



HAL
open science

La reproduction sexuée et asexuée des coraux face aux changements environnementaux : Implications pour la conservation et la restauration des récifs coralliens

Antoine Puisay

► **To cite this version:**

Antoine Puisay. La reproduction sexuée et asexuée des coraux face aux changements environnementaux : Implications pour la conservation et la restauration des récifs coralliens. Biologie de la reproduction. Université Paris sciences et lettres, 2018. Français. NNT : 2018PSLEP030 . tel-02906023

HAL Id: tel-02906023

<https://theses.hal.science/tel-02906023>

Submitted on 24 Jul 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.

THÈSE DE DOCTORAT

de l'Université de recherche Paris Sciences et Lettres
PSL Research University

Préparée à l'École Pratique des Hautes Etudes

La reproduction sexuée et asexuée des coraux face aux changements environnementaux : Implications pour la conservation et la restauration des récifs coralliens

Ecole doctorale n°472
ED ECOLE PRATIQUE DES HAUTES ETUDES

Spécialité Connaissance et gestion des milieux coralliens et
océaniques

Soutenue par Antoine PUISAY
le 23 juillet 2018

Dirigée par Serge **PLANES** et
Laetitia **HEDOUIN**

COMPOSITION DU JURY :

Mme. FURLA Paola
Université de Nice Sophia Antipolis,
Rapporteur

Mme. FAUVELOT Cécile
IRD, Rapporteur

Mme. HELY-ALLEAUME Christelle
EPHE, Présidente

M. VIDAL-DUPIOL Jérémie
IFREMER, Examineur

M. PLANES Serge
CNRS, Directeur de thèse

Mme. HEDOUIN Laetitia
CNRS, Co-encadrant



École Pratique
des Hautes Études



Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Serge Planes pour avoir accepté de m'accueillir au sein de son laboratoire, mais aussi pour avoir accepté de diriger cette thèse. Ensuite je tiens à remercier Laetitia Hédouin, qui par sa direction scientifique m'a beaucoup appris, du questionnement en passant par la réalisation des expériences et la rédaction des articles scientifiques. Je tiens aussi à la remercier pour sa capacité d'écoute, qui m'a permis de développer mes propres idées sur les questions scientifiques traitées. Merci à toi Laetitia, pour ces échanges nombreux et fructueux, qui, il me semble, ont permis de faire avancer, au moins en partie, la science de la reproduction des coraux et qui, à coût sûr, m'ont fait beaucoup grandir et mûrir (j'ai beaucoup plus de cheveux blanc maintenant). Je tiens aussi, bien sûr, à remercier tous les membres du Criobe, qu'ils soient en Polynésie ou en France, chimiste ou biologiste, anthropologue ou écologue, technicien ou ingénieur, permanent ou vacataire, pour tous les échanges que nous avons pu avoir au fil de ces années. Merci à Benoît, Franck, Pascal, Yannick, Gilles, Vétéa, Elina, Christine, Margueritte, Cécile, Morgan, Nathalie, Aurélie, Jeanine, Peter, avec qui j'ai directement travaillé, mais aussi tous les autres car les échanges en dehors du travail sont aussi important. Je tiens aussi à remercier tous les étudiants qui sont venus travailler en stage avec Laetitia et qui m'ont aidé à réaliser mes expériences de thèse. Merci à Clément, Mélanie, Brice, Charlotte, Louise, Nicolas, Yann, Mathieu. Merci aux copains, qui soutiennent et qui permettent de voir les choses sous des angles différents. Merci à Pierpaolo, Guillaume, Louis, Mélodie, Ewen, Isis, Lauric, Nao, Simon, Marion, Charlotte, Hereia, Pauline, Hendrickje, Charles, Hugo. Merci aussi à Mohsen, Johann, Jérémy, Jodie, Laurent, Benoît, Emmanuel, pour m'avoir montré un côté des scientifiques que je connaissais moins, mais que j'apprécie. Merci à toutes et à tous, vous avez en effet tous de manière significative ($P_{value} < 0.001$), contribués à cette thèse, de sa préparation, jusqu'à sa rédaction en passant par les moments passés en dehors et qui m'ont permis de pouvoir le vivre de manière plus sereine. Merci enfin à mes parents pour m'avoir fait et élevé (sinon ça aurait été plus compliqué), ainsi que d'avoir financé beaucoup de mes pérégrinations étudiantes, de Nantes en passant par Perpignan, puis Paris, mais aussi Montpellier, Nancy, Bordeaux, pour enfin arriver à Moorea. Merci de m'avoir soutenu en toute occasion et merci de le faire encore. Mauruuru no te mau mea atoa ta outou e rave maitai roa nei.

Table des matières

Liste des figures.....	4
Liste des Tableaux.....	8
Liste des Equations.....	8
Chapitre 1 : Introduction générale	10
I. Contexte	10
I.1 Biologie.....	11
I.2 Symbiose.....	12
I.3 Blanchissement	13
II. La reproduction sexuée et asexuée	14
III. Méthodes de restaurations des récifs coralliens	20
IV. Acclimatation et adaptation	27
V. Objectifs de la thèse.....	30
VI. Stratégie expérimentale	32
Chapitre 2 : Coral gamete thermal environment modulates fertilization success.....	41
I. Introduction	43
II. Results and Discussion	44
III. Material and methods	50
Chapitre 3 : Thermal resistances and acclimation potential during coral larval ontogeny in <i>Acropora pulchra</i>	55
I. Introduction	57
II. Materials and methods.....	59
III. Results	63
IV. Discussion	70
Chapitre 4 : Thermal preconditioning of coral pelagic life stages as a promising alternative in the face of global warming	78
I. Introduction	80
II. Material and methods	82
III. Results	85
IV. Discussion	89
Chapitre 5 : Variability in coral larva of <i>P. damicornis</i> species: Fluorescence as an indicator of the dispersal ranges of larva.....	95
I. Introduction	97
II. Material and methods	100
III. Results	101
IV. Discussion	108
Chapitre 6 : Interspecific, intraspecific variability and phenotypic plasticity in a coral common garden experiment: Could we pick the winner?	113
I. Introduction	115
II. Material and methods	117
III. Results	119
IV. Discussion	127
Chapitre 7 : Discussion générale	135
Bibliographie.....	155
Summary	184
Résumé	185

Liste des figures

Chapitre 1

FIGURE 1. LES RECIFS CORALLIENS MONDIAUX EN NOMBRE D'ESPECES MODIFIE DE VERON ET AL., (2015).....	11
FIGURE 2 : CYCLE DE VIE BENTHO-PELAGIQUE DES CORAUX SCLERACTINIARES	14
FIGURE 3: DEVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE CHEZ <i>ACROPORA PULCHRA</i> D'UN OVOCYTE NON FECONDE (A), AU STADE 2 CELLULES (B), 4 CELLULES (C) ET > 4 CELLULES (D), MODIFIE DE PUISAY ET AL., (2015).	16
FIGURE 4 : LES DIFFERENTS TYPES DE BOURGEONNEMENT D'UN CORAIL SCLERACTINIAIRE, LORS DE LA REPRODUCTION ASEXUEE.....	18
FIGURE 5 : DIFFERENTES METHODES DE CULTURES DES CORAUX. ARBRE A CORAIL (A), LIGNE ET CORDE DE SUSPENSION (B), RECIF BOULE (C), CADRE METALLIQUE (D).	23
FIGURE 6 : LES DIFFERENTES ETAPES DE CULTURES DE CORAUX PAR REPRODUCTION SEXUEE, MODIFIE DE CHAMBERLAND ET AL., (2015). COLONIE D' <i>ACROPORA PALMATA</i> (A), AGREGATS DE GAMETES PRETS A ETRE EXPULSES (B), SYSTEME D'ELEVAGE DE LARVES (C), TRIPODE POUR LE RECRUTEMENT LARVAIRE (D), RECRUE (E), JEUNES COLONIES CORALLIENNES (F).	26
FIGURE 7 : SCHEMA DU CONTEXTE SCIENTIFIQUE DE LA THESE. DIFFERENTES COULEURS REPRESENTENT LES DIFFERENTS AXES DE RECHERCHES TRAITES DURANT LA THESE	31
FIGURE 8 : ESPECES DE CORAUX UTILISEES DANS LA PARTIE REPRODUCTION SEXUEE ET CHANGEMENT CLIMATIQUE. (A) <i>ACROPORA PULCHRA</i> , (B) <i>ACROPORA CYTHEREA</i> , (C) <i>POCILLOPORA DAMICORNIS</i>	33
FIGURE 9 : ESPECES DE CORAUX UTILISEES DANS LA PARTIE REPRODUCTION ASEXUEE ET CHANGEMENT CLIMATIQUE. (A) <i>ACROPORA HYACINTHUS</i> , (B) <i>POCILLOPORA DAMICORNIS</i> , (C) <i>PORITES RUS</i>	38

Chapitre 2

FIGURE 1 : REDUCED FERTILIZATION SUCCESS RATE (A) AND INCREASED ABNORMAL EMBRYONIC DEVELOPMENT (B) OF <i>A. CYTHEREA</i> CORALS DUE TO INCREASED TEMPERATURES. THE TEMPERATURE OF EXPOSURE IS REPRESENTED ON THE X-AXIS ON A SCALE FROM 26 TO 34°C (N = 3000 OOCYTES PER TEMPERATURE) IN BOTH GRAPHS. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERRORS ON BOTH GRAPHS. (A) THE DOTTED LINE REPRESENTS VALUES EXTRAPOLATED BY THE DOSE RESPONSE MODEL (SEE METHODS). (B) DIFFERENT LETTERS REPRESENT SIGNIFICANT DIFFERENCES AMONG TEMPERATURE TREATMENTS. SIGNIFICANT DIFFERENCES BETWEEN TREATMENTS WERE EVALUATED BY USING A TUKEY HSD TEST, WITH A SET TO 0.05.	45
FIGURE 2 : FERTILIZATION SUCCESS RATE AMONG DIFFERENT TEMPERATURES (A, N = 96), PRE-EXPOSURE TIME (B, N = 48), PRE- EXPOSURE TEMPERATURE (C, N = 48), AND ESTIMATED EFFECTS OF EACH VARIABLE AND THEIR INTERACTIONS (D) IN THE CORAL <i>A. CYTHEREA</i> . EACH POINTS REPRESENT THE RESPONSE OF AN AVERAGE OF 160 EMBRYOS (A, B, C). DIFFERENT COLORS REPRESENT DIFFERENT TREATMENT (A, B, C). FOR THE ESTIMATES, PURPLE VALUE REPRESENT NEGATIVE EFFECTS, BLUE VALUE NULL EFFECTS, AND GREEN VALUE POSITIVE EFFECTS (D).	47
FIGURE 3 : FERTILIZATION SUCCESS RATE AMONG DIFFERENT PRE-EXPOSURE TIME (A, D, N = 24), AND PRE-EXPOSURE TEMPERATURE (B, E N = 24), AT 27 (A, B), AND 30°C (D, E) AND ESTIMATED EFFECTS OF EACH VARIABLES AND THEIR INTERACTIONS (C, F) IN THE CORAL <i>A. CYTHEREA</i> . EACH POINTS REPRESENT THE RESPONSE OF AN AVERAGE OF 160 EMBRYOS. DIFFERENT COLOR REPRESENT DIFFERENT TREATMENT (A, B, D, E). FOR THE ESTIMATES, PURPLE VALUE REPRESENT NEGATIVE EFFECTS, BLUE VALUE NULL EFFECTS, AND GREEN VALUE POSITIVE EFFECTS (D).....	49

Chapitre 3

FIGURE 1 : EXPERIMENTAL SCHEME OF THE DIFFERENT EXPERIENCES CARRIED OUT IN THE PRESENT STUDY: NUMBERS IN BOLD REPRESENTS THE DIFFERENT EXPERIMENTS. NUMBERS IN BLUE INDICATES CONTROL TEMPERATURES, AND IN RED TEMPERATURES TESTED 60

FIGURE 2 : FERTILIZATION SUCCESS RATE (A) AND ABNORMAL DEVELOPMENT RATE (B) ASSOCIATED WITH INCREASING TEMPERATURES FROM 26 TO 34 °C (N = 3000 OOCYTES PER TREATMENT) IN THE CORAL *A. PULCHRA*. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERROR. THE DASHED LINE REPRESENTS THE EFFECTIVE DOSE MODEL. THE PRESENCE OF THE SAME LETTER ON DIFFERENT PLOTS REPRESENTS NO DIFFERENCES BASED ON TUKEY'S HONEST DIFFERENCE, WITH A SET AT 0.05. 64

FIGURE 3 : LARVAL SURVIVAL PROBABILITY ASSOCIATED WITH RISING TEMPERATURES FROM 26 TO 34 °C (A), AND LARVAL SURVIVAL RATE (B) ASSOCIATED WITH DAYS OF EXPERIMENT FROM 6 TO 14 DAYS (N = 15 LARVA PER VIAL) IN *A. PULCHRA* (N = 7 PER TEMPERATURE TREATMENT). CURVES REPRESENTS LARVAL SURVIVAL PROBABILITY AT EACH TEMPERATURE FROM THE KAPLAN AND MEIER METHOD (A). THE PRESENCE OF THE SAME LETTER ON DIFFERENT CURVES REPRESENTS NO DIFFERENCES (A). THE LINES REPRESENT THE LETHAL DOSE MODEL AT 6, 8, 10, 12 AND 14 DAYS (B). ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERRORS. . 65

FIGURE 4 : EFFECTS OF EXPOSURE OF SPERM AND OOCYTES SEPARATELY FOR 1H AT 26, 30 AND 32 °C (N = 1200 OOCYTES PER TREATMENT) ON FERTILIZATION SUCCESS (A, B, C) AND ABNORMAL EMBRYONIC DEVELOPMENT (D, E, F) AT 26 °C IN THE CORAL *A. PULCHRA*. S = SPERMS, O = OOCYTES. THE NUMBER ASSOCIATED WITH S AND O REPRESENT THEIR EXPOSITION TEMPERATURE. THE PRESENCE OF JUST ONE TEMPERATURE MEANS THAT BOTH THE GAMETES WERE EXPOSED TO THE SAME THERMAL SCOPE. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERRORS. THE PRESENCE OF THE SAME LETTER ON DIFFERENT PLOTS REPRESENTS NO DIFFERENCES BASED ON TUKEY'S HONEST DIFFERENCE, WITH A SET AT 0.05..... 66

FIGURE 5 : EFFECTS OF 1 H PRE-EXPOSURE OF GAMETES TO 30 AND 32 °C (N = 1200 OOCYTES PER TREATMENT) ON FERTILIZATION SUCCESS (A) AND ABNORMAL DEVELOPMENT RATE (B) AT 26, 30 AND 32 °C IN THE CORAL *A. PULCHRA*. S = SPERMS, O = OOCYTES. THE NUMBER ASSOCIATED WITH S AND O REPRESENT THEIR PRE-EXPOSURE TEMPERATURE. NP = NOT-PRE-EXPOSED, F(X) = FERTILIZATION TEMPERATURE (°C). THE PRESENCE OF THE SAME LETTER ON DIFFERENT PLOTS REPRESENTS NO DIFFERENCES BASED ON TUKEY'S HONEST DIFFERENCE, WITH A SET AT 0.05. ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERRORS. 67

FIGURE 6 : EFFECTS OF 1 H, 1 H 30 AND 2 H PRE-EXPOSURE OF GAMETES AT 27 AND 30 °C ON FERTILIZATION SUCCESS (A, B, C, D, E, F) AND ABNORMAL DEVELOPMENT RATE (G, H, I, J, K, L) AT 27 AND 30 °C (N = 1000 OOCYTES PER TREATMENT) IN THE CORAL *A. PULCHRA*. S = SPERMS, O REPRESENT THEIR PRE-EXPOSURE TEMPERATURE. THE EXPOSURE TIME WAS 1 H, 1 H 30, 2 H FOLLOWED BY 4 H 30 OF FERTILIZATION AT CONTROL (27 °C AND 30 °C). THE PRESENCE OF JUST ONE TEMPERATURE MEANS THAT BOTH THE GAMETES WERE EXPOSED TO THE SAME THERMAL SCOPE. F(X) = FERTILIZATION TEMPERATURE (°C). ERROR BARS REPRESENT STANDARD ERRORS. THE PRESENCE OF THE SAME LETTER ON DIFFERENT PLOTS REPRESENTS NO DIFFERENCES BASED ON TUKEY'S HONEST DIFFERENCE, WITH A SET AT 0.05. 69

FIGURE 7 : DAILY MEAN TEMPERATURE +/- MAX AND MIN FROM SEPTEMBER TO DECEMBER 2002. THESE TEMPERATURES WERE RECORDED USING HOBO® WATER TEMP PRO V2 (ONSET HEADQUARTERS, BOURNE, MA, USA), EVERY 1 H NEAR THE COLLECTION SITE (FRINGING REEF MOOREA, 17°28.940'S/149°53.985'W, FRENCH POLYNESIA) OF THE CORAL COLONIES STUDIED..... 76

Chapitre 4

- FIGURE 1 : TEMPORAL CHANGES OF TEMPERATURE OVER CONSECUTIVE MONTHS IN THE (A.) FRINGING REEF AND (B.) FORE REEFS OF TIAHUARA, MOOREA ISLAND, FROM 1998 TO 2015..... 85
- FIGURE 2 : LARVAL SURVIVAL PROBABILITY OF THE CORAL *ACROPORA CYTHEREA* EXPOSED TO FIVE TEMPERATURES (FROM 26 TO 34°C): (A) SURVIVAL AS A FUNCTION OF DURATION (DOSE MODEL RESPONSE); (B) SURVIVAL AS FUNCTION OF TEMPERATURE (KAPLAN AND MEIER'S CURVES) AND (C) LETHAL TEMPERATURE ESTIMATED FOR 10, 25 AND 50% OF MORTALITY AS A FUNCTION OF TIME. DIFFERENT LETTERS REPRESENT SIGNIFICANT DIFFERENCES BASED ON LOG-RANK TEST. ERROR BARS REPRESENT STANDARD 87
- FIGURE 3 : EFFECTS OF THERMAL PRE-EXPOSURE ON EMBRYOS DURING (A) 30 MIN, (B) 120 MIN AND (C) 270 MIN ON THE LARVAL SURVIVAL PROBABILITY AT 27 AND 30°C. NP = NOT PRE-EXPOSED (DOT LINE), P= PRE-EXPOSED AT 30°C (FULL LINE). @ = SURVIVAL AT X°C. LINES REPRESENT KAPLAN AND MEIER CURVES. DIFFERENT LETTERS REPRESENT SIGNIFICANT DIFFERENCES, BASED ON LOG-RANK TEST. 88
- FIGURE 4 : EFFECTS OF 7D-OLD LARVAE PRE-EXPOSURE AT 27 AND 32°C DURING 1, 6, 12 AND 24 H ON THE LARVAL SURVIVAL PROBABILITY AT 27 AND 32°C. NP = NOT PRE-EXPOSED (DOT LINE), P= PRE-EXPOSED AT 32°C (FULL LINE). LINES REPRESENT KAPLAN AND MEIER CURVES. DIFFERENT LETTERS REPRESENT SIGNIFICANT DIFFERENCES, BASED ON LOG-RANK TEST..... 89

Chapitre 5

- FIGURE 1 : DIFFERENT TYPES OF FLUORESCENT LARVA OBSERVED. A. GREEN FLUORESCENT LARVA IN A "SWIMMING STATE". B. A MIXED FLUORESCENT LARVA IN A "SWIMMING STATE". C. THREE RED FLUORESCENT LARVA IN THE BOTTOM IN A "SWIMMING STATE", THE LARVA AT THE RIGHT CORNER IS IN ITS "DIAPAUSE-LIKE-STATE"..... 102
- FIGURE 2 : SEAWATER TEMPERATURE TREND AND SPAWNING DYNAMIC OF *P. DAMICORNIS* DURING FEBRUARY, MARCH AND APRIL, 2016. A. DAILY AVERAGE OF SEAWATER LAGOON TEMPERATURE AT THE MAHANA SITE FROM JANUARY TO MAY 2016. B. SUM OF THE DAILY PRODUCED LARVA PHENOTYPES (RED, GREEN AND MIXED FLUORESCENCE) OF *P. DAMICORNIS* PER COLONY (N=10 COLONIES) FROM FEBRUARY TO APRIL 2016. ARROWS REPRESENT DAY 1 OF EACH SPAWNING DATE. 103
- FIGURE 3 : ZOOXANTHELLAE DENSITY AND SPAWN COMPOSITION OF BLEACHED AND UNBLEACHED COLONIES IN FUNCTION OF MONTHS. A. ZOOXANTHELLAE PER CM² OF CORAL IN FUNCTION OF THE COLONY PHENOTYPES DURING THE STUDIED MONTHS. THE ZOOXANTHELLAE PER CM² IS IN A LOGARITHMIC SCALE OF 10. THE MEASURES OF ZOOXANTHELLAE DENSITIES HAVE BEEN PERFORMED WITH FIVE COLONIES OF EACH CONDITION. B. PROPORTION OF EACH LARVA PHENOTYPES AMONG THE TOTAL NUMBER OF LARVA PRODUCED DURING THE SPAWN PERIOD OF BLEACHED AND UNBLEACHED COLONIES IN FUNCTION OF MONTHS. 104
- FIGURE 4 : SURVIVAL RATES OF THE THREE LARVA TYPES ISSUED FROM DAYS 3, 5 AND 7 AFTER THE NEW MOON IN TWO TEMPERATURE CONDITIONS DURING THE MONTH OF FEBRUARY. EACH GRAPHICS IS SHOWING THE SURVIVAL RATES OF THE LARVA IN FUNCTION OF TIME. THE EXPERIMENT WAS STOPPED AT THE SIXTEENTH DAY. THE SMALL LETTERS ARE INDICATING A SIGNIFICANT DIFFERENCE (P-VALUE<0.01) BETWEEN CURVES. NOTE THAT NOT ALL DESIRED LARVA PHENOTYPES WERE AVAILABLE AT EACH DAY..... 105

FIGURE 5 : RECRUITMENT RATE OF EACH LARVA PHENOTYPES IN FUNCTION OF THE MONTHS. NOT ANY EXPERIMENT WORKED IN THE MONTHS OF MARCH AND APRIL. EACH POINT REPRESENTS AN EXPERIMENT. A STUDENT TEST HAS BEEN PERFORMED BETWEEN THE RECRUITMENT RATE OF THE GREEN AND THE RED LARVA (p -VALUE = 0.03156)..... 106

FIGURE 6 : POST RECRUITMENT SURVIVAL RATES OF RECRUITS ISSUED FROM THE THREE LARVA TYPES IN FEBRUARY. A. SURVIVAL RATE OF RECRUITS ISSUED FROM THE DIFFERENT LARVA PHENOTYPES IN FUNCTION OF TIME. NOTE THAT NOT ANY SURVIVAL PHASE HAS BEEN PERFORMED BETWEEN THE LARVA RELEASE AND THE RECRUITMENT EVENT. B. SURVIVAL RATE OF RECRUITS ISSUED FROM THE DIFFERENT LARVA PHENOTYPES IN FUNCTION OF THE SPAWNING DAY OF THE LARVA WHICH HAS GIVEN THE RECRUIT. NOTE THAT NOT ALL DAYS ARE PRESENT IN EACH CONDITION: FOR RECRUITS ISSUED OF GREEN LARVA ONLY THE DAYS 1, 2, 4 AND 5 WERE TESTED, FOR RECRUITS ISSUED OF MIXED LARVA ONLY THE DAYS 4, 5 AND 7 WERE TESTED, FOR RECRUITS ISSUED OF RED LARVA ONLY THE DAYS 2 AND 4 WERE TESTED..... 107

Chapitre 6

FIGURE 1 : TEMPERATURE (A) LUMINOSITY (B) AND RELATIVE TS50 (C) RECORDED ON MOOREA TAHITI AND BORA BORA. TEMPERATURE, AND LUMINOSITY DATA WERE RECORDED EVERY 15 MINUTES. TEMPERATURE REPRESENT DATA RECORDED FROM AUGUST 2014 TO DECEMBER 2016. TS50 REPRESENT A MORTALITY INDEX. LUMINOSITY REPRESENT DATA RECORDED DURING ONE WEEK. THE STRAIGHT LINE REPRESENT THE BLEACHING THRESHOLD CALCULATED FOR TAHITI (HOEGH-GULDBERG, 1999)..... 119

FIGURE 2 : INERSPECIFIC VARIATION OF THE GROWTH RATE (A), HEALTH STATUS (B), AND SURVIVAL PROBABILITY (C) OF THE 3 CORAL SPECIES, AMONG THE THREE ISLANDS TESTED ($n = 8$ PER SPECIES). DATA ARE EXPRESSED AS MEAN \pm STANDARD ERRORS FOR SURVIVAL PROBABILITY. A. *HYA* = *ACROPORA HYACINTHUS*, *P. DAM* = *POCILLOPORA DAMICORNIS*, *P. RUS* = *PORITES RUS*. POINTS WITH DIFFERENT LETTERS REPRESENT SIGNIFICANT DIFFERENCES AMONG SPECIES, BASED ON TUKEY HSD, WITH A SET AT 0.05, AND BASED ON LOG-RANK TEST FOR SURVIVAL PROBABILITY. DIFFERENT CAPITAL LETTERS REPRESENT SIGNIFICANT DIFFERENCES AMONG SITES, BASED ON TUKEY HSD, WITH A SET AT 0.05. THE DASHED LINE REPRESENT THE SURVIVAL PROBABILITY OF 50%. 120

FIGURE 3 : RELATIVE DISTANCE PLASTIC INDEX (RDPI) FOR THE THREE SPECIES STUDIED ($n = 8$ PER SPECIES). DATA REPRESENT THE MEANS \pm STANDARD ERRORS. THE BLACK LINE REPRESENT NO SIGNIFICANT DIFFERENCE, BASED ON TUKEY HSD, WITH A SET AT 0.05..... 122

FIGURE 4 : INTRASPECIFIC VARIATION OF THE GROWTH RATE (A, B, C), HEALTH STATUS (D, E, F), AND SURVIVAL PROBABILITY (G, H, I) OF THE 3 CORAL SPECIES, AMONG THE THREE ISLANDS TESTED ($n = 10$ PER COLONY). DATA ARE EXPRESSED AS MEAN \pm STANDARD ERRORS FOR SURVIVAL PROBABILITY. A. *HYA* = *ACROPORA HYACINTHUS*, *P. DAM* = *POCILLOPORA DAMICORNIS*, *P. RUS* = *PORITES RUS*. THE DIFFERENT LETTERS ASSOCIATED TO H, D AND R REPRESENT THE DIFFERENT GENOTYPES. POINTS WITH DIFFERENT LETTERS REPRESENT SIGNIFICANT DIFFERENCES AMONG INDIVIDUALS, BASED ON TUKEY HSD, WITH A SET AT 0.05, AND BASED ON LOG-RANK TEST FOR SURVIVAL PROBABILITY. THE COLORS ASSOCIATED TO LETTERS REPRESENT THE SITE ANALYZED. THE DASHED LINE REPRESENT THE SURVIVAL PROBABILITY OF 50%. 123

FIGURE 5 : HEATMAP AND CLUSTERING OF THE RELATIVE PHENOTYPIC DISTANCES, IN THE DIFFERENT INDIVIDUAL STUDIED. H = *ACROPORA HYACINTHUS*, D = *POCILLOPORA DAMICORNIS*, R = *PORITES RUS*. THE DIFFERENTS LETTERS ASSOCIATED TO H, P AND R REPRESENT THE DIFFERENT GENOTYPE. 126

Liste des Tableaux

Chapitre 2

TABLE 1 : GENERALIZED LINEAR MODEL ON THE FERTILIZATION SUCCESS OF THE CORAL <i>ACROPORA CYTHEREA</i> AT 27 AND 30°C. RESULTS OF RESTRICTED MODEL AT 27 AND 30°C ARE ALSO SHOWN.	53
TABLE 2 : RESULTS OF THE GENERALIZED LINEAR MODEL COMPARISONS AND <i>PSEUDO</i> R ² OF BOTH GENERAL MODEL (27 30°C) AND RESTRICTED TO 27 OR 30°C.....	53

Chapitre 5

TABLE 1: RESULTS OF THE TWO WAY ANOVA, FOR THE DIFFERENT TRAITS (HEALTH STATUS, AND GROWTH RATE) ANALYZED. SIGNIFICANT DIFFERENCES ARE REPRESENT AS : *** < 0.001, A SET AT 0.05.	132
TABLE 2: RESULTS OF THE LOG-RANK TEST, FOR SURVIVAL DIFFERENCES AMONG INDIVIDUAL, SITE, AND THEIR INTERACTIONS. SIGNIFICANT DIFFERENCES ARE REPRESENT AS : *** < 0.001, A SET AT 0.05.	133

Liste des Equations

Chapitre 5

EQUATION 1 : GROWTH RATE.....	117
EQUATION 2 : RELATIVE PHENOTYPIC DISTANCE	118
EQUATION 3 : RELATIVE DISTANCE PLASTICITY INDEX (RDPI)	118

Chapitre 1 : Introduction générale

I. Contexte

Les récifs coralliens représentent la seule structure bio-construite visible depuis l'espace. Ces écosystèmes marins se situent globalement dans la zone intertropicale entre 30°N et 30°S (Figure 1) caractérisée par des eaux chaudes (16 to 34°C) et oligotrophes (Stoddart, 1969). Ces écosystèmes s'étendent sur environ 600 000 km² et représentent ainsi environ 0.17% de la superficie des océans (Smith, 1978). Ils concentrent environ 830 000 espèces, soit 32% des espèces marines connues à ce jour (Fisher et al., 2015), et assurent de nombreux services écosystémiques (Moberg and Folke, 1999). Ils sont une ressource naturelle d'une importance économique capitale, calculée à 375 milliards de dollars par an (Costanza et al., 1997). Les récifs coralliens se forment par accumulation successive de carbonate de calcium (CaCO₃) sous forme d'aragonite sécrétée par les organismes calcifiants tels que les coraux scléactiniaires, et les algues corallines qui représentent les principaux bio-constructeurs des récifs coralliens (Goreau, 1963).

La majorité des récifs coralliens (>60%) sont pourtant directement impactés par des actions locales de l'homme, notamment proche des zones les plus peuplées, comme la surpêche, le développement côtier, la pollution et la destruction physique. Si l'on combine les effets des stress associés à l'augmentation de la température moyenne globale, 75% des récifs mondiaux apparaissent menacés, dont la menace principale est le blanchissement massif des coraux, qui devrait toucher sévèrement 95% des récifs mondiaux d'ici 2050 (Burke et al., 2011). Ainsi le pourcentage de récifs coralliens considérés à risque a augmenté de 30% en 10 ans avec une augmentation à la fois au niveau local et au niveau global dans toutes les régions du monde. Les récifs coralliens du Moyen Orient et l'Atlantique sont ceux les plus à risques. Les rejets incessants de dioxyde de carbone (CO₂) dans l'atmosphère sont responsables du réchauffement climatique, avec une augmentation des températures de presque 1°C depuis les années 1880 jusqu'à nos jours, mais aussi de l'acidification des océans à cause de l'augmentation des concentrations en CO₂ absorbés par les océans. L'augmentation de la température de l'eau de mer et l'acidification des océans sont les premières causes responsables, respectivement, d'épisodes de blanchissements massifs et d'altération de la croissance du squelette corallien (diminution de la zone de saturation de l'aragonite) des récifs coralliens au niveau global (Anthony et al., 2008; Burke et al., 2011; IPCC, 2014). De plus, bien que plus de 70% des récifs coralliens soient en dehors d'aires marines protégées, seulement 6% des aires marines protégées sont considérées comme efficaces. En considérant

l'étendue et la sévérité des impacts que subissent les récifs coralliens aujourd'hui, des actions doivent être menées afin de protéger les récifs coralliens notamment par la mise en place de nouvelles méthodes de gestion au niveau local, mais aussi en travaillant sur les potentialités d'augmenter la résilience des récifs coralliens (Burke et al., 2011).

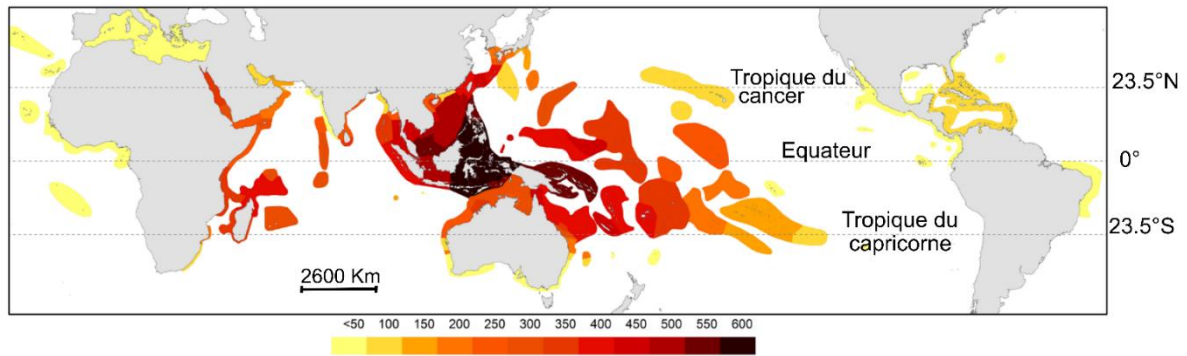


Figure 1. Les récifs coralliens mondiaux en nombre d'espèces modifié de Veron et al., (2015).

I.1 Biologie

Les coraux scléactiniaires modernes sont apparus pendant le trias entre 200 et 250 millions d'années et ont connu une radiation évolutive pendant le cénozoïque à l'époque du paléocène il y a 65 millions d'années (Veron, 2013). Les coraux scléactiniaires sont des animaux de l'embranchement des cnidaires hexacoralliaires, comportant une symétrie radiaire d'ordre 6. Animaux majoritairement coloniaux, tous les coraux scléactiniaires, ont une unité fonctionnelle commune qui est le polype. Ce sont des organismes diploblastiques, ne comportant que 2 feuillet cellulaires, l'ectoderme et l'endoderme, séparé par une mésoglée, non cellulaire.

L'ectoderme, en contact avec le milieu extérieur, possède des cellules spécialisées communes à tous les cnidaires, notamment les cnidocytes, pour la capture de proies (Mariscal and McLean, 1976) mais aussi des mucocytes, qui possèdent potentiellement de nombreux rôles. La production de mucus (matrices de protéines et de polysaccharides) pourrait être notamment favorable à la colonisation par les micro-organismes, l'hétérotrophie ou les défenses physico-chimiques (Fransolet et al., 2013; Piggot et al., 2009). L'ectoderme en contact avec le substrat est constitué de cellules calicoblastiques spécialisées dans la formation du squelette calcaire. La matrice extracellulaire séparant les deux feuillet

cellulaires, la mésoglée est notamment reliée à la production de cellules germinales (Shikina et al., 2012). L'endoderme (gastroderme) contient notamment les symbiotes.

I.2 Symbiose

Les coraux scléactiniaires vivent en symbiose avec une algue microscopique appelée *Symbiodinium*, qui leur fournissent en 48h, entre 78% et 97% du carbone que les algues ont fixé (Muscatine et al., 1984; Tremblay et al., 2012). La symbiose entre le corail hôte et les *Symbiodinium* est de type mutualiste, le corail hôte et les algues bénéficient tous deux de cette symbiose. Si les *Symbiodinium* au travers de la photosynthèse procurent au corail hôte de la matière organique (glycérol, glucose), des acides aminés et des lipides, les *Symbiodinium* localisées dans une membrane, appelée symbiosome dans l'endoderme, bénéficient d'une protection physique de l'hôte et de nutriments inorganiques (CO_2 , NH_3 , PO_4^{3-}). Plus spécifiquement, le rôle de l'azote semble jouer un rôle particulièrement important dans le développement des *Symbiodinium*, dont la disponibilité pourrait, en partie, être influencée par des bactéries diazotrophes, qui sont capables de fixer le diazote (Rädecker et al., 2015; Yellowlees et al., 2008). Les *Symbiodinium* sont subdivisées en 9 clades (A-I), puis en sous-clade et types (Pochon et al., 2014). Chaque clade a des propriétés éco-physiologiques qui lui sont propres. Par exemple, certaines clades comme le clade D et C sont plus résistantes à l'augmentation de la température (plus grande activité antioxydante des superoxydes dismutases) que les clades A et B (Lesser, 2011). Au contraire, la présence de certains clades (A) dans les coraux augmente la sensibilité des coraux aux infections virales (Rouzé et al., 2016).

Si pendant longtemps la symbiose du corail était centrée sur le corail hôte et les *Symbiodinium*, aujourd'hui d'autres organismes ont été intégrés, comme éléments inhérents au fonctionnement de l'organisme corail, comme les bactéries, les archées, les virus et les champignons. On parle alors des coraux comme d'un holobionte, un organisme hôte qui vit en symbiose avec divers autres organismes microscopiques (*Symbiodinium*, virus, bactérie, (Ainsworth et al., 2015; Ainsworth et Gates, 2016; Zilber-Rosenberg et Rosenberg, 2008).

La symbiose entre les *Symbiodinium* et les coraux est indispensable à la survie des coraux, mais malheureusement elle est aussi fragile aux modifications environnementales et peut être rompue lorsque les conditions de températures sont anormalement élevées pendant plusieurs jours, et associées à des épisodes d'intensité lumineuse importante. Ces épisodes de températures anormalement élevées induisent la production de radicaux libres de l'oxygène au

niveau intracellulaire et conduisent à l'expulsion du symbiote algal. Le corail perd ainsi sa couleur, et des tissus coralliens transparents sont observés sur le squelette calcaire : c'est le blanchissement corallien (Glynn, 1983; Lesser, 2011, 1997).

I.3 Blanchissement

Le blanchissement des coraux est un des problèmes majeurs pesant sur les récifs coralliens depuis sa découverte dans les années 1980 (Glynn, 1983), et ceci est d'autant plus vrai aujourd'hui en raison de l'augmentation de leur fréquence (T.P. Hughes et al., 2017; Terry P. Hughes et al., 2017). Depuis sa découverte, des travaux ont cherché à identifier les causes et les conséquences de ce processus. Si les causes semblent être relativement connues aujourd'hui, avec notamment l'augmentation en radicaux libres de l'oxygène (e.g. O_2^- , H_2O_2 , OH^-), la diminution de l'activité des photosystèmes 2 (PSII) et de la Rubisco ainsi que l'exocytose des *Symbiodinium* (Lesser, 2011), les conséquences du blanchissement corallien sont diverses en fonction de l'intensité et durée du stress de température/lumière. Dans les cas extrêmes, le blanchissement peut conduire à la mort du corail, en revanche si les conditions redeviennent normales assez rapidement, la ré-assimilation des symbiotes par les coraux est possible. Les modifications des communautés de *Symbiodinium* sont possibles au travers de changement (« switching ») ou de remaniement (« shuffling ») des populations de symbiotes (Baker, 2003). Les coraux ont donc au travers de leur symbiose avec les *Symbiodinium* un potentiel d'acclimatation et d'adaptation (Baker, 2001; Baker et al., 2004; Buddemeier et al., 2004). Les modifications de température et de lumière ne sont pas les seuls facteurs entraînant des phénomènes de blanchissement, l'exposition des coraux aux pesticides, à l'acidification, à un déficit en phosphate ou encore à des molécules chimiques contenues dans les crèmes solaires génèrent aussi une rupture de la symbiose corallienne (Anthony et al., 2008; Danovaro et al., 2008; Jones et al., 2003; Rosset et al., 2017). Néanmoins le duo de forte température et de forte irradiance apparaît comme le seul à avoir entraîné des épisodes massifs de blanchissement à travers le monde (comme celui décrit en 1998). C'est donc dans ce contexte que le réchauffement global de la planète apparaît comme inquiétant pour le devenir des coraux et des écosystèmes coralliens mondiaux.

Le blanchissement corallien a un impact visuel important de par les vastes étendues de coraux blanchis visibles sous l'eau mais aussi depuis la surface, et a suscité un intérêt grandissant dans la communauté scientifique depuis sa découverte. De nombreuses études ont été réalisées sur les effets de l'augmentation de la température sur les coraux, et force est de constater que la grande majorité des études s'est focalisée sur la réponse des stades adultes à

l'augmentation de la température, au détriment des autres stades de vie pélagiques et benthiques. Les modifications environnementales liées au réchauffement climatique affectent tout le cycle de vie des coraux, des gamètes aux stades adultes, et impactent leur capacité à se reproduire de manière asexuée et sexuée.

II. La reproduction sexuée et asexuée

Le cycle de vie des coraux scléactiniaires est benthopélagique (Figure 2), c'est-à-dire qu'il comporte deux grandes phases qui sont la phase fixée (benthique) et la phase de vie libre (pélagique) pouvant permettre un déplacement sur de grandes distances (Harrison and Wallace, 1990).

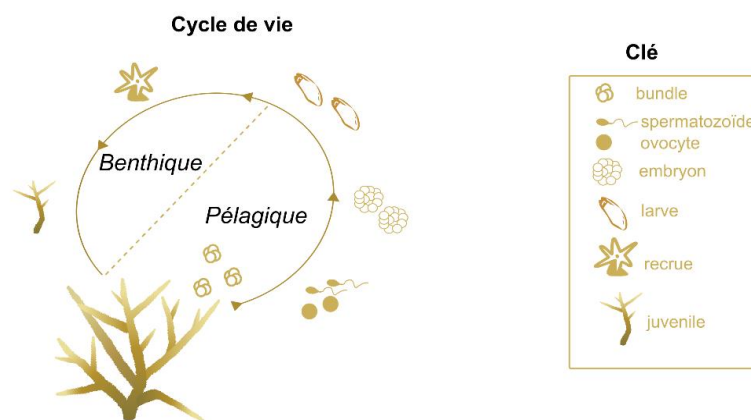


Figure 2 : Cycle de vie benthopélagique des coraux scléactiniaires

Les coraux se reproduisent de deux manières différentes : (1) la reproduction sexuée, qui *via* la formation de gamètes mâles et femelles conduit à la création d'un nouvel individu génétiquement différent des parents, et (2) la reproduction asexuée qui va notamment permettre à la colonie de grandir par clonage. Chez les coraux, il existe une grande diversité de stratégies de reproduction sexuée et asexuée.

II.1 La reproduction sexuée

La reproduction sexuée chez les coraux est de deux grands types, les « broadcaster-spawner » (ou émetteurs de gamètes) et les « brooders » (ou couveurs de larves). Les premiers vont émettre dans la colonne d'eau leurs gamètes mâles et femelles et la fécondation sera externe, alors que les coraux couveurs de larves ont une fécondation interne et ils expulsent des larves prêtes à se métamorphoser en un nouveau polype.

Bien qu'il soit admis aujourd'hui que la majorité des coraux sont des émetteurs de gamètes (75%), on a longtemps cru (jusque dans les années 1980) que la majorité des coraux étaient des couveurs de larves (Harrison, 2011). En effet ce n'est qu'en 1984 que fut publiée la découverte des pontes massives (nombreuses espèces en même temps) des coraux émetteurs de gamètes sur la grande barrière de corail en Australie (Harrison et al., 1984). Des découvertes récentes continuent d'alimenter nos connaissances sur la grande diversité des stratégies de pontes de coraux bien plus importante que ce que l'on avait pensé, avec par exemple l'existence de cycles pluriannuels (Foster et al., 2018) ou encore l'importance de pontes asynchrones, plaçant le cas de la grande barrière de corail et sa synchronicité exceptionnelle comme un cas particulier et non général comme longtemps perçu.

Les coraux émetteurs de gamètes peuvent être classés en deux grandes catégories : les coraux hermaphrodites (majoritaires, simultanés ou séquentiels) et les coraux gonochoriques (sexe séparé). Néanmoins cette discrimination en deux catégories apparaît variable en fonction des espèces, mais aussi des zones géographiques analysées. Ainsi, une même espèce de corail peut présenter différents modes de reproduction selon la zone géographique étudiée. C'est le cas de l'espèce *Monomyces rubrum* présentant un mode de reproduction hermaphrodite en Afrique du Sud et gonochorique en Nouvelle-Zélande. De manière plus complexe certaines colonies peuvent présenter des polypes hermaphrodites et d'autres seulement femelles, comme chez *Porites astreoides* (Harrison, 2011). Certains coraux peuvent aussi présenter un hermaphrodisme séquentiel, c'est-à-dire que les coraux seront toujours d'un seul sexe, mais celui-ci peut varier en fonction du temps comme chez *Heliofungia actiniformis* et *Fungia scutaria* et de manière très dynamique, puisqu'un individu peut passer d'un sexe à l'autre plusieurs fois dans sa vie (Harrison, 2011).

Les espèces appartenant à un genre corallien n'ont pas forcément le même mode de reproduction sexuée, et une même espèce en fonction de sa localisation peut présenter des modes de reproduction différents (couveur de larves vs émetteur de gamètes). C'est notamment le cas de l'espèce *Pocillopora damicornis* généralement considérée comme couveuse de larves dans de nombreuses régions (e.g. la grande barrière de corail en Australie, Hawaii, Japon), mais qui a été observée émettre des gamètes dans l'Est du Pacifique et notamment dans le golf de Californie (Harrison, 2011).

Chez tous les coraux néanmoins lors de la reproduction sexuée, les gamètes se forment dans les filaments mésentériques au sein de la mésoglée (Shikina et al., 2012). La formation des

spermatozoïdes est généralement plus tardive et sur une durée plus courte (2-6 mois) que la production des ovocytes (6-12 mois), mais les gamètes peuvent aussi se former simultanément (Harrison, 2011; Shikina et al., 2012; Wallace, 1985). A la fin de la maturation des gamètes, les ovocytes peuvent prendre de très nombreuses couleurs (e.g. orange, rose, bleu, violet, marron, blanc), potentiellement dues à la présence de pigments et ou de *Symbiodinium* présents directement dans les ovocytes (Babcock et al., 1986; Padilla-Gamiño et al., 2013). Les gamètes sont ensuite expulsés sous la forme d'un «bundle» (terme anglais), un agrégat de spermatozoïdes et d'ovocytes chez les individus hermaphrodites et sous forme seule (spermatozoïdes ou ovocytes) chez les individus gonochoriques. Les ovocytes étant constitués majoritairement de lipides sous forme d'ester d'acide gras, ils flottent à la surface une fois libérés (Padilla-Gamiño et al., 2013). La fécondation et le développement embryonnaire s'effectuent principalement à la surface de l'eau chez les coraux émetteurs de gamètes. Après environ 72 h de développement embryonnaire (Figure 3) une larve nageante est formée, qui va alors chercher activement un endroit où s'installer, s'ensuivra la phase de métamorphose et de recrutement.

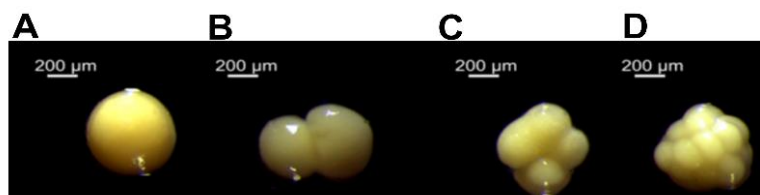


Figure 3: Développement embryonnaire chez *Acropora pulchra* d'un ovocyte non fécondé (A), au stade 2 cellules (B), 4 cellules (C) et > 4 cellules (D), modifié de Puisay et al., (2015).

Une fois fixée sur un substrat, la larve va s'aplatir et former un premier polype qui va ensuite se multiplier par reproduction asexuée. Chez les couveurs de larves en revanche, la fécondation se réalise au sein du polype et est ainsi beaucoup plus complexe à observer. Il apparaît ainsi que la fécondation et le développement embryonnaire peuvent avoir lieu soit au sein des filaments mésentériques contenant les ovocytes, soit au sein du cœlentéron (Harrison et Wallace, 1990). La formation de la larve dans les coraux couveurs est généralement plus longue (de quelques semaines à plusieurs mois) que chez les coraux émetteurs de gamètes (72h).

La dynamique de ponte des coraux a été étudiée notamment sur la grande barrière de corail en Australie. A cette localisation, plus de 40 espèces peuvent se reproduire spécifiquement entre le 3^{ème} et le 6^{ème} jour après la pleine lune entre la fin du printemps et le début de l'été. Néanmoins des observations de ponte de certains coraux ont été documentées avec une

dynamique différente sur plusieurs cycles lunaires ou sur différents cycles lunaires en fonction des espèces. Ainsi dans certaines régions du monde, il n'existe pas de pontes massives (e.g. Israël, Japon, Taiwan, Polynésie française, Singapour, Thaïlande, Indonésie, Fiji, Carroll et al., 2006; Harrison, 2011), mais des pontes asynchrones étendues sur plusieurs mois ont lieu. Malgré des dynamiques de pontes différentes (asynchronie *vs* synchronie), de manière générale chaque espèce corallienne n'émet des gamètes que quelques nuits par an, et dans quelques cas durant deux à trois mois consécutifs (Padilla-Gamiño and Gates, 2012). La rareté des événements des pontes associée à la variabilité géographique des stratégies et dynamique de ponte rend difficile l'étude des jeunes de stades de vie des coraux et explique notamment le peu d'études se focalisant sur ces stades de vie.

II.2 La reproduction asexuée

▪ Le bourgeonnement

La reproduction asexuée englobe chez les coraux de nombreux processus physiologiques qui permettent une multiplication au sein de l'organisme, par mitose sans avoir recours à la production de cellules sexuelles. La reproduction asexuée permet notamment la croissance du corail *via* la formation d'un nouvel individu génétiquement identique par clonage, on parle alors de bourgeonnement. Ce bourgeonnement est de deux types : (1) intra-tentaculaire par division d'un polype en deux et (2) extra-tentaculaire où un nouveau polype peut apparaître entre deux polypes déjà existants (Richmond, 1997). Au travers du bourgeonnement intra et/ou extra-tentaculaire, le corail grandit par l'addition de nouveaux polypes (Figure 4).

D'autres modes de bourgeonnement permettent à la colonie corallienne de se multiplier, comme le bourgeonnement parricide (même si le corail ne meure pas complètement, Cairns, 1988), où un ou deux bourgeonnement(s) peuvent se développer sur un polype mère, qui laisse alors sa place (« parricide ») aux nouveaux bourgeons. Plusieurs dizaines de polypes peuvent aussi se détacher de la colonie en emportant avec eux des inclusions calcifiées, on parle de boules de polypes « polyp balls ». Ce type de bourgeonnement est rare et à ma connaissance, observé uniquement chez une seule espèce (*Goniopora stokesi*, Cairns, 1988; Rosen and Taylor, 1969). Un autre mode de reproduction asexué est la formation de bourgeons *via* la formation d'un anthoblaste, qui va s'ériger sur le corail solitaire ou « quasi-colonial » de manière transversale et qui va ensuite bourgeonner, pour donner un clone.

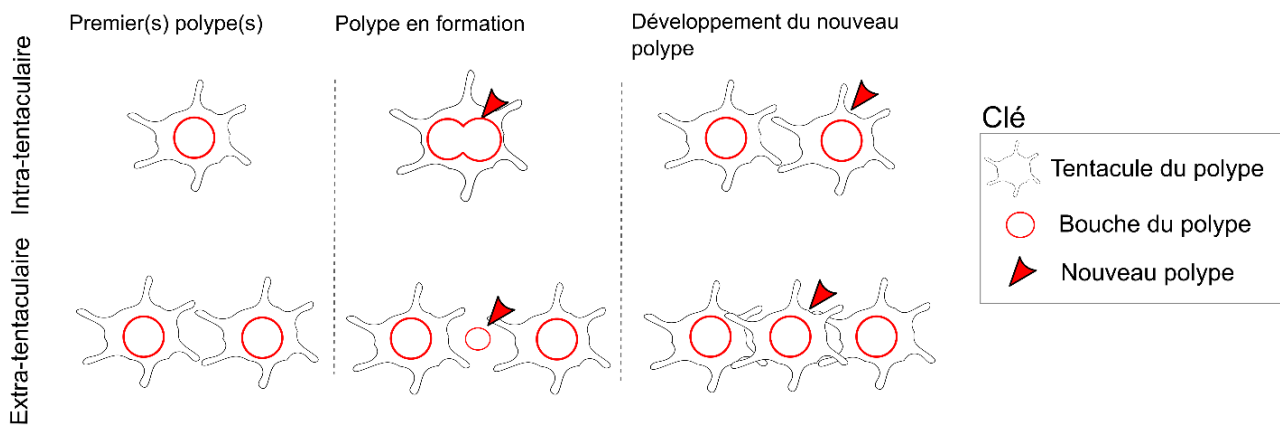


Figure 4 : Les différents types de bourgeonnement d'un corail scléactiniaire, lors de la reproduction asexuée.

- La fragmentation

Un autre mode de reproduction asexuée est la fragmentation ou « fission » (Highsmith, 1982), qui a lieu lorsqu'une partie d'une colonie est détachée ou fragmentée et peut *via* le bourgeonnement redonner naissance à une nouvelle colonie, si ses nouvelles conditions de vie le lui permettent. Une colonie corallienne peut ainsi être fragmentée de manière accidentelle suite à l'action physique des vagues ou d'autres mécanismes produisant un impact physique (poissons, piétinement, mortalité partielle). Mais une fragmentation non-accidentelle existe aussi notamment chez certains coraux solitaires, qui sont génétiquement programmés afin de se diviser longitudinalement sur des points aléatoires ou prédéterminés, divisant le corail en six (Cairns, 1988).

- Le polype « bail-out »

Les coraux étant pendant une grande partie de leur cycle de vie des animaux benthiques, ils ont su développer diverses capacités afin d'échapper au stress. Un des modes de reproduction asexuée, qui suit la mortalité partielle d'une colonie et qui a été plus récemment découvert est le sauvetage de polypes ou « polyp bail-out » en anglais (Sammarco, 1982). Lors du polype « bail-out », un polype est éjecté de la colonie mère après lyse du tissu connectif le reliant aux autres polypes suite à un stress. Ceci a notamment été observé chez *Pocillopora damicornis* en présence de pesticides (Wecker et al., 2018).

- Les larves asexuées

Enfin, la reproduction asexuée peut dans certains cas se rapprocher de la reproduction sexuée, comme lors de la formation de larves asexuées *via* la parthénogénèse (Stoddart, 1983). En effet des coraux comme *Pocillopora damicornis* peuvent produire jusqu'à 94% de larves asexuées (Combosch and Vollmer, 2013). Il est donc très intéressant de noter ici que la formation d'une larve n'est pas exclusive à la méiose chez les coraux, et qu'un développement complet et viable peut mener un ovocyte à terme sans intervention de spermatozoïdes (Diah Permata et al., 2000). Ces observations confirment la grande variabilité des stratégies de reproduction du corail *Pocillopora damicornis*, capable de produire des larves de manière sexuée mais aussi asexuée. Ce mode de reproduction est connu chez de rares espèces (*Pocillopora damicornis*, *Tubastrea sp*) et la parthénogénèse est très peu étudiée chez les coraux. Néanmoins les larves parthénogénétiques pourraient provenir d'ovocytes diploïdes, ou haploïdes, où les spermatozoïdes interviendraient seulement dans la stimulation de l'embryogénèse, sans incorporer leur génome. Néanmoins après stimulation des noyaux, certains spermatozoïdes pourraient ne pas se dégrader complètement et leurs génomes s'intégrer à l'ovocyte conduisant à une majorité de larves parthénogénétiques et peu de larves avec des génotypes peu ou modérément diversifiés, comme observé à Moorea chez *P. damicornis* (Combosch and Vollmer, 2013).

Les modes de reproduction asexués peuvent donc à la fois être issus d'un processus génétiquement contrôlé, mais aussi environnemental et très certainement issue d'un couplage génétique-environnement. Bien que la reproduction sexuée permette un brassage génétique lors de la fécondation, la reproduction asexuée joue un rôle important dans le maintien des populations de coraux scléactiniaires. Dans un contexte des changements globaux (IPCC, 2014) et d'extinction de masses des populations naturelles (Barnosky et al., 2011), il apparaît ainsi important de considérer le rôle de la reproduction sexuée et asexuée dans la conservation et la restauration des écosystèmes (Harris et al., 2006; Rice and Emery, 2003).

II.3 La reproduction sexuée et asexuée face au réchauffement climatique

Le changement climatique (IPCC, 2014) impacte les écosystèmes et les espèces, notamment les récifs coralliens en altérant l'abondance et la distribution de milliers d'espèces (Parmesan et Yohe, 2003). En tant qu'organismes benthiques, les coraux ont des moyens de dispersions limités. Ainsi, la dispersion sur de grandes distances est essentiellement assurée pendant la phase de reproduction sexuée, ou de l'émission de larves asexuées. Néanmoins, les

changements globaux (l'augmentation de la température et l'acidification des océans) et locaux (pollution chimique, eutrophisation, sédimentation) altèrent de manière néfaste la reproduction sexuée, en diminuant le succès de fécondation des gamètes (Albright, 2011; Puisay et al., 2015; Randall et Szmant, 2009; Reichelt-Brushett et Michalek-Wagner, 2005; Schutter et al., 2015), la survie des larves (Polato et al., 2010; Schnitzler et al., 2012), leur recrutement (Bassim et Sammarco, 2003; Nozawa and Harrison, 2007; Randall et Szmant, 2009), mais aussi la survie des jeunes recrues (Nozawa and Harrison, 2007). Au travers des diverses études réalisées et en considérant les scénarios environnementaux auxquels les jeunes stades de vie des coraux sont et seront exposés, l'augmentation de la température apparaît comme le facteur le plus limitant pour la survie des coraux.

Les changements de la planète affectent la reproduction sexuée des coraux et de ce fait le renouvellement et la persistance des communautés coralliennes, mais ils ont aussi des effets néfastes sur la reproduction asexuée. En effet si de légères augmentations de la température ont pour effet d'augmenter le métabolisme des organismes, et notamment d'accélérer la croissance des coraux, dans des conditions thermiques plus contraignantes, la croissance est inhibée (Jokiel and Coles, 1990, 1977; Manzello et al., 2015; Rodolfo-Metalpa et al., 2008). L'influence des conditions environnementales sur la croissance des coraux est variable en fonction des espèces considérées et de leurs fonctions associées (Darling et al., 2012). Bien que l'acidification des océans semble moins influencer la mortalité des coraux, elle conduit chez certaines espèces à une diminution nette de la calcification pour les organismes calcifiant à l'échelle d'un récif entier (Albright et al., 2018). Dans des cas extrêmes comme chez *Oculina patagonica*, une dissolution complète du squelette a été observée, sans conduire à la mort de l'organisme, qui peut recommencer à calcifier une fois les conditions environnementales redevenues normales (Fine and Tchernov, 2007).

La reproduction sexuée et asexuée des coraux est donc sensible aux perturbations environnementales de notre planète, mais elle peut aussi être une source de solution face à la dégradation des récifs coralliens à travers le monde.

III. Méthodes de restaurations des récifs coralliens

Face aux perturbations incessantes qui pèsent sur les récifs coralliens et la dégradation inquiétante de ces écosystèmes vitaux, la restauration a reçu un intérêt grandissant ces dernières années. La restauration écologique peut se définir comme le processus de réparer les

dommages causés par les humains au niveau de la diversité et de la dynamique des écosystèmes indigènes (Jackson et al., 1995).

La restauration des récifs coralliens existe depuis le milieu des années 1970, avec un des premiers rapports émis sur l'utilisation de ce mécanisme par Maragos en 1974, puis par Birkeland en 1979 (Harriott and Fisk, 1988). Initialement basée sur un des modes de reproduction asexuée appelé plus communément « bouturage », un effort important a été dédié ces dix dernières années à l'incorporation de la reproduction sexuée dans la restauration récifale, notamment en raison des milliers de larves disponibles suite à une nuit de ponte (Epstein et al., 2003, 2001; Rinkevich, 1995). Le développement des méthodes de restauration s'est donc fait en parallèle de l'augmentation de nos connaissances sur la biologie de la reproduction des coraux scléactiniaires.

III.1 Restauration et reproduction asexuée

La possibilité de fragmenter une branche de corail de quelques centimètres d'une colonie mère et de le faire grandir dans une pépinière a donné lieu à d'importants efforts pour développer différents systèmes de stabilisation des fragments de coraux ainsi générés (Figure 5): Récifs en boules « Reef balls », clous et vis, blocs de parpaings, collier de serrage, colle marine et ciments, cadres en plastique ou en métal, portoir flottant, lignes et cordes, squelettes coralliens, fixation direct dans le substrat « coincé dans le substrat » (Young et al., 2012).

Ces techniques variées, comme la culture sur lignes ou cadres flottants ou fixés au sol ont donné des résultats intéressants avec dans certains cas plus de 90% de survie sur une période de 6 mois (Edwards and Gomez, 2007). Ces techniques ont ainsi permis de faire grandir différentes espèces de coraux rapidement afin de pouvoir les réimplanter dans des zones dégradées (Harriott and Fisk, 1988) ou dans des zones refuges afin de préserver certaines espèces (Plucer-Rosario et Randall, 1987). Ces opérations de transplantations de coraux ont été utilisées dans de nombreux récifs coralliens autour de la planète, notamment : Bora Bora, Tanzanie, La Réunion, Mayotte, Fiji, Nouvelle Calédonie, Thaïlande, Japon, Bonaire, Curaçao (Antilles hollandaises), îles vierges (Royaume-Uni), îles Marieta (Mexique), Singapour (Bongiorni et al., 2011; Edwards and Gomez, 2007; Forrester et al., 2013; Mbije et al., 2013; Meesters et al., 2015; Nagelkerken et al., 2000; Omori, 2011; Ramalho-Santos et al., 2009; Tortolero-Langarica et al., 2014; Yeemin et al., 2006).

Très peu d'études en revanche se sont intéressées aux approches à mener pour sélectionner les meilleurs génotypes, alors que ce genre d'approche est plus commune sur d'autres modèles

biologiques comme les plantes, notamment grâce à la mise en place de jardin commun (« common garden ») ou de transplantations réciproques (Bruno and Edmunds, 1997; Potts, 1984; Smith et al., 2007). Néanmoins les quelques travaux utilisant ces approches révèlent des résultats très intéressants. Tout d'abord en 1984, Potts montre chez le corail *Acropora palifera* que l'environnement peut induire une sélection plus forte sur les phénotypes que l'identité génétique de l'individu. Il émet alors l'hypothèse que toutes les espèces de coraux doivent posséder des variations importantes dans la réponse des différents génotypes qui les composent (Potts, 1984). Bruno et Edmunds (1997), *via* une transplantation réciproque, ont aussi montré la forte plasticité de la morphologie de *Madracis mirabilis*. Néanmoins aucune différence de survie et croissance n'a été observée, probablement en raison de la courte durée de l'expérience (3 mois) pour appréhender de tels traits d'histoire de vie. En revanche, une étude menée sur du plus long terme (6 mois) a mis en avant l'importante plasticité phénotypique de la croissance, mais aussi de la calcification et de la densité du squelette du corail *Porites lobata* (Smith et al, 2007). Cette plasticité s'expliquerait notamment par la possibilité pour les coraux au stade de nouvelles recrues de grandir dans la forme et à la vitesse la plus propice à l'environnement (Smith et al., 2007). Néanmoins cette plasticité peut varier en fonction des espèces. Les travaux de Smith et al. (2008) réalisés sur une période de 18 mois et cherchant à déterminer l'importance de l'environnement et de la génétique sur la capacité de croissance des coraux *Pocillopora eydouxi* et *Porites lobata* ont révélé que l'environnement conditionnait le taux de croissance de *P. eydouxi* mais pas celui de *P. lobata*.

La plasticité des coraux s'explique aussi en raison de la plasticité des *Symbiodinium* aux modifications environnementales. Un changement de clades de symbiotes d'un type peu thermo-tolérant (clade C2) vers un type plus thermo-tolérant (clade D) a été mise en évidence chez le corail *Acropora millepora*, suite à la transplantation des coraux dans un environnement plus chaud (Berkelmans and van Oppen, 2006).

Les travaux menés jusqu'à présent ont permis de documenter l'importante plasticité au niveau de différents traits d'histoires de vie des coraux (croissance, survie, symbiose). Cependant, nos connaissances au niveau de la variabilité et de la plasticité des individus et non plus des espèces restent largement inexplorées. Des études ont pourtant révélées ces dernières années l'importance de la prise en compte de la variabilité individuelle dans la réponse des coraux face aux variations environnementales (Parkinson et al., 2015; Parkinson and Baums, 2014), mais peu de travaux ont cherché à mettre en évidence des variations fonctionnelles au niveau des individus. Comme certains traits fonctionnels (e.g. croissance, symbiose) sont plastiques

chez les coraux, il apparaît important de pouvoir tester la variabilité de ces traits à la fois au niveau interspécifique mais aussi intraspécifique chez des espèces comportant des stratégies d'histoires de vie différente (*Acropora*, *Pocillopora*, *Porites*). L'identification de fonctions permettant une meilleure survie dans des environnements variables pourrait ainsi permettre de sélectionner les individus les plus aptes à vivre dans des conditions changeantes, afin de restaurer des zones dégradées, tout prenant en compte le changement climatique.



Figure 5 : Différentes méthodes de cultures des coraux. Arbre à corail (A), ligne et corde de suspension (B), récif boule (C), cadre métallique (D).

III.2 Restauration et reproduction sexuée

Si la reproduction sexuée apparaît comme une des solutions sur laquelle de nombreuses équipes scientifiques travaillent pour proposer des solutions aux problèmes de dégradations des coraux à travers le monde, l'élevage à grandes échelles de larves coralliennes demeure encore aujourd'hui un défi technique et seuls quelques experts ont montré un succès dans les approches entreprises.

En effet, en principe deux méthodes sont principalement expérimentées : (1) la transplantation de colonies prêtes à se reproduire (notamment des colonies couveuses de larves) sur le site à restaurer et (2) la récupération de pontes massives dans la nature ou dans des bassins expérimentaux (Rinkevich, 1995). Néanmoins l'étude de Ferse et al. (2013) a montré que la transplantation de coraux matures, prêts à émettre leurs larves, n'avait pas d'effet significatif sur le nombre de recrues observées par la suite (Ferse et al., 2013). De plus la transplantation de colonies matures présente le désavantage de dépeupler une zone pour repeupler une autre, dans laquelle la survie future des larves puis des colonies n'est pas forcément assurée.

Ainsi la méthode la plus courante utilisée dans un contexte de restauration sur la reproduction sexuée à l'heure actuelle est la récupération des gamètes expulsés dans la colonne d'eau, leur élevage jusqu'au stade larvaire dans des systèmes spécifiques avec une faible agitation afin d'optimiser le taux de développement embryonnaire et larvaire, et le réensemencement de zones à restaurer. Cette méthode permet *in fine* et dans les conditions optimales d'obtenir des milliers de larves, mais la phase d'élevage n'est pas sans risque et des conditions spécifiques d'élevages existent pour chaque espèce corallienne. Une fois les embryons élevés au stade de larves nageantes, deux options se présentent : soit les larves sont injectées dans un filet attaché sur le site à restaurer (Dela Cruz et Harrison, 2017), soit les larves sont mises en contact de supports spécifiques pour faciliter leur recrutement qui sont par la suite fixés sur le site à restaurer. De nombreux travaux se sont intéressés aux types de supports de fixation optimaux pour le recrutement et le post-recrutement des larves (terre cuite, calcite, corail mort), et les travaux de Chamberland et al. (2015) ont dévoilé des résultats très positifs *via* un support en forme de croix. Bien que pour l'instant ces supports aient seulement été testés à Curaçao pour le corail *Acropora palmata*, ils présentent l'avantage indéniable de pouvoir être remis directement *in situ* sans nécessiter d'attache spécifique, leur forme en croix permettant une insertion et un blocage naturel dans la complexité de la structure récifale. Le type de support n'est pas le seul facteur pouvant favoriser le recrutement des coraux et de nombreux travaux aujourd'hui démontrent l'importance de certaines espèces d'algues encroûtantes dans

la métamorphose des coraux. En effet, l'espèce *Titanoderma prototypum* apparaît comme l'algue coralline la plus attractive pour les larves de coraux, induisant un recrutement 15 fois supérieur par rapport à d'autres algues corallines (*Neogoniolithon fosliei*). Un nombre grandissant d'études s'intéressent ainsi à cette attraction spécifique de certains algues corallines vis-à-vis des larves coralliennes pour essayer de comprendre les mécanismes biologiques à l'initiative de cette hausse du recrutement, pour *in fine* pouvoir, par exemple synthétiser la molécule active ou reproduire le biofilm bactérien attirant les larves. Les jeunes recrues âgées de plusieurs semaines sont ensuite généralement réintroduites dans l'environnement (Figure 6).

L'élevage *ex situ* des larves, leurs métamorphoses et leurs phases de post-recrutement dans des aquariums sont des phases coûteuses en temps (financier et humain), ainsi pour limiter ces phases d'élevage *ex-situ*, le Dr P. Harrison a récemment mis au point un système permettant d'emprisonner les larves pendant 3 jours sur le site à restaurer, ce qui limite la phase d'élevage et de production de larves (Dela Cruz and Harrison, 2017) . Ces travaux ont montré des résultats extrêmement encourageants et sont aujourd'hui très prometteurs pour l'utilisation de la reproduction sexuée à des fins de restauration à grandes échelles.

La reproduction sexuée des coraux suscite un attrait grandissant ces dernières années, notamment en raison de son implication et son rôle positif dans les actions de restauration récifale. Néanmoins la reproduction sexuée, tout comme la reproduction asexuée sont aussi mis en péril par les perturbations environnementales et les jeunes stades de vie des coraux apparaissent particulièrement sensibles aux changements environnementaux. Il semble ainsi intéressant pour que la reproduction sexuée ait une contribution positive aux actions de restauration futures, que les jeunes stades de vie élevés et transplantés soient capables de résister aux modifications environnementales futures. Des travaux menés sur les coraux adultes ont démontré la capacité des coraux à s'acclimater à des épisodes de stress thermiques soit lors d'un préconditionnement (Bellantuono et al., 2012) soit lors d'expositions successives à des épisodes de blanchissement (Maynard et al., 2008; Penin et al., 2013). En comparaison peu d'études se sont intéressées à la réponse des stades de vie pélagique des coraux (gamètes, embryons, larves, (Puisay et al., 2018), (Bassim et al., 2002; Randall and Szmant, 2009), (Edmunds et al., 2001; Woolsey et al., 2015) et notre compréhension de la capacité d'acclimatation des jeunes stades de vie des coraux est encore largement disparate (Moya et al., 2015; Puisay et al., 2018; Putnam and Gates, 2015). Les travaux de Moya et al. (2015) ont dévoilé la possibilité d'acclimatation des coraux dès les plus jeunes stades de vie à

de faibles variations d'acidification de l'océan. Ainsi s'il est possible d'augmenter la capacité de stades de vie pélagiques des coraux à s'acclimater à des environnements plus stressants, une phase d'acclimatation des jeunes de stades de vie en amont de la phase de restauration permettrait d'augmenter le nombre d'individus génétiquement diversifié et potentiellement plus résistant aux changements environnementaux.

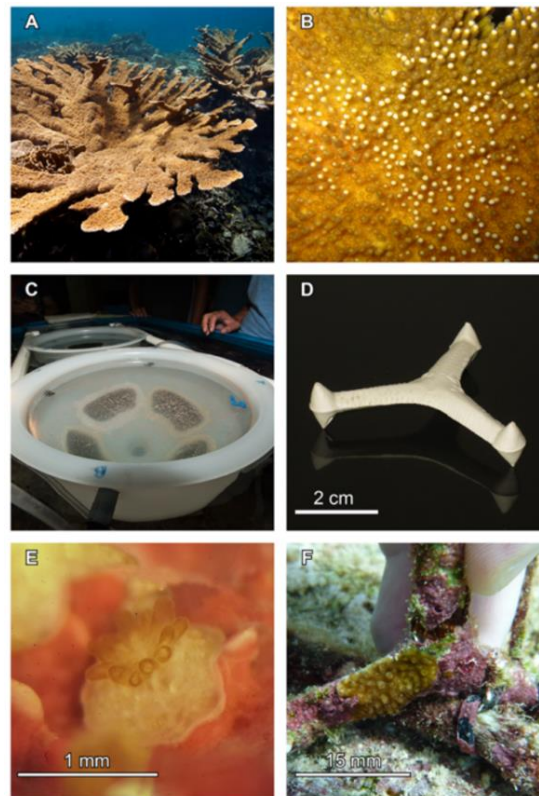


Figure 6 : Les différentes étapes de cultures de coraux par reproduction sexuée, modifié de Chamberland et al., (2015). Colonie d'*Acropora palmata* (A), agrégats de gamètes prêts à être expulsés (B), système d'élevage de larves (C), tripode pour le recrutement larvaire (D), recrue (E), jeunes colonies coralliennes (F).

La restauration récifale est basée sur l'implantation de coraux sur des zones dégradées *via* la reproduction sexuée et/ou asexuée. Or aujourd'hui les activités humaines sont un sérieux problème pour le devenir des coraux, et il n'est plus possible de dissocier la restauration récifale des changements globaux de la planète et principalement du réchauffement climatique, qui est aujourd'hui la principale menace à la survie des coraux mais aussi à la réussite des différentes techniques de restaurations. Or, le lien entre les connaissances acquises sur la réponse des individus au réchauffement climatique et l'amélioration des techniques de restauration est resté longtemps dans des sphères séparées. Ce n'est que devant l'urgence de la recherche de solutions, qu'est apparu un intérêt à évaluer dans quelles mesures l'étude des mécanismes fondamentaux de la biologie des coraux au réchauffement climatique

pourrait améliorer les techniques de restauration utilisées jusqu'à présent. En effet un épisode de réchauffement climatique de quelques semaines peut anéantir le travail mené depuis plusieurs mois sur l'élevage de coraux issus de la reproduction sexuée et/ou asexuée dans des pépinières *in-situ*. Aujourd'hui il est indispensable d'intégrer les problématiques de changement climatique directement dans les approches de restaurations, et les nombreuses observations scientifiques menées sur le blanchissement corallien ont servi de base à cette réflexion. Tous les coraux ne sont pas égaux face à l'augmentation de la température, certains meurent d'autres survivent en fonction de leur capacité d'acclimatation et d'adaptation.

IV. Acclimatation et adaptation

Lorsqu'une perturbation met en péril une population naturelle, les premières conséquences visibles sont une diminution des phénotypes mal-adaptés dans la population. La probabilité pour un organisme de se maintenir dans un écosystème changeant est alors fonction de la variabilité génétique de la population, de sa plasticité, du taux de croissance des individus et de la valeur de la pression de sélection (Rice and Emery, 2003). Néanmoins l'étude de Parmesan (2006) stipule que les changements environnementaux actuels ne permettront pas aux populations naturelles de s'adapter en raison de la rapidité du changement. Faute de temps pour la sélection de mutation à caractère positif, la très grande majorité des espèces ayant des temps de générations de l'ordre de quelques années est alors vouée à disparaître (Chown et al., 2010).

Néanmoins des processus existent sur des échelles d'adaptation plus courte. Les processus micro-évolutifs permettent aux organismes de maintenir de hautes performances physiologiques dans des environnements sub-optimaux par acclimatation, et ainsi d'échapper à l'extinction (Rice and Emery, 2003). C'est le cas de la phalène du bouleau (*Biston betularia*) où la pression de sélection *via* l'industrialisation a permis une augmentation de la fréquence des phénotypes noirs en comparaison aux phénotypes blancs (van't Hof et al., 2016).

L'ajustement des paramètres physiologiques chez les coraux a intéressé les scientifiques dès les années 1920 par la mesure de la variation mensuelle de la densité en *Symbiodinium* le long de la grande barrière de corail en Australie, mais ce n'est que plus tard que ce genre d'étude a été élargie à d'autres genres coralliens, comme *P. damicornis* (Brown and Cossins, 2011; Stimson, 1997). L'étude de la capacité des coraux à s'acclimater aux modifications environnementales s'est faite à la fois au travers d'expériences en laboratoire mais aussi dans

le milieu naturel (Brown and Cossins, 2011; Jones et al., 2008; Maynard et al., 2008; Penin et al., 2013; Yakovleva and Hidaka, 2004). Les périodes d'acclimatation pour être effectives peuvent néanmoins varier de 9 mois à 3 ans. De plus certaines populations de coraux sont plus propices à l'acclimatation que d'autres, (Berkelmans and van Oppen, 2006), la sélection des populations de coraux ayant le plus grand potentiel d'acclimatation pourrait alors devenir une voie de recherche intéressante pour répondre aux besoins actuels de restaurations des écosystèmes. Les travaux de recherche sur les capacités d'acclimatation et d'adaptation des coraux se sont accélérés ces dernières années et un consortium de chercheurs a publié en 2017 un travail synthétisant les questions relatives à l'adaptation rapide chez les coraux et au mécanisme de plasticité transgénérationnelle (Torda et al., 2017). De nombreuses pistes pour une adaptation rapide des coraux aux changements globaux apparaissent intéressantes, faisant intervenir différents niveaux de complexité, de l'hôte jusqu'à ces symbiotes (algue, bactérie, virus), ou encore jusqu'à la méthylation directionnelle de certaines parties du génome ou de la modification des histones, associés à l'hétérochromatine. Des études récentes confirment l'existence de tels mécanismes chez les coraux, comme la méthylation différentielle en fonction de l'environnement (Putnam et al., 2016), la découverte de bactéries symbiotiques pro-biotiques (Peixoto et al., 2017) ou l'acclimatation de très jeunes stades de vie à l'acidification des océans (Moya et al., 2015). L'acclimatation des coraux pourrait donc se faire sur différents stades de vie (des gamètes aux adultes) et sur différentes parties de l'holobionte séparément ou en parallèle (hôtes, algues, bactéries). L'acclimatation étant réversible et pouvant être négative ou nulle (Bonduriansky and Day, 2009), des études doivent être entreprises pour déterminer le laps de temps durant lequel cette acclimatation est maintenue (Torda et al., 2017) et s'il existe des stades de vie plus propices que d'autres à l'acclimatation, comme déjà observés chez d'autres organismes, notamment au stade embryonnaire (Yalcin et al., 2008).

Le questionnement des scientifiques sur la capacité d'évolution des coraux à faire face aux menaces du XXI^{ème} siècle, la compréhension acquise jusqu'à aujourd'hui des mécanismes biologiques résultant de la résistance différentielle des différents individus coralliens face au réchauffement climatique, et la recherche de solutions novatrices pour assister les coraux dans le monde moderne a donné naissance à la « Théorie de l'évolution assistée » des coraux.

La théorie de l'évolution assistée (van Oppen et al., 2017, 2015) s'appuie sur différentes approches, nécessitant des niveaux d'interventions différents, de l'acclimatation induite (sur une ou plusieurs générations), en passant par la modification des communautés symbiotiques

à la fois microbiennes et végétales, la reproduction sélective de certains génotypes (portant des marqueurs génétiques de résistances thermiques) et l'évolution contrôlée des *Symbiodinium* par mutagenèse ou par sélection expérimentale (van Oppen et al., 2015).

Cette théorie se base sur les connaissances des mécanismes biologiques liés au blanchissement corallien et a pour objectif d'améliorer les performances des coraux *via* une intervention humaine. Par exemple il est connu que le stress oxydatif est le principal facteur déclenchant l'expulsion des *Symbiodinium*, mais que certains coraux avec des *Symbiodinium* plus thermorésistants augmentent leur limite létale de température de 1 à 1.5°C (Berkelmans and van Oppen, 2006). Pour augmenter la tolérance des coraux au stress thermique, il a été proposé de sélectionner les *Symbiodinium* les plus résistants. Ceci a été réalisé pendant 80 générations clonales, et a entraîné une diminution par 17 de la production de ROS par les *Symbiodinium* sélectionnés pour une température de 31°C (Chakravarti et al., 2017). L'inoculation de ces « super » *Symbiodinium* aux coraux permettant alors aux nouvelles recrues de grandir de la même manière dans des conditions stressantes ou non contrairement aux coraux possédant les souches sauvages de *Symbiodinium* (Chakravarti et al., 2017). Néanmoins, ce genre d'approche est risqué car la symbiose avec les *Symbiodinium* est extrêmement plastique, le clade D étant généralement observé lors des épisodes de températures élevées, mais sa proportion diminue lorsque les conditions de températures redeviennent normales. Le maintien de la symbiose entre le corail hôte et les « super » *Symbiodinium* reste donc à tester sur du long terme pour déterminer si une telle évolution assistée est une solution pour le futur. En raison de la flexibilité de la symbiose corallienne, des travaux se sont focalisés sur le corail hôte et une contribution non négligeable de l'hôte dans la résistance au stress thermique a été observée. Certains génotypes ont des tolérances plus importantes à l'augmentation de température, suggérant un intérêt non négligeable d'utiliser ces coraux de manière préférentielle dans la restauration d'environnements dégradés, mais aussi de tester l'hypothèse que les coraux issus de leur reproduction seraient aussi potentiellement plus thermorésistants (Jin et al., 2016).

Ainsi si certains individus spécifiques pourraient jouer un rôle déterminant dans notre capacité à restaurer et à conserver de manière efficace et durable les récifs coralliens dans le futur, des expériences doivent encore être menées pour étudier non seulement la réponse des espèces et des individus au sein de zones géographiques variables et identifier les plus performants, mais aussi pour comprendre quels sont les impacts du réchauffement climatique sur les jeunes stades de vie coralliens et si une acclimatation est possible. Une meilleure

compréhension de la réponse individuelle des coraux à différents stades du cycle de vie permettrait de proposer *in fine* des méthodes de restaurations plus efficaces car adaptées aux futures modifications climatiques de la planète.

V. Objectifs de la thèse

La mise en évidence des différences phénotypiques à caractère adaptatif entre individus et/ou populations au niveau de traits d'histoires de vie comme la croissance, la survie et la fécondité permet de sélectionner les individus les plus performants. La compréhension de la performance de certains individus face aux perturbations environnementales du monde moderne est aujourd'hui critique, pour préserver et conserver un des écosystèmes les plus diversifiés de la planète. Dans ce contexte ma recherche doctorale s'articule autour de quatre questions:

- (1) La variabilité des traits fonctionnels des coraux pendant leur croissance permet-elle de sélectionner les individus les plus aptes à faire face au changement climatique ?
- (2) Quelle est la tolérance des jeunes stades de vies coralliens à l'augmentation de la température ?
- (3) Un préconditionnement à un stress thermique améliore-t-il les performances des jeunes stades de vie ?
- (4) L'état de santé des parents affecte-t-il la progéniture et des effets parentaux existent-ils ?

Le premier axe de ma recherche doctorale s'articule autour de la reproduction asexuée et vise à appréhender les différences de traits d'histoires de vie (croissance, état de santé, survie) de trois espèces de coraux scléactiniaires (*Acropora hyacinthus*, *Pocillopora damicornis*, *Porites, rus*) au sein d'environnements contrastés (Tahiti, Moorea, Bora Bora) afin d'identifier la variabilité des performances physiologiques chez les espèces et génotypes étudiés pour définir des critères de sélection des individus à utiliser pour restaurer les zones dégradées. Le deuxième axe de ma recherche est focalisé sur la reproduction sexuée et sur la compréhension des effets de la hausse de la température sur les jeunes stades de vie et la possible acclimatation de ces stades, mais aussi sur les colonies adultes et les répercussions sur leur progéniture.

L'ensemble de ma recherche doctorale se situe dans un contexte environnemental où les pressions humaines sont une vraie menace pour la survie future des coraux. Ainsi la recherche de solutions pour la préservation d'un écosystème, vitale pour des millions de personnes est aujourd'hui une question centrale. Une restauration adaptée au réchauffement climatique est nécessaire si l'objectif est de recréer des oasis de vie sur certaines zones dégradées, mais la restauration seule ne permettra pas de sauver les récifs coralliens et des actions multidisciplinaires et concertées au niveau local et global sont nécessaires. Au lieu de constater uniquement le déclin des récifs coralliens, ma recherche a eu pour objectif de déterminer dans quelles mesures une action humaine pourrait être bénéfique pour la restauration récifale. Un schéma des différentes approches appréhendées dans ma recherche doctorale est représenté sur la figure 7. Les travaux détaillés dans la thèse s'attacheront donc à l'étude de l'impact des changements environnementaux sur la réponse des coraux scléactiniaires au travers de leurs systèmes de reproduction sexuée et asexuée.

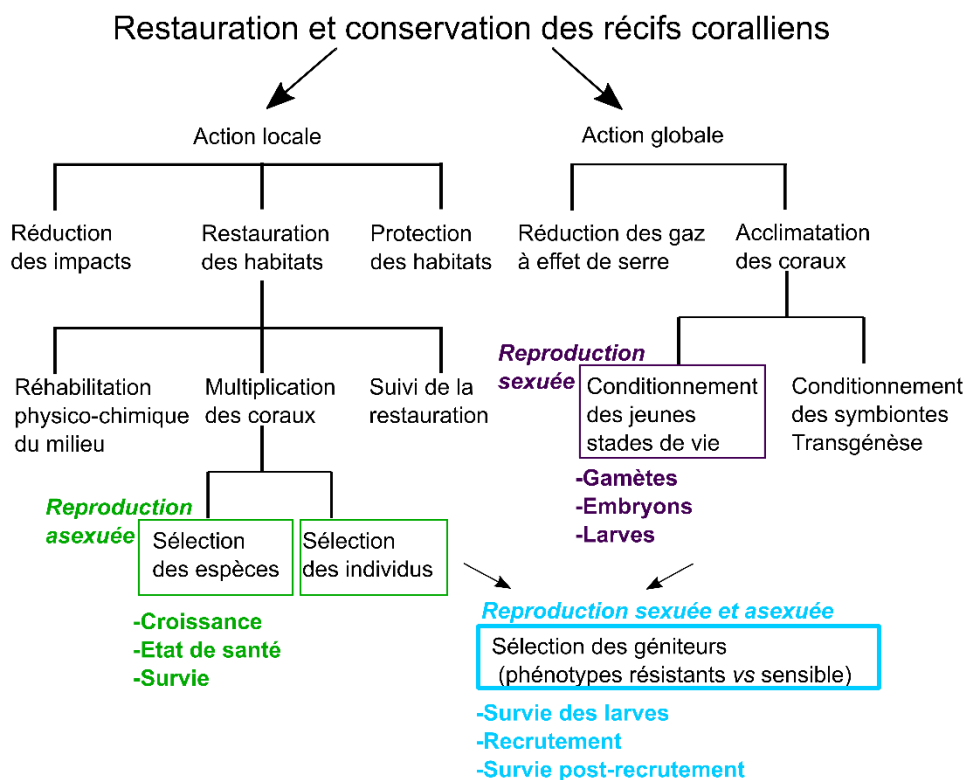


Figure 7 : Schéma du contexte scientifique de la thèse. Différentes couleurs représentent les différents axes de recherches traités durant la thèse

VI. Stratégie expérimentale

VI.1 Reproduction sexuée des coraux face au changement climatique

La très grande majorité des coraux se reproduisent de manière sexuée en émettant des gamètes (spermatozoïdes et ovocytes) dans la colonne d'eau où la fécondation et le développement embryonnaire s'effectuent (e.g. *Acropora*). Néanmoins, d'autres espèces de coraux présentent une fécondation interne (e.g. *Pocillopora damicornis* en Polynésie française), qui se déroule au sein du polype (Harrison, 2011; Harrison and Wallace, 1990). Bien que des effets délétères de la hausse de la température aient déjà été montré sur la fécondation, le développement embryonnaire, la survie larvaire et le recrutement des coraux (Bassim et al., 2002; K. M. Bassim and Sammarco, 2003; Negri et al., 2007; Randall and Szmant, 2009), aucune étude n'avait pour le moment évalué l'effet d'une augmentation de température sur la phase gamète, c'est-à-dire juste après leurs émissions et avant la fécondation.

Si à l'heure actuelle, il est extrêmement important de pouvoir comprendre et documenter comment les récifs coralliens font face à l'augmentation de la température, il est primordial de développer des méthodes permettant d'atténuer les effets des changements globaux sur les coraux, notamment au travers de méthodes de restaurations. Ainsi mon travail de thèse s'inscrit dans une démarche qui vise à comprendre pour mieux ajuster les efforts de conservation et de restauration des coraux tout en prenant en compte les changements globaux que subie la planète.

VI.1.1 Choix des espèces

Une partie importante de ma thèse s'est focalisée sur le développement de méthodes permettant d'augmenter la fécondation, la survie larvaire, le recrutement et la survie post-recrutement des coraux face à l'augmentation de la température. Pour cela, j'ai travaillé sur deux genres coralliens, *Acropora* et *Pocillopora*, qui présentent des modes de reproductions distincts, le premier étant un émetteur de gamètes (émission des deux types de gamètes et fécondation externe) et le deuxième, un couveur de larves (émission d'un seul type de gamète et fécondation interne). De plus *Acropora* est le genre corallien répertorié comme le plus sensible à l'augmentation de la température (Terry P. Hughes et al., 2018), représentant un cas idéal pour mon questionnement scientifique. Mon travail sur ces deux genres m'a permis de pouvoir développer des questions originales et complémentaires sur les jeunes stades de vie.

Pour l'évaluation de l'impact de la température sur le genre *Acropora*, deux espèces ont été choisies *A. pulchra* (Brook, 1891) et *A. cytherea* (Dana, 1846), notamment en raison de leur abondance dans le lagon. En effet, en 2010, la pente externe a été complètement dévastée par un épisode de pullulation d'un prédateur du corail, l'*Acanthaster planci* et par le cyclone Oli, réduisant considérablement le recouvrement corallien à moins de 5% (Adjeroud et al., 2018). La ponte de ces espèces a été observée par Carroll et al. (2006) et se déroule de septembre à novembre, entre 9 et 13 jours après la pleine lune. Le choix de travailler sur deux espèces permet d'augmenter notre capacité à tester des conditions de traitements différentes, sachant que la reproduction sexuée des coraux en Polynésie française, ou dans le monde, reste un évènement rare pour les espèces émettrices de gamètes, comme *A. pulchra* et *A. cytherea*, où la ponte a lieu quelques nuits (1-3jours) par an sur 1 à 2 mois.

En raison de la limitation du nombre d'échantillons biologiques des espèces d'*Acropora* liées à la rareté des évènements de ponte, des expériences spécifiques ont été réalisées sur l'espèce *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758), qui est relativement abondante dans le lagon, qui émet des larves mensuellement dans la colonne d'eau, quelques jours après la nouvelle lune (Hédouin, données non publiées).

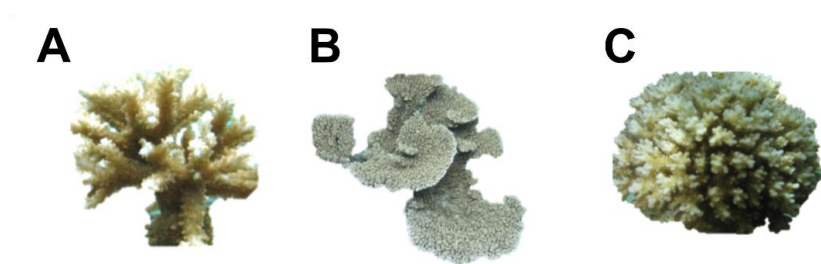


Figure 8 : Espèces de coraux utilisées dans la partie reproduction sexuée et changement climatique. (A) *Acropora pulchra*, (B) *Acropora cytherea*, (C) *Pocillopora damicornis*

VI.1.2 Méthodes d'analyses

VI.1.2.1. Taux de fécondation réussie

La réponse de la fécondation à l'augmentation de la température chez les coraux est connue pour être plus faible à forte température, notamment par la diminution du nombre d'ovocytes fécondés et par l'augmentation du nombre d'embryons déformés (Randall and Szmant, 2009). Néanmoins des variations existent en fonction des espèces testées avec certaines espèces de coraux plus résistantes que d'autres (Negri et al., 2007). Ainsi la première étape a consisté à tester la fécondation des deux espèces de coraux face à l'augmentation de la température.

Les coraux ont donc été récupéré deux jours avant la date présumée de ponte selon les travaux effectués précédemment (Carroll et al., 2006). Les coraux ont ensuite été observés toutes les nuits jusqu'à la ponte. Les jours de pontes, les polypes se gonflent et il est alors possible d'observer les ovocytes à l'intérieur du polype. Toutes les colonies présentant ces signes sont alors isolées afin de pouvoir récupérer et isoler les gamètes par colonie. Les gamètes s'ont émises sous forme de « bundles : terme anglais » qui représentent un agrégat d'ovocytes et de spermatozoïdes compact. Les « bundles » ayant une flottabilité positive, ils flottent à la surface de l'eau et peuvent être récupérés par pipetage et stockés dans des tubes de 50 mL. Cette opération est ensuite répétée pour chaque colonie s'étant reproduite. Une fois que toutes les gamètes ont été récupérées, les spermatozoïdes sont isolés des ovocytes, grâce à un tamis de 100 μm . En effet ce maillage permet de faire passer les spermatozoïdes à travers le tamis alors que les ovocytes sont retenus. Les ovocytes sont ensuite rincés dans 5 bains d'eau filtrée à 0.7 μm , afin de nettoyer les ovocytes de tous les spermatozoïdes présents au sein des « bundles ». Les spermatozoïdes de chaque colonie sont ensuite concentrés dans un seul tube et la concentration en spermatozoïde est estimée grâce à un hemacytomètre. Les ovocytes sont quant à eux concentrés juste avant de démarré l'expérience afin d'éviter une fécondation non voulue.

Le taux de fécondation réussie est estimé en plaçant dans des piluliers de 20 mL ($n = 15$ par température), 10 mL d'eau filtrée à 0.7 μm et environ 200 ovocytes avec une concentration de sperme ajustée à 10^6 spermatozoïdes. mL^{-1} , permettant un fort taux de fécondation (Oliver and Babcock, 1992). Afin de déterminer la température réduisant le taux de fécondation réussie, 5 températures (26, 28, 30, 32 et 34°C), ont été choisies. Les piluliers sont ensuite placés au bain marie dans ces 5 températures et le taux de fécondation est calculé après 4 h 30. Afin de stopper l'expérience pour déterminer les taux de fécondations réussies le contenu de chaque pilulier est placé dans des tubes de 1.5 mL contenant une solution d'eau de mer, contenant du formaldéhyde à une concentration ajustée à 7%. Après 48 h dans cette solution les embryons sont placés dans une solution d'éthanol (70%) et photographié grâce à une loupe binoculaire. Pour chaque pilulier le taux de fécondation réussie est estimé en comptant la proportion d'ovocytes non fécondées et d'embryons fécondés au stade 2 cellules, 4 cellules et strictement supérieur à 4 cellules ainsi que les embryons déformés (Puisay et al., 2015), grâce au logiciel de traitement d'image Image J (Collins, 2007).

VI.1.2.2. Survie larvaire

Afin d'estimer la survie larvaire, une proportion d'ovocytes et de spermatozoïdes est conservés. La fécondation des ovocytes est réalisée selon le protocole décrit précédemment (VI. 1.2.1). Néanmoins après 4 h 30 les embryons sont transférés dans des bassines d'eau (3L) filtrée à 0.7 μm . L'eau est renouvelée tous les jours et un bullage est ajoutée seulement 48 h après la fécondation afin d'éviter la rupture des embryons par l'action physique des bulles (Heyward and Negri, 2012). Les larves commencent à nager environ 72 h après la fécondation. La survie des larves est ensuite déterminée aux 5 températures utilisées pour calculer le taux de fécondation réussie, soit 26, 28, 30, 32 et 34°C. Afin de déterminer la survie larvaire dans les différentes températures, 15 larves sont disposées dans des piluliers de 40 mL ($n = 7$ par température), contenant 20 mL d'eau de mer filtrée à 0.7 μm et chauffés aux températures voulues dans des bains-marie. La moitié de l'eau de mer est ensuite changée tous les 2 jours et le nombre de larves enregistrés tous les deux jours pendant 14 jours. Les larves de coraux considérés vivantes présentent un comportement actif de nage et/ou une intégrité physique.

Dans un premier temps il s'agissait donc d'identifier les températures réduisant le succès de fécondation et la survie larvaire des espèces choisies, afin de pouvoir dans un deuxième temps augmenter leur résistance à cette température, par préconditionnement. Pour cela les gamètes et les larves ont été exposées à une gamme de températures de 26 à 34°C pendant 4 h 30 et 14 jours, respectivement, et le succès de fécondation et la survie larvaire caractérisés. La température de 26°C correspond à la température moyenne généralement mesurée en septembre. Afin de déterminer des valeurs thermiques limites, mon travail à utiliser une approche toxicologique basée sur un modèle logistique dose-réponse qui permet de déterminer une concentration efficace (« Effective Concentration » : terme anglais), réduisant de 50% la réponse sub-létale (non mortelle) des organismes par rapport au contrôle et la concentration létale (« Lethal Concentration » : terme anglais), réduisant de 50% la survie des organismes (Rand, 1995). Ceci m'a permis de calculer une température efficace (TE_{50}) et température létale (TL_{50}).

VI.1.2.3. Préconditionnement

Afin d'évaluer comment « aider » les coraux à faire face au rythme accéléré du changement climatique, ma recherche doctorale s'est focalisée sur deux approches: (a) l'influence du preconditionnement des jeunes stades de vie (testée sur les espèces d'*Acropora*) et (b) l'influence de l'état de santé du géniteur (testée sur *P. damicornis*). En effet ces deux approches s'inscrivent dans une théorie plus large considérant qu'il est possible « d'assister l'évolution » des coraux (van Oppen et al., 2015).

Le preconditionnement a été testé sur différents stades de vie : gamète, embryon et larve. Ces stades de vie ayant des durées de vie plus ou moins longue, variant de quelques heures (gamètes) à plusieurs semaines (larves, Harrison and Wallace, 1990), des temps de preconditionnement adaptés ont été choisis en fonction de chaque stade de vie. Ainsi les temps de preconditionnement testés sont pour les gamètes de 30 min à 2 h, pour les embryons de 30 min à 4 h 30 et enfin pour les larves de 1 à 24 h.

Le preconditionnement des gamètes a été évalué au niveau du succès de fécondation, celui des embryons au niveau de la survie des larves et le preconditionnement des jeunes larves a lui aussi été évalué sur leur survie ultérieure, puisque cette période de vie larvaire peut s'étendre sur une période de plus d'une centaine de jours (Harrison and Wallace, 1990).

VI.1.2.4. Choix des géniteurs

Afin d'évaluer si l'état de santé de la colonie adulte influence la qualité des jeunes stades de vie émis, mon travail a utilisé l'espèce *P. damicornis* comme modèle biologique. Le fort El Niño enregistré pendant la période 2014-2017 (Eakin et al., 2016) a créé des conditions *in situ* permettant d'identifier des colonies sensibles (blanchies) et résistantes (non-blanchies). Les colonies ont été ramenées dans des aquariums au CRIOBE quelques jours avant la ponte et les larves de chaque colonie récoltées et analysées. La qualité de la ponte de chaque colonie a été évaluée en fonction du jour de ponte, du nombre de larve émise et de leur fluorescence. En effet deux travaux précédents ont montré l'existence de larves coralliennes, avec des types de fluorescence différents, liés à des comportements et des activités physiologiques différentes, mais non reliés à la fluorescence des parents (Kenkel et al., 2011; Strader et al., 2016). L'idée était donc de pouvoir observer si cette fluorescence différentielle, pouvait être liée au taux de blanchissements des colonies adultes et si cela conférait aux larves présentant le phénotype fluorescent résistant (rouge), une résistance à la température différente que les larves

présentant le phénotype sensible (vert), afin de restaurer les récifs coralliens grâce aux individus répondant de manière adéquate aux défis environnementaux actuels.

Afin de caractériser le blanchissement de chaque colonie, la densité en zooxanthelle a été déterminée sur des échantillons de colonies adultes de 3 à 4 cm. Les tissus sont extraits grâce à une technique utilisant un jet d'eau de mer (filtrée à 0.7 μm) sous pression qui décolle les tissus coralliens du squelette. Le volume total obtenu est ensuite pesé et homogénéisé. Une sous-partie de l'homogénat (90 mL) est ensuite centrifugée à 10 000 rpm pendant 15 minutes. L'eau restante est ensuite retirée et centrifugé de nouveau dans 2.5 mL d'eau de mer filtrée. Le nombre de zooxanthelle est ensuite déterminé grâce à un hémacytomètre.

Tous les matins de pontes (0 à 15 jours après la nouvelle lune) les larves provenant de 5 colonies blanchies et 5 colonies non-blanchies ont été comptés et leurs fluorescences caractérisés grâce à une lampe UV. Les larves sont ensuite regroupées en fonction de leur fluorescence et leur survie testée dans des piluliers de 20 mL ($n = 10$ larves par pilulier) à 28°C ($n = 5$ par température et par phénotype) et 31°C ($n = 5$ par température et par phénotype). La survie des larves a ensuite été observée comme décrit précédemment. Afin de tester le recrutement, des larves de chaque phénotype fluorescent ($n = 200-600$) sont placés dans des aquariums (2 L) contenant 1 L d'eau de mer filtrée et des blocs de recrutements ($n = 4$, 5x5x5 cm) conditionnés 6 mois dans le lagon (temps de l'installation des algues encroûtantes, facilitant le recrutement). Le nombre de recrue est ensuite déterminé 24 h après le lancement de l'expérience et le taux de recrutement déterminé en fonction du nombre de larves nageantes utilisés dans chaque aquarium. Le taux de survie post-recrutement est ensuite déterminé aux mêmes températures que celles utilisées pour la survie larvaire (soit 28 et 31°C), en comptant le nombre de recrue vivante tous les 48 h pendant 25 jours.

VI.2 Reproduction asexuée des coraux face au changement climatique

Bien que la reproduction sexuée soit aujourd'hui utilisée afin de restaurer les environnements dégradés tout en conservant une diversité génétique en partie inféodé à la reproduction sexuée, la reproduction asexuée et le bouturage du corail représente une méthode moins coûteuse afin de restaurer les récifs coralliens. Néanmoins les coraux ne présentant pas tous les mêmes résistances thermiques il est apparu intéressant de pouvoir travailler sur la plasticité des coraux face aux variations de leurs paramètres environnementaux afin de pouvoir trouver des espèces mais surtout des individus potentiellement plus aptes à être

transplanté sur des sites dégradés. Ainsi en parallèle de l'étude de l'effet de l'augmentation de la température sur les jeunes stades de vie une expérience en jardin commun a été réalisée.

VI.2.1 Choix des espèces

L'expérience de transplantation de fragments coralliens a été réalisée entre 3 sites d'études (Bora Bora, Moorea et Tahiti). Toutes les colonies ont été collectées à partir d'un site localisé à Bora Bora (16° 33' S, 151° 43' W) puis mis en croissance dans trois îles différentes (Bora Bora : 16° 29' S, 151° 42' W, Moorea : 17° 29' S, 149° 53' W et Tahiti : 17° 34' S, 149° 37' W), au sein de jardins communs afin d'observer s'il existait des différences dans la réponse des individus confrontés à une variation de leur paramètres environnementaux naturels.

Trois genres de coraux scléactiniaires représentant les grands taxons de la Polynésie française et de l'Indopacifique, Acroporidae, Pocilloporidae et Poritidae (Adjéroud, 1997) ont été choisis, *Acropora hyacinthus* (Dana, 1846), *Pocillopora damicornis* (Linnaeus 1758) et *Porites rus* (Forskål, 1775). Pour chaque espèce, 8 individus et 10 clones par individus ont été générés et transplantés (total de 240 boutures par site) dans ces 3 îles et suivi pendant 3 ans de juin 2014 à juin 2017, soit pendant le plus long et le plus important blanchissement global jamais enregistré (www.coralreefwatch.noaa.gov). De plus ces espèces ont montré des résistances variables à l'augmentation de température (Terry P. Hughes et al., 2018) et il était donc intéressant de pouvoir observer la réponse interspécifique mais aussi intraspécifique, des différentes colonies coralliennes afin d'observer si une sélection des espèces et des individus étaient possible afin de trouver les coraux les plus aptes à être utilisés afin de restaurer les environnements dégradés tout en prenant en compte le changement climatique.

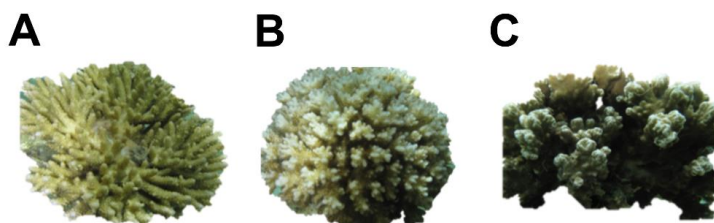


Figure 9 : Espèces de coraux utilisées dans la partie reproduction asexuée et changement climatique. (A) *Acropora hyacinthus*, (B) *Pocillopora damicornis*, (C) *Porites rus*

VI.2.2 Méthodes d'analyses

Les caractères mesurés ont été choisis pour représenter des traits fonctionnels plastiques, croissance, état de santé et survie, par analogie à ceux observés chez les plantes (Nicoitra et al., 2010). Afin de déterminer le taux de croissance de chaque fragment corallien, des mesures de leur poids immergés (technique du « buoyant weight » : terme anglais) ont été menées (Jokiel et al., 1978; Spencer Davies, 1989), tous les 3 mois dans les 3 sites d'études. L'état de santé de chaque fragment a été suivi tous les 15 jours, en utilisant une carte couleur développée par Siebeck et collaborateur en 2006 (Siebeck et al., 2006). La carte couleur permet d'obtenir un proxy de la densité de zooxanthelles. La survie de chaque bouture a été notée en même temps que leurs codes couleurs et a été définie par l'absence de tissu sur les boutures observées.

Bien que la valeur moyenne de chaque trait mesuré permette d'évaluer la réponse moyenne de chaque individu à la variation des paramètres environnementaux, les mesures de plasticité phénotypique pour ces traits peuvent donner une idée de la variation de la réponse de ces traits à la suite d'un changement de paramètres environnementaux. Pour cela, j'ai utilisé une méthode permettant le calcul quantitatif de la plasticité phénotypique préalablement développé chez les plantes (Valladares et al., 2006). La valeur de RDPI « Relative Distance Plasticity Index », permet de calculer la distance d'un trait phénotypique d'une population en fonction du nombre d'environnement rencontré (Valladares et al., 2006). Cette technique a donc été appliquée sur les différents coraux utilisés dans cette expérience afin d'observer si des patrons de plasticités spécifiques pouvaient être associés à de fortes valeurs de survie.

La stratégie expérimentale développée ici s'inclut donc dans une démarche de compréhension de la réponse des coraux à différents stades de développement (gamètes, embryons, larves, recrues, adultes) face aux défis du 21^{ème} siècle. Cette démarche cherche ainsi à pouvoir donner des informations nouvelles sur notre capacité à restaurer les récifs coralliens tout en prenant en compte les changements environnementaux actuels, afin de conserver un des écosystèmes les plus diversifiés de la planète.

Chapitre 2 : Coral gamete thermal environment modulates fertilization success

Antoine Puisay^{*a,b}, Benoit Pujol ^c, Rosanne Pilon^{a,b}, Claire Goiran^{b,d}, Laetitia Hédouin^{a,b}

^a PSL Research University: EPHE-UPVD-CNRS, USR3278 CRIOBE, BP 1013, 98729 Papetoai, Moorea, French Polynesia

^b Laboratoire d'Excellence "Corail", 58 avenue Paul Alduy 66860 Perpignan Cedex France

^c Laboratoire Évolution & Diversité Biologique (EDB UMR 5174), Université Fédérale de Toulouse Midi-Pyrénées, CNRS, IRD, UPS, France.

^d ISEA, Université de la Nouvelle Calédonie, BP R4, 98851 Nouméa Cedex, New Caledonia

*Corresponding author: antoine.puisay@wanadoo.fr

Summary

Rising seawater temperatures are damaging coral reef ecosystems. There is growing evidence that the survival of adult corals confronted to thermal anomalies depends on their physiological response. The hypothesis that their reproductive success, and in particular fertilization, is also affected by rising temperatures remains however poorly tested. Here we tested for this hypothesis in experimental populations of *A. cytherea* corals in French Polynesia. We present evidence that coral fertilization success was reduced at a 30°C temperature, but that a pre-exposure period at a 30°C temperature on gametes during their free-life stage, partly counteracted this effect. Our results showed that the effect of pre-exposure varied with the sex of gametes. Coral fertilization success at 30°C was highest after 0.5 to 1.0 h of pre-exposure of both gametes to 30°C. Our findings on the thermal biology of gametes have implications for the fundamental understanding of coral population dynamics and potential resilience to climate change and extend assisted evolution applications to pelagic life stages.

I. Introduction

Earth temperatures rose by 0.85°C over the period 1880-2012 (IPCC, 2014). Global warming has already negatively impacted terrestrial and marine ecosystems worldwide, notably altering the abundance and distribution of more than a thousand wild species (Parmesan and Yohe, 2003).

The same can be said of coral reef ecosystems that provide habitat to 32% of known marine life (Fisher et al., 2015). Increasing temperature, associated to high solar radiation cause coral to lose their obligate photo-symbiont (*Symbiodinium sp*), term known as bleaching, which caused their death after a threshold (mainly *Acropora* species) of 3 to 4 degree heating weeks (Terry P. Hughes et al., 2018; Lesser, 2011). Rising seawater temperatures have left coral populations damaged to an extent of 40% on the period 1998-2007, with the expectation that more than 95% of coral reefs worldwide will experience severe bleaching around the year 2050 (Burke et al., 2011).

A majority of research efforts (~86% of publications) have been directed towards understanding the impact of temperature on growth and symbiosis in coral adults. In terms of reproduction, there is evidence from studies conducted mostly on *Acropora* species that higher seawater temperatures increase reproductive failure, development rates of embryos, and abnormal development in corals (Bassim et al., 2002; Bassim and Sammarco, 2003; Negri et al., 2007; Randall and Szmant, 2009). Knowledge on how temperature alters other stages of the life cycle of corals is surprisingly incomplete, with only 0.7% of publications addressing the response of gametes to warmer seawater temperatures.

Gametes thermal limits for marine invertebrates have been hypothesized to be a function of the bio-geographical repartition of the species, reflecting thermal limits of the organism as a whole (Andronikov, 1975). Temperature effects on gametes are expected to be long-lasting because they have the potential to extend to future life-cycle stages (Podolsky and Moran, 2006). Moreover, coral thermal limits have been observed to increase after consecutive bleaching events (Maynard et al., 2008; Penin et al., 2013). Understanding the mechanisms underlying rapid adaptation processes in corals has obvious implications for their conservation (Torda et al., 2017). The acquisition of a higher tolerance to rising temperatures during embryonic development that shapes the response of adult life stage was found in fish (Scott and Johnston, 2012). However in corals, the pelagic life history of male and female

gametes following their release in seawater and before fertilization remains relatively unexplored (Puisay et al., 2018).

In this context, assessing the effect of the thermal history of coral gametes (intensity and time) on the fertilization success rate is critical to get a complete picture of the effects of climatic variation on fitness-relevant functions (Adriaenssens et al., 2012). Such knowledge has implications for applying assisted evolution theories to corals because it will provide us with experimental treatments that might enhance coral reproduction in a context of rising seawater temperatures (van Oppen et al., 2017, 2015). It also has implications for examining the occurrence of carry-over effects from one life history stage to another that might be beneficial for the acclimation of corals to rising seawater temperatures.

Here we first present estimates of the thermal tipping point of the fertilization success based on gametes exposed to a gradient of seawater temperature (4h30 exposure to 26, 28, 30, 32 and 34°C) during fertilization trials in *Acropora cytherea* corals. We then tested for the hypothesis that thermal pre-exposure of male and female coral gametes enhance the fertilization success rate. This was conducted by pre-exposing separately oocytes and sperm to either 27 or 30°C during four periods of time (0.5, 1, 1.5, 2h) before fertilization was achieved at either 27 or 30°C.

II. Results and Discussion

Our results confirmed that increasing the seawater temperature of experimental tanks to 30°C and above caused a significant reduction of fertilization success in *A. cytherea* corals. We estimated the thermal tipping point at which fertilization success had decreased by 50% in *A. cytherea* corals by using a logistic dose-response model (Rand, 1995) and found that this thermal tipping point was $30.8 \pm 0.06^\circ\text{C}$. Our results also showed that the fertilization success rate decreased by 20% (relative to control) after a 4h30 exposure at 30°C, and by 91 and 99% at 32 and 34°C respectively ($P_{\text{Tukey}} < 0.05$; Figure 1A). As illustrated by Figure 1B, our results from the analysis of variance (ANOVA) followed by a Tukey HSD approach showed the exposure to a temperature above 30°C also increased significantly ($P_{\text{Tukey}} < 0.05$) the rate of deformed embryos from 10 up to 21%. This rate significantly ($P_{\text{Tukey}} < 0.05$) rose up to 40% at 32°C. Both the reduction of the number of oocytes fertilized and the increase of the number of deformed embryos associated with the exposure of coral gametes to temperatures from 30 to 34°C drove the decrease in successful fertilization of *A. cytherea* (Figure 1). Other coral species also exhibit a similar negative alteration of successful fertilization in response to

seawater warming (Bassim et al., 2002; Bassim et Sammarco, 2003; Negri et al., 2007; Puisay et al., 2018; Randall and Szmant, 2009). We computed dose-model responses at different temperatures to evaluate the relationship between the fertilization success rate and thermal exposure. We estimated the expected reduction of the fertilization success by 1, 5 and 10% at the respective temperatures of $28.7 \pm 0.12^\circ\text{C}$, $29.3 \pm 0.09^\circ\text{C}$ and $29.6 \pm 0.08^\circ\text{C}$. Interestingly, these temperatures are very close to the bleaching thresholds reported for adult corals, which ranges from 29.2°C (Hoegh-Guldberg, 1999) to 29.8°C (more recent estimates, Hédouin, unpublished data). This raises the question in corals of a suite of deleterious effects triggered at different life stages, including adults, embryos, and possibly gametes by the same temperature tipping point. Testing for thus hypothesis has fundamental implications because it would clarify whether a temperature rise has a simultaneous impact on the entire coral life cycle, from gametes to adults. It also has applied implications because accurate estimates of the thermal tolerance of gametes are scarce and difficult to obtain. Obtaining a proxy of gamete thermal tolerance derived from adult tolerance would therefore allow us an easier access to information on gametes.

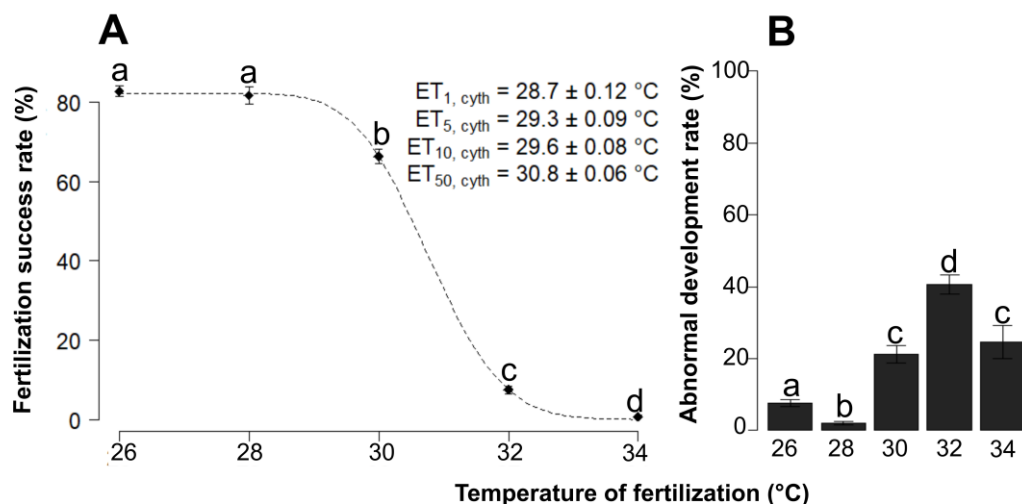


Figure 1 : Reduced fertilization success rate (A) and increased abnormal embryonic development (B) of *A. cytherea* corals due to increased temperatures. The temperature of exposure is represented on the x-axis on a scale from 26 to 34°C ($n = 3000$ oocytes per temperature) in both graphs. Error bars represent standard errors on both graphs. (A) The dotted line represents values extrapolated by the Dose Response Model (see methods). (B) Different letters represent significant differences among temperature treatments. Significant differences between treatments were evaluated by using a Tukey HSD test, with α set to 0.05.

The deleterious temperatures for fertilization that we observed are rarely occurring during the spawning season of *Acropora* species (Carroll et al., 2006), when temperature is usually closer to 27°C . Nonetheless, specific events of abnormally high temperatures have been

recorded in the past, with temperature peaks up to 32.4°C. Thus, our findings imply that *Acropora* adult corals produce embryos with a temperature tolerance adapted to the average temperature generally experienced by adults. They also shed light on the fact that a 3°C departure from the usual temperature has the potential to halve the stock of propagules in just a few hours. In the actual context of global change in seawater temperature, coral sexual reproduction is more frequently exposed to warmer temperatures. In order to cope with this current environmental constraint, corals might have to adapt rapidly, over a few years, by evolving in response to natural selection. However, several biological mechanisms generally limit the micro-evolutionary response to selection of wild populations over contemporary short-time scales, e.g., less than a hundred generations (Pujol et al., 2018). In most cases of contemporary adaptation in wild populations, adaptive phenotypic plasticity – advantageous non genetic modifications of fitness related traits that organisms undergo in response to environmental constraints – was involved instead (Merilä, 2012). Assisted evolution techniques might represent an opportunity to either extend the time required for corals to respond to selection or to allow them to acclimatize by means of phenotypic plasticity, which would improve their ability to adapt. Yet to date, no study has investigated whether gamete thermal pre-exposure might increase their thermal tolerance.

Our second set of experiments was designed to evaluate the effect of the thermal environment of gametes on the subsequent fertilization success by using a Generalized Linear Models (GLM) approach. Results from this second experiment confirmed that fertilization temperature explained a large part (pseudo- $R^2=37\%$) of the direct changes in fertilization success rate, from 0.91 ± 0.05 at 27°C to 0.75 ± 0.12 at 30°C (Figure 2A). These results also revealed a remote effect of the temperature on fertilization. They showed that the duration (pseudo- $R^2 =14\%$) of the thermal pre-exposure of gametes, and to a lesser extent the temperature of pre-exposure itself (pseudo- $R^2=4\%$) shaped the variation of the fertilization success (Figure 2B, C). Our results imply that the combined action of three conditions (i.e., pre-exposure time and temperature, and fertilization temperature), rather than their isolated cumulative effects, critically influenced fertilization success. Our results indeed showed that more than half the variation in fertilization success (pseudo- $R^2=56\%$) was significantly shaped by the triple interaction between these three factors. Pre-exposure parameters could therefore interact differentially, depending on the fertilization temperature of 27 or 30°C. As illustrated by Figure 2D, pre-exposure to a temperature of 30°C of sperm and oocytes in isolation for a

specific amount of time increased the fertilization success likelihood by 93% ($P < 0.05$). Most interestingly, we identified a specific combination of gamete pre-exposure duration and temperature that maximized the probability of fertilization success at 30°C. Pre-exposure conditions of temperature and duration also affected the high variability characterizing the fertilization success that had previously been observed. We found that pre-exposure of both gametes during 0.5h and 1h at 30°C led to the highest and most stable fertilization success rates at 30°C with $87.5 \pm 1.7\%$ and $86.2 \pm 2.9\%$ of fertilization success. We therefore recommend these gametes thermal pre-exposure treatments (0.5h and 1.0 h at 30°C) to maximize *A. cytherea* chances of successful fertilization.

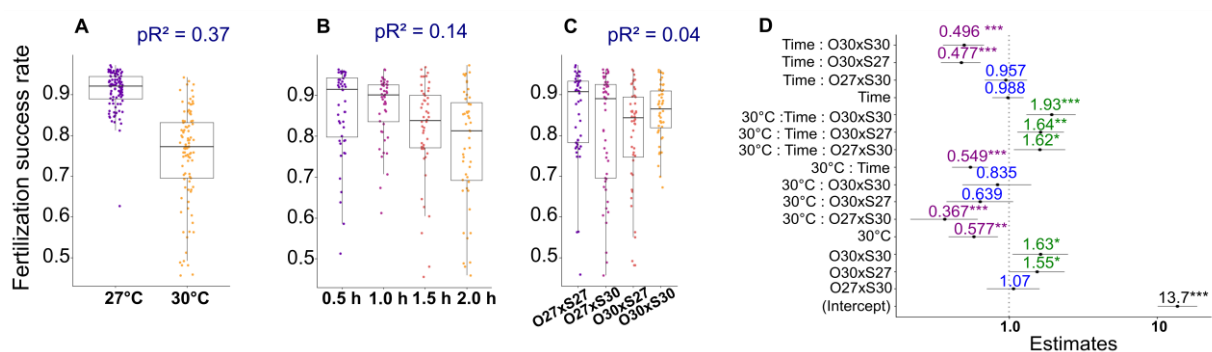


Figure 2 : Fertilization success rate among different temperatures (A, $n = 96$), pre-exposure time (B, $n = 48$), pre-exposure temperature (C, $n = 48$), and estimated effects of each variable and their interactions (D) in the coral *A. cytherea*. Each points represent the response of an average of 160 embryos (A, B, C). Different colors represent different treatment (A, B, C). For the estimates, purple value represent negative effects, blue value null effects, and green value positive effects (D).

In order to decompose this complex physiological mechanism, we estimated the effects of pre-exposure parameters separately. We evaluated the interaction effects among pre-exposure treatments in two separated GLM analyses, one for each fertilization temperature (27°C Figure 3C and 30°C Figure 3F). We also measured the different responses of male and female gametes in these analyses. The results of these models illustrate how gamete pre-exposure treatments influenced fertilization success rates at 27°C and at 30°C. They allowed us to decompose how the effect of pre-exposure treatments depends on the gamete of interest (oocytes vs sperm) at each of these two temperatures. Pre-exposure duration explained 13% of the variation in the fertilization success at 27°C, and 19% at 30°C (Figure 3A, D). Additionally, pre-exposure temperature explained 12% of the variation at 27°C, and 10% at 30°C (Figure 3B, E). Their interaction explained 27% of the variation at 27°C, and 32% at 30°C. At a fertilisation temperature of 27°C, the fertilization success was reduced by half after the pre-exposure of oocytes at a temperature of 30°C combined to an increase/decrease of their pre-exposure duration from 0.5 h to 2 h. As illustrated by Figure 3C, this reduction was

surprisingly similar whether the sperm was pre-exposed to a 30°C (50%, P -value < 0.05) or a 27°C temperature treatment (52%, P -value < 0.05). When oocytes were pre-exposed at 27°C, which was also here the fertilisation temperature, and sperm was pre-exposed at 30°C, changing the pre-exposure duration had no significant effect (P -value = 0.80). At a fertilization temperature of 30°C, an increase/decrease of the pre-exposure duration combined to the pre-exposure of sperm at 30°C, with oocytes maintained at 27°C, increased the fertilization success by 55% (P -value < 0.05). However, when this pre-exposure treatment was inverted between oocytes exposed to 30°C and sperm maintained at 27°C, it reduced by 22% (P -value = 0.014) the fertilization success. No significant effect (P -value = 0.69) was found for the interaction of pre-exposure duration with the pre-exposure of both gametes to 30°C (Figure 3D). As illustrated by Figures 2 and 3, sperm and oocytes were differentially affected by thermal pre-exposure. Different conditions are required for oocytes in order to maximize fertilization success than those required by sperm. This is likely because their metabolism responded differentially to specific combinations of pre-exposure durations and temperatures. Potential biological mechanisms underlying this finding might be increased metabolism and oxygen consumption, as previously observed for gametes in warming environments (Hawkins, 1995). For example, increased metabolism influenced the swimming speed of sperm in marine invertebrates (Kupriyanova and Havenhand, 2005) and the thermal tolerance of oocytes in corals (Puisay et al., 2018). In order to obtain an optimal fertilisation success in *A. cytherea* corals by increasing the thermal tolerance of gametes as a result of their thermal pre-exposure, it appears crucial to choose the optimal duration and temperature of pre-exposure. This optimal combination appeared to be different for each type of gamete.

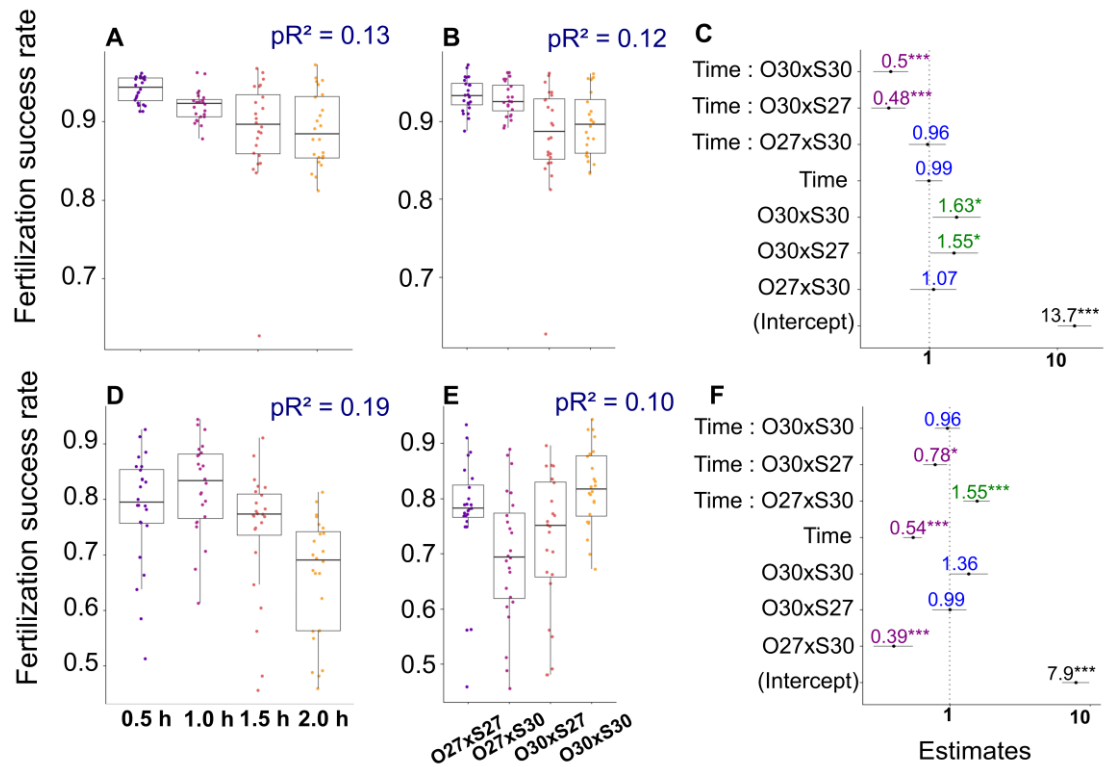


Figure 3 : Fertilization success rate among different pre-exposure time (A, D, $n = 24$), and pre-exposure temperature (B, E $n = 24$), at 27 (A, B), and 30°C (D, E) and estimated effects of each variables and their interactions (C, F) in the coral *A. cytherea*. Each points represent the response of an average of 160 embryos. Different color represent different treatment (A, B, D, E). For the estimates, purple value represent negative effects, blue value null effects, and green value positive effects (D).

Our results imply that gamete thermal pre-exposure has the potential to maximize fertilization success as a result of an increase of their thermal tolerance in *A. cytherea* corals. This is probably resulting from the reduction of the proportion of abnormal embryos, and the increased tolerance of gametes and/or the selection of the best gametes in response to warming conditions. These findings have implications for assisted evolution as we demonstrate that pelagic life stages can be used for acclimatization or adaptation approaches to improve the ability of corals to adapt to the global warming of the world oceans. Our findings also imply that the thermal tolerance and acclimatization of gametes, which is an often neglected section of the life cycle, critically influences fitness-related functions and their adjustment to climate variations. Coral gametes biology and their thermal histories represent less than 1% of the publications linking corals and temperature effects. In *A. cytherea* corals, they nevertheless conditioned up to 56% of the total variation observed for its reproductive output in a warmer (+3°C) environment. This implies that coral gametes deserve more attention.

III. Material and methods

III.1 Corals and gametes collection

Gravid coral colonies of the broadcaster-spawner *Acropora cytherea* (Dana, 1846) were identified and 10 fragments (25x25 cm) were brought from the fringing-reef (1-1.5 m depth) of Moorea, French Polynesia (17°30' S, 149°50' W) to the Center of Insular Research and Observatory of Environment (CRIOBE). This was done two days before the full moon of the expecting spawning month (Carroll et al., 2006). Coral fragments were maintained in an open circuit aquarium (3000 L; T°C: 26.3 ± 0.5 °C, salinity: 35; pH: 8.1 ± 0.1), with a natural 12 h/12 h light/dark cycle corresponding to photosynthetic active radiations recorded between 50 to 75 PAR. Service d'Observation CORAIL from CRIOBE kindly provided the ecological monitoring data. They were monitored every-night until the spawning occurred in October 2011, nine days after the full moon (eight dafm) (21-10-2011, 22h10), October 2014, seven dafm (16-10-2014, 22h08). Spawning activity was monitored by assessing polyp gravidity, which were inflated and pink due to oocytes aggregation at the mouth of the polyp. At this stage gravid colonies were isolated in individual plastic aquarium. Coral gametes were collected by pipetting the released bundles during spawning, and stored individually for each spawning colony in a 50 mL tube (one per colony). Bundles were broken by gentle agitation of the tube. Oocytes and sperm from one tube were then passed through a plankton mesh (100 µm), that retained oocytes but not sperm. Oocytes, isolated on the mesh were rinsed five times with filtered (0.7 µm) sperm-free seawater and stored individually. Sperm from each spawning colonies was pooled in a tube, with an equal amount of sperm from each colony. Oocytes were pooled few minutes before the start of the experiment to avoid unwanted fertilization due to potentially remaining sperm attached to oocytes. Sperm concentration was estimated by counting the sperm solution on a hemacytometer. A similar method was used across the different years (2011, 2014) of experimentation.

III.2 Fertilization success and abnormal development experiments

Fertilization success and abnormal development experiments were carried out using around 200 oocytes placed in 20 mL glass vials filled with 10 mL of 0.7 µm filtered seawater (n = 15 replicates per temperature treatment), with a sperm concentration adjusted at 10⁶ sperm mL⁻¹ and kept in water baths at 5 nominal temperatures (26, 28, 30, 32, 34 °C) regulated by a Hobby® Biotherm Pro. Glass vials were left undisturbed for 4 h 30, to obtain important (>80%) fertilization success and embryonic development until morula stage (Oliver and Babcock, 1992). Fertilization and embryonic development processes were stopped, after the

elapsed time period by transferring embryos newly formed in 1.5 mL tubes containing seawater-formaldehyde solution (7%). After fixation (24 h) embryos were translocate and conserved in ethanol (70%) for 48 h and then pictured using a binocular microscope (Leica[®] M80, Leica Microsystems Inc, Buffalo grove, IL, USA). The proportion of successfully fertilized (2 cells, 4 cells, > 4 cells) and abnormally developed embryos (erratic dividing plans), were determined using the picture software Image J (Collins, 2007), for each vials (see Puisay et al., 2015).

III.3 Effect of gametes thermal history on the fertilization success

In order to test the role of thermal history of coral gametes on their subsequent fertilization, both gametes male and female were treated as independent life stages. Collection of the gametes was carried out using the same protocol as explained for fertilization success. Gamete thermal history was assessed using spermatozoids (S) and oocytes (O) pre-exposed for 0.5, 1.0, 1.5, and 2.0 h at 30°C separately, with control kept at 27°C for the same period of time. A total of 4 different types of crosses (n = 6 per cross) were performed: SO^{27} , $S^{30}O^{27}$, $S^{27}O^{30}$, SO^{30} , and assessed for their fertilization success rate at 27 and 30°C as described in fertilization success and abnormal development experiments.

III.4 Data analysis

Graphical and statistical analyses were carried out using the statistical software R (R Core Team, 2015). Data were first tested for their normality distribution using the Shapiro test, and then negative transformed by the arcsine of the square root. Significant differences through the fertilization success and abnormal development experiments were done using the analysis of the variance (ANOVA) pursued by a Tukey HSD post-hoc test (Zar, 1996). Data were represented as the means \pm standard errors. The significance level was set at $\alpha = 0.05$. The dose responses were analysed by computing a median Effective Concentration measure (EC_{50}) for sublethal response (fertilization success), which represents a decrease of the response analysed compared to control by 50 % (Rand, 1995). Thus, the thermal threshold of the fertilization success was calculated using the **ET**₅₀ for the median **Effective Temperature** after 4 h 30 (Puisay et al., 2018). Dose response and ET_{50} were calculated by using a logistic model from the package drc (dose-response models) for estimating effective doses (Ritz et al., 2015). To evaluate the effect of the thermal history of gametes on the fertilization success, we constructed three different Generalized Linear Models (GLM). The first model included fertilization success at 27 and 30°C. The second and third GLMs were constructed similarly but restricted respectively to each fertilization temperature (27 or 30°C). The best model was

selected based on model weights from Akaike information criterion using the package MuMIn (Multi Model Inference). Odds-ratio were estimated by using the package GGally (extension from ggplot2 to plot model coefficients).

Acknowledgements

We thank the CRIOBE staff for their help during the field collection and lab experiments. This work was funded by the French National Research Agency under the call “RPDOC 2010” with a project entitled “R-ECOLOGS”, number ANR-10-PDOC- 0013; the Labex CORAIL with a project entitled “ARCOS” (give the ANR code of the LABEX); the Ministère d’Outre Mer with a project entitled “AQUA-CORAL” and the Contrat Etat-Projet 2016-18. We also thank the National Center of Scientific Research and the “Ecole Pratique des Hautes Etudes” for their support. This work was support by a PhD grant from Association National Research and Technology in collaboration with CRIOBE laboratory and InterContinental Tahiti Resort and Spa.

Competing Interests

Authors declare no competing interests.

Authors’ Contributions

AP, RP and LH conceived the ideas and designed methodology; AP, RP, CG collected the data; AP and BP analysed the data. AP, LH and BP led the writing of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

Supplementary information

Table 1 : Generalized linear model on the fertilization success of the coral *Acropora cytherea* at 27 and 30°C. Results of restricted model at 27 and 30°C are also shown.

	Estimate	Std.error	z value	Pr (> z)	model
Fertilization temperature 30°C	-0.54910	0.19302	-2.845	0.004444**	27-30
Time	-0.01191	0.12225	-0.097	0.922419	27-30
O27xS30	0.07016	0.21079	0.333	0.739238	27-30
O30xS27	0.44008	0.21956	2.004	0.045033*	27-30
O30xS30	0.48908	0.22010	2.222	0.026278*	27-30
Fertilization temperature 30°C x Time	-0.59972	0.14501	-4.136	3.54e-05***	27-30
Fertilization temperature 30°C x O27xS30	-1.00276	0.26809	-3.740	0.000184***	27-30
Fertilization temperature 30°C x O30xS27	-0.44829	0.26317	-1.703	0.088496	27-30
Fertilization temperature 30°C x O30xS30	-0.18080	0.27235	-0.664	0.506778	27-30
Time x O27xS30	-0.04372	0.17023	-0.257	0.797315	27-30
Time x O30xS27	-0.74019	0.15682	-4.720	2.36e-06***	27-30
Time x O30xS30	-0.70096	0.16095	-4.355	1.33e-05***	27-30
Fertilization temperature 30°C x Time x O27xS30	0.48433	0.20358	2.379	0.017358*	27-30
Fertilization temperature 30°C x Time x O30xS27	0.49569	0.18574	2.669	0.007616**	27-30
Fertilization temperature 30°C x Time x O30xS30	0.65865	0.19366	3.401	0.000671***	27-30
Time	-0.01191	0.12225	-0.097	0.9224	27
O27xS30	0.07016	0.21079	0.333	0.7392	27
O30xS27	0.44008	0.21956	2.004	0.0450*	27
O30xS30	0.48908	0.22010	2.222	0.0263*	27
Time x O27xS30	-0.04372	0.17023	-0.257	0.7973	27
Time x O30xS27	-0.74019	0.15682	-4.720	2.36e-06***	27
Time x O30xS30	-0.70096	0.16095	-4.355	1.33e-05***	27
Time	-0.611623	0.077994	-7.842	4.44e-15***	30
O27xS30	-0.932595	0.165650	-5.630	1.80e-08***	30
O30xS27	-0.008207	0.145096	-0.057	0.9549	30
O30xS30	0.308280	0.160402	1.922	0.0546.	30
Time x O27xS30	0.440606	0.111654	3.946	7.94e-05***	30
Time x O30xS27	-0.244499	0.099539	-2.456	0.0140*	30
Time x O30xS30	-0.042309	0.107706	-0.393	0.6944	30

Table 2 : Results of the generalized linear model comparisons and *Pseudo R*² of both general model (27 30°C) and restricted to 27 or 30°C

	Df	logLik	LogLik modnull	AICc	delta	weight	<i>PseudoR</i> ²	model
Pre-exposure temperature	4	-1734,399	-1809,766	3477,012	1854,482098	0,00E+00	0,04164461	27-30
	4	-320,8056	-363,8839	650,0508	101,78046	7,92E-23	0,118384738	27
	4	-703,3118	-780,2976	1415,063	340,60188	1,09E-74	0,0986621	30
Pre-exposure time	2	-1555,8329	-1809,766	3115,729	1493,199518	0,00E+00	0,14031267	27-30
	2	-317,2566	-363,8839	638,6422	90,3719	2,38E-20	0,128137848	27
	2	-631,675	-780,2976	1267,479	193,0179	1,22E-42	0,190469124	30
Fertilization temperature	2	-1144,1816	-1809,766	2292,427	669,896903	3,18E-146	0,367773734	27-30
Pre-exposure temperature x Pre-exposure time x Fertilization temperature	16	-793,7106	-1809,766	1622,53	0	9,31E-01	0,561429157	27-30

Chapitre 3 : Thermal resistances and acclimation potential during coral larval ontogeny in *Acropora pulchra*

Article publié :

Puisay, A., Pilon, R., Goiran, C., Hédouin, L., 2018. Thermal resistances and acclimation potential during coral larval ontogeny in *Acropora pulchra*. *Mar. Environ. Res.* 135, 1–10. doi:10.1016/j.marenvres.2018.01.005

Antoine Puisay^{*a,b}, Rosanne Pilon^{a,b}, Claire Goiran^{b,c}, Laetitia Hédouin^{a,b}

^a PSL Research University: EPHE-UPVD-CNRS, USR3278 CRIOBE, BP 1013, 98729 Papetoai, Moorea, French Polynesia

^b Laboratoire d'Excellence "Corail"

^c ISEA, Université de la Nouvelle Calédonie, BP R4, 98851 Nouméa Cedex, New Caledonia

*Corresponding author email adress: antoine.puisay@wanadoo.fr

Abstract

Rising temperature can adversely affect specific functions of corals. Coral gametes and planulae of *Acropora pulchra* were evaluated to determine their temperature resistances, and the potential of developmental thermal acclimation was examined on gametes. Results highlight that fertilization success displays a relatively high thermal resistance at ET₅₀ (median effective temperature) $31.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ after 4 hours and 30 minutes. Additionally, probability of larval survival is halved at LT₅₀ (median lethal temperature) $28.4 \pm 0.42^\circ\text{C}$ after 14 days. The pre-exposure of oocytes to 30°C and 32°C for 1 hour increases the cell development pace during fertilization at ambient temperature. Pre-exposure of gametes, separately at 32°C for 1 hour, increases fertilization success rate by 63% at 32°C , conversely, pre-exposure to 30°C induces more variable results. These results evidenced the occurrence of developmental thermal acclimation as a result of thermal pre-exposure of oocytes.

Key-words: Carry-over effects; embryos; gametes; planulae; developmental acclimation; thermal stress.

I. Introduction

Coral reefs are built by the accretion of organisms that secrete calcium carbonate, notably scleractinian corals (Goreau, 1963). Scleractinian corals are stenotherms, which characterize animals that live in a narrow temperature range (e.g. 18–35 °C). Today, temperature rise associated with climate change is considered the principal limiting factor for the future of coral reefs (Terry P. Hughes et al., 2017). However, thermal tolerance of an organism can be influenced by its acclimatization and adaptation potential (Somero, 2010), which may have some consequences on how management of an area and restoration measures are deployed. Consequently, a need has emerged to assess the thermal resistance of species that host ecological functions and provide valuable goods and services, such as the scleractinian corals in coral reef ecosystems (Jones, Lawton, & Shachak, 1994; Moberg & Folke, 1999).

Corals live close to their upper thermal limits and an increase of 1 to 2 °C for one or two weeks or 3 to 4 °C for one or two days during the hottest season can lead to severe bleaching, followed by important mortality (Hoegh-Guldberg, 1999; Jokiel and Coles, 1990, 1977). Coral bleaching describes a process where the obligate algal photo-symbiont (i.e. *Symbiodinium sp*) is expelled following a synergistic effect of elevated temperatures and ultraviolet radiation that increase oxidative stress by production and accumulation of reactive oxygen species (ROS) (Lesser, 2011, 1997). Coral bleaching since its discovery in 1983 (Glynn, 1983) has been extensively studied and the concept of “winners” and “losers” was first introduced by Loya et al. in 2001 to describe coral traits, species and families tolerant or sensitive to increasing seawater temperature. This discrimination was first applied to compare different families, but it could also be used to describe inter-individual variations, as “dynamic” versus “static” genotypes have been found to drive functional variations in coral thermal resistance (Parkinson et al., 2015). Today, despite a broader understanding of the thermal resistance in adult coral populations (Howells et al., 2012; Jones et al., 2008; Maynard et al., 2008; Palumbi et al., 2014; Torda et al., 2017), our knowledge does not provide a complete picture on how early pelagic life stages cope with global warming and which mechanisms are implied. Among the works dedicated to the response of early coral life stages to thermal stress, data are currently available on gametes and embryos (Bassim et al., 2002; Edmunds et al., 2001; Negri et al., 2007), planulae (coral larva) (Edmunds et al., 2001; Heyward and Negri, 2010; Nozawa and Harrison, 2007), and recruits (Edmunds, 2005, 2004; Mumby, 1999). Research on pelagic coral life stages has not only sought to assess how thermal environment modifies the resistance of early stages, but also compared differences in

thermal resistances between populations from thermally variable environments (Howells et al., 2014; Polato et al., 2010; Woolsey et al., 2015). These works highlighted that under high temperature regime, coral embryos developed faster but a higher number of embryonic abnormalities were reported (Negri et al., 2007; Randall and Szmant, 2009). At the same time, the future of abnormal embryos remained uncertain (Strathmann et al., 2002). However, a real knowledge gap existed on individual coral gamete (oocytes or spermatozooids separately) responses before fertilization, notably how rising temperature during the first minutes of gamete release may have some carry-over effects for ulterior stages (embryo and planulae). In addition, we also lacked a pattern of thermal resistance in one species at different life stages, which made it difficult to predict the general response of coral species in the future. This shortage of data and understanding on early life stages might be concealing some important ecological issues, especially when thermal tolerances vary significantly across life cycles, as observed in terrestrial invertebrates (Bowler & Terblanche, 2008; Klockmann, Günter, & Fischer, 2016; Lockwood, 2017).

However, while documenting the decline of corals or assessing their sensitivity to environmental changes are key components, there is also a critical need to investigate new strategies that aim at helping corals to resist such changes. In this context, stress mitigation in corals has recently attracted the attention of scientists, and has become an issue of major interest with respect to the issue of climate changes (Grottoli et al., 2014; Palumbi et al., 2014). Hence, a new research area has grown from the theory that, using assisted evolution (van Oppen et al., 2015), we could better elicit an understanding of coral resistance patterns and provide new perspectives to coral restoration managers facing changes in the 21st century. Thus, interesting findings in recent years have shown that acclimatization processes could increase stress tolerance among corals. Yet, studies on corals acclimatization have largely been concentrated on varying seasonal or annual bleaching thresholds (Maynard et al., 2008) and parental effects following preconditioning (Brown and Cossins, 2011, Putnam, Davidson, & Gates, 2016; Putnam & Gates, 2015). Nevertheless, potential carry-over effects from gamete conditioning and developmental thermal acclimation in early life stages of corals remain unexplored. Nonetheless, an assessment of gene expression profiles in coral recruits during moderate acidification trials have underpinned that acclimation in early life stages can be led by the regulation of heat shock proteins (Hsp70) and anti-apoptotic (Bcl-2) genes (Moya et al., 2015). As acute or prolonged exposition to stress have demonstrated different up- and down-regulation of genes associated with stress, we assumed that a combination of a

certain time and intensity of thermal pre-exposure can improved thermal tolerance. Moreover, work on coral oocytes have demonstrated that oocytes possess antioxidant proteins (superoxide dismutase) in greater proportion than adults (Padilla-Gamiño et al., 2013), which implies that coral gametes can likely better deal with oxidation stress before fertilization, and that they can represent good time point for acclimation by virtue of potential maternal carry over-effects. Moreover, work by Scott & Johnston (2012) and Schnurr Yin & Scott (2014) revealed thermal acclimation in the early life stages of the fish *Danio rerio* (zebra fish) with positive and persistent effects in adults. Considering these studies as rational, we assumed that pre-exposure of coral gametes to moderate and high temperature (30 and 32 °C) should enhance their tolerance during fertilization and embryonic development.

The goals of this study were as follows 1) To assess the thermal sensitivity in pelagic life stages (oocytes, sperm, embryos, and planulae) of the coral *Acropora pulchra* and then 2) determine whether pre-exposure to thermal stress of gametes enhances their resistance during fertilization and early embryonic development at moderate (30 °C) and high (32 °C) temperatures.

II. Materials and methods

II.1 Corals and gametes sampling

Fragments (25 x 25 cm) of mature colonies (with pink coloured oocytes) of the broadcaster coral *Acropora pulchra* (Brook, 1891) were collected (1–1.5 m depths) a few days before the full moon in October (2011, 2013, 2014) from the lagoon of Moorea (17° 30' S, 149° 50' W, French Polynesia). The corals were placed in running seawater aquaria (open circuit, 3000-l aquarium, with water renewal: 30 % h⁻¹; T°: 26.3 ± 0.5 °C, salinity: 35; pH: 8.1 ± 0.1, and natural 12 h/12 h light/dark cycle, PAR: 75 (Service d'Observation CORAIL from CRIOBE kindly provided the ecological monitoring data) at the Center of Insular Research and Environment Observatory (CRIOBE). Spawning occurred on October 20, 2011 (at 20.55 hrs) 8 days after the full moon (8 dafm), October 27, 2013 (21.45 hrs) 9 dafm, and October 18, 2014 (21.00 hrs) 10 dafm. We collected the oocytes/sperm bundles released by each colony with 50 mL tubes (n = 1 per colony). A minimum number of 3 as well as a maximum of 10 colonies were used in order to carry out the experiments. Tubes were gently stirred to break-up oocytes/sperm bundles, which were then passed through a 50 µm mesh to separate oocytes and sperm. The oocytes remaining on the mesh were rinsed at least 5 times with 0.7 µm filtered sperm-free seawater.

Sperm from at least 3 spawning colonies were pooled together in the same 50 mL tube. A

hemacytometer was used to determine the sperm concentration. This final solution of sperm was used to carry out all the fertilization trials at a concentration of 10^6 sperm mL^{-1} (Nozawa et al., 2015) that allowed a high (>80 %) fertilization rate. The oocytes were also pooled together (at least 3 colonies) a few minutes before commencing the experiments.

II.2 Effects of rising temperature on coral pelagic life stages

I-Thermal threshold experiments

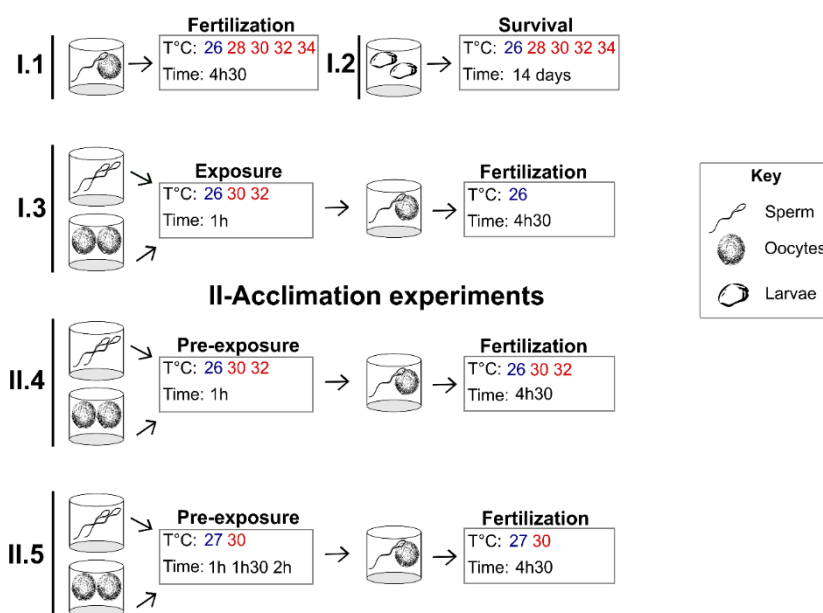


Figure 1 : Experimental scheme of the different experiences carried out in the present study: Numbers in bold represents the different experiments. Numbers in blue indicates control temperatures, and in red temperatures tested

2.2.1. Experiment 1: Successful fertilization and abnormal development trials

Successful fertilization and abnormal development (see Puisay et al., 2015) trials were carried out using approximately 200 oocytes placed in a 20 mL glass vials filled with 10 mL of 0.7 μm filtered seawater ($n = 15$ replicates per temperature treatment), with a concentration of sperm at 10^6 sperm mL^{-1} and held in water baths at 5 nominal temperatures (26, 28, 30, 32, 34 $^{\circ}\text{C}$) regulated by a Hobby[®] Biotherm Pro (Figure 1 I.1). The temperature was recorded every 15 minutes using data loggers (UA-002-64 HOBO[®], Onset Computer Corporation, Bourne, MA, USA). The vials were left undisturbed for 4 h 30 to maximize fertilization and embryonic development until the morula stage (Oliver and Babcock, 1992). Embryo formation was stopped by placing them in seawater-formaldehyde solution (7 %). After 48 h,

the embryos were transferred into 70 % ethanol and photographed using a binocular microscope (Leica® M80, Leica Microsystems Inc, Buffalo grove, IL, USA). For each vial, the proportion of normal (2 cells, 4 cells, > 4 cells) and abnormal cleavage (see Puisay et al. 2015) were calculated using Image J software (Collins, 2007).

2.2.2. Experiment 2: Larval thermal resistance

Batches of oocytes and sperm from several colonies were kept during the spawning event to raise planulae. Fertilization was performed as described above (see 2.2.1) at ambient temperature (26 °C). However, after 4 h 30, the fertilized oocytes were transferred to a 3 L plastic container filled with freshly filtered seawater. The seawater was changed every day and gentle bubbling was added after 48 h to avoid breaking the embryos (Heyward and Negri, 2012). The first swimming planulae were observed 72 h after fertilization. Larval survival (Figure 1 I.2) was calculated for 5 temperatures (26, 28, 30, 32, 34 °C), which were the same as those used for the fertilization success rate experiment (Figure 1 I.1).

At the beginning of the experiment, swimming planulae (n = 15) were placed in 40 mL vials (n = 7 per condition) containing 20 mL of filtered seawater and held in water baths controlled by a Hobby® Biotherm Pro at each desired temperature and under a natural dark/light regime (12 h/12 h). Half of the seawater was changed every two days. The number of planulae was recorded every 2 days for 14 days. Planulae were recorded as alive when their movement and/or integrity was observed.

2.2.3. Experiment 3: Gamete thermal sensitivity

To assess the sensitivity of oocytes and sperm to thermal stress before fertilization, batches of oocytes and sperm were separately exposed for 1 h to two temperature treatments: 30 and 32 °C, and control was kept at 26 °C (Figure 1 I.3). A total of 7 different crosses (n = 6 per crosses) were performed (SO^{26} , $S^{26}O^{30}$, $S^{26}O^{32}$, $S^{30}O^{26}$, $S^{32}O^{26}$, SO^{30} , SO^{32}). Once oocytes and sperm were mixed together, vials were left undisturbed for 4 h 30 at 26 °C, in accordance with the protocol described by Oliver and Babcock (1992). The same protocol, as described above (2.2.1), was used for assessing the percentage of normal and abnormal embryos. This experiment was referred as exposure because fertilization was carried out solely at 26 °C, and not at 30 and 32°C as in the pre-exposure experiments.

II.3 Pre-exposure of gametes to thermal stress

2.3.1 Experiment 4: Influence of the thermal intensity

The objective of this experiment was to test whether a 1 h pre-exposure of oocytes and sperm to the same thermal stress (30–32 °C) improved their capacity to fertilize and develop at medium (30 °C) and high (32 °C) temperatures.

The same protocol, as described in 2.2.3, was used to perform the crosses (n = 6 per crosses), and successful fertilization was assessed at 30 and 32 °C (Figure 1 II.4). Only the crosses where both sperm and oocytes were kept for 1 h at the same temperature were analysed: SO²⁶, SO³⁰, SO³².

These combinations of oocytes and sperm were left undisturbed for 4 h 30 at the control temperature treatment (26 °C) and at their respective pre-exposure temperatures (30 or 32 °C). The control for this experiment was the mix of gametes maintained at 26 °C (no pre-exposure, SO^{NP}) which was allowed to fertilize at 26, 30 and 32 °C. The same protocol, as described above (see 2.2.1), was used for assessing the percentage of normal and abnormal embryos.

2.3.2 Experiment 5: Influence of the pre-exposure time on the gametes

The objective of this experiment was to test whether the pre-exposure time influenced the capacity of oocytes and sperm to fertilize and develop with rising temperature (30 °C). The same protocol, as described in 2.2.3, was used to perform the crosses (n = 5 per crosses), while the time of pre-exposure was tested at 1 h, 1 h 30 and 2 h, and the successful fertilization was assessed at 27 and 30 °C (Figure 1 II.5). Sperm pre-exposed for 1 h were mixed with oocytes pre-exposed for 1 h. The other crosses (1 h 30 and 2 h) were obtained in a similar manner.

These combinations of oocytes and sperm were left undisturbed for 4 h 30 at the control temperature treatment (27 °C) and at 30 °C. The same protocol, as described above (see 2.2.1), was used to assess the percentage of normal and abnormal embryos.

II.4 Data analysis

All the graphical and statistical analyses were performed using the statistical software R (R Core Team, 2015). Data were first tested for normality using the Shapiro test and when negative, transformed by the arcsine of the square root. In order to test significant differences among the treatments, analysis of variance (ANOVA) followed by a Tukey HSD post-hoc test (Zar, 1996) were conducted for the total fertilization success rate and abnormal development

rate. Tests for significant differences among the several cell stages were obtained with the help of Tukey HSD post-hoc test for each specific cell stage. The differences among survival experiments were analysed using the log-rank test on the Kaplan-Meier curves (Kaplan and Meier, 1958), and the package survival (Therneau and Grambsch, 2000). Data were expressed as the means \pm standard errors. The level of significance was set at $\alpha = 0.05$.

In order to compute thermal thresholds for coral pelagic life stages, two major biological responses were targeted: the fertilization success rate and the larval survival. With regard to the response analysed (lethal or sublethal), the dose-response model commonly used in toxicological experiments allow the calculation of either a median Effective Concentration measure (EC_{50}) for sublethal response (fertilization success) or a median Lethal Concentration (LC_{50}) for lethal effect, which both decrease the response analysed compared to control by 50 % (Rand, 1995). Therefore, to assess the effects of increasing temperature on coral fertilization success and larval survival, we derived an **EC**₅₀, which is the median **E**ffective **T**emperature that halves the fertilization success rate compared to the control. For gametes, **ET**₅₀ was calculated on the total fertilization success rate (2 cells + 4 cells + > 4 cells / 2 cells + 4 cells + > 4 cells + unfertilized oocytes + abnormal embryos) after 4 h 30. For the larval survival rate, **LT**₅₀ at 6, 8, 10, 12, and 14 days of exposure was computed, representing the median **L**ethal **T**emperature that kills half of the larva compared to control treatment. Thus, **ET**₅₀ and **LT**₅₀ were calculated using the package drc (dose-response models) for estimating effective doses (Ritz et al., 2015).

III. Results

III.1 Effects of temperature on the pelagic life stages

3.1.1 Experiment 1: Fertilization success rate

At the ambient temperature (26 °C), fertilization success rate was recorded at 72.2 % for *A. pulchra* (Figure 2A). At 28 °C, no significant decrease was observed (63.9 %) in the fertilization success rate. The fertilization success rate significantly decreased from 72.2 % to 62 % at 30 °C ($P_{\text{Tukey}}=0.03$), to 22.1 % ($P_{\text{Tukey}}<0.001$) at 32 °C, and to 8.2 % at 34 °C ($P_{\text{Tukey}}<0.001$) (Figure 2A). Deformed embryos represented less than 4 % at 26 °C (Figure 2B). At 30 °C, the deformed embryo rate increased to 7.6 % and reached a maximum of 39 % at 32 °C (Figure 2B). At 34 °C, the proportion of deformed embryos was 16.5 %. The **ET**₅₀ for *A. pulchra* fertilization success rate was 31.5 ± 0.1 °C after 4 h 30.

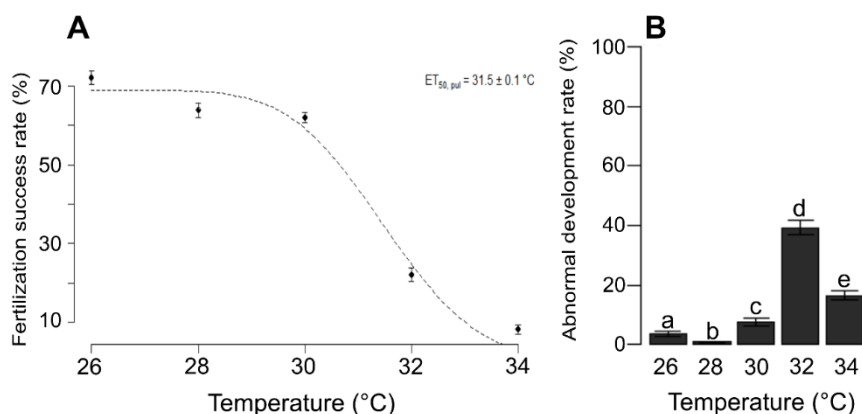


Figure 2 : Fertilization success rate (A) and abnormal development rate (B) associated with increasing temperatures from 26 to 34 °C (n = 3000 oocytes per treatment) in the coral *A. pulchra*. Error bars represent standard error. The dashed line represents the effective dose model. The presence of the same letter on different plots represents no differences based on Tukey's honest difference, with α set at 0.05.

3.1.2 Experiment 2: Larval survival rate

A high larval survival rate was recorded in the control treatment (26 °C, 90.5 %) for the entire duration of the experiment (14 days). The larval survival decreased to 72.4 %, after 14 days at 28 °C ($P < 0.001$, Figure 3A). The percentage of living planulae dropped from 91.4 % after 8 days to 2.9 % after 10 days at 30 °C (Figure. 3A). At 32 °C, the number of alive planulae decreased by 89.4 % between day 2 and day 4 (Figure 3A). Finally, at the highest temperature (34 °C), larval survival diminished to 4.8 % after 2 days of exposure ($P < 0.001$), and all planulae were dead after 6 days. LT_{50} for *A. pulchra* larval survival was calculated from the 6th day to the 14th day, and varied between 31.3 ± 1.9 °C after 6 days to 28.4 ± 0.4 °C after 14 days. A fall in the thermal threshold (LT_{50}) was observed between day 8 and day 10, which represents a reduction by 69 %.

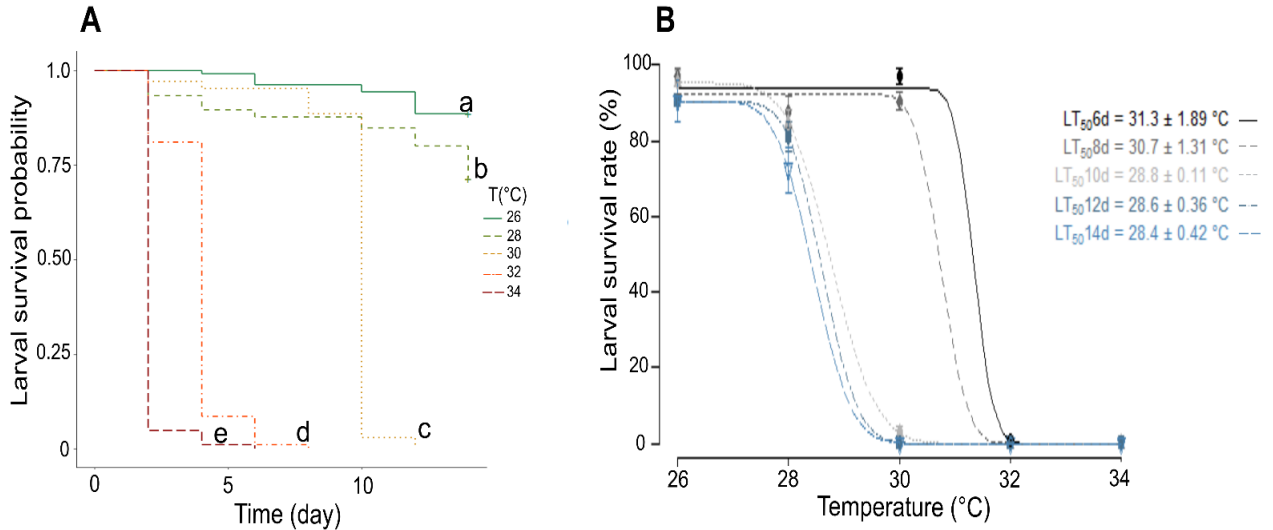


Figure 3 : Larval survival probability associated with rising temperatures from 26 to 34 °C (A), and larval survival rate (B) associated with days of experiment from 6 to 14 days (n = 15 larva per vial) in *A. pulchra* (n = 7 per temperature treatment). Curves represents larval survival probability at each temperature from the Kaplan and Meier method (A). The presence of the same letter on different curves represents no differences (A). The lines represent the lethal dose model at 6, 8, 10, 12 and 14 days (B). Error bars represent standard errors.

3.1.3 Experiment 3: Oocytes and sperm thermal sensitivity

The different exposure treatments of sperm and oocytes did not significantly alter the fertilization success rate, ranging from 59.7 to 73.4 % (Figure 4A, B, C), except when oocytes and sperm were separately exposed for 1 h at 30 °C (condition SO³⁰, Figure 4C). In the latter, the exposure of oocytes and sperm significantly increased the fertilization success rate to 80.4 % ($P_{Tukey} < 0.001$).

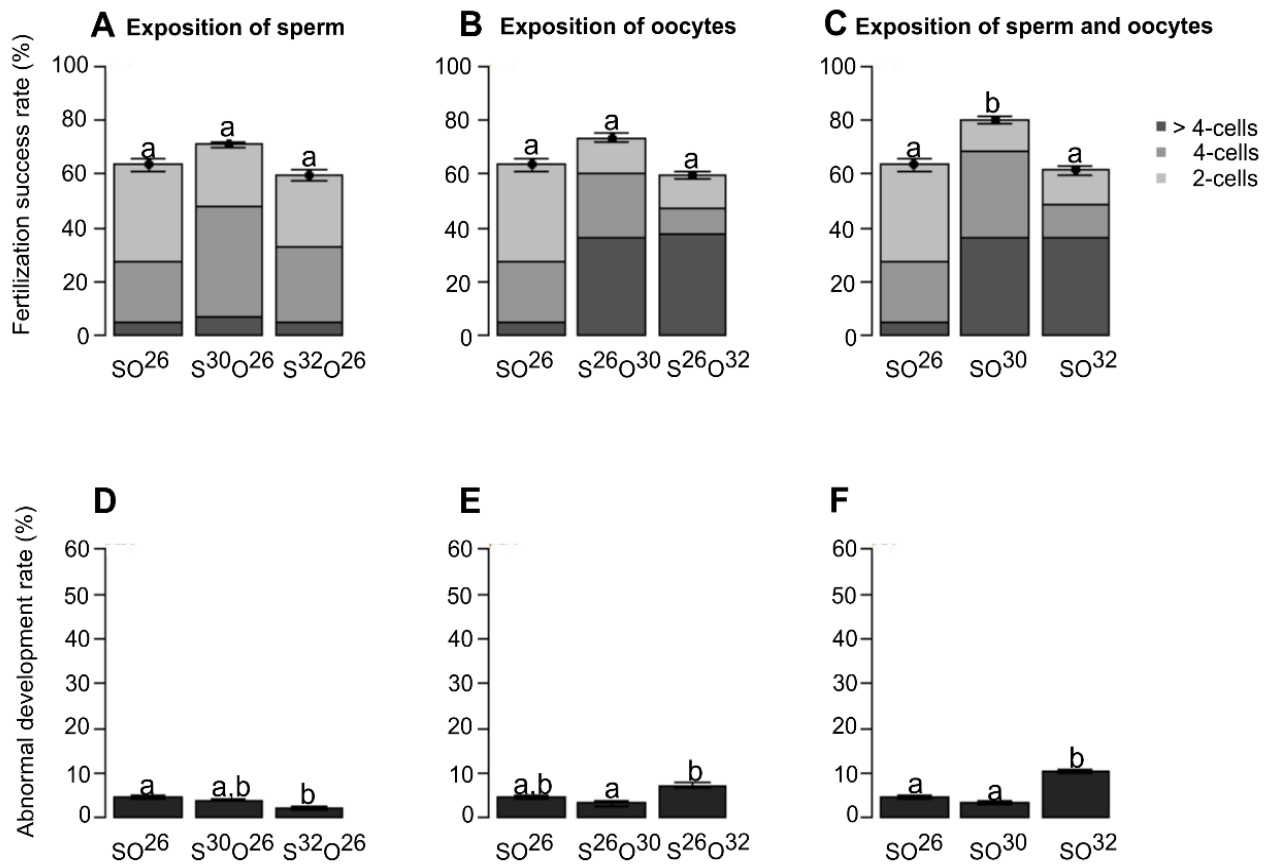


Figure 4 : Effects of exposure of sperm and oocytes separately for 1h at 26, 30 and 32 °C (n = 1200 oocytes per treatment) on fertilization success (A, B, C) and abnormal embryonic development (D, E, F) at 26 °C in the coral *A. pulchra*. S = Sperms, O = Oocytes. The number associated with S and O represent their exposition temperature. The presence of just one temperature means that both the gametes were exposed to the same thermal scope. Error bars represent standard errors. The presence of the same letter on different plots represents no differences Based on Tukey's honest difference, with α set at 0.05.

Interestingly, the cross of exposed oocytes to 30 and 32 °C with sperm maintained at 26 °C significantly increased the embryonic development speed ($P_{\text{Tukey}} < 0.001$, Figure 4B, C). In these conditions, embryos at > 4-cells stage increased 7.3–7.5 fold compared to the control treatment. However, no change was observed in the proportion of embryos at the > 4-cells stage, when sperm were exposed to 32 °C and crossed with oocytes maintained at 26 °C (Figure 4A). Abnormal development rate ranged from 3.2 (S²⁶O³⁰) to 4.7 % (SO²⁶) (Figure 4D, E, F) and showed no significant difference among the different treatments, with the exception of (a) sperm exposure for 1 h at 32 °C, which decreased the abnormal fertilization rate to 2 % (Figure 4A, D) and (b) exposure of both oocytes and sperm at 32 °C (SO³², Figure 4F), which significantly increased the abnormal fertilization rate to 10.3 %.

III.2 Influence of intensity and duration of thermal pre-exposure on gametes

3.2.1 Experiment 4: Intensity of thermal stressor

Gamete pre-exposure to 30 °C did not significantly increase the fertilization success rate at 30 °C compared to gametes not pre-exposed (NP), with fertilization success rates of 84.2 % and 73.5 % respectively (Figure 5A), but a significant reduction from 9.8 to 3.8 % was reported in the abnormal development rate ($P_{\text{Tukey}} < 0.001$). The 1 h pre-exposure of gametes at 32 °C significantly increased the successful fertilization rate at 32 °C from 13.6 (for gametes not pre-exposed) to 22.1 % (for gametes pre-exposed to 32°C) ($P_{\text{Tukey}} < 0.01$, Figure 5A). High and similar abnormal development rates were recorded at 32 °C for both pre-exposed and not-pre-exposed gametes (ranging from 46–49 %, Figure 5B).

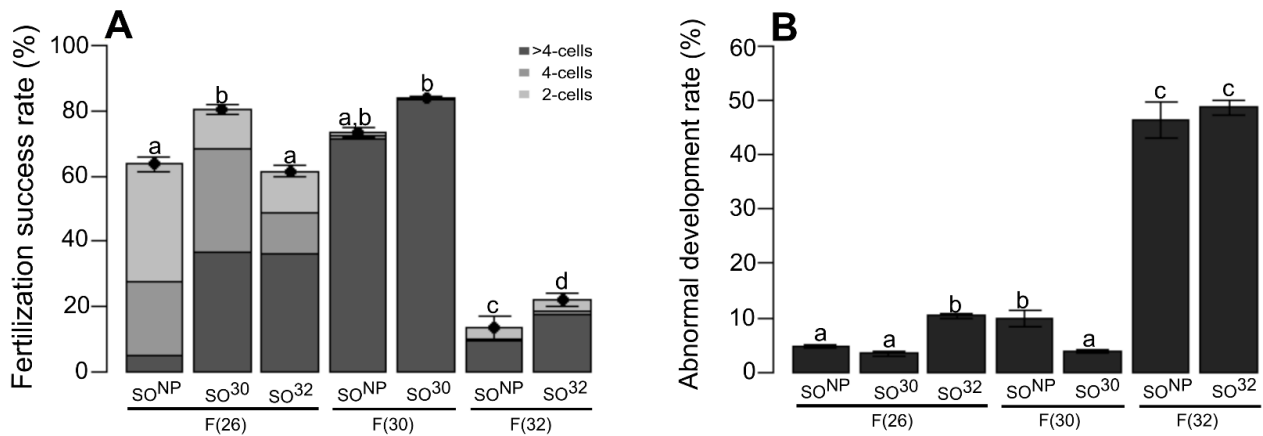


Figure 5 : Effects of 1 h pre-exposure of gametes to 30 and 32 °C ($n = 1200$ oocytes per treatment) on fertilization success (A) and abnormal development rate (B) at 26, 30 and 32 °C in the coral *A. pulchra*. S = Sperms, O = Oocytes. The number associated with S and O represent their pre-exposure temperature. NP = Not-Pre-exposed, F(X) = Fertilization Temperature (°C). The presence of the same letter on different plots represents no differences based on Tukey's honest difference, with α set at 0.05. Error bars represent standard errors.

3.2.2 Experiment 5: Duration of pre-exposure time

The pre-exposure of gametes at 30 °C from 1 h to 1 h 30 did not alter the successful fertilization rate at 27 °C (ranging from 88–94 %). The pre-exposure of both gametes at 30 °C for 2 h (SO^{30}) significantly reduced the successful fertilization rate at 27°C to 84.6 % ($P_{\text{Tukey}} = 0.004$, Figure 6C). When fertilization was performed at 27 °C, the different pre-exposure durations of gametes at 30 °C did not change the abnormal development rate (ranging from 2–3 %) (Figure 6G, H, I).

Pre-exposure of the oocytes for 1 h at 30 °C significantly increased ($P_{\text{Tukey}} < 0.01$) the successful fertilization rate at 30 °C ($\text{S}^{27}\text{O}^{30}$: 70 % and SO^{30} : 60 %) compared to the gametes

that were not pre-exposed (SO^{27} : 47 % Figure 6G). High abnormal development rate was observed at 30 °C with gametes maintained at 27 °C (SO^{27} : 40 %), whereas the pre-exposure of sperm and oocytes for 1 h at 30 °C, separately, decreased abnormal development rate by 24 % ($S^{30}O^{27}$) and 15 % ($S^{27}O^{30}$) respectively. When crosses were realised with both pre-exposed gametes, the abnormal development rate significantly dropped to 14 % (SO^{30}).

No differences were observed in fertilization success rate when pre-exposure durations lasted for 1 h 30 and 2 h (from 52 to 56 % and from 42.7 to 46.1 % respectively), nor in the abnormal development rate at 30 °C (from 23.7 to 26.9% and from 25.4 to 34.9% respectively) among the different treatments (Figure 6E, F, K, L).

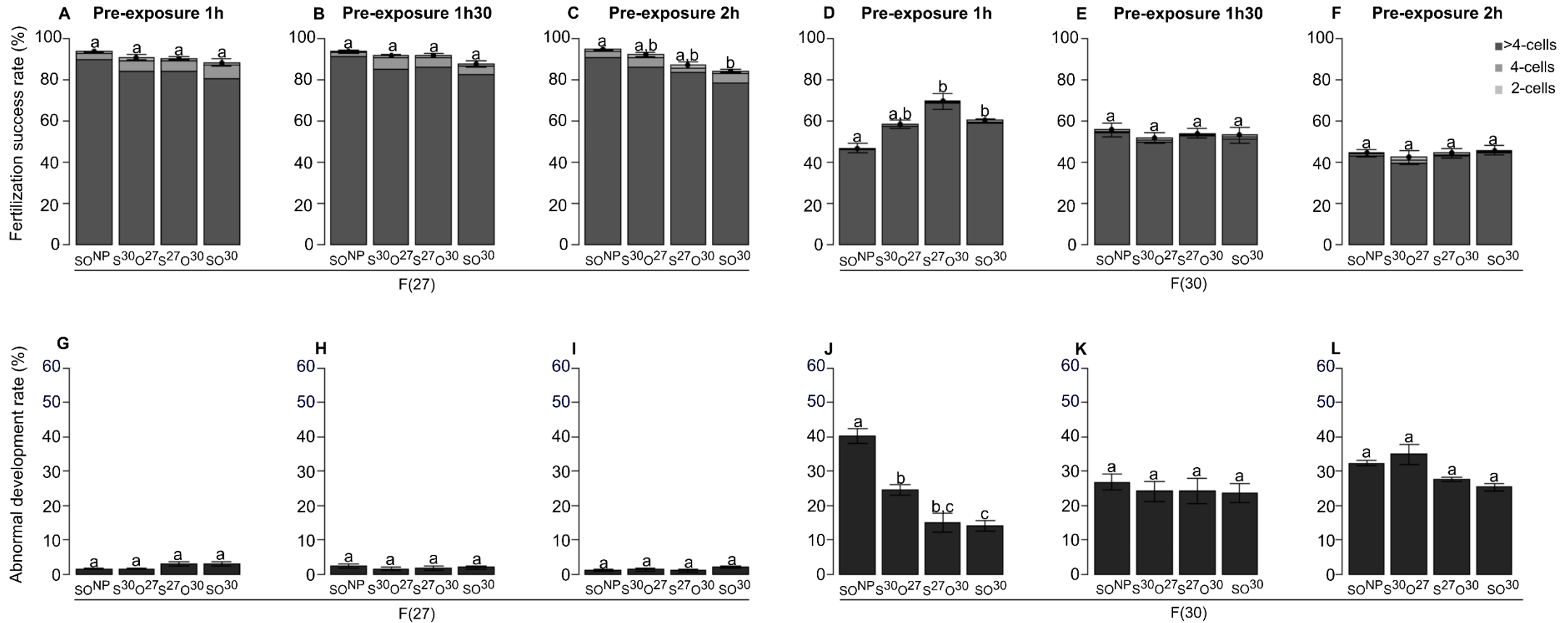


Figure 6 : Effects of 1 h, 1 h 30 and 2 h pre-exposure of gametes at 27 and 30 °C on fertilization success (A, B, C, D, E, F) and abnormal development rate (G, H, I, J, K, L) at 27 and 30 °C (n = 1000 oocytes per treatment) in the coral *A. pulchra*. S = Sperms, O represent their pre-exposure temperature. The exposure time was 1 h, 1 h 30, 2 h followed by 4 h 30 of fertilization at control (27 °C and 30 °C). The presence of just one temperature means that both the gametes were exposed to the same thermal scope. F(X) = Fertilization Temperature (°C). Error bars represent standard errors. The presence of the same letter on different plots represents no differences based on Tukey's honest difference, with α set at 0.05.

IV. Discussion

Temperature thresholds

Sexual reproduction is crucial for all organisms to ensure high genetic diversity, which is fundamental to resist climate change (Hoffmann & Sgrò, 2011; Reusch et al., 2005). Our results revealed that high temperatures (e.g. 32 °C and 34 °C) altered the successful fertilization of gametes and the survival of planulae of the scleractinian coral *A. pulchra*. Although these extreme temperatures (32 to 34 °C) are rare in French Polynesia, usually around 26.5 to 27.4 °C in October (Service d'Observation CORAIL from CRIOBE kindly provided the ecological monitoring data), they can be recorded during specific timeframes such as in October 2002, when temperatures reached 32.4 °C (Figure 7). Thus, high temperatures during the *A. pulchra* spawning period could drive a severe reduction in the diversity of newly formed individuals, from embryo to planula stage, thereby creating a detrimental bottleneck for this coral population (Keshavmurthy et al., 2014). Temperatures of 31.5–32 °C are already known to decrease physiological performance in corals, from gamete fertilization to larval survival (Albright and Mason, 2013; Bassim et al., 2002; Edmunds et al., 2001; Heyward and Negri, 2010). Nonetheless, it remains troublesome to compare the sensibility of coral species among these different works, since the number of temperature treatments and/or the increment of thermal intensity, the biological responses analysed, and the duration and period of experiments vary (Victor & Richmond, 2005). Moreover, the response of corals to environmental disturbances can differ among individuals (Parkinson et al., 2015), years (Penin et al., 2013), or even days of release (Hédouin and Gates, 2013). Hence, it became relevant to propose a common way to assess temperature threshold that is critical for the physiological system analysed. To do so, we derived a relevant toxicological metric to quantify and compare the toxicity of various compounds in an organism (the Effective Concentration EC₅₀) to quantify and compare the thermal tolerance of coral pelagic life stages. We therefore calculated ET₅₀ (for Effective Temperature that halves the fertilization process) and LT₅₀ (for Lethal Temperature that halves the larval survival). Moreover, as rising temperatures can impact gametes themselves, disrupting their capacity to fertilize or indirectly by impairing a regular embryonic development, we assumed we would provide a means to better understanding the impact of rising temperature on gametes and early embryonic development by distinguishing abnormal from normal embryos and quantifying the percent of abnormal embryos. ET₅₀ was computed in this study by regularly counting cleaved embryos (2-cells, 4-cells and > 4 cells) obtained after 4 h 30 at 5

temperatures. Our work revealed that for *A. pulchra*, a temperature of 31.5 ± 0.1 °C halved the fertilization success rate. Deformed embryos increased to 7.6 % at 30 °C and to 39.3 % at 32 °C, which is twice and 11-fold of that of the ambient temperature (3.6 %). Thus, as these findings are consistent with previous works on the *Acropora* genus (*Acropora palmata*, (Randall and Szmant, 2009); *A. millepora*, Negri, Marshall and Heyward 2007 respectively), and fertilization experiments ranging between 4 to 5 h allowed more than 80 % of fertilization as well as an embryonic development up to the morula stage in control conditions (Oliver and Babcock, 1992; Puisay et al., 2015), we believe that a 4 h 30 ET₅₀ calculated on regularly developed embryos could represent a relevant metric to assess impact of rising temperature on coral gamete fertilization. Our ET₅₀ of 31.5 °C represents an important physiological limit for the species studied.

The same problem of comparison arises with regard to coral larval survival. Although previous studies showed that a temperature increase of +2.0 °C above ambient significantly altered larval survival (Woolsey et al., 2015), we found that the time of experimentation can also drive important variations in the determination of larval survival threshold (Baird et al., 2006; Negri, Marshall and Heyward, 2007; this study), leading to difficulties in comparing inter-specific resistance of coral planulae. If a short duration of 4 h 30 is coherent to assess effects of increasing temperature on fertilization and early embryonic development, longer exposures are required to calculate relevant larval thermal thresholds. *Acropora*'s coral larval duration can extend from 2 days (Harrison and Wallace, 1990) to more than 200 days (Graham et al., 2008), with a larval settlement competency that can reach 91 days (Harrison et al., 1984). Computation of LT₅₀ showed that a temperature of 30.7 °C has the capacity to halve the larval survival of *A. pulchra* after 8 days of exposure, whereas if length of exposure increases to 2 d, it can lead to a drop in LT₅₀ to 28.8 °C. Since larval survival decreased significantly only after 10 days of exposure at 30 °C, other thermal stress experiment on larva performed on shorter duration (4, 6, 8 d) would have underestimated the deleterious effects of temperature on larval survival. The important reduction of the temperature threshold observed between 8 and 10 d also suggests the existence of a physiological limit for the species studied. *Acropora* planulae can settled in the first 10 days after their release as gametes (Harrison and Wallace, 1990; Hodgson, 1985), but in our experiment no appropriate settlement surface and no crustose coralline algae were provided to the larva (only freshly seawater in a glass vial), so the observed fall observed between 8 and 10 d of thermal exposure might be due to larval exhaustion on account of the search for appropriate settlement and/or lack of energetic

reserves to continue fighting thermal stress. As we highlighted the importance of thermal duration on the response of larval survival, we strongly believe that future research should develop more normalized thermal stress experiments, currently being conducted in toxicology, in order to obtain more standardized metrics on the effects of thermal stress on corals, which could be used to compare studies. Based on our results, we propose the use of an Effective Temperature (ET_{50}) after 4 h 30 for fertilization success experiments and a Lethal Temperature (LT_{50}) after at least 10 days for larval survival experiments.

Understanding how thermal stress alters the development of early coral life stages focused on key processes of the life cycle, such as fertilization, larval development, larval survival, larval metamorphosis, recruitment or early coral recruit survival, in previous studies (Mumby, 1999; Negri and Heyward, 2001; Nozawa and Harrison, 2007; Randall and Szmant, 2009). However, issues like how temperatures affect the initial stages of the pelagic phase, such as the gametes (oocytes and sperm) immediately after spawning and before fertilization, have not been explored to date. While oocytes and sperm in *Acropora* species are characterized by a short lifespan (less than 4 hours) (Fogarty et al., 2012; Oliver and Babcock, 1992) and the ability to condition larval survival facing thermal stress, their thermal sensitivity is still largely ignored (Baums et al., 2013; Harrison and Wallace, 1990). In our experiment (I.3), we first realized thermal exposure experiences on isolated sperms and oocytes, prior to performed fertilization at ambient temperature (26 °C) to decipher which among male and female gametes will be the more sensitive to rising temperatures. Our data revealed that a 1h exposure at 30 and 32 °C of male and/or female gametes separately has no negative effect on their ulterior capacity to successfully fertilize at 26 °C (ranging from 60 to 80 %). Exposure of both gametes at 30 °C even increases the successful fertilization rate. However, since the 1h exposure of sperm at 32 °C reduced the rate of deformed embryos (Figure 4D), this ultimately decreased the total amount of oocytes fertilized (normal + abnormal) and suggests that thermal exposure of sperm may limit its ability to fertilize oocytes. Second, the 1h exposure of oocytes alone at 30 and 32 °C led to a 7.4-fold increase of the proportion of embryos at > 4-cells stage (Figure 4B), without changing the abnormal development rate pattern or the successful fertilization rate (Figure 4B, 4E). The pattern of accelerated development at high temperature has been already described in scleractinian corals when performing fertilization at high temperatures (M. Bassim and Sammarco, 2003; Negri and Heyward, 2000; Randall and Szmant, 2009). However, our work showed that such patterns of accelerated development were similar when oocytes alone or when both gametes were

exposed at 30 and 32 °C, revealing that this faster development might be mainly driven by the thermal history of oocytes after expulsion and before fertilization.

While our experimental set-up was not designed to tackle the question of biological mechanisms, but based on data from the literature, several hypotheses related to oocytes metabolism were proposed in order to explain the acceleration of embryonic development at 30 and 32 °C. Mitochondria are at the centre of an organism's energy supply (ATP production) and thermal response as they host a pivotal role in controlling ROS, which can in some instances regulate proliferative responses (Das, 2006; Finkel, 2000, 1998). Mitochondria are also associated with the production of heat-shock proteins (Hsp) (Herrmann et al., 1994), notably involved in the initiation of cell division of fertilized oocytes (Browne et al., 2007). Thus, a plausible explanation of the acceleration of cell division patterns associated with exposure might be found in mitochondria functioning. Coral oocytes possess a higher number of mitochondria (Tsai et al., 2016) compared to sperm cells (Ramalho-Santos et al., 2009), and this may lead to an increase production of ROS and Hsp in female gametes cells.

Temperature acclimation

Since coral gametes were able to fertilize at the ambient temperature even after 1 h at 30 and 32 °C, we hypothesized that development acclimation may occur and performed experiments to test it. Our experiment showed that pre-exposure of sperm and oocytes for 1 h separately at 32 °C enhanced the successful fertilization rate by 63 % (Figure 5B).

However, when the temperature tested was lower (30 °C), results were contrasting in nature. Indeed, whereas no higher successful fertilization rate was recorded for the first trial, which was performed in 2013, of gamete pre-exposure to warmer conditions (Exp#1, Figure 5A), a positive effect of thermal acclimation was observed in 2014 (Figure 6D). However, this trend was not maintained when pre-exposure duration was extended to 1 h 30 and 2 h (Figure 6E, F), highlighting the importance of pre-exposure duration, and the absence of carry-over effects from these long-term pre-exposures. The increase in successful fertilization rate was also concordant with a significant reduction of abnormal embryos by 61 % (Exp#1, Figure 5C) and 63–65 % (Exp#2, Figure 6J), suggesting that gamete pre-exposure to warmer conditions may have activate a physiological process that had act both on fertilization and embryonic development. Moreover, the reduction of embryonic abnormalities observed for certain pre-exposure of gametes to temperatures might reflect an activation of defensive pathways in oocytes, allowing them to better cope with rising temperatures. Our work pointed

out that the importance of the first hour of gamete life for the ulterior development of coral embryos, and that in certain conditions of thermal duration and intensity, developmental acclimation of the pelagic life stages of the coral *A. pulchra* could be achieved. The mechanisms underlying such developmental thermal acclimation remains unclear, but rising temperature is generally associated with oxidative stress in corals (Hoegh-Guldberg, 1999), which is generally known as a serious stress for coral health, inducing bleaching and high mortality rate after prolonged exposure. However, oxidative stress may also trigger activation of defensive pathways, such as signalling molecules reviewed in Mittler (2002), in order to diminish the intracellular stress. We can hence hypothesize that thermal pre-exposure of coral gametes induced a precocious increase in intracellular oxygen reactive species that activate defensive pathways, such as manganese superoxide dismutase, which were found in high quantities in coral oocytes (Padilla-Gamiño et al., 2013). As embryos created from pre-exposed gametes undergo mitosis, cellular components can be shared between cells, such as potential stress-signalling and defensive molecules, which could explain the decrease in the abnormal development rate observed in embryos from thermally pre-exposed oocytes.

Another plausible explanation of this phenomenon could be due to an early production of heat shock protein in the oocytes, leading to an increase in the fertilization rate and a decrease in the abnormal development rate at high temperatures, as was previously found in the marine invertebrate *Paracentrotus lividus* (Sconzo et al., 1986). As mentioned earlier, mitochondria are present in high proportion in coral oocytes (Tsai et al., 2016) and can also produce Hsp involved in the acceleration of cell cleavage and the maintenance of physiological properties at high temperatures. Increased Hsp production in coral oocytes experiencing thermal pre-exposure is yet to be proven, but is considered as a valuable hypothesis for the observed patterns, as Hsp90 was detected in coral embryos (Voolstra et al., 2009), Hsp70 in coral fragments (Kvitt et al., 2016), and the role of mitochondria is thought to be relevant in rapid coral adaptation (Torda et al., 2017). More detailed investigation on the precise mechanisms underlying these results, using molecular biology analysis, would be required to fully understand how developmental thermal acclimation of gametes occurs.

The question of developmental thermal acclimation of early coral life stages has received little experimental support and there is much work left to be done. Our work is the first glimpse to support developmental thermal acclimation of pelagic coral life stages. However, this study focused on one coral species, *A. pulchra*, which lacks symbionts from oocytes to early planulae (Harrison and Wallace, 1990), and all the experiments were performed on

azooxanthellate (without symbiont) oocytes, embryos and planulae. The presence of symbionts inherited from parents in coral oocytes or planulae (e.g. *Montipora*, *Pocillopora*) may become an additional source of ROS, leading to more severe oxidative stress, as reported by Yakovleva et al. (2009). In addition, despite a 1.6-fold increase in successful fertilization rate after a short (1 h) pre-exposure at 32 °C, only 22 % of embryos were normally developed at the temperature. The ET₅₀ of 31.5 °C found for the fertilization success rate of this species thus appeared as a good estimate of the thermal thresholds of the gametes, and should be seen as a starting point to explore potential acclimation properties for the coral *A. pulchra*, because not only does the resistance of gametes can reach a threshold, but also the acclimation capacity of gametes. Future studies on coral pelagic stages should also wisely consider the timing and the intensity of the thermal pre-exposure, as the interaction of these parameters appear to be a central question for coral early developmental acclimation, as pointed out by Woolstra et al (2009). Finally, although our work provides positive results for assisting coral evolution theory (van Oppen et al., 2017, 2015) through developmental thermal acclimation, it seems essential to test whether the acclimation observed for the normally developed embryos is conserved at later stages, and analyse all the potential carry over-effects that may be induced. In the context of the recent surge in interest in the future of coral reefs in a changing world, any significant results emphasizing a slight increase in thermal tolerance of pelagic life stages through acclimation is of paramount importance. They would aid in designing coral restoration strategies that take into account the challenging conditions of the 21st century.

Acknowledgements

The authors acknowledge the Criobe technicians for their help during the field collection and lab experiments. The work was funded by the French National Research Agency under the call “RPDOC 2010” with a project entitled “R-ECOLOGS”, number ANR-10-PDOC- 0013; the Labex CORAIL with a project entitled “ARCOS”; the Ministère d’Outre Mer with a project entitled “AQUA-CORAL” and the Contrat Etat-Projet 2016-18. The authors thank the National Center of Scientific Research and the “Ecole Pratique des Hautes Etudes” for their support. We also thank two anonymous reviewers for their helpful comments on the manuscript.

Competing Interests

Authors declare no competing interests.

Authors' Contributions

AP and LH conceived the ideas and designed methodology; AP, RP and CG, collected the data; AP and RP analysed the data. AP and LH led the writing of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

Supplementary information

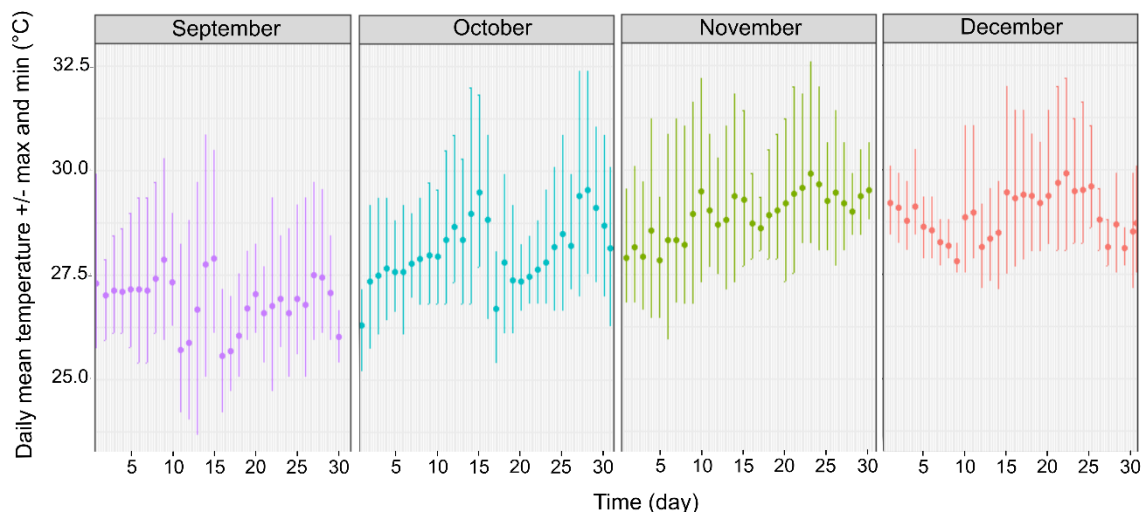


Figure 7 : Daily mean temperature +/- max and min from September to December 2002. These temperatures were recorded using HOBO® water Temp Pro V2 (Onset Headquarters, Bourne, MA, USA), every 1 h near the collection site (fringing reef Moorea, 17°28.940'S/149°53.985'W, French Polynesia) of the coral colonies studied.

Chapitre 4 : Thermal preconditioning of coral pelagic life stages as a promising alternative in the face of global warming

Antoine Puisay^{*a,b}, Rosanne Pilon^{a,b}, Claire Goiran^{b,c} , Louise Fouqueau ^{a,b}, Thomas Recanzone ^{a,b}, Laetitia Hédouin^{a,b}

^a PSL Research University: EPHE-UPVD-CNRS, USR3278 CRIOBE, BP 1013, 98729 Papetoai, Moorea, French Polynesia

^b Laboratoire d'Excellence "Corail"

^c ISEA, Université de la Nouvelle Calédonie, BP R4, 98851 Nouméa Cedex, New Caledonia

*Corresponding author: antoine.puisay@wanadoo.fr

Abstract

Increasing temperatures adversely affect coral reef ecosystems worldwide, which urge scientists to identify solutions to help corals adapting to this changing environment. For this reason, our work aims at understanding the sensitivity of coral planulae of *Acropora cytherea* to thermal stress, but also to investigate whether thermal pre-exposure treatments on coral embryos and larvae enhance the thermal tolerance of ulterior life stages. Results highlight that median Lethal Temperature that kills 50% of larvae (LT₅₀) after 6, 10 and 14 days is 32.0, 31.0 and 30.8°C respectively. Thermal pre-exposure experiments performed on 7-d old larvae, increasing by 56% their survival probability at 32°C, but did not lead to positive effects on embryos. Nevertheless, thermal (30°C) pre-exposure treatments on embryos enhanced the survival of larvae raised and maintained at 27°C. Moreover, for thermal pre-exposure on embryos and larvae, we outline a critical role of pre-exposure time on subsequent larva survivorship. For example, the pre-exposure of 7d-old larvae to 32°C from 1 to 6 h decreases larval survival probability at 27 and 32°C, while longer pre-exposure (12 and 24 h) to 32°C increases their larval survival probability by 94% at 27°C and by 56% at 32°C. Thus, our work revealed that thermal pre-exposure time during embryo and larvae stages of the coral *A. cytherea* may play a pivotal role onto the thermal tolerance of ulterior stages. The mechanisms underlying these response remains unknown, but these results are promising if we are to “assist” corals to face ongoing climate change.

Key-words: Corals; embryos; planulae; developmental acclimation; thermal stress.

I. Introduction

Climate changes driven by human activities and natural cycles have already transformed terrestrial and marine ecosystems worldwide (Parmesan, 2006). Among environmental changes, rising temperature can be considered as one of the most threatening factors for ecosystems and organisms functioning (IPCC, 2014). Coral reefs are among the most diverse ecosystems on earth (Fisher et al., 2015). However they are continuously and increasingly threatened by anthropogenic and environmental perturbations such as thermal anomalies (Burke et al., 2011), as observed worldwide in 1998, where 16% of global coral reefs disappeared (Wilkinson, 2000). Recently the massive coral bleaching event of 2014-2017 (Eakin et al., 2016) lead to dramatic consequences on coral reefs assemblages, with for example the loss of 20% of corals in the Great Barrier Reef in Australia during a single event (Terry P. Hughes et al., 2018).

Corals are defined as stenotherms, which are organisms that can only support small variation of temperature and that live close to their upper thermal limits. An increase of 1°C for several weeks during the hottest season in synergy with high luminosity can lead to the disruption of the symbiosis between the host (coral) and their obligate photo-symbionts (*Symbiodinium spp.*, Hoegh-Guldberg, 1999). This leads to massive bleaching events and, in extreme cases, to massive mortality as corals are deprived from their main source of energy.

Attempt to understand the effects of thermal stress on corals have focused almost entirely on adult stages (Freeman et al., 2001; Oliver and Palumbi, 2011; Penin et al., 2013; Schoepf et al., 2015). These studies provides valuable information to better understand underlying biological mechanisms associated to coral bleaching (Lesser, 2011, 2006) and the capacity of certain species and/or individual to acclimate and adapt to rising thermal stress (Loya et al., 2001; Maynard et al., 2008; McClanahan, 2017; Penin et al., 2013). However, the number of studies on the response to thermal stress of early life stages of corals is reduced compare to adult stages. This oversight is likely related in part to the challenges of working with early life stages, such as rarity of spawning events (few nights per years), lack of knowledge on the timing of coral spawning events and/or difficulties to gather biological material (e.g short spawning period, short gametes lifespan -few hours-, night sexual reproduction pattern). Nonetheless, knowledge on early life stages shows an higher sensibility to thermal variation of early life stages than adults (Putnam et al., 2010), as previously observed for other marine organisms (His et al., 1999; Mohammed, 2013). Exposure to +2 to 3°C above ambient

temperature during few hours or few days lead to a diverse range of adverse effects on early life stages, from reduction of fertilization success, increase of deformed embryos, decline of larval survival rate to drop of recruitment rate (Bassim et al., 2002; M. Bassim and Sammarco, 2003; Edmunds, 2004, 2005; Nozawa and Harrison, 2007; Puisay et al., 2018; Randall and Szmant, 2009). Thermal sensitivity during pelagic life phase is likely linked to the radical morphological, organizational and physiological transformations undergone during pelagic life stages from a single cell to a multi-cellular organism over a short period of time. Each molecular mechanism controlling reorganization and transformation of the organism during its early development may be altered by changes in environment conditions, and this could in turn profoundly mark ulterior performances of pelagic life stages to stress exposure (Christian R Woolstra et al., 2009).

If there are compelling evidences that environmental warming causes damaging effects on coral pelagic life stages, there are reasonable grounds to expect that developmental plasticity can optimize performances of subsequent life stages. Testing hypothesis that thermal amplitude in which corals may perform and survive could increase is of capital importance in the face of global warming, if we are to improve survival probabilities of corals in our changing world. Considering the unequivocal trend of warming on Earth associated to high inertia to globally stop this problem, scientists have reflected on new concepts and alternatives to increase time left to coral populations in order to adapt to the pace of climate changes (Torda et al., 2017; van Oppen et al., 2015). One of the potential solutions to the global warming issues, if we are unable to fix it, seeks to improve coral resistances by human assisted evolution (van Oppen et al., 2015). The different solutions proposed in this new area of research are based on preconditioning, selective breeding, and symbiont improvement. For example, as some corals associated with *Durusdinium sp* (Clade D *Symbiodinium spp*) (LaJeunesse et al., 2018) are able to withstand high thermal stress (Berkelmans and van Oppen, 2006; Stat and Gates, 2011), inoculating azooxanthellate larvae (without *Symbiodinium spp*) with high thermo-tolerant *Symbiodinium* may be an alternative to promote their tolerance. Furthermore, recent work provides proof of transgenerational acclimatization in the coral *Pocillopora damicornis*, as preconditioning adults in warmer and/or more acidic water increases performances of their progeny experiencing same environmental scenario (Putnam and Gates, 2015).

Phenotypic plasticity is considered as one of the mechanisms allowing rapid adaptive response in a changing world, in a variety of animals (e.g. vertebrate, Charmantier et al.,

2008; corals, Torda et al., 2017). Evidence of transgenerational acclimation in coral offspring has been demonstrated through preconditioning of genitors (Putnam and Gates, 2015), yet developmental acclimation during pelagic phase remains underappreciated. To the best of our knowledge, only two works revealing acclimation potential have been published recently (Moya et al., 2015; Puisay et al., 2018). These studies give an insight into the plasticity of coral performance during their early life stages at ecophysiological and molecular levels. Although evidences of phenotypic plasticity in early life stages of corals remain scarce, beneficial effects of developmental acclimation has been proven for other biological model organisms (Beldade et al., 2011; Leroi et al., 1994; Graham R Scott and Johnston, 2012). For example, Scott and Johnston (2012) showed that a brief thermal exposure during embryogenesis improves thermal tolerance of adult stages of zebra fish *Danio rerio*. Understanding and defining the conditions that increase thermal tolerance in corals are of global importance considering the global crisis that faces coral reefs today.

Using these data as rationale, we used two pelagic life stages of the coral *Acropora cytherea* (embryos and larvae) to assess how pre-exposure to thermal stress influence survival probability of later life stages to rising temperature. For this, we manipulated thermal environment that larval life stages experienced to first characterize their lethal temperature and then to identify the optimal pre-exposure conditions that embryos or larvae should experience to enhance performance of subsequent larval life stages in a warming world.

II. Material and methods

II.1 Temperature changes in Moorea reefs

In order to test ecologically relevant thermal variation, temperature was recorded every hour on two sites of Moorea reefs along the radial of Tiahura, on the fore reef at 3 m depth (17°28.940 S, 149°53.985 W) and on the fringing reef (17°29'21.64"S, 149°54'8.91"W) from 1998 to 2015 with U22 HOBO Water Temperature Pro v2 Data Logger (Onset). Temperature data from different years were pooled together to reveal the variability of temperature recorded in the fringing reef, as well as average and maximal temperature during spawning months (September to November).

II.2 Coral and gamete collection

Ten fragments (25x25 cm) of gravid coral colonies of the broadcast spawner *Acropora cytherea* (Dana, 1846) were collected from the fringing-reef (1-1.5 m depths) of Moorea,

French Polynesia (17°30' S, 149°50' W) and bring into aquaria at the Center of Insular Research and Observatory of Environment (CRIOBE), two days before full moon of the expecting spawning date (Carroll et al., 2006). Coral fragments were maintained in open circuit aquarium (3000 L; T°C: $26.3 \pm 0.5^\circ\text{C}$, salinity: 35; pH: 8.1 ± 0.1), with a natural 12 h/12 h light/dark cycle corresponding to photosynthetic active radiations recorded between 50 to 75 PAR (Service d'Observation CORAIL from CRIOBE kindly provided the ecological monitoring data) and monitored every-night until the spawning occurred in October 2011, 9 days after the full moon (9 dafm) (21-10-2011, 22 h 10). When signs of forthcoming spawning were observed (inflated polyps), colonies were isolated into plastic cylinders with sieve. When spawning occurred, coral gametes from each colony were collected by pipetting released bundles (pack of oocytes and sperm) at the surface and stored individually in a 50 mL tube (n = 1 per colony). Bundles were broken by gentle agitation of the tube. Oocytes and sperms from one tube were then passed through a plankton mesh (100 μm) to separate oocytes from sperms. Isolated oocytes were rinsed five times with filtered (0.7 μm) sperm-free seawater and stored individually for each colony. Sperms from spawning colonies were pooled in a tube, with an equal amount of sperms from each colony.

II.3 Larval thermal resistance

Experiments were performed on October 2011, 9 dafm. For coral larvae, oocytes were pooled few minutes before the start of the fertilization experiment and a concentration of sperm of 10^6 sperm mL^{-1} measured with a hemacytometer was added. Gametes were left undisturbed for 4 h 30. After 4 h 30, embryos were gently transferred into 3 plastic containers filled with 3 L of filtered (0.7 μm) seawater. Seawater was changed every day, and gentle bubbling was added after embryos reached their peer-shaped stage (48 h) to avoid breakage and clonal embryos (Heyward and Negri, 2012). 7d-old larvae (n = 15) were introduced into 40 mL glasses vials (n = 7) containing 20 mL of filtered (0.7 μm) seawater, held in 5 water-bath heated at 5 controlled (Hobby® Biotherm Pro) temperatures 26, 28, 30, 32 and 34°C . Water changes (a third of the volume) was performed every two days. The number of alive larvae (movement and/or integrity observed) was recorded every 2 days for 14 days.

II.4 Improving thermal survival of coral larvae

II.4.1 Pre-exposure of embryos

Experiments were performed on October, 16th 2014 (7d after the full moon) between 22 h 08 and 22 h 38. Gamete treatment (collection, separation) was the same as describe in II.1. The

influence of thermal preconditioning on coral embryos on the subsequent survival of larvae was tested. To do that, sperms and oocytes were fertilized at 27°C (control, called Not Pre-exposed -NP-) and 30°C (Pre-exposed -P-) for 0, 30, 120, and 270 min. After the different pre-exposure times, NP and P embryos from the 8 different treatments (n = 600 per condition) were transferred into individual rearing systems with running seawater at 27°C for 4 days.

Survivorship of 4d-old larvae reared in each condition were then assessed at 27 and 30°C for 14 days. To do that, 10 larvae were introduced into glass vials (20 mL, n = 10 per condition), containing 10 mL of filtered (0.7 µm) seawater, and placed into water-baths at 27 and 30 °C for each of the pre-exposure time conditions tested (0, 30, 120, 270 min). Survival of larvae was performed as described in the larval thermal resistance trial (see II.2).

II.4.2 Pre-exposure of larval stages

Experiments were performed on October, 6th 2015 (7d after the full moon) between 22 h 15 and 22 h 45. Gamete treatment (collection, separation) was the same as described in II.1. Larvae were reared as described previously (see II.1-II.2). 7d-old larvae were introduced into 20 mL glass vials (n = 20 per condition, n=10 larvae per vial), maintained at 27 and 32 °C for 1, 6, 12 and 24 h. Pre-exposure was carried out as follow: Oct-13th, 2015 at 19 h (for the 24 h exposure), Oct-14th, 2015 at 07 h (12 h exposure condition), Oct-14th, 2015 at 13 h (6 h exposure condition) and on Oct-14th, 2015 at 18 h (1 h exposure condition). Larval survival experiments were launched directly after pre-exposure on Oct-14th, 2015 at 19 h. Survival capacity of thermal pre-exposed larvae (n=10 vials per condition, n= 10 larvae per vial) from each pre-exposure duration (1, 6, 12 and 24 h) and control larvae was performed as described in the larval thermal resistance trial (see II.2).

II.5 Data analysis

Graphical and statistical analyses were carried out using the statistical software R (R Core Team, 2015). Significant differences among larval experiments were done using the log-rank test on the Kaplan-Meier curves (Kaplan and Meier, 1958) using the package Survival (Therneau and Grambsch, 2000). Data were represented as the means ± standard errors. The significance level was set at $\alpha = 0.05$. A logistic dose-response model was computing to determine, median Lethal Concentration (LC₅₀), describing lethal response (larval survival), which represents a decrease of the survival rate compared to control by 50 % (Rand, 1995). Thus thermal threshold for larval survival was determined by deriving LC₅₀ into LT₅₀ for the median Lethal Temperature after 6, 8, 10, 12, and 14 days, as recently carried out in Puisay et

al., 2018). LT_{50} was calculated using the package drc (logistic dose-response models) for estimating lethal doses (Ritz et al., 2015).

III. Results

III.1 Temperature range in Moorea reefs

On a yearly basis, mean average temperature in the fringing reef ranged from 26.52°C in August (coldest month) to 29.04°C in March (hottest month) and from 26.62°C (September) to 28.97°C (March) on the fore reefs (Figure 1). During spawning months of *A. cytherea* (September to November), average temperature increases from 26.72°C to 28.0°C and from 26.62 to 27.67°C on the fringing and fore reefs, respectively. Temperature on the fringing reef displayed a larger variability, with values ranging from 21.56 to 32.97 during the spawning period, compared to temperatures recorded in the fore reef, ranging from 24.39 to 29.84°C.

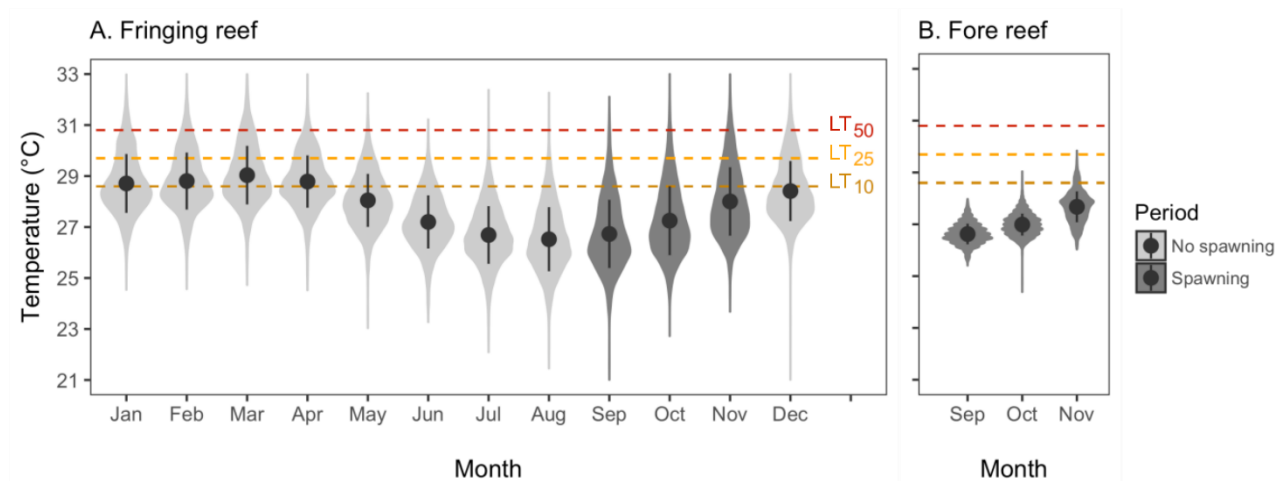


Figure 1 : Temporal changes of temperature over consecutive months in the (A.) fringing reef and (B.) fore reefs of Tiahuara, Moorea island, from 1998 to 2015

III.2 Effects of increasing temperature on larval survival

High survival rates were recorded after 14 days at 26 and 28°C (59.0 and 69.5%, respectively) and no difference was observed between treatments (Figure 2A, B). A small significant decrease in larval survival was observed at 30°C compared to 28°C (53.3 % of larval survival after 14 days, Figure 2B). Larval survival probability significantly decreased rapidly at 32 and 34 °C ($P < 0.001$). After 2 days at 32 and 34°C, 38.1 and 90.5 % of the larvae were recorded dead, respectively. No larva was observed alive at 34 °C after 4 d. After 14 d at 32°C, 81.0% of the larvae were recorded as dead. Lethal temperatures (LT_{50}) of the larvae decreases as time of exposure increases. LT_{50} was $32.0 \pm 0.34^{\circ}\text{C}$, $31.0 \pm 0.33^{\circ}\text{C}$ and $30.8 \pm 0.29^{\circ}\text{C}$ after 6,

10, and 14 days, respectively (Figure 2A). Median lethal thermal limits of larvae decreased by 0.5°C every two days from day 6 to 10, and then by 0.1°C every two days from day 10 to day 14 (Figure 2C). The LT_{10} and LT_{25} was $28.6 \pm 0.62^{\circ}\text{C}$ and $29.6 \pm 0.45^{\circ}\text{C}$ after 14 days. The estimated values of LT_{10} , LT_{25} and LT_{50} showed a decreased until 10 days of exposure and then remains relatively stable (Figure 2C).

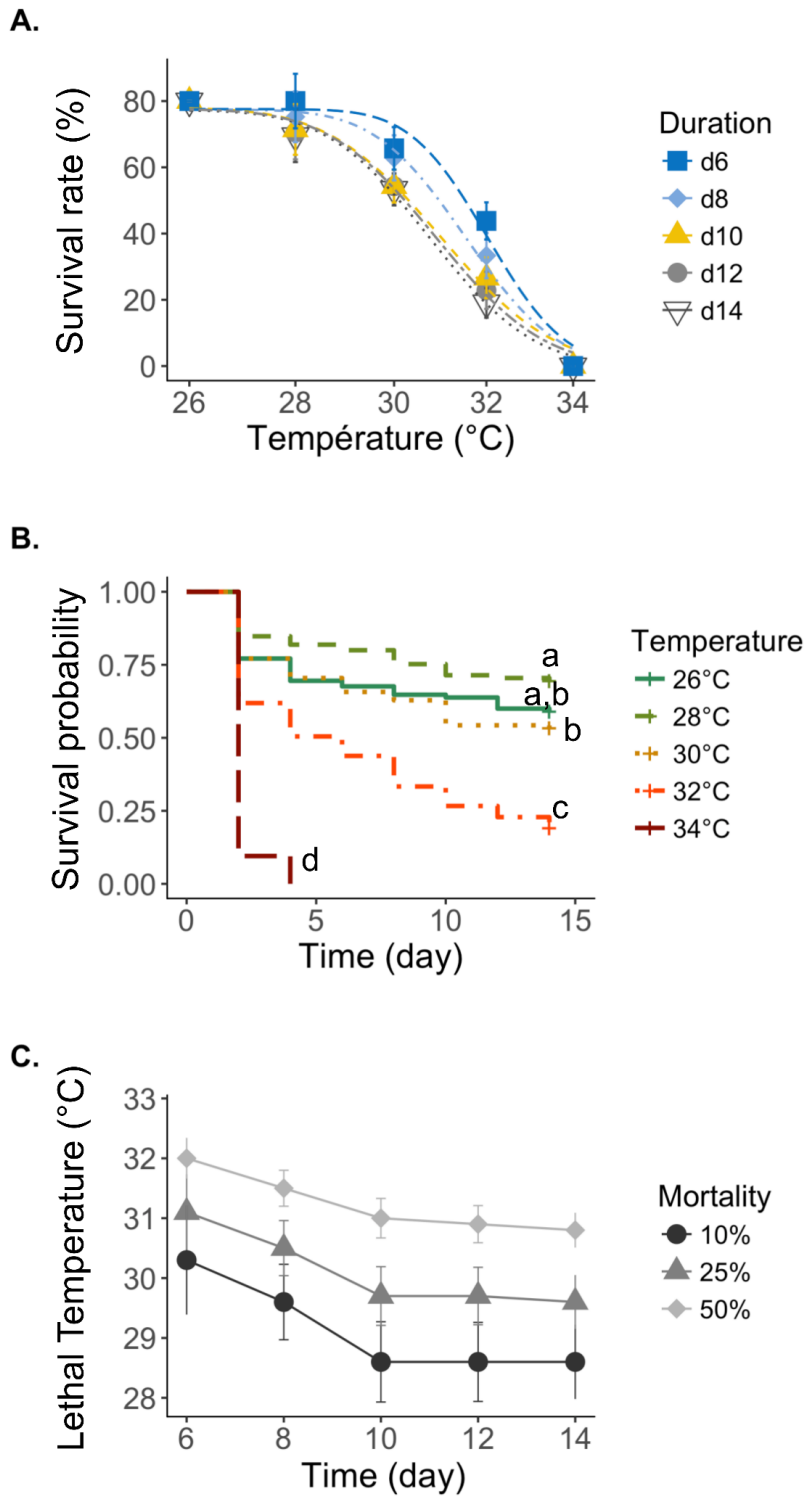


Figure 2 : Larval survival probability of the coral *Acropora cytherea* exposed to five temperatures (from 26 to 34°C): (A) Survival as a function of duration (dose model response); (B) Survival as function of temperature (Kaplan and Meier's curves) and (C) Lethal Temperature estimated for 10, 25 and 50% of mortality as a function of time. Different letters represent significant differences based on log-rank test. Error bars represent standard

III.3 Improving thermal survival of coral larvae

III.3.1 Pre-exposure during embryo development

For not pre-exposed (NP) embryos, no effect of temperature (27 and 30°C) was recorded (52 and 46% of larval survival after 14 days, respectively, Figure 3).

Embryonic pre-exposure at 30°C for 30 min decreased larval survival probability at both 27 and 30°C after 14 d of experiment compared to NP embryos (32 and 21.3% respectively, $P < 0.001$, Figure 3A). Larvae raised from pre-exposed (P) embryos have a similar survivorship at 27 and 30°C for 14 days.

Embryonic pre-exposure at 30°C for 120 min decreased significantly larval survival after 14 days at 30°C ($P < 0.01$), with 23% of larval survival compared to 46% for not pre-exposed embryos (Figure 3B). Embryonic pre-exposure at 30°C for 270 min increased larval survival after 14 d at 27°C ($P < 0.01$, 74% of survival vs 50% NP embryos, Figure 3C). However the 270 min pre-exposure to 30°C of embryos did not significantly change the larval survival at 30°C (46%), compared to not-pre-exposed embryos (40%, Figure 3C).

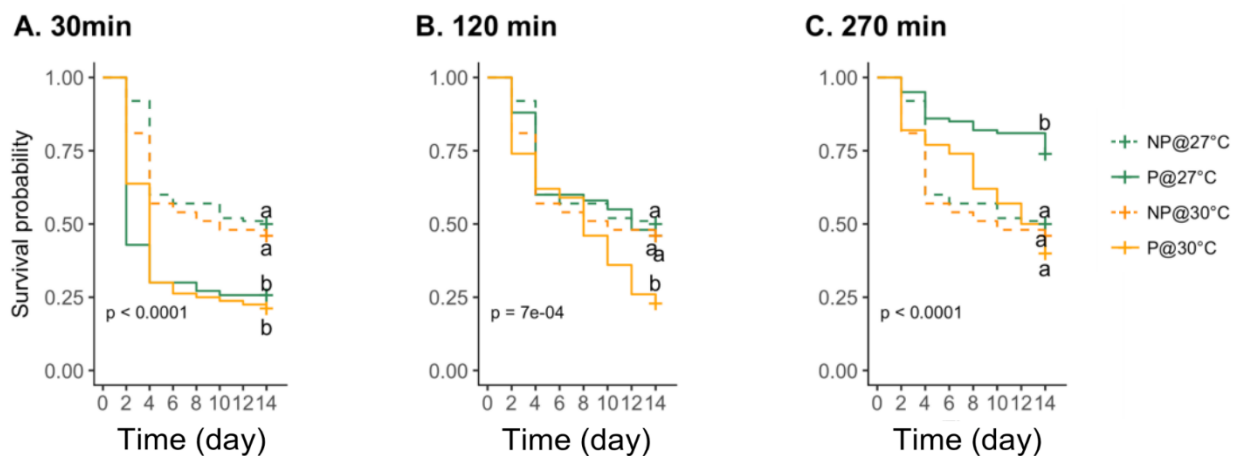


Figure 3 : Effects of thermal pre-exposure on embryos during (A) 30 min, (B) 120 min and (C) 270 min on the larval survival probability at 27 and 30°C. NP = Not pre-exposed (dot line), P= Pre-exposed at 30°C (full line). @ = survival at X°C. Lines represent Kaplan and Meier curves. Different letters represent significant differences, based on log-rank test.

III.3.2 Pre-exposure during larval stage

Pre-exposure (P) of 7d-old larvae to 32°C for 1 h significantly decreased later larval survival probability at 27°C (53%, $P = 0.032$) and 32°C (23%, $P = 0.023$), compared to not-pre-exposed (NP) larvae (66 and 36%, respectively, Figure 4A). Increasing larval pre-exposure time to 6 h did not lead to any significant difference on the larval survival at 27°C between P

and NP larvae (56 and 63%, respectively). However a lower survival probability (13%) of P larvae was recorded compared to NP larvae at 32°C (62%, $P < 0.001$, Figure 4B). After a larval pre-exposure of 12 h at 32°C, a significant increase of larval survival probability was recorded at 27°C (70% vs 40%, for control, $P < 0.001$). Similar trend was observed when larva survivorship was assessed at 32°C: pre-exposed larvae harbored a slightly significant higher survival rate (38%) compared to NP larvae (23%, $P = 0.025$, Figure 4C). After 24 h, larval pre-exposure at 32°C increased larval survival both at 27°C (66 vs 34%, respectively, $P < 0.001$) and 32°C (42 vs 12%, $P < 0.001$, Figure 4D).

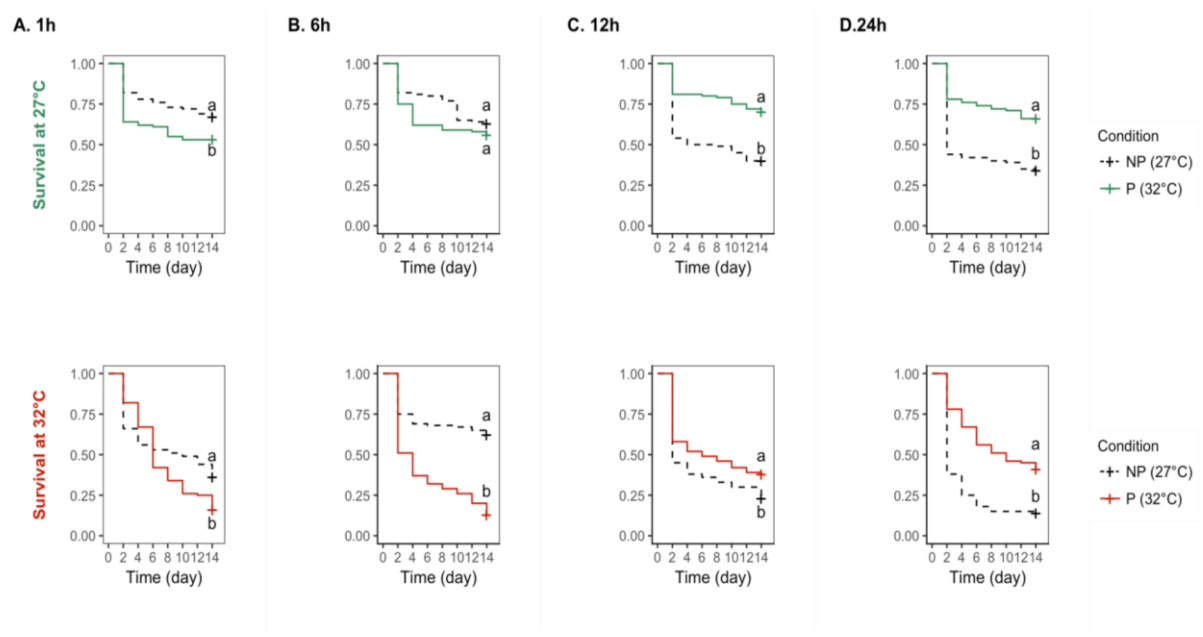


Figure 4 : Effects of 7d-old larvae pre-exposure at 27 and 32°C during 1, 6, 12 and 24 h on the larval survival probability at 27 and 32°C. NP = Not pre-exposed (dot line), P= Pre-exposed at 32°C (full line). Lines represent Kaplan and Meier curves. Different letters represent significant differences, based on log-rank test.

IV. Discussion

Coral reefs struggle globally to thrive in a warmer ocean (IPCC, 2014) as the frequency of mass coral bleaching events increases since 1980 (Hughes et al., 2018). Thus, an enhanced need to understand and improve thermal hardiness of corals emerges today in order to develop more effective and efficient restoration and conservation measures. However, this requires fundamental knowledge on thermal tolerance of early life stages of corals as well as on their acclimatization capacity, to identify the optimal preconditioning condition (intensity and duration of thermal stress) required to improve thermal hardiness of early life stages. Here, we found that larvae of the coral *A. cytherea* are drastically impacted by rising temperature from

32 to 34°C, with 81.0 and 90.5% of mortality after 14 and 2 days of exposure respectively. An exposure to 30.8°C for 14 days halves the stock of alive larvae. Moreover, we outline that survival probability to warming condition is time-dependent and two trends emerged. Increasing the time of thermal stress, decreases larval thermal tolerance. From 6 d to 10 d, the sensitivity of larvae (LT values) decreased by approximately 0.25°C per day of exposure. However for longer exposure (10 to 14 days), the LT values remain relatively similar (from 31°C to 30.8°C for LT₅₀) over time. This showed that 10 days of exposure provide the ideal window of time to select the most resistant larvae and *vice versa* to kill the weaker larvae. For these reasons, future LT₅₀ experiments could reduce the duration of thermal exposure to 10 d, and further studies should investigate the biological mechanisms underlying the present effect.

The LT_{50s} (30.8°C) recorded are similar to those recently described for *A. pulchra* in Moorea (Puisay et al., 2018) and also corroborated the range of temperature altering larval survival observed for other species of *Acropora sp.* (Bassim and Sammarco, 2003; Negri and Hoogenboom, 2011). Sexual reproduction of *A. cytherea* in French Polynesia occur mainly through September to November (Carroll et al., 2006), during which seawater temperature generally averages from 26.7 to 28°C in the lagoon (fringing and barrier reefs) where *A. cytherea* lives. During the last 20 years, recorded temperature in fringing reefs shows that during spawning period, corals can experience in some extreme case temperatures above the LT₅₀, reaching 31.5 to 32.97°C, over a short periods of time. During such unusual warming event, larval pools may be halved. Halving the stock of larvae available for recruitment may have some drastic implications for renewal and persistence of coral communities. Moreover, considering the increase of ocean temperature by 1.5°C to 6°C predicted by the climate scenario of global warming by 2100 IPCC (2014), survival of *A. cytherea* larvae will be largely compromised if no acclimation/adaptation processes occur.

Thus, enhancing thermal tolerance of coral larvae may be one of the solutions to assist corals facing a warming world. Here we present a promising result on how human may assist coral larvae to enhance their thermal tolerance. Diverse ranges of thermal conditions tested (duration and intensity) on two early life stages (embryos and 7d-old larvae) revealed that pre-exposure to 32°C of 7d-old larvae for 12 and 24 h enhances the subsequent resistance of coral larvae at 32°C by 49 to 56% compared to 7d-old larvae not pre-exposed. We also outline the importance of developmental stages and duration of pre-exposure on the ulterior performance of larvae, as shorter pre-exposure or pre-exposure of embryos did not lead in any beneficial

effects on subsequent larval survival. Mechanisms underlying the improved performances of larvae remains unclear as the design of our experiments does not allow to decipher whether they are due to beneficial acclimation and/or selection and further studies are clearly warranted. If potential for improving coral performance to warming condition has been previously observed for gametes (Puisay et al., 2018), our work fill an important gap of knowledge on larval stage of corals. If it remains to be determined whether the improved larval tolerance to thermal stress will persist during subsequent other life stages of corals, we could expect that a combination of assisted manipulation of the various early life stages will allow enhancing the performance of adult colony.

First the condition used in our experimental design rejects the Beneficial Acclimation Hypothesis (BAH, Wilson and Franklin, 2002), as embryonic pre-exposure at 30°C did not show beneficial effects on larval survival at that temperature (in comparison with embryos maintained at 27°C), but also as 7d-old larvae pre-exposed at 32°C have shown a better survival probability at 27°C than at not-pre-exposed larvae. Consistent with this observation, rejection of BAH has been previously recorded for other model organisms (*E. coli*, *D. melanogaster*, Gibert et al., 2001; Leroi et al., 1994). Altogether this suggests the pivotal role played by both intensity and duration of thermal stress on ulterior performance of organisms. The optimal thermal conditions were not identified in our work for embryo pre-exposure, but our findings clearly highlighted the importance of duration of thermal pre-exposure. Longer pre-exposure duration of embryos from 30 to 270 min increases by 48% larval survival maintained at 27°C. The latter observation corroborates partly the Warmer is Better Hypothesis (WBH) proposed by Frazier et al. (2006), which stated that organisms raised at high temperatures have higher relative fitness across broader temperature range than do those raised at lower temperatures. In that context, we hypothesize that longer 30°C pre-exposure of coral embryos (> 270 min) could yield to higher survival rate of ulterior larvae at 30°C.

Effects of thermal pre-exposure on embryonic and larval stage appeared time-dependent. In response to thermal stress, the primary molecular mechanism activated involved caspase activities *via* heat shock proteins (HSP), (Coleman et al., 1995; Fang et al., 1997). The HSPs are conserved chaperones proteins, which act during thermal stress either to stabilized the folding of damaged proteins or refold the denaturing proteins. HSPs have been proven to be actively involved in thermal tolerance of corals (Black et al., 1995; Sharp et al., 1997). They are rapidly activated in response to heating, with change in HSP70 protein expression reported within 60 min for *Acropora hyacinthus* (Traylor-Knowles et al., 2017). So, one

possible explanation for the different performances observed in response to pre-exposure duration is the requested time to activate HSP in early life stages of corals. Although further studies are needed to test this hypothesis, here we provide evidence of assisted improvement of coral larval survival at 32°C, when 7d-old *A. cytherea* larvae are pre-exposed at 32°C for 12 and 24 h.

Duration of pre-exposure matters in the performance of ulterior stages and we cannot discard an effect of selection during preconditioning treatment, as mortality of embryos and larvae during the rearing phase were not recorded. If this is the case, the longer the pre-exposure is, the stronger selection process occurs, which could explain the better survival of larvae observed after longer pre-exposure. Our experiments were not designed to test whether selection or acclimation occurs after thermal pre-exposure, as at the time of the present experiments, our knowledge on our capacity to improve the thermal tolerance of coral pelagic life stages by preconditioning was undervalued and experimental evidences were primarily needed before investigating underlying mechanisms. Nevertheless, based on our data, further studies should definitely get deeper understanding on the biological process driving changes in coral performance after thermal preconditioning, and more particularly test longer (>270 min) thermal preconditioning on embryos.

To conclude, we revealed that assisting corals through manipulation of pelagic life stages is an encouraging avenue of research, but care should be taken when extrapolating these results. Developing approach to promote thermal tolerance in early life stages of corals will provide valuable information regarding our understanding of rapid acclimation mechanism, but also offers new perspectives in term of conservation and restoration of degraded reefs.

Acknowledgements

The authors acknowledge Criobe technicians and staff for their help during the field collection and lab experiments. The work was funded by the French National Research Agency under the call “RPDOC 2010” with a project entitled “R-ECOLOGS”, number ANR-10-PDOC-0013; the Labex CORAIL with a project entitled “ARCOS”; the Ministère d’Outre Mer with a project entitled “AQUA-CORAL” and the Contrat Etat-Projet 2016-18. The authors thank the National Center of Scientific Research and the “Ecole Pratique des Hautes Etudes” for their support.

Competing Interests

Authors declare no competing interests.

Authors' Contributions

AP, RP, LH conceived the ideas and designed methodology; AP, RP, LF, TR and CG, collected the data; AP, RP, LF, TR analysed the data. AP and LH led the writing of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

Chapitre 5 : Variability in coral larva of *P. damicornis* species:

Fluorescence as an indicator of the dispersal ranges of larva

Puisay Antoine¹⁻², Elleaume Nicolas¹⁻², Fouqueau Louise¹⁻², Yann Lacube¹⁻², Goiran Claire, Hédouin Laetitia¹⁻²

¹ USR 3278 CNRS EPHE UPVD CRIOBE, BP1013, Papetoai, French Polynesia

² Laboratoire d'Excellence "CORAIL", B1013, 98729 Papetoai, Moorea, French Polynesia (current affiliation).

*Corresponding author:

Dr. Laetitia Hédouin

USR3278 EPHE CNRS CRIOBE

Laboratoire d'Excellence "CORAIL"

B1013, 98729 Papetoai, Moorea, French Polynesia

Tél: (689) 56 13 45

Fax: (689) 56 28 15

E-mail: laetitia.hedouin@criobe.pf

Abstract

Corals are increasingly environmentally challenged by thermal conditions of the marine environment and this may alter their progeny, and the renewal and persistence of coral communities. In this context we investigated the spawning dynamics of *P. damicornis*, a common coral brooder during the 2016 summer period (February to April) in Moorea, French Polynesia. During each month, we examined the number of larva released and type of fluorescence of each larva, as well as survival to heat stress, and recruitment and post-recruitment survival from offspring released by parents experiencing an increasing thermal stress. Our result showed that *P. damicornis* produced three larva fluorescent types: green, mixed, and red. Thermal stress not only trigger adult phenotypic difference (resistant vs sensitive colonies) but also affect reproductive output. To better match the environment in which larva will be released, adult corals depending of their resistance to thermal stress modulate the release of red vs green larva. Red and green larva have different performances that provide insights onto their respective dispersal capacity: red larva exhibit a higher survival rate to thermal stress, but showed low capacity to settle and survive post-recruitment compared to green larva. We conclude that for *P. damicornis* species, the fluorescence of larva could be proposed as an indicator of their dispersal range and that thermal history of adult corals have to be taken into account to evaluate the anticipatory effects on their progeny.

Keywords: Larva, fluorescence, survival, recruitment, corals

I. Introduction

Coral reefs are valuable ecosystems providing goods and services to human socio-economic systems (Costanza et al., 1997). Nevertheless, these ecosystems are threatened by local human activities and global warming. Recent estimation shows that about one-third of the coral species are facing an elevated risk of extinction (Carpenter et al., 2008). The existence of coral reefs in the future will depend on the capacity of corals to acclimatize and/or to adapt to global changes (e.g. ocean warming and acidification), and on the conservation actions and politics developed to implement and save one of the most diverse ecosystems of the planet.

Coral bleaching is the most severe consequence of climate change on coral-reef ecosystems. Bleaching is a stress response of corals resulting in the release of their intracellular dinoflagellates symbiont named zooxanthellae, which belong to the *Symbiodinium* genus and can provide up to 95% of the energetic requirements of coral host (Muscatine et al., 1984). During a thermal stress event, the breakdown of the symbiotic relationship between coral host and zooxanthellae leads to the expulsion of symbionts from corals: corals appear white, because skeleton could be observed behind transparent coral tissues. Coral bleaching mainly occurred when corals are exposed to abnormally high seawater temperature (i.e. few degrees above average during several weeks) and if the stressor persists during an extended period of time, corals may die (Ainsworth et al., 2016). Massive die-off of corals was reported after the 1998 and 2010 events, and recent data from the 2014-17 event suggested a dramatic mortality worldwide and was classified by NOAA as the third ever global coral bleaching event. The actual context of global warming will ultimately lead to an higher frequency and intensity of bleaching events in the next century (Hoegh-Guldberg, 1999). The future of coral reefs will therefore depend on how corals are able to acclimatize and/or adapt to these unprecedented disturbances.

When abnormally high seawater temperature affects coral reefs, not all corals are equally resistant to this disturbance. Some corals bleached, some died and some resist (Loya et al., 2001). To survive to the next century, corals may either adapt or acclimatize by adjusting their physiological performance to match the prevailing condition (Torda et al., 2017). Phenotypic plasticity within generation is a key process that has the potential to enable organisms to maintain their performance in a changing world and thus enhance their survival ability. In

corals, several works demonstrate the phenotypic plasticity of adult corals to environmental warming (Bellantuono et al., 2012; Maynard et al., 2008; Middlebrook et al., 2008), and revealed that thermal pre-exposure may increase their tolerance to subsequent bleaching events. An increasing number of works investigated how corals may cope with current and future thermal stresses, trying to elucidate the molecular and physiological basis of mechanisms behind coral acclimatization and/or adaptation. While these studies to date mainly focused on phenotypic plasticity within generation, our understanding of phenotypic plasticity across generation remains largely unexplored. The environmental warming experienced by coral parents may lead to positive or negative carry-over effects on offspring performances. Positive carry-over effects will lead parents to anticipate the environment in which their offspring will live by for example provisioning them protective factors to be better equipped to deal with prevailing environmental conditions (Lister et al., 2015).

However transgenerational effects do not necessarily translate into better offspring performance and can also impede offspring performances and fitness (Welch et al., 2014). Most transgenerational studies exposed parents to environmental stressors and evaluate the performance of offspring in the environmental conditions that parents experienced (Kelly et al., 2013; Miller et al., 2012; Pansch et al., 2013; Parker et al., 2012; Putnam and Gates, 2015; Uthicke et al., 2013). Though parental environment has been demonstrated to positively or negatively altered offspring phenotypes on a wide variety of organisms, the effects on the physiology of coral offspring remained largely unexplored for corals (Putnam and Gates, 2015) and the individual parental resistance of adults are, to the best of our knowledge, never acknowledged. Indeed, all individual are not equal while facing environmental warming, and whether similar carry-over effects on sensitive vs resistant adult corals will occurs remain to be established. Contrasted performances of adults (winner vs losers) may shape the phenotype of their offspring and offspring traits will condition the capacity of ulterior stages to cope with disturbed environment.

Coral gametes and larva are key components of the life cycle of corals and contribute to the renewal and persistence of coral populations and communities by maintaining high genetic diversity. In a rapid changing environment, the dispersion of pelagic life stages of corals will become an even more critical phase as the dispersal capacity of offspring may condition how offspring could “escape” the prevailing stressful condition in which parents leave. Two very interesting works of Strader et al. (2016) and Kenkel et al. (2011) showed that red fluorescent larva released by *Acropora millepora* are 1) more adapted to long range dispersion due to

their metabolic diapause-like state compare to green fluorescent larva but also showed 2) a reduced recruitment response in presence of crustose coralline algae (CCA). Coral fluorescence involves a family of proteins composed of analogous proteins to the world widely known green fluorescent protein (GFP): the GFP-like proteins regrouped in the fluorescent proteins (FPs). The FPs show their greatest diversity in the reef-building coral order (Alieva et al., 2008) and represent one of the most abundant components of the total soluble proteins composing the coral cells (Oswald et al., 2007). Until recently, coral fluorescence was mainly useful for detecting small and hidden coral recruits during *in-situ* monitoring (Schmidt-Roach et al., 2008), but recent works support evidence that red fluorescence may be indicative of dispersal and thermal tolerance of offspring (Kenkel et al., 2011; Strader et al., 2016). However, it is still unknown if health state of parents and/or environmental warming may shape the fluorescent composition of larva brood and of larva eco-physiological traits. In that context, we hypothesized that “loser” parents stressed by local environmental parameters (i.e. high seawater temperature) will release a higher proportion of red fluorescent larva compared to “winner” parents, unaffected by environmental warming, that will release mainly green fluorescent larva, more competent for short dispersal.

The coral *Pocillopora damicornis*, a common coral brooder, which released fully developed larva monthly is an appealing system to study carry-over effects on corals. In Moorea, the seawater temperature in the lagoon exceeded the thermal temperature threshold (29.2°C, Hoegh-Guldberg 1999) from the beginning of March to mid-April (Figure 2). These conditions lead to coral bleaching on certain colonies of *P. damicornis* and provide the ideal conditions to assess the effect of warming seawater temperature on adult colonies of *P. damicornis* and the consequent carry-over effects on released offspring. Here we provided the first assessment on influence of health state and spawning period of *P. damicornis* on larva released during the warming period and we examined variability of the green and red fluorescent larva released. We also characterized various biological traits of red and green fluorescent-phenotype larva (survivorship to temperature, recruitment success and post-recruitment survival) through laboratory experiments. These allow us to (a) identify whether all fluorescent phenotype larva released are equal, (b) test if anticipatory parental effects of thermal stress exist, and (c) assess whether a fluorescent phenotype is favor when parents are either more thermally sensitive and/or more exposed to long-term thermal stress. Finally, our results are combined in the context improving restoration approaches to decipher whether

fluorescence may be proposed as useful indicator allowing to select the most appropriate larva for restoration purposes.

II. Material and methods

II.1 Larval collection

Spawning pattern of *P. damicornis* was investigated during 3 consecutive spawning months. Each month, 10 colonies (5 bleached and 5 unbleached) were sampled from the north-coast of Moorea island (French Polynesia), one-day prior the New Moon (NM). Coral colonies were maintained in a flowing seawater aquarium under natural light conditions during the day and were individualized in small tank (50 L) with flowing seawater during the night. The outflow of each tank (1 colony per tank) continues in a 1L-tank, where a bucket with a plankton mesh fixed on the bottom (100 μm) was introduced to keep the larva alive until the sampling the following morning.

II.2 Characterization of the larva

Each morning (from 0 to 14 d after NM), larva were collected from each colony, counted and characterized according to their fluorescence type (green, red or mixed). The larva fluorescence was observed using the Sola Night UV lamp produced by Light and Motion. The fluorescent photographs were taken using a binocular Leica M80 supplied with a UV filter and the Sola Night UV lamp.

II.3 Zooxanthella density

For each colony, a sample of 3 to 4 cm has been used to measure the zooxanthella density. The coral's tissues were removed using a water-pick of filtered sea water at 0.7 μm . The total volume of homogenate obtained was weighed and then crushed during 30 seconds. About 90 mL of the homogenate has been centrifuged at 10 000 rpm during 15 minutes. The supernatant has been removed and the pellet was re-suspended in 2.5 mL of filtered sea water. The number of zooxanthellae per mL was determined using a hemacytometer (6 counts per sample were performed, with a minimum of 25 zooxanthellae per count) and an optic microscope Leica[®].

II.4 Larva survival experiment

At different days during the spawning period (3, 5 and 7 after NM), survival experiments to thermal stress were performed by placing 10 larva of the different fluorescence types (green, red and/or mixed, depending of the availability of larva from each color) in 20mL-vials filled with 10 mL of filtered seawater (n=5 replicates per temperature and per larva type). The

survival of each larva was assessed every 48 hrs during 14 d and half of seawater was changed every 2 days. To keep the temperature condition constant, the vials were maintained in temperature controlled water baths at 28°C (control condition) and 31°C (stress condition: +3°C above ambient). Statically analysis of this experiment was performed using the survival package of the R software version 3.2.3.

II.5 Recruitment experiment

Larva of the different fluorescent types (from 200 to 600, depending of the availability of larva) were placed in 2L-aquaria filled with 1L of filtered seawater in which 5×5×5 cm blocs (n = 4) conditioned for 6 months in the field before the experiment (i.e. covered by crustose coralline algae, a natural cue for recruitment of corals) were placed. After 24 hours, the number of recruits was counted. Recruitment rate was obtained by dividing the number of larva placed in each aquarium by the number of recruits obtained after 24hrs.

II.6 Post recruitment survival experiment

The survival rate of the recruits obtained in the previous experiment was then followed for 25 days. Every 48hrs, the number of remaining recruits was assessed to measure their survival rates over time and depending of the initial fluorescence of the larva (green, red or mixed). Statically analysis of this experiment was performed using the survival package of the R software version 3.2.3.

III. Results

III.1 Larval fluorescence patterns

Three different larva fluorescence patterns were observed: green, mixed (green and red) and red. The green one shows an extended repartition of GFPs all over the larva (Figure 1A), only their extremities (their mouths and their aboral pole) remain red. The mixed pattern consists in an equal level of the red and green proteins (Figure 1B). Usually the oral pole shows a green fluorescence whereas the aboral pole remains red, but this larva phenotype shows a high variability of FP's distribution. Finally, the red phenotype shows a strong red fluorescence all over the larva body whereas only the oral pole shows a green fluorescence (Figure 1C).

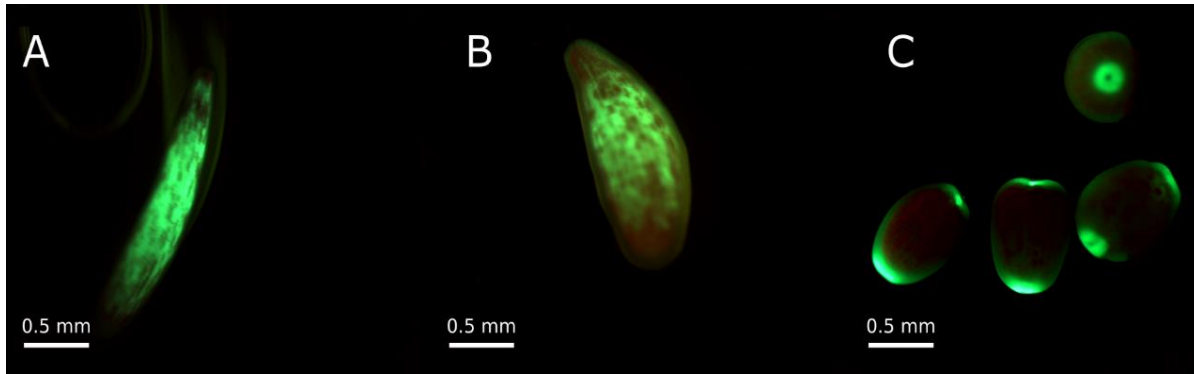


Figure 1 : Different types of fluorescent larva observed. A. green fluorescent larva in a “swimming state”. B. A mixed fluorescent larva in a “swimming state”. C. Three red fluorescent larva in the bottom in a “swimming state”, the larva at the right corner is in its “diapause-like-state”.

III.2 Seawater temperature

The coldest temperatures recorded in the lagoon of Moorea were of 28°C in January to 27.9°C in May 2016 (Figure 2A). In March, the temperature was stable around 28.5°C and drastically rises in April where it reached a maximum of 30.25°C, largely exceeding the thermal bleaching threshold (BT of 29.2°C) in French Polynesia (Hoegh-Guldberg, 1999). For spawning at the new moon of February 8th, coral colonies were exposed to 4 days above the BT, for March 9th to 9 days and for April 6th to 28 days (Figure 2A).

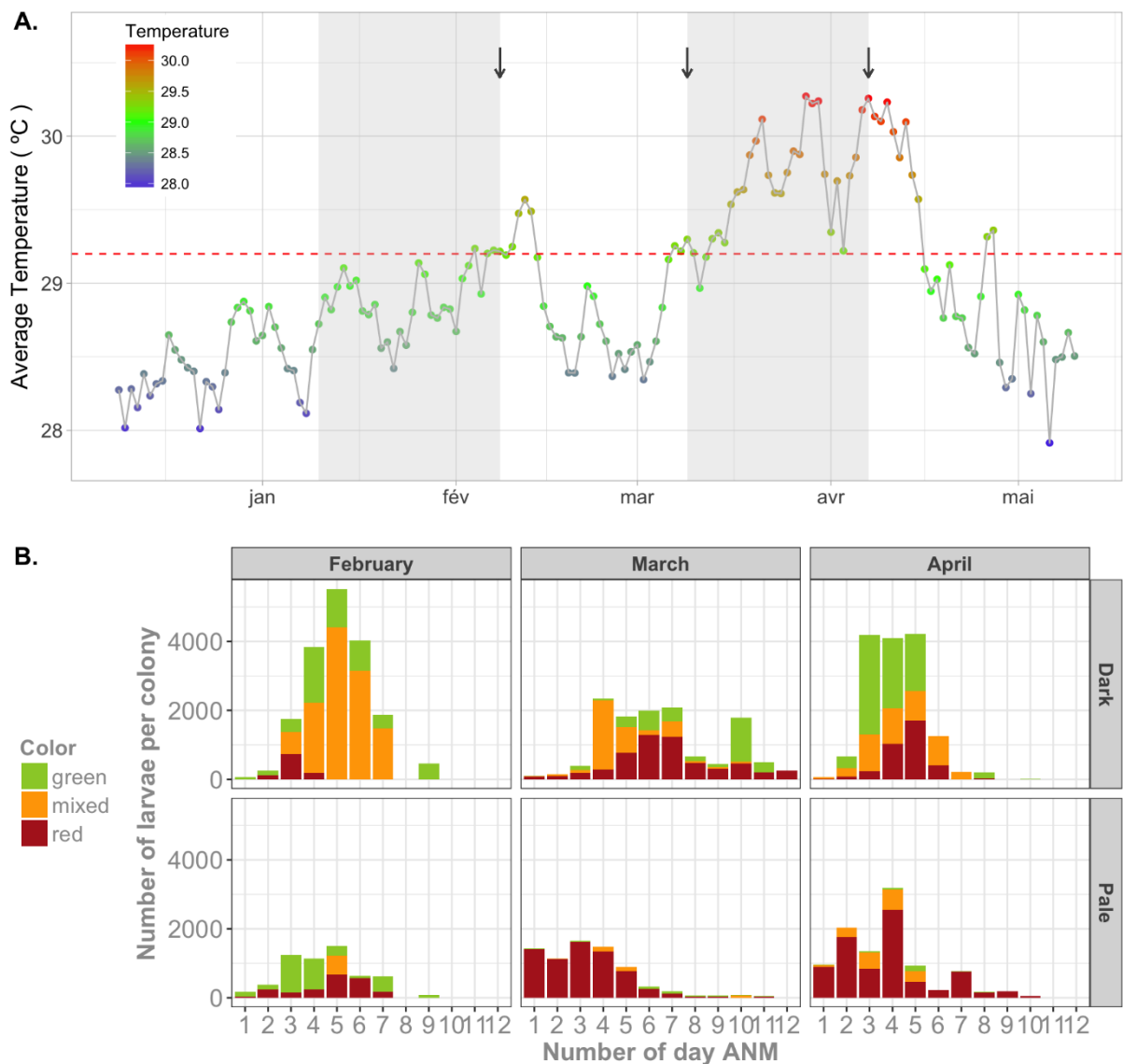


Figure 2 : Seawater temperature trend and spawning dynamic of *P. damicornis* during February, March and April, 2016. A. Daily average of seawater lagoon temperature at the Mahana site from January to May 2016. B. Sum of the daily produced larva phenotypes (red, green and mixed fluorescence) of *P. damicornis* per colony (n=10 colonies) from February to April 2016. Arrows represent day 1 of each spawning date.

III.3 The spawning dynamic

The study of the spawning dynamic of *P. damicornis* during 3 consecutive months highlighted that most of the 10 colonies selected displayed a spawning peak at the fourth days after the NM and a spawning duration from 9 to 12 days (Figure 2B). Five colonies harbored higher levels of zooxanthellae (Figure 3A, Kruskal-Wallis chi-squared = 8.3101, df = 1, p-value = 0.003943) than other (n = 5) and were qualified as unbleached *vs* bleached. We noticed that the spawning peak of the bleached colonies seems to occur sooner compared to

the unbleached. Most of the colonies are producing one or two larva types. In some rare cases, a single colony may produce larva from the three fluorescence types. Bleached colonies released each month 40% more red larva compared to the unbleached (Figure 3B). During March and April, the warmest months, the spawning composition of the bleached colonies are mostly dominated by the red fluorescent larva type: 90% and 80% respectively for those two months against 45% and 25% for the unbleached colonies during the same period. Proportion of each fluorescent phenotype of larva was influenced by the month of spawning for low and high thermal tolerant parents (Chi² test $p < 0.0001$). The spawn composition in each larva type depend on the parental phenotype of the colony (Chi² test $p < 0.01$)

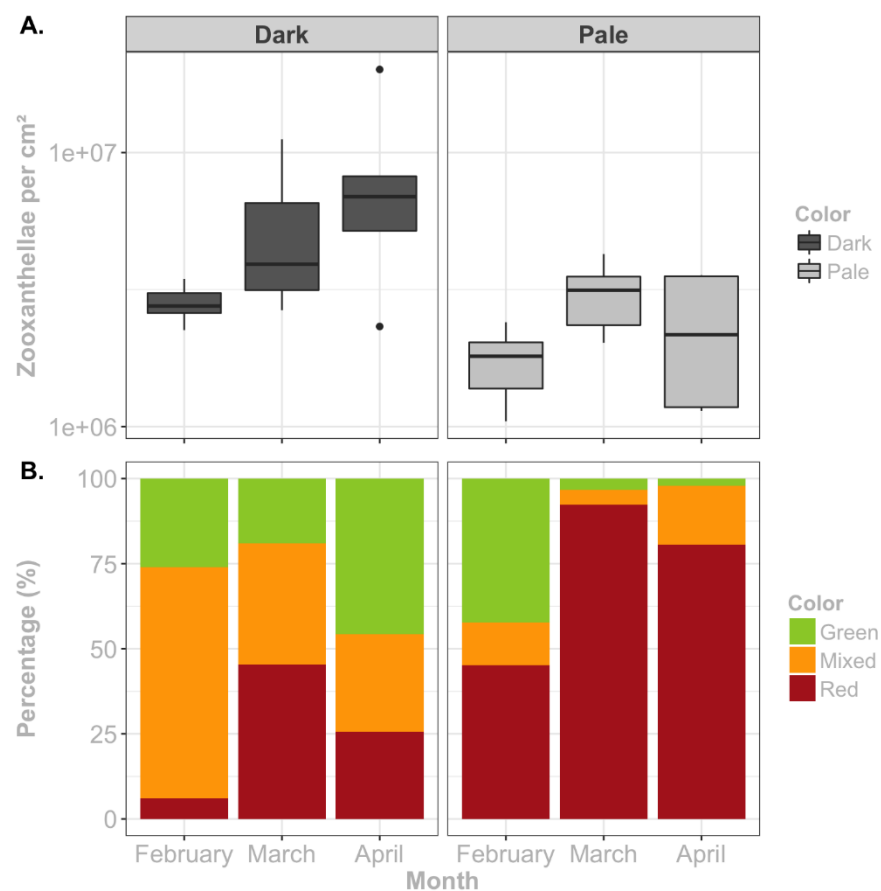


Figure 3 : Zooxanthellae density and spawn composition of bleached and unbleached colonies in function of months. A. Zooxanthellae per cm² of coral in function of the colony phenotypes during the studied months. The zooxanthellae per cm² is in a logarithmic scale of 10. The measures of zooxanthellae densities have been performed with five colonies of each condition. B. Proportion of each larva phenotypes among the total number of larva produced during the spawn period of bleached and unbleached colonies in function of months.

III.4 The larva physiologic traits

Larval survival rate

The fluorescent phenotypes of coral larva influence their survival response to thermal stress. Red larva released at days 3 and 5 after NM exposed to 28 and 31°C have a significantly higher survival rates than green ones released at the same time ($p < 0.01$). The green larva showed a mortality of 100% after 4 days in the control (28°C), whereas more than 80% of the red larva were still alive at the day 4 (Figure 4). When exposed to 31°C, red fluorescent larva released at day 5 after NM showed a survival rate of 40% after 16 d of exposure whereas red larva issued from day 3 after NM exhibited a survival rate of only 15%. No significant difference in the resistance to thermal stress (31°C) between red and mixed larva was observed, whereas in the control condition (28°C) mixed phenotype larva exhibit a lower survival rate than red ($p\text{-value} < 0.01$) but higher than the green ones ($p\text{-value} < 0.01$). A net difference in the survival of the three fluorescence phenotypes of the larva was observed at day 3 after NM when exposed to 28°C at the fifth day of experiment: 70% of red larva are alive whereas only 20% of mixed larva survived and 0% of green larva. All the mixed larva died at day 7 of the experiment whereas 45% of the red survived.

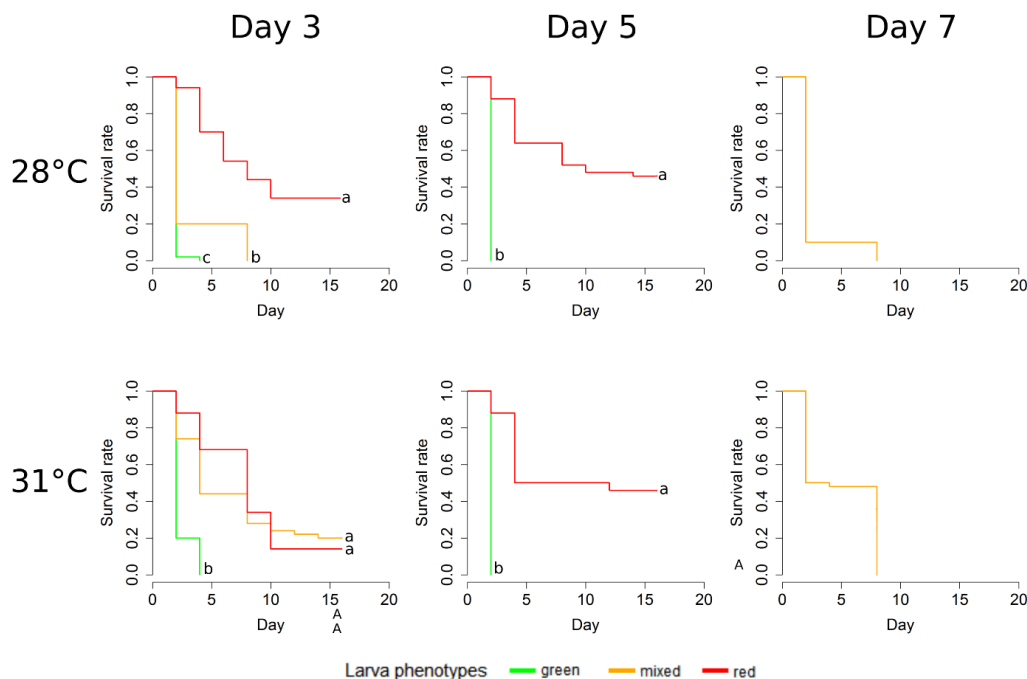


Figure 4 : Survival rates of the three larva types issued from days 3, 5 and 7 after the new moon in two temperature conditions during the month of February. Each graphics is showing the survival rates of the larva in function of time. The experiment was stopped at the sixteenth day. The small letters are indicating a significant difference ($p\text{-value} < 0.01$) between curves. Note that not all desired larva phenotypes were available at each day.

Larval recruitment rate

Recruitment experiments performed on red, green and mixed larva in March and April showed no recruitment at all after 48 h, whereas significant difference in recruitment rate exists in February among fluorescence phenotype of the larva (Figure 5). During the latter month, the green larva showed a significantly higher recruitment rate (29%) compared to the red larva (2.5%) (student-test, p -value=0.03156). No difference was found in the recruitment rate of the mixed larval phenotype compare to the two others.

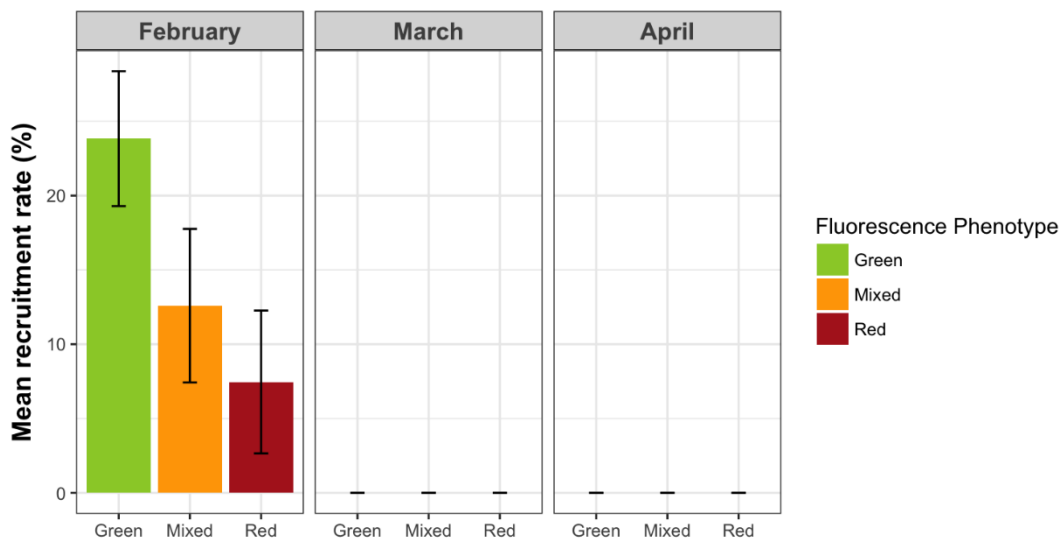


Figure 5 : Recruitment rate of each larva phenotypes in function of the months. Not any experiment worked in the months of March and April. Each point represents an experiment. A student test has been performed between the recruitment rate of the green and the red larva (p -value = 0.03156)

Post-recruitment survival rate

Post-recruitment mortality was very high for all larva phenotypes (about 90% of mortality over 5 days). However, post-recruits issued from mixed or green larva have a significantly higher survival rate than those from red ones which all died 3 days after the start of experiment. In addition, days of release significantly influence survival of green recruits. Recruits issued from green larva released at day 1 or 2 after NM showed a survival rate of 33% after 10 days (Figure 6) whereas none post-recruits issued from green larva released at day 5 or 4 survive (p -value<0.01). Same trend was observed for mixed larva to a lesser extent, recruits issued from the day 4 after NM showed a survival rate of 8% the fifth day of the

experiment whereas no survival was observed for recruit issued from larva released at day 5 or 7 after NM (p-value<0.01).

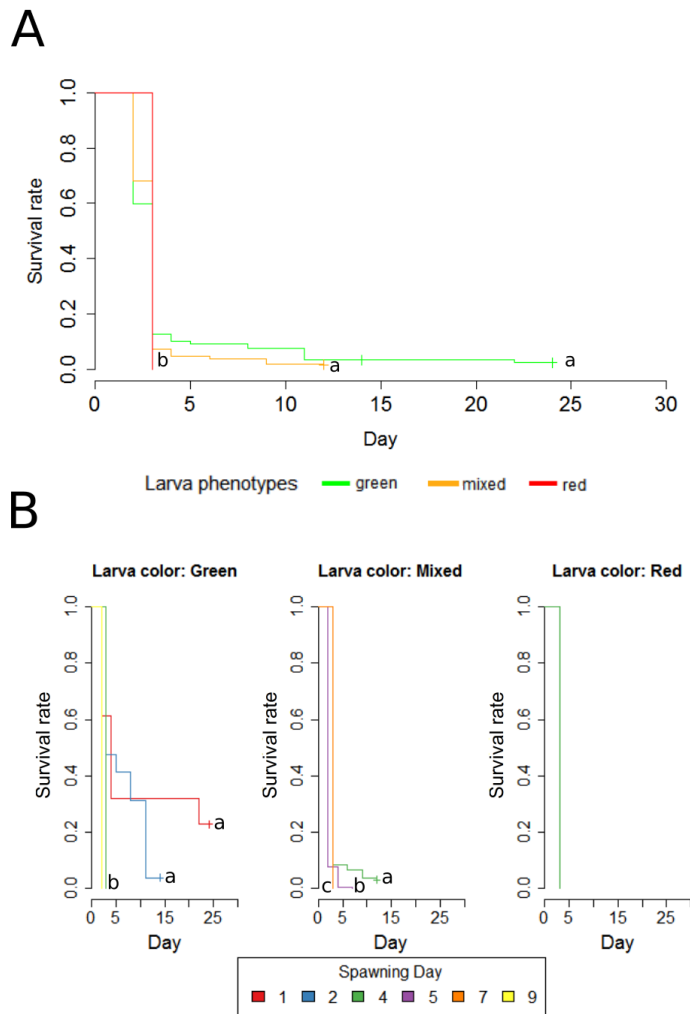


Figure 6 : Post recruitment survival rates of recruits issued from the three larva types in February. A. Survival rate of recruits issued from the different larva phenotypes in function of time. Note that not any survival phase has been performed between the larva release and the recruitment event. B. Survival rate of recruits issued from the different larva phenotypes in function of the spawning day of the larva which has given the recruit. Note that not all days are present in each condition: for recruits issued of green larva only the days 1, 2, 4 and 5 were tested, for recruits issued of mixed larva only the days 4, 5 and 7 were tested, for recruits issued of red larva only the days 2 and 4 were tested

IV. Discussion

Increasing thermal stress is the most dangerous threat that corals are currently facing and dramatic loss of corals has been reported during the last 20 years with three massive bleaching events. Acute thermal stress altered the survival of adult corals, but pre-exposure to thermal stress may lead to enhance coral thermotolerance. Successive bleaching events increase the resistance capacity of corals and there is today a high concern on how assisted evolution may help corals to fight the thermal change of the Anthropocene era. In that context, it urges to decipher whether anticipatory parental effects on corals facing thermal stress exists. By exposing adult corals of *P. damicornis* to temperature and ocean acidification (Putnam and Gates, 2015) showed negative effects on parent performance but positive carry over effects on larva released (metabolism acclimation). Understanding transgenerational plasticity is of paramount importance in the context of climate change, as it is unlikely that corals could adapt to the unprecedented rate of changes induced by human activities and plasticity may facilitate persistence of coral communities by providing time to genetic adaptation to occur. However, whether plastic response in the parents can alter the offspring biological traits remains to be established.

The prevailing seawater temperature occurring during 2014-2017 El Niño event lead to temperature in Moorea lagoon exceeding the thermal temperature threshold (29.2°C, Hoegh-Guldberg, 1999) from the beginning of March to mid-April and lead to a cumulative stress throughout the summer season (Figure 1). This warming event provides a unique and valuable opportunity to identify resistant and sensitive colonies of *P. damicornis* as rising seawater temperature alters the health of parental colonies and certain colonies displayed significant signs of bleaching (lower zooxanthella density), whereas other individuals harbored higher resistance to warm temperature (Figure 3). Sensitive colonies did spawn, despite releasing a slightly lower number of larva than resistant colonies, but we showed that the prevailing environmental condition combined with the thermal tolerance of parents influence the fluorescent phenotype of larva released. Increasing stressful thermal condition through summer season (from February to April, hottest month) enhance the proportion of red-fluorescent phenotype of larva released by low and high thermal tolerant adult corals and also the proportion green-fluorescent phenotype of larva released by high thermal tolerant parents. Add to this, low thermal tolerant colonies released 40% more red-fluorescent phenotype of larva than resistant parents. This suggests that provisioning red fluorescent to larva during environmental warming is a more common strategy for sensitive parents than

resistant parents, which released a high number of green larva during April month. This strategy may be perceived as an “anticipatory effects” of adult corals to release larva with better dispersal, as they could “escape” the prevailing warmed condition that parents currently experienced. However, this strategy is directly linked to the health state of parents.

In accordance with Kenkel et al. (2011) and Strader et al. (2016), our work revealed that not all fluorescent-phenotypes of larva are equal. First red-fluorescent phenotypes are the most resistant to thermal stressor in the pelagic phase, followed by mixed and then green larva (Figure 4). Shikina et al. (2016) demonstrated that a red fluorescent protein was capable of scavenging reactive oxygen species like hydrogen peroxide (H_2O_2) within the oocytes of *Euphyllia Ancora*. Based on this work, we hypothesized that the red fluorescent proteins produced by *P. damicornis* possess a protective function against the oxidative stress and be part of an effective antioxidant system. The findings of Strader et al. (2016) argued that red larva are associated with a diapause like state, which is likely correlated to long-range dispersal capacity. Consistent with this interpretation, the extremely low recruitment rate (3%) and post-recruit survival (0%) of red- fluorescent larva (Figure 5, Figure 6) confirmed that red-fluorescent larva phenotype will be best adapted for long-term dispersion. By contrast, green-fluorescent larva with higher recruitment (29%) and post-recruit survival (>20% for larva spawned at day 1) are more adapted to a short dispersion range and rapid colonization of substrate, but more sensitive to thermal changes. In a warming environment, the best strategy for corals will be to release red larva, which will resist to unfavorable environment and provide an escaping solution by their capacity to dispersion over long range. Our finding showed that this strategy is mainly operated by sensitive parents that released first an overall higher proportion of red larva (compared to resistant parents) and secondly a proportion of red larva that increase as thermal stress increase during the spawning season (higher proportion from February to April). Despite slightly higher proportion of red larva are observed in March and April for resistant corals, a more marked trend for resistant is the increase proportion of green larva as temperature increase. Knowing the low thermal tolerance of green larva, such strategy will be detrimental for the renewal of coral population. If impaired parents may modify the larva released by enhancing the number of red larva released to better resist to warm seawater temperatures but also to disperse over a long range to escape to the unfavorable environmental conditions, we suggest that the high resistance of parents inhibit the occurrence of anticipatory effects, as they do not perceive the prevailing environmental condition as stressful. Understanding the biological mechanisms linking performance of

parents and offspring to the prevailing environmental condition is far from trivial, but deserves further attention if we do not want to miss critical information concerning question regarding the transgenerational plasticity capacity of corals in the pace of climate change, as resistant and sensitive parents may harbored differential capacity to anticipate stressful conditions for their offspring.

Given that in *P. damicornis* species, the symbiont algae are vertically transmitted from the adult colony to the larva, it is plausible that parental colony experiencing environmental warming will protect its larva by providing them red fluorescent proteins with protective role against oxidative stress. Another possibility is that during development phase of larva inside coral host, larva experiencing the same warming environmental conditions as parents, will themselves modify their genes expressions to produce protective FPs. These two cases may operate solely or in conjunction and our data do not allow to decipher the mechanisms underlying the production of red fluorescent larva during warm conditions. From our work we hypothesize that sensitive parental colony harbored better capacity to adapt their spawning pattern to fit environmental conditions, with red larva produced during thermal stress. Consistent with this assumption, is the results of recruitment. Indeed, as thermal cumulative stress in March and April, sensitive and resistant colonies continue to spawn, but prevailing environmental warming is likely impairing offspring quality as none recruits issued from green, red or mixed larva survived after 48 h, whereas 29% of recruits issued from green larva survive at the beginning of summer season (February). So, this corroborates our initial though that producing green larva during summer is not a valuable strategy and red larva with high dispersal capacity and higher thermal tolerance will be the best shoot for the renewal of coral populations in a warming world.

Our work showed a monthly variability of the spawning dynamic and ecophysiological capacity of *P. damicornis* coral larva and confirmed that not all offspring created are equal (Hédouin and Gates, 2013; Padilla-Gamiño et al., 2013). Here we also revealed a daily variability in the performance of the larva. Days of spawning matter for larva and larva released sooner during the spawning week have better performance at their recruit stages. Indeed, higher survival rate of recruits was documented for those issued from green larva released during the first days (days 1 and 2) of spawning compared from those released later ones (days 4, 5 and 9). Two recent works corroborate our observation. Depending of spawning day, the gametes of *Montipora capitata* appeared not to be all equal (Padilla-Gamiño et al., 2013), and even harbor a differential stress response (Hédouin and Gates,

2013). The link between the offspring quality and their release during the spawning is poorly studied, but deserves further studies. These results have important consequences for experimental designs since it appears that we cannot compare results from different larval cohorts released on several days. As we observed that day of spawning matters, further studies should assess how daily variability modulate other phenotypic traits to better understand the influence of spawning day on larva quality.

To conclude, our work supports that the thermal tolerance of coral parents influence fluorescence phenotypes of larva. Sensitive parents harboring better anticipatory effects than resistant one by releasing larva better equipped to deal with future condition they will experience. Pattern of fluorescent larva released is also influenced by month of spawning and cumulative stress temperature, as increasing proportion of red larva being observed during warming conditions. Different fluorescence patterns are associated with differential dispersion capacity: red larva displayed higher thermal stress tolerance and higher dispersal capacity, whereas green larva with low tolerance capacity displayed higher recruitment and post-recruitment survival. Despite further studies have to be done to confirm our hypothesis, coral fluorescence present potential usefulness to improve our reef management by providing a powerful indicator of the dispersion capacity of larva, a fundamental ecological parameter of the coral life history trait, and a precise selection tool of larval type in order to rehabilitate environment with the best likelihood. Enhancing survival of fundamental key biological steps of coral life cycle like dispersion and recruitment by selecting the most appropriate larva using fluorescence indicator could avoid population collapse in the face of global warming in restoration approaches.

Acknowledgment

We thank the staff of CRIOBE for their help during the experiment. This project was funded by the Ministère de l'Outre Mer for a project entitled "AQUA-CORAL" and the Ministère de l'Environnement, the Labex "CORAIL" for project entitled "ARCOS" and by the Contrat "Etat Projet" between France and French Polynesia.

Chapitre 6 : Interspecific, intraspecific variability and phenotypic plasticity in a coral common garden experiment: Could we picked the winner?

Antoine Puisay^{*a,b}, Yann Lacube^{a,b}, Laetitia Hédouin^{a,b}

^a PSL Research University: EPHE-UPVD-CNRS, USR3278 CRIOBE, BP 1013, 98729 Papetoai, Moorea, French Polynesia

^b Laboratoire d'Excellence "Corail"

*Corresponding author: antoine.puisay@wanadoo.fr

Abstract

Evidences of ecosystems alterations and notably coral reefs increases worldwide. Coral species (*Acropora hyacinthus*, *Pocillopora damicornis*, and *Porites rus*) and individuals (8 per species), were evaluated in common gardens to determine their response (growth rate, health status, and survival probability) to varying environment (Moorea, Tahiti, and Bora Bora) as well as their respective phenotypic plasticity, during the 2014-2017 global bleaching event. Results highlight that Bora Bora was the most stressful environment for all corals as low survival probability (<40%), and high temperature and luminosity (>29.2°C, >7000 lx) were recorded, followed by Tahiti and Moorea. Moreover, probability of species and individual survival increased (>50%) when growth rates oscillated around 0.5%.d⁻¹, associated to low health status (≤ 4). No difference was found for phenotypic plasticity among species, while phenotypic distances among individuals revealed varying patterns. Trade-offs between growth rate and health status seems to lead to varying response for species and individuals of the different corals studied, in stressful environment. Selection of individuals for coral restoration strategies that include global changes might focus on individuals presenting the best balance survival-growth rate in stressful environment, which should be represent by corals with a reduced growth rates (0.5%.d⁻¹) and a low health status (≤ 4) in stressful environment.

Key-words: Corals; phenotypic plasticity; interspecific; intraspecific; common garden.

I. Introduction

Evidences of climate change alterations on natural ecosystems are increasingly documented on a variety of terrestrial and marine ecosystems, including coral reefs (Hughes, 2000; Parmesan and Yohe, 2003; Walther et al., 2002). Restoration in coral reefs is mainly based on coral fragmentation (asexual reproduction) where coral nubbins are grown in a common garden, to be later out planted onto the degraded areas (Epstein et al., 2001; Highsmith, 1982; Rinkevich, 1995). This technique has been provided to be effective with in some cases more than 90% of coral nubbins survival over a 9 month period (Edwards and Gomez, 2007) and coral nubbins reaching maturity after 22 months to more than 3 years (Shafir and Rinkevich, 2010; Zakai et al., 2000). Nonetheless, it also suffers from some limitations. First, *Acropora* has been the main targeted genus in reason of its threatened status worldwide and our understanding on how other genus may performed in common garden remains relatively unexplored. Then, coral nurseries have been generally designed without considering the impact of climate changes despite the present evidence of its dramatic impact on coral mortality (IPCC, 2014). In that context, there is an urgent need to build restoration approach with a view towards bringing the coral survival into line with the new warming environment that corals will face.

Research dedicated to coral reefs has questioned whether corals will be able to withstand the unprecedented changes of environment conditions (Hoegh-Guldberg et al., 2007; Hughes, 2003; Wilkinson, 2008). These data are valuable in order to better understand the ways by which corals may be able to acclimatize and/or adapt to this new changing environment (Hughes et al., 2017; Torda et al., 2017). Thus, testing coral functional traits over diverse environmental scenario could represent an interesting way to implement our knowledge of coral biology (Darling et al., 2012) as well as restoration methodology.

Not all corals are equal, some win, some lose facing rising seawater temperature. After the 1998 event of massive bleaching, Loya et al., (2001) shed some lights on certain coral genus identified as winners to rising seawater temperature (e.g. *Porites*) and other as losers (e.g. *Acropora*). However this thermal resistance trend was dynamic and changed in respect with the environmental challenges corals experienced. Grottoli et al. (2014) after exposing corals to cumulative thermal stressors provided evidence that “winner” corals on the short term could turn into “loser”. Authors claimed that “winner” of the climate change should be corals that can acclimatize to new conditions. Variation exists at an inter-specific scale, but also within individuals of the same species. For example, different coral populations of *Acropora*

millepora from the Center and South of the Great Barrier Reef have distinct acclimatization capacities. Populations exposed to greater thermal stress had naturally acclimatized by shuffling from thermo-sensitive *Symbiodinium sp* clade C2 to thermo-tolerant clades D (Berkelmans and van Oppen, 2006). This new association with *Symbiodinium* confers an increased thermal tolerance to corals by 1 to 1.5°C, and has thus the potential to “buy time” to corals in our warming world. Intraspecific variation in corals are more common than we thought and may even lead to functional differences (Baums et al., 2013; Parkinson et al., 2015; Shaw et al., 2016) or distinct gene expression patterns (Granados-Cifuentes et al., 2013) among different individuals.

With that in mind, there is an urge to understand the plastic and adaptive coral response at the interspecies scale to the future environmental challenges, but also the gene-environment interaction as even genetically identical organisms may express distinct phenotypes in response to environmental changes (Potts, 1984). Indeed, phenotypic plasticity is well acknowledged in the scientific community and coral transplantation and/or common garden experiments have been an effective tool to point out phenotypic plasticity since the 80’s (Potts, 1984). For example, reciprocal transplantations of *Madracis mirabilis* and *Porites lobata* have uncovered phenotypic plasticity of morphology, and growth rate (Bruno and Edmunds, 1997; Smith et al., 2007).

Discovering how environmental challenges are shaping the performance of species and individuals is of paramount importance in the context of “smart-climate” restoration actions as our capacity to potentially mitigate coral reefs degradation will become increasingly relevant in the next future (Bowden-Kerby, 2008). In that context, understanding which biological traits are driving the performance of organisms may help defining criteria for selecting individuals to raise in coral nurseries.

Here, we explore how growth rates and coral pigmentation may shape the survival of corals across varied environment. To do that, we selected three species (*Acropora hyacinthus*, *Pocillopora damicornis*, and *Porites rus*) representative of the principal families of corals found in the Indo-Pacific region (Acroporidae, Pocilloporidae, Poritidae) and with different life-history traits (Darling et al., 2012). Our experiment occurred in three different common gardens located in Bora Bora, Moorea and Tahiti from May 2014 to April 2017, and corals experienced the most intense and widespread global bleaching ever record (Eakin et al., 2016;

Heron et al., 2016). This provides a unique environmental feature to identify which species and individual best performed in this challenging environmental.

II. Material and methods

II.1 Corals sampling and fragments making

To understand how individual and species will perform in varied environment, three species were selected based on their abundance in French Polynesia (Adjeroud, 1997) (*Acropora hyacinthus* (Dana, 1846), *Pocillopora damicornis* (Linnaeus 1758), and *Porites rus* (Forskål, 1775) and collected from the fringing reef of Bora Bora lagoon (16° 33' S, 151° 43' W) in May 2014. For each species, eight colonies (radius ~15 cm) were chosen and divided in three equal parts. Each part was transferred into each selected common garden located in Bora Bora (16° 29' S, 151° 42' W), Moorea (17° 29' S, 149° 53' W) and Tahiti (17° 34' S, 149° 37 W), using a cool box and wet towels (≤ 3 h of total travel outside of the water). Then few days after transportation, 10 fragments (initial weight of 2.3 to 4.6 g) were realized per colony and per island (total of 80 fragments per species and islands). Each fragment were glued on a plastic plug (1x2 cm) using a glue gun and then placed onto coral tables. Coral tables consisted of plastic tubes (12 x 2 m, diameter ~20 mm) pierced every 14 cm (to hold around 120 fragments) and mounted on a galva steel framework (h = 0.7 m, l = 1.5 m, L = 2.0 m). In each island, tables were all placed on a fringing reef (5 to 10 m from the coast) at a depth of ~2m.

II.2 Growth rate

Before placing corals on their respective tables, all fragments were weighted using the buoyant weight technique (Spencer Davies, 1989) with an Ohaus® PA2201 electronic scale. Coral weights were measured every three months for all fragments for each island. Coral growth rate (GR) was calculated according of the equation 1 with $W_t =$ Weight at the time t, and $nd =$ number of days. Thus, coral growth rates were expressed as percentage increase per day from June 2014 to April 2017.

Equation 1 : Growth rate

$$GR = \left(\frac{W_{t+1} - W_t}{W_t} \right) \times \frac{100}{nd}$$

II.3 Health status

Facing rising seawater temperature, coral bleached and color of corals has been identified as a useful proxy of their health status (Siebeck et al., 2006). The latter work developed a color card with levels of coloration from 1 (totally bleached) to 7 (100% healthy). The health status of coral fragments was then evaluated using this color card every two weeks. If different parts of coral fragment were harboring different pigmentation intensity, the relative mean color was noted. When corals were dead, they were noted as 0 and then NA. Data were recorded from May 2014 to April 2017.

II.4 Survival probability

The survival probability of each individual was measured in parallel as the health status from May 2014 to April 2017. Corals were considered dead, when tissue were not anymore discernable.

II.5 Relative distance plasticity index

In order to evaluate the potential role of phenotypic plasticity of each coral species, we computed a relative distance plasticity index (RDPI) based on work developed for plants (Valladares et al., 2006). The principle lies in the relative distance of a trait analyzed in at least three different environments with the same individual assessed in these environments. Thus, a relative phenotypic distance was first computed, as follow, were $d_{ij} \rightarrow i'j' =$ distance between phenotype of the individual j in the environment i and his phenotype j' in the environment i' according to the equation 2:

Equation 2 : Relative phenotypic distance

$$rd_{ij} = \left(\frac{|d_{ij} \rightarrow i'j'|}{(x_{ij} + x_{i'j'})} \right)$$

The calculation from equation 2 was applied on each individual, using maximum growth and median health as functional phenotypic traits. Then, relative distance plasticity index was calculated using the equation 3, with $n =$ number of distances.

Equation 3 : Relative distance plasticity index (RDPI)

$$RDPI = \sum_i^n \frac{(rd_{ij})}{n}$$

II.6 Data analysis

All graphical analysis as well as statistical analysis were performed using the software R (R Core Team, 2015). Data was first tested for the homogeneity of their variances, using the Levene test (Brown and Forsythe, 1974) and the package lawstat. When negative, data were assessed for specific transformation using Box Cox transformation (Box and Cox, 1964) with the package caret. Growth rates and health status were tested for difference using an analysis of the variance (ANOVA), followed by a Tukey HSD post-hoc test (Zar, 1996) for comparison, among species individuals, sites and their interactions. Survival probability differences were assessed using the log-rank test on the Kaplan and Meier curves (Kaplan and Meier, 1958), with the package survival (Therneau and Grambsch, 2000). All graphical representations were expressed as means \pm standard errors with α set at 0.05 for survival probability and RDPI, while all variability in traits were graphically depicted using boxplot for growth rates and health status.

III. Results

This study took place during a massive bleaching event. Bleaching threshold was reached in all islands tested (Figure 1A). Luminosity recorded on the three islands (Figure 1B), and relative TS₅₀ (Figure 1C), demonstrate that Bora Bora was the most stressful environment during this study followed by Tahiti and Moorea.

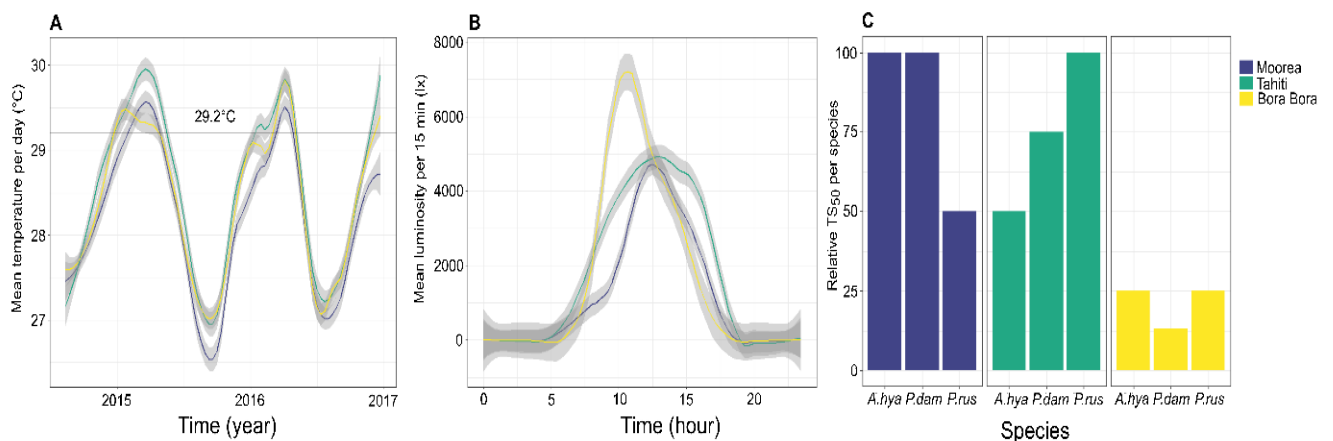


Figure 1 : Temperature (A) luminosity (B) and relative TS₅₀ (C) recorded on Moorea Tahiti and Bora Bora. Temperature, and luminosity data were recorded every 15 minutes. Temperature represent data recorded from August 2014 to December 2016. TS₅₀ represent a mortality index. Luminosity represent data recorded during one week. The straight line represent the bleaching threshold calculated for Tahiti (Hoegh-Guldberg, 1999).

III.1 Interspecific variability in growth rate

Mean growth rate vary slightly differently for the three species studied (Figure 2A). The species *A. hyacinthus* presented a maximum mean growth rate ($P_{\text{Tukey}} < 0.001$) on Tahiti ($0.78 \pm 0.02 \% d^{-1}$), a minimum ($P_{\text{Tukey}} = 0.046$) on Moorea ($0.47 \pm 0.01 \% d^{-1}$) and intermediate on Bora Bora ($0.58 \pm 0.03 \% d^{-1}$).

The two other species *P. damicornis* and *P. rus* presented a maximum ($P_{\text{Tukey}} < 0.001$) mean growth rate on Tahiti (*P. damicornis* = 0.80 ± 0.02 , *P. rus* = $0.53 \pm 0.02 \% d^{-1}$), but no significant difference was found between Moorea (*P. damicornis* = 0.56 ± 0.02 , *P. rus* = $0.25 \pm 0.01 \% d^{-1}$) and Bora Bora (*P. damicornis* = 0.54 ± 0.03 , *P. rus* = $0.35 \pm 0.04 \% d^{-1}$).

Among the species studied, mean growth rate of *P. damicornis* on Moorea ($0.56 \pm 0.02 \% d^{-1}$) was higher ($P_{\text{Tukey}} < 0.001$) than those of *A. hyacinthus* ($0.47 \pm 0.01 \% d^{-1}$) and *P. rus* ($0.25 \pm 0.01 \% d^{-1}$). For Bora Bora and Tahiti, *A. hyacinthus* and *P. damicornis* harbored similar mean growth rate, higher than *P. rus* ($P_{\text{Tukey}} < 0.001$).

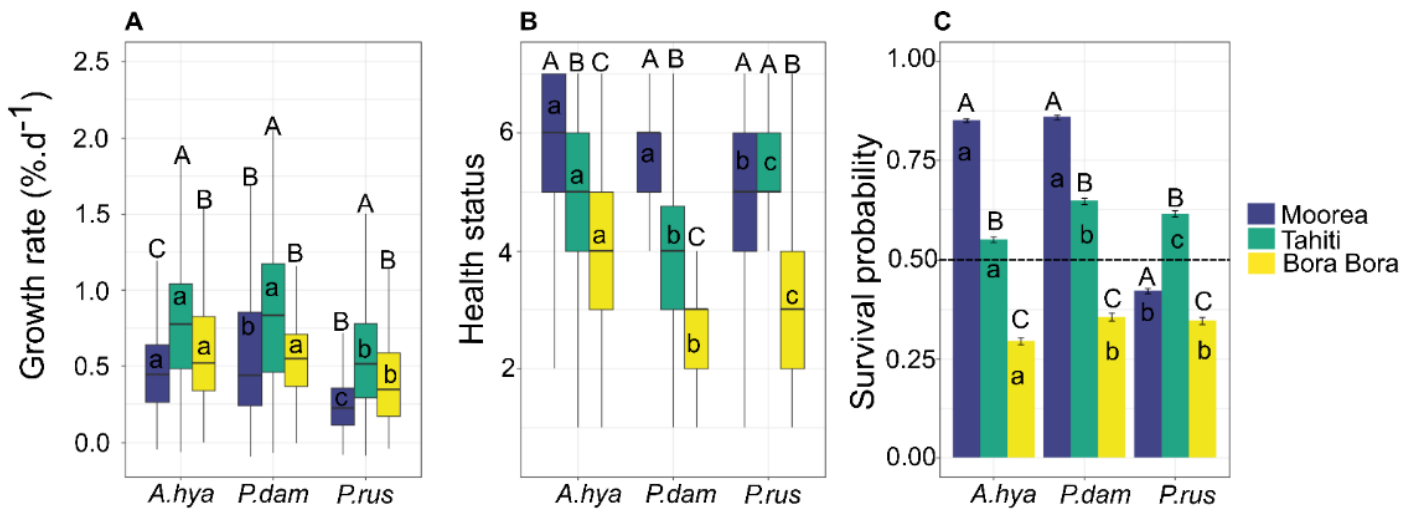


Figure 2 : Interspecific variation of the growth rate (A), health status (B), and survival probability (C) of the 3 coral species, among the three islands tested (n = 8 per species). Data are expressed as mean \pm standard errors for survival probability. *A. hya* = *Acropora hyacinthus*, *P. dam* = *Pocillopora damicornis*, *P. rus* = *Porites rus*. Points with different letters represent significant differences among species, based on Tukey HSD, with α set at 0.05, and based on log-rank test for survival probability. Different capital letters represent significant differences among sites, based on Tukey HSD, with α set at 0.05. The dashed line represent the survival probability of 50%.

III.2 Interspecific variability in health status

Significant differences in mean health status were reported among islands for *A. hyacinthus* and *P. damicornis*, except for *P. rus* between Moorea and Tahiti (Figure 2B). Mean health

status on Tahiti (*A. hyacinthus* = 4.9 ± 0.03 , *P. damicornis* = 4.9 ± 0.03 , *P. rus* 5.2 ± 0.02) was significantly lower ($P_{\text{Tukey}} < 0.001$) than on Moorea for *A. hyacinthus* (5.6 ± 0.02) and *P. damicornis* (5.6 ± 0.02), but not for *P. rus* (5.2 ± 0.03). The lowest health status was reported for the three species on Bora Bora ($P_{\text{Tukey}} < 0.001$) according to the following decreasing order ($P_{\text{Tukey}} < 0.001$, *A. hyacinthus* (4.2 ± 0.06) > *P. rus* (3.5 ± 0.05) > *P. damicornis* (2.8 ± 0.04)).

III.3 Interspecific variability in survival probability

The mean survival probability was the lowest for all the species on Bora Bora (Figure 2C). The lowest survival probability was recorded for *A. hyacinthus*. (0.29 ± 0.009), followed by *P. damicornis* (0.36 ± 0.009) and *P. rus* (0.35 ± 0.009), for which no significant difference in their survival probabilities was reported.

The survival probability of corals between Moorea and Tahiti appeared species-dependent. Despite the survival probabilities were lower for *A. hyacinthus* (0.55 ± 0.007) and *P. damicornis* (0.65 ± 0.007) on Tahiti than on Moorea (*A. hyacinthus* = 0.85 ± 0.005 , *P. damicornis* = 0.86 ± 0.005 ; $P_{\text{value}} < 0.001$), a contrasted pattern was recorded for *P. rus*, which had a higher survival probability on Tahiti than on Moorea ($P_{\text{value}} < 0.001$; 0.62 ± 0.007 vs 0.42 ± 0.007 , respectively).

III.4 Species relative distance plasticity index

To characterize the potential phenotypic plasticity differences for the three species studied, a relative distance phenotypic plasticity index (RDPI) was computed, which ranged from 0 no plasticity to 1 maximal plasticity (Valladares et al., 2006) on the maximum growth rates as well as median health status for the three species. The relative distance plasticity index of the maximum growth rate was 0.36 ± 0.06 , 0.54 ± 0.06 and 0.45 ± 0.14 for *A. hyacinthus*, *P. damicornis*, and *P. rus*, but no significant difference was observed among species (Figure 3). The relative distance plasticity index calculated for the median health status was not significantly different among species (0.38 ± 0.03 , 0.57 ± 0.04 , and 0.50 ± 0.03 for *A. hyacinthus*, *P. damicornis*, and *P. rus*, respectively, Figure 3).

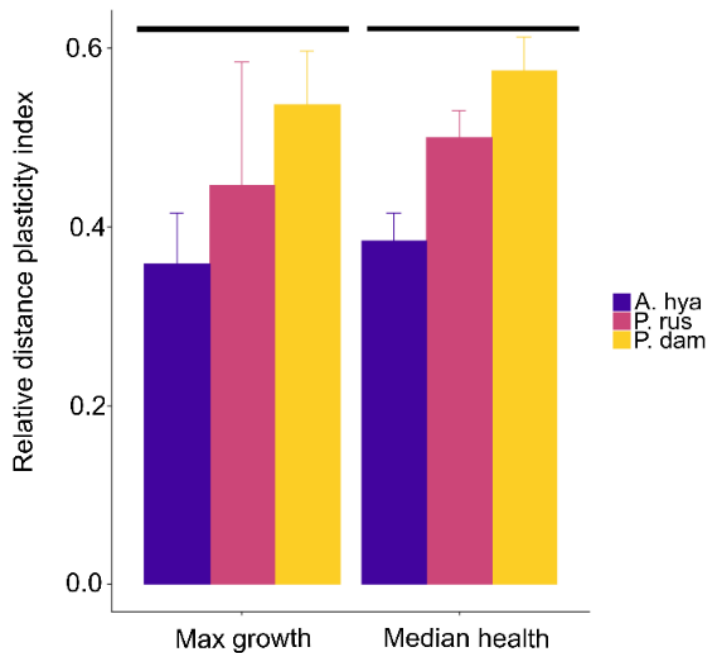


Figure 3 : Relative distance plastic index (RDPI) for the three species studied (n = 8 per species). Data represent the means \pm standard errors. The black line represent no significant difference, based on Tukey HSD, with α set at 0.05.

Despite no interspecific difference was observed on the relative distance plasticity index among the three species studied, we noticed that the best survival probability (*P. damicornis*) among the three islands corresponded to the highest value of RDPI, despite not significant.

III.5 Intraspecific variability in growth rate

The variability of mean growth rates among coral colonies appeared species-specific (Figure 4A, B, C). The variability of mean growth rate for *A. hyacinthus* was lower on Moorea and Tahiti (variation up to a factor of 1.7) than on Bora Bora (by a factor 3.9). Conversely, a low variability for the mean growth rates was reported for *P. damicornis* on Moorea (variation up to a factor of 1.4), Tahiti (up to a factor 1.7), and Bora Bora (up to a factor 1.6). In contrast, a high variability of mean growth rate was reported for *P. rus* compared to both other species, with the highest variation on Bora Bora (up to a factor 7) followed by Moorea (variation up to a factor 3.5). The variation in mean growth rates of the three species was similar on Tahiti (*A. hyacinthus* = 1.7, *P. damicornis* = 1.7, and *P. rus* 1.5). Results of variance among individuals, sites, and their interactions are presented in Table 1 (SI).

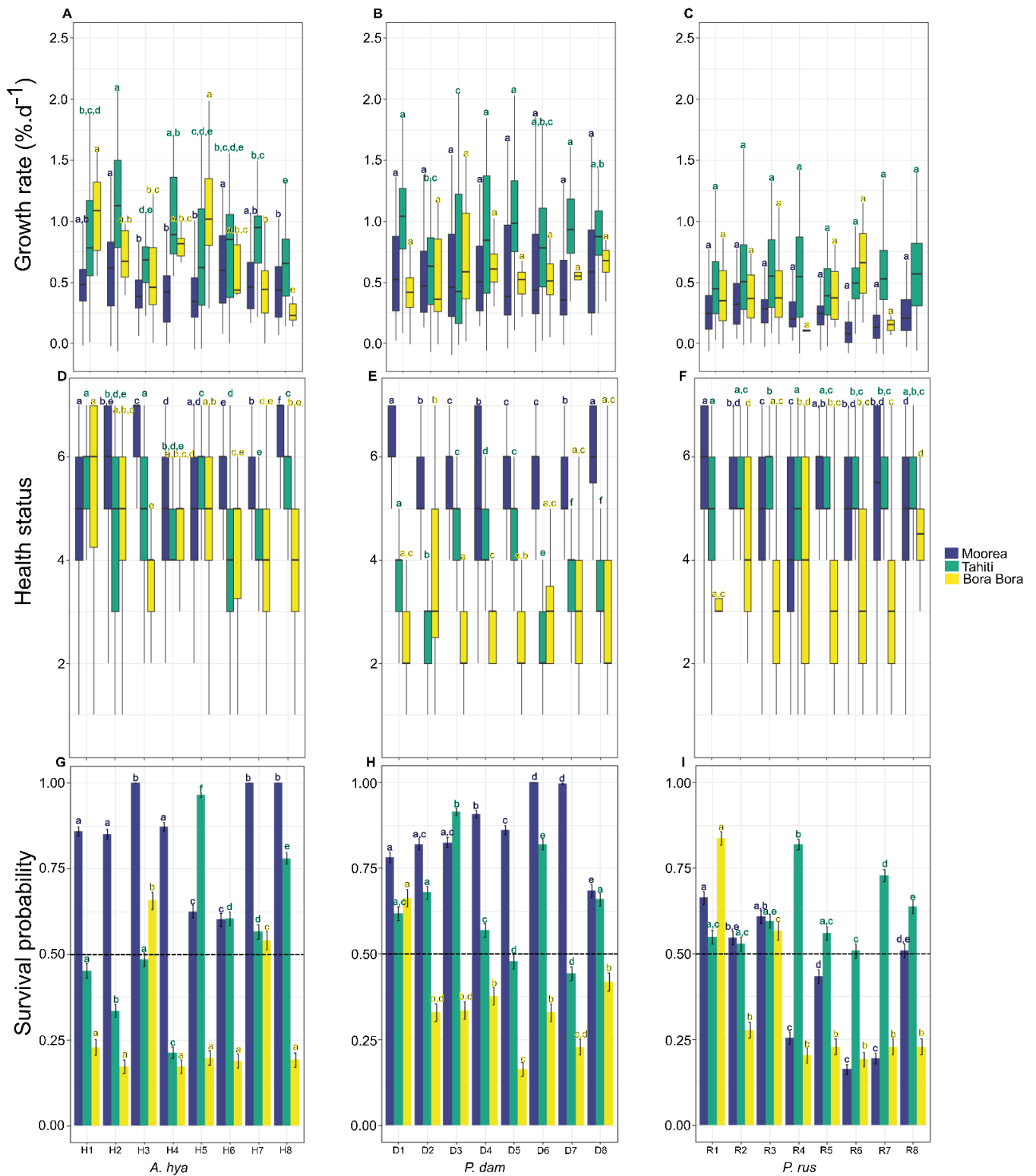


Figure 4 : Intraspecific variation of the growth rate (A, B, C), health status (D, E, F), and survival probability (G, H, I) of the 3 coral species, among the three islands tested ($n = 10$ per colony). Data are expressed as mean \pm standard errors for survival probability. *A. hya* = *Acropora hyacinthus*, *P. dam* = *Pocillopora damicornis*, *P. rus* = *Porites rus*. The different letters associated to H, D and R represent the different genotypes. Points with different letters represent significant differences among individuals, based on Tukey HSD, with α set at 0.05, and based on log-rank test for survival probability. The colors associated to letters represent the site analyzed. The dashed line represent the survival probability of 50%.

No significant difference in mean growth rate was reported for *P. rus* among the 8 colonies fragmented in the 3 sites of transplantation (Figure 4C). For *P. damicornis*, despite no inter-colony difference was observed for the growth rate among the 8 colonies on Bora Bora and Moorea, significant lower growth rate was reported on Tahiti for colonies #2, 3 and 6. Finally, inter-colony difference was more pronounced for *A. hyacinthus* especially on Bora Bora and Tahiti. On Bora Bora, colonies #1, 2, 4 and 6 had the highest growth rate measured, despite colonies 4 and 7 had intermediate values and colony #8 the lowest value. On Tahiti a similar pattern emerged, with colonies #2, 4 having the highest significant growth rate, followed by colonies #1, 5, 6, 7 and finally colonies# 3 and 8 had the lowest growth rate. On Moorea, difference among colonies significantly separated into two classes: high growth rate (colonies #2 and 6) and lower one (colonies #3, 4, 5, 8; Figure 4A).

III.6 Intraspecific variability in health status

Different response of the variation in mean health status was found for the three species (Figure 4D, E, F). The mean health status of the species *A. hyacinthus* vary similarly in the three islands tested from a factor 1.3, (3.8 ± 0.05 to 5.1 ± 0.3) on Bora Bora to 1.4, both on Tahiti (4.0 ± 0.09 to 5.7 ± 0.4) and Moorea (4.7 ± 0.05 to 6.6 ± 0.02).

The mean health status for the species *P. rus* vary from a factor 1.1 on Tahiti (4.9 ± 0.08 to 5.5 ± 0.06) to 1.3 on Moorea (4.5 ± 0.1 to 5.7 ± 0.06) and up to a factor 1.5 on Bora Bora (3.0 ± 0.2 to 4.4 ± 0.2).

The mean health status for the species *P. damicornis* was the most variable among individuals and sites. On Moorea mean health status varied from a factor 1.3 (5.2 ± 0.04 to 6.1 ± 0.05), to a factor 1.5 on Bora Bora (2.4 ± 0.06 to 3.7 ± 0.14), and differences increase on Tahiti, to a factor 2 (2.3 ± 0.04 to 4.7 ± 0.04). Results of variance among individuals, sites, and their interactions are presented in Table 1 (SI).

III.7 Intraspecific variability in survival probability

To assess how the different colonies performed in various environments, we defined a 50% Threshold of Survival (TS50) to investigate the performance patterns of various colonies selected. By using that TS50, different patterns emerged from the survival probabilities among colonies (Figure 4G, H, I). All colonies of *P. rus* on Tahiti harbored survival probabilities higher than TS50, whereas only half of colonies reached that threshold on Moorea, and only 25% on Bora Bora. All 8 genotypes of *P. damicornis* had a survivorship above the TS50 on Moorea and 75% of them on Tahiti. For *A. hyacinthus*, all genotypes

harbored a survival above 50% on Moorea, whereas only 50% of genotypes reached the TS50 on Tahiti. Overall, the intraspecific variability of genotypes of each species showed that the most stressful environment was Bora Bora (with a lower proportion of genotypes passing the threshold of 50%), followed by Tahiti and then Moorea (Figure 4G, H, I).

For each species, certain colonies harbored significantly higher survivorship in a certain site, such as colonies #H3, H7 and H8 for *A. hyacinthus*, colonies #D6 and D7 for *P. damicornis* or colonies #R1, R2 and R3 for *P. rus* on Moorea. However, in most case, this pattern of better survival was not conserved across site. In the most stressful environment (Bora Bora), the best survivors are colonies #H3 and H7 for *A. hyacinthus*, colony #D1 for *P. damicornis* and colonies R1 and R3 for *P. rus*. Results of variance among individuals, sites, and their interactions are presented in Table 2 (SI).

III.8 Relative phenotypic distance

3.8.1 *Acropora hyacinthus*

The relative phenotypic distance of the median health status and the maximum growth rate among individuals identified clearly two groups. The first group was composed of colonies with middle phenotypic distances for the median health status and low for maximum growth rate versus low phenotypic distances for the median health status and middle to high for the maximum growth rate (Figure 5). Surprisingly the two colonies (H3 and H7) harboring the highest survivorship on Bora Bora (the most stressful environment) did not fit into a similar cluster. This showed that for *A. hyacinthus* the relative phenotypic distance observed does not allow to separate the “winner“ colonies to raise into coral gardens.

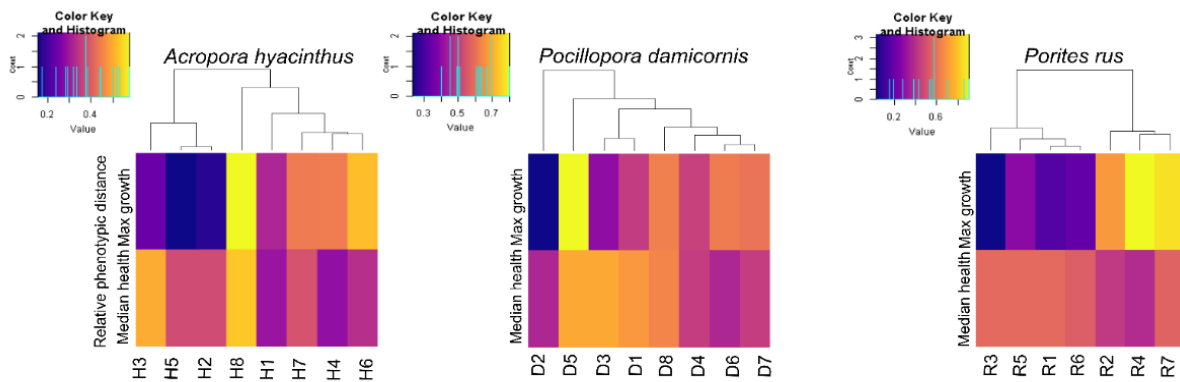


Figure 5 : Heatmap and clustering of the relative phenotypic distances, in the different individual studied. H = *Acropora hyacinthus*, D = *Pocillopora damicornis*, R = *Porites rus*. The different letters associated to H, P and R represent the different genotype.

3.8.2 *Pocillopora damicornis*

The correlation among individuals did not clearly identified groups. We observed more a distance gradient among the different individuals (Figure 5). Interestingly the only colony (D1) that harbored a survival probability higher than 60% on the three islands had a similar pattern of phenotypic distance as the colony H3 of *A. hyacinthus*, characterized by a phenotypic distance more important in its median health status than in its maximum growth rate (Figure 5).

3.8.3 *Porites rus*

Relative distances for *P. rus*, was computed for only 7 individuals (instead of 8), as the colony R8 died on Bora Bora (see Figure 4C). The correlation among individuals identified clearly two groups, the first group was composed of colonies with relatively low distances for the maximum growth rate and middle to high phenotypic distances for the median health. The second group was composed of colonies with middle to high phenotypic distances for maximum growth rates and low phenotypic distance for median health status (Figure 5). The colony that survived the best on Bora Bora (R1 and R3) fitted into the first cluster. Interestingly all the colonies that survived well in the three islands tested presented a phenotypic distance more important for the median health status than for their maximum growth rates (Figure 5).

IV. Discussion

In a context where coral reefs are severely damaged by human actions, understanding coral responses to environmental perturbations (Hughes et al., 2017; Hughes et al., 2018, 2017) and developing tools for coral reef management and conservation actions (van Oppen et al., 2017; Webster et al., 2017) stand as pillars of research questions, if we are to protect one of the most diverse ecosystems on Earth. If asexual reproduction has been used since the 80's to grow corals *in-situ*, we still do not clearly understand i) the extent of coral plasticity among species and individuals, and ii) whether coral garden experiments are useful tools to select the best genotypes for restoration actions. To tackle these research questions, we grew three coral species on three different sites and confronted their responses after three years (2014-2017), while they were subject to one of the longest and most widespread global bleaching event on record (Eakin et al., 2016; Heron et al., 2016). Here the responses investigated are growth rate (GR), health status (HS) and survival probability (SP) for the scleractinian corals *A. hyacinthus*, *P. damicornis* and *P. rus*.

Bora Bora was the most stressful environment for coral nubbins as reported by the lowest survivorship for all species ($0.29 \leq SP \leq 0.36$) after 36 months. Tahiti harbored an intermediate state ($0.55 \leq SP \leq 0.65$), whereas Moorea presented the highest rate for two species (*A. hyacinthus*, and *P. damicornis*) out of three ($0.42 \leq SP \leq 0.86$). Patterns of survivorship is dependent of the combination of temperature and light that corals experienced. Indeed, despite bleaching temperature threshold of 29.2°C (Hoegh-Guldberg, 1999) was reached in all sites, temperature remained above bleaching threshold for longer time on Tahiti and Bora Bora than on Moorea. However, the more pronounced lowest survivorship on Bora Bora is likely driven by the higher luminosity recorded (> 7000 lx) compared to Tahiti. Temperature and light are effectively known to drive alone or in concert oxidative and photo-oxidative damage to thylakoids in *Symbiodinium sp* (Downs et al., 2013; Rehman et al., 2016). Synergy of these two stressors generally lead to exacerbated signs of bleaching and is likely explaining the lowest survivorship occurring in Bora Bora. As such, a gradient of environmental conditions was effective among the three sites, with the highest stressful environment being Bora Bora (high light and high temperature), followed by Tahiti (high temperature) and then Moorea (moderate temperature, Figure 1).

The contrasted environmental condition of the three sites directly altered how corals performed in an environment. For example, coral growth was found maximal on Tahiti (0.53 to 0.78 %·d⁻¹), despite lower growth was recorded on Moorea, the less stressful environment.

As high temperature is known to accelerate organism metabolism, certain works demonstrated the positive effects of increasing temperature on coral growth rate (Anderson et al., 2017; Lesser, 2011; Lough and Barnes, 2000; Rodolfo-Metalpa et al., 2008). In that context, the high coral growth observed on Tahiti is likely due to the higher temperature experienced by corals on Tahiti compared to Moorea. However the combination of high temperature and high irradiance present in Bora Bora lead to reduced coral growth rate in corals. Here we showed the paramount importance of studies dealing with multiple stressors to increase ecological relevancy as conclusion from single stressor may be biased when other acts in concert.

Capacity to survive in one environment may modulate coral growth but also lead to health adjustment. Here we showed in Tahiti and Moorea that increased survivorship was associated to increased health status and high growth rate, except for *P. rus*. However, a distinct pattern emerged for Bora Bora, where the low survival is reflecting a poor health status, but a moderate growth rate. This primarily translated that in the most stressful environment, corals that survived are able to maintain positive growth rate, despite an impaired health status, which could be due to increase heterotrophy (Hughes and Grottoli, 2013). The reduced health status observed in Bora Bora for corals is likely originated from the symbiosis breakdown due to rough environmental condition. Some clades of *Symbiodinium* are more thermotolerant than others and corals may switch *Symbiodinium* composition as a mechanism to adapt to variable environmental conditions (Berkelmans and van Oppen, 2006; Baker, 2001). A possibility for corals experiencing Bora Bora environmental condition is an advantageous change in *Symbiodinium* composition, for clades best fitted to this warming and lighting environment. Despite not investigated in the present, changes in *Symbiodinium* compositions deserves further study to better understand the role of symbiosis plasticity into coral acclimatization. Nonetheless, here we suggest that reducing *Symbiodinium* density, could be linked to increase heterotrophy, which could enable positive growth rate in stressful environment, and could thus appeared as an efficient biological mechanism to thrive while facing increasing thermal anomaly

Acropora are generally described as fast-growing species and our data reinforces this trend but also reveal that *Pocillopora* harbored similar growth rate as *Acropora*, which could be attributed to their close phylogenetic distance. The fast-growing rate of both *Acropora* and *Pocillopora* suggests the importance of these both genera into renewal of coral communities in French Polynesia. In line with the important growth capacities of *Pocillopora*, recent works confirmed that recovery process on Moorea was driven by fast recovery of *Pocillopora* genus

(Berumen and Pratchett, 2006). Thus, our experiment confirmed the central role of *Pocillopora* genus into the current Polynesian reef landscape based on its growth performance and high survivorship in disturbed environment.

Our work showed that in the most stressful environment (Bora Bora), individuals that survived (>50% on average) had a reduced health status (≤ 4) for the three species investigated. So capacity to acclimatize to high irradiance leading to reducing photo-oxidative damage (Downs et al., 2013; Rehman et al., 2016) is likely driving how corals survive in that stressful environment. Interestingly, *A. hyacinthus* with higher health status ranging from 4 to 6 had a higher mortality than the two other genus (*Pocillopora* and *Porites*), which harbored lower health status (variation from 2 and 3 to 6). Further analysis should be done to confirm this assumption but our results corroborates the classification of Darling et al. (2012), with *Acropora* being a competitive coral more sensitive to environmental perturbation than weedy species (*P. rus* and *P. damicornis*).

To characterize phenotypic plasticity among species, we used an RDPI and revealed that all species harbored similar plasticity. Weedy species are generally described as more variable than competitive which allow them to colonize a variety of environment and substrate. Despite no significant difference, was observed between species, it might be interesting to increase replicate numbers as well as number of sites tested to potentially highlight significant differences. While these patterns were found at the species level, question remains on coral responses at intraspecific level, as functional approach gave also interesting results leading to an increased role of genotypic variability in defining coral performance (Parkinson et al., 2015; Parkinson and Baums, 2014).

Bora Bora was the most stressful environment for all species, and we observed that individuals harboring a lower health status had also a better survivorship in that environment as previously observed at the species level. For example, 88 % of *P. damicornis* individuals harbored a health status lower than 3, but 75% of *P. damicornis* individuals had a survivorship above 25 % (for solely 38 % of *P. rus* colonies reached this threshold value and only 25 % of *A. hyacinthus* colonies). A decrease of health status is generally correlated to a reduction of *Symbiodinium sp* density (Siebeck et al., 2006), and thus of oxidative stress in coral host, which could explain why these individuals were able to survive.

Interestingly growth rate variation among individual colonies showed different patterns depending of the species. These suggest that for higher survivorship in a stressful environment, coral colonies decreased their growth rate and their health status.

Among the three species investigated, individuals with highest survivorship higher than 50% on Bora Bora (H3 & H7; D1; R1 & R3) harbored also a low health status lower than 4 and a growth rate close to $0.5\%.d^{-1}$. For these individuals it is likely that a tradeoff exists between growth and survivorship (Sibly and Calow, 1989), and that reduced growth is due to the potential cost of acclimatization (Jones and Berkelmans, 2010) and is representative of intraspecific winners of climate change. Edmunds (2017) showed that intraspecific variation in growth is a poor predictor of coral fitness because weak correlation between growth rate and survivorship. Our results corroborated this assumption and we emphasize that a slow growth rate of $\sim 0.5\%.d^{-1}$ is likely the most effective tradeoff between growth and survivorship of corals for stressful environment (Sibly and Calow, 1989), which could be potentially due to different nutritional sources (Hughes and Grottoli, 2013), for corals harboring low health status.

By investigating how different species and colonies performed in three different environments, one of our main target questions was to understand the plasticity of each species to contrasted environment. Our first hypothesis was that corals with higher phenotypic distances (in term of coral maximal growth rate and health status) will be the best individuals to survive changing environment condition. Here, based on phenotypic distances for each individual we showed that such assumption does not hold and different patterns emerged depending of species. First, the phenotypic distances allowed to discriminate two individuals of *P. rus* with highest survivorship on Bora Bora (R1, R3) from the same cluster (Figure 5), but with low phenotypic distances of growth rate and middle phenotypic distances of health status. This suggests that high phenotypic distances is not always a sign of better survival to stressful condition for *P. rus*, as phenotypic plasticity can also be maladaptive (Reed et al., 2011), leading to mismatch between phenotype and environment. In contrast, individuals of *A. hyacinthus* (H3 and H7) with the highest survivorship in the most stressful environment (Bora Bora) were grouped into distinct clusters, revealing that the phenotypic distance is not a good predictor for selecting the best *Acropora* coral performers. For *P. damicornis*, phenotypic distances calculation did not lead to any clear cluster structure and revealed occurrence of highly diverse individual response of *P. damicornis* in varied environment. Common patterns of phenotypic distances does not exist among the three species.

Nonetheless, for the three best colony survivors of each species (with a survival probability over 60%; e.g. H3, D1, R1), we revealed that individuals of *A. hyacinthus*, *P. damicornis* and *P. rus* that performed the best present a higher phenotypic distance for health status rather than for their growth rate. As previously suggested before a tradeoff among growth, health and survivorship is likely existing: coral individuals with moderate plasticity of *Symbiodinium* density and low plasticity of growth will survive better in stressful environment (Jones and Berkelmans, 2010).

To conclude, our coral common garden approach on functional traits proposed that winner individuals are not those that did not bleach, but rather those with enhanced capacity to compensate reduction of their *Symbiodinium sp* concentration by switching *Symbiodinium sp* and/or food source, when temperature and light conditions increase (specifically to reduce oxidative stress), which in turn reduced their growth rate. Nonetheless a threshold in their capacity to support low level of symbionts is likely occurring, and a minimal value of health status around 3 in stressful environment is required to avoid massive mortality.

Selection of coral individuals raised intense debate into the scientific community. A recent study advocated that we should let the nature pick the winner (Webster et al., 2017). However, in a context of rapid changes, innovative solutions to enhance coral restoration in response of the unprecedented changes of the planet is of high concern (Darling et al., 2012; Zinke et al., 2018). Here we showed that selection on coral individuals need to integrate tradeoff existing between performance and survivorship. The capacity to adjust health status (and potentially increased heterotrophy) represent in this study the best indicator of future coral performance in stressful environment, rather than selecting individual with the highest performance (high health status, high growth rate). Moderate value of growth rate around $0.5\% \cdot d^{-1}$ is also a signs of good performance on the long-term and represent a potential proxy of coral selection for restoration. Our work revealed an important intraspecific variability of corals with some individuals better fitted for restoration than other. Further research should try to elucidate the molecular mechanisms behind such difference among individuals, but also assessed the clonal functional response. Despite a coral colony is composed of thousands of genetically identical clones, the large variability observed for certain colonies in our work suggests that not all clones from one colony perform the same way in a particular environment. These raises intriguing questions regarding local adaptation/acclimatization at the colony level that potentially could provide new clues to integrate climate change into restoration measures.

Acknowledgements

The authors acknowledge Criobe technicians and staff for their help during the field collection and lab experiments, specifically Franck Lerouvreur, Cécile Berthe and Mathieu Reynaud. The authors thank the National Center of Scientific Research and the “Ecole Pratique des Hautes Etudes” for their support. The authors thank the hostels, InterContinental Resort and Spa Tahiti, and Intercontinental Resort and Spa Moorea, as well as hostel Meridien Bora Bora, for technical and financial supports.

Competing Interests

Authors declare no competing interests.

Authors' Contributions

AP, LH conceived the ideas and designed methodology; AP, and YL, collected the data; AP, analysed the data. AP and LH led the writing of the manuscript. All authors contributed critically to the drafts and gave final approval for publication.

Supplementary information

Table 1: Results of the two way ANOVA, for the different traits (health status, and growth rate) analyzed. Significant differences are represent as : *** < 0.001, α set at 0.05.

Species	Traits	Factors	Df	Sum Sq	Pr (>F)
<i>A. hyacinthus</i>	Health status	Individuals	7	27.47	<2e-16 ***
		Sites	2	39.33	<2e-16 ***
		Individuals x Sites	14	27.98	<2e-16 ***
<i>P. damicornis</i>	Health status	Individuals	7	19.81	<2e-16 ***
		Sites	2	226.71	<2e-16 ***
		Individuals x Sites	14	42.81	<2e-16 ***
<i>P. rus</i>	Health status	Individuals	7	3.86	<2e-16 ***
		Sites	2	45.36	<2e-16 ***
		Individuals x Sites	14	12.55	<2e-16 ***
<i>A. hyacinthus</i>	Growth rate	Individuals	7	8.29	5.21e-14 ***
		Sites	2	28.44	<2e-16 ***
		Individuals x Sites	14	10.8	4.93-15 ***
<i>P. damicornis</i>	Growth rate	Individuals	7	6.31	4.78e-05 ***
		Sites	2	21.25	<2e-16 ***
		Individuals x Sites	14	7.87	0.000318 ***
<i>P. rus</i>	Growth rate	Individuals	7	2.32	0.00302 ***
		Sites	2	17.89	<2e-16 ***
		Individuals x Sites	14	3.98	0.00043 ***

Table 2: Results of the log-rank test, for survival differences among individual, site, and their interactions. Significant differences are represent as : *** < 0.001, α set at 0.05.

Species	Traits	Factors	Df	χ^2	p-value
<i>A. hyacinthus</i>	Survival	Individuals	7	243	0
		Sites	2	393	0
		Individuals x Sites	23	1169	0
<i>P. damicornis</i>	Survival	Individuals	7	91,9	0
		Sites	2	190	0
		Individuals x Sites	23	538	0
<i>P. rus</i>	Survival	Individuals	7	291	0
		Sites	2	223	0
		Individuals x Sites	23	1052	0

Chapitre 7 : Discussion générale

Pendant ce travail de thèse j'ai cherché à répondre aux problématiques liées aux réponses des coraux scléactiniaires face à l'augmentation des perturbations environnementales affectant notre planète, en étudiant spécifiquement la réponse de la reproduction sexuée et asexuée. Toutes connaissances supplémentaires sur la réponse des coraux face au changement climatique et spécifiquement à l'augmentation de température, peuvent néanmoins être associées à l'amélioration des méthodes de conservations et de restaurations des écosystèmes naturels. Ce travail de thèse a ainsi permis de contribuer à l'acquisition de connaissances fondamentales et appliquées de la biologie des coraux. Au niveau fondamental, ma recherche a permis de 1) répondre à des questions liées à l'impact de l'augmentation de la température sur des stades de vie peu étudiés du cycle de vie des coraux scléactiniaires, des gamètes aux larves et 2) de mettre en évidence une plasticité différentielle du taux de croissance et de l'état de santé à la fois au niveau interspécifique mais aussi intraspécifique. Au niveau appliqué, j'ai cherché à intégrer, dans les expérimentations que j'ai développées, les problématiques liées à la restauration des récifs coralliens dans une période de changement climatique et d'extinction de masse, ceci afin de proposer de nouvelles solutions plus adaptées aux changements globaux actuels.

Réponse des jeunes stades de vie à l'augmentation de la température (article 1, 2, 3)

Le changement climatique (IPCC, 2014) en impactant les écosystèmes et les populations naturelles (Parmesan and Yohe, 2003) pousse les scientifiques à travailler sur la réponse des organismes face aux changements majeurs, qui apparaissent engendrer la 6^{ème} grande extinction de masse que la planète est connue (Barnosky et al., 2011).

Les coraux scléactiniaires qui vivent proche de leur limite thermique apparaissent donc comme des organismes sentinelles de ces perturbations environnementales. Comme évoqué en introduction, les connaissances sur la réponse des coraux à l'augmentation de la température sont principalement étudiées chez les stades adultes. Il s'agissait, notamment durant cette thèse, d'augmenter nos connaissances sur les stades pélagiques des coraux. J'ai donc d'abord choisi, durant ce travail de thèse, d'évaluer les températures altérant les jeunes stades de vie pélagique en caractérisant leur succès de fécondation (sans embryon déformé) et leur survie pour les stades larvaires. Afin de quantifier de manière précise la température de rupture chez les jeunes stades de vie pélagique des coraux, des modèles dose-réponse, comme ceux décrits pour la toxicologie (ET₅₀ et LT₅₀), ont été mis en place pour la température, basés

sur les études toxicologiques évaluant les effets d'une molécule chimique sur la fécondation des coraux et la survie des larves (Puisay et al., 2015; Reichelt-Brushett et Michalek-Wagner, 2005; Victor et Richmond, 2005). En effet, les tests associés à la caractérisation des effets de la température sur les coraux, n'utilisent que très rarement ces modèles et confrontent généralement la réponse des coraux directement à deux ou trois températures, ce qui inhibe l'utilisation de tels modèles. Afin de déterminer une température létale ou sub-létale (ET_{50} et LT_{50}), mon protocole d'expérience a donc considéré, initialement, un gradient de cinq températures (26, 28, 30, 32, 34°C) pour déterminer lesquelles impactent le succès de la fécondation et la survie larvaire.

Mon travail révèle l'existence d'une réponse variable en fonction des stades de vies des espèces et de la durée d'exposition aux températures élevées considérés. Les limites thermiques calculées pour le taux de fécondation apparaissent pour les deux espèces étudiées, *A. pulchra* et *A. cytherea* se situer très proche d'une température de 31°C ($ET_{50} = 31.5$ et 30.8°C, respectivement). Ces températures correspondent aussi à une augmentation du nombre d'embryons déformés chez les deux espèces ainsi qu'à une réduction du nombre d'ovocytes fécondés.

La résistance thermique des larves montrent néanmoins qu'une augmentation de la durée d'exposition à une température donnée diminue la survie des larves, avec des différences observées de plus de 2°C. Par exemple, alors qu'une température de 30.7°C diminue de moitié la survie des larves au bout de 8 jours, une température de seulement 28.4°C a le même effet au bout de 14 jours. Une tendance similaire a été observée pour *A. cytherea* (LT_{50} à 8 jours de 31.5°C vs 30.8°C à 14 jours).

Mes résultats corroborent ainsi des études précédentes évaluant la sensibilité des jeunes stades de vie coralliens avec notamment une réduction du taux de fécondation associée à une augmentation du nombre d'embryons déformés avec des températures supérieures à 30°C (Negri et al., 2007; Randall et Szmant, 2009), mais aussi une diminution de la survie des larves aux fortes températures (Edmunds et al., 2001; Putnam et al., 2010; Woolsey et al., 2015). Chez les gamètes et les embryons, le processus de développement embryonnaire est relativement rapide, et une seule durée d'exposition a été testée (4 h 30) dans mes expériences. Néanmoins, comme montré par Victor et Richmond en 2005, il est possible qu'une exposition des embryons plus longue (12 h) au lieu de 4 h 30 aurait augmenté leur sensibilité et des limites thermiques plus faibles auraient été observées. Les travaux de

Randall et Szmant, 2009) soulignent que la mortalité maximale d'embryons soumis à trois températures (27.5, 29.0 et 31.5°C) est observée au bout de 50 h. Le mécanisme se mettant en place lors du développement embryonnaire, 50 h après la fécondation, est la gastrulation qui semble donc représenter le stade embryonnaire corallien le plus sensible à l'augmentation de température (Byrum et Martindale, 2008; Randall et Szmant, 2009). Chez les larves de coraux et notamment dans le genre *Acropora*, il a pu être montré que le recrutement se déroulait pendant les dix premiers jours après la fécondation (Harrison et Wallace, 1990; Hodgson, 1985). Dans mon étude, la transition la plus forte observée dans la réduction de la limite thermique a été entre huit et dix jours d'expérimentations. Il est alors intéressant de noter ici, que les larves de coraux une fois formées, ne peuvent pas tout de suite recruter, puisqu'elles ont besoin de mettre en place les structures biologiques afin de pouvoir sélectionner un substrat sur lequel s'installer. Cette période de mise en place de structures telles que la bouche (24 h), le cœlentéron (36 h), les filaments mésentériques (7 jours) est connue sous le nom de phase de pré-compétence (Gleason et Hofmann, 2011; Harrison et Wallace, 1990; Kojis et Quinn, 1981). Cette phase de pré-compétence peut néanmoins être raccourcie en augmentant la température de 2 à 4°C au-dessus des températures de saison (Heyward et Negri, 2010). Les larves s'étant développées à forte température (28 et 30°C), apparaissent néanmoins avoir une fenêtre temporelle plus étroite afin de pouvoir recruter. Dans mon expérience, aucune structure permettant le recrutement n'a été ajoutée et il est alors possible qu'une fois la fenêtre temporelle de recrutement dépassée, la qualité des larves diminue, ce qui dans mon expérience a pu se traduire par une diminution des limites de résistances thermiques après 8 à 10 jours d'expérience. Les larves de coraux peuvent avoir des réserves sous forme de lipides (Padilla-Gamiño et al., 2013) et sous forme d'éléments carbonés si les larves possèdent dans les ovocytes des *Symbiodinium*, mais les larves d'*Acropora* étant azooxanthellés, il est possible que leurs réserves énergétiques aient été épuisées au bout de huit jours, ce qui a pu aboutir à une mortalité importante, faute d'énergie disponible.

Tous les stades de développement embryonnaire et larvaire n'ont donc pas la même sensibilité à l'augmentation de température. Il est donc crucial de prendre en considération la susceptibilité des différents stades de vie successifs des coraux à l'augmentation de la température dans les modèles prédictifs. Néanmoins mes travaux montrent que des températures supérieures ou égales à 32°C réduisent à la fois la fécondation et la survie larvaire de manière drastique. Bien que ces températures ne soient en moyenne pas atteintes en Polynésie française pendant cette période (~27°C), dans des cas extrêmes de courtes

durées, des pics de température de quelques jours jusqu'à 32.4°C ont déjà été enregistrés (octobre 2002). La survie des gamètes et embryons pendant 24 h à de telles températures serait donc néanmoins fortement altérée, et de ce fait le potentiel de renouvellement de la population compromis. La diminution dans les populations de nouveaux individus peut alors conduire à une disparition du genre corallien *Acropora* par la diminution de sa diversité génétique (Reusch et al., 2005) si les périodes de pontes correspondent à ces anomalies thermiques.

Cependant de nombreux facteurs biotiques ou abiotiques peuvent altérer les limites physiologiques des coraux. Chez ces organismes, des études ont révélé l'influence de la date de ponte sur la résistance des gamètes (Hédouin and Gates, 2013), de la zone géographique étudiée (Woolsey et al., 2015), et des géniteurs utilisés sur la qualité des gamètes produites par différents génotypes (Baums et al., 2013). La mise en place des gamètes est relativement longue chez les coraux *Acropora* notamment pour les ovocytes, dont la durée de la gamétogénèse est de 6 à 12 mois (Wallace, 1985). Il serait donc pertinent d'intégrer la température à laquelle les parents ont été exposés durant la période de la gamétogénèse dans l'analyse de la résistance thermique des jeunes stades de vie de coraux. Récemment, des marqueurs génétiques de type antioxydants ont été mis en évidence chez *A. millepora* dans différentes populations de cette espèce vivant le long d'un gradient thermique naturel de 3°C entre le Nord et le Sud de la grande barrière de corail en Australie (Jin et al., 2016). Les auteurs ont pu mettre en évidence deux *loci* pouvant permettre aux individus, en étant dotés, de présenter des résistances au blanchissement plus élevées que les individus en étant dépourvus.

Ainsi le couplage de marqueurs de type antioxydant chez les parents associés aux températures effectives pendant le développement embryonnaire, pourraient permettre d'observer l'influence des différentes sources de variations à la fois génétique et environnementale dans la réponse des jeunes stades de vie de coraux. En effet, comprendre la part environnementale et génétique ainsi que leur interaction dans la modulation de la réponse des organismes face aux changements environnementaux apparaît aujourd'hui cruciale.

Bien que le fait de documenter l'influence de la température sur la fécondation, le développement embryonnaire et la survie larvaire puisse permettre de mieux comprendre la réponse des coraux face au changement climatique (IPCC, 2014), cela ne donne que peu de solutions afin de pallier à ces effets négatifs. Dans ce travail de recherche doctorale, j'ai alors

souhaité appréhender les solutions potentielles pour « assister » les coraux dans le contexte environnemental actuel. Ainsi mon travail sur les limites thermiques des jeunes stades de vie m'a permis d'identifier les points de ruptures biologiques des différents stades pélagiques, pour ensuite évaluer s'il est possible d'améliorer leur résistance au stress au travers de phases de pré-exposition à ce stress thermique.

Effet de la pré-exposition à la température sur la performance des gamètes, embryons et larves

L'acclimatation est la capacité d'un organisme à moduler sur une période de temps courte pendant sa période de vie et de manière réversible ces processus physiologiques en fonction de l'environnement rencontré (Lagerspetz, 2006). Ainsi face à une exposition à de fortes températures (Berkelmans and van Oppen, 2006; Middlebrook et al., 2008) mais aussi à de plus faibles intensités lumineuses (Baker, 2001), les coraux ont montré des capacités d'acclimatation par différents processus de remaniement et de changement de *Symbiodinium*. Cette capacité d'acclimatation a été observée de manière expérimentale dans des mésocosmes, mais aussi *in-situ* suite à des épisodes successifs de blanchissement d'intensité équivalente (Maynard et al., 2008; McClanahan, 2017; Penin et al., 2013). De plus l'étude de Moya et al. (2015) a révélé que les embryons pouvaient s'acclimater à l'acidification de son environnement, notamment grâce à l'expression de gènes de défenses comme les protéines de chocs thermiques (Hsp70) et anti-apoptotique Bcl-2. Ces résultats supportent ainsi l'hypothèse d'évolution assistée proposée par van Oppen et al. en (2015), qui stipule qu'il est possible d'améliorer l'efficacité des techniques de restauration des récifs coralliens en « assistant » les coraux par différents procédés (préconditionnement, reproduction sélective, transgénèse) conduisant à l'augmentation des performances des coraux dans des environnements stressants.

En se basant sur ces études, j'ai émis l'hypothèse que le préconditionnement, à des températures plus élevées que la normale des stades précoces des coraux, pouvait augmenter la limite thermique des stades ultérieurs. Pour cela, j'ai choisi de tester trois stades de vie clé de la phase pélagique : les gamètes (0 -2 h après émission dans la colonne d'eau), les embryons (2 - 4 h 30 après émission dans la colonne d'eau) et les larves (7 jours après la fécondation). Comme démontré dans mes travaux sur la survie larvaire, la durée d'exposition est un facteur déterminant dans la réponse biologique observée chez les coraux. Ainsi différentes durées de pré-exposition ont été testées, sachant qu'aucune information n'était

disponible sur le préconditionnement des coraux au moment de la réalisation de ma thèse. Pour mieux appréhender l'influence seule et/ou en interaction du temps d'exposition et de la température sur la réponse biologique étudiée, un modèle linéaire généralisé (GLM) a été utilisé.

Mes travaux révèlent un effet important de la température et du temps d'exposition dans la détermination des limites thermiques des gamètes et du succès de la fécondation. La température de fécondation joue un rôle fondamental ($pseudoR^2 = 37\%$), alors que le temps de pré-exposition compte pour 14 % et que la température de pré-exposition ne contribue qu'à la hauteur de 4% chez le corail *A. cytherea*. De plus l'interaction entre la durée et la température de pré-exposition et la température de fécondation explique 56 % de la variation du succès de fécondation entre 27 et 30°C chez *A. cytherea*. Ce résultat montre donc le rôle critique de la phase de vie gamète libre et de son environnement thermique dans la détermination du succès de la fécondation des coraux. De plus ce modèle montre qu'en fonction du temps de pré-exposition et de la température de pré-exposition, des effets positifs peuvent se mettre en place au sein des gamètes pendant leur phase de vie libre, ce qui n'avait jamais été observé auparavant.

Mes travaux ont révélé qu'une courte période de pré-exposition des embryons (< 2 h) à 30°C génèrait une diminution de la survie larvaire à cette même température (30°C), suggérant un effet négatif de la phase de pré-exposition. En revanche lors d'une pré-exposition plus longue (4 h 30), la survie des larves pré-exposées à 30 °C apparaît similaire à celle des larves maintenues à 27°C lors de leur exposition respective à 30°C pendant quatorze jours. Ces résultats laissent penser qu'une pré-exposition plus longue permettrait d'activer certains mécanismes de défense. De plus, cette même pré-exposition à 30°C augmente de 48% la probabilité de survie des larves lorsque celle-ci sont exposées à la température contrôle de 27°C. Ainsi bien qu'une augmentation de la résistance à 30°C des larves pré-exposées à 30°C n'a pas été observée, un temps de pré-exposition embryonnaire supérieur à 4 h 30 aurait pu permettre d'augmenter la survie larvaire.

Bien que les coraux scléactiniaires ne soient pas des espèces modèles, les études d'évolutions et développements «evo-devo» des coraux sont généralement étudiés chez l'anémone *Nematostella vectensis* (Helm et al., 2013). Une étude en profondeur a montré notamment que très tôt dans le développement de l'embryon (< 12 h post-fécondation) un mécanisme essentiel se met en place, qui représente le passage d'un fonctionnement biologique provenant

des gènes maternels, vers un fonctionnement grâce aux gènes du nouvel individu formé (zygote). Cette transition qui a lieu chez de très nombreuses espèces (mammifères, amphibiens, poissons, arthropodes, échinodermes), ce nomme MZT pour « Maternal to Zygotic Transition » en anglais (Tadros and Lipshitz, 2009). Cette étape qui se déroule généralement (drosophile et oursin) en deux phases, commence notamment par l'élimination des ARNs maternels suivi par la transcription des gènes du nouveau zygote. Chez *Nematostella vectensis* 260 transcrits montrent une augmentation de leur activité entre 2 et 7 h post-fécondation. Les premiers transcrits semblent notamment être associée à la dégradation des transcrits maternels (Helm et al., 2013). Néanmoins le pic de transcription des gènes du zygote commence 12 h post-fécondation chez *N. vectensis*, correspondant au stade embryonnaire blastula. Certains gènes spécifiques à ce stade de développement seraient notamment associés à la mise en place du plan de symétrie du corps, mais aussi des systèmes neuronaux. Une étude sur le développement embryonnaire d'*A. millepora* à trois températures (28, 30 et 31,5°C), a néanmoins montré l'expression de gènes associés aux protéines de choc thermiques, 24,5 h post-fécondation à la fois à 30 et 31,5°C (Portune et al., 2010). Ainsi la mise en place du fonctionnement du zygote entre 2 et 7 h post-fécondation, avec un pic enregistré à 12 h (Helm et al., 2013) associé à une expression différentielle de gènes pouvant être induits par la température comme *cut8* chez *A. millepora* (Portune et al., 2010), pourraient expliquer les différences de survie larvaire entre des embryons pré-exposés 30 min ou 4 h 30, chez l'espèce étudiée *A. cytherea*.

Il sera donc extrêmement intéressant et prometteur de réaliser des expériences avec des temps d'expositions plus longs, comprenant la période de mise en place du fonctionnement du zygote jusqu'à 12 h après la fécondation, en y associant une étude de génétique fonctionnelle. Si certaines périodes embryonnaires apparaissent plus ou moins sensibles à la température, cela pourrait nous permettre de mettre en évidence les mécanismes potentiellement impliqués, mais, permettrait aussi de cibler une phase de pré-exposition à la température potentiellement préférentielle afin d'obtenir des résultats positifs.

Des résultats encourageants sur la pré-exposition des jeunes stades de vie d'*A. pulchra* et d'*A. cytherea* ont néanmoins été observés pour le stade gamète. En effet, la pré-exposition des ovocytes et des spermatozoïdes d'*A. pulchra*, séparément, à 32°C pendant 1 h a permis d'augmenter le succès de la fécondation à cette température de 63 % (Puisay et al., 2018). De même, une pré-exposition à 30°C de 30 min à 2 h des ovocytes et spermatozoïdes d'*A. cytherea* augmente de 93 % le succès de fécondation entre 27 et 30°C. Enfin aucune baisse du

taux de fécondation n'a été observée à une température de fécondation de 27°C après pré-exposition des gamètes d'*A. pulchra* à 30 et 32°C pendant 1 h, ce qui montre une résistance du stade de vie gamète relativement importante jusqu'à 1 h après libération dans la colonne d'eau.

Après 1 h de pré-exposition à 30°C, la fécondation généralement augmente en raison d'une diminution des embryons déformés jusqu'à 65% chez *A. pulchra*. De plus la variabilité entre les répliquas semble se réduire à cette température notamment chez *A. cytherea* après 1 h de pré-exposition à 30°C. Elle peut être le signe d'un message canalisant la réponse des embryons, notamment selon les travaux de Stearns et collaborateurs de 1995 et Wagner et collaborateurs en 1997 (Debat and David, 2001). Une étude récente a aussi montré que les gamètes pouvaient avoir un rôle important dans la transmission des caractères non génétiques chez les coraux par acclimatation transgénérationnelle (Torda et al., 2017). Ainsi, s'il est possible que les coraux puissent passer des messages environnementaux des adultes aux descendants par les gamètes, les gamètes elles-mêmes et leurs histoires de vie semblent aussi pouvoir déterminer une part importante de la réponse au stress des stades ultérieurs, notamment des embryons et des larves.

La durée d'exposition à un stress joue aussi un rôle important à la fois dans la détermination des limites thermiques de vie des larves de coraux (Puisay et al., 2018), mais aussi lors de la phase de pré-exposition. En effet, une pré-exposition à 32°C inférieure ou égale à 6 h chez les larves de coraux de l'espèce *A. cytherea* âgées de 7 jours réduit leur probabilité de survie à 32°C, alors qu'une pré-exposition plus longue (> 12 h) augmente de 50 à 56 % leur probabilité de survie à cette même température. La durée de pré-exposition des larves à 32°C influence aussi de la même manière leur survie à 27°C, avec une probabilité de survie qui augmente de 94% à 27°C si les larves sont pré-exposées au moins 12 h à 32°C. Ainsi mes résultats de pré-exposition des gamètes et des embryons corroborent donc ceux obtenus sur les larves et convergent vers la théorie du « warmer is better » (terme anglais) développée par Bennett en 1987 (Frazier et al., 2006). Cette hypothèse stipule que les organismes se développant à une température élevée ont de meilleures survies sur une plus large gamme de températures que ceux se développant à des températures plus froides. Or pendant ce travail de thèse j'ai pu observer, que la pré-exposition des stades pélagiques des coraux entraîne des effets bénéfiques sur leur résistance et/ou survie ultérieure si des durées de pré-expositions suffisamment longues sont appliquées. Les mécanismes biologiques à l'issue de cette modification de réponse biologique sont encore aujourd'hui inconnus et je n'ai pas pu au

travers de ma recherche les identifier, mais ils sont une piste très intéressante à poursuivre pour révéler par quels mécanismes la susceptibilité des jeunes stades de vie peut être améliorée.

L'ensemble de mes résultats menés sur la pré-exposition à la température de différents stades pélagiques révèlent que plus la durée de vie des différents stades est courte, plus la durée de pré-exposition nécessaire peut-être courte pour d'observer des effets positifs : 1 h pour les gamètes > 4 h 30 pour les embryons et ≥ 12 h pour les larves. Chez les coraux adultes, des périodes d'acclimatation de 9 mois à 3 ans sont nécessaires pour voir un effet positif (Brown and Cossins, 2011), ce qui corrobore l'hypothèse proposée. Une possible explication à ce phénomène, qui a été observé chez les insectes, réside dans le fait que l'induction de l'expression des protéines pouvant permettre de lutter contre le stress oxydatif, comme les protéines de choc thermique (Hsp) et notamment les Hsp 70, est plus longue à mettre en place chez les adultes que chez un stade plus jeune (Niedzwiecki et al., 1991). Il est donc probable que chez les coraux, l'induction de la synthèse des protéines de chocs thermiques mettent plus de temps à se mettre en place chez les larves âgés de 7 jours que chez les embryons et les gamètes.

Bien que l'effet de la pré-exposition chez les gamètes n'ait pas montré d'effet négatif sur le taux de fécondation réussie (taux de fécondation élevé, faible taux d'embryons déformés), il se peut néanmoins que les ovocytes fécondés sans pré-exposition ou avec pré-exposition ne soit pas les mêmes. Bien que l'augmentation des taux de fécondation et de survie larvaire puisse effectivement être due à l'acclimatation de ces stades de vie, il n'est pas possible de savoir s'il y a eu une sélection des ovocytes et des larves les plus thermorésistants. En effet la qualité de la fécondation peut aussi être dépendante du génotype (Baums et al., 2013). Il se peut, ainsi, que la phase de pré-exposition permette une sélection des ovocytes, plus qu'une acclimatation de leur métabolisme. Il se peut aussi que les deux mécanismes (sélection et acclimatation) aient conduit à l'observation des résultats présentés. Une méthode pouvant permettre de statuer sur l'un des deux mécanismes serait de suivre la mortalité des gamètes et des embryons pendant la phase de pré-exposition afin d'observer si oui ou non la pré-exposition mène à l'acclimatation des ovocytes ou à la sélection des plus résistants. Il est alors intéressant de noter qu'une étude ayant analysé la mortalité des embryons à 30°C, a observé des différences significatives après 50 h à 30°C. Or les temps de pré-expositions utilisées pendant cette thèse, vont de 1 h à 24 h. Bien qu'il ne soit pas possible d'être sûr qu'il s'agisse d'acclimatation, puisque cela aurait nécessité un suivi individuel des gamètes, des embryons

et des larves pré-exposés, les travaux précédents permettent de penser que l'acclimatation apparaît comme un mécanisme biologiquement probable ayant pu conduire aux résultats observés.

Néanmoins, même si une amélioration de la résistance est observée à un certain stade de vie, il est fondamental d'évaluer si les individus pré-exposés maintiennent leur résistance supérieure à la température au cours des autres étapes critiques de leur vie, et ceci jusqu'à l'âge adulte. En effet l'un des paramètres fondamentaux relié à l'acclimatation est sa nature réversible, mais aussi son coût énergétique. Des individus ayant été acclimatés à de fortes températures pendant leur développement peuvent avoir une espérance de vie plus courte (Huey and Berrigan, 1996; Martinez et al., 2016). Il est donc possible que l'acclimatation des gamètes, embryons et larves résultent en une diminution de leur longévité, et plusieurs de mes résultats corroborent cette hypothèse. En effet, j'ai pu observer que la pré-exposition à 30°C sur des durées inférieures à 2 h des gamètes d'*A. pulchra* ne modifie pas leur fécondation à 27°C, alors qu'une pré-exposition de 2 h diminue leur fécondation. L'augmentation de température est connue pour augmenter la vitesse de nage des spermatozoïdes chez un invertébré marin (Kupriyanova et Havenhand, 2005) et le développement embryonnaire chez les coraux (Puisay et al., 2018; Randall et Szmant, 2009), mais il est possible que des temps (>2 h) de pré-expositions des gamètes (stade de vie dont la durée est généralement inférieur à 4 h (Fogarty et al., 2012; Oliver and Babcock, 1992) génèrent un effet négatif sur les gamètes et réduisent leur durée de vie, ce qui expliquerait les fécondations plus faibles à 27°C lors de pré-exposition de 2 h à 30°C. De même, l'augmentation de la vitesse de développement embryonnaire après une pré-exposition à la température observée dans mon expérience sur *A. pulchra*, implique potentiellement un passage au stade larvaire plus précoce, et donc une réduction de la durée du stade larvaire. Or Nozawa and Harrison (2007) ont montré qu'une exposition des larves à une augmentation de la température augmente leur taux de recrutement, et réduis donc le temps de la vie larvaire. Ces différentes observations suggèrent que la pré-exposition à de fortes températures des jeunes stades de vie de coraux résulte en un raccourcissement du temps passé dans chaque phase de vie. Il reste dès lors à déterminer si cette accélération du développement est bénéfique *in fine* sur les stades ultérieurs, et si une corrélation existe entre l'âge des coraux et leur capacité d'acclimatation. Si la réduction des différentes phases de vie se confirme chez les coraux acclimatés, cela pourrait avoir aussi de fortes conséquences sur les modèles de dynamique des populations et notamment sur les capacités de connexions entre les différents récifs coralliens. Néanmoins dans le contexte de

l'évolution assistée ces résultats restent positifs et montrent la potentialité d'augmenter la résistance des coraux à l'augmentation de température et pourraient donc influencer l'efficacité des mesures de restaurations dans un contexte de changement des paramètres environnementaux au niveau mondial.

Un coût énergétique associé à l'acclimatation a néanmoins, déjà été observé chez les adultes, avec une diminution du taux de croissance, associé au remaniement des *Symbiodinium* d'un clade moins thermorésistant vers un clade plus thermorésistant (Jones and Berkelmans, 2010; Little et al., 2004). Ceci montre alors que des compromis énergétiques peuvent exister entre une résistance forte à la température et un fort taux de croissance chez les coraux (Sibly and Calow, 1989). Une des méthodes pouvant permettre de sélectionner les individus en tenant compte de la variation des paramètres environnementaux, pourrait alors se trouver dans l'analyse des coûts associés à l'acclimatation dans différents environnements.

Sélection des coraux basée sur la plasticité des traits fonctionnels (article 4 et 5)

La reproduction sexuée des coraux est aujourd'hui considérée comme une méthode intéressante pour restaurer les récifs coralliens (Epstein et al., 2001; Rinkevich, 2015, 1995), notamment parce qu'elle permet de conserver une diversité génétique fondamentale afin de répondre aux problématiques de conservation. Néanmoins le temps associé à la culture des coraux avec la reproduction sexuée (environ 3 ans) peut apparaître comme un facteur fortement limitant si l'on veut répondre rapidement aux processus de dégradation des récifs coralliens (Chamberland et al., 2015). L'utilisation de la reproduction asexuée, afin de restaurer des récifs coralliens, apparaît donc toujours comme une solution envisageable. Néanmoins, nous ne possédons aujourd'hui que des informations sur la survie et/ou la croissance des boutures de manière générale et des questions fondamentales comme la plasticité phénotypique des individus de coraux élevés dans différents sites restent cruellement inexplorées (Parkinson et al., 2015; Parkinson and Baums, 2014). Pour mieux comprendre la plasticité phénotypique des coraux, j'ai réalisé une expérience en jardin commun sur trois espèces de coraux scléactiniaires, *Acropora hyacinthus*, *Pocillopora damicornis* et *Porites rus* représentant les principales familles retrouvées en Polynésie française (Adjeroud, 1997). Au cours de cette expérience, la croissance, l'état de santé et la survie des boutures ont été suivis dans trois îles différentes (Moorea, Tahiti et Bora Bora) pendant trois ans (2014-2017). Au cours de cette période, les boutures coralliennes ont été

soumises à un événement de blanchissement massif au niveau mondial (Eakin et al., 2016; Heron et al., 2016).

Le site de Bora Bora s'est avéré le plus stressant pour les coraux, avec des périodes de forte température supérieure au seuil de blanchissement ($> 29,2^{\circ}\text{C}$, Hoegh-Guldberg, 1999) et une importante luminosité ($>7000\text{ lx}$). Il en résulte des probabilités de survie inférieures à 40% alors que dans les autres îles, la survie est supérieure à 50%. Mes résultats montrent que sur le site le plus stressant (Bora Bora) une variation de résistance entre espèces est observée, avec une plus faible probabilité de survie pour *A. hyacinthus* que pour *P. damicornis* et *P. rus*, ce qui correspond aux résultats observés sur la grande barrière de corail en Australie (Hughes et al., 2018). Ce résultat corrobore aussi une approche fonctionnelle de la réponse de certains traits d'histoire de vie des coraux (Darling et al., 2012), qui classe *A. hyacinthus* comme une espèce compétitrice « competitive », potentiellement plus sensible à l'augmentation de température, et *P. damicornis* et *P. rus*, comme des espèces plus généralistes « weedy » et potentiellement plus résistantes à l'augmentation de la température.

Néanmoins cette différenciation entre espèces n'a été observée qu'à Bora Bora et Tahiti, probablement en raison des probabilités de survie élevées observées à Moorea, qui ne permet pas d'observer ces patrons de résistances. Ceci renforce néanmoins l'intérêt de l'approche en jardin commun dans différents environnements. Le calcul d'un index de plasticité phénotypique (Valladares et al., 2006) n'a pas révélé de différence significative dans les traits observés (croissance, état de santé) entre espèces, bien que les valeurs calculées pour *P. damicornis* et *P. rus* apparaissent plus élevées (croissance ~ 0.45 , santé ~ 0.56) en comparaison à *A. hyacinthus* (croissance ~ 0.36 , santé ~ 0.38). Initialement j'avais émis l'hypothèse qu'une forte survie serait associée à une croissance importante, à un bon état de santé et à une forte plasticité. Ce patron de réponse des traits fonctionnels n'a pourtant pas été observé. En effet bien que les coraux présentent des probabilités de survie plus faibles à Bora Bora, et plus importantes à Moorea, les taux de croissances dans ces deux îles pour l'espèce *P. damicornis* et *P. rus* ne sont pas différents. De plus, mes résultats montrent qu'une importante survie n'est pas forcément associée à une croissance élevée, et qu'un compromis doit exister entre l'énergie allouée à la croissance et à la survie en fonction des conditions environnementales (Sibly and Calow, 1989), puisqu'une forte réduction de l'état de santé ($\text{IC} \leq 4$) est associée à un taux de survie plus élevé à Bora Bora ($>30\%$). Ainsi dans les conditions environnementales les plus drastiques en terme d'intensité thermique et lumineuse, les espèces avec la plus forte probabilité de survie (*P. damicornis* et *P. rus*) ont un état de santé

plus faible et un taux de croissance réduit (0.35 à 0.58 %. d^{-1}). L'hypothèse selon laquelle une forte survie est associée à une forte croissance, un bon état de santé et une forte plasticité n'a donc pas été démontrée dans le cadre de mon étude.

Des différences ont aussi pu être observées au niveau intraspécifique. De la même manière que certaines espèces apparaissent plus aptes pour survivre dans des environnements stressants, certains individus de chaque espèce présentent des probabilités de survie supérieure à 50 % à Bora Bora. Ces individus apparaissent donc comme de bons candidats pour être sélectionnés dans le contexte d'une restauration corallienne qui tient compte de l'augmentation de température. Il est ainsi très intéressant de noter que tous ces individus présentent un taux de croissance réduit (0.4 à 0.52%. d^{-1}), correspondant à un faible état de santé ($IC \leq 4$), ce qui pourrait être dû à un coût énergétique associé à l'acclimatation (Jones and Berkelmans, 2010).

La mesure de l'indice de plasticité phénotypique RDPI calculée grâce aux distances phénotypiques des huit individus par espèce dans les trois environnements étudiés a révélé des tendances différentes en fonction des espèces. Les individus présentant la meilleure probabilité de survie sont classés au sein du même groupe en termes de distances phénotypiques pour l'espèce *P. rus*, ce qui suggère l'intérêt de cet indice pour la sélection des meilleurs individus. Néanmoins pour les autres espèces, la distance phénotypique ne permet pas de sélectionner *de facto* les meilleurs individus pour l'espèce *A. hyacinthus* et *P. damicornis*. Ces résultats pourraient notamment s'expliquer par le fait que la plasticité peut aussi être non adaptative (Reed et al., 2011). En effet si certains individus peuvent présenter des phénotypes variables en fonction des environnements rencontrés, certains phénotypes peuvent ne pas permettre une meilleure performance dans l'environnement dans lequel il est exprimé, diminuant ainsi la fitness. Par exemple si un individu passe d'un état de santé hypothétique de $IC = 4$ vers 2 entre Tahiti et Bora Bora, il possédera la même distance phénotypique qu'un individu étant passé de $IC = 6$ à 4. Néanmoins, il est possible que la variation de l'état de santé de $IC = 6$ à 4 ne soit pas suffisante pour survivre à Bora Bora entraînant ainsi la mort d'un seul individu bien les deux possèdent la même distance phénotypique. Ainsi des individus possédant les mêmes distances phénotypiques, ont pu être classés dans le même groupe, bien que ces phénotypes puissent être adaptatifs (bonne fitness) ou non (mauvaise fitness).

Néanmoins en observant cette fois-ci les individus avec une probabilité moyenne de survie supérieure à 60% (un seul individu par espèce) dans l'environnement le plus extrême (Bora Bora), ils présentent des distances phénotypiques semblables, avec une faible distance dans le taux de croissance maximale et une forte distance dans l'état de santé médian. La forte plasticité associée à l'état de santé semble donc permettre une meilleure survie qu'une forte plasticité du taux de croissance. Ceci suggère malgré un état de blanchissement reflétant un état de stress du corail, que certains individus sont capables de conserver un taux de croissance positif.

Les coraux disposent d'énergie principalement *via* l'autotrophie (95%, Muscatine et al., 1984), néanmoins en condition de stress il a été démontré qu'ils peuvent favoriser la voie hétérotrophique (Grottoli et al., 2006; Hughes and Grottoli, 2013). Ainsi la capacité de moduler leur source d'énergie pourrait permettre aux coraux de s'acclimater à leur environnement et de maintenir leur performance. Néanmoins Hughes et Grottoli, (2013) ont observé que le passage de la voie autotrophique à hétérotrophique n'était pas sans conséquence pour l'organisme, puisque le retour à l'autotrophie peut s'étaler sur une période jusqu'à 11 mois après la fin de la période de stress. Les auteurs montrent ainsi, que la modification des performances des coraux due à une modification de leur source de nourriture pourrait aussi être un marqueur de stress, et qu'il faudrait environ 1 an avant un retour à la normale, ce qui peut s'avérer très problématique si l'augmentation des perturbations des récifs coralliens augmentent en intensité et en fréquence (Hughes et al., 2018). De plus, même si de nombreux coraux ont été documentés avec cette capacité d'hétérotrophie (Houlbrèque and Ferrier-Pagès, 2009), certaines espèces comme *Pocillopora damicornis* semblent plus adaptés que d'autre *Porites lutea* à l'hétérotrophie (Moberg et al., 1997). Or comme j'ai pu observer des indices d'état de santé extrêmement faibles pour *P. damicornis* à Bora Bora, (88% des individus présentant un état de santé inférieur à 3), il est fort probable que leur survie soit liée à un changement de sources énergétiques. Ainsi de futures études devraient évaluer les changements de proportion d'énergie alloué à l'hétérotrophie et l'autotrophie chez des coraux vivants dans des environnements distincts, éventuellement par l'analyse des différents isotopes du carbone et de l'azote, permettant de différencier entre hétérotrophie et autotrophie (Houlbrèque and Ferrier-Pagès, 2009; Treignier et al., 2009).

De plus, j'ai pu mettre en avant que les individus de *P. damicornis* présentant un phénotype pâle (un faible état de santé) émettaient plus de larves avec un phénotype fluorescent rouge. Ces larves au phénotype rouge possèdent de meilleures résistances thermiques, ce qui pourrait

être lié à un état de diapause (Kenkel et al., 2011; Strader et al., 2016). Néanmoins, pour le corail *A. millepora*, Kenkel et al. (2011) ont montré que les parents contribuaient uniquement à hauteur de 18% dans la structuration des phénotypes larvaires, mais aucune corrélation n'a été observée entre les phénotypes fluorescents parentaux et larvaires (Kenkel et al., 2011). Bien que le phénotype fluorescent des parents n'ait pas été étudié dans le cadre de mon étude, mes travaux montrent que l'état de santé des parents (sensible ou non) influence le phénotype fluorescent des larves en étant issues. Ainsi des coraux *P. damicornis* sensibles aux variations de températures environnementales *in-situ* produisent 40% plus de larves avec un phénotype rouge, leur conférant des limites thermiques plus importantes que les larves avec un phénotype vert. Bien qu'il ne soit pas possible de dissocier la part due à l'effet direct de l'environnement sur la larve en formation (au sein du polype chez *P. damicornis*) d'un possible effet parental dans la modulation de la qualité des larves, mes résultats révèlent cependant une association forte entre phénotypes parentaux (sensibles *versus* résistants) et les phénotypes fluorescents des larves (rouges ou vertes). Ainsi il pourrait être très intéressant d'observer si les coraux sélectionnés lors de mon expérience en jardin commun pour leur plus importante survie à Bora Bora, avec un faible état de santé, produisent aussi une plus grande quantité de larves rouges que les individus présentant un état de santé plus élevé. De plus si les signatures isotopiques montrent une différence de nutrition entre les coraux sensibles à l'augmentation de température ou résistants, il pourrait être aussi intéressant d'observer si cette signature se retrouve aussi chez les larves rouges et s'il existe un lien entre réserve énergétique (hétérotrophe et autotrophe) et phénotype larvaire.

Ces résultats suggèrent que la plasticité des coraux adultes peut éventuellement avoir des effets sur les descendants, ce qui appuie l'idée d'une sélection des individus géniteurs, dans la théorie de l'évolution assistée développée récemment (van Oppen et al., 2017, 2015). La valeur adaptative de la plasticité phénotypique dépend du degré de correspondance entre phénotype et environnement (Langerhans and DeWitt, 2002). Il apparaît ainsi que les gagnants du changement climatique pourraient être les individus capables d'enregistrer de fortes modifications environnementales et d'y répondre en conséquence en étant capables de moduler leurs processus physiologiques. Ainsi bien que des coraux, au niveau spécifique, mais aussi individuel, semblent d'ores et déjà plus aptes à résister aux paramètres environnementaux stressants, il apparaît aussi possible d'augmenter les performances d'autres coraux en préconditionnant spécifiquement certains stades de vie comme les gamètes et les larves afin de répondre aux défis environnementaux du 21^{ème} siècle.

Conclusion

Ce travail de recherche doctorale augmente nos connaissances sur deux processus physiologiques fondamentaux chez les coraux que sont la reproduction sexuée et asexuée, en montrant que la plasticité des traits fonctionnels comme la croissance et l'état de santé peuvent permettre à certains individus de mieux résister à des environnements stressants et que le rôle des jeunes stades pélagiques est fondamental pour comprendre la performance des stades ultérieurs.

L'augmentation de température, bien qu'étant l'élément le plus limitant pour les coraux, semble pouvoir être contournée grâce à l'acclimatation et/ou la sélection des stades de vie gamètes et larves. En effet la pré-exposition des stades pélagiques pendant un temps suffisamment long permet d'améliorer les performances des stades ultérieurs. Des étapes de pré-exposition à de fortes températures pourraient être alors incorporées dans les étapes de la restauration corallienne basée sur la reproduction sexuée, pour améliorer les chances de succès de survie des recrues issues de recombinaison génétique. Bien qu'ils failent confronter ces résultats à d'autres échelles géographiques et temporelles, afin d'observer si ces résultats sont généralisables à d'autres espèces et à d'autres zones coralliennes, ils renforcent l'intérêt de la théorie de l'évolution assistée (van Oppen et al., 2017, 2015).

L'étude en jardin commun a aussi pu révéler, que toutes les espèces et les individus, ne réagissaient pas de la même manière à la variation des paramètres environnementaux. Bien qu'il soit connu depuis longtemps que les coraux sont des organismes plastiques, capables de modifier leur forme en fonction de leur habitat, ce travail de thèse attire l'attention sur le fait que la plasticité de certains traits comme la croissance et l'état de santé semble corrélé à un meilleur taux de survie dans un environnement stressant. Récemment une étude a montré que la variation intraspécifique du taux de croissance était un pauvre prédicteur de la fitness des coraux (Edmunds, 2017). Cette étude montre que la croissance pendant un an ne détermine pas la survie de cet individu ni de son taux de croissance l'année suivante. Une des limites à l'expérience en jardin commun menée pendant ce travail se trouve effectivement dans l'absence de variable temporelle associée aux traits fonctionnels mesurés. Néanmoins il apparaît qu'un taux de croissance mesuré sur trois ans, associé à l'état de santé et au taux de survie permet néanmoins de dégager des individus avec une fitness plus élevée que d'autres. Comme cette étude se place dans un contexte de blanchissement mondial, il est possible que les réponses enregistrées ici aient été différentes dans un autre contexte climatique. Cependant

ce contexte a permis d'observer de manière naturelle, comment différents individus se comportaient face à la variation de leur environnement et il apparaît clair que tous les individus ne sont pas tous aussi armés afin de se maintenir face aux changements environnementaux. L'identification des coraux les plus performants dans un environnement stressant apparaît donc être un bon moyen de tester les individus avant de les utiliser dans des programmes de restauration des récifs coralliens. Néanmoins des compromis semblent aussi être la cause de certains phénotypes observés, et il pourrait être intéressant de comprendre ces compromis énergétiques, permettant seulement certains individus de bien se développer dans des environnements où les probabilités de mortalités pendant la période analysée sont de plus de 60%, comme à Bora Bora. La mise en évidence de ces différents patrons de résistances, n'a cependant été possible que par l'utilisation de trois jardins communs différents. Il apparaît donc intéressant de sélectionner les coraux en confrontant leurs réponses dans des environnements variables, afin de pouvoir observer comment les individus sélectionnés réagiraient à une variation de leurs paramètres environnementaux. Si la dynamique environnementale des zones à restaurer est connue, cela pourrait ainsi être utilisé comme gradient expérimental afin de tester les individus avant de les réimplanter.

Au vu du contexte actuel de modifications environnementales grandissantes sans précédent, mes résultats sur la pré-exposition des stades pélagiques encouragent le développement d'études plus approfondies sur les protocoles à utiliser pour améliorer les performances des coraux à l'augmentation de la température, ce qui pourrait devenir une voie d'intense recherche. De plus les fortes variabilités observées au niveau spécifique et intraspécifique chez les trois espèces de coraux étudiées en jardin commun, montre aussi la possibilité d'augmenter l'efficacité de la restauration en sélectionnant des espèces et des individus en fonction de leur réponse au stress et des compromis énergétiques observés.

S'il apparaît aujourd'hui concret que les coraux souffrent face à l'augmentation de température, il est aussi certain que ces organismes possèdent aussi de nombreux moyens biologiques et physiologiques pour y répondre. Les résultats de mes travaux de recherche doctorale représentent un intérêt fondamental et appliqué dans un contexte de changements globaux et d'extinctions de masses des espèces et répond ainsi, en partie, aux problématiques de conservation et de restauration des écosystèmes coralliens au 21^{ème} siècle.

La conservation de la diversité génétique des coraux est fondamentale pour augmenter l'efficacité de la restauration en prenant en compte le changement climatique (Reusch et al., 2005; Shearer et al., 2009; Webster et al., 2017). Ma recherche doctorale a montré non seulement qu'il était possible de sélectionner certains individus coralliens plus performants face aux conditions environnementales, mais aussi d'améliorer la performance des jeunes stades de vie *via* des expériences de pré-exposition au stress. Le couplage de ces deux approches permettrait *in fine* de conserver une plus grande diversité génétique des populations naturelles dans les mesures de restaurations.

Perspectives

Les résultats obtenus sur la sélection des individus et sur la pré-exposition des jeunes stades de vie ont donné des résultats intéressants à la fois sur la reproduction sexuée et asexuée, cependant des limites émergent, donnant des perspectives de recherche sur ces deux modes de reproduction. En effet les travaux effectués pendant la phase de reproduction sexuée concernent la réponse de deux espèces du genre *Acropora*, dont les gamètes ne possèdent pas initialement de *Symbiodinium* associés. Ainsi les résultats prometteurs de pré-exposition obtenues pourraient diverger pour des espèces dont la transmission des *Symbiodinium* est verticale comme chez les *Montipora* (Padilla-Gamiño et al., 2013). En effet, la présence de *Symbiodinium* dans les stades pélagiques peut augmenter le stress oxydatif associé à l'augmentation de température (Yakovleva et al., 2009). Ainsi il est important de tester si les conditions optimales de pré-exposition définie pour *Acropora* sont extrapolables à d'autres genres coralliens. De plus, il est dorénavant admis que la réponse des coraux (comme chez d'autres organismes) peut être influencée par la présence d'autres organismes symbiotiques (différents des *Symbiodinium*) comme les bactéries, les virus et les champignons (Rädecker et al., 2015; Sweet et Bulling, 2017; Zilber-Rosenberg et Rosenberg, 2008). Bien que l'étude de ces associations n'ait pas encore été effectuée sur les jeunes stades de vie des coraux, il est aussi possible que les périodes de pré-exposition puissent faciliter le développement rapide de certaines bactéries et/ou virus permettant une plus grande résistance à la température. Ainsi la détermination des composantes de l'holobionte dans les jeunes stades de vie mais aussi la réponse intégrée de tout l'holobionte à la pré-exposition permettraient de mieux comprendre les résultats obtenus dans cette thèse.

De plus bien que des effets bénéfiques aient été observés suite à des pré-expositions des stades pélagiques, il est difficile de discerner si ces résultats sont liés à un processus de

sélection des individus les plus résistants durant la phase de pré-exposition et/ou à une réelle acclimatation des stades pélagique. Ainsi, il semble aujourd'hui important de pouvoir mieux appréhender les mécanismes des résultats obtenus et des études reprenant ces expérimentations avec un suivi de la mortalité des différents stades de vie à chaque phase de pré-exposition permettrait d'augmenter notre compréhension des résultats observés.

Lors de ma recherche doctorale, j'ai pu identifier les conditions de température en termes d'intensité et de durée qui altéraient de manière négative les jeunes stades de vie, mais aussi les conditions de pré-exposition au stress thermique optimale pour améliorer les performances des stades pélagique. Enfin, les conditions environnementales auxquelles les colonies parentales sont exposées ont aussi un rôle majeur sur la capacité des descendants à faire face aux modifications de température, et ceci est en lien avec la susceptibilité des parents. S'il apparaît que tous ces facteurs peuvent jouer un rôle critique dans la détermination des performances des descendants, mes recherches n'ont pas pu appréhender l'importance de l'individu lors de croisements génétiques spécifiques. En effet le croisement de gamètes issus d'un phénotype « résistants » pourrait donner naissance à des gamètes aux capacités de résistances plus importantes que des croisements entre colonies « sensibles ». De plus, la mise en place récente de marqueurs génétiques de résistance au stress (Jin et al., 2016) pourrait alors permettre en amont un criblage des potentialités de résistances thermiques des géniteurs, pour identifier les croisements génétiques à tester lors des nuits de ponte.

Les coraux sont des organismes plastiques, et les traits observés ici peuvent aussi changer en fonction des conditions environnementales futures que peuvent subir les coraux. Bien que l'acclimatation au stade embryonnaire chez d'autres organismes a montré des effets positifs chez les adultes, notamment chez le poisson *Danio rerio* (Schnurr et al., 2014; Graham R Scott and Johnston, 2012), ce maintien des effets bénéfiques d'une pré-exposition au stade adulte n'a pas été observée pendant cette étude. Il apparaît donc nécessaire dans le futur de tester cette hypothèse chez les coraux pour valider l'utilisation de telles phases de pré-exposition et s'assurer ainsi de la réussite de la restauration corallienne. Ainsi une des perspectives intéressantes serait d'observer si l'acclimatation observée sur les jeunes stades de vie (e.g. gamètes et larves) est conservée jusqu'à l'âge adulte.

La réponse des coraux à la variabilité des paramètres environnementaux est donc plastique à la fois au niveau de la reproduction sexuée mais aussi asexuée, ce qui montre l'intérêt que représente ces deux processus physiologiques pour la recherche sur de nouvelles méthodes de

restaurations et conforte l'approche de restauration basée sur la théorie de l'évolution assistée. Néanmoins des compromis énergétiques peuvent être associés à l'acclimatation chez les coraux, il paraît donc important d'analyser toutes les conséquences qui pourraient être liées à l'utilisation de coraux plus performants dans des environnements naturels afin d'augmenter et non de diminuer l'efficacité des méthodes de conservations et de restaurations des écosystèmes coralliens, basé sur la reproduction sexuée et asexuée des coraux scléactiniaires.

Bibliographie

- Adjeroud, M., 1997. Factors influencing spatial patterns on coral reefs around Moorea, French Polynesia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 159, 105–119.
- Adjeroud, M., Kayal, M., Iborra-Cantonnet, C., Vercelloni, J., Bosserelle, P., Liao, V., Chancerelle, Y., Claudet, J., Penin, L., 2018. Recovery of coral assemblages despite acute and recurrent disturbances on a South Central Pacific reef. *Sci. Rep.* 8, 1–8. doi:10.1038/s41598-018-27891-3
- Adriaenssens, B., van Damme, R., Seebacher, F., Wilson, R.S., 2012. Sex cells in changing environments: Can organisms adjust the physiological function of gametes to different temperatures? *Glob. Chang. Biol.* 18, 1797–1803. doi:10.1111/j.1365-2486.2012.02672.x
- Ainsworth, T., 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. *ISME J.* 1–14. doi:10.1038/ismej.2015.39
- Ainsworth, T.D., Gates, R.D., 2016. Corals' microbial sentinels. *Science (80-.)*. 352, 1518–1519. doi:10.1126/science.aad9957
- Ainsworth, T.D., Heron, S.F., Ortiz, J.C., Mumby, P.J., Grech, A., Ogawa, D., Eakin, C.M., Leggat, W., 2016. Climate change disables coral bleaching protection on the Great Barrier Reef. *Science (80-.)*. 352, 338–342. doi:10.1126/science.aac7125
- Albright, R., 2011. Reviewing the Effects of Ocean Acidification on Sexual Reproduction and Early Life History Stages of Reef-Building Corals. *J. Mar. Biol.* 2011, 1–14. doi:10.1155/2011/473615
- Albright, R., Mason, B., 2013. Projected Near-Future Levels of Temperature and pCO₂ Reduce Coral Fertilization Success. *PLoS One* 8. doi:10.1371/journal.pone.0056468
- Albright, R., Takeshita, Y., Koweek, D.A., Ninokawa, A., Wolfe, K., Rivlin, T., Nebuchina, Y., Young, J., Caldeira, K., 2018. Carbon dioxide addition to coral reef waters suppresses net community calcification. *Nature* 555, 516–519. doi:10.1038/nature25968
- Alieva, N.O., Konzen, K.A., Field, S.F., Meleshkevitch, E.A., Hunt, M.E., Beltran-Ramirez,

- V., Miller, D.J., Wiedenmann, J., Salih, A., Matz, M. V., 2008. Diversity and evolution of coral fluorescent proteins. *PLoS One* 3. doi:10.1371/journal.pone.0002680
- Anderson, K.D., Cantin, N.E., Heron, S.F., Pisapia, C., Pratchett, M.S., 2017. Variation in growth rates of branching corals along Australia's Great Barrier Reef. *Sci. Rep.* 7, 1–13. doi:10.1038/s41598-017-03085-1
- Andronikov, V.B., 1975. Heat resistance of gametes of marine invertebrates in relation to temperature conditions under which the species exist. *Mar. Biol.* 30, 1–11. doi:10.1007/BF00393747
- Anthony, K.R.N., Kline, D.I., Diaz-Pulido, G., Dove, S., Hoegh-Guldberg, O., 2008. Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 17442–17446. doi:10.1073/pnas.0804478105
- Babcock, R.C., Bull, G.D., Harrison, P.L., Heyward, A.J., Oliver, J.K., Wallace, C.C., Willis, B.L., 1986. Synchronous spawnings of 105 scleractinian coral species on the Great Barrier Reef. *Mar. Biol.* 90, 379–394. doi:10.1007/BF00428562
- Baird, A.H., Gilmour, J.P., Kamik, T.M., Nonaka, M., Morgan, S., Yamamoto, H.H., Yamasaki, H., 2006. Temperature tolerance of symbiotic and non-symbiotic coral larvae. proceeding 10th Int. coral reef Symp. 42, 38–42.
- Baker, A.C., 2003. Flexibility and Specificity in Coral-Algal Symbiosis: Diversity, Ecology, and Biogeography of *Symbiodinium*. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 34, 661–689. doi:10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132417
- Baker, A.C., 2001. Reef corals bleach to survive change. *Nature* 411, 765–766. doi:10.1038/35081151
- Baker, A.C., Starger, C.J., McClanahan, T.R., Gynn, P.W., 2004. Corals' adaptive response to climate change. *Nature* 430, 741.
- Barnosky, A.D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G.O.U., Swartz, B., Quental, T.B., Marshall, C., McGuire, J.L., Lindsey, E.L., Maguire, K.C., Mersey, B., Ferrer, E. a, 2011. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature* 471, 51–57. doi:10.1038/nature09678
- Bassim, K.M., Sammarco, P.W., 2003. Effects of temperature and ammonium on larval development and survivorship in a scleractinian coral (*Diploria strigosa*). *Mar. Biol.* 142,

241–252. doi:10.1007/s00227-002-0953-z

- Bassim, K.M., Sammarco, P.W., Snell, T.L., 2002. Effects of temperature on success of (self and non-self) fertilization and embryogenesis in *Diploria strigosa* (Cnidaria, Scleractinia). *Mar. Biol.* 140, 479–488. doi:10.1007/s00227-001-0722-4
- Bassim, M., Sammarco, W., 2003. Effects of temperature and ammonium on larval development and survivorship in a scleractinian coral (*Diploria strigosa*) 241–252. doi:10.1007/s00227-002-0953-z
- Baums, I.B., Devlin-Durante, M.K., Polato, N.R., Xu, D., Giri, S., Altman, N.S., Ruiz, D., Parkinson, J.E., Boulay, J.N., 2013. Genotypic variation influences reproductive success and thermal stress tolerance in the reef building coral, *Acropora palmata*. *Coral Reefs* 32, 703–717. doi:10.1007/s00338-013-1012-6
- Beldade, P., Mateus, A.R.A., Keller, R.A., 2011. Evolution and molecular mechanisms of adaptive developmental plasticity. *Mol. Ecol.* 20, 1347–1363. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05016.x
- Bellantuono, A.J., Hoegh-Guldberg, O., Rodriguez-Lanetty, M., 2012. Resistance to thermal stress in corals without changes in symbiont composition. *Proc. Biol. Sci.* 279, 1100–1107. doi:10.1098/rspb.2011.1780
- Berkelmans, R., van Oppen, M.J.H., 2006. The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a “nugget of hope” for coral reefs in an era of climate change. *Proc. Biol. Sci.* 273, 2305–12. doi:10.1098/rspb.2006.3567
- Berumen, M.L., Pratchett, M.S., 2006. Recovery without resilience: Persistent disturbance and long-term shifts in the structure of fish and coral communities at Tiahura Reef, Moorea. *Coral Reefs* 25, 647–653. doi:10.1007/s00338-006-0145-2
- Black, N., Voellmy, R., Szmant, A.M., 1995. Heat shock protein induction in *Montastraea faveolata* and *Aiptasia pallida* exposed to elevated temperatures. *Biol. Bull.* 188, 234–240.
- Bonduriansky, R., Day, T., 2009. Nongenetic Inheritance and Its Evolutionary Implications. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40, 103–125. doi:10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173441
- Bongiorni, L., Giovanelli, D., Rinkevich, B., Pusceddu, A., Chou, L.M., Danovaro, R., 2011.

- First step in the restoration of a highly degraded coral reef (Singapore) by in situ coral intensive farming. *Aquaculture* 322–323, 191–200. doi:10.1016/j.aquaculture.2011.09.024
- Bowden-Kerby, A., 2008. Restoration of threatened *Acropora cervicornis* corals: intraspecific variation as a factor in mortality, growth, and self-attachment. *Proc. 11th Int. Coral Reef Symp.* 7–11.
- Bowler, K., Terblanche, J.S., 2008. Insect thermal tolerance: What is the role of ontogeny, ageing and senescence? *Biol. Rev.* 83, 339–355. doi:10.1111/j.1469-185X.2008.00046.x
- Box, G., Cox, D., 1964. An analysis of transformations: Applying the Box-Cox transformation. *J. R. Statistical Soc. Series B*, 211–252.
- Brook, G., 1891. LIV.— *Descriptions of new species of Madrepora in the collection of the British Museum.* *Ann. Mag. Nat. Hist.* 8, 458–471. doi:10.1080/00222939109459223
- Brown, B.E., Cossins, A.R., 2011. The potential for temperature Acclimatisation of Reef Corals in the Face of Climate Change., in: Dubinsky, Z., Stambler, N. (Eds.), *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition.* Ramat Gan, Israël, pp. 421–433.
- Brown, M.B., Forsythe, A.B., 1974. Robust tests for the equality of variances. *J. Am. Stat. Assoc.* 69, 364–367. doi:10.1080/01621459.1974.10482955
- Browne, C.L., Swan, J.B., Rankin, E.E., Calvert, H., Griffiths, S., Tytell, M., 2007. Extracellular heat shock protein 70 has novel functional effects on sea urchin eggs and coelomocytes. *J. Exp. Biol.* 210, 1275–87. doi:10.1242/jeb.02743
- Bruno, J.F., Edmunds, P.J., 1997. Clonal variation for phenotypic plasticity in the coral *Madracis mirabilis*. *Ecology* 78, 2177–2190.
- Buddemeier, R.W., Baker, A.C., Fautin, D.G., Jacobs, R.J., 2004. The adaptative hypothesis of bleaching, in: Rosenberg, E., Loya, Y. (Eds.), *Coral Health and Disease.* pp. 427–444.
- Burke, L., Reytar, K., Spalding, M., Perry, A., 2011. *Reefs at Risk Revisited.* doi:10.1016/0022-0981(79)90136-9
- Byrum, C.A., Martindale, M.Q., 2008. Gastrulation in the cnidaria and ctenophora, in: Stern, C. (Ed.), *Gastrulation from Cells to Embryos.* pp. 33–50.
- Cairns, S., 1988. Asexual reproduction in solitary scleractinia, in: *Proceedings of the 6th*

International Coral Reef Symposium, Australia, 1988, Vol. 2. pp. 641–646.

- Carpenter, K.E., Abrar, M., Aeby, G., Aronson, R.B., Banks, S., Bruckner, A., Chiriboga, A., Cortes, J., Delbeek, J.C., DeVantier, L., Edgar, G.J., Edwards, A.J., Fenner, D., Guzman, H.M., Hoeksema, B.W., Hodgson, G., Johan, O., Licuanan, W.Y., Livingstone, S.R., Lovell, E.R., Moore, J.A., Obura, D.O., Ochavillo, D., Polidoro, B.A., Precht, W.F., Quibilan, M.C., Reboton, C., Richards, Z.T., Rogers, A.D., Sanciangco, J., Sheppard, A., Sheppard, C., Smith, J., Stuart, S., Turak, E., Veron, J.E.N., Wallace, C., Weil, E., Wood, E., 2008. One-Third of Reef-Building Corals Face Elevated Extinction Risk from Climate Change and Local Impacts. *Science* (80-.). 321, 560–563. doi:10.1126/science.1159196
- Carroll, A., Harrison, P., Adjeroud, M., 2006. Sexual reproduction of *Acropora* reef corals at Moorea, French Polynesia. *Coral Reefs* 25, 93–97. doi:10.1007/s00338-005-0057-6
- Chakravarti, L.J., Beltran, V.H., van Oppen, M.J.H., 2017. Rapid thermal adaptation in photosymbionts of reef-building corals. *Glob. Chang. Biol.* doi:10.1111/gcb.13702
- Chamberland, V.F., Vermeij, M.J.A., Brittsan, M., Carl, M., Schick, M., Snowden, S., Schrier, A., Petersen, D., 2015. Restoration of critically endangered elkhorn coral (*Acropora palmata*) populations using larvae reared from wild-caught gametes. *Glob. Ecol. Conserv.* 4, 526–537. doi:10.1016/j.gecco.2015.10.005
- Charmantier, A., McCleery, R.H., Cole, L.R., Perrins, C., Kruuk, L.E.B., Sheldon, B.C., 2008. Adaptive Phenotypic Plasticity in Response to Climate Change in a Wild Bird Population. *Science* (80-.). 320, 800–803. doi:10.1126/science.1157174
- Chown, S.L., Hoffmann, A.A., Kristensen, T.N., Angilletta, M.J., Stenseth, N.C., Pertoldi, C., 2010. Adapting to climate change: A perspective from evolutionary physiology. *Clim. Res.* 43, 3–15. doi:10.3354/cr00879
- Coleman, J.S., Heckathorn, S.A., Hallberg, R.L., 1995. Heat-shock proteins and thermotolerance: linking molecular and ecological perspectives. *Trends Ecol. Evol.* 10, 305–306.
- Collins, T.J., 2007. ImageJ for microscopy. *Biotechniques* 43, 25–30. doi:10.2144/000112505
- Combosch, D.J., Vollmer, S. V., 2013. Mixed asexual and sexual reproduction in the Indo-Pacific reef coral *Pocillopora damicornis*. *Ecol. Evol.* 3, 3379–3387.

doi:10.1002/ece3.721

- Costanza, R., D'Arge, R., de Groot, R., Farber, S., Grasso, M., Hannon, B., Limburg, K., Naeem, S., O'Neill, R. V., Paruelo, J., Raskin, R.G., Sutton, P., van den Belt, M., 1997. The value of the world's ecosystem services and natural capital. *Nature* 387, 253–260. doi:10.1038/387253a0
- Danovaro, R., Bongiorno, L., Corinaldesi, C., Giovannelli, D., Damiani, E., Astolfi, P., Greci, L., Pusceddu, A., 2008. Sunscreens cause coral bleaching by promoting viral infections. *Environ. Health Perspect.* 116, 441–7. doi:10.1289/ehp.10966
- Darling, E.S., Alvarez-Filip, L., Oliver, T.A., McClanahan, T.R., Cote, I.M., 2012. Evaluating life-history strategies of reef corals from species traits. *Ecol. Lett.* 15, 1378–1386. doi:10.1111/j.1461-0248.2012.01861.x
- Das, J., 2006. The role of mitochondrial respiration in physiological and evolutionary adaptation 890–901. doi:10.1002/bies.20463.Published
- Debat, V., David, P., 2001. Mapping phenotype: canalization, plasticity and developmental stability. *Trends Ecol. Evol.* 16, 555–561. doi:10.1016/S0169-5347(01)02266-2
- Dela Cruz, D.W., Harrison, P.L., 2017. Enhanced larval supply and recruitment can replenish reef corals on degraded reefs. *Sci. Rep.* 7, 1–13. doi:10.1038/s41598-017-14546-y
- Diah Permata, W., Kinzie, R. a, Hidaka, M., 2000. Histological studies on the origin of planulae of the coral *Pocillopora damicornis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 200, 191–200. doi:10.3354/meps200191
- Downs, C.A., McDougall, K.E., Woodley, C.M., Fauth, J.E., Richmond, R.H., Kushmaro, A., Gibb, S.W., Loya, Y., Ostrander, G.K., Kramarsky-Winter, E., 2013. Heat-stress and light-stress induce different cellular pathologies in the symbiotic dinoflagellate during coral bleaching. *PLoS One* 8. doi:10.1371/journal.pone.0077173
- Eakin, C.M., Gomez, A., De La Cour, J., Heron, S.F., Skirving, W.J., Geiger, E.F., Tirak, K.V., Strong, A.E., 2016. Global Coral Bleaching 2014-2017. *Reef Encount.* 31, 20–26.
- Edmunds, P., Gates, R., Gleason, D., 2001. The biology of larvae from the reef coral *Porites astreoides*, and their response to temperature disturbances. *Mar. Biol.* 139, 981–989. doi:10.1007/s002270100634

- Edmunds, P.J., 2017. Intraspecific variation in growth rate is a poor predictor of fitness for reef corals. *Ecology* 98, 2191–2200. doi:10.1002/ecy.1912
- Edmunds, P.J., 2005. Effect of elevated temperature on aerobic respiration of coral recruits. *Mar. Biol.* 146, 655–663. doi:10.1007/s00227-004-1485-5
- Edmunds, P.J., 2004. Juvenile coral population dynamics track rising seawater temperature on a Caribbean reef. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 269, 111–119. doi:10.3354/meps269111
- Edwards, A.J., Gomez, E.D., 2007. Reef Restoration Concepts and Guidelines: making sensible management choices in the face of uncertainty. *Coral reef Target. Res. Capacit. Build. Manag. Progr.* 38.
- Epstein, N., Bak, R.P.M., Rinkevich, B., 2003. Applying forest restoration principles to coral reef rehabilitation. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* 13, 387–395. doi:10.1002/aqc.558
- Epstein, N., Bak, R.P.M., Rinkevich, B., 2001. Strategies for gardening denuded coral reef areas: The applicability of using different types of coral material for reef restoration. *Restor. Ecol.* 9, 432–442. doi:10.1046/j.1526-100X.2001.94012.x
- Fang, L., Huang, S., Lin, K., 1997. High temperature induces the synthesis of heat-shock proteins and the elevation of intracellular calcium in the coral *Acropora grandis*. *Coral Reefs* 16, 127–131. doi:10.1007/s003380050066
- Ferse, S.C. a, Nugues, M.M., Romatzki, S.B.C., Kunzmann, A., 2013. Examining the use of mass transplantation of brooding and spawning corals to support natural coral recruitment in Sulawesi/Indonesia. *Restor. Ecol.* 21, 745–754. doi:10.1111/rec.12004
- Fine, M., Tchernov, D., 2007. Scleractinian Coral Species Survive and Recover from Decalcification. *Science* (80-.). 315, 1811.
- Finkel, T., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408, 239–247. doi:10.1038/35041687
- Finkel, T., 1998. Oxygen radicals and signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 10, 248–253. doi:10.1016/S0955-0674(98)80147-6
- Fisher, R., O’Leary, R.A., Low-Choy, S., Mengersen, K., Knowlton, N., Brainard, R.E., Caley, M.J., 2015. Species richness on coral reefs and the pursuit of convergent global

- estimates. *Curr. Biol.* 25, 500–505. doi:10.1016/j.cub.2014.12.022
- Fogarty, N.D., Vollmer, S. V., Levitan, D.R., 2012. Weak prezygotic isolating mechanisms in threatened caribbean *Acropora* corals. *PLoS One* 7, 1–12. doi:10.1371/journal.pone.0030486
- Forrester, G.E., Taylor, K., Schofield, S., Maynard, A., 2013. Colony growth of corals transplanted for restoration depends on their site of origin and environmental factors. *Mar. Ecol.* 34, 186–192. doi:10.1111/maec.12000
- Foster, T., Heyward, A.J., Gilmour, J.P., 2018. Split spawning realigns coral reproduction with optimal environmental windows. *Nat. Commun.* 9, 718. doi:10.1038/s41467-018-03175-2
- Fransolet, D., Roberty, S., Herman, A.C., Tonk, L., Hoegh-Guldberg, O., Plumier, J.C., 2013. Increased Cell Proliferation and Mucocyte Density in the Sea Anemone *Aiptasia pallida* Recovering from Bleaching. *PLoS One* 8, 1–8. doi:10.1371/journal.pone.0065015
- Frazier, M.R., Huey, R.B., Berrigan, D., 2006. Thermodynamics Constrains the Evolution of Insect Population Growth Rates: “Warmer Is Better.” *Am. Nat.* 168, 512–520. doi:10.1086/506977
- Freeman, R.K., Vallières, E., Verrier, E.D., Karmy-Jones, R., Wood, D.E., 2001. Coral bleaching: Interpretation of thermal tolerance limits and thermal thresholds in tropical corals. *Coral Reefs* 20, 51–65. doi:10.1007/s003380100146
- Gibert, P., Huey, R.B., Gilchrist, G.W., 2001. Locomotor performance of *Drosophila melanogaster*: Interactions among developmental and adult temperatures, age, and geography. *Evolution* (N. Y). 55, 205–209. doi:10.1111/j.0014-3820.2001.tb01286.x
- Gleason, D.F., Hofmann, D.K., 2011. Coral larvae: From gametes to recruits. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 408, 42–57. doi:10.1016/j.jembe.2011.07.025
- Glynn, P., 1983. Extensive “bleaching” and death of reef corals on the Pacific coast of Panama. *Environ. Conserv.* 10, 149–154. doi:10.1017/S0376892900012248
- Goreau, T., 1963. Calcium carbonate deposition by coralline algae and corals in relation to their roles as reef-builders. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 127–167. doi:10.1111/j.1749-6632.1966.tb45498.x

- Graham, E.M., Baird, a. H., Connolly, S.R., 2008. Survival dynamics of scleractinian coral larvae and implications for dispersal. *Coral Reefs* 27, 529–539. doi:10.1007/s00338-008-0361-z
- Granados-Cifuentes, C., Bellantuono, A.J., Ridgway, T., Hoegh-Guldberg, O., Rodriguez-Lanetty, M., 2013. High natural gene expression variation in the reef-building coral *Acropora millepora*: potential for acclimative and adaptive plasticity. *BMC Genomics* 14, 228. doi:10.1186/1471-2164-14-228
- Grottoli, A.G., Rodrigues, L.J., Palardy, J.E., 2006. Heterotrophic plasticity and resilience in bleached corals. *Nature* 440, 1186–1189. doi:10.1038/nature04565
- Grottoli, A.G., Warner, M.E., Levas, S.J., Aschaffenburg, M.D., Schoepf, V., Mcginley, M., Baumann, J., Matsui, Y., 2014. The cumulative impact of annual coral bleaching can turn some coral species winners into losers. *Glob. Chang. Biol.* 20, 3823–3833. doi:10.1111/gcb.12658
- Harriott, V.J., Fisk, and D.A., 1988. Coral transplantation as a reef management option, in: *Proceedings of the 6th International Coral Reef Symposium, Australia, 1988, Vol. 3.* pp. 375–379.
- Harris, J., Hobbs, R., Higgs, E., Aronson, J., 2006. Ecological restoration and global climate change. *Restor. Ecol.* 14, 170–176. doi:10.1111/j.1526-100X.2006.00136.x
- Harrison, P.L., 2011. *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition.* Media. doi:10.1007/978-94-007-0114-4
- Harrison, P.L., Babcock, R.C., Bull, G.D., Oliver, J.K., Wallace, C.C., Willis, B.L., 1984. Mass Spawning in Tropical Reef Corals. *Science* (80-.). 223, 1186–1189. doi:10.1126/science.223.4641.1186
- Harrison, P.L., Wallace, C.C., 1990. Reproduction, Dispersal and Recruitment of Scleractinian Corals, Dubinsky. ed. *Coral reefs. Ecosystems of the world*, Elsevier Sciences Publisher, Amsterdam.
- Hawkins, A.J.S., 1995. Effects of temperature change on ectotherm metabolism and evolution: Metabolic and physiological interrelations underlying the superiority of multi-locus heterozygotes in heterogeneous environments. *J. Therm. Biol.* 20, 23–33. doi:10.1016/0306-4565(94)00023-C

- Hédouin, L., Gates, R.D., 2013. Assessing fertilization success of the coral *Montipora capitata* under copper exposure: does the night of spawning matter? *Mar. Pollut. Bull.* 66, 221–4. doi:10.1016/j.marpolbul.2012.11.020
- Helm, R., Siebert, S., Tulin, S., Smith, J., Dunn, C., 2013. Characterization of differential transcript abundance through time during *Nematostella vectensis* development. *BMC Genomics* 14, 266. doi:10.1186/1471-2164-14-266
- Heron, S.F., Maynard, J.A., van Hooidek, R., Eakin, C.M., 2016. Warming Trends and Bleaching Stress of the World's Coral Reefs 1985–2012. *Sci. Rep.* 6, 38402. doi:10.1038/srep38402
- Herrmann, J.M., Stuart, R.A., Craig, E.A., Neupert, W., 1994. Mitochondrial Heat Shock Protein 70 a Molecular Chaperone for Proteins Encoded by Mitochondrial DNA 127, 893–902.
- Heyward, A.J., Negri, A.P., 2012. Turbulence, Cleavage, and the Naked Embryo: A Case for Coral Clones. *Science* (80-.). 335, 2012.
- Heyward, A.J., Negri, A.P., 2010. Plasticity of larval pre-competency in response to temperature: Observations on multiple broadcast spawning coral species. *Coral Reefs* 29, 631–636. doi:10.1007/s00338-009-0578-5
- Highsmith, R.C., 1982. Reproduction by Fragmentation in Corals. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 7, 207–226. doi:10.3354/meps007207
- His, E., Beiras, R., Seaman, M.N.L., 1999. The assessment of marine pollution—Bioassays with bivalve embryos and larvae. *Adv. Mar. Biol.* 37, 1–178.
- Hodgson, G., 1985. Abundance and distribution of planktonic coral larvae in Kaneohe Bay, Oahu, Hawaii . *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 26, 61–71. doi:10.3354/meps026061
- Hoegh-Guldberg, O., 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Mar. Freshw. Res.* 50, 839. doi:10.1071/MF99078
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P.J., Hooten, A.J., Steneck, R.S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C.D., Sale, P.F., Edwards, a J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C.M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R.H., Dubi, a, Hatziolos, M.E., Al, E., 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science* 318, 1737–42. doi:10.1126/science.1152509

- Hoffmann, A.A., Sgrò, C.M., 2011. Climate change and evolutionary adaptation. *Nature* 470, 479–485. doi:10.1038/nature09670
- Houlbrèque, F., Ferrier-Pagès, C., 2009. Heterotrophy in tropical scleractinian corals. *Biol. Rev.* 84, 1–17. doi:10.1111/j.1469-185X.2008.00058.x
- Howells, E.J., Abrego, D., Vaughan, G.O., Burt, J. a., 2014. Coral spawning in the Gulf of Oman and relationship to latitudinal variation in spawning season in the northwest Indian Ocean. *Sci. Rep.* 4, 7484. doi:10.1038/srep07484
- Howells, E.J., Beltran, V.H., Larsen, N.W., Bay, L.K., Willis, B.L., van Oppen, M.J.H., 2012. Coral thermal tolerance shaped by local adaptation of photosymbionts. *Nat. Clim. Chang.* 2, 116–120. doi:10.1038/nclimate1330
- Huey, R.B., Berrigan, D., 1996. Testing evolutionary hypotheses of acclimation. *Anim. Temp. Phenotypic Evol. Adapt.* 205–237.
- Hughes, A.D., Grottoli, A.G., 2013. Heterotrophic compensation: A possible mechanism for resilience of coral reefs to global warming or a sign of prolonged stress? *PLoS One* 8, 1–10. doi:10.1371/journal.pone.0081172
- Hughes, L., 2000. Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends Ecol. Evol.* 15, 56–61. doi:10.1016/S0169-5347(99)01764-4
- Hughes, T.P., 2003. Climate Change, Human Impacts, and the Resilience of Coral Reefs. *Science* (80-.). 301, 929–933. doi:10.1126/science.1085046
- Hughes, T.P., Anderson, K.D., Connolly, S.R., Heron, S.F., Kerry, J.T., Lough, J.M., Baird, A.H., Baum, J.K., Berumen, M.L., Bridge, T.C., Claar, D.C., Eakin, C.M., Gilmour, J.P., Graham, N.A.J., Harrison, H., Hobbs, J.-P.A., Hoey, A.S., Hoogenboom, M., Lowe, R.J., Mcculloch, M.T., Pandolfi, J.M., Pratchett, M., Schoepf, V., Torda, G., Wilson, S.K., 2018. Spatial and temporal patterns of mass bleaching of corals in the Anthropocene. *Science* (80-.). 359, 80–83. doi:10.1126/science.aan8048
- Hughes, T.P., Barnes, M.L., Bellwood, D.R., Cinner, J.E., Cumming, G.S., Jackson, J.B.C., Kleypas, J., Leemput, I.A. van de, Lough, J.M., Morrison, T.H., Palumbi, S.R., Nes, E.H. Van, Scheffer, M., 2017. Coral reefs in the Anthropocene. *Nature* in press. doi:10.1038/nature22901
- Hughes, T.P., Kerry, J.T., Álvarez-Noriega, M., Álvarez-Romero, J.G., Anderson, K.D.,

- Baird, A.H., Babcock, R.C., Beger, M., Bellwood, D.R., Berkelmans, R., Bridge, T.C., Butler, I.R., Byrne, M., Cantin, N.E., Comeau, S., Connolly, S.R., Cumming, G.S., Dalton, S.J., Diaz-Pulido, G., Eakin, C.M., Figueira, W.F., Gilmour, J.P., Harrison, H.B., Heron, S.F., Hoey, A.S., Hobbs, J.-P.A., Hoogenboom, M.O., Kennedy, E. V., Kuo, C., Lough, J.M., Lowe, R.J., Liu, G., McCulloch, M.T., Malcolm, H.A., McWilliam, M.J., Pandolfi, J.M., Pears, R.J., Pratchett, M.S., Schoepf, V., Simpson, T., Skirving, W.J., Sommer, B., Torda, G., Wachenfeld, D.R., Willis, B.L., Wilson, S.K., 2017. Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature* 543, 373–377. doi:10.1038/nature21707
- Hughes, T.P., Kerry, J.T., Baird, A.H., Connolly, S.R., Dietzel, A., Eakin, C.M., Heron, S.F., Hoey, A.S., Hoogenboom, M.O., Liu, G., McWilliam, M.J., Pears, R.J., Pratchett, M.S., Skirving, W.J., Stella, J.S., Torda, G., 2018. Global warming transforms coral reef assemblages. *Nature* 1–5. doi:10.1038/s41586-018-0041-2
- IPCC, 2014. *Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, IPCC. ed. Geneva, Switzerland.
- Jackson, L.L., Lopoukhine, N., Hillyard, D., 1995. *Ecological Restoration: A Definition and Comments*. *Restor. Ecol.* doi:10.1111/j.1526-100X.1995.tb00079.x
- Jin, Y.K., Lundgren, P., Lutz, A., Raina, J.-B., Howells, E.J., Paley, A.S., Willis, B.L., van Oppen, M.J.H., 2016. Genetic markers for antioxidant capacity in a reef-building coral. *Sci. Adv.* 2, e1500842–e1500842. doi:10.1126/sciadv.1500842
- Jokiel, P., Maragos, J.E., Franzisket, L., 1978. Coral growth : buoyant weight technique, in: Stoddart, D.R., Johannes, R.E. (Eds.), *Coral Reefs: Research Methods*. Paris, France, p. 581.
- Jokiel, P.L., Coles, S.L., 1990. Response of Hawaiian and other Indo-Pacific reef corals to elevated temperature. *Coral Reefs* 8, 155–162. doi:10.1007/BF00265006
- Jokiel, P.L., Coles, S.L., 1977. Effects of Temperature on the Mortality and Growth of Hawaiian Reef Corals. *Mar. Biol.* 43, 201–208.
- Jones, A., Berkelmans, R., 2010. Potential costs of acclimatization to a warmer climate: Growth of a reef coral with heat tolerant vs. sensitive symbiont types. *PLoS One* 5.

doi:10.1371/journal.pone.0010437

- Jones, A.M., Berkelmans, R., van Oppen, M.J.H., Mieog, J.C., Sinclair, W., 2008. A community change in the algal endosymbionts of a scleractinian coral following a natural bleaching event: field evidence of acclimatization. *Proc. Biol. Sci.* 275, 1359–65. doi:10.1098/rspb.2008.0069
- Jones, C.G., Lawton, J.H., Shachak, M., 1994. Organisms as ecosystem Engineers. *Oikos* 69, 373–386.
- Jones, R.J., Muller, J., Haynes, D., Schreiber, U., 2003. Effects of herbicides diuron and atrazine on corals of the Great Barrier Reef, Australia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 251, 153–167. doi:10.3354/meps251153
- Kaplan, E.L., Meier, P., 1958. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *J. Am. Stat. Assoc.* 53, 457–481.
- Kelly, M.W., Padilla-Gamino, J.L., Hofmann, G.E., 2013. Natural variation and the capacity to adapt to ocean acidification in the key- stone sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. *Glob. Chang. Biol.* 19, 2536–2546.
- Kenkel, C.D., Traylor, M.R., Wiedenmann, J., Salih, a, Matz, M. V, 2011. Fluorescence of coral larvae predicts their settlement response to crustose coralline algae and reflects stress. *Proc. Biol. Sci.* 278, 2691–2697. doi:10.1098/rspb.2010.2344
- Keshavmurthy, S., Fontana, S., Mezaki, T., González, L. del C., Chen, C.A., 2014. Doors are closing on early development in corals facing climate change. *Sci. Rep.* 4, 18–23. doi:10.1038/srep05633
- Klockmann, M., Günter, F., Fischer, K., 2016. Heat resistance throughout ontogeny: Body size constrains thermal tolerance. *Glob. Chang. Biol.* 1–11. doi:10.1111/gcb.13407
- Kojis, B.L., Quinn, N.J., 1981. ASPECTS OF SEXUAL REPRODUCTION AND LARVAL DEVELOPMENT IN THE SHALLOW WATER HERMATYPIC CORAL , *GONIASTREA A USTRALENSIS* (EDWARDS AND HAIME, 1857). *Bull. Mar. Sci.* 31, 558–573.
- Kupriyanova, E. k., Havenhand, J. n., 2005. Effects of temperature on sperm swimming behaviour, respiration and fertilization success in the serpulid polychaete, *Galeolaria caespitosa* (annelida: Serpulidae). *Invertebr. Reprod. Dev.* 48, 7–17.

doi:10.1080/07924259.2005.9652166

- Kvitt, H., Rosenfeld, H., Tchernov, D., 2016. The regulation of thermal stress induced apoptosis in corals reveals high similarities in gene expression and function to higher animals. *Sci. Rep.* 6, 30359. doi:10.1038/srep30359
- Lagerspetz, K.Y.H., 2006. What is thermal acclimation? *J. Therm. Biol.* 31, 332–336. doi:10.1016/j.jtherbio.2006.01.003
- 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. *Curr. Biol.* 28, 2570–2580.e6. doi:10.1016/j.cub.2018.07.008
- Langerhans, R.B., DeWitt, T.J., 2002. Plasticity constrained: Over-generalized induction cues cause maladaptive phenotypes. *Evol. Ecol. Res.* 4, 857–870. doi:10.1139/F04-236
- Leroi, A.M., Bennett, A.F., Lenski, R.E., 1994. Temperature acclimation and competitive fitness: an experimental test of the beneficial acclimation assumption. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91, 1917–1921. doi:10.1073/pnas.91.5.1917
- Lesser, M.P., 2011. Coral Bleaching: Causes and Mechanisms, in: Dubinsky, Z., Stambler, N. (Eds.), *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*. Springer, p. 521. doi:10.1007/978-94-007-0114-4
- Lesser, M.P., 2006. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology. *Annu. Rev. Physiol.* 68, 253–78. doi:10.1146/annurev.physiol.68.040104.110001
- Lesser, M.P., 1997. Oxidative stress causes coral bleaching during exposure to elevated temperatures. *Coral Reefs* 16, 187–192. doi:10.1007/s003380050073
- Lister, K.N., Lamare, M.D., Burritt, D.J., 2015. Pollutant resilience in embryos of the Antarctic sea urchin *Sterechinus neumayeri* reflects maternal antioxidant status. *Aquat. Toxicol.* 161, 61–72. doi:10.1016/j.aquatox.2015.01.031
- Little, A.F., Van Oppen, M.J.H., Willis, B.L., 2004. Flexibility in algal endosymbioses shapes growth in reef corals. *Science* (80-.). 304, 1492–1494. doi:10.1126/science.1095733
- Lockwood, B., 2017. Disparate patterns of thermal adaptation between life stages in

- temperate vs. tropical populations of *Drosophila melanogaster* 1–39.
- Lough, J.M., Barnes, D.J., 2000. Environmental controls on growth of the massive coral *Porites*. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 245, 225–243. doi:10.1016/S0022-0981(99)00168-9
- Loya, Y., Sakai, K., Yamazato, K., Sambali, H., van Woesik, R., 2001. Coral bleaching: the winners and the losers. *Ecol. Lett.* 4, 122–131.
- Manzello, D.P., Enochs, I.C., Kolodziej, G., Carlton, R., 2015. Coral growth patterns of *Montastraea cavernosa* and *Porites astreoides* in the Florida Keys: The importance of thermal stress and inimical waters. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 471, 198–207. doi:10.1016/j.jembe.2015.06.010
- Mariscal, R.N., McLean, R.B., 1976. The form and function of cnidarian spirocysts - 2. Ultrastructure of the capsule tip and wall and mechanism of discharge. *Cell Tissue Res.* 169, 313–321. doi:10.1007/BF00219604
- Martinez, E., Porreca, A.P., Colombo, R.E., Menze, M.A., 2016. Tradeoffs of warm adaptation in aquatic ectotherms: Live fast, die young? *Comp. Biochem. Physiol. -Part A Mol. Integr. Physiol.* 191, 209–215. doi:10.1016/j.cbpa.2015.07.014
- Maynard, J.A., Anthony, K.R.N., Marshall, P.A., Masiri, I., 2008. Major bleaching events can lead to increased thermal tolerance in corals. *Mar. Biol.* 155, 173–182. doi:10.1007/s00227-008-1015-y
- Mbije, N.E., Spanier, E., Rinkevich, B., 2013. A first endeavour in restoring denuded, post-bleached reefs in Tanzania. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 128, 41–51. doi:10.1016/j.ecss.2013.04.021
- McClanahan, T.R., 2017. Changes in coral sensitivity to thermal anomalies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 570, 71–85. doi:10.3354/meps12150
- Meesters, E.H.W., Boomstra, B., Hurtado-Lopez, N., Montbrun, A., Viridis, F., 2015. Coral restoration Bonaire. An evaluation of growth, regeneration and survival, Report number C152/15.
- Merilä, J., 2012. Evolution in response to climate change: In pursuit of the missing evidence. *BioEssays* 34, 811–818. doi:10.1002/bies.201200054
- Middlebrook, R., Hoegh-Guldberg, O., Leggat, W., 2008. The effect of thermal history on the

- susceptibility of reef-building corals to thermal stress. *J. Exp. Biol.* 211, 1050–1056. doi:10.1242/jeb.013284
- Miller, G.M., Watson, S.-A., Donelson, J.M., McCormick, M.I., Munday, P.L., 2012. Parental environment mediates impacts of increased carbon dioxide on a coral reef fish. *Nat. Clim. Chang.* 2, 858–861. doi:10.1038/nclimate1599
- Mittler, R., 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7, 405–410. doi:10.1016/S1360-1385(02)02312-9
- Moberg, F., Nyström, M., Kautsky, N., Tedengren, M., Jarayabhand, P., 1997. Effects of reduced salinity on the rates of photosynthesis and respiration in the hermatypic corals *Porites lutea* and *Pocillopora damicornis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 157, 53–59. doi:10.3354/meps157053
- Moberg, F.F., Folke, C., 1999. Ecological goods and services of coral reef ecosystems. *Ecol. Econ.* 29, 215–233. doi:10.1016/S0921-8009(99)00009-9
- Mohammed, A., 2013. Why are Early Life Stages of Aquatic Organisms more Sensitive to Toxicants than Adults?, in: Gowder, S. (Ed.), *New Insights into Toxicity and Drug Testing*. InTech, pp. 49–62.
- Moya, a., Huisman, L., Forêt, S., Gattuso, J.P., Hayward, D.C., Ball, E.E., Miller, D.J., 2015. Rapid acclimation of juvenile corals to CO₂-mediated acidification by upregulation of heat shock protein and Bcl-2 genes. *Mol. Ecol.* 24, 438–452. doi:10.1111/mec.13021
- Mumby, P.J., 1999. Bleaching and hurricane disturbances to populations of coral recruits in Belize. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 190, 27–35. doi:10.3354/meps190027
- Muscatine, L., Falkowski, P.G., Porter, J.W., Dubinsky, Z., 1984. Fate of Photosynthetic Fixed Carbon in Light- and Shade-Adapted Colonies of the Symbiotic Coral *Stylophora pistillata*. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 222, 181–202. doi:10.1098/rspb.1984.0058
- Nagelkerken, I., Bouma, S., Van den Akker, S., Bak, R.P.M., 2000. Growth and survival of unattached *Madracis mirabilis* fragments transplanted to different reef sites, and the implication for reef rehabilitation. *Bull. Mar. Sci.* 66, 497–505.
- Negri, A.P., Heyward, A.J., 2001. Inhibition of coral fertilisation and larval metamorphosis by tributyltin and copper. *Mar. Environ. Res.* 51, 17–27.

- Negri, A.P., Heyward, A.J., 2000. Inhibition of Fertilisation and Larval Metamorphosis of the Coral *Acropora millepora* (Ehrenberg, 1834) by Petroleum Products. *Mar. Pollut. Bull.* 41, 420–427.
- Negri, A.P., Hoogenboom, M.O., 2011. Water contamination reduces the tolerance of coral larvae to thermal stress. *PLoS One* 6. doi:10.1371/journal.pone.0019703
- Negri, A.P., Marshall, P.A., Heyward, A.J., 2007. Differing effects of thermal stress on coral fertilization and early embryogenesis in four Indo Pacific species. *Coral Reefs* 26, 759–763. doi:10.1007/s00338-007-0258-2
- Nicotra, A.B., Atkin, O.K., Bonser, S.P., Davidson, A.M., Finnegan, E.J., Mathesius, U., Poot, P., Purugganan, M.D., Richards, C.L., Valladares, F., van Kleunen, M., 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends Plant Sci.* 15, 684–692. doi:10.1016/j.tplants.2010.09.008
- Niedzwiecki, a, Kongpachith, a M., Fleming, J.E., 1991. Aging affects expression of 70-kDa heat shock proteins in *Drosophila*. *J. Biol. Chem.* 266, 9332–8.
- Nozawa, Y., Harrison, P.L., 2007. Effects of elevated temperature on larval settlement and post-settlement survival in scleractinian corals, *Acropora solitaryensis* and *Favites chinensis*. *Mar. Biol.* 152, 1181–1185. doi:10.1007/s00227-007-0765-2
- Nozawa, Y., Isomura, N., Fukami, H., 2015. Influence of sperm dilution and gamete contact time on the fertilization rate of scleractinian corals. *Coral Reefs* 34, 1199–1206. doi:10.1007/s00338-015-1338-3
- Oliver, J., Babcock, R., 1992. Aspects of the Fertilization Ecology of Broadcast Spawning Corals: Sperm Dilution Effects and in situ Measurements of Fertilization. *Biol. Bull.* 183, 409–417.
- Oliver, T.A., Palumbi, S.R., 2011. Do fluctuating temperature environments elevate coral thermal tolerance? *Coral Reefs* 30, 429–440. doi:10.1007/s00338-011-0721-y
- Omori, M., 2011. Degradation and restoration of coral reefs: Experience in Okinawa, Japan. *Mar. Biol. Res.* 7, 3–12. doi:10.1080/17451001003642317
- Oswald, F., Schmitt, F., Leutenegger, A., Ivanchenko, S., D'Angelo, C., Salih, A., Maslakova, S., Bulina, M., Schirmbeck, R., Nienhaus, G.U., Matz, M. V., Wiedenmann, J., 2007. Contributions of host and symbiont pigments to the coloration of reef corals.

FEBS J. 274, 1102–1109. doi:10.1111/j.1742-4658.2007.05661.x

- Padilla-Gamiño, J.L., Bidigare, R.R., Barshis, D.J., Alamaru, A., Hédouin, L., Hernández-Pech, X., Kandel, F., Leon Soon, S., Roth, M.S., Rodrigues, L.J., Grottoli, A.G., Portocarrero, C., Wagenhauser, S.A., Buttler, F., Gates, R.D., 2013. Are all eggs created equal? A case study from the Hawaiian reef-building coral *Montipora capitata*. *Coral Reefs* 32, 137–152. doi:10.1007/s00338-012-0957-1
- Padilla-Gamiño, J.L., Gates, R.D., 2012. Spawning dynamics in the Hawaiian reef-building coral *Montipora capitata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 449, 145–160. doi:10.3354/meps09530
- Palumbi, S.R., Barshis, D.J., Traylor-Knowles, N., Bay, R.A., 2014. Mechanisms of reef coral resistance to future climate change. *Science* (80-.). 344, 895–8. doi:10.1126/science.1251336
- Pansch, C., Schlegel, P., Havenhand, J., 2013. Larval development of the barnacle *Amphibalanus improvisus* responds variably but robustly to near-future ocean acidification. *ICES J. Mar. Sci.* 70, 805–811. doi:10.1093/icesjms/fst048
- Parker, L.M., Ross, P.M., O'Connor, W. a., Borysko, L., Raftos, D. a., Pörtner, H.-O., 2012. Adult exposure influences offspring response to ocean acidification in oysters. *Glob. Chang. Biol.* 18, 82–92. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02520.x
- Parkinson, J.E., Banaszak, A.T., Altman, N.S., LaJeunesse, T.C., Baums, I.B., 2015. Intraspecific diversity among partners drives functional variation in coral symbioses. *Sci. Rep.* 5, 12. doi:10.1038/srep15667
- Parkinson, J.E., Baums, I.B., 2014. The extended phenotypes of marine symbioses: ecological and evolutionary consequences of intraspecific genetic diversity in coral-algal associations. *Front. Microbiol.* 5, 445. doi:10.3389/fmicb.2014.00445
- Parmesan, C., 2006. Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37, 637–669. doi:10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110100
- Parmesan, C., Yohe, G., 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* 421, 37–42. doi:10.1038/nature01286
- Peixoto, R.S., Rosado, P.M., Leite, D.C. de A., Rosado, A.S., Bourne, D.G., 2017. Beneficial microorganisms for corals (BMC): Proposed mechanisms for coral health and resilience.

Front. Microbiol. 8, 1–16. doi:10.3389/fmicb.2017.00341

- Penin, L., Vidal-Dupiol, J., Adjeroud, M., 2013. Response of coral assemblages to thermal stress: Are bleaching intensity and spatial patterns consistent between events? *Environ. Monit. Assess.* 185, 5031–5042. doi:10.1007/s10661-012-2923-3
- Piggot, A.M., Fouke, B.W., Sivaguru, M., Sanford, R.A., Gaskins, H.R., 2009. Change in zooxanthellae and mucocyte tissue density as an adaptive response to environmental stress by the coral, *Montastraea annularis*. *Mar. Biol.* 156, 2379–2389. doi:10.1007/s00227-009-1267-1
- Plucer-Rosario, G., Randall, R.H., 1987. Preservation of Rare Coral Species By Transplantation and Examination of Their Recruitment and Growth. *Bull. Mar. Sci.* 41, 585–593.
- Pochon, X., Putnam, H.M., Gates, R.D., 2014. Multi-gene analysis of *Symbiodinium* dinoflagellates: a perspective on rarity, symbiosis, and evolution. *PeerJ* 2, e394. doi:10.7717/peerj.394
- Podolsky, R.D., Moran, A.L., 2006. Integrating function across marine life cycles. *Integr. Comp. Biol.* 46, 577–586. doi:10.1093/icb/icl026
- Polato, N.R., Voolstra, C.R., Schnetzer, J., DeSalvo, M.K., Randall, C.J., Szmant, A.M., Medina, M., Baums, I.B., 2010. Location-specific responses to thermal stress in larvae of the reef-building coral *Montastraea faveolata*. *PLoS One* 5, e11221. doi:10.1371/journal.pone.0011221
- Portune, K.J., Voolstra, C.R., Medina, M., Szmant, A.M., 2010. Development and heat stress-induced transcriptomic changes during embryogenesis of the scleractinian coral *Acropora palmata*. *Mar. Genomics* 3, 51–62. doi:10.1016/j.margen.2010.03.002
- Potts, D.C., 1984. Natural Selection in Experimental Populations of Reef-Building Corals (Scleractinia). *Evolution* (N. Y). 38, 1059–1078.
- Puisay, A., Pilon, R., Goiran, C., Hédouin, L., 2018. Thermal resistances and acclimation potential during coral larval ontogeny in *Acropora pulchra*. *Mar. Environ. Res.* 135, 1–10. doi:10.1016/j.marenvres.2018.01.005
- Puisay, A., Pilon, R., Hédouin, L., 2015. High resistance of *Acropora* coral gametes facing copper exposure. *Chemosphere* 120, 563–567. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.09.041

- Pujol, B., Blanchet, S., Charmantier, A., Danchin, E., Facon, B., Marrot, P., Roux, F., Scotti, I., Teplitsky, C., Thomson, C.E., Winney, I., 2018. The Missing Response to Selection in the Wild. *Trends Ecol. Evol.* xx, 1–10. doi:10.1016/j.tree.2018.02.007
- Putnam, H.M., Davidson, J., Gates, R.D., 2016. Ocean acidification influences DNA methylation and phenotypic plasticity in environmentally susceptible corals. *Integr. Comp. Biol.* 56, 1–14. doi:10.1111/eva.12408
- Putnam, H.M., Edmunds, P.J., Fan, T.Y., 2010. Effect of a fluctuating thermal regime on adult and larval reef corals. *Invertebr. Biol.* 129, 199–209. doi:10.1111/j.1744-7410.2010.00199.x
- Putnam, H.M., Gates, R.D., 2015. Preconditioning in the reef-building coral *Pocillopora damicornis* and the potential for trans-generational acclimatization in coral larvae under future climate change conditions. *J. Exp. Biol.* 218, 2365–2372. doi:10.1242/jeb.123018
- R Core Team, 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Rädecker, N., Pogoreutz, C., Voolstra, C.R., Wiedenmann, J., Wild, C., 2015. Nitrogen cycling in corals: The key to understanding holobiont functioning? *Trends Microbiol.* 23, 490–497. doi:10.1016/j.tim.2015.03.008
- Ramalho-Santos, J., Varum, S., Amaral, S., Mota, P.C., Sousa, A.P., Amaral, A., 2009. Mitochondrial functionality in reproduction: From gonads and gametes to embryos and embryonic stem cells. *Hum. Reprod. Update* 15, 553–572. doi:10.1093/humupd/dmp016
- Rand, G.M., 1995. *Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, ENvironmental Fate, and Risk Assessment*, Taylor and ed. Washington, USA.
- Randall, C.J., Szmant, A.M., 2009. Elevated temperature affects development, survivorship, and settlement of the elkhorn coral, *Acropora palmata* (Lamarck 1816). *Biol. Bull.* 217, 269–82.
- Reed, T.E., Schindler, D.E., Waples, R.S., 2011. Interacting Effects of Phenotypic Plasticity and Evolution on Population Persistence in a Changing Climate. *Conserv. Biol.* 25, 56–63. doi:10.1111/j.1523-1739.2010.01552.x
- Rehman, A.U., Szabó, M., Deák, Z., Sass, L., Larkum, A., Ralph, P., Vass, I., 2016. Symbiodinium sp. cells produce light-induced intra- and extracellular singlet oxygen,

- which mediates photodamage of the photosynthetic apparatus and has the potential to interact with the animal host in coral symbiosis. *New Phytol.* 212, 472–484. doi:10.1111/nph.14056
- Reichelt-Brushett, a J., Michalek-Wagner, K., 2005. Effects of copper on the fertilization success of the soft coral *Lobophytum compactum*. *Aquat. Toxicol.* 74, 280–4. doi:10.1016/j.aquatox.2005.05.011
- Reusch, T.B.H., Ehlers, A., Hammerli, A., Worm, B., 2005. Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 2826–2831. doi:10.1073/pnas.0500008102
- Rice, K.J., Emery, N.C., 2003. The face of global change. *Front. Ecol. Evol.* 1, 469–478. doi:10.1890/1540-9295(2003)001[0469:MMRITF]2.0.CO;2
- Richmond, R.H., 1997. Reproduction and recruitment in corals: Critical links in the persistence of Reefs, in: *Life and Death of Coral Reefs*. doi:10.1007/978-1-4615-5995-5
- Rinkevich, B., 2015. Climate Change and Active Reef Restoration—Ways of Constructing the “Reefs of Tomorrow.” *J. Mar. Sci. Eng.* 3, 111–127. doi:10.3390/jmse3010111
- Rinkevich, B., 1995. Restoration Strategies for Coral Reefs Damaged by Recreational Activities: The Use of Sexual and Asexual Recruits. *Restor. Ecol.* doi:10.1111/j.1526-100X.1995.tb00091.x
- Ritz, C., Baty, F., Streibig, J.C., Gerhard, D., 2015. Dose-response analysis using R. *PLoS One* 10, 1–13. doi:10.1371/journal.pone.0146021
- Rodolfo-Metalpa, R., Peirano, A., Houlbrèque, F., Abbate, M., Ferrier-Pagès, C., 2008. Effects of temperature, light and heterotrophy on the growth rate and budding of the temperate coral *Cladocora caespitosa*. *Coral Reefs* 27, 17–25. doi:10.1007/s00338-007-0283-1
- Rosen, B.R., Taylor, J.D., 1969. Reef coral from Aldabra: new mode of reproduction. *Science* (80-.). 166, 119–120.
- Rosset, S., Wiedenmann, J., Reed, A.J., D’Angelo, C., 2017. Phosphate deficiency promotes coral bleaching and is reflected by the ultrastructure of symbiotic dinoflagellates. *Mar. Pollut. Bull.* 118, 180–187. doi:10.1016/j.marpolbul.2017.02.044

- Rouzé, H., Lecellier, G., Saulnier, D., Berteaux-Lecellier, V., 2016. Symbiodinium clades A and D differentially predispose *Acropora cytherea* to disease and *Vibrio* spp. colonization. *Ecol. Evol.* 6, 560–572. doi:10.1002/ece3.1895
- Sammarco, P., 1982. Polyp Bail-Out: An Escape Response to Environmental Stress and a New Means of Reproduction in Corals . *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 10, 57–65. doi:10.3354/meps010057
- Schmidt-Roach, S., Kunzmann, A., Martinez Arbizu, P., 2008. In situ observation of coral recruitment using fluorescence census techniques. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 367, 37–40.
- Schnitzler, C.E., Hollingsworth, L.L., Krupp, D.A., Weis, V.M., 2012. Elevated temperature impairs onset of symbiosis and reduces survivorship in larvae of the Hawaiian coral, *Fungia scutaria*. *Mar. Biol.* 159, 633–642. doi:10.1007/s00227-011-1842-0
- Schnurr, M.M.E., Yin, Y., Scott, G.R., 2014. Temperature during embryonic development has persistent effects on metabolic enzymes in the muscle of zebrafish. *J. Exp. Biol.* 217, 1370–1380. doi:10.1242/jeb.094037
- Schoepf, V., Stat, M., Falter, J.L., McCulloch, M.T., 2015. Limits to the thermal tolerance of corals adapted to a highly fluctuating, naturally extreme temperature environment. *Sci. Rep.* 5, 17639. doi:10.1038/srep17639
- Schutter, M., Nozawa, Y., Kurihara, H., 2015. The Effect of Elevated CO₂ and Increased Temperature on in Vitro Fertilization Success and Initial Embryonic Development of Single Male:Female Crosses of Broad-Cast Spawning Corals at Mid- and High-Latitude Locations. *J. Mar. Sci. Eng.* 3, 216–239. doi:10.3390/jmse3020216
- Sconzo, G., Roccheri, M.C., La Rosa, M., Oliva, D., Abrignani, A., Giudice, G., 1986. Acquisition of thermotolerance in sea urchin embryos correlates with the synthesis and age of the heat shock proteins. *Cell Differ.* 19, 173–177. doi:10.1016/0045-6039(86)90093-X
- Scott, G.R., Johnston, I.A., 2012. Temperature during embryonic development has persistent effects on thermal acclimation capacity in zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 14247–14252. doi:10.1073/pnas.1205012109
- Scott, G.R., Johnston, I.A., 2012. Temperature during embryonic development has persistent effects on thermal acclimation capacity in zebrafish. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 109, 14247–

14252. doi:10.1073/pnas.1205012109

- Shafir, S., Rinkevich, B., 2010. Integrated long term mid-water coral nurseries: A management instrument evolving into a floating ecosystem. *Univ. Mauritius Res. J.* 16, 365–386.
- Sharp, V.A., Brown, B.E., Miller, D., 1997. Heat shock protein (hsp 70) expression in the tropical reef coral *Goniopora djiboutiensis*. *J. Therm. Biol.* 22, 11–19.
- Shearer, T.L., Porto, I., Zubillaga, A.L., 2009. Restoration of coral populations in light of genetic diversity estimates. *Coral Reefs* 28, 727–733. doi:10.1007/s00338-009-0520-x
- Shikina, S., Chen, C.J., Liou, J.Y., Shao, Z.F., Chung, Y.J., Lee, Y.H., Chang, C.F., 2012. Germ cell development in the scleractinian coral *Euphyllia ancora* (Cnidaria, anthozoa). *PLoS One* 7. doi:10.1371/journal.pone.0041569
- Shikina, S., Chiu, Y.-L., Chung, Y.-J., Chen, C.-J., Lee, Y.-H., Chang, C.-F., 2016. Oocytes express an endogenous red fluorescent protein in a stony coral, *Euphyllia ancora*: a potential involvement in coral oogenesis. *Sci. Rep.* 6, 25868. doi:10.1038/srep25868
- Sibly, R.M., Calow, P., 1989. A life-cycle theory of responses to stress. *Biol. J. Linn. Soc.* 37, 101–116. doi:10.1111/j.1095-8312.1989.tb02007.x
- Siebeck, U.E., Marshall, N.J., Klüter, A., Hoegh-Guldberg, O., 2006. Monitoring coral bleaching using a colour reference card. *Coral Reefs* 25, 453–460. doi:10.1007/s00338-006-0123-8
- Smith, L.W., Barshis, D., Birkeland, C., 2007. Phenotypic plasticity for skeletal growth, density and calcification of *Porites lobata* in response to habitat type. *Coral Reefs* 26, 559–567. doi:10.1007/s00338-007-0216-z
- Smith, L.W., Wirshing, H., Baker, A.C., Birkeland, C., 2008. Environmental versus genetic influences on growth rates of the corals *Pocillopora eydouxi* and *Porites lobata*. *Pacific Sci.* 62, 57–69. doi:10.2984/1534-6188(2008)62[57:EVGI0G]2.0.CO;2
- Smith, S. V., 1978. Coral-reef area and the contributions of reefs to processes and resources of the world's oceans. *Nature* 273, 225–226.
- Somero, G.N., 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine “winners” and “losers.” *J. Exp. Biol.* 213, 912–

920. doi:10.1242/jeb.037473

- Spencer Davies, P., 1989. Short-term growth measurements of corals using an accurate buoyant weighing technique. *Mar. Biol.* 101, 389–395. doi:10.1007/BF00428135
- Stat, M., Gates, R.D., 2011. Clade D *Symbiodinium* in scleractinian corals: A “nugget” of hope, a selfish opportunist, an ominous sign, or al of the above? *J. Mar. Biol.* Article ID, 1–9.
- Stimson, J., 1997. The annual cycle of density of zooxanthellae in the tissues of field and laboratory-held *Pocillopora damicornis* (Linnaeus). *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 214, 35–48. doi:10.1016/S0022-0981(96)02753-0
- Stoddart, D.R., 1969. Ecology and Morphology of Recent Coral Reefs. *Biol. Rev.* 44, 433–498. doi:10.1111/j.1469-185X.1969.tb00609.x
- Stoddart, J.A., 1983. Asexual reproduction of planulae in the coral *Pocillopora damicornis*. *Mar. Biol.* 76, 279–284.
- Strader, M.E., Aglyamova, G. V., Matz, M. V., 2016. Red fluorescence in coral larvae is associated with a diapause-like state. *Mol. Ecol.* 25, 559–569. doi:10.1111/mec.13488
- Strathmann, R.R., Staver, J.M., Hoffman, J.R., 2002. Risk and the evolution of cell-cycle durations of embryos. *Evolution (N. Y.)*. 56, 708–720.
- Sweet, M.J., Bulling, M.T., 2017. On the Importance of the Microbiome and Pathobiome in Coral Health and Disease. *Front. Mar. Sci.* 4, 9. doi:10.3389/fmars.2017.00009
- Tadros, W., Lipshitz, H.D., 2009. The maternal-to-zygotic transition: a play in two acts. *Development* 136, 3033–3042. doi:10.1242/dev.033183
- Therneau, T.M., Grambsch, P.M., 2000. Modeling Survival Data: Extending the Cox Model 3–5. doi:10.1007/978-1-4757-3294-8
- 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., van Oppen, M.J.H., 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. *Nat. Clim. Chang.* 7, 627–636. doi:10.1038/nclimate3374
- Tortolero-Langarica, J.J. a., Cupul-Magaña, a. L., Rodríguez-Troncoso, a. P., 2014.

- Restoration of a degraded coral reef using a natural remediation process: A case study from a Central Mexican Pacific National Park. *Ocean Coast. Manag.* 96, 12–19. doi:10.1016/j.ocecoaman.2014.04.020
- Traylor-Knowles, N., Rose, N.H., Sheets, E.A., Palumbi, S.R., 2017. Early Transcriptional Responses during Heat Stress in the Coral *Acropora hyacinthus*. *Biol. Bull.* 232, 91–100. doi:10.1086/692717
- Treignier, C., Tolosa, I., Grover, R., Reynaud, S., Ferrier-Pagès, C., 2009. Carbon isotope composition of fatty acids and sterols in the scleractinian coral *Turbinaria reniformis*: Effect of light and feeding. *Limnol. Oceanogr.* 54, 1933–1940.
- Tremblay, P., Grover, R., Maguer, J.F., Legendre, L., Ferrier-Pages, C., 2012. Autotrophic carbon budget in coral tissue: a new ¹³C-based model of photosynthate translocation. *J. Exp. Biol.* 215, 1384–1393. doi:10.1242/jeb.065201
- Tsai, S., Chang, W.C., Chavanich, S., Viyakarn, V., Lin, C., 2016. Ultrastructural observation of oocytes in six types of stony corals. *Tissue Cell* 48, 349–355. doi:10.1016/j.tice.2016.05.005
- Uthicke, S., Soars, N., Foo, S., Byrne, M., 2013. Effects of elevated pCO₂ and the effect of parent acclimation on development in the tropical Pacific sea urchin *Echinometra mathaei*. *Mar. Biol.* 160, 1913–1926.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D., Zavala, M.A., 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: Bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J. Ecol.* 94, 1103–1116. doi:10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x
- van't Hof, A.E., Campagne, P., Rigden, D.J., Yung, C.J., Lingley, J., Quail, M.A., Hall, N., Darby, A.C., Saccheri, I.J., 2016. The industrial melanism mutation in British peppered moths is a transposable element. *Nature* 534, 102–105. doi:10.1038/nature17951
- van Oppen, M.J.H., 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., Peplow, 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. *Glob. Chang. Biol.* 1–12. doi:10.1111/gcb.13647
- van Oppen, M.J.H., Oliver, J.K., Putnam, H.M., Gates, R.D., 2015. Building coral reef

- resilience through assisted evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, 1–7.
doi:10.1073/pnas.1422301112
- Veron, J., 2013. Overview of the taxonomy of zooxanthellate Scleractinia. *Zool. J. Linn. Soc.* 169, 485–508. doi:10.1111/zoj.12076
- Veron, J., Stafford-Smith, M., DeVantier, L., Turak, E., 2015. Overview of distribution patterns of zooxanthellate Scleractinia. *Front. Mar. Sci.* 1, 1–19.
doi:10.3389/fmars.2014.00081
- Victor, S., Richmond, R.H., 2005. Effect of copper on fertilization success in the reef coral *Acropora surculosa*. *Mar. Pollut. Bull.* 50, 1448–51.
doi:10.1016/j.marpolbul.2005.09.004
- Voolstra, C.R., Schnetzer, J., Peshkin, L., Randall, C.J., Szmant, A.M., Medina, M., 2009. Effects of temperature on gene expression in embryos of the coral *Montastraea faveolata*. *BMC Genomics* 10, 627. doi:10.1186/1471-2164-10-627
- Voolstra, C.R., Schnetzer, J., Peshkin, L., Randall, C.J., Szmant, A.M., Medina, M., 2009. Effects of temperature on gene expression in embryos of the coral *Montastraea faveolata*. *BMC Genomics* 10, 627. doi:10.1186/1471-2164-10-627
- Wallace, C., 1985. Reproduction, recruitment and fragmentation in nine sympatric species of the coral genus *Acropora*. *Mar. Biol.* 88, 217–233. doi:10.1038/470444a
- Walther, G., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J., Hoegh-guldberg, O., Bairlein, F., 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416, 389–395.
- Webster, M.S., Colton, M.A., Darling, E.S., Armstrong, J., Pinsky, M.L., Knowlton, N., Schindler, D.E., 2017. Who Should Pick the Winners of Climate Change? *Trends Ecol. Evol.* 32, 167–173. doi:10.1016/j.tree.2016.12.007
- 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, 190–200. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.12.048
- Welch, M.J., Watson, S.A., Welsh, J.Q., McCormick, M.I., Munday, P.L., 2014. Effects of elevated CO₂ on fish behaviour undiminished by transgenerational acclimation. *Nat.*

- Clim. Chang. 4, 1086–1089. doi:10.1038/nclimate2400
- Wilkinson, C., 2008. Status of Coral reefs of the World: Global Coral Reef Monitoring Network. p. 304.
- Wilkinson, C., 2000. Status of Coral Reefs of the World: 2000. Glob. Coral Reef Monit. Netw. 363 p.
- Wilson, R.S., Franklin, C.E., 2002. Testing the beneficial acclimation hypothesis. *TRENDS Ecol. Evol.* 5347, 66–70.
- Woolsey, E.S., Keith, S.A., Byrne, M., Schmidt-Roach, S., Baird, A.H., 2015. Latitudinal variation in thermal tolerance thresholds of early life stages of corals. *Coral Reefs* 34, 471–478. doi:10.1007/s00338-014-1253-z
- Yakovleva, I., Hidaka, M., 2004. Different effects of high temperature acclimation on bleaching-susceptible and tolerant corals. *Symbiosis* 37, 87–105.
- Yakovleva, I.M., Baird, A.H., Yamamoto, H.H., Bhagooli, R., Nonaka, M., Hidaka, M., 2009. Algal symbionts increase oxidative damage and death in coral larvae at high temperatures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 378, 105–112.
- Yalcin, S., Cabuk, M., Bruggeman, V., Babacanoglu, E., Buyse, J., Decuypere, E., Siegel, P.B., 2008. Acclimation to Heat During Incubation. 1. Embryonic Morphological Traits, Blood Biochemistry, and Hatching Performance. *Poult. Sci.* 87, 1219–1228. doi:10.3382/ps.2007-00435
- Yeemin, T., Sutthacheep, M., Pettongma, R., 2006. Coral reef restoration projects in Thailand. *Ocean Coast. Manag.* 49, 562–575. doi:10.1016/j.ocecoaman.2006.06.002
- Yellowlees, D., Rees, T.A. V., Leggat, W., 2008. Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts. *Plant, Cell Environ.* 31, 679–694. doi:10.1111/j.1365-3040.2008.01802.x
- Young, C.N., Schopmeyer, S. a., Lirman, D., 2012. A review of reef restoration and Coral propagation using the threatened genus *Acropora* in the Caribbean and western Atlantic. *Bull. Mar. Sci.* 88, 1075–1098. doi:10.5343/bms.2011.1143
- Zakai, D., Levy, O., Chadwick-Furman, N.E., 2000. Experimental fragmentation reduces sexual reproductive output by the reef-building coral *Pocillopora damicornis*. *Coral*

Reefs 19, 185–188. doi:10.1007/s003380000091

Zar, J.H., 1996. *Biostatistical Analysis*, Third edit. ed. Upper Saddle River, New Jersey.

Zilber-Rosenberg, I., Rosenberg, E., 2008. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: The hologenome theory of evolution. *FEMS Microbiol. Rev.* 32, 723–735. doi:10.1111/j.1574-6976.2008.00123.x

Zinke, J., Gilmour, J.P., Fisher, R., Puotinen, M., Maina, J., Darling, E., Stat, M., Richards, Z.T., Mcclanahan, T.R., Beger, M., Moore, C., Graham, N.A.J., Feng, M., Hobbs, J.P.A., Evans, S.N., Field, S., Shedrawi, G., Babcock, R.C., Wilson, S.K., 2018. Gradients of disturbance and environmental conditions shape coral community structure for south-eastern Indian Ocean reefs. *Divers. Distrib.* 605–620. doi:10.1111/ddi.12714

Summary

Climate change and increasing temperature impact abundance and distribution of thousands of organisms, aquatic and terrestrial, and some ecosystems are particularly sensitive to these global changes. Increasing temperature is the principal threat for coral populations, which are ecological engineers of coral reef ecosystems. While research on coral reefs has first sought to study adult corals, data are still lacking on early life stages of corals. As sexual and asexual reproduction may play a key role in the conservation and restoration of coral reefs, my doctoral research aims to better understand changes on sexual and asexual reproduction in the face of rising temperature.

The first axis of my Ph. D. was built on the response of early life stages to increasing temperature, in order to assess whether pre-exposure of early life may improve their ulterior performance. Among the different experiments performed on the genus *Acropora*, I highlighted 1) relatively high thermal tolerance (+2-3°C above ambient temperature) of gametes, 2) a higher sensibility of oocytes than sperm to rising temperature exposure, and 3) the pivotal role of gamete thermal history on fertilization output. Finally, I identified optimal pre-exposure conditions in order to maximize fertilization success.

While an increasing interest in sexual reproduction was observed these last years, asexual reproduction and fragmentation still remain the main tool to restore damaged reefs. Thus, in the second axis of my doctoral project, I investigated the phenotypic plasticity of corals by growing 3 different species of corals across 3 different environments. Their growth rates, health status and survival probability were determined. Results from this axis showed that differences were observed at the interspecific and intraspecific levels. This work revealed that a selection based on phenotypic plasticity among different life-traits (growth rates and health status) and different environments should allow to increase coral reef restoration strategies. Hence the selection of individuals (asexual reproduction) in a species based on coral common garden experiment allow to identify individuals of interest to use as restoration biological materials. Additionally, thermal preconditioning of early life stages (sexual reproduction) is another way to increase efficiency of restoration measures in the face of rising temperature. My doctoral research provided new information regarding physiological and biological processes of scleractinian corals facing environmental changes and proposed new solutions for restorations based on sexual and/or asexual reproduction.

Résumé

Le changement climatique et l'augmentation des températures globales perturbent l'abondance et la distribution de milliers d'organismes, aquatiques et terrestres, et certains écosystèmes sont particulièrement sensibles à ces changements environnementaux. L'augmentation de température est la principale menace au maintien des populations de coraux, véritables ingénieurs écologiques de ces écosystèmes. Bien que la recherche sur les récifs coralliens se soit d'abord attachée à l'étude des coraux adultes, de nombreuses informations manquent sur la reproduction sexuée et asexuée, et leur rôle dans la conservation et restauration récifale. Le premier axe de ma thèse s'est donc construit sur la réponse des jeunes stades de vie à l'augmentation de température, pour d'abord évaluer les modifications de leur performance et ensuite évaluer dans quelles mesures les jeunes stades seraient capables de s'acclimater à des conditions de températures plus élevées. Au travers de différentes expérimentations en laboratoire sur le genre *Acropora*, j'ai ainsi mis en évidence 1) une résistance thermique importante (+2-3°C au-dessus des températures ambiantes) des gamètes face à l'augmentation de température, 2) une résistance thermique différente entre spermatozoïdes et ovocytes: ovocytes < spermatozoïdes, 3) et la mise en évidence du rôle majeur de la température d'exposition des gamètes sur leur succès de fécondation. Enfin, j'ai identifié les conditions optimales thermiques de pré-exposition des gamètes pour maximiser leur succès de fécondation. Bien qu'un intérêt croissant soit porté sur la reproduction sexuée ces dernières années, l'utilisation de la reproduction asexuée demeure la méthode la plus utilisée pour restaurer les récifs coralliens, plus connue sous le nom de bouturage. Ainsi le second axe de ma thèse a cherché à mettre en évidence la plasticité phénotypique des coraux en élevant des boutures provenant de 3 espèces dans 3 environnements différents et en analysant leur taux de croissance, leur état de santé et leur survie. J'ai pu montrer qu'il existait des différences à plusieurs échelles, entre espèces, mais aussi au sein d'une même espèce. Mes travaux montrent qu'une sélection des individus basée sur l'étude de la plasticité phénotypique de certains traits d'histoires de vie comme la croissance ou l'état de santé dans des environnements variables permettrait d'améliorer l'efficacité de la restauration récifale. Ainsi le choix des individus au sein d'une même espèce afin de réaliser du bouturage (reproduction asexuée) et le conditionnement de la phase de vie des gamètes (reproduction sexuée) pourraient permettre d'augmenter l'efficacité des méthodes de restaurations tout en nous donnant des informations nouvelles sur la biologie et la physiologie des coraux scléactiniaires face aux changements environnementaux.

Résumé

La reproduction sexuée et asexuée des coraux face aux changements environnementaux : Implications pour la conservation et la restauration des récifs coralliens

Le changement climatique et l'augmentation des températures globales perturbent l'abondance et la distribution de milliers d'organismes, aquatiques et terrestres, et certains écosystèmes sont particulièrement sensibles à ces changements environnementaux. L'augmentation de température est la principale menace au maintien des populations de coraux, véritables ingénieurs écologiques de ces écosystèmes. Bien que la recherche sur les récifs coralliens se soit d'abord attachée à l'étude des coraux adultes, de nombreuses informations manquent sur la reproduction sexuée et asexuée, et leur rôle dans la conservation et restauration récifale. Le premier axe de ma thèse s'est donc construit sur la réponse des jeunes stades de vie à l'augmentation de température, pour d'abord évaluer les modifications de leur performance et ensuite évaluer dans quelles mesures les jeunes stades seraient capables de s'acclimater à des conditions de températures plus élevées. Au travers de différentes expérimentations en laboratoire sur le genre *Acropora*, j'ai ainsi mis en évidence 1) une résistance thermique importante (+2-3°C au-dessus des températures ambiantes) des gamètes face à l'augmentation de température, 2) une résistance thermique différente entre spermatozoïdes et ovocytes: ovocytes < spermatozoïdes, 3) et la mise en évidence du rôle majeur de la température d'exposition des gamètes sur leur succès de fécondation. Enfin, j'ai identifié les conditions optimales thermiques de pré-exposition des gamètes pour maximiser leur succès de fécondation. Bien qu'un intérêt croissant soit porté sur la reproduction sexuée ces dernières années, l'utilisation de la reproduction asexuée demeure la plus utilisée pour restaurer les récifs coralliens, plus connue sous le nom de bouturage. Ainsi le second axe de ma thèse a cherché à mettre en évidence la plasticité phénotypique des coraux en élevant des boutures provenant de 3 espèces dans 3 environnements différents et en analysant leur taux de croissance, leur état de santé et leur survie. J'ai pu montrer qu'il existait des différences à plusieurs échelles, entre espèces, mais aussi au sein d'une même espèce. Mes travaux montrent qu'une sélection des individus basée sur l'étude de la plasticité phénotypique de certains traits d'histoires de vie comme la croissance ou l'état de santé dans des environnements variables permettrait d'améliorer l'efficacité de la restauration récifale. Ainsi le choix des individus au sein d'une même espèce afin de réaliser du bouturage (reproduction asexuée) et le conditionnement de la phase de vie des gamètes (reproduction sexuée) pourraient permettre d'augmenter l'efficacité des méthodes de restaurations tout en nous donnant des informations nouvelles sur la biologie et la physiologie des coraux scléactiniaires face aux changements environnementaux.

Mots-clés : Coraux, Reproduction sexuée, Reproduction asexuée, Conservation, Restauration

Summary

Sexual and asexual coral reproduction facing environmental changes: Implications for conservation and restoration of coral reefs

Climate change and increasing temperature impact abundance and distribution of thousands of organisms, aquatic and terrestrial, and some ecosystems are particularly sensitive to these global changes. Increasing temperature is the principal threat for coral populations, which are ecological engineers of coral reef ecosystems. While research on coral reefs has first sought to study adult corals, data are still lacking on early life stages of corals. As sexual and asexual reproduction may play a key role in the conservation and restoration of coral reefs, my doctoral research aims to better understand changes on sexual and asexual reproduction in the face of rising temperature. The first axis of my Ph. D. was built on the response of early life stages to increasing temperature, in order to assess whether pre-exposure of early life may improve their ulterior performance. Among the different experiments performed on the genus *Acropora*, I highlighted 1) relatively high thermal tolerance (+2-3°C above ambient temperature) of gametes, 2) a higher sensibility of oocytes than sperm to rising temperature exposure, and 3) the pivotal role of gamete thermal history on fertilization output. Finally, I identified optimal pre-exposure conditions in order to maximize fertilization success. While an increasing interest in sexual reproduction was observed these last years, asexual reproduction and fragmentation still remain the main tool to restore damaged reefs. Thus, in the second axis of my doctoral project, I investigated the phenotypic plasticity of corals by growing 3 different species of corals across 3 different environments. Their growth rates, health status and survival probability were determined. Results from this axis showed that differences were observed at the interspecific and intraspecific levels. This work revealed that a selection based on phenotypic plasticity among different life-traits (growth rates and health status) and different environments should allow to increase coral reef restoration strategies. Hence the selection of individuals (asexual reproduction) in a species based on coral common garden experiment allow to identify individuals of interest to use as restoration biological materials. Additionally, thermal preconditioning of early life stages (sexual reproduction) is another way to increase efficiency of restoration measures in the face of rising temperature. My doctoral research provided new information regarding physiological and biological processes of scleractinian corals facing environmental changes and proposed new solutions for restorations based on sexual and/or asexual reproduction.

Keywords: Corals, Sexual reproduction, Asexual reproduction, Conservation, Restoration