., 2017, « The impact of artificial surfaces on marine bacterial and eukaryotic biofouling assemblages: A high-throughput sequencing analysis », *Marine Environmental Research*, 133, p. 57-66.
- ANDRAS T.D., ALEXANDER T.S., GAHLENA A., PARRY R.M., FACUNDO M., KUBANEK J., WANG M.D., & HAY M.E., 2013, « Seaweed allelopathy against coral: surface distribution of a seaweed secondary metabolite by imaging mass spectrometry », *Journal of Chemical Ecology*, 38, 10, p. 1203-1214.
- ANDRÉFOUËT S., WYNSBERGE S. VAN, GAERTNER-MAZOUNI N., MENKES C., GILBERT A., & REMOISSENET G., 2013, « Climate variability and massive mortalities challenge giant clam conservation and management efforts in French Polynesia atolls », *Biological Conservation*, 160, p. 190-199.
- APPRILL A., MARLOW H.Q., MARTINDALE M.Q., & RAPPÉ M.S., 2009, « The onset of microbial associations in the coral *Pocillopora meandrina* », *ISME Journal*, 3, 6, p. 685-699.
- ARIAS-GONZÁLEZ J.E., FUNG T., SEYMOUR R.M., GARZA-PÉREZ J.R., ACOSTA-GONZÁLEZ G., BOZEC Y.M., & JOHNSON C.R., 2017, « A coral-algal phase shift in Mesoamerica not driven by changes in herbivorous fish abundance », *PLoS ONE*, p. 1-17.

- ARIF C., DANIELS C., BAYER T., BANGUERA-HINESTROZA E., BARBROOK A., HOWE C.J., LAJEUNESSE T.C., & VOOLSTRA C.R., 2014, « Assessing *Symbiodinium* diversity in scleractinian corals via next-generation sequencing-based genotyping of the ITS2 rDNA region », *Molecular Ecology*, 23, 17, p. 4418-4433.
- ARNDT D., XIA J., LIU Y., ZHOU Y., GUO A.C., CRUZ J.A., SINELNIKOV I., BUDWILL K., NESB?? C.L., & WISHART D.S., 2012, « METAGENassist: A comprehensive web server for comparative metagenomics », *Nucleic Acids Research*, 40, p. 88-95.
- ARUMUGAM M., RAES J., PELLETIER E., PASLIER D. LE, BATTO J., BERTALAN M., BORRUEL N., & CASELLAS F., 2013, « Enterotypes of the human gut microbiome », *Nature*, 473, 7346, p. 174-180.
- AUSTIN A.D., AUSTIN S.A., & SALE P.F., 1980, « Community structure of the fauna associated with the coral *Pocillopora damicornis* (L.) on the Great Barrier reef », *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 31, p. 163-177.
- AVILA C., TABOADA S., & NÚÑEZ-PONS L., 2007, « Antarctic marine chemical ecology: What is next? », *Marine Ecology*, 29, 1, p. 1-71.
- AWAI K., MATSUOKA R., & SHIOI Y., 2012, « Lipid and fatty acid compositions of *Symbiodinium* strains », *Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium*, 1, p. 9-12.

## B

- BABCOCK R.C., BAIRD A.H., PIROMVARAGORN S., THOMSON D.P., & WILLIS B.L., 2003, « Identification of scleractinian coral recruits from Indo-Pacific reefs », *Zoological Studies*, 42, 1, p. 211-226.
- BABCOCK R., & MUNDY C., 1996, « Coral recruitment: Consequences of settlement choice for early growth and survivorship in two scleractinians », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 206, 1-2, p. 179-201.
- BAILLIE B.K., BELDA-BAILLIE C.A., & MARUYAMA T., 2000, « Conspecificity and Indo-Pacific distribution of *Symbiodinium* genotypes (dinophyceae) from giant clams », *Journal of Phycology*, 36, 6, p. 1153-1161.
- BAIRD A.H., GUEST J.R., & WILLIS B.L., 2009, « Systematic and biogeographical patterns in the reproductive biology of scleractinian corals », *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 1, p. 551-571.
- BAKER A.C., 2001, « Reef corals bleach to survive change », *Nature*, 411, 6839, p. 765-766.
- 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, 1, p. 661-689.
- BANASZAK A.T., LAJEUNESSE T.C., & TRENCH R.K., 2000, « The synthesis of mycosporine-like amino acids (MAAs) by cultured, symbiotic dinoflagellates », *Journal of experimental marine biology and ecology*, 249, 2, p. 219-233.
- BANDURRAGA M.M., & FENICAL W., 1985, « Isolation of the muricins. Evidence of a chemical adaptation against fouling in the marine octocoral *Muricea fruticosa* (gorgonacea) », *Tetrahedron*, 41, 6, p. 1057-1065.
- BANE P., 2012, *Earth care manual: A permaculture handbook for britain and other temperate climates*, New society publishers, 1-465 p.
- BANSKOTA A.H., STEFANOVA R., GALLANT P., & MCGINN P.J., 2013, « Mono- and digalactosyldiacylglycerols: Potent nitric oxide inhibitors from the marine microalga *Nannochloropsis granulata* », *Journal of Applied Phycology*, 25, 2, p. 349-357.
- BAROTT K.L., RODRIGUEZ-BRITO B., JANOUŠKOVEC J., MARHAVER K.L., SMITH J.E., KEELING P., & ROHWER F.L., 2011,

- « Microbial diversity associated with four functional groups of benthic reef algae and the reef-building coral *Montastraea annularis* », *Environmental Microbiology*, 13, 5, p. 1192-1204.
- BAROTT K.L., & ROHWER F.L., 2012, « Unseen players shape benthic competition on coral reefs », *Trends in Microbiology*, 20, 12, p. 621-628.
- BARR J.J., AURO R., FURLAN M., WHITESON K.L., ERB M.L., POGLIANO J., STOTLAND A., WOLKOWICZ R., CUTTING A.S., DORAN K.S., SALAMON P., YOULE M., & ROHWER F., 2013, « Bacteriophage adhering to mucus provide a non-host-derived immunity », *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 26, p. 10771-10776.
- BARR J.J., YOULE M., & ROHWER F., 2013, « Innate and acquired bacteriophage-mediated immunity », *Bacteriophage*, 3, 3, p. 25857-25863.
- BARRE S.C. LA, COLL J.C., & SAMMARCO P.W., 1986, « Defensive strategies of soft corals (coelenterata: octocorallia) of the great barrier reef. II. The relationship between toxicity and feeding deterrence », *Biological Bulletin*, 171, 3, p. 565-576.
- BAY L.K., CUMBO V.R., ABREGO D., KOOL J.T., AINSWORTH T.D., & WILLIS B.L., 2011, « Infection dynamics vary between *Symbiodinium* Types and cell surface treatments during establishment of endosymbiosis with coral larvae », *Diversity*, 3, 3, p. 356-374.
- BECKER S., QUARTINO M., CAMPANA G., BUCOLO P., WIENCKE C., & BISCHOF K., 2011, « The biology of an Antarctic rhodophyte, *Palmaria decipiens* : recent advances », *Antarctic Science*, 23, 5, p. 419-430.
- BELDA-BAILLIE C.A., SISON M., SILVESTRE V., VILLAMOR K., MONJE V., GOMEZ E.D., & BAILLIE B.K., 1999, « Evidence for changing symbiotic algae in juvenile tridacnids », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 241, 2, p. 207-221.
- BELLWOOD D.R., & HUGHES T.P., 2001, « Regional-scale assembly rules and biodiversity of coral reefs », *Science*, 292, p. 1532-1534.
- BEMAN J.M., ROBERTS K.J., WEGLEY L., ROHWER F., & FRANCIS C.A., 2007, « Distribution and diversity of archaeal ammonia monooxygenase genes associated with corals », *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 17, p. 5642-5647.
- BEN-ARI H., PAZ M., & SHER D., 2018, « The chemical armament of reef-building corals: Inter- and intra-specific variation and the identification of an unusual actinoporin in *Stylophora pistilata* », *Scientific Reports*, 8, 1, p. 1-13.
- BEN-HAIM Y., THOMPSON F.L., THOMPSON C.C., CNOCKAERT M.C., HOSTE B., SWINGS J., & ROSENBERG E., 2003, « *Vibrio coralliilyticus* sp. nov., a temperature-dependent pathogen of the coral *Pocillopora damicornis* », *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 1, p. 309-315.
- BEN-HAIM Y., BANIM E., KUSHMARO A., LOYA Y., & ROSENBERG E., 1999, « Inhibition of photosynthesis and bleaching of zooxanthellae by the coral pathogen *Vibrio shiloi* », *Environmental Microbiology*, 1, 3, p. 223-229.
- BERGH Ø., BØRSHEIM K.Y., BRATBAK G., & HELDAL M., 1989, « High abundance of viruses found in aquatic environments », *Nature*, 340, 6233, p. 467-468.
- BERKELMANS R., & OPPEN M.J.H. VAN, 2006, « The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a “nugget of hope” for coral reefs in an era of climate change », *Proceedings of The Royal Society B: Biological science*, 273, 1599, p. 2305-2312.
- BETTAREL Y., BOUVIER T., NGUYEN H.K. IM, & THU P.T. HE, 2015, « The versatile nature of coral-associated viruses », *Environmental microbiology*, 17, 10, p. 3433-3439.
- BIERI T., ONISHI M., XIANG T., GROSSMAN A.R., & PRINGLE J.R., 2016, « Relative contributions of various cellular mechanisms to loss of algae during cnidarian bleaching », *PLoS ONE*, 11, 4, p. 1-24.
- BIJLSMA R., & LOESCHCKE V., 1997, *Environmental Stress, Adaptation, and Evolution*, 325 p.

- BIQUAND E., OKUBO N., AIHARA Y., ROLLAND V., HAYWARD D.C., HATTA M., MINAGAWA J., MARUYAMA T., & TAKAHASHI S., 2017, « Acceptable symbiont cell size differs among cnidarian species and may limit symbiont diversity », *ISME Journal*, 11, 7, p. 1702-1712.
- BIRRELL C.L., MCCOOK L.J., WILLIS B.L., & HARRINGTON L., 2008, « Chemical effects of macroalgae on larval settlement of the broadcast spawning coral *Acropora millepora* », *Marine Ecology Progress Series*, 362, p. 129-137.
- BIRRELL C., MCCOOK L., WILLIS B., & DIAZ-PULIDO G., 2008, « Effects of benthic algae on the replenishment of corals and the implications for the resilience Of coral reefs », *Oceanography and Marine Biology: An annual review*, 46, p. 25-63.
- BLACKALL L.L., WILSON B., & OPPEN M.J.H. VAN, 2015, « Coral-the world's most diverse symbiotic ecosystem », *Molecular Ecology*, 24, 21, p. 5330-5347.
- BLAXTER M.L., 2004, « The promise of a DNA taxonomy », *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 359, p. 669-679.
- BLUNT J., & MUNRO M., 2017, « MarinLit: A database of the marine natural products literature », <http://pubs.rsc.org/marinlit/>.
- BOCH C. A., & MORSE A.N.C., 2012, « Testing the effectiveness of direct propagation techniques for coral restoration of *Acropora* spp. », *Ecological Engineering*, 40, p. 11-17.
- BORNANCIN L., BONNARD I., MILLS S.C., & BANAIGS B., 2017, « Chemical mediation as a structuring element in marine gastropod predator-prey interactions », *Natural Product Reports*, 34, 6, p. 644-676.
- BOURNE D.G., GARREN M., WORK T.M., ROSENBERG E., SMITH G.W., & HARVELL C.D., 2009, « Microbial disease and the coral holobiont », *Trends in Microbiology*, 17, 12, p. 554-562.
- BOURNE D.G., & MUNN C.B., 2005, « Diversity of bacteria associated with the coral *Pocillopora damicornis* from the Great Barrier Reef », *Environmental Microbiology*, 7, 8, p. 1162-1174.
- BOURNE D., IIDA Y., UTHICKE S., & SMITH-KEUNE C., 2008, « Changes in coral-associated microbial communities during a bleaching event », *ISME Journal*, 2, p. 350-363.
- BOX S.J., & MUMBY P.J., 2007, « Effect of macroalgal competition on growth and survival of juvenile Caribbean corals », *Marine Ecology Progress Series*, 342, p. 139-149.
- BROADBENT A.D., JONES G.B., & JONES R.J., 2002, « DMSP in corals and benthic algae from the Great Barrier Reef », *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 55, 4, p. 547-555.
- BUCK B.H., ROSENTHAL H., & ULRICH S.-P., 2002, « Effect of increased irradiance and thermal stress on the symbiosis of *Symbiodinium microadriaticum* and *Tridacna gigas* », *Aquatic Living Resources*, 15, 2, p. 107-117.
- BUDDEMEIER R.W., & FAUTIN D.G., 1993, « Coral bleaching as an adaptative mechanism », *BioScience*, 43, 5, p. 320-326.
- BULLERI F., THIAULT L., MILLS S., NUGUES M., ECKERT E., CORNO G., & CLAUDET J., 2018, « Erect macroalgae influence epilithic bacterial assemblages and reduce coral recruitment », *Marine Ecology Progress Series*, 597, p. 65-77.
- BUNDY J.G., DAVEY M.P., & VIANT M.R., 2009, « Environmental metabolomics: A critical review and future perspectives », *Metabolomics*, 5, 1, p. 3-21.
- BURKE L., REYTAR K., SPALDING M., & PERRY A., 2011, *Reefs at risk, revisited*, 130 p.



## C

- CABAITAN P.C., GOMEZ E.D., & ALIÑO P.M., 2008, « Effects of coral transplantation and giant clam restocking on the structure of fish communities on degraded patch reefs », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 357, 1, p. 85-98.
- CALUMPONG H., ESTACION J., LUCANAS J., & APAO A., 2003, « Survival , settlement and growth of the fluted giant clam, *Tridacna squamosa*, on different substrates », *The philippine scientist*, 40, p. 101-110.
- CAO F., SHAO C.L., WANG Y., XU K.X., QI X., & WANG C.Y., 2014, « Polyhydroxylated sterols from the south China sea gorgonian *Verrucella umbraculum* », *Helvetica Chimica Acta*, 97, 6, p. 900-908.
- CARBALLO J.L., BAUTISTA E., NAVA H., CRUZ-BARRAZA J.A., & CHÁVEZ J.A., 2013, « Boring sponges, an increasing threat for coral reefs affected by bleaching events », *Ecology and Evolution*, 3, 4, p. 872-886.
- CARREIRA DE PAULA J., DESOTI V.C., SAMPIRON E.G., MARTINS S.C., UEDA-NAKAMURA T., RIBEIRO S.M., BIANCO E.M., SILVA S.D.O., GOMES DE OLIVEIRA G., & NAKAMURA C. V., 2015, « Trypanocidal activity of organic extracts from the Brazilian and Spanish marine sponges », *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25, p. 651-656.
- CESAR H., BURKE L., & PET-SOEDE L., 2003, « The economics of worldwide coral reef degradation ».
- CESAR H., SPASH C., HODGSON G., DIXON J., MOUS P., PET-SOEDE L., ERDMANN M., SADOVY Y., PET J., OHMAN M., WESTMACOTT S., LINDEN O., RODWELL L., ROBERTS C., WARREN K., MEIJER P., IERLAND E., SCURA L., HOF T., BETTENCOUT S., GILLET R., GUSTAVSON K., HUBER R., HONKANEN M., ESPEUT P., WHITE A., FLORES M., ROSS M., & RIEDMILLE S., 2000, *Collected essays on the economics of coral reefs*, CESAR H. (dir.), 243 p.
- CHAO A., 1984, « Nonparametric estimation of the number of classes in a population », *Scandinavian Journal of Statistics*, 11, 4, p. 265-270.
- CHAVES-FONNEGRA A., RIEGL B., ZEA S., LOPEZ J. V., SMITH T., BRANDT M., & GILLIAM D.S., 2018, « Bleaching events regulate shifts from corals to excavating sponges in algae-dominated reefs », *Global Change Biology*, 24, 2, p. 773-785.
- CHAVES-FONNEGRA A., & ZEA S., 2011, « Coral colonization by the encrusting excavating Caribbean sponge *Cliona delitrix* », *Marine Ecology*, 32, 2, p. 162-173.
- CHEN W.-T., LI J., WANG J.-R., LI X.-W., & GUO Y.-W., 2015, « Structural diversity of terpenoids in the soft coral *Sinularia flexibilis*, evidence by a collection from the South China Sea », *The Royal Society of Chemistry*, p. 1-9.
- CHESHER R.H., 1969, « Destruction of pacific corals by the sea star *Acanthaster planci* », *Science*, 165, 3890, p. 280-283.
- CHORNESKY E., 1983, « Induced development of sweeper tentacles on the reef coral *Agaricia agaricites*: A response to direct competition », *Biological Bulletin*, 165, p. 569-581.
- CLARK S., & EDWARDS A.J., 1994, « Use of artificial reef structures To rehabilitate reef flats degraded by coral mining in the Maldives », *Bulletin of Marine Science*, 55, 2-3, p. 724-744.
- COFFROTH M.A., & SANTOS S.R., 2005, « Genetic diversity of symbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium* », *Protist*, 156, 1, p. 19-34.
- COLE A.J., PRATCHETT M.S., & JONES G.P., 2008, « Diversity and functional importance of coral-feeding fishes on tropical coral reefs », *Journal compilation*, 9, p. 286-307.
- COLL J.C., PRICE I.R., KÖNIG G.M., & BOWDEN B.F., 1987, « Algal overgrowth of alcyonacean soft corals », *Marine Biology*, 135, p. 129-135.

- CONNELL J.H., 1976, « Competitive interactions and the species diversity of corals », dans *Coelenterate Ecology and Behavior*, p. 51-58.
- CONNELL J.H., HUGHES T.P., WALLACE C.C., TANNER J.E., HARMS K.E., KERR A.M., & ERR A.L.M.K., 2004, « A long-term study of competition and diversity of corals », *Ecological Monographs*, 74, 2, p. 179-210.
- COOPER E.L., HIRABAYASHI K., STRYCHAR K.B., & SAMMARCO P.W., 2014, « Corals and their potential applications to integrative medicine », *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, p. 1-10.
- COOPER T.F., BERKELMANS R., ULSTRUP K.E., WEEKS S., RADFORD B., JONES A.M., DOYLE J., CANTO M., O'LEARY R.A., & OPPEN M.J.H. VAN, 2011, « Environmental factors controlling the distribution of *Symbiodinium* harboured by the coral *Acropora millepora* on the great barrier reef », *PLoS ONE*, 6, 10, p. 1-13.
- CORNELL H. V., & KARLSON R.H., 1996, « Species richness of reef-building corals determined by local and regional processes », *Journal of Animal Ecology*, 65, 2, p. 233-241.
- COURTIAL L., ALLEMAND D., & PAOLA F., 2018, « Coraux : les ingénieurs des océans sont menacés », dans *Encyclopédie de l'Environnement*, p. 1-9.
- 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.
- CUMBO V.R., BAIRD A.H., & OPPEN M.J.H. VAN, 2013, « The promiscuous larvae: Flexibility in the establishment of symbiosis in corals », *Coral Reefs*, 32, 1, p. 111-120.
- CUNNING R., VAUGHAN N., GILLETTE P., CAPO T.R., MATE J.L., BAKER A.C., & MORGAN S.G., 2015, « Dynamic regulation of partner abundance mediates response of reef coral symbioses to environmental change », *Ecology*, 96, 5, p. 1411-1420.
- CUNNING R., SILVERSTEIN R.N., & BAKER A.C., 2015, « Investigating the causes and consequences of symbiont shuffling in a multi-partner reef coral symbiosis under environmental change », *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 282, 1809, p. 1-8.
- CUNNING R., YOST D.M., GUARINELLO M.L., PUTNAM H.M., & GATES R.D., 2015a, « Variability of *Symbiodinium* communities in waters, sediments, and corals of thermally distinct reef pools in American Samoa », *PLoS ONE*, 10, 12, p. 1-17.
- CUNNING R., YOST D.M., GUARINELLO M.L., PUTNAM H.M., & GATES R.D., 2015b, « Variability of *Symbiodinium* communities in waters, sediments, and corals of thermally distinct reef pools in American Samoa », *PLoS ONE*, 10, 12, p. 1-17.
- CURSON A.R.J., LIU J., MARTÍNEZ A.B., GREEN R.T., CHAN Y., CARRIÓN O., WILLIAMS B.T., ZHANG S., YANG G., BULMAN P.C., ZHANG X., & TODD J.D., 2017, « Dimethylsulphoniopropionate biosynthesis in marine bacteria and identification of the key gene in this process », *Nature Microbiology*, 2, p. 1-35.
- CUTIGNANO A., LUONGO E., NUZZO G., PAGANO D., MANZO E., SARDO A., & FONTANA A., 2016, « Profiling of complex lipids in marine microalgae by UHPLC/tandem mass spectrometry », *Algal Research*, 17, p. 348-358.

## D

- D'ELIA C., & WIEBE W., 1990, « Biogeochemical nutrient cycles in coral reef ecosystem », dans *Ecosystem of the world: Coral reefs (ed. DUBINSKY Z)*, Elsevier Science publisher B.V. Amsterdam, p. 49-74.
- DA-ANOY J.P., VILLANUEVA R.D., CABAITAN P.C., & CONACO C., 2017, « Effects of coral extracts on survivorship, swimming behavior, and settlement of *Pocillopora damicornis* larvae », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 486, p. 93-97.

- DAI C.-F., 1990, « Interspecific competition in Taiwanese corals with special reference to interactions between alcyonaceans and scleractinians », *Marine Ecology Progress Series*, 60, p. 291-297.
- DAVY S.K., ALLEMAND D., & WEIS V.M., 2012, « Cell biology of cnidarian-dinoflagellate symbiosis », *Microbiology and molecular biology reviews*, 76, 2, p. 229-261.
- DAYTON P.K., 1971, « Competition, disturbance, and community organization: The provision and subsequent utilization of space in a rocky intertidal community », *Ecological Monographs*, 41, 4, p. 351-389.
- DE'ATH G., LOUGH J.M., & FABRICIUS K.E., 2009, « Declining coral calcification on the great barrier reef », *Science*, 23, November, p. 116-120.
- DEBOER T., BAKER A., ERDMANN M., JONES P., & BARBER P., 2012, « Patterns of *Symbiodinium* distribution in three giant clam species across the biodiverse Bird's Head region of Indonesia », *Marine Ecology Progress Series*, 444, p. 117-132.
- DECKER S. DE, NORMAND J., SAULNIER D., PERNET F., CASTAGNET S., & BOUDRY P., 2011, « Responses of diploid and triploid Pacific oysters *Crassostrea gigas* to *Vibrio* infection in relation to their reproductive status », *Journal of Invertebrate Pathology*, 106, 2, p. 179-191.
- DESCHASEAUX E.S.M., JONES G.B., DESEO M. A, SHEPHERD K.M., KIENE R.P., SWAN H.B., HARRISON P.L., & EYRE B.D., 2014, « Effects of environmental factors on dimethylated sulfur compounds and their potential role in the antioxidant system of the coral holobiont », *Limnology and Oceanography*, 59, 3, p. 758-768.
- DIAZ-PULIDO G., HARI S., MCCOOK L.J., & HOEGH-GULDBERG O., 2010, « The impact of benthic algae on the settlement of a reef-building coral », *Coral Reefs*, 30, p. 274-279.
- DIAZ-PULIDO G., & MCCOOK L.J., 2002, « The fate of bleached corals: Patterns and dynamics of algal recruitment », *Marine Ecology Progress Series*, 232, p. 115-128.
- DIAZ M.C., & RUTZLER K., 2001, « Sponges: An essential component of Caribbean coral reefs », *Bulletin of Marine Science*, 69, 2, p. 535-546.
- DIMONT E., SHI J., KIRCHNER R., & HIDE W., 2015, « edgeRun: An R package for sensitive, functionally relevant differential expression discovery using an unconditional exact test », *Bioinformatics (Oxford, England)*, 31, 15, p. 2589-2590.
- DOBRETSOV S., ABED R.M.M., & TEPLITSKI M., 2013, « Mini-review: Inhibition of biofouling by marine microorganisms », *Biofouling*, 29, 4, p. 423-441.
- DOBRETSOV S., TEPLITSKI M., & PAUL V., 2009, « Mini-review: Quorum sensing in the marine environment and its relationship to biofouling », *Biofouling*, 25, 5, p. 413-427.
- DONE T.J., 1988, « Simulation of recovery of pre-disturbance size structure in populations of *Porites* spp. damaged by the crown of thorns starfish *Acanthaster planci* », *Marine Biology*, 100, 1, p. 51-61.
- 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., MUELLER E., PHILLIPS S., FAUTH J.E., & WOODLEY C.M., 2000, « A molecular biomarker system for assessing the health of coral (*Montastraea faveolata*) during heat stress », *Marine Biotechnology*, 2, 6, p. 533-544.
- DUBINSKY Z., STAMBLER N., ZION M. BEN, MCCLOSKEY L.R., MUSCATINE L., & FALKOWSKI P.G., 1990, « The effect of external nutrient resources on the optical properties and photosynthetic efficiency of *Stylophora pistillata* », *Proceedings of the Royal Society of London*, 239, 1295, p. 231-246.
- DUBOUSQUET V., 2014, *Diversité génétique du bénitier (*Tridacna maxima*) en Polynésie française et réponse au stress thermique : une approche intégrée de génomique fonctionnelle*, Thèse de doctorat, 293 p.
- DUBOUSQUET V., GROS E., BERTEAUX-LECELLIER V., VIGUIER B., RAHARIVELOMANANA P., BERTRAND C., & LECELLIER G.J., 2016, « Changes in fatty acid composition in the giant clam *Tridacna maxima* in response to thermal stress »,

*Biology Open*, 5, p. 1400-1407.

DUCKLOW H.W., & MITCHELL R., 1979, « Bacterial populations and adaptations in the mucus layers on living corals », *Limnology and Oceanography*, 24, 4, p. 715-725.

DUCKWORTH A., & BATTERSHILL C., 2003, « Sponge aquaculture for the production of biologically active metabolites: The influence of farming protocols and environment », *Aquaculture*, 221, 1-4, p. 311-329.

DUMAS P., TIAVOUANE J., SENIA J., WILLAM A., DICK L., & FAUVELO C., 2014, « Evidence of early chemotaxis contributing to active habitat selection by the sessile giant clam *Tridacna maxima* », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 452, p. 63-69.

DUNLAP W.C., & SHICK J.M., 1998, « Ultraviolet radiation-absorbing mycosporine-like amino acids in coral-reef organisms: a biochemical and environmental perspective », *J Phycol*, 34, p. 418-430.

DUNN S.R., & WEIS V.M., 2009, « Apoptosis as a post-phagocytic winnowing mechanism in a coral-dinoflagellate mutualism », *Environmental Microbiology*, 11, 1, p. 268-276.

## E

EFRONY R., ATAD I., & ROSENBERG E., 2009, « Phage therapy of coral white plague disease: Properties of phage BA3 », *Current Microbiology*, 58, 2, p. 139-145.

EGAN S., HARDER T., BURKE C., STEINBERG P., KJELLEBERG S., & THOMAS T., 2013, « The seaweed holobiont: Understanding seaweed-bacteria interactions », *FEMS Microbiology Reviews*, 37, 3, p. 462-476.

ELIFANTZ H., HORN G., AYON M., COHEN Y., & MINZ D., 2013, « Rhodobacteraceae are the key members of the microbial community of the initial biofilm formed in Eastern Mediterranean coastal seawater », *FEMS Microbiology Ecology*, 85, 2, p. 348-357.

ERHARD D., & GROSS E., 2005, « Do environmental factors influence composition of potential allelochemicals in the submersed freshwater macrophyte *Elodea nuttallii* (Hydrocharitaceae)? », *Verhandlungen der Internationalen Vereinung für Limnologie*, 29, October 2003, p. 287-291.

ERWIN P.M., PITA L., LÓPEZ-LEGENTIL S., & TURON X., 2013, « Stability of sponge-bacteria symbioses over large seasonal shifts in temperature and irradiance », *Invertebrate Microbiology*, p. 1-44.

EVANS C., MALIN G., WILSON W.H., & LISS P.S., 2006, « Infectious titers of *Emiliania huxleyi* virus 86 are reduced by exposure to millimolar dimethyl sulfide and acrylic acid », *Limnology and Oceanography*, 51, 5, p. 2468-2471.

## F

FABINA N.S., PUTNAM H.M., FRANKLIN E.C., STAT M., & GATES R.D., 2012, « Transmission mode predicts specificity and interaction patterns in coral-*Symbiodinium* networks », *PLoS ONE*, 7, 9, p. 1-9.

FABRICIUS K.E., LANGDON C., UTHICKE S., HUMPHREY C., NOONAN S., DE'ATH G., OKAZAKI R., MUEHLEHNER 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.

FAHY E., SUD M., COTTER D., & SUBRAMANIAM S., 2007, « LIPID MAPS online tools for lipid research », *Nucleic Acids Research*, 35, p. 606-612.

FANG J.K.H., MASON R.A.B., SCHÖNBERG C.H.L., HOEGH-GULDBERG O., & DOVE S., 2017, « Studying interactions

- between excavating sponges and massive corals by the use of hybrid cores », *Marine Ecology*, 38, 1, p. 1-8.
- FARHAT N.M., VROUWENVELDER J.S., LOOSDRECHT M.C.M. VAN, BUCS S.S., & STAAL M., 2016, « Effect of water temperature on biofouling development in reverse osmosis membrane systems », *Water Research*, 103, p. 149-159.
- FAUTIN D.G., & BUDDEMEIER R.W., 2004, « Adaptive bleaching: A general phenomenon », *Hydrobiologia*, 530-531, p. 459-467.
- FEARON R.J., & CAMERON A.M., 1997, « Preliminary evidence supporting the ability of hermatypic corals to affect adversely larvae and early settlement stages of hard coral competitors », *Journal of Chemical Ecology*, 23, 7, p. 1769-1780.
- FERRER L., & SZMANT A.M., 1988, « Nutrient regeneration by the endolithic community in coral skeletons », *Proceedings of the 6th International Coral Reef Symposium*, 3, p. 1-4.
- FIGUEROLA B., NÚÑEZ-PONS L., VÁZQUEZ J., TABOADA S., CRISTOBO J., BALLESTEROS M., & AVILA C., 2011, « Chemical interactions in antarctic marine benthic ecosystems », dans *Marine Ecosystems*, p. 105-126.
- 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., FISHER C.R., & TRENCH R.K., 1986, « Contribution of the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum* to the nutrition, growth and survival of larval and juvenile tridacnid clams », *Aquaculture*, 55, p. 5-22.
- FITT W.K., & TRENCH R.K., 1981, « Spawning, development, and acquisition of zooxanthellae by *Tridacna squamosa* (mollusca, bivalvia) », *Biological Bulletin*, 135, 1, p. 141-148.
- FORSMAN Z.H., PAGE C.A., TOONEN R.J., & VAUGHAN D., 2015, « Growing coral larger and faster: Micro-colony-fusion as a strategy for accelerating coral cover », *PeerJ*, 3, p. 2-16.

## G

- GALTIER D'AURIAC I., QUINN R.A., MAUGHAN H., NOTHIAS L., LITTLE M., KAPONO C.A., COBIAN A., REYES B.T., GREEN K., QUISTAD S.D., LERAY M., SMITH J.E., DORRESTEIN P.C., ROHWER F., DEHEYN D.D., HARTMANN A.C., DEHEYN D.D., & HARTMANN A.C., 2018, « Before platelets: The production of platelet-activating factor during growth and stress in a basal marine organism », *Proceedings Royal Society B*, 285, p. 1-9.
- GAO C., YI X., HUANG R., YAN F., HE B., & CHEN B., 2013, « Alkaloids from corals », *Chemistry and Biodiversity*, 10, 8, p. 1435-1447.
- GARCIA-ARREDONDO A., ROJAS-MOLINA A., IBARRA-ALVARADO C., LAZCANO-PEREZ F., ARREGUIN-ESPINOSA R., & SANCHEZ-RODRIGUEZ J., 2016, « Composition and biological activities of the aqueous extracts of three scleractinian corals from the Mexican Caribbean: *Pseudodiploria strigosa*, *Porites astreoides* and *Siderastrea siderea* », *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, 22, 1, p. 1-14.
- GARDNER S.G., NIELSEN D.A., LACZKA O., SHIMMON R., BELTRAN V.H., RALPH P.J., & PETROU K., 2016, « Dimethylsulfonylpropionate, superoxide dismutase and glutathione as stress response indicators in three corals under short-term hyposalinity stress », *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283, 1824, p. 1-9.
- GATTUSO J.-P., ALLEMAND D., & FRANKINOULLE 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.
- GILBERT A., ANDRÉFOUËT S., YAN L., & REMOISSENET G., 2006, « The giant clam *Tridacna maxima* communities of

- three French Polynesia islands: comparison of their population sizes and structures at early stages of their exploitation », *ICES Journal of Marine Science*, 63, 9, p. 1573-1589.
- GÖKÇEN A., VILCINSKAS A., & WIESNER J., 2014, « Biofilm-degrading enzymes from *Lysobacter gummosus* », *Virulence*, 5, 3, p. 378-387.
- GOLBUU Y., & RICHMOND R.H., 2007, « Substratum preferences in planula larvae of two species of scleractinian corals, *Goniastrea retiformis* and *Stylaraea punctata* », *Marine Biology*, 152, 3, p. 639-644.
- GOMEZ E.D., & MINGOA-LICUANAN S.S., 2006, « Achievements and lessons learned in restocking giant clams in the Philippines », *Fisheries Research*, 80, 1, p. 46-52.
- GORDON B.R., & LEGGAT W., 2010, « *Symbiodinium* - Invertebrate symbioses and the role of metabolomics », *Marine Drugs*, 8, 10, p. 2546-2568.
- GOREAU F., & HARTMANN W., 1966, « Sponge: Effect on the form reef corals », *Science*, 151, p. 6-7.
- GOSLING E., 2015a, *Marine bivalve molluscs*, SONS J.W.& (dir.), 1-520 p.
- GOSLING E., 2015b, *Bivalve Molluscs: Biology, ecology and culture*, 33-36 p.
- GRIGG R., 1983, « Community structure, succession and development of coral reefs in Hawaii\* », *Marine Ecology Progress Series*, 11, p. 1-14.
- GUIBERT I., POCHON X., LECHELLIER G., & BERTEAUX-LECELLIER V., 2018, « The giant clams *Tridacna maxima* harbour distinct microbiotypes », Submitted.
- GUIJAS C., MONTENEGRO-BURKE J.R., DOMINGO-ALMENARA X., PALERMO A., WARTH B., HERMANN G., KOELLENSPERGER G., HUAN T., URITBOONTHAI W., AISPORNA A.E., WOLAN D.W., SPILKER M.E., BENTON H.P., & SIUZDAK G., 2018, « METLIN: A technology platform for identifying knowns and unknowns », *Analytical Chemistry*, 90, 5, p. 3156-3164.
- GUNTHORPE L., & CAMERON A.M., 1990, « Widespread but variable toxicity in scleractinian corals », *Toxicon*, 28, 10, p. 1199-1219.
- GUO W., NGO H.H., & LI J., 2012, « A mini-review on membrane fouling », *Bioresource Technology*, 122, p. 27-34.
- GUYADER F.S. LE, BON F., DEMEDICI D., PARNAUDEAU S., BERTONE A., CRUDELI S., DOYLE A., ZIDANE M., SUFFREDINI E., KOHLI E., MADDALO F., MONINI M., GALLAY A., POMMEPUY M., POTHIER P., & RUGGERI F.M., 2006, « Detection of multiple noroviruses associated with an international gastroenteritis outbreak linked to oyster consumption », *Journal of Clinical Microbiology*, 44, 11, p. 3878-3882.

## H

- HACKSTADT A.J., & HESS A.M., 2009, « Filtering for increased power for microarray data analysis », *BMC Bioinformatics*, 10, 1, p. 11.
- HADFIELD M.G., 2011, « Biofilms and marine invertebrate larvae: What bacteria produce that larvae use to choose settlement sites », *Annual Review of Marine Science*, 3, 1, p. 453-470.
- HALPERN B.S., WALBRIDGE S., SELKOE K., KAPPEL C. V., MICHELI F., D'AGROSA C., BRUNO J.F., CASEY K.S., EBERT C., FOX H.E., FUJITA R., HEINEMANN D., LENIHAN H.S., MADIN E.M.P., PERRY M.T., SELIG E.R., SPALDING M., STENECK R., & WATSON R., 2008, « A global map of human impact on marine ecosystems », *Science (New York, N.Y.)*, 319, 5865, p. 948-952.
- HANSON A.D., RIVOAL J., PAQUET L., & CAGE D.A., 1994, « Biosynthesis of 3-Dimethylsulfoniopropionate in *Wollastonia biflora* (L.) DC. », *Plant physiology*, 105, p. 103-110.

- HARRINGTON L., FABRICIUS K., DE'ATH G., & NEGRI A., 2004, « Recognition and selection of settlement substrata determine post-settlement survival in coral », *Ecology*, 85, 2, p. 3428-3437.
- HARRIOTT V.J., 1992, « Recruitment patterns of scleractinian corals in an isolated sub-tropical reef system », *Coral Reefs*, 11, 4, p. 215-219.
- HARRIOTT V.J., & BANKS S.A., 1995, « Recruitment of Scleractinian corals in the solitary islands marine reserve, a high-latitude coral-dominated community in Eastern Australia », *Marine Ecology-Progress Series*, 123, 1-3, p. 155-161.
- HARRIOTT V.J., 1999, « Coral recruitment at a high latitude Pacific site: A comparison with Atlantic reefs », *Bulletin of Marine Science*, 65, 3, p. 881-891.
- HARRIS J.M., 1993, « The presence, nature, and role of gut microflora in aquatic invertebrates: A synthesis », *Microbial Ecology*, 25, 3, p. 195-231.
- HARRISON P.L., 2011, « Sexual reproduction of Scleractinian corals », dans *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*, p. 1-552.
- HARTOG J.. DEN, 1977, « The marginal tentacles of *Rhodactis sanctithomae* (Corallimorpharia) and the sweeper tentacles of *Montastrea cavernosa* », dans TAYLOR (dir.), *Proceedings of third international coral reef symposium*, Rosenstiel School of Marine Atmospheric Science, University of Miami, p. 463-469.
- HAURI C., FABRICIUS K.E., SCHAFFELKE B., & HUMPHREY C., 2010, « Chemical and physical environmental conditions underneath mat- and canopy-forming macroalgae, and their effects on understorey corals », *PLoS ONE*, 5, 9, p. 1-9.
- HAVILL D.C., INGOLD A., & PEARSON J., 1985, « Sulphide tolerance in coastal halophytes », *Vegetatio*, 62, p. 279-285.
- HERRERA-SILVEIRA J.A., 1994, « Spatial heterogeneity and seasonal patterns in a tropical coastal lagoon », *Journal of Coastal Research*, 10, 3, p. 738-746.
- HESTER E.R., BAROTT K.L., NULTON J., VERMEIJ M.J.A., & ROHWER F.L., 2016, « Stable and sporadic symbiotic communities of coral and algal holobionts », *ISME Journal*, 10, 5, p. 1157-1169.
- HEYWARD A.J., & NEGRI A.P., 1999, « Natural inducers for coral larval metamorphosis », *Coral Reefs*, 18, 3, p. 273-279.
- HIGHSMITH R., 1982, « Reproduction by fragmentation in Corals », *Marine Ecology Progress Series*, 7, 4, p. 207-226.
- HILL R.W., DACEY J.W.H., & EDWARD A., 2000, « Dimethylsulfoniopropionate in giant clams (Tridacnidae) », *Biological Bulletin*, 199, 2, p. 108-115.
- HILL R.W., DACEY J.W.H., & KRUPP D.A., 1995, « Dimethylsulfoniopropionate in reef corals », *Bulletin of Marine Science*, 57, 2, p. 489-494.
- HILL R.W., DACEY J.W., HILL S.D., EDWARD A., & HICKS W.A., 2004, « Dimethylsulfoniopropionate in six species of giant clams and the evolution of dimethylsulfide after death », *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 61, 5, p. 758-764.
- HIROSE M., YAMAMOTO H., & NONAKA M., 2008, « Metamorphosis and acquisition of symbiotic algae in planula larvae and primary polyps of *Acropora* spp. », *Coral Reefs*, 27, p. 247-254.
- HOEGH-GULDBERG O., 1996, « Nutrient enrichment and the ultrastructure of zooxanthellae from the giant clam *Tridacna maxima* », *Marine Biology*, 125, 2, p. 359-363.
- 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, p. 1737-1742.
- HOFER U., 2016, « Marine microbiology: Microbiome 'coral'ations », *Nature Reviews Microbiology*, 14, 5,

p. 266.

HOLMES K.E., 2000, « Effects of eutrophication on bioeroding sponge communities with the description of new West Indian sponges, *Cliona* spp.(Porifera: Hadromerida: Clionidae) », *Invertebrate Biology*, 119, 2, p. 125-138.

HOOPER C., DAY R., SLOCOMBE R., BENKENDORFF K., HANDLINGER J., & GOULIAS J., 2014, « Effects of severe heat stress on immune function, biochemistry and histopathology in farmed Australian abalone (*hybrid Haliotis laevis* × *Haliotis rubra*) », *Aquaculture*, 432, p. 26-37.

HORWITZ R., HOOGENBOOM M.O., & FINE M., 2017, « Spatial competition dynamics between reef corals under ocean acidification », *Scientific Reports*, 7, p. 1-13.

HOULBRÈQUE F., DELESALLE B., BLANCHOT J., MONTEL Y., & FERRIER-PAGÈS C., 2006, « Picoplankton removal by the coral reef community of La Prévoyante, Mayotte Island », *Aquatic Microbial Ecology*, 44, 1, p. 59-70.

HOULBRÈQUE F., & FERRIER-PAGÈS C., 2009, « Heterotrophy in tropical scleractinian corals », *Biological Reviews*, 84, 1, p. 1-17.

HOWARD E.C., HENRIKSEN J.R., BUCHAN A., REISCH C.R., BÜRGMANN H., WELSH R., YE W., GONZÁLEZ J.M., MACE K., JOYE S.B., KIENE R.P., WHITMAN W.B., & MORAN M.A., 2006, « Bacterial taxa that limit sulfur flux from the ocean », *Science*, 314, 27, p. 649-652.

HUANG D., TODD P.A., & GUEST J.R., 2007, « Movement and aggregation in the fluted giant clam (*Tridacna squamosa* L.) », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 342, 2, p. 269-281.

HUGHES T.P., & JACKSON J.B.C., 1980, « Do corals lie about their age? Some demographic consequences of partial mortality, fission, and fusion », *Science*, 209, 4457, p. 713-715.

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., 1994, « Catastrophes, phase shifts and large scale degradation of a Caribbean coral reef », *Science*, 265, 5718, p. 1547-1551.

## I

IKEDA S., YAMASHITA H., KONDO S., INOUE K., MORISHIMA S., & KOIKE K., 2017, « Zooxanthellal genetic varieties in giant clams are partially determined by species-intrinsic and growth-related characteristics » TODD P.A. (dir.), *PLOS ONE*, 12, 2, p. e0172285.

IMBS A.B., RYBIN V.G., KHARLAMENKO V.I., DANG L.P.T., NGUYEN N.T., PHAM K.M., & PHAM L.Q., 2015, « Polyunsaturated molecular species of galactolipids: Markers of zooxanthellae in a symbiotic association of the soft coral *Capnella* sp. (Anthozoa: Alcyonacea) », *Russian Journal of Marine Biology*, 41, 6, p. 461-467.

ISHIKAWA C., JOMORI T., TANAKA J., SENBA M., & MORI N., 2016, « Peridinin, a carotenoid, inhibits proliferation and survival of HTLV-1-infected T-cell lines », *International Journal of Oncology*, 49, 4, p. 1713-1721.



## J

- JACCARD P., 1912, « The distribution of the flora in the alpine zone », *The New Phytologist*, XI, 2, p. 37-50.
- JAMESON S.C., 1976, « Early Life History of the Giant Clams *Tridacna crocea* (Lamarck), *Tridacna maxima* (Reding), and *Hippopus hippopus* (Linnaeus) », *Pacific Science*, 30, 3, p. 219-233.
- JEFFREY S.W., & HAXO F.T., 1968, « Photosynthetic pigments of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) from corals and clams », *The Biological Bulletin*, 135, 1, p. 149-165.
- JOHNSON C.R., MUIR D.G., & REYSENBACH A.L., 1991, « Characteristic bacteria associated with surfaces of coralline algae: A hypothesis for bacterial induction of marine invertebrate larvae », *Marine Ecology Progress Series*, 74, 2-3, p. 281-294.
- JONES A., 2012, « Permaculture restoration of the Aral Sea watershed », dans *Research in Social Problems and Public Policy*, Emerald Group Publishing Ltd., p. 391-409.
- JONES G., CURRAN M., BROADBENT A., KING S., FISCHER E., & JONES R., 2007, « Factors affecting the cycling of dimethylsulfide and dimethylsulfoniopropionate in coral reef waters of the Great Barrier Reef », *Environmental Chemistry*, 4, p. 310-322.
- JORISSEN H., SKINNER C., OSINGA R., BEER D. DE, & NUGUES M.M., 2016, « Evidence for water-mediated mechanisms in coral-algal interactions », *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283, p. 1-10.

## K

- KAAS L., OGORZALY L., LECELLIER G., BERTEAUX-LECELLIER V., CAUCHIE H., & LANGLET J., s. d., « Detection of human enteric viruses in french polynesian wastewaters, environmental waters and giant clams », Submitted in *Food and Environmental Virology*.
- KARLSON R.H., CORNELL H.V., & HUGHES T.P., 2004, « Coral communities are regionally enriched along an oceanic biodiversity gradient », *Nature*, 429, 6994, p. 867-870.
- KASHMAN Y., GROWEISS A., LIDOR R., BLASBERGER D., & CARMELY S., 1985, « Latrunculins: NMR study, two new toxins and a synthetic approach », *Tetrahedron*, 41, 10, p. 1905-1914.
- KATSUOKA M., OGURA C., ETOH H., SAKATA K., & INA K., 1990, « Galactosyl- and sulfoquinovosyldiacyl-glycerols isolated from the brown algae, *Undaria pinnatifida* and *Costaria costata* as repellents of the blue mussel, *Mytilus edulis* », *Agricultural and Biological Chemistry*, 54, 11, p. 3043-3044.
- KELLER M.D., BELLOWS W.K., & GUILLARD R.R.L., 1989, « Dimethyl sulfide production in marine phytoplankton », *Biogenic sulfur in the environment.*, 393, p. 167-182.
- KENYON J.C., 1992, « Sexual reproduction in Hawaiian *Acropora* », *Coral Reefs*, 11, 1, p. 37-43.
- KENYON J.C., VROOM P.S., PAGE K.N., DUNLAP M.J., WILKINSON C.B., & AEBY G.S., 2006, « Community structure of hermatypic corals at french frigate shoals, northwestern hawaiian islands: capacity for resistance and resilience to selective stressors », *Pacific Science*, 60, 2, p. 153-175.
- KHALESI M.K., 2012, « Corals », dans *Marine Flora and Fauna*, p. 179-217.
- KIMES N.E., NOSTRAND J.D. VAN, WEIL E., ZHOU J., & MORRIS P.J., 2010, « Microbial functional structure of *Montastraea faveolata*, an important Caribbean reef-building coral, differs between healthy and yellow-band

diseased colonies », *Environmental Microbiology*, 12, 2, p. 541-556.

KING M., BATTY M., CHAPMAN L., BERTRAM I., GOVAN H., ALBERT S., ROPETI E., YEETING B., PAKOA K., DESURMONT A., SAPATU M., FOALE S., VAVE R., PARRAS T., CLEOFÉ J., TAWAKE A., TAN W., JUPITER S., COHEN P., BREWER T., MALTALI T., COMLEY J., BONITO V., VERDUCCI M., GRIGNON J., MEO S., & GUILBEAUX M., 2012, *Guide d'utilisation des fiches sur la gestion communautaire des ressources halieutiques*, 1-94 p.

KIRST G.O., THIEL C., WOLFF H., NOTHNAGEL J., WANZEK M., & ULMKE R., 1991, « Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) in ice-algae and its possible biological role », *Marine Chemistry*, 35, 1-4, p. 381-388.

KLEYPAS J.A., MCMANUS J.W., & MENEZ L., 1999, « Environmental limits to coral reef development : Where do we draw the line ? », *American Zoologist*, 39, 1, p. 146-159.

KLUMPP D.W., & GRIFFITH C.L., 1994, « Contributions of phototrophic and heterotrophic nutrition to the metabolic and growth requirements of four species of giant clam (Tridacnidae) », *Marine Ecology Progress Series*, 115, 1-2, p. 103-116.

KLUMPP D.W., BAYNE B.L., & HAWKINS A.J.S., 1992, « Nutrition of the giant clam *tridacna gigas* (l) .1. Contribution of filter feeding and photosynthates to respiration and growth », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 155, 1, p. 105-122.

KNEELAND J.M., 2011, *Lipid biomarkers of coral stress: calibration and exploration*, Thèse de doctorat, 1-136 p.

KNOWLTON N., BRAINARD R.E., FISHER R., MOEWS M., PLAISANCE L., & CALEY M.J., 2010, « Chapter 4: Coral Reef Biodiversity », dans MCINTYRE A.D. (dir.), *Life in the world's oceans*, Blackwell, p. 65-77.

KOCIS M.G., NOLTE K.D., RHODES D., SHEN T.L., GAGE D. A, & HANSON A D., 1998, « Dimethylsulfoniopropionate biosynthesis in *Spartina alterniflora*. Evidence that S-methylmethionine and dimethylsulfoniopropylamine are intermediates », *Plant physiology*, 117, 1, p. 273-281.

KOOPERMAN N., BEN-DOV E., KRAMARSKY-WINTER E., BARAK Z., & KUSHMARO A., 2007, « Coral mucus-associated bacterial communities from natural and aquarium environments », *FEMS Microbiology Letters*, 276, 1, p. 106-113.

KOZICH J.J., WESTCOTT S.L., BAXTER N.T., HIGHLANDER S.K., & SCHLOSS P.D., 2013, « Development of a dual-index sequencing strategy and curation pipeline for analyzing amplicon sequence data on the miseq illumina sequencing platform », *Applied and Environmental Microbiology*, 79, 17, p. 5112-5120.

KURIHARA T., FUSEYA R., KATOH M., & INOUE K., 2010, « Possibility of self-fertilization during hatchery culturing of giant clam, *Tridacna crocea* », *Plankton & Benthos Research*, 5, 1, p. 11.

KUSHMARO A, & KUSHMARO A., 1997, « bleaching of the coral *Oculina patagonica* by *Vibrio AK- 1* », *Marine Ecology Progress Series*, 147, p. 159-165.

KVENNEFORS E.C.E., LEGGAT W., KERR C.C., AINSWORTH T.D., HOEGH-GULDBERG O., & BARNES A.C., 2010, « Analysis of evolutionarily conserved innate immune components in coral links immunity and symbiosis », *Developmental and Comparative Immunology*, 34, 11, p. 1219-1229.

## L

LACHNIT T., WAHL M., & HARDER T., 2010, « Isolated thallus-associated compounds from the macroalga *Fucus vesiculosus* mediate bacterial surface colonization in the field similar to that on the natural alga », *Biofouling*, 26, 3, p. 247-255.

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 », 880, 37, p. 866-880.

- LAJEUNESSE T.C., 2005, « “Species” Radiations of Symbiotic Dinoflagellates in the Atlantic and Indo-Pacific Since the Miocene-Pliocene Transition », *Molecular Biology and Evolution*, 22, 3, p. 570-581.
- LAJEUNESSE T.C., PARKINSON J.E., GABRIELSON P.W., JEONG H.J., REIMER J.D., VOOLSTRA C.R., & SANTOS S.R., 2018, « Systematic revision of Symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts », *Current Biology*, 28, p. 1-11.
- LAJEUNESSE T.C., SMITH R., WALTHER M., PINZÓN J., PETTAY D.T., MCGINLEY M., ASCHAFFENBURG M., MEDINA-ROSAS P., CUPUL-MAGAÑA A.L., PÉREZ A.L., REYES-BONILLA H., & WARNER M.E., 2010, « Host-symbiont recombination versus natural selection in the response of coral-dinoflagellate symbioses to environmental disturbance », *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277, 1696, p. 2925-2934.
- LANG J.C., & CHORNESKY E., 1990, « Competition between scleractinian reef corals - a review of mechanisms and effects », dans DUBINSKY (dir.), *Coral reefs*, p. 209-252.
- LANG J., 1973, « Interspecific aggression by scleractinian corals. 2. why the race is not only to the swift », *Bulletin of Marine Science*, 23, 2, p. 260-279.
- LATYPOV Y.Y., 2001, « Communities of Coral Reefs of Central Vietnam », *Russian Journal of Marine Biology*, 27, 4, p. 197-200.
- LEAL M.C., CALADO R., SHERIDAN C., ALIMONTI A., & OSINGA R., 2013, « Coral aquaculture to support drug discovery », *Trends in Biotechnology*, p. 1-7.
- LEE K.K., LIU P.C., CHEN Y.C., & HUANG C.Y., 2001, « The implication of ambient temperature with the outbreak of vibriosis in cultured small abalone *Haliotis diversicolor supertexta* Lischke », *Journal of Thermal Biology*, 26, 6, p. 585-587.
- LEE S.T.M., DAVY S.K., TANG S.L., & KENCH P.S., 2016, « Mucus sugar content shapes the bacterial community structure in thermally stressed *Acropora muricata* », *Frontiers in Microbiology*, 7, MAR, p. 1-11.
- LEE S.Y., JEONG H.J., KANG N.S., JANG T.Y., JANG S.H., & LAJEUNESSE T.C., 2015, « *Symbiodinium tridacnidorum* sp. nov., a dinoflagellate common to Indo-Pacific giant clams, and a revised morphological description of *Symbiodinium microadriaticum* Freudenthal, emended Trench & Blank », *European Journal of Phycology*, 50, 2, p. 155-172.
- LEITE D.C.A., LEÃO P., GARRIDO A.G., LINS U., SANTOS H.F., PIRES D.O., CASTRO C.B., ELSAS J.D. VAN, ZILBERBERG C., ROSADO A.S., & PEIXOTO R.S., 2017, « Broadcast spawning coral *Mussismilia hispida* can vertically transfer its associated bacterial core », *Frontiers in Microbiology*, 8, 176, p. 1-12.
- LEITE D.C.A., SALLES J.F., CALDERON E.N., CASTRO C.B., BIANCHINI A., MARQUES J.A., ELSAS J.D. VAN, & PEIXOTO R.S., 2018, « Coral bacterial-core abundance and network complexity as proxies for anthropogenic pollution », *Frontiers in Microbiology*, 9, 833, p. 1-11.
- LEITE L., JUDE-LEMEILLEUR F., RAYMOND N., HENRIQUES I., GARABETIAN F., & ALVES A., 2017, « Phylogenetic diversity and functional characterization of the Manila clam microbiota: A culture-based approach », *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 27, p. 21721-21732.
- LEONARD K., HEWITT C.L., CAMPBELL M.L., PRIMO C., & MILLER S.D., 2017, « Epibiotic pressure contributes to biofouling invader success », *Scientific Reports*, 7, 1, p. 1-7.
- LERAY M., BÉRAUD M., ANKER A., CHANCERELLE Y., & MILLS S.C., 2012, « *Acanthaster planci* outbreak: Decline in coral health, coral size structure modification and consequences for obligate decapod assemblages », *PLoS ONE*, 7, 4, p. 1-10.
- LESSER M.P., 2004, « Experimental biology of coral reef ecosystems », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 300, 1-2, p. 217-252.
- LI B., & DEWEY C.N., 2011, « RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome », *BMC bioinformatics*, 12, p. 323.

- LI S., KIM Y., CHEKLI L., PHUNTSO S., SHON H.K., LEIKNES T.O., & GHAFPOUR N., 2017, « Impact of reverse nutrient diffusion on membrane biofouling in fertilizer-drawn forward osmosis », *Journal of Membrane Science*, 539, October 2016, p. 108-115.
- LIAO M.H., TANG S.L., HSU C.M., WEN K.C., WU H., CHEN W.M., WANG J.T., MENG P.J., TWAN W.H., LU C.K., DAI C.F., SOONG K., & CHEN C.A., 2007, « The “black disease” of reef-building corals at Green Island, Taiwan - outbreak of a cyanobacteriosponge, *Terpios hoshinota* (Suberitidae; Hadromerida) », *Zoological Studies*, 46, 4, p. 520.
- LITTLE A.F., OPPEN M.J.H. VAN, & WILLIS B.L., 2004, « Flexibility in algal endosymbioses shapes growth in reef corals », *Science*, 304, 2004, p. 1492-1495.
- LITTMAN R.A., BOURNE D.G., & WILLIS B.L., 2010, « Responses of coral-associated bacterial communities to heat stress differ with *Symbiodinium* type on the same coral host », *Molecular Ecology*, 19, p. 1978-1990.
- LITTMAN R.A., WILLIS B.L., PFEFFER C., & BOURNE D.G., 2009, « Diversities of coral-associated bacteria differ with location, but not species, for three acroporid corals on the Great Barrier Reef », *FEMS Microbiology Ecology*, 68, 2, p. 152-163.
- LOKMER A., & MATHIAS WEGNER K., 2015, « Hemolymph microbiome of Pacific oysters in response to temperature, temperature stress and infection », *ISME Journal*, 9, 3, p. 670-682.
- LÓPEZ-VICTORIA M., & ZEA S., 2004, « Storm-mediated coral colonization by an excavating Caribbean sponge », *Climate Research*, 26, 3, p. 251-256.
- LOYA, SAKAI, YAMAZATO, NAKANO, SAMBALI, & VAN W., 2001, « Coral bleaching: The winners and the losers », *Ecology Letters*, 4, 2, p. 122-131.

## M

- MAGALON H., ADJEROUD M., & VEUILLE M., 2005, « Patterns of genetic variation do not correlate with geographical distance in the reef-building coral *Pocillopora meandrina* in the South Pacific », *Molecular Ecology*, 14, October, p. 1861-1868.
- MAIDA M., SAMMARCO P.W., & COLL J.C., 1995a, « Effects of soft corals on scleractinian coral recruitment .1. Directional allelopathy and inhibition of settlement », *Marine Ecology-Progress Series*, 121, 1983, p. 191-202.
- MAIDA P., SAMMARCO P.W., & COLL J., 1995b, « Preliminary evidence for directional allelopathic effects of the soft coral *Sinularia flexibilis* (Alcyonacea: Octocorallia) on scleractinian coral recruitment », *Bulletin of Marine Science*, 56, 1, p. 303-311.
- MANNING M.M., & GATES R.D., 2008, « Diversity in populations of free-living *Symbiodinium* from a Caribbean and Pacific reef », *Limnology and Oceanography*, 53, 5, p. 1853-1861.
- MARCELINO V.R., & VERBRUGGEN H., 2016, « Multi-marker metabarcoding of coral skeletons reveals a rich microbiome and diverse evolutionary origins of endolithic algae », *Scientific reports*, August, p. 1-9.
- MARGULIS L., & CHAPMAN M.J., 1998, « Endosymbioses: Cyclical and permanent in evolution », *Trends in Microbiology*, 6, 9, p. 342-345.
- MATOZZO V., & MARIN M., 2011, « Bivlave immune response and climate changes: Is there a relationship? », *Invertebrate Survival Journal*, 8, p. 70-77.
- MCCLANAHAN T.R., WEIL E., CORTÉS J., BAIRD A H., & ATEWEBERHAN M., 2018, « Consequences of coral bleaching for sessile reef organisms », dans *Coral Bleaching*, p. 121-138.
- MCCONNAUGHEY T.A., 2000, « Community and environmental influences on reef coral calcification »,

*Limnology and Oceanography*, 45, 7, p. 1667-1671.

MCCOOK L.J., 2001, « Competition between corals and algal turfs along a gradient of terrestrial influence in the nearshore central Great Barrier Reef », *Coral Reefs*, 19, 4, p. 419-425.

MCCOOK L.J., JOMPA J., & DIAZ-PULIDO G., 2001, « Competition between corals and algae on coral reefs: A review of evidence and mechanisms », *Coral Reefs*, 19, 4, p. 400-417.

MCDEVITT-IRWIN J.M., BAUM J.K., GARREN M., & VEGA THURBER R.L., 2017, « Responses of coral-associated bacterial communities to local and global stressors », *Frontiers in Marine Science*, 4, p. 262.

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.

MEISTERTZHEIM A.L., LARTAUD F., ARNAUD-HAOND S., KALENITCHENKO D., BESSALAM M., BRIS N. LE, & GALAND P.E., 2016, « Patterns of bacteria-host associations suggest different ecological strategies between two reef building cold-water coral species », *Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 114, p. 12-22.

MELTVEDT A., & JADOT C., 2014, « Progression of the coral-algal phase shift in the Caribbean: A case study in Bonaire, Dutch Caribbean », *Marine Technology Society Journal*, 48, 6, p. 33-41.

MERGAERT J., & SWINGS J., 1996, « Biodiversity of microorganisms that degrade bacterial and synthetic polyesters », *Journal of Industrial Microbiology*, 17, 5-6, p. 463-469.

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, p. 449-457.

MIES M., VOOLSTRA C.R., CASTRO C.B., PIRES D.O., CALDERON E.N., & SUMIDA P.Y.G., 2017, « Expression of a symbiosis-specific gene in *Symbiodinium* type A1 associated with coral, nudibranch and giant clam larvae », *Royal Society Open Science*, 4, 5, p. 1-10.

MIES M., SLUYS M.A. VAN, METCALFE C.J., & SUMIDA P.Y.G., 2016, « Molecular evidence of symbiotic activity between *Symbiodinium* and *Tridacna maxima* larvae », *Symbiosis*, 72, 1, p. 13-22.

MILAN M., CARRARO L., FARISELLI P., MARTINO M.E., CAVALIERI D., VITALI F., BOFFO L., PATARNELLO T., BARGELLONI L., & CARDAZZO B., 2018, « Microbiota and environmental stress: How pollution affects microbial communities in Manila clams », *Aquatic Toxicology*, 194, November 2017, p. 195-207.

MILLER K.J., & AYRE D.J., 2004, « The role of sexual and asexual reproduction in structuring high latitude populations of the reef coral *Pocillopora damicornis* », *Heredity*, 92, 6, p. 557-568.

MO S., DONG L., HURST W.J., & BREEMEN R.B. VAN, 2013, « Quantitative analysis of phytosterols in edible oils using APCI liquid chromatography-tandem mass spectrometry », *NIH Public Access*, 48, 9, p. 949-956.

MOHAMADI F., 2014, *La métabolomique appliquée à l'étude de l'impact de stress environnementaux sur les coraux scléactiniaires*, Thèse de doctorat, 1-201 p.

MORROW K.M., MULLER E., & LESSER M.P., 2018, « How does the coral microbiome cause, respond to, or modulate the bleaching process? », dans *Coral Bleaching*, p. 153-188.

MORROW K.M., PAUL V.J., LILES M.R., & CHADWICK N.E., 2011, « Allelochemicals produced by Caribbean macroalgae and cyanobacteria have species-specific effects on reef coral microorganisms », *Coral Reefs*, 30, 2, p. 309-320.

MORROW K.M., MOSS A.G., CHADWICK N.E., & LILES M.R., 2012, « Bacterial associates of two caribbean coral species reveal species-specific distribution and geographic variability », *Applied and Environmental Microbiology*, 78, 18, p. 6438-6449.

MOUCHKA M.E., HEWSON I., & HARVELL C.D., 2010, « Coral-associated bacterial assemblages: Current knowledge and the potential for climate-driven impacts », *Integrative and Comparative Biology*, 50, 4, p. 662-674.

MULLER-PARKER G., & D'ELIA C.F., 2015, « Interactions between corals and their symbiotic algae », dans *Coral Reefs in the Anthropocene*, p. 99-116.

MUSCATINE L., & PORTER J.W., 1977, « Reef corals: mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments », *BioScience*, 27, 7, p. 454-460.

## N

NAHON S., RICHOUX N.B., KOLASINSKI J., DESMALADES M., PAGES C.F., LECHELLIER G., PLANES S., & LECHELLIER V.B., 2013, « Spatial and temporal variations in stable carbon ( $\delta^{13}C$ ) and nitrogen ( $\delta^{15}N$ ) isotopic composition of symbiotic scleractinian corals », *PLoS ONE*, 8, 12, p. 1-17.

NAKAJIMA R., YOSHIDA T., AZMAN B.A.R., ZALEHA K., OTHMAN B.H.R., & TODA T., 2009, « In situ release of coral mucus by *Acropora* and its influence on the heterotrophic bacteria », *Aquatic Ecology*, 43, 4, p. 815-823.

NAWI N.M., SIMOH S., ZAINAL A., & RAHMAN Z.A., 2014, « GC-MS analysis of phytochemical contents of *Curcuma aeruginosa* and *Curcuma caesia* and their antioxidant potential », *Proceeding of the 30th Annual Seminar of The Malaysian Natural Products Society Moving Translational Research In Natural Products Forward International Conference of Natural Products 2014 (ICNP2014)*, p. 60-66.

NEO M.L., ECKMAN W., VICENTUAN K., TEO S.L.M., & TODD P.A., 2015, « The ecological significance of giant clams in coral reef ecosystems », *Biological Conservation*, 181, p. 111-123.

NEO M.L., TODD P.A., TEO S.L.M., & CHOU L.M., 2009, « Can artificial substrates enriched with crustose coralline algae enhance larval settlement and recruitment in the fluted giant clam (*Tridacna squamosa*)? », *Hydrobiologia*, 625, 1, p. 83-90.

NGUYEN-KIM H., BOUVIER T., BOUVIER C., DOAN-NHU H., NGUYEN-NGOC L., ROCHELLE-NEWALL E., BAUDOUX A.C., DESNUES C., REYNAUD S., FERRIER-PAGES C., & BETTAREL Y., 2014, « High occurrence of viruses in the mucus layer of scleractinian corals », *Environmental Microbiology Reports*, 6, 6, p. 675-682.

NIKOLETOPOULOU V., KYRIAKAKIS E., & TAVERNARAKIS N., 2014, « Cellular and molecular longevity pathways: The old and the new », *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 25, 4, p. 212-223.

NISSIMOV J., ROSENBERG E., & MUNN C.B., 2009, « Antimicrobial properties of resident coral mucus bacteria of *Oculina patagonica* », *FEMS Microbiology Letters*, 292, 2, p. 210-215.

NORTON J.H., & JONES G. W., 1992, *The giant clam: An anatomical and histological atlas*, 142 p.

NUGUES M.M., & BAK R.P.M., 2006, « Differential competitive abilities between Caribbean coral species and a brown alga: A year of experiments and a long-term perspective », *Marine Ecology Progress Series*, 315, p. 75-86.

NUNES J., MCCOY S.J., FINDLAY H.S., HOPKINS F.E., KITIDIS V., QUIEROS A.M., RAYNER L., & WIDDICOMBE S., 2016, « Two intertidal, non-calcifying macroalgae (*Palmaria palmata* and *Saccharina latissima*) show complex and variable responses to short-term CO<sub>2</sub> acidification », *ICES Journal of Marine Science*, 73, 3, p. 887-896.

NÚÑEZ-PONS L., & AVILA C., 2015, « Natural products mediating ecological interactions in Antarctic benthic communities: a mini-review of the known molecules », *Nat. Prod. Rep.*, 32, 7, p. 1114-1130.

## O

- OLIVEROS J., 2015, « Venny. An interactive tool for comparing lists with Venn's diagrams »,.
- OLSON N.D., AINSWORTH T.D., GATES R.D., & TAKABAYASHI M., 2009, « Diazotrophic bacteria associated with Hawaiian *Montipora* corals: Diversity and abundance in correlation with symbiotic dinoflagellates », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 371, 2, p. 140-146.
- OPPEN M. VAN, 2001, « In vitro establishment of symbiosis in *Acropora millepora* planulae », *Coral Reefs*, 20, 3, p. 200.
- OPPEN M.J.H. VAN, & GATES R.D., 2006, « Conservation genetics and the resilience of reef-building corals », *Molecular Ecology*, 15, 13, p. 3863-3883.
- OPPEN M.J.H. VAN, GATES R.D., BLACKALL L.L., CANTIN N., CHAKRAVARTI L.J., CHAN W.Y., CORMICK C., CREAN A., DAMJANOVIC K., EPSTEIN H., HARRISON P.L., JONES T.A., MILLER M., PEARS R.J., PELOW L.M., RAFTOS D.A., SCHAFFELKE B., STEWART K., TORDA G., WACHENFELD D., WEEKS A.R., & PUTNAM H.M., 2017, « Shifting paradigms in restoration of the world's coral reefs », *Global Change Biology*, 23, 9, p. 3437-3448.
- OPPEN M.J.H. VAN, LEONG J.A., & GATES R.D., 2009, « Coral-virus interactions: A double-edged sword? », *Symbiosis*, 47, 1, p. 1-8.
- ORION T., & HOLMGREN D., 2015, *Beyond the War on Invasive Species: A Permaculture Approach to Ecosystem Restoration*, 243 p.
- OTHMAN A.S. BIN, GOH G.H.S., & TODD P.A., 2010, « The distribution and status of giant clams (family Tridacnidae) - A short review », *Raffles Bulletin of Zoology*, 58, 1, p. 103-111.

## P

- PAGE M., WEST L., NORTHCOTE P., BATTERSHILL C., & KELLY M., 2005, « Spatial and temporal variability of cytotoxic metabolites in populations of the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* », *Journal of Chemical Ecology*, 31, 5, p. 1161-1174.
- PAILLARD C., JEAN F., FORD S.E., POWELL E.N., KLINCK J.M., HOFMANN E.E., & FLYE-SAINTE-MARIE J., 2014, « A theoretical individual-based model of Brown Ring Disease in Manila clams, *Venerupis philippinarum* », *Journal of Sea Research*, 91, p. 15-34.
- PANTE E., ADJEROUD M., DUSTAN P., PENIN L., & SCHRIMM M., 2006, « Spatial patterns of benthic invertebrate assemblages within atoll lagoons: Importance of habitat heterogeneity and considerations for marine protected area design in French Polynesia », *Aquatic Living Resource*, 19, p. 207-217.
- PAPPAS M.K., HE S., HARDENSTINE R.S., KANEE H., & BERUMEN M.L., 2017, « Genetic diversity of giant clams (*Tridacna* spp.) and their associated *Symbiodinium* in the central Red Sea », *Marine Biodiversity*, 47, 4, p. 1209-1222.
- PAYRI C., 2018, *Nouvelle-Calédonie, Archipel de corail*, 288 p.
- PEIXOTO R., ROSADO P., LEITE D., ROSADO A.S., & BOURNE D., 2017, « Beneficial Microorganisms for Corals (BMC): proposed mechanisms for coral health and resilience », *Frontiers in Microbiology*, 8, March, p. 1-16.
- PENIN L., MICHONNEAU F., BAIRD A.H., CONNOLLY S.R., PRATCHETT M.S., KAYAL M., & ADJEROUD M., 2010, « Early post-settlement mortality and the structure of coral assemblages », *Marine Ecology Progress Series*, 408, July 2015, p. 55-64.

- PEREIRA MASI B., ZALMON I., & COUTINHO R., 2016, « Effects of structural factors on upwelling fouling community, Southeast Brazil », *BRAZILIAN JOURNAL OF OCEANOGRAPHY*, 64, 4, p. 387-400.
- PICCINETTI C.C., RICCI R., PENNESI C., RADAELLI G., TOTTI C., NORICI A., GIORDANO M., & OLIVOTTO I., 2016, « Herbivory in the soft coral *Sinularia flexibilis* (Alcyoniidae) », *Scientific Reports*, 6, 1, p. 22679.
- POCHON X., GARCIA-CUETOS L., BAKER A.C., CASTELLA E., & PAWLOWSKI J., 2007, « One-year survey of a single Micronesian reef reveals extraordinarily rich diversity of *Symbiodinium* types in soritid foraminifera », *Coral Reefs*, 26, 4, p. 867-882.
- POCHON X., LAJEUNESSE T.C., & PAWLOWSKI J., 2004, « Biogeographic partitioning and host specialization among foraminiferan dinoflagellate symbionts (*Symbiodinium*; Dinophyta) », *Marine Biology*, 146, 1, p. 17-27.
- POCHON X., PAWLOWSKI J., ZANINETTI L., & ROWAN R., 2001, « High genetic diversity and relative specificity among *Symbiodinium*-like endosymbiotic dinoflagellates in soritid foraminiferans », *Marine Biology*, 139, 6, p. 1069-1078.
- POCHON X., WECKER P., STAT M., BERTEAUX-LECELLIER V., & LECELLIER G., s. d., « Towards an in-depth characterization of *Symbiodinium* dinoflagellates in tropical giant clams via multiplex metabarcoding », Submitted.
- POCHON X., BOTT N.J., SMITH K.F., & WOOD S.A., 2013, « Evaluating detection limits of next-generation sequencing for the surveillance and monitoring of international marine pests », *PLoS ONE*, 8, 9.
- POCHON X., & GATES R.D., 2010, « A new *Symbiodinium* clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawai'i », *Molecular phylogenetics and evolution*, 56, 1, p. 492-497.
- POCHON X., MONTOYA-BURGOS J.I., STADELMANN B., & PAWLOWSKI J., 2006, « Molecular phylogeny, evolutionary rates, and divergence timing of the symbiotic dinoflagellate genus *Symbiodinium*. », *Molecular phylogenetics and evolution*, 38, 1, p. 20-30.
- POCHON X., PUTNAM H.M., & GATES R.D., 2014, « Multi-gene analysis of *Symbiodinium* dinoflagellates: A perspective on rarity, symbiosis, and evolution. », *PeerJ*, 2, p. e394.
- POCHON X., STAT M., TAKABAYASHI M., CHASQUI L., CHAUKA L.J., LOGAN D.D.K., & GATES R.D., 2010, « Comparison of endosymbiotic and free-living *Symbiodinium* (dinophyceae) diversity in a Hawaiian Reef environment », *Journal of Phycology*, 46, 1, p. 53-65.
- PRATCHETT M.S., MCCOWAN D., MAYNARD J.A., & HERON S.F., 2013, « Changes in bleaching susceptibility among corals subject to ocean warming and recurrent bleaching in Moorea, French Polynesia », *PLoS ONE*, 8, 7, p. 1-10.
- PRICE N., 2010, « Habitat selection, facilitation, and biotic settlement cues affect distribution and performance of coral recruits in French Polynesia », *Oecologia*, 163, 3, p. 747-758.
- PRUESSE E., QUAST C., KNITTEL K., FUCHS B.M., LUDWIG W., PEPLIES J., & GLÖCKNER F.O., 2007, « SILVA: A comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB », *Nucleic Acids Research*, 35, 21, p. 7188-7196.
- PRUZZO C., GALLO G., & CANESI L., 2005, « Persistence of vibrios in marine bivalves: The role of interactions with haemolymph components », *Environmental Microbiology*, 7, 6, p. 761-772.
- PUGLISI M.P., SNEED J.M., SHARP K.H., RITSON-WILLIAMS R., & PAUL V.J., 2014, « Marine chemical ecology in benthic environments », *Nat. Prod. Rep.*, 31, p. 1510-1553.



## Q

QIAN P.-Y., LI Z., XU Y., LI Y., & FUSEYANI N., 2015, « Mini-review: Marine natural products and their synthetic analogs as antifouling compounds: 2009–2014 », *Biofouling*, 31, 1, p. 101-122.

QUIGLEY K., WILLIS B., & KENKEL C., 2018, « Transgenerational inheritance of shuffled symbiont communities in the coral *Montipora digitata* », *bioRxiv*, p. 264796.

QUINN R.A., VERMEIJ M.J.A., HARTMANN A.C., GALTIER D'AURIAC I., BENLER S., HAAS A., QUISTAD S.D., LIM Y.W., LITTLE M., SANDIN S., SMITH J.E., DORRESTEIN P.C., & ROHWER F., 2016, « Metabolomics of reef benthic interactions reveals a bioactive lipid involved in coral defence », *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 283, 1829, p. 1-10.

## R

R CORE TEAM, 2014, « A language and environment for statistical computing »,.

RAILKIN A.I., 2004, *Marine Biofouling Colonization Processes and Defenses*, PRESSINC C. (dir.), 303 p.

RAINA J.-B., TAPIOLAS D.M., FORÊT S., LUTZ A., ABREGO D., CEH J., SENECA F.O., CLODE P.L., BOURNE D.G., WILLIS B.L., & MOTTI C. A., 2013, « DMSP biosynthesis by an animal and its role in coral thermal stress response », *Nature*, 502, 7473, p. 677-680.

RAINA J.B., DINSDALE E.A., WILLIS B.L., & BOURNE D.G., 2010, « Do the organic sulfur compounds DMSP and DMS drive coral microbial associations? », *Trends in Microbiology*, 18, 3, p. 101-108.

RAINA J.B., TAPIOLAS D., WILLIS B.L., & BOURNE D.G., 2009, « Coral-associated bacteria and their role in the biogeochemical cycling of sulfur », *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 11, p. 3492-3501.

RALSTON E., & SWAIN G., 2009, « Bioinspiration—the solution for biofouling control? », *Bioinspiration & Biomimetics*, 4, 1, p. 1-10.

RAMASAMY M., & BALASUBRAMANIAN U., 2012, « Identification of bioactive compounds and antimicrobial activity of marine clam *Anadara granosa* ( Linn .) », *International Journal of Science and Nature*, 3, 2, p. 263-266.

RAP A., SCOTT C.E., SPRACKLEN D. V., BELLOUIN N., FORSTER P.M., CARSLAW K.S., SCHMIDT A., & MANN G., 2013, « Natural aerosol direct and indirect radiative effects », *Geophysical Research Letters*, 40, 12, p. 3297-3301.

RAYMUNDO L.J., & MAYPA A.P., 2004, « Getting bigger faster: mediation of size-specific mortality via fusion in juvenile coral transplants », *Ecological Society of America*, 14, 1, p. 281-295.

REAKA-KUDLA M.L., 1997, « The Global Biodiversity of Coral Reefs: A comparison with Rain Forests », *Biodiversity II: Understanding and Protecting Our Biological Resources*, p. 83-108.

REES H.C., MADDISON B.C., MIDDLEDITCH D.J., PATMORE J.R.M., & GOUGH K.C., 2014, « The detection of aquatic animal species using environmental DNA - a review of eDNA as a survey tool in ecology », *Journal of Applied Ecology*, 51, 5, p. 1450-1459.

RESHEF L., KOREN O., LOYA Y., ZILBER-ROSENBERG I., & ROSENBERG E., 2006, « The Coral Probiotic Hypothesis », *Environmental Microbiology*, 8, 12, p. 2068-2073.

REYNOLDS J.M., BRUNS B.U., FITT W.K., & SCHMIDT G.W., 2008, « Enhanced photoprotection pathways in symbiotic dinoflagellates of shallow-water corals and other cnidarians », *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 36, p. 13674-13678.

- REZAI H., WILSON S., CLAERBOUDT M., & RIEGL B., 2004, « Coral reef status in the ROPME sea area: Arabian/Persian Gulf, Gulf Of Oman and Arabian Sea », *Status of Coral Reefs of the World: 2004.*, April 2016, p. 155-170.
- RICHARDS Z., DELBEEK J.C., LOVELL E., BASS D., AEBY G., & REBOTON C., 2008, « *Acropora cytherea* », *The IUCN Red List of Threatened Species 2008*.
- RICHARDSON C.A., DUSTAN P., & LANG J.C., 1979, « Maintenance of living space by sweeper tentacles of *Montastrea cavernosa*, a caribbean reef coral », *Marine Biology*, 55, 3, p. 181-186.
- RICHMOND R., & HUNTER C., 1990, « Reproduction and recruitment of corals: comparisons among the Caribbean, the Tropical Pacific, and the Red Sea », *Marine Ecology Progress Series*, 60, p. 185-203.
- RICHMOND R.H., & JOKIEL P.L., 1984, « Lunar periodicity in larva release in the reef coral *Pocillopora Damicornis* at Enewetak and Hawaii », *Bulletin of Marine Science*, 34, 2, p. 280-287.
- RIES J.B., COHEN A.L., & MCCORKLE D.C., 2009, « Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO<sub>2</sub>-induced ocean acidification », *Geology*, 37, 12, p. 1131-1134.
- RIJSEL M. VAN, & GIESKES W.W.C., 2002, « Temperature, light, and the dimethylsulfoniopropionate (DMSP) content of *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) », *Journal of Sea Research*, 48, 1, p. 17-27.
- RINKEVICH B., & LOYA Y., 1985, « Intraspecific competition in a reef coral: effects on growth and reproduction », *Oecologia*, 66, 1, p. 100-105.
- RÍOS-IBARRA C.P., LOZANO-SEPULVEDA S., MUÑOZ-ESPINOSA L., RINCÓN-SÁNCHEZ A.R., CORDOVA-FLETES C., & RIVAS-ESTILLA A.M.G., 2014, « Downregulation of inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression is implicated in the antiviral activity of acetylsalicylic acid in HCV-expressing cells », *Archives of Virology*, 159, 12, p. 3321-3328.
- RITCHIE K., 2006, « Regulation of microbial populations by coral surface mucus and mucus-associated bacteria », *Marine Ecology Progress Series*, 322, p. 1-14.
- RITCHIE K.B., 2011, « Beneficial Microorganisms in Multicellular Life Forms », dans ROSENBERG E., & GOPHNA U. (dirs.), *Beneficial Microorganisms in Multicellular Life Forms*, p. 139-150.
- RITSON-WILLIAMS R., ARNOLD S., FOGARTY N., STENECK R.S., VERMEIJ M., & PAUL V.J., 2009, « New perspectives on ecological mechanisms affecting coral recruitment on reefs », *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences*, 38, p. 437-457.
- RODOLFO-METALPA R., HOULBRÈQUE F., TAMBUTTÉ É., BOISSON F., BAGGINI C., PATTI F.P., JEFFREY 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.
- ROGNES T., FLOURI T., NICHOLS B., QUINCE C., & MAHÉ F., 2016, « VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics », *PeerJ*, 4, p. 2584.
- ROHART F., GAUTIER B., SINGH A., & LÊ CAO K.-A., 2017, « mixOmics: An R package for 'omics feature selection and multiple data integration », *PLOS Computational Biology*, 13, 11, p. e1005752.
- ROHWER F., BREITBART M., JARA J., AZAM F., & KNOWLTON N., 2001, « Diversity of bacteria associated with the Caribbean coral *Montastraea franksi* », *Coral Reefs*, 20, 1, p. 85-91.
- ROHWER F., SEGURITAN V., AZAM F., & KNOWLTON N., 2002, « Diversity and distribution of coral-associated bacteria », *Marine Ecology Progress Series*, 243, p. 1-10.
- ROMERO A., NOVOA B., & FIGUERAS A., 2015, « The complexity of apoptotic cell death in mollusks: An update », *Fish and Shellfish Immunology*, 46, 1, p. 79-87.
- ROSENBERG E., & BEN-HAIM Y., 2002, « Minireview Microbial diseases of corals and global warming », 4, p. 318-326.
- ROSENBERG E., & BEN-HAIM Y., 2002, « Microbial diseases of corals and global warming », *Environmental*

*Microbiology*, 4, 6, p. 318-326.

ROSENBERG E., & FALKOVITZ L., 2004, « The *Vibrio shiloi* / *Oculina patagonica* Model System of Coral Bleaching », *Annual Review of Microbiology*, 58, 1, p. 143-159.

ROSENBERG E., KOREN O., RESHEF L., EFRONY R., & ZILBER-ROSENBERG I., 2007, « The role of microorganisms in coral health, disease and evolution », *Nature Reviews Microbiology*, 5, 5, p. 355-362.

ROSENBERG E., LOYA Y., WELL E., WILLIS B.L., PAGE C.A., DINSDALE E.A., JORDAN-DAHLGREN E., RODRIGUEZ-MARTINEZ R.E., WOESIK R. VAN, IRIKAWA A., FINE M., MCCLANAHAN T., BAKER A.C., STAMBLER N., RITCHIE K.B., SMITH G.W., DUBINSKY Z., KRAMARSKY-WINTER E., KUSHMARO A., KELMAN D., ROHWER F., KELLEY S., HOEGH-GULDBERG O., BUDDEMEIER R.W., FAUTIN D.G., JACOBS J.R., JOKIEL P.L., MULLEN K.M., PETERS E.C., HARVELL C.D., SILVERMAN J., LAZAR B., EREZ J., BYTHELL J., PANTOS O., RICHARDSON L., GIL-AGUDELO D.L., SMITH G.W., GARZON-FERREIRA J., WELL E., PETERSEN D., SUTHERLAND PATTERSON K., & RITCHIE K.B., 2004, *Coral health and Disease*, ROSENBERG E., & LOYA Y. (dirs.), 497 p.

ROSENBERG E., & ZILBER-ROSENBERG I., 2011, « Symbiosis and development: The hologenome concept », *Birth Defects Research Part C - Embryo Today: Reviews*, 93, 1, p. 56-66.

ROSIC N.N., PERNICE M., DOVE S., DUNN S., & HOEGH-GULDBERG O., 2011, « Gene expression profiles of cytosolic heat shock proteins Hsp70 and Hsp90 from symbiotic dinoflagellates in response to thermal stress: Possible implications for coral bleaching », *Cell Stress and Chaperones*, 16, 1, p. 69-80.

RÖTHIG T., OCHSENKÜHN M.A., ROIK A., MERWE R. VAN DER, & VOOLSTRA C.R., 2016, « Long-term salinity tolerance is accompanied by major restructuring of the coral bacterial microbiome », *Molecular Ecology*, 25, 6, p. 1308-1323.

RÖTHIG T., ROIK A., YUM L.K., & VOOLSTRA C.R., 2017, « Distinct bacterial microbiomes associate with the deep-sea coral *Eguchipsammia Fistula* from the Red Sea and from aquaria settings », *Frontiers in Marine Science*, 4, p. 1-12.

ROUZÉ H., LECÉLLIER G., LANGLADE M., PLANES S., & BERTEAUX-LECÉLLIER V., 2015, « Fringing reefs exposed to different levels of eutrophication and sedimentation can support the same benthic communities », *Marine pollution bulletin*, 92, p. 212-221.

ROUZÉ H., LECÉLLIER G.J., SAULNIER D., PLANES S., GUEGUEN Y., WIRSHING H.H., & BERTEAUX-LECÉLLIER V., 2017, « An updated assessment of *Symbiodinium* spp. that associate with common scleractinian corals from Moorea (French Polynesia) reveals high diversity among background symbionts and a novel finding of clade B », *PeerJ*, 5, p. 1-22.

ROUZÉ H., LECÉLLIER G., SAULNIER D., & BERTEAUX-LECÉLLIER V., 2016, « *Symbiodinium* clades A and D differentially predispose *Acropora cytherea* to disease and *Vibrio* spp. colonization », *Ecology and Evolution*, p. 1-23.

ROWAN R., & KNOWLTON N., 1995, « Intraspecific diversity and ecological zonation in coral-algal symbiosis. », *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92, 7, p. 2850-2853.

ROWAN R., & POWERS D. A., 1992, « Ribosomal RNA sequences and the diversity of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, 8, p. 3639-3643.

ROWAN R., & POWERS D.A., 1991, « Molecular genetic identification of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) », *Marine Ecology Progress Series*, 71, p. 65-73.

ROWAN R., 1998, « Diversity and ecology of zooxanthelle on coral reefs », *Journal of Phycology*, p. 407-417.

## S

- SAMMARCO P.W., & COLL J.C., 1992, « Chemical adaptations in the Octocorallia: evolutionary considerations », *Marine Ecology Progress Series*, 88, 1, p. 93-104.
- SAMMARCO P.W., COLL J.C., & BARRE S. LA, 1985, « Competitive strategies of soft corals (Coelenterata: Octocorallia). II. Variable defensive responses and susceptibility to scleractinian corals », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 91, 3, p. 199-215.
- SAMMARCO P.W., 1982, « Polyp bail-out: an escape response to environmental stress and a new means of reproduction in corals », *Marine Ecology Progress Series*, 10, p. 57-65.
- SAMORÌ C., COSTANTINI F., GALLETTI P., TAGLIAVINI E., & ABBIATI M., 2018, « Inter- and intraspecific variability of nitrogenated compounds in gorgonian corals via application of a fast one-step analytical protocol », *Chemistry and Biodiversity*, 15, p. 1-11.
- SCANDURA G., CIRIMINNA R., OZER L.Y., MENEGUZZO F., PALMISANO G., & PAGLIARO M., 2017, « Advanced protection against marine biofouling using solar light », *bioRxiv*, p. 1-21.
- SCHAEFFER M., CARPENTER S., FOLEY J.A., FOLKE C., & WALKER B., 2001, « Catastrophic shifts in ecosystems », *Nature*, 413, 6856, p. 591-596.
- SCHLICHTER D., ZSCHARNACK B., & KRISCH H., 1995, « Transfer of photoassimilates from endolithic algae to coral tissue », *Naturwissenschaften*, 82, 12, p. 561-564.
- SCHLOSS P.D., WESTCOTT S.L., RYABIN T., HALL J.R., HARTMANN M., HOLLISTER E.B., LESNIEWSKI R.A., OAKLEY B.B., PARKS D.H., ROBINSON C.J., SAHL J.W., STRES B., THALLINGER G.G., HORN D.J. VAN, & WEBER C.F., 2009, « Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities », *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 23, p. 7537-7541.
- SCHMIDT-ROACH S., LUNDGREN P., MILLER K.J., GERLACH G., NOREEN A.M.E., & ANDREAKIS N., 2013, « Assessing hidden species diversity in the coral *Pocillopora damicornis* from Eastern Australia », *Coral Reefs*, 32, 1, p. 161-172.
- SCHMIDT-ROACH S., MILLER K.J., LUNDGREN P., & ANDREAKIS N., 2014, « With eyes wide open: A revision of species within and closely related to the *Pocillopora damicornis* species complex (Scleractinia; Pocilloporidae) using morphology and genetics », *Zoological Journal of the Linnean Society*, 170, 1, p. 1-33.
- SCHÖNBERG C.H.L., & ORTIZ J.C., 2008, « Is sponge bioerosion increasing », *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*, 1, 16, p. 527-530.
- SCHÖNBERG C.H.L., & LOH W.K.W., 2005, « Molecular identity of the unique symbiotic dinoflagellates found in the bioeroding demosponge *Cliona orientalis* », *Marine Ecology Progress Series*, 299, p. 157-166.
- SEYMOUR J.R., SIMÓ R., AHMED T., & STOCKER R., 2010, « Chemoattraction to dimethylsulfoniopropionate throughout the marine microbial food web », *Science*, 329, July, p. 342-346.
- SHARP K.H., PRATTE Z.A., KERWIN A.H., ROTJAN R.D., & STEWART F.J., 2017a, « Season, but not symbiont state, drives microbiome structure in the temperate coral *Astrangia poculata* », *Microbiome*, 5, 1, p. 120.
- SHARP K.H., PRATTE Z.A., KERWIN A.H., ROTJAN R.D., & STEWART F.J., 2017b, « Season, but not symbiont state, drives microbiome structure in the temperate coral *Astrangia poculata* », *Microbiome*, 5, 1, p. 120.
- SHARP K.H., DISTEL D., & PAUL V.J., 2012, « Diversity and dynamics of bacterial communities in early life stages of the Caribbean coral *Porites astreoides* », *The ISME Journal*, 6, 4, p. 790-801.
- 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.

- SIMISTER R., TAYLOR M.W., TSAI P., FAN L., BRUXNER T.J., CROWE M.L., & WEBSTER N., 2012, « Thermal stress responses in the bacterial biosphere of the great barrier reef sponge, *Rhopaloeides odorabile* », *Environmental Microbiology*, 14, 12, p. 3232-3246.
- SIMÓ R., 2001, « Production of atmospheric sulfur by oceanic plankton: Biogeochemical, ecological and evolutionary links », *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 6, p. 287-294.
- SIMPSON E.H., 1949, « Measurement of diversity », *Nature*, 163, 4148, p. 688.
- SINGH A., & THAKUR N.L., 2016, « Significance of investigating allelopathic interactions of marine organisms in the discovery and development of cytotoxic compounds », *Chemico-Biological Interactions*, 243, p. 135-147.
- SLATTERY M., STARMER J., & PAUL V.J., 2001, « Temporal and spatial variation in defensive metabolites of the tropical Pacific soft corals *Sinularia maxima* and *S. polydactyla* », *Marine Biology*, 138, 6, p. 1183-1193.
- SLATTERY M., HAMANN M.T., MCCLINTOCK J.B., PERRY T.L., PUGLISI M.P., & YOSHIDA W.Y., 1997, « Ecological roles for water-borne metabolites from Antarctic soft corals », *Mar Ecol Prog Ser*, 161, p. 133-144.
- SMITH C. A, WANT E.J., O'MAILLE G., ABAGYAN R., SIUZDAK G., & CA SMITH, J ELIZABETH, G O'MAILLE, RUBEN ABAGYAN AND G.S., 2006, « XCMS: processing mass spectrometry data for metabolite profiling using Nonlinear Peak Alignment, Matching, and Identification », *Analytical Chemistry*, 78, 3, p. 779-787.
- SOEST R.W.M. VAN, BOURY-ESNAULT N., VACELET J., DOHRMANN M., ERPENBECK D., VOOGD N.J. DE, SANTODOMINGO N., VANHOORNE B., KELLY M., & HOOPER J.N.A., 2012, « Global diversity of sponges (Porifera) », *PLoS ONE*, 7, 4, p. 1-23.
- SOGIN E.M., ANDERSON P., WILLIAMS P., CHEN C.S., & GATES R.D., 2014, « Application of 1H-NMR metabolomic profiling for reef-building corals », *PLoS ONE*, 9, 10.
- SOGIN E.M., PUTNAM H.M., ANDERSON P.E., & GATES R.D., 2016, « Metabolomic signatures of increases in temperature and ocean acidification from the reef-building coral, *Pocillopora damicornis* », *Metabolomics*, 12, 4, p. 71.
- SOO P., & TODD P.A., 2014, « The behaviour of giant clams (Bivalvia: Cardiidae: Tridacninae) », *Marine Biology*, 161, 12, p. 2699-2717.
- SOONG K., & CHEN T. AN, 2003, « Coral transplantation: Regeneration and growth of *Acropora* fragments in a nursery », *Restoration Ecology*, 11, 1, p. 62-71.
- SOROKIN Y.I., 1973, « On the feeding of some scleractinian coral with bacteria and dissolved organic matter », *Limnology and Oceanography*, 18, 3, p. 380-385.
- STACHOWICZ J.J., 2001, « Mutualism, Facilitation, and the Structure of Ecological Communities », *BioScience*, 51, 3, p. 235-246.
- 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.
- STAT M., MORRIS E., & GATES R.D., 2008, « Functional diversity in coral – dinoflagellate symbiosis », *Pnas*, 105, 29, p. 9256-9261.
- STAT M., POCHON X., COWIE R.O.M., & GATES R.D., 2009, « Specificity in communities of symbiodinium in corals from Johnston Atoll », *Marine Ecology Progress Series*, 386, p. 83-96.
- STEFELS J., 2000, « Physiological aspects of the production and conversion of DMSP in marine algae and higher plants », *Journal of Sea Research*, 43, 3-4, p. 183-197.
- STEINKE M., BRADING P., KERRISON P., WARNER M.E., & SUGGETT D.J., 2011, « Concentrations of dimethylsulfoniopropionate and dimethyl sulfide are strain-specific in symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium* sp., dinophyceae) », *Journal of Phycology*, 47, 4, p. 775-783.
- STELLA J.S., MUNDAY P.L., WALKER S.P.W., PRATCHETT M.S., & JONES G.P., 2014, « From cooperation to combat:

Adverse effect of thermal stress in a symbiotic coral-crustacean community », *Oecologia*, 174, 4, p. 1187-1195.

STOCKER T., QIN D., PLATTNER G.-K., TIGNOR M., ALLEN S., BOSCHUNG J., NAUELS A., XIA Y., BEX V., & MIDGLEY P., 2013, « CLIMATE CHANGE 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change », Switzerland.

STRATIL S.B., NEULINGER S.C., KNECHT H., FRIEDRICH A.K., & WAHL M., 2013, « Temperature-driven shifts in the epibiotic bacterial community composition of the brown macroalga *Fucus vesiculosus* », *MicrobiologyOpen*, 2, 2, p. 338-349.

SULLIVAN B., FAULKNER D.J., & WEBB L., 1983, « Siphonodictidine, a metabolite of the burrowing sponge *Siphonodictyon* sp. that inhibits coral growth », *Science (New York, N.Y.)*, 221, 4616, p. 1175-1176.

SUNDA W., KIEBER D.J., KIENE R.P., & HUNTSMAN S., 2002, « An antioxidant function for DMSP and DMS in marine algae », *Nature*, 418, 6895, p. 317-320.

SWEET M., & BYTHELL J., 2017, « The role of viruses in coral health and disease », *Journal of Invertebrate Pathology*, 147, p. 136-144.

## T

TAKABAYASHI M., ADAMS L.M., POCHON X., & GATES R.D., 2012, « Genetic diversity of free-living *Symbiodinium* in surface water and sediment of Hawai'i and Florida », *Coral Reefs*, 31, 1, p. 157-167.

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.

TANNER J.E., 1995, « Competition between scleractinian corals and macroalgae: An experimental investigation of coral growth, survival and reproduction », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 190, 2, p. 151-168.

TANNER J.E., HUGHES T.P., & CONNELL J.H., 1994, « Species coexistence, keystone species, and succession : A sensitivity », *America*, 75, 8, p. 2204-2219.

TAPIOLAS D.M., RAINA J.B., LUTZ A., WILLIS B.L., & MOTTI C.A., 2013, « Direct measurement of dimethylsulfoniopropionate (DMSP) in reef-building corals using quantitative nuclear magnetic resonance (qNMR) spectroscopy », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 443, p. 85-89.

THORNHILL D.J., DOUBLEDAY K., KEMP D.W., & SANTOS S.R., 2010, « Host hybridization alters specificity of cnidarian-dinoflagellate associations », *Marine Ecology Progress Series*, 420, p. 113-123.

THURBER R.V., WILLNER-HALL D., RODRIGUEZ-MUELLER B., DESNUES C., EDWARDS R.A., ANGLY F., DINSDALE E., KELLY L., & ROHWER F., 2009, « Metagenomic analysis of stressed coral holobionts », *Environmental Microbiology*, 11, 8, p. 2148-2163.

TODD J.D., ROGERS R., LI Y.G., WEXLER M., BOND P.L., SUN L., CURSON A.R.J., MALIN G., STEINKE M., & JOHNSTON A.W.B., 2007, « Structural and regulatory genes required to make the gas dimethyl sulfide in bacteria », *Science*, 315, p. 666-669.

TODD P.A., LEE J.H., & CHOU L.M., 2009, « Polymorphism and crypsis in the boring giant clam (*Tridacna crocea*): Potential strategies against visual predators », *Hydrobiologia*, 635, 1, p. 37-43.

TOLLER W.W., ROWAN R., & KNOWLTON N., 2001, « Repopulation of zooxanthellae in the Caribbean corals *Montastraea annularis* and *M. faveolata* following experimental and disease-associated bleaching », *Biol. Bull.*, 201, December, p. 360-373.

- TORDA G., DONELSON J.M., ARANDA M., BARSHIS D.J., BAY L., BERUMEN M.L., BOURNE D.G., CANTIN N., FORET S., MATZ M., MILLER D.J., MOYA A., PUTNAM H.M., RAVASI T., OPPEN M.J.H. VAN, THURBER R.V., VIDAL-DUPIOL J., VOOLSTRA C.R., WATSON S.A., WHITELAW E., WILLIS B.L., & MUNDAY P.L., 2017, « Rapid adaptive responses to climate change in corals », *Nature Climate Change*, 7, 9, p. 627-636.
- TRAPON M.L., PRATCHETT M.S., & PENIN L., 2011, « Comparative Effects of Different Disturbances in Coral Reef Habitats in Moorea, French Polynesia », *Journal of Marine Biology*, 2011, p. 1-11.
- TRAVERS M.A.S., BASUYAUX O., GOÏC N. LE, HUCHETTE S., NICOLAS J.L., KOKEN M., & PAILLARD C., 2009, « Influence of temperature and spawning effort on *Haliotis tuberculata* mortalities caused by *Vibrio harveyi*: An example of emerging vibriosis linked to global warming », *Global Change Biology*, 15, 6, p. 1365-1376.
- TRAVERS M.A., GOÏC N. LE, HUCHETTE S., KOKEN M., & PAILLARD C., 2008, « Summer immune depression associated with increased susceptibility of the European abalone, *Haliotis tuberculata* to *Vibrio harveyi* infection », *Fish and Shellfish Immunology*, 25, 6, p. 800-808.
- TRAVERS M.A., MERSNI ACHOUR R., HAFFNER P., TOURBIEZ D., CASSONE A.L., MORGA B., DOGHRI I., GARCIA C., RENAULT T., FRUITIER-ARNAUDIN I., & SAULNIER D., 2014, « First description of French *V. tubiashii* strains pathogenic to mollusk: I. Characterization of isolates and detection during mortality events », *Journal of Invertebrate Pathology*, 123, p. 38-48.
- TREMBLAY P., GROVER R., MAGUER J.F., LEGENDRE L., & FERRIER-PAGES C., 2012, « Autotrophic carbon budget in coral tissue: a new <sup>13</sup>C-based model of photosynthate translocation », *Journal of Experimental Biology*, 215, 8, p. 1384-1393.
- TRENCH R.K., WETHEY D.S., & PORTER J.W., 1981, « Observation on the symbiosis with zooxanthellae among the Tridacnidae (Mollusca, Bivalvia) », *Biological Bulletin*, 161, p. 180-193.
- TREVENA A.J., JONES G.B., WRIGHT S.W., & ENDEN R.L. VAN DEN, 2000, « Profiles of DMSP, algal pigments, nutrients and salinity in pack ice from eastern Antarctica », *Journal of Sea Research*, 43, 3-4, p. 265-273.
- TRICAS T., 1989, « Determinants of feeding territory size in the corallivorous butterflyfish, *Chaetodon multicinctus* », *Animal behavior*, 37, p. 830-840.
- TSUSHIMA M., MAOKA T., KATSUYAMA M., KOZUKA M., TAKAO M., TOKUDA H., NISHINO H., & IWASHIMA A., 1995, « Inhibitory effect of natural carotenoids on Epstein-Barr virus activation activity of a tumor promoter in raji cells. A screening study for anti-tumor promoters », *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 18, 2, p. 227-233.
- TURON X., BECERRO M.A., URIZ M.J., & LLOPIS J., 1996, « Small-scale association measures in epibenthic communities as a clue for allelochemical interactions », *Oecologia*, 108, p. 351-360.
- TYSON B. V., & REYNOLDS K.J., 2011, « Fouling-resistant composition comprising sterols and/or derivatives thereof », 1, 12, p. 1-10.

## V

- UNGVARI Z., CSISZAR A., SOSNOWSKA D., PHILIPP E.E., CAMPBELL C.M., MCQUARY P.R., CHOW T.T., COELHO M., DIDIER E.S., GELINO S., HOLMBECK M.A., KIM I., LEVY E., SONNTAG W.E., WHITBY P.W., AUSTAD S.N., & RIDGWAY I., 2013, « Testing predictions of the oxidative stress hypothesis of aging using a novel invertebrate model of longevity: The giant clam (*Tridacna derasa*) », *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences*, 68, 4, p. 359-367.

## V

VERMEIJ M.J.A., SMITH J.E., SMITH C.M., VEGA THURBER R., & SANDIN S.A., 2009, « Survival and settlement success of coral planulae: Independent and synergistic effects of macroalgae and microbes », *Oecologia*, 159, 2, p. 325-336.

VICENTUAN-CABAITAN K., NEO M.L., ECKMAN W., TEO S.L.M., & TODD P.A., 2013, « Giant clams shells host a multitude of epibionts », *Bulletin of Marine Science*, 90, 3, p. 795-796.

VIEIRA C., THOMAS O.P., CULIOLI G., GENTA-JOUVE G., HOULBREQUE F., GAUBERT J., CLERCK O. DE, & PAYRI C.E., 2016, « Allelopathic interactions between the brown algal genus *Lobophora* (Dictyotales, Phaeophyceae) and scleractinian corals », *Scientific Reports*, 6, p. 1-11.

VILLANUEVA R.D., YAP H.T., & MONTAÑO M.N.E., 2005, « Survivorship of coral juveniles in a fish farm environment », *Marine Pollution Bulletin*, 51, 5-7, p. 580-589.

## W

WALLACE C.C., 1999, *Staghorn Corals of the World: a revision of the genus Acropora*, 421 p.

WANG C.Y., LIU H.Y., SHAO C.L., WANG Y.N., LI L., & GUAN H.S., 2008, « Chemical defensive substances of soft corals and Gorgonians », *Acta Ecologica Sinica*, 28, 5, p. 2320-2328.

WARD-PAIGE C.A., RISK M.J., SHERWOOD O.A., & JAAP W.C., 2005, « Clionid sponge surveys on the Florida Reef Tract suggest land-based nutrient inputs », *Marine Pollution Bulletin*, 51, 5-7, p. 570-579.

WARD J.H., 1963, « Hierarchical Grouping to Optimize an Objective Function », *Journal of the American Statistical Association*, 58, 301, p. 236-244.

WEBER M., 2009, *The Biogeography and Evolution of*, Thèse de doctorat, 1-130 p.

WEBSTER N.S., COBB R.E., SOO R., ANTHONY S.L., BATTERSHILL C.N., WHALAN S., & EVANS-ILLIDGE E., 2011, « Bacterial community dynamics in the marine sponge *Rhopaloeides odorabile* under in situ and ex situ cultivation », *Marine Biotechnology*, 13, 2, p. 296-304.

WEBSTER N.S., SMITH L.D., HEYWARD A.J., WATTS E.M., WEBB R.I., BLACKALL L.L., NEGRI P., WATTS J.E.M., & NEGRI A.P., 2004, « Metamorphosis of a scleractinian coral in response to microbial biofilms metamorphosis of a scleractinian coral in response to microbial biofilms », *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 2, p. 1213-1221.

WECKER P., FOURNIER A., BOSSERELLE P., DEBITUS C., LECELLIER G., & BERTEAUX-LECELLIER V., 2015, « Dinoflagellate diversity among nudibranchs and sponges from French Polynesia: Insights into associations and transfer », *Comptes Rendus - Biologies*, 338, 4, p. 278-283.

WECKER P., LECELLIER G., GUIBERT I., ZHOU Y., BONNARD I., & BERTEAUX-LECELLIER V., 2018, « Exposure to the environmentally-persistent insecticide chlordecone induces detoxification genes and causes polyp bail-out in the coral *P. damicornis* », *Chemosphere*, 195, p. 190-200.

WEGLEY L., EDWARDS R., RODRIGUEZ-BRITO B., LIU H., & ROHWER F., 2007, « Metagenomic analysis of the microbial community associated with the coral *Porites astreoides* », *Environmental Microbiology*, 9, 11, p. 2707-2719.

WEIS V.M., 2008, « Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis », *The Journal of experimental biology*, 211, 19, p. 3059-3066.

WELLINGTON G.M., 1980, « Reversal of digestive interaction between pacific reef corals: Mediation by sweeper tentacles », *Oecologia*, 47, p. 340-343.

WELSH R.M., ROSALES S.M., ZANEVELD J.R., PAYET J.P., MCMINDS R., HUBBS S.L., & VEGA THURBER R.L., 2017, « Alien vs. predator: bacterial challenge alters coral microbiomes unless controlled by *Halobacteriovorax* predators », *PeerJ*, 5, p. 2-22.



WHITE B.A., LANSING E., HILL R.W., & DACEY J.W.H., 1995, « Accumulation of Dimethylsulfonypropionate in *Geukensia demissa* Depends on trophic Interactions », *Nature*, 189, p. 235-236.

WHITTAKER A.R.H., & FEENY P.P., 1971, « Allelochemicals : Chemical interactions between species », *Science*, 171, 3973, p. 757-770.

WILBUR K., 1983, *The Mollusca, volume 2: Environmental Biochemistry and Physiology*, WILBUR K., & HOCHACHKA P. (dirs.), 369 p.

WILSON J., & HARRISON P., 2005, « Post-settlement mortality and growth of newly settled reef corals in a subtropical environment », *Coral Reefs*, 24, 3, p. 418-421.

WITHERS N.W., KOKKE W.C., FENICAL W., & DJERASSI C., 1982, « Sterol patterns of cultured zooxanthellae isolated from marine invertebrates: Synthesis of gorgosterol and 23-desmethylgorgosterol by aposymbiotic algae », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79, 12, p. 3764-3768.

WOOD-CHARLSON E.M., WEYENBERG K.D., SUTTLE C.A., ROUX S., & OPPEN M.J.H. VAN, 2015, « Metagenomic characterization of viral communities in corals: mining biological signal from methodological noise », *Environmental microbiology*, 17, 10, p. 3440-3449.

## Y

YONGE C.M., 1975, « Giant clams », *Scientific American*, 232, 4, p. 96-105.

YOST D.M., JONES R.J., & MITCHELMORE C.L., 2010, « Alterations in dimethylsulfonypropionate (DMSP) levels in the coral *Montastraea franksi* in response to copper exposure », *Aquatic Toxicology*, 98, 4, p. 367-373.

YOST D.M., & MITCHELMORE C.L., 2009, « Dimethylsulfonypropionate (DMSP) lyase activity in different strains of the symbiotic alga *Symbiodinium microadriaticum* », *Marine Ecology Progress Series*, 386, p. 61-70.

YOST D.M., & MITCHELMORE C.L., 2010, « Determination of total and particulate dimethylsulfonypropionate (DMSP) concentrations in four scleractinian coral species: A comparison of methods », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 395, 1-2, p. 72-79.

## Z

ZANNELLA C., MOSCA F., MARIANI F., FRANCI G., FOLLIERO V., GALDIERO M., TISCAR P.G., & GALDIERO M., 2017, « Microbial diseases of bivalve mollusks: Infections, immunology and antimicrobial defense », *Marine drugs*, 15, 6, p. 1-36.

ZIEGLER M., ROIK A., PORTER A., ZUBIER K., MUDARRIS M.S., ORMOND R., & VOOLSTRA C.R., 2016, « Coral microbial community dynamics in response to anthropogenic impacts near a major city in the central Red Sea », *MPB*, 105, 2, p. 629-640.

ZIEGLER M., SENECA F.O., YUM L.K., PALUMBI S.R., & VOOLSTRA C.R., 2017, « Bacterial community dynamics are linked to patterns of coral heat tolerance », *Nature Communications*, 8, p. 14213.

ZIGMANTAS D., HILLER R.G., SUNDSTROM V., & POLIVKA T., 2002, « Carotenoid to chlorophyll energy transfer in the peridinin-chlorophyll-a-protein complex involves an intramolecular charge transfer state », *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99, 26, p. 16760-16765.

ZIMMER R.K., & BUTMAN C.A., 2000, « Zimmer RK 2000 Chemical signaling processes in marine environment », *Biological Bulletin*, 198, p. 168-187.



**Résumé :** Qu'il s'agisse de la compétition pour la nourriture, pour l'espace, ou autre relation, les interactions entre les organismes, directes ou indirectes, sont essentielles à l'élaboration d'une réponse adaptée. Pour les organismes marins sessiles ces interactions sont majoritairement d'ordre chimique. S'ajoutent à ces interactions les pressions environnementales qui impactent également la physiologie des organismes et donc leur capacité de réponse, particulièrement les organismes récifaux peu profonds, qui sont exposés par exemple à de plus fortes variations des températures de l'eau. Cependant les études menées jusqu'à présent sur les organismes marins sessiles se sont essentiellement focalisées sur les réponses individuelles des organismes dans un contexte mono-espèce. Dans le cadre de cette thèse, je me suis intéressée à l'impact des espèces environnantes dans cette réponse. Ainsi, différents assemblages de coraux (*Pocillopora damicornis* and *Acropora cytherea*) et de bénitiers (*Tridacna maxima*) ont été étudiés *ex situ* lors d'expériences de stress thermique ou *in situ* dans le lagon de Moorea (Polynésie française). A l'aide d'une approche intégrative, combinant cytologie, métabolomique et metabarcoding, j'ai exploré les effets des assemblages sur les holobiontes et leur environnement proche. Ce travail a mis en évidence que le type d'assemblage influence non seulement le développement et la composition du biofouling, mais également, aussi bien quantitativement que qualitativement, le recrutement corallien. L'effet le plus marquant est l'inhibition du biofouling dans le cas de l'assemblage des trois espèces. Concernant les retombées sur la physiologie des organismes, des différences de concentration du diméthylsulfoniopropionate, métabolite impliqué dans le cycle du soufre, ont été observées chez *A. cytherea* et *T. maxima* en fonction des assemblages. La santé des holobiontes est également affectée selon les assemblages. En présence de corail, plus particulièrement *A. cytherea*, la mortalité des bénitiers est accrue, et accentuée lors d'un stress thermique. Il faut souligner que la composition des holobiontes (Symbiodiniaceae pour les 3 espèces plus les bactéries pour le bénitier) ne semble pas être influencée par les assemblages, ni par l'augmentation de la température de l'eau mais est dépendante de l'hôte et de son statut. En conclusion, l'ensemble des résultats obtenus démontre que les organismes marins sessiles ont une physiologie différente et réagissent différemment aux pressions environnementales en fonction des espèces environnantes. Ce travail souligne la nécessité de prendre en compte la diversité environnante dans la modélisation du devenir des récifs coralliens.

Mots clés : Coraux, Bénitiers, assemblage, holobionte, Symbiodiniaceae, Bactéries, Stress thermique, métabolomique, metabarcoding.

### **The importance of interspecific assemblages facing to environmental changes.**

**Abstract:** Interaction between organisms, direct or indirect, involved in the competition for food and space, or other mechanisms, are crucial to develop appropriate responses. For marine sessile organisms, interactions are mainly chemical. In addition to interactions, environmental pressures linked to global changes highly impact the physiology of organisms and their responses abilities, particularly in coral reef organisms that live in shallow waters strongly exposed to thermal stress. However, studies on marine sessile organisms have mainly focused on individual responses of organisms, using mono-specific experiment. During this thesis, the influence of neighboring species on the individual response of organisms was examined. Thus, various assemblages of corals (*Pocillopora damicornis* and *Acropora cytherea*) and giant clams (*Tridacna maxima*) were studied *ex situ* through a thermal stress experiment or *in situ* in Moorea lagoon (French Polynesia). Using an integrative approach, combining cytology, metabolomics and metabarcoding; the effect of assemblages on holobionts and their near environment was explored. This study showed that assemblages influence the biofouling development and composition but also coral recruitment, both qualitatively and quantitatively. The most significant impact was the antifouling effect observed when the three species were placed together. Holobionts analyses highlighted the impact of interaction on the organisms' physiology, showing an increase of the dimethylsulfoniopropionate concentration, a key compound in the global sulfur cycle, for *A. cytherea* and *T. maxima* species according to multiple-species assemblages. Holobionts health status was also impacted according to the assemblages. Assemblages with corals, especially *A. cytherea*, leads to high giant clam mortality, particularly during thermal stress. Interestingly, it should be noted that holobiont composition (Symbiodiniaceae for the three species and bacteria for the giant clams) appears to depend on the nature and health status of the host, rather than the assemblages or the increase of seawater temperature. In conclusion, the overall results have clearly shown that marine sessile organisms differs in physiology and react differently to environmental pressures and neighboring species. This work highlights the importance of taking into account the surrounding diversity for predicting the future fate of coral reefs.

Keywords: Corals, giant clams, assemblage, holobiont, Symbiodiniaceae, bacteria, thermal stress, metabolomics, metabarcoding.