



HAL
open science

Comprendre l'association algue coralline – corail : des espèces clés aux médiateurs chimiques et microbiens

Hendrikje Jorissen

► **To cite this version:**

Hendrikje Jorissen. Comprendre l'association algue coralline – corail : des espèces clés aux médiateurs chimiques et microbiens. Interactions entre organismes. Université Paris sciences et lettres, 2020. Français. NNT : 2020UPSLP025 . tel-02972182

HAL Id: tel-02972182

<https://theses.hal.science/tel-02972182v1>

Submitted on 20 Oct 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 PSL

Préparée à l'École Pratique des Hautes Etudes

**Comprendre l'association algue coralline – corail :
des espèces clés
aux médiateurs chimiques et microbiens**

Soutenue par

Hendrikje JORISSEN

Le 26 juin 2020

Ecole doctorale n° 472

**École doctorale de l'École
Pratique des Hautes Études**

Spécialité

**Océanologie biologique et
environnement marin**

Composition du jury :

Christelle, HÉLY-ALLEAUME Directrice d'études, EPHE	<i>Président</i>
Paola, FURLA Professeur d'université, Université de Nice	<i>Rapporteur</i>
Isabelle, DOMART-COULON Maître de conférences, CNRS	<i>Rapporteur</i>
Mehdi, ADJEROUD Directeur de recherche, IRD	<i>Examineur</i>
Lorenzo, BRAMANTI CR1, CNRS	<i>Examineur</i>
Maggy, NUGUES Maître de conférences, EPHE	<i>Directrice de thèse</i>

RÉSUMÉ

Les algues corallines encroûtantes (CCA) sont communément associées à des récifs sains et jouent un rôle important dans les systèmes benthiques en guidant la colonisation de nombreux organismes, comme les coraux. Cependant, la capacité des CCA à induire l'implantation des coraux ne fonctionne pas pour toutes les espèces de CCA. Les larves de coraux sélectionnent certaines espèces d'algues, ce qui pose la question des mécanismes sous-jacents. Malgré l'énorme variété d'espèces de CCA dans les récifs, on en sait peu sur leur diversité chimique et microbienne et sur le rôle écologique de ces deux composants pour le recrutement des coraux. Le chapitre 2 étudie la composition microbienne et chimique de 6 espèces de CCA sur les récifs coralliens de Moorea, et comment ces deux compartiments sont liés au succès d'implantation des larves d'*Acropora cytherea*. Les résultats ont révélé que le taux d'implantation était le plus élevé sur l'espèce cryptique *Titanoderma prototypum*. Alors que toutes les espèces de CCA avaient des empreintes métaboliques distinctes et contenaient une grande diversité métabolique, la diversité et la richesse métaboliques de *T. prototypum* étaient plus élevées que celles des autres espèces. *T. prototypum* hébergeait également une diversité bactérienne plus élevée, et contenait une plus grande abondance de bactéries susceptibles de produire des composés antibactériens. Ces bactéries pourraient inhiber les agents pathogènes des coraux, ce qui pourrait à son tour améliorer la survie des larves. Ainsi, le recrutement corallien est un processus complexe de communications biochimiques entre les CCA, leurs communautés de surface microbiennes associées et les larves de coraux. Malgré la large acceptation que certaines espèces de CCA influencent positivement le recrutement corallien, il n'y a pas de données expérimentales sur les effets des espèces de CCA sur la survie et la croissance post-implantation tardive des coraux. Le chapitre 3 teste l'impact de 4 espèces de CCA, de deux types d'habitats (exposés et subcryptiques), sur la survie et la croissance des recrues de *Pocillopora*. Les CCA ont eu un effet contrasté sur la survie des recrues coralliennes suivant l'habitat et de la taille des recrues. Dans les habitats subcryptiques, les CCA réduisaient la survie et/ou la croissance des recrues coralliennes via la compétition directe, tandis que, dans les habitats exposés, elles amélioraient le recrutement des coraux en atténuant la concurrence avec le gazon algal. Cette étude a démontré que toutes les espèces de CCA ne sont pas bénéfiques à la survie et à la croissance des recrues coralliennes et qu'il existe une variabilité considérable dans l'issue et le processus de compétition entre les CCA et les coraux. Chapitres 4 et 5 déterminent si deux facteurs de stress environnementaux, respectivement l'acidification des océans (AO) et l'hypoxie, affectent l'association corail-CCA en perturbant le comportement et l'implantation des larves des deux espèces de coraux (*A. cytherea* et *A. pulchra*), ainsi que leur recrutement, sur une espèce de CCA appropriée. Les larves des deux espèces évitaient l'exploration et l'implantation dans des environnements à faible pH ou à oxygène réduit. Ces résultats indiquent que les zones à faible teneur en oxygène et pH peuvent influencer négativement le succès d'implantation des larves de coraux et que l'oxygène et le pH peuvent être des signaux chimiques pour l'orientation et l'implantation des larves de coraux. Cette thèse aide à mieux comprendre le rôle des CCA, des micro-organismes et des composés chimiques dans la dynamique à petite échelle du recrutement des coraux maintenant et dans les conditions océaniques futures. Les résultats soulignent que les interactions CCA-corail sont des processus complexes qui sont probablement médiés par des composés chimiques et microbiens et que ces interactions peuvent être affectées par des environnements changeants.

MOTS CLÉS

recrutement, algues corallines encroûtantes, interactions coraux-algues, l'écologie des communautés, microbiome, métabolome

ABSTRACT

Crustose coralline algae (CCA) are commonly associated with healthy reefs and play an important role in benthic systems by guiding settlement of many habitat forming or ecologically important organisms, including corals. However, the ability of CCA to induce coral settlement is not ubiquitous among CCA species. Corals exhibit settlement preferences for certain CCA species. These preferences demonstrate the capacity of coral larvae to discriminate among CCA species and raise the question of the mechanisms involved. Despite the enormous variety of CCA species on coral reefs, little is known about the diversity of their associated chemicals and microbes and the ecological role of these compartments, notably for coral recruitment. Chapter 2 of this thesis investigated the microbial and chemical composition of six CCA species, which occupy different ecological niches on the coral reefs of Moorea (French Polynesia), and how these two compartments (i.e., microbial and chemical) relate to successful settlement success of *Acropora cytherea* larvae. Results showed settlement was highest on the cryptic CCA species *Titanoderma prototypum* and that practically no larvae settled on exposed CCA species. While all CCA species had distinct metabolic fingerprints and contained high metabolic diversity, the metabolomic diversity and richness of *T. prototypum* were significantly higher than those of the other CCA species. *T. prototypum* also hosted a significantly higher bacterial diversity than the other CCA species, and contained a higher abundance of bacteria that potentially produce antibacterial compounds. The presence of these bacteria could inhibit coral pathogens, which in turn could enhance the survival of coral settlers. Thus, coral settlement is a complex process of biochemical communications between CCA, their associated microbial surface communities and coral larvae. Despite widespread acceptance that CCA positively influence coral recruitment success, there are no experimental data on the effects of CCA species on late post-settlement survival and growth of corals. Chapter 3 tested the impact of four CCA species from two habitats (exposed and subcryptic) on the survival and growth of *Pocillopora* recruits. CCA had a contrasting effect on the survival of coral recruits depending on habitat and recruit size. In subcryptic habitats, CCA can reduce the survival and/or growth of coral recruits via direct competitive overgrowth, while, in exposed habitats, they can enhance coral recruitment by alleviating competition with turf algae. Importantly, this study demonstrated that not all CCA species are beneficial to the survival and growth of coral recruits and that there is considerable variability in both the outcome and process of competition between CCA and corals. Chapter 4 and 5 focused on investigating whether two environmental stressors, ocean acidification (OA) and hypoxia, respectively, impact the coral-CCA association by disrupting larval settlement behavior and recruitment of two coral species (*A. cytherea* and *A. pulchra*) on an otherwise preferred and beneficial CCA species (*T. prototypum*). Larvae of both coral species avoided bottom exploration and settlement in low pH environments. They avoided bottom exploration in reduced oxygen environments and settled on *T. prototypum* fragments only in oxygen rich environments, with settlement rates increasing exponentially with oxygen concentrations. These results indicate that low oxygen and low pH areas can negatively influence coral settlement success and that oxygen and pH act as chemical cues for coral larval orientation and settlement. This thesis aids to better understand the role of CCA, micro-organisms and chemicals in the fine-scale dynamics of coral recruitment now and under future ocean conditions. It highlights that CCA-coral interactions are complex processes that are likely mediated by chemicals and microbes and these interactions can be affected by changing environments.

KEYWORDS

coral recruitment, crustose coralline algae, coral-algal interactions, community ecology, microbiome, metabolome

Acknowledgements

It is with genuine pleasure that I would like to express my thanks to all the people who I have met, who have helped me in many different ways and who have left impressions on me during the course of my PhD thesis.

I would like to thank my supervisor Maggy for offering me the opportunity to do this PhD and thus allowing me to continue my research into my favorite organisms in the world: corals and algae. Thank you for this amazing opportunity, I have learned a lot from you and you have helped me become a better scientist. I hope we can keep on working together in the future.

I also want to thank everyone in the chemistry laboratory for inviting me to be part of their laboratory family. I have really enjoyed the scientific exchanges, the shared laughs and the little snack breaks. I want to thank my co-supervisor Isabelle for her sharing her knowledge and passion for chemistry with me, for always being there to offer guidance, for explaining everything so clearly that even a biologist could understand and being positive even when things went wrong for the hundredth time! I also want to thank Sliman and Hikmat who have always been there to help me with all of my questions and analytical problems! I want to thank Delphine for always keeping the machines going even under the most difficult circumstances! Also thank you to Bernard, Nathalie, Marie-Virginie, Louis, Jennifer, Yuxiang, Louis, Marylou and Nicholas for welcoming me, sharing your knowledge with me and making me feel at home in the chemistry lab!

Thank you to my co-supervisor Pierre for welcoming me in your laboratory at the Observatory in Banyuls, for your guidance and for teaching me all about biostatistics. Thank you to Leila for sharing your knowledge and knowhow with me. Thank you Nyree for always being ready to help and answer questions in the laboratory.

Thanks to everyone working at CRIOBE on Moorea. Specifically, I want to thank Laetitia for co-supervising me, for always being there with helpful insights and for having good scientific discussions. But also for doing all night coral spawnings together, introducing me to other researchers and inviting me to participate in the workshop which was one of my fieldwork highlights, thanks to the amazing team I was able to be part of. Thanks to Antoine for sharing with me all your knowledge on coral spawning and always being ready to help me! Thanks to Yann for keeping the aquaria up and running all the time! Specifically I also want to thank Benoit, Pascal, Elina, Franck, Yannick, Margueritte, Cécile, Gilles, Adeline, Morgan for always being ready to help and offering me your expert knowledge. Moreover for welcoming me on Moorea, many of you have become good friends and I hope that despite the distance we will keep in touch.

Thank you also to all the technical staff and researchers in Perpignan. Thanks especially to Nathalie, Fabien, Emilie, Jeanine and Aurélie for the encouragement and the energizing coffee breaks! Peter, thank you so much for saving my computer, multiple times! Valeriano for welcoming me to many of his team activities and Camille for the productive work chats and encouragements.

I want to thank Claude, for her sharing her knowledge and expert advice. Gerald and Mehdi for participating in my thesis committees and always offering me good advice and positive constructive criticism on my work.

Thanks also to my interns Anne, Niké, Lauranne, Sonora, Chérine, Anais, Rachael. You all contributed in your own way to my thesis research and I enjoyed our time together. I hope you will all be able to follow your marine biology dreams!

Thanks to my fellow Criobiens for making my time in Perpignan and on Moorea unforgettable! Thanks Claire, Céline, Jeremy C, Nina, Jason, Titouan, Héloïse, Jeremy W, Victor, Charles, Simon, Jordan, Chloé, Charlotte, Lauric, Nao, Mélodie, Daphné, Jennie, Jeremy V, Mathieu, Mathilde, Rakamaly, Maëlle, Hugo, Mischa, Mick, Hereia, Fred, Kim, Pauline, Gonzalo, Gabrielle, Carol, Emma, Harry, Beverly, Ana, Laurent, Gail and Ian for sharing with me the many beers and wines which made though moments a lot easier to digest and which made the best of times even better. I hope we stay in contact and that we will see each other on numerous occasions in the future!

A very big thank you to my family! My parents, Olga and Karl, for supporting me in every way possible and always being there for me. Thanks to you I was able to follow my dreams and make them into a success story. Completing this PhD is as much your achievement as it is mine. My sister, Philippa, for always being there for me and for the countless times that you provided (academic) guidance, for getting me through the tough times and celebrating the successes! Love you 3000.

Table des matières

Acknowledgements	3
Table des matières	4
Liste des figures	8
Liste des tableaux	10
Chapitre 1 : Introduction générale	11
1. Contexte	11
2. Recrutement corallien	13
2.1 Disponibilité larvaire.....	14
2.2 Implantation des larves	15
2.3 Écologie post-implantation.....	19
2.3.1 Mortalité post-implantation.....	19
2.3.2 Croissance post-implantation.....	22
3. Interactions entre coraux et algues corallines	23
3.1 Écologie des algues corallines (ou « CCA »).....	24
3.2 Interaction entre les algues corallines et les coraux	25
3.3 Mécanismes d'interaction Corail-CCA	26
4. Recrutement des coraux dans un environnement changeant	29
4.1 Température.....	29
4.2 L'acidification des océans	30
4.3 Oxygène.....	32
5. Objectifs de la thèse	34
Chapitre 2: Coral larval settlement preferences link with chemical and microbial signatures of crustose coralline algae.....	36
Résumé	37
Abstract	38
1. Introduction.....	39
2. Materials and methods	41
2.1 Coral collection and larval rearing.....	41
2.2 CCA collection.....	41
2.3 Settlement assay	42
2.3.1 Data analyses.....	42

2.4	Metabolomic sample preparation and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) analysis	42
2.4.1	Data analyses.....	43
2.5	DNA extraction, amplicon sequencing and sequence analysis	43
2.5.1	Data analyses.....	44
2.6	Integration of microbiome and metabolome data	44
3.	Results	45
3.1	Settlement assay	45
3.2	Metabolomic fingerprints and richness	45
3.3	Microbial community composition and richness	49
3.4	Microbiome-metabolome integration	52
4.	Discussion.....	55
	Acknowledgements.....	59
	Supplementary materials	60
	Chapitre 3: Contrasting effects of crustose coralline algae on coral recruits: Not all that glitters is gold.....	67
	Résumé.....	68
	Abstract	69
1.	Introduction.....	70
2.	Materials & Methods.....	71
2.1	Study site	71
2.2	Transplantation experiment.....	72
2.3	Measurements and data analyses.....	73
3.	Results	75
4.	Discussion.....	78
	Acknowledgements.....	80
	Supplementary materials	81
	Chapitre 4: Ocean acidification inhibits substratum exploration and settlement of coral larvae	88
	Résumé.....	89
	Abstract	90
1.	Introduction.....	91
2.	Materials & Methods.....	92
2.1	Coral colony collection and larval rearing	92
2.2	Experiment 1: Larval vertical swimming behavior assay.....	92
2.3	Experiment 2: Larval settlement assay.....	94
3.	Results	95
3.1	Experiment 1: Larval vertical swimming behavior	95

3.2	Experiment 2: Larval settlement	96
4.	Discussion	96
	Acknowledgements	99
Chapitre 5:	Coral larvae avoid substratum exploration and settlement in low oxygen environments	100
	Résumé	101
	Abstract	102
1.	Introduction.....	103
2.	Materials & Methods.....	104
2.1	Coral colony collection and larval rearing	104
2.2	Experiment 1: Larval vertical swimming behavior assay	105
2.3	Experiment 2: Larval settlement assay.....	105
3.	Results	107
3.1	Experiment 1: Larval vertical swimming behavior	107
3.2	Experiment 2: Larval settlement	108
4.	Discussion	110
	Acknowledgements	112
Chapitre 6:	Discussion	113
1.	Objectif 1 : Examiner les signatures chimiques et microbiennes des algues corallines et leurs liens avec le recrutement des coraux	113
1.1	Métabolites des CCA et leurs rôles écologiques	114
1.1.1	Mécanismes de défense physiques et chimiques des CCA	115
1.1.2	Métabolites et induction de l'implantation	116
1.2	Bactéries liées à l'induction des colonies	118
1.3	Lien entre les préférences d'implantation larvaire des coraux et les signatures chimiques et microbiennes	119
1.4	Perspectives futures	121
2.	Objectif 2: Effets contrastés des algues corallines sur les recrues.....	123
2.1	Mécanismes de défense des CCA.....	123
2.2	Conclusions et perspectives futures.....	125
3.	Objectif 3: Effets des facteurs de stress environnementaux sur le comportement de colonisation et le recrutement des larves de coraux.....	126
3.1	Comportement d'exploration et de nage des larves.....	126
3.2	Taux d'implantation.....	127
3.3	Oxygène et $p\text{CO}_2$ comme indicateurs de la compétition.....	128
3.4	Perspectives futures	129
3.4.1	Effets directs et indirects des facteurs de stress environnementaux sur l'implantation larvaire	129

3.4.2 Différences entre espèces	130
3.4.3 Multi-stress et implantation larvaire.....	131
4. Conclusions.....	131
5. Perspectives de recherche future	133
References.....	136
Annexes.....	165

Liste des figures

Chapitre 1 : Introduction générale

Figure 1.1 : Répartition mondiale des récifs coralliens (NOAA).....	11
Figure 1.2: Récifs coralliens et leur niveau de menace par des facteurs naturels et artificiels dans le monde (Riegl et al. 2009).....	13
Figure 1.3: Trois phases séquentielles nécessaires au succès du recrutement des coraux en commençant par la disponibilité des larves, leur implantation et en se terminant par l'écologie post-implantation (Ritson-Williams et al. 2009).....	14
Figure 1.4 : Diagramme schématique des facteurs physiques, chimiques et biologiques généraux (stimuli) qui guident les larves vers les lieux d'implantation et influencent la colonisation larvaire sur le récif, avec des exemples de références pour chaque facteur (Randall et al. 2020).....	17
Figure 1.5: Différents mécanismes proposés pour l'induction de l'implantation des larves de coraux par les algues corallines ou CCA (Gomez- Lemos et al.2018).	28
Figure 1.6: Carte des écosystèmes hypoxiques connus (en rouge), avec des événements de mortalité sur les récifs coralliens indiqués en jaune (Altieri et al. 2017).	32

Chapitre 2: Coral larval settlement preferences link with chemical and microbial signatures of crustose coralline algae

Figure 2.1: Percentage (mean \pm SEM, n = 12 wells) of <i>Acropora cytherea</i> larvae that settled in response to the different treatments.....	45
Figure 2.2: Metabolomic profiles and diversity of the different CCA species.....	46
Figure 2.3: Microbiome profiles and diversity of the different CCA species.....	49
Figure 2.4: Circos plot depicting the strongest correlations between variables of microbiome (blue blocks) and metabolome (green blocks) data sets (correlation cut-off $r \geq 0.9$) and level of expression of each variable for each CCA species.....	53
Figure 2.5: Clustered heatmap ordered through unsupervised clustering of both samples and variables from microbiome and metabolome datasets.	54

Chapitre 3: Contrasting effects of crustose coralline algae on coral recruits: Not all that glitters is gold

Figure 3.1 (a) Experimental petri dish with small- (bottom) and large-sized (top) recruits in contact with crusts of the subcryptic species <i>Neogoneolithon foslei</i> . (b) The same large-sized recruit is enlarged in subsequent repeated photographs to show overgrowth by the CCA over time.	72
Figure 3.2: (a) Mean (\pm SEM, n = 20) survival (%) and (b) mean growth rates (mm^2/month) of small- and large-sized recruits for the different experimental treatments.....	76
Figure 3.3: Percent estimates for recruit death attributed to the different causes (see 'Materials and methods' section) in the different experimental treatments for (a) small- and (b) large-sized coral recruits.	77
Figure 3.4: Survivorship of small-sized coral recruits (mean \pm SEM, n = 20) for each CCA species as a function of CCA lateral growth rates (mean \pm SEM, n = 6).	77

Chapitre 4: Ocean acidification inhibits substratum exploration and settlement of coral larvae

Figure 4.1: Percent (mean \pm SE, n = 8) of <i>Acropora cytherea</i> and <i>A. pulchra</i> planulae in the bottom 3 cm of the graduated cylinders in response to increased $p\text{CO}_2$	95
Figure 4.2: Percent (mean \pm SE, n = 6) of <i>Acropora cytherea</i> and <i>A. pulchra</i> larvae that settled on <i>Titanoderma prototypum</i> and control (aragonite) fragments in response to increased $p\text{CO}_2$	96

Chapitre 5: Coral larvae avoid substratum exploration and settlement in low oxygen environment

Figure 5.1: Percent of coral planulae (mean \pm SE, n = 8) of (a) *Acropora cytherea* and (b) *Acropora pulchra*, swimming in the bottom 3 cm of the water column depth of 27 cm in the graduated cylinders for the three oxygen treatments. 107

Figure 5.2: Percentage (mean \pm SE, n = 12) of *Acropora cytherea* and *Acropora pulchra* larvae that settled on pieces of *Titanoderma prototypum* and oxygen concentrations measured along the hypoxitron. 109

Figure 5.3: Settlement rates (%) in hypoxitron at different oxygen concentrations with fitted exponential curves. 110

Liste des tableaux

Chapitre 2: Coral larval settlement preferences link with chemical and microbial signatures of crustose coralline algae

Table 2.1: Comparison of richness and uniqueness of the metabolomes of the different CCA species.	46
Table 2.2: Mass measurements, molecular formulas and putative identification of the 15 VIPs showing a higher abundance in <i>T. prototypum</i> relative to exposed and subcryptic species groups.....	48
Table 2.3: SIMPER analysis showing the ASVs contributing >0.6% to the dissimilarity among the different CCA species.	51

Chapitre 3: Contrasting effects of crustose coralline algae on coral recruits: Not all that glitters is gold

Table 3.1: Logistic regression mixed effects model with pairwise Bonferroni Holm comparisons of the survival of small and large coral recruits (Size) in contact with exposed and subcryptic CCA species (Species)	75
--	----

Chapitre 4: Ocean acidification inhibits substratum exploration and settlement of coral larvae

Table 4.1: Summary of the physical and chemical seawater values for CO ₂ treatment levels	93
Table 4.2: Repeated measures analysis of variance testing for the effects of CO ₂ treatment and time on the percentage of coral planulae in the bottom 3 cm of the cylinders for <i>Acropora cytherea</i> and <i>A. pulchra</i>	95

Chapitre 5: Coral larvae avoid substratum exploration and settlement in low oxygen environment

Table 5.1: Repeated measures analysis of variance testing for the effects of oxygen treatment and time on the percent of larvae of <i>Acropora pulchra</i> and <i>Acropora cytherea</i> larvae in the bottom 3 cm of the cylinders.	107
Table 5.2: Repeated measures analysis of variance testing for the effects of day of the experiment and settlement location on the percent settlement of <i>Acropora pulchra</i> and <i>Acropora cytherea</i> larvae along the oxygen gradient.	108

Chapitre 1 : Introduction générale

1. Contexte

Les récifs coralliens tropicaux sont des écosystèmes proéminents dans les zones côtières bordant les océans indien, pacifique et atlantique. Ils se trouvent généralement dans une large bande (30°S à 30°N) où les eaux sont chaudes, ensoleillées, alcalines, claires, et relativement pauvres en nutriments (Kleypas et al. 1999) (Fig. 1.1). Ici, les coraux scléactiniaires qui sont les bâtisseurs des récifs prolifèrent, déposant de grandes quantités de carbonate de calcium. Au fur et à mesure que les coraux meurent, leurs squelettes s'amoncellent et sont cimentés par l'activité d'autres organismes tels que les algues corallines rouges encroûtantes (Glynn and Manzello 2015). D'autres organismes tels que les algues vertes calcifiantes, les invertébrés et le phytoplancton contribuent également au budget global de carbonate des récifs coralliens tropicaux (Hutchings et al. 2019), conduisant à des structures de carbonate de calcium tridimensionnelles qui croissent sur des centaines de milliers d'années. À leur tour, ces structures tridimensionnelles créent un habitat pour des centaines de milliers d'espèces, dont beaucoup sont sources de revenus et de nourriture pour les populations humaines côtières, fournissant d'autres biens et services écologiques tels que la protection côtière, les activités récréatives et touristiques, et sont un réservoir de produits naturels susceptibles de constituer les médicaments de demain (Hoegh-Guldberg et al. 2007).

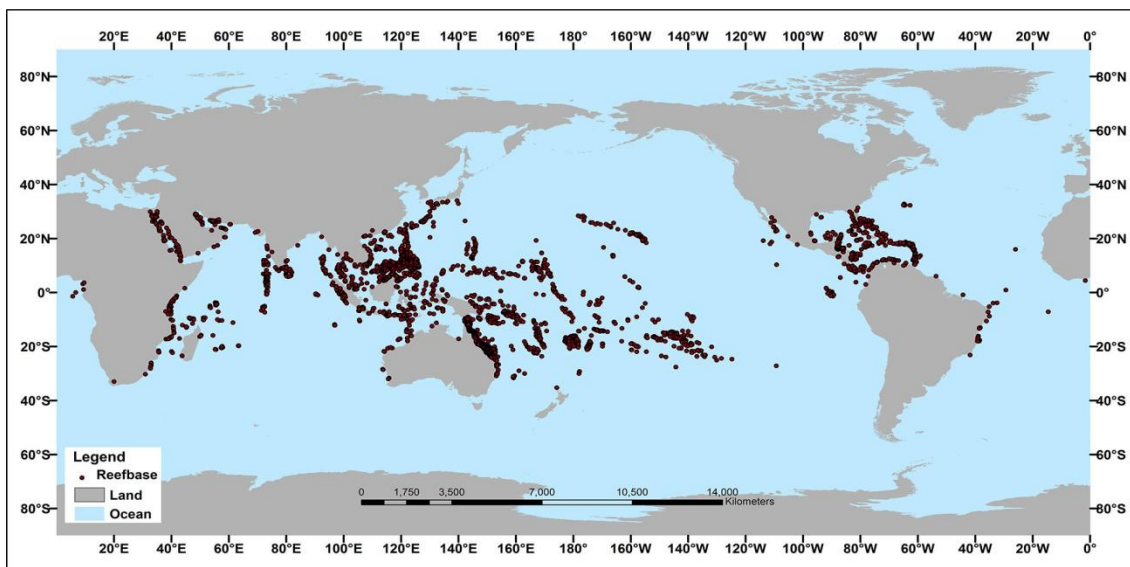


Figure 1.1 : Répartition mondiale des récifs coralliens. La majorité des coraux constructeurs de récifs se trouvent dans les eaux tropicales et subtropicales, généralement entre 30° latitudes nord et 30° sud (NOAA).

Les récifs coralliens font partie des écosystèmes les plus diversifiés et le plus productifs de la Terre et sont donc souvent appelés «forêts tropicales de l'océan» (Knowlton and Jackson 2008). Bien qu'ils n'occupent que 0,1 % des océans, ils abritent environ 35-38 % de toute la biodiversité marine (Fisher et al. 2015). La capacité des coraux scléactiniaires à transformer les «déserts océaniques» en zones hautement productives et à créer des niches pour d'autres formes de vie marine est due à la symbiose entre le polype corallien et un endosymbionte photosynthétique : les zooxanthelles (Ruppert 2004). Grâce à la symbiose, leurs zooxanthelles qui vivent dans les tissus gastro-dermiques ou digestifs de leur hôte pratiquent la photosynthèse et fournissent à leur hôte une quantité abondante de sucres, de glycérol, de lipides et d'autres composés organiques (Muscatine 1990). Cette relation permet aux coraux de se développer et de calcifier à des taux élevés dans les eaux claires, chaudes et peu profondes le long des côtes tropicales (Muscatine and Porter 1977). La productivité de cette symbiose est complétée par la capacité des coraux à capturer et à se nourrir de particules en suspension dans l'eau et de plancton (c.-à-d. la polytrophie). La capacité combinée de la photosynthèse et de l'alimentation hétérotrophique est à l'origine de la forte productivité des écosystèmes coralliens dans les zones tropicales (Hoegh-Guldberg et al. 2017). Les coraux jouent un rôle important dans les cycles biochimiques mondiaux, en particulier dans le cycle du carbone (Hallock 1997), mais ils fournissent également de nombreux services écosystémiques aux communautés côtières (Cesar 2000). Les bénéfices des récifs coralliens pour les communautés humaines incluent la nourriture, les revenus, les loisirs, la protection côtière, les valeurs culturelles et de nombreux autres biens et services écologiques (Cinner et al. 2009; Costanza et al. 2014).

Cependant, les récifs coralliens sont parmi les écosystèmes les plus vulnérables du monde aux changements environnementaux (Pandolfi et al. 2011), et les menaces d'extinction des espèces sont inhabituellement élevées (Carpenter et al. 2008). Les écosystèmes des récifs coralliens se sont rapidement détériorés au cours des dernières décennies, avec un déclin massif des coraux vivants dans tous les océans. Actuellement, 75% des récifs coralliens dans le monde sont menacés, la plus grande menace étant le blanchissement massif des coraux, qui devrait toucher 95% des coraux d'ici 2050 (Burke et al. 2011). Ce déclin représente une menace réelle pour les sociétés humaines, car ce sont les coraux scléactiniaires qui fournissent la structure physique biogénique permettant l'existence des communautés récifales (Costanza et al. 1997). Ainsi, malgré leur diversité biologique, leur productivité et leur importance pour l'homme, les récifs coralliens sont fortement impactés par les activités humaines en raison des influences locales et mondiales (Hall–Spencer et al. 2002; Burke et al. 2011). En plus d'un impact significatif des activités locales telles que la pollution, la surpêche et la destruction physique des récifs, les changements de température et de chimie des océans dus aux activités anthropiques réduisent considérablement la distribution, l'abondance et la survie de ces écosystèmes (Gattuso et al. 2014; Hoegh-Guldberg 2014) (Fig. 1.2).

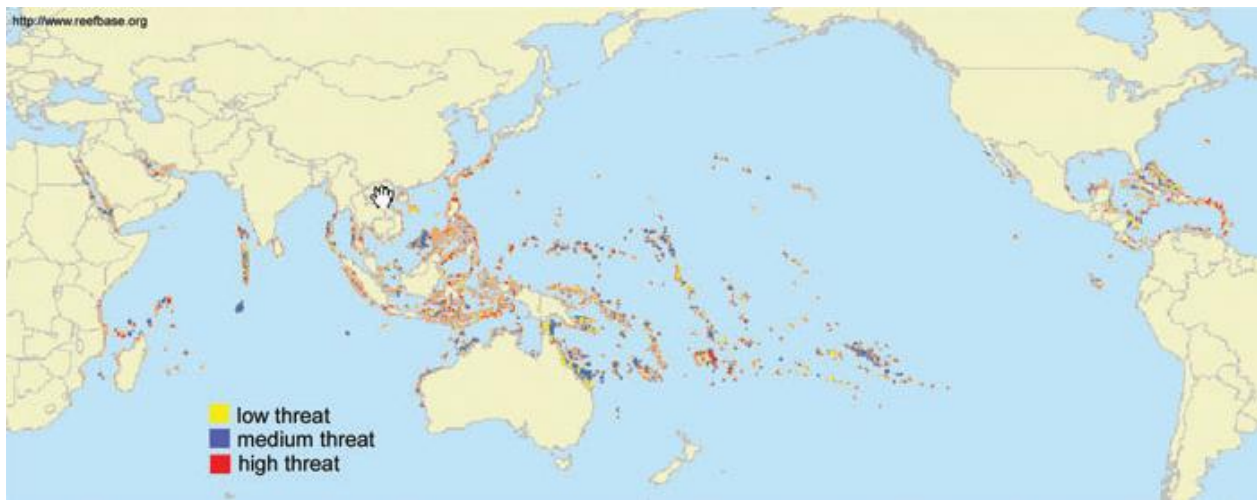


Figure 1.2: Récifs coralliens et leur niveau de menace par des facteurs naturels et artificiels dans le monde (Riegl et al. 2009)

Malgré des menaces croissantes, il n'est pas trop tard pour que des mesures décisives soient prises pour protéger et sauver ces écosystèmes à la fois fragiles et importants pour l'humanité (Riegl et al. 2009). Compte tenu de la vulnérabilité des récifs coralliens aux perturbations locales et mondiale et des prédictions de perte de la diversité et de la fonction de l'écosystème, il y a un besoin urgent d'approches multidisciplinaires qui peuvent être utilisées pour comprendre comment les mécanismes qui favorisent la récupération rapide des coraux et renforcent la capacité de résilience des récifs coralliens. Cette connaissance peut à son tour être utilisée pour maintenir la santé des récifs et leur apport en services écosystémiques (Hönisch et al. 2012; Pörtner et al. 2014).

2. Recrutement corallien

Les coraux constructeurs de récifs subissent régulièrement des perturbations qui vont de perturbations localisées à l'échelle océanique (Nyström and Folke 2001; Bellwood et al. 2004). La diversité, la fréquence et la gravité des perturbations augmentant à un rythme rapide, il est de plus en plus important de comprendre les facteurs favorisant la récupération des récifs après perturbation (Nyström and Folke 2001; Bellwood et al. 2004; Diaz-Pulido et al. 2009; Hughes et al. 2010 ; Penin et al. 2007b, Adjeroud et al. 2008 ; Adjeroud et al. 2010; Adjeroud et al. 2018). La récupération des récifs dépend du rétablissement ou de la reconstitution des populations de coraux, soit par la repousse des fragments des coraux survivants, soit par la colonisation (lorsque les larves se fixent pour la première fois au benthos) et la survie (recrutement) de nouveaux individus (Ritson-Williams et al. 2009 ; Adjerhoud et al. 2007a ; Penin et al. 2007a ; Penin et al. 2008, 2010).

Bien que les coraux peuvent se reproduire de façon clonale (Baums et al. 2006), le recrutement issu de la reproduction sexuée est le principal moyen de recolonisation pour la plupart des espèces (Connell et al.

1997). La reproduction sexuée ajoute aussi une variation génétique aux populations de coraux, ce qui peut augmenter les chances de survie d'une espèce. Un recrutement réussi nécessite la survie de la progéniture corallienne à travers de plusieurs étapes séquentielles du cycle biologique : (1) la disponibilité des larves, qui intègre la production de gamètes, le succès de la fertilisation et la connectivité; (2) l'implantation des larves, qui dépend de la santé des larves et de leur comportement de sélection du substrat ; et (3) l'écologie post-implantation, qui comprend la survie et la croissance des recrues (Ritson-Williams et al. 2009) (Fig. 1.3).

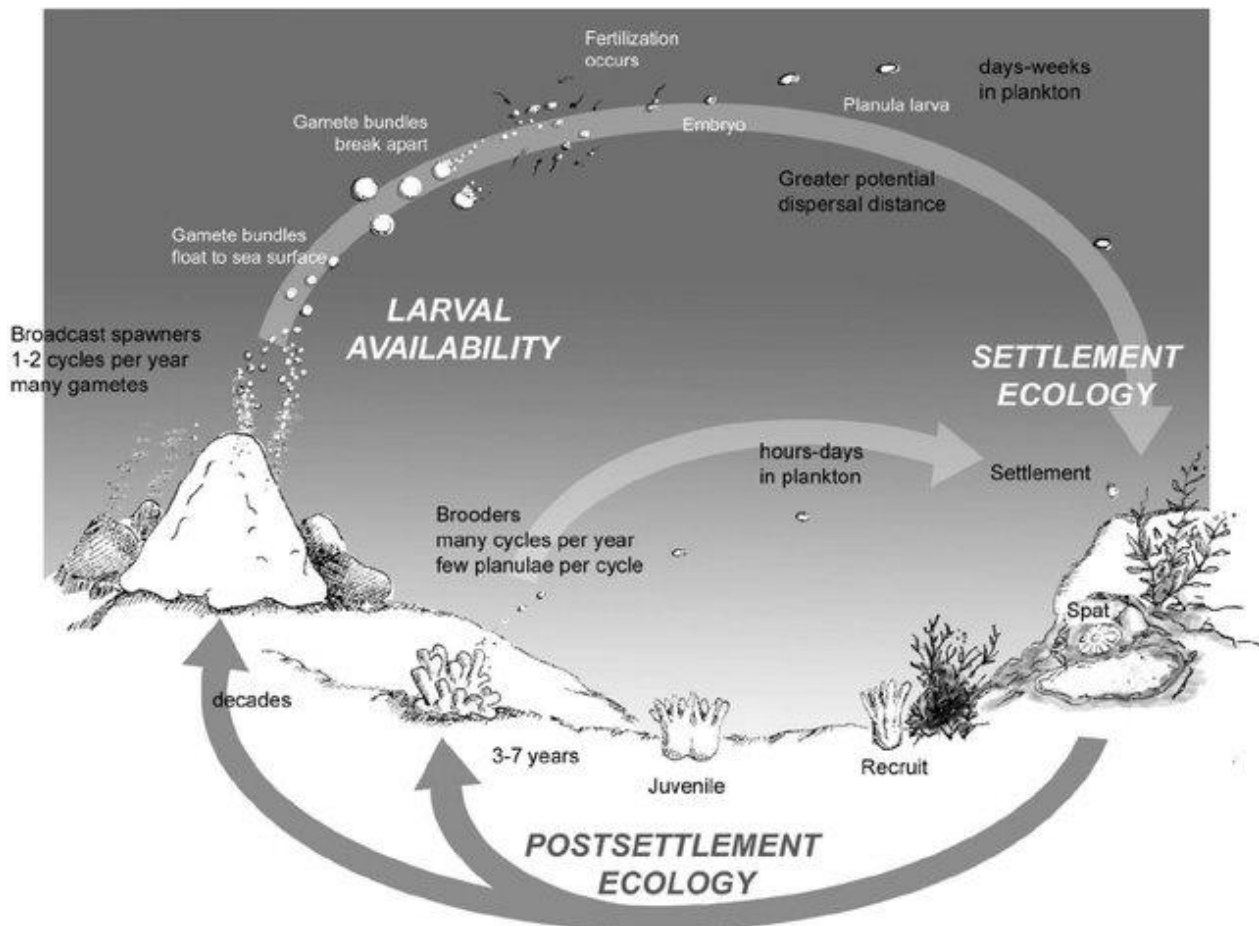


Figure 1.3: Trois phases séquentielles nécessaires au succès du recrutement des coraux en commençant par la disponibilité des larves, leur implantation et en se terminant par l'écologie post-implantation (Ritson-Williams et al. 2009)

2.1 Disponibilité larvaire

L'approvisionnement larvaire d'un récif dépend des processus consécutifs de production de gamètes, de réussite de la fertilisation et du transport larvaire (c.-à-d. la dispersion et connectivité larvaire). Les caractéristiques de base du cycle biologique des coraux peuvent grandement influencer la gamme de stratégies utilisées pour garantir la disponibilité larvaire. Les coraux scléactiniaires ont deux principaux modes de reproduction. Chez les « couveurs » (anglais: brooder), les spermatozoïdes sont libérés dans la colonne d'eau et captés par des conspécifiques pour la fertilisation interne. Chez les « émetteurs » (anglais : spawner), œuf et/ou sperme sont libérés dans l'environnement de telle sorte que la fécondation a lieu dans

la colonne d'eau et que les larves se développent en eau libre pendant des heures ou des mois avant de s'implanter et se métamorphoser sur un substrat approprié (Fadlallah 1983; Szmant 1986; Richmond and Hunter 1990; Richmond 1997). Les « couveurs » sont généralement plus petits que les coraux « émetteurs » et ont plusieurs cycles de planulation (ou émission de larves) par an, par opposition à un ou deux cycles chez les « émetteurs » (Szmant 1986).

2.2 Implantation des larves

La deuxième phase du recrutement des coraux est l'implantation, dans laquelle la santé ou plus spécifiquement, la « fitness » des larves et la sélection du substrat jouent un rôle important. Pour les coraux, la transition de larves ou planula planctoniques aux recrues sessiles implique deux étapes : l'implantation (anglais : settlement) et la métamorphose. L'implantation est la réponse comportementale d'une larve lorsqu'elle arrête la dispersion et sélectionne le substrat pour le recrutement. Cette transition de larve mobile à un polype sessile est un processus à plusieurs étapes qui comprend la sélection d'un substrat d'implantation, suivi de l'attachement à ce substrat, de la métamorphose de la larve au polype, et enfin de l'acquisition de photosymbiontes ou zooxanthelles, pour les espèces qui les acquièrent de l'environnement (c.-à-d. transmission horizontale) (Harrison and Wallace 1990).

Bien que les larves planctoniques soient transportées par les courants océaniques, elles peuvent moduler verticalement leur position dans la colonne d'eau, ce qui augmente leur probabilité d'intercepter le substrat récifal (Raimondi and Morse 2000; Szmant and Meadows 2006). Une fois sur le fond marin, les larves détectent le substrat et recherchent activement un site d'attachement approprié en utilisant une gamme de capacités sensorielles (Young and Chia 1981; Ritson-Williams et al. 2009; Gleason and Hofmann 2011; Jones et al. 2015). Ces capacités sensorielles comprennent la détection et la discrimination de fréquences lumineuses (Lewis 1974; Babcock and Mundy 1996; Mundy and Babcock 1998; Strader et al. 2015), la pesanteur, la pression hydrostatique (Stake and Sammarco 2003), le son (Vermeij et al. 2010a) et les signaux chimiques (Morse and Morse 1996; Negri et al. 2001; Gleason et al. 2009; Tebben et al. 2015; Gomez-Lemos et al. 2018). Bien que les larves de nombreuses espèces de coraux nécessitent un signal chimique d'origine biologique (inducteur ou morphogène) pour induire la colonisation, cela n'est pas une exigence stricte pour toutes les espèces, car les larves de certaines espèces peuvent s'installer spontanément (Harrison and Wallace 1990; Baird and Morse 2004). Un large éventail de stimuli peut déclencher l'implantation. Lorsque les récepteurs de la larve ovoïde détectent les signaux, une cascade de signaux biochimiques et moléculaires internes se déclenche (Grasso et al. 2011), entraînant la fixation de l'extrémité aborale et l'initiation de la métamorphose en un polype sessile (Harrison and Wallace 1990). Le délai de colonisation des larves de reproducteurs « émetteurs » est spécifique à chaque espèce et peut suivre une distribution normale au sein d'une cohorte. En règle générale, la première implantation est observée environ 3 jours après le frai à des températures de l'eau de 26 à 28°C, avec une majorité

d'implantation entre 4 et 6 jours (Connolly and Baird 2010; Figueiredo et al. 2013; Jones et al. 2015). En revanche, les larves des coraux « couveurs » peuvent s'établir dans les heures suivant leur libération des polypes parentaux, bien que certaines planulae peuvent rester compétentes durant des mois (Shlesinger and Loya 1985; Richmond 1987; Harrison and Wallace 1990).

Malgré leur importance pour le maintien et le rétablissement des populations, les processus précoces du cycle de vie restent très méconnus. Le comportement larvaire peut être déterminé par les conditions que les larves rencontrent dans le plancton et par la présence de stimuli positifs ou négatifs sur le benthos ou dans l'eau ambiante du récif (Ritson-Williams et al. 2009). Jusqu'à récemment, les larves en dispersion étaient considérées comme des particules passives, mais des études récentes ont démontré que même les larves d'invertébrés à faible capacité de nage telles que les planulae coralliennes participent activement au processus de dispersion et de recrutement. Elles peuvent modifier leur comportement de nage et sélectionner ou rejeter des sites d'attachement en réponse à une série de facteurs physiques, chimiques et biologiques à plusieurs échelles. En particulier, en l'absence de stimuli positifs, elles peuvent retarder ou cesser complètement le processus d'implantation, ce qui implique un rôle essentiel des stimuli pour les communautés benthiques. La hiérarchie des signaux physiques ou chimiques diffère également entre les espèces, permettant aux larves d'identifier des sites d'implantation spécifiques afin d'optimiser la survie et la croissance des recrues (Morse et al. 1988; Raimondi and Morse 2000; Baird and Morse 2004; Golbuu and Richmond 2007; Gleason and Hofmann 2011). Par exemple, l'implantation sur des surfaces exposées à la lumière peut favoriser l'acquisition d'énergie via la photosynthèse par des symbiotes, cependant, sur ces surfaces, les polypes juvéniles d'environ 1 mm peuvent être plus vulnérables à la prédation, à la compétition avec les algues benthiques et à l'étouffement par les sédiments (Vermeij 2006; Gleason and Hofmann 2011; Jones et al. 2015). Inversement, la fixation des larves sur des surfaces cryptiques peut réduire ces risques, mais aussi entraîner une croissance réduite due à la réduction lumineuse ou à la concurrence de taxons encroûtants (ex : bryozoaires, éponges, ascidies). Une stratégie courante chez les Acroporidés (un des taxons coralliens les plus diversifiés) consiste à s'installer dans des microcavités protégées contre la prédation, le broutage et le délogement physique, tout en recevant un minimum de lumière pour permettre la croissance de la colonie (Mizrahi et al. 2014; Cruz and Harrison 2017). Les larves de nombreuses espèces préfèrent également s'installer dans des micro-refuges comme dans les coins, les crevasses ou les creux de taille similaire à leur diamètre (Petersen et al. 2005; Nozawa 2008; Okamoto et al. 2008; Doropoulos et al. 2012b; Whalan et al. 2015). Cependant, les juvéniles plus âgés ont tendance à être trouvés sur des surfaces exposées, reflétant la forte influence de la mortalité post-implantatoire sur la distribution des coraux adultes (Babcock and Mundy 1996; Mizrahi et al. 2014; Doropoulos et al. 2016; Cruz and Harrison 2017).

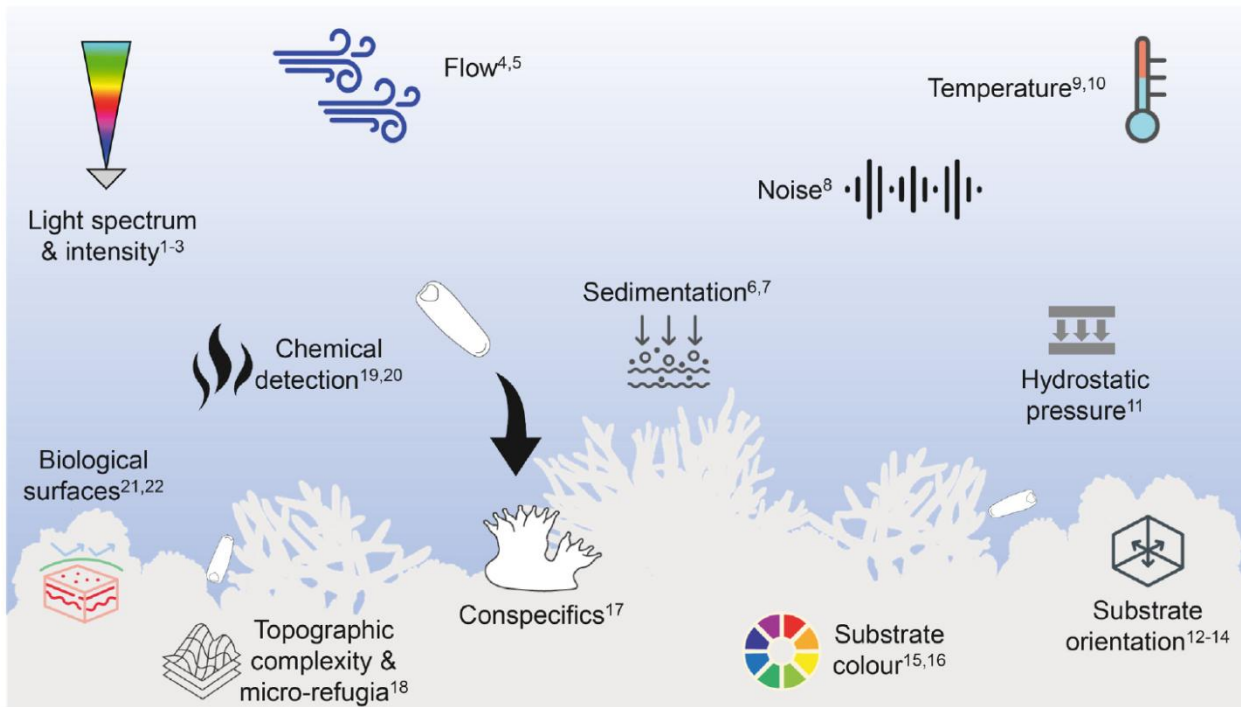


Figure 1.4 : Diagramme schématique des facteurs physiques, chimiques et biologiques généraux (stimuli) qui guident les larves vers les lieux d'implantation et influencent la colonisation larvaire sur le récif, avec des exemples de références pour chaque facteur. 1 Babcock et Mundy (1996), 2 Mundy et Babcock (1998), 3 Strader et al. (2015), 4 Roberts (1997), 5 Hata et al. (2017), 6 Babcock et Davies (1991), 7 Jones et al. (2015), 8 Vermeij et al. (2010a), 9 Edmunds et al. (2001), 10 Randall et Szmant (2009), 11 Stake et Sammarco (2003), 12 Goreau et al. (1981), 13 Doyle (1975), 14 Fadlallah (1983), 15 Mason et al. (2011), 16 Foster & Gilmour (2016), 17 Da-Anoy et al. (2017), 18 Whalan et al. (2015), 19 Tebben et al. (2015), 20 Gleason et al. (2009), 21 Morse and Morse (1996), 22 Negri et al. (2001) dans Randall et al. 2020.

L'implantation larvaire peut être déclenchée par un large éventail de signaux abiotiques, y compris la topographie de surface (Whalan et al. 2015) et la couleur (Foster et al. 2008; Foster and Gilmour 2016) (Figure 1.4). Cependant, les stimuli chimiques produits par les algues corallines encroûtantes de la famille des Corallinaceae (anglais : crustose coralline algae ou CCA) (Morse and Morse 1996; Harrington et al. 2004; Tebben et al. 2015) et les biofilms microbiens (Webster et al. 2004; Tran and Hadfield 2011; Sharp et al. 2015) sont considérés comme les plus influents dans le déclenchement d'implantation larvaire chez de nombreuses espèces (Gleason and Hofmann 2011; Jones et al. 2015). Certaines espèces de CCA (ex : les genres *Titanoderma*, *Hydrolithon*) sont connues pour être un substrat d'implantation préféré pour les larves de nombreuses espèces de coraux, tandis que d'autres espèces de CCA sont activement évitées (Harrington et al. 2004; Diaz-Pulido et al. 2010; Ritson-Williams et al. 2010; Tebben et al. 2015; Gomez-Lemos et al. 2018).

Bien que le faible recrutement de coraux soit couramment documenté sur le terrain, il est surprenant de constater que peu d'études ont expérimentalement testé les caractéristiques du substrat susceptibles de décourager l'implantation larvaire des coraux (Ritson-Williams et al. 2009). Tandis que la survie et l'implantation des larves de corail peuvent être réduites par de nombreux stress environnementaux, une lacune importante dans nos connaissances est de savoir comment les stress

subléthaux influencent la santé et le comportement des larves et le succès post-implantation (Downs et al. 2005). De nouvelles techniques, dont les biomarqueurs cellulaires et l'expression différentielle des gènes à l'aide de puces à ADN, devraient permettre des avancées importantes pour mesurer les effets des stress subléthaux chez les larves de coraux.

Les conditions de qualité de l'eau connues pour avoir un impact sur les coraux adultes ont également des effets dramatiques sur l'approvisionnement et l'implantation des larves. De nombreuses substances toxiques, y compris les métaux, les pesticides, les produits pétroliers et d'autres produits industriels, ont un impact sur l'implantation larvaire (Negri and Heyward 2000; Reichelt-Brushett and Harrison 2000; Negri et al. 2005; Lam et al. 2015; Hudspith et al. 2017). Par exemple, une fine couche de sédiments peut déjà empêcher l'implantation (Ricardo et al. 2017). Une température élevée et une exposition à un pH acide peuvent réduire directement les taux d'implantation et augmenter la mortalité des recrues (Heyward and Negri 1999; Putnam et al. 2008; Randall and Szmant 2009a, 2009b; Albright et al. 2010; Albright and Langdon 2011; Doropoulos et al. 2012a), mais également avoir un impact négatif sur les algues et leurs microbiotes associés inducteurs de l'implantation et entraîner un échec du recrutement naturel à grande échelle (Kuffner et al. 2008; Doropoulos et al. 2012a; Webster et al. 2013; Fabricius et al. 2017) (Fig. 1.4).

Les interactions larvaires avec les communautés benthiques des récifs peuvent également réduire leur implantation. Le gazon algal, les macroalgues et les cyanobactéries peuvent avoir un impact négatif sur l'implantation des larves de corail (Kuffner and Paul 2004; Birrell et al. 2005, 2008; Kuffner et al. 2006). En Floride, deux algues brunes, *Dictyota pulchella* et *Lobophora variegata*, ont réduit le nombre total de recrues de *Porites astreoides* (Kuffner et al. 2006). Aux Philippines, les algues *Sargassum polycystum* et *Laurencia papillosa* ont diminué l'implantation larvaire de *Pocillopora damicornis*, tandis que l'eau conditionnée avec ces algues l'ont augmenté (Raymundo and Maypa 2004). En Australie, l'eau conditionnée par l'algue brune foliacée *Padina* sp. a réduit l'implantation larvaire d'*Acropora millepora*, alors que l'eau conditionnée par l'algue brune *Lobophora variegata* l'a augmenté (Birrell et al. 2008). La cyanobactérie *Lyngbya majuscula* a réduit la survie des larves d'*Acropora surculosa* ainsi que l'implantation et la métamorphose de *Pocillopora damicornis* à Guam (Kuffner and Paul 2004). Dans une étude *in situ* en Floride, les larves de *Porites astreoides* évitent de s'implanter à proximité de la cyanobactérie *Lyngbya polychroa* (Kuffner et al. 2006). Certaines macroalgues et cyanobactéries peuvent agir comme des inhibiteurs du recrutement pour les larves de corail, mais ce n'est pas le cas pour toutes les algues testées. Ses résultats sont à contraster avec une étude sur les larves de *Favia fragum* montrant des taux élevés d'implantation et de métamorphose des larves sur la surface même de l'algue verte calcifiée *Halimeda opuntia* (Nugues and Szmant 2006). Une observation similaire a été reportée avec les larves de corail de *Montipora capitata* qui s'implantaient sur l'algue verte *Ulva* sp. (Vermeij et al. 2009). La raison pour laquelle ces larves se déposent directement sur les thalles d'algues n'est pas claire, mais, ces substrats étant éphémères, ce choix de substrat est probablement

fatal pour les futures recrues, augmentant ainsi la mortalité post-implantation. Les caractéristiques physiques, chimiques et microbiennes des algues telles que les composés chimiques, l'ombrage, l'abrasion, le microbionte associé, la production de matière organique dissoute contribuent probablement aux impacts négatifs des algues sur les larves de corail.

La métamorphose et les changements morphologiques et physiologiques associés que subissent les larves pélagiques pour devenir des juvéniles benthiques se produisent dans les 24 heures suivant l'implantation chez la plupart des espèces de coraux (Nozawa and Harrison 2005). La larve se transforme en une structure en forme de disque avec 6 mésentères rayonnant vers l'extérieur à partir d'une bouche centrale. Les tentacules deviennent généralement apparents dans les 48 heures (Harrison and Wallace 1990; Heyward and Negri 1999). Alors que la métamorphose est généralement étroitement liée à l'attachement de la larve au substrat, les indices d'un attachement et d'une métamorphose peuvent être distincts et temporellement dissociés, l'attachement pouvant se produisant quelques jours voire quelques semaines avant la métamorphose par exemple chez *Platygyra daedalea* (Nozawa and Harrison 2005) et chez certaines espèces d'*Acropora* (Harrison 2006).

2.3 Écologie post-implantation

La phase post-implantation qui comprend la survie et la croissance des recrues coralliennes sur leur substrat constitue un obstacle majeur à la démographie des coraux (Penin et al. 2007b, 2008, 2010a ; Vermeij and Sandin 2008). Une jeune recrue est particulièrement vulnérable à la prédation, à la compétition et aux perturbations stochastiques et doit croître rapidement pour échapper à cette phase sensible. Ainsi, les taux de croissance et la mortalité post-implantation influencent fortement l'abondance locale des coraux (Ritson-Williams et al. 2009).

2.3.1 Mortalité post-implantation

La mortalité au cours de la première année suivant l'implantation peut être extrêmement élevée (> 30 à 99%) (Loya 1976; Babcock 1985; Babcock and Mundy 1996; Wilson and Harrison 2005; Davies et al. 2013; Suzuki et al. 2018). Les processus stochastiques comme le broutage accidentel et les tempêtes contribuent de manière significative à la mortalité juvénile (Mumby 1999; Penin et al. 2011, Davies et al. 2013; Traçon et al. 2013), et les facteurs de mortalité évoluent avec le stade de vie et la taille. Par exemple, les recrues de 1 à 2 mois sont plus sensibles au broutage accidentel (Traçon et al. 2013) par rapport aux recrues plus grands âgées de 10 à 14 mois (Davies et al. 2013).

Les causes de mortalité sont liées à des perturbations intenses, mais rares, telles que le blanchissement et la maladie, à des perturbations chroniques et répétées tels que la prédation et la compétition. Cependant, les perturbations chroniques entraînent probablement la plupart des mortalités post-implantation et constituent donc de sérieux obstacles à la récupération des récifs. Les récifs des

Caraïbes illustrent parfaitement ce propos, avec des taux de récupération plus faibles que les récifs de l'Indo-Pacifique en raison d'un taux plus faible de perturbations chroniques chez ces derniers (Connell 1997). Le taux de mortalité des recrues de coraux nouvellement installées est très élevé, car celles-ci sont petites et vulnérables avec des réserves d'énergie limitées (Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2009, 2016a). De plus, leur faible taux de croissance les rend exceptionnellement vulnérables à la compétition avec les autres organismes benthiques (Hughes and Jackson 1985; Edmunds 2000; Vermeij 2006; Arnold and Steneck 2011). La croissance rapide est un avantage adaptatif, car la mortalité diminue fortement une fois qu'un seuil d'échappement de taille a été atteint (Arnold and Steneck 2011; Buenau et al. 2012; Doropoulos et al. 2012b; Gallagher and Doropoulos 2017). Les caractéristiques de l'habitat peuvent également influencer sur la croissance et la survie des coraux (Arnold et Steneck 2011; Doropoulos et al. 2012b, 2016; Ritson -Williams et al. 2016a; Gallagher et Doropoulos 2017). En effet, les algues, les invertébrés encroûtants et les sédiments ont des effets délétères sur les jeunes recrues (Rylandsdam 1983). Les recrues ayant des réserves d'énergie limitées pour investir dans des interactions compétitives sont particulièrement vulnérables lorsqu'elles sont confrontées à une communauté benthique bien développée et à un espace libre limité (Buss and Jackson 1979; Sebens 1982; Connell 1997). Dans les habitats cryptiques, les recrues coralliennes peuvent être rapidement envahies par de nombreux invertébrés benthiques, comme des éponges à croissance rapide, des bryozoaires et des bivalves possédant des propriétés physiques, chimiques et biologiques qui peuvent inhiber la croissance et la survie des coraux (Maida et al. 1995; Vermeij 2005; Pawlik et al. 2007). Dans les zones à forte biomasse algale, les recrues coralliennes subissent une très forte mortalité. Il existe plusieurs mécanismes parmi lesquels les algues peuvent être nocives pour les recrues. Les algues peuvent interférer avec le recrutement larvaire en occupant simplement l'espace disponible (Mumby 2006; Box and Mumby 2007). Le gazon algal à lui seul ainsi que la présence de sédiments peuvent réduire l'implantation des larves dans des expériences de laboratoire (Birrell et al. 2005). Des interactions physiques plus directes, y compris l'ombrage des algues, l'abrasion ou l'empiétement basal, peuvent entraîner une croissance réduite des coraux ou une mortalité accrue (Lirman 2001; McCook et al. 2001). Sur une période de six mois, l'ombrage par l'algue brune *Lobophora variegata* a provoqué une augmentation de 50% de la mortalité des juvéniles d'*Agaricia agaricites* (de moins de 20 mm de diamètre), et la simple présence de *Lobophora variegata* autour du corail a réduit la croissance des juvéniles de 60% (Box et Mumby 2007). Cependant, l'ombrage de *Dictyota pulchella* n'a entraîné aucune mortalité directe, mais a entraîné une diminution de 99 % de la croissance des juvéniles. D'autres études ont déterminé que *L. variegata* (en l'absence de broutage) est un concurrent supérieur aux coraux des Caraïbes, dont *A. agaricites*, *A. lamarcki*, *Meandrina meandrites*, *Mycetophyllia aliciae* et *Stephanocoenia intersepta*, et à au moins une espèce de corail du Pacifique, *Porites cylindrica* (De Ruyter van Steveninck et al. 1988; Jompa and McCook 2003). Les algues n'utilisent pas seulement des mécanismes physiques pour tuer et envahir les coraux adultes et les recrues coralliennes,

elles surpassent également les coraux en utilisant une variété de mécanismes chimiques et microbiens (Edmunds and Carpenter 2001; Lirman 2001; McCook et al. 2001; Nugues et al. 2004; Smith et al. 2006; Vermeij et al. 2009; Diaz-Pulido et al. 2010; Barott and Rohwer 2012). On pense que la réduction du recrutement de coraux dans les récifs dominés par les algues (Edmunds et Carpenter 2001; Birrell et al. 2005) est en partie la conséquence de la mortalité induite chimiquement ou de l'augmentation de la biomasse d'algues servant de réservoirs à bactéries pathogènes pour le corail (Littler and Littler 1997; Nugues et al. 2004). Bak et Borsboom (1984) ont proposé que la réduction des échanges d'eau adjacents aux macro-algues entraîne la mortalité des coraux en augmentant la concentration des composés allélochimiques. Une activité microbienne accrue causée par les exsudats d'algues a été proposée comme mécanisme de compétition (Smith et al. 2006; Vermeij et al. 2009). Kline et al. (2006) ont déterminé que des niveaux élevés de carbone organique dissous, qui peuvent se produire dans des zones de biomasse algale élevée, augmentaient le taux de croissance des microbes vivant dans la couche mucopolysaccharidique des coraux. Ainsi, il est probable que la phase de transition vers une biomasse d'algues élevée diminue le recrutement en réduisant l'implantation larvaire et la survie post-implantation (Hughes and Tanner 2000; Kuffner et al. 2006). Cela s'observe sur les récifs modernes, où la mortalité post-implantation liée aux algues diminue la densité de population des recrues coralliennes. Vermeij (2006) a comparé le recrutement des coraux à Curaçao de 1998 à 2004 à celui de van Moorsel (1989) de 1979 à 1981, en utilisant la même méthode au même endroit. Les taux de recrutement de 1998 à 2004 sur le dessus et dessous des panneaux étaient respectivement 5,16 et 1,14 fois plus faibles qu'en 1979-1981. Les macroalgues avaient remplacé les algues corallines (CCA) en tant qu'occupant dominant de l'espace supérieur, créant un habitat moins propice au recrutement des coraux par rapport aux algues corallines qui avaient dominé le même site environ 20 ans plus tôt. Dans les endroits où le rétablissement des oursins herbivores *Diadema* a réduit l'abondance d'algues, la densité de population de coraux juvéniles a augmenté (Edmunds and Carpenter 2001; Macintyre et al. 2005). Bien que l'herbivorie améliore généralement le potentiel de recrutement en gardant les récifs relativement exempts d'algues, elle peut également être une cause de mortalité pour les coraux nouvellement installés. Les taux de broutage sur les surfaces extérieures exposées des récifs peu profonds sont extrêmement élevés, dépassant des milliers de morsures par mètre carré par jour (Carpenter 1986; Steneck and Dethier 1994; Steneck and Lang 2003). Les morsures, en particulier des poissons-perroquets qui broutent profondément dans les substrats carbonatés, tuent facilement une recrue nouvellement installée. L'oursin herbivore *Diadema antillarum* peut aussi être un agent important de mortalité pour les coraux nouvellement installés lorsqu'il est présent en grande densité (Sammarco and Williams 1982). La mortalité la plus élevée des coraux nouvellement installés est susceptible de se produire sur les surfaces extérieures exposées où les taux de croissance des algues, de broutage des herbivores et de sédimentation sont les plus élevés. Dans les habitats récifaux peu profonds où la croissance des algues et les taux d'herbivorie sont les

plus élevés, le recrutement des coraux est plus important dans les microhabitats cryptiques (Bak and Engel 1979). Par conséquent, l'herbivorie des poissons et invertébrés mobiles peut avoir un impact positif sur la survie des recrues coralliennes en diminuant la couverture des macro-algues, mais peut être également négatif en raison du broutage accidentel ou ciblé des recrues (Traçon et al. 2013; Doropoulos et al. 2016; Mumby et al. 2016; Gallagher and Doropoulos 2017). Les habitats cryptiques peuvent offrir une protection contre les herbivorie, mais en contrepartie, les taux de croissance des recrues seront inférieurs à ceux des habitats exposés qui favorisent la photosynthèse (Babcock et Mundy 1996; Doropoulos et al. 2012b, 2016; Gallagher et Doropoulos 2017).

2.3.2 Croissance post-implantation

D'une manière générale, la mortalité affecte les coraux juvéniles jusqu'à ce qu'ils atteignent un seuil de fuite de taille, ou taille de refuge, au-dessus duquel la mortalité diminue de manière significative (Babcock and Mundy 1996; Doropoulos et al. 2012b; Cruz and Harrison 2017). Ce refuge de taille peut différer d'une espèce à l'autre, mais il tourne aux environs de 5 mm de diamètre ou 3 à 9 mois (Babcock et Mundy 1996; Doropoulos et al. 2012b). De plus, la mortalité des juvéniles après l'implantation varie en fonction de la densité. Une forte densité de juvéniles peut conduire à une prédation plus élevée en attirant les prédateurs (Gallagher et Doropoulos 2017), ou vice versa à une diminution de la prédation en atteignant plus rapidement la taille de refuge (Raymundo et Maypa 2004; Doropoulos et al. 2012b).

Étant donné la vulnérabilité des classes de petite taille, les avantages adaptatifs d'un taux de croissance rapide sont évidents. La survie des recrues coralliennes n'est pas uniquement fonction des attributs du substrat de colonisation, mais aussi de la capacité du corail à résister aux envahissements par les invertébrés et les algues encroûtants voisins (Richmond 1997). À mesure que de nouveaux coraux croissent, leur taux de mortalité diminue (Vermeij and Sandin 2008) et ils sont moins susceptibles d'être envahis par les concurrents (Hughes and Jackson 1985). Souvent, cependant, le faible taux de croissance des coraux nouvellement installés en font une bataille perdue, et la mortalité après l'implantation est généralement élevée (Bak et Engel 1979; Edmunds 2000; Vermeij et Sandin 2008). Même dans un environnement contrôlé, des études en laboratoire ont montré qu'un corail qui reste inférieur à 3 mm de diamètre pendant deux ou trois mois n'a que 20 % de chances de survie (Rylandsdam 1983). Les études sur le terrain font état d'une énorme variance de la mortalité post-implantation. Babcock (1985) a constaté que la survie après l'installation au cours des trois à six premiers mois variait de 16 % à 71 %, tandis que plus récemment Box et Mumby (2007) ont déterminé que le taux de mortalité mensuel estimé pour les *Agaricia agaricites* était de 3,5 % par mois. Les estimations annuelles de survie des coraux juvéniles varient de 0 % à 77 % (Hunte and Wittenberg 1992; Smith 1992; Maida et al. 1994; Edmunds 2000). Différentes espèces de coraux ont des taux de croissance et une capacité de récupération nettement différents après une perturbation (Wakeford et al. 2008 ; Adjeroud et al. 2018). Plus précisément, certains Acroporidés de l'Indo-pacifique (par exemple,

Acropora tenuis) sont extrêmement «herbacés» et sont capables de croître de près de 6 cm en un an et demi (Iwao et al. 2010); cela se traduit par un taux de croissance moyen de 3,2 mm/mois par rapport aux taux de croissance beaucoup plus lents (entre 0,2 et 0,5 mm/mois) signalés pour *Oxypora* sp. (Babcock and Mundy 1996). L'habitat influe également sur les taux de croissance des coraux nouvellement colonisés (Adjeroud et al. 2007b, 2010). Les habitats subcryptiques protègent les recrues coralliennes contre les contraintes et les perturbations courantes sur les surfaces exposées des récifs, mais elles auront invariablement un potentiel de productivité plus faible. Les tailles des recrues de *Platygyra* sp. et *Oxypora* sp. augmentent moins vite dans les dessous cryptiques que sur les surfaces exposées supérieures (d'un quart à la moitié pour les deux espèces, respectivement ; Babcock et Mundy 1996). Il est toutefois important de noter que les nouvelles recrues qui ont sélectionné des microhabitats subcryptiques ont eu un taux de survie plus élevé malgré leur taux de croissance plus lent (Babcock et Mundy 1996). Des recherches récentes sur l'influence de la microstructure des récifs sur le recrutement corallien ont montré que les refuges physiques améliorent considérablement le recrutement et la survie après implantation (Brock et al. 1979; Nozawa 2008; Doropoulos et al. 2016). Gallagher et Douropulos (2016) ont constaté que la mortalité des coraux était considérablement retardée dans les crevasses complètes (à quatre côtés) par rapport aux microhabitats exposés ou crevasses partielles (à trois côtés). En revanche, *Porites lobata* a survécu à l'expérience entière (jusqu'à 29 jours), quel que soit l'habitat, avec une survie élevée dans les crevasses complètes (90 %) et partielles (70%), mais seulement 28 % de survie dans les microhabitats exposés. Ces résultats réitèrent l'importance des crevasses et des refuges contre les prédateurs pour les coraux juvéniles et mettent en évidence l'importance de la complexité structurelle et des espèces dans la survie et la croissance des coraux juvéniles.

3. Interactions entre coraux et algues corallines

Avec les coraux scléactiniaires, les algues corallines encroûtantes (CCA) de la famille des Corallinacea figurent parmi les principaux bâtisseurs et de puits naturels de carbone dans les récifs tropicaux (Weiss et al. 2017). Elles peuvent jouer un rôle important dans les communautés benthiques en guidant la colonisation de nombreux organismes qui forment des habitats ou qui ont une importance écologique, y compris les coraux. Cependant, la capacité des CCA à induire l'implantation des coraux et à favoriser le recrutement corallien n'est pas omniprésent chez toutes les espèces. Les coraux préfèrent certaines espèces de CCA (Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2009, 2016a; Price 2010). Ces préférences démontrent la capacité des larves coralliennes à faire la distinction entre les espèces de CCA et posent un questionnement sur les mécanismes sous-jacents. Les CCA ont souvent été négligées ou intentionnellement ignorées par les scientifiques spécialistes des récifs coralliens. Leurs structures reproductives et végétatives

fournissent les caractères anatomiques essentiels utilisés en taxonomie, mais créent également des obstacles majeurs pour les chercheurs qui ont recouru à des techniques fastidieuses de décalcification et de coupes histologiques au microtome pour identifier les espèces (Littler and Littler 2013).

3.1 Écologie des algues corallines (ou « CCA »)

Les CCA sont des algues rouges (Rhodophyta), caractérisées par un thalle qui est pierreux en raison de la présence de calcaire dans et entre les parois cellulaires. Les vastes dépôts cristallins de glucides calciques (calcite) fournissent une histoire géologique des récifs et un excellent registre fossile. Ces algues sont généralement de couleur rose ou rouge, mais des variations de couleur allant du violet, bleu, gris vert au brun existent. Les corallines figurent parmi les principaux constructeurs de récifs dans les écosystèmes coralliens. Ce sont exclusivement des algues marines et elles se rencontrent dans tous les océans du monde, étroitement liées aux substrats par adhérence cellulaire ou en forme de branches. De nombreuses corallines sont épiphytes (sur d'autres plantes) ou épizoïques (sur les animaux), et certaines sont même des parasites endophytes d'autres corallines. Elles se rencontrent des régions polaires aux régions tropicales, atteignant leur plus grande diversité dans les récifs tropicaux. Les algues corallines occupent toute une gamme de profondeur habitée par des organismes photosynthétiques, des régions intertidales supérieures à des profondeurs pouvant atteindre 295 m (Littler et Littler, 2013). Les algues corallines des eaux profondes sont mal connues. La distribution très large des algues corallines souligne leur grande contribution à la productivité, au réseau trophique marin, à la sédimentologie et à la biogénèse des récifs dans les mers tropicales (Littler et al. 1985; Steneck 1986). La diversité des formes de CCA est étonnante, allant des petits brins filamenteux à de grandes plaques encroûtantes sur les platiers coralliens. De nombreuses espèces ont tendance à être des taxons à croissance lente, mais compétitive qui sont abondants dans la plupart des systèmes récifaux grâce à leur résistance à l'herbivorie. Les CCA sont considérées comme des indicateurs de bonne santé des récifs. Elles sont fonctionnellement résilientes et capables d'accélérer la récupération et la restauration des récifs coralliens en favorisant le recrutement corallien. À l'opposé, les deux autres groupes d'indicateurs fonctionnels, le gazon algal et les macroalgues ont tendance à inhiber le recrutement corallien et le rétablissement des coraux. Étant donné que les couches superficielles supérieures de nombreuses CCA se détachent continuellement, leurs surfaces sont propres et inhibent physiquement la colonisation du gazon algal et des macroalgues sur les récifs coralliens (Keats et al. 1997; Littler and Littler 2013). Dans les régions tropicales, les CCA construisent des crêtes algales (Steneck et al. 1997) et contribuent considérablement à la productivité primaire sur les récifs (Chisholm 2003). Certaines espèces de CCA induisent la métamorphose et la colonisation des coraux de récif (Harrington et al. 2004), tandis que d'autres espèces peuvent inhiber la colonisation des coraux (Ritson-Williams et al. 2009). Malgré leur omniprésence, la taxonomie, la biologie et l'écologie des algues corallines restent mal comprises, et elles sont souvent négligées ou intentionnellement ignorées par les scientifiques des récifs coralliens (Littler et Littler 2013). La

taxonomie des algues corallines est en constante évolution, ce qui entrave les progrès des études écologiques. Des estimations antérieures de 31 à 34 genres, comprenant 500 espèces (Steneck 1986), ont changé et continueront de changer à la lumière des schémas phylogénétiques en évolution rapide basés sur la génétique moléculaire (Bittner et al. 2011). L'identification sur le terrain des espèces de CCA est particulièrement difficile, car elle nécessite de connaître des caractéristiques anatomiques et morphologiques spécialisées; ce sont aussi des sources de débat parmi les taxonomistes. En conséquence, peu d'études ont décrit l'écologie ou la structure communautaire de ce groupe au niveau des espèces dans les écosystèmes coralliens (Steneck 1986; Daume et al. 1999). Par conséquent, la plupart des études écologiques à ce jour regroupent simplement les CCA en tant que groupe fonctionnel. Cependant, de nombreuses espèces de CCA diffèrent en ce qui concerne leur fonction écosystémique et leur sensibilité aux gradients environnementaux (Littler and Littler 2013; Dean et al. 2015).

3.2 Interaction entre les algues corallines et les coraux

L'un des thèmes récurrents de l'écologie marine a été la tendance à sous-estimer la capacité des larves pour influencer leur sort (Young and Chia 1981); cependant, des recherches récentes suggèrent que la sélection de l'habitat par les larves au moment de l'implantation a une forte influence sur la survie post-implantation et la distribution des adultes (Mundy and Babcock 1998; Baird et al. 2003). Les surfaces vivantes d'algues corallines peuvent aider à la survie des recrues en excluant les autres compétiteurs pour l'espace et en offrant une protection contre les sédiments piégés dans le gazon algal (Babcock and Mundy 1996; Ruiz-Zárata et al. 2000). La pertinence d'un substrat en tant que site d'implantation est cependant principalement déterminée par les propriétés de surface biologiques du substrat (Morse et al. 1988; Johnson et al. 1997; Raimondi and Morse 2000; Baird and Morse 2004).

L'implantation et la métamorphose de nombreux coraux scléactiniaires sont induits par des substances biochimiques externes (morphogènes) associées aux CCA vivantes (Morse et al. 1988; Morse and Morse 1996; Heyward and Negri 1999). Ces morphogènes ont été identifiés comme des polysaccharides liés à la paroi cellulaire (Morse and Morse 1991). Bien que de nombreuses espèces de CCA sont capables d'induire la métamorphose en laboratoire, chaque espèce a des caractéristiques spécifiques qui peuvent influencer sa pertinence écologique dans la sélection de l'habitat par les larves en milieu naturel. Les larves du corail "couveur" *Agaricia humilis* ont montré des préférences spécifiques parmi cinq espèces non identifiées de CCA lors d'expériences en laboratoire (Morse et al. 1988). Des recherches ultérieures ont montré que l'implantation larvaire de cette espèce était associée à l'espèce dominante de CCA *Hydrolithon boergensii* (Raimondi and Morse 2000). Une étude sur le terrain dans la Grande Barrière de Corail Australienne (GBR) a démontré une préférence chez les coraux émetteurs à recruter sur l'algue coralline *Titanoderma prototypum* 15 fois plus élevée que sur la CCA la moins préférée *Neogoniolithon fosliei* (Harrington et al. 2004). De plus, l'observation sur le terrain d'une grande abondance de recrues associées

avec *T. prototypum* suggère que cette espèce pourrait jouer un rôle essentiel dans la facilitation de recrutement des coraux sur la GBR (Harrington et al. 2004). Si les larves de corail peuvent être amenées à s'implanter à cause de certaines propriétés des substrats, une mortalité importante des recrues peut être causée par les défenses actives des CCA. La possibilité que les CCA jouent un rôle négatif dans le recrutement des coraux en augmentant la mortalité post-implantation et en réduisant les taux de croissance des recrues coralliennes a rarement été étudiée. De nombreuses espèces de CCA éliminent les organismes nouvellement installés en éliminant les cellules épithéliales (phénomène de « sloughing »; Keats et al. 1997). La surcroissance (anglais : overgrowth) est également une stratégie importante d'interférence dans la compétition pour l'espace entre les organismes sessiles (Sebens 1982, 1986; Airoidi 2000). Les CCA avec une surface calcaire épaisse et à croissance latérale rapide peuvent facilement envahir les coraux nouvellement installés (Maida et al. 1994; Dunstan and Johnson 1998), et même les coraux adultes établis (Antonius 2001). La défense chimique, en particulier l'allélopathie, est une troisième stratégie « antifouling » répandue utilisée par de nombreux organismes sessiles (Maida et al. 1995; Suzuki et al. 1998). Bien que les propriétés chimiques soient connues pour induire l'implantation et la métamorphose des larves de corail sur les CCA, la nature potentiellement allélopathique de certains de leurs métabolites n'a jusqu'à présent reçu que peu d'attention. Harrington et al. (2004) ont montré que les taux d'implantation des larves, la survie post-implantation et la sensibilité des larves aux extraits chimiques de CCA étaient tous positivement corrélés entre les cinq espèces de CCA qu'ils ont examinées. Ils ont conclu que le fait que seules quelques espèces de CCA (notamment *T. prototypum* qui est une espèce peu abondante) facilitent le recrutement des coraux a des implications importantes pour la structuration des communautés récifales. D'autant plus que l'espèce beaucoup plus abondante, *Porolithon onkodes*, inhibe à la fois l'implantation et le recrutement (Price 2010).

L'importance des algues corallines pour le recrutement des coraux a suscité un regain d'intérêt avec des études montrant que si certaines espèces de CCA sont activement évitées par les larves de coraux, d'autres espèces de CCA fournissent un excellent substrat d'implantation et augmentent la survie des recrues de corail chez de nombreuses espèces. De plus, ces études ont montré que les stimuli d'implantation produits par le CCA peuvent être variés, c.-à-d., chimiques, physiques et microbiologiques. La nature et l'importance de ces stimuli spécifiques sont encore débattues et on sait peu de choses sur la façon dont ils interagissent (Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2009, 2016a; Sneed et al. 2014; Tebben et al. 2015; Gomez-Lemos et al. 2018).

3.3 Mécanismes d'interaction Corail-CCA

Jusqu'à présent, deux mécanismes de facilitation de l'implantation des larves de corail par les CCA ont été proposés. 1) Le premier se traduit par l'implantation de larves coralliennes en réponse aux biofilms microbiens qui se trouvent à la surface des CCA (Negri et al. 2001; Webster et al. 2004; Tebben et al. 2011; Sneed et al. 2014) (Fig. 1.5a). Certains de ces composés bactériens ont été identifiés et, isolés, ces souches

étaient capables d'induire l'implantation des larves en l'absence de CCA (Tebben et al. 2011; Sneed et al. 2014; Webster 2004). Le tétrabromopyrrole (TBP) isolé de la bactérie du biofilm *Pseudoalteromonas* sp. induit une métamorphose rapide chez certaines espèces, mais n'est pas toujours précédé d'attachement au substrat. La larve métamorphosée reste alors dans la colonne d'eau sans substrat sur lequel grandir et former une recrue. De plus le composé est relativement instable (Tebben et al. 2011; Sneed et al. 2014). De même, le peptide de signalisation neuroactive GLW-amide induit la métamorphose des larves d'Acroporidés et peut être facilement synthétisé, mais l'attachement permanent des larves n'est pas toujours réalisé (Erwin and Szmant 2010; Iwao et al. 2010; Tebben et al. 2015). De plus, les CCA ont des communautés microbiennes associées spécifiques aux espèces (Webster et al. 2004, 2011; Sharp et al. 2015; Cornwall et al. 2019; Quinlan et al. 2019). Ces communautés n'influencent pas toujours positivement l'implantation des larves. Les exsudats de certaines espèces de CCA facilitent les clades bactériens qui ont été associés aux maladies coralliennes (Sneed et al. 2015; Quinlan et al. 2019).

2) Le second mécanisme propose que l'implantation des larves soit induite par le contact avec des composés non polaires, qui sont présents dans les parois cellulaires des thalles de certaines espèces de CCA (Fig. 1.5b). Plusieurs composés inducteurs ont été décrits : un glycosaminoglycane sulfaté (Morse and Morse 1991), un macrodiolide (Kitamura et al. 2009) et des mélanges d'un dérivé de bromotyrosine et de caroténoïdes (Kitamura et al. 2007). Tebben et al. (2015) ont identifié deux classes de ces métabolites, les glycolipides et les polysaccharides comme principales composantes des fractions inductrices de l'implantation. Jusqu'à présent, aucun autre composé chimique n'a été caractérisé et la reconnaissance chimique du CCA par les larves de corail reste encore largement inexplorée.

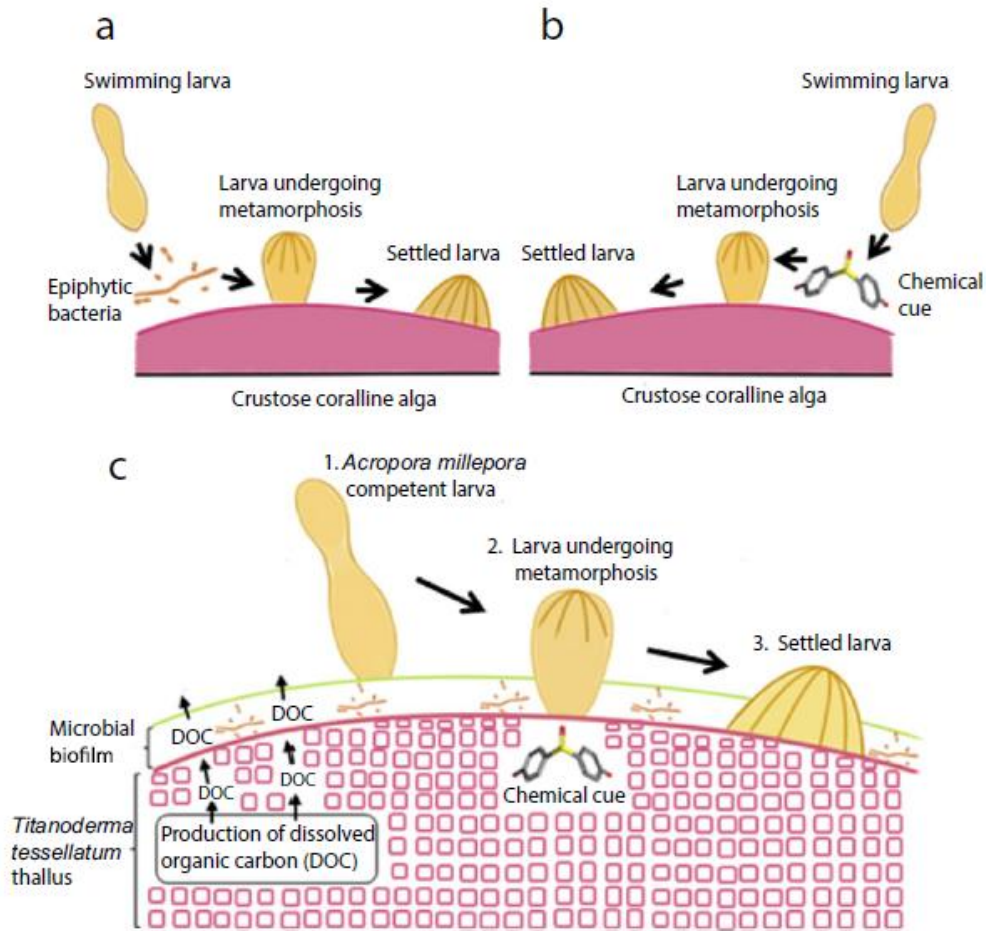


Figure 1.5: Différents mécanismes proposés pour l'induction de l'implantation des larves de coraux par les algues corallines ou CCA. (a) Implantation larvaire induite par les bactéries épiphytes des CCA (comme proposé par Negri et al.2001, Tebben et al. 2011, Sneed et al.2014, Webster 2004). (b) Implantation larvaire induite par les CCA morphogènes (comme proposé par Morse and Morse 1996, Morse et al. 1988, Tebben 2015, Kitamura et al. 2009). (c) Implantation larvaire résultant d'une interaction synergique entre les composés chimiques (c.-à-d. les morphogènes) et les biofilms microbiologiques épiphytes des CCA, comme proposé par Gomez-Lemos et al. (2018). (1) Initialement, la larve (*Acropora millepora*) détecte le biofilm microbien épiphyte. L'effet positif des bactéries associées au CCA sur l'implantation d'*A. millepora* est contrôlé par la libération de métabolites primaires (carbone organique dissous - DOC) par la CCA (*Titanoderma cf. tessellatum*) dans la colonne d'eau. (2) Deuxièmement, la larve subit une métamorphose après avoir établi un contact direct avec la surface de la CCA; cela étant, le signal d'implantation produit par la CCA est lié au thalle algal et est apolaire. (3) Enfin, la larve s'installe à la surface de la CCA (Gomez- Lemos et al. 2018).

Cependant, ces deux mécanismes ne doivent pas être mutuellement exclusifs; l'implantation des larves pourrait être due à une interaction entre les communautés microbiennes associées aux CCA et les métabolites de surface de l'algue. Cette hypothèse est soutenue une étude récente sur une interaction modèle entre la CCA *T. prototypum* et le corail *A. millepora*. (Gomez-Lemos et al. 2018). Cette étude suggère que l'implantation des larves est la résultante d'une communication biochimique complexe entre la CCA, leur communauté microbienne associée et le corail (Fig. 1.5c).

4. Recrutement des coraux dans un environnement changeant

Les récifs coralliens sont confrontés à des défis croissants liés aux activités humaines. Leur recouvrement a diminué d'au moins 50% au cours des 30 à 50 dernières années dans la plupart des régions tropicales (Bruno and Selig 2007; Hughes et al. 2010; De'ath et al. 2012). À une échelle locale, les activités humaines ont fondamentalement changé les côtes, les ressources sont surexploitées et les eaux côtières polluées, au point que de nombreux écosystèmes de récifs coralliens se dégradent rapidement (Pandolfi et al. 2003; Jackson et al. 2014; Hoegh-Guldberg et al. 2017). Ces impacts sont susceptibles d'interagir avec le réchauffement et l'acidification des océans, qui posent à eux seuls des risques croissants et graves pour les écosystèmes coralliens à une échelle globale. L'impact direct de ces changements sur les récifs coralliens s'est accru depuis le début des années 1980 (Hoegh-Guldberg et al. 2007; Eakin et al. 2010; Gattuso et al. 2014). Ces derniers sont le résultat direct de la combustion d'énergies fossiles et ont entraîné des impacts croissants sur les récifs coralliens depuis le début des années 1980. Comprendre et résoudre les menaces locales et mondiales sur les récifs coralliens sont d'une importance cruciale s'ils veulent survivre à un des plus rapides changements environnementaux de l'histoire récente de la Terre (Hönisch et al. 2012; Pörtner et al. 2014).

4.1 Température

Les récifs coralliens tropicaux dépendent largement des changements physiques et chimiques qui se produisent à la surface de l'océan (Eakin et al. 2010). Les températures moyennes de la surface de la mer (SST) des océans Indien, Atlantique et Pacifique ont augmenté de 0,65, 0,41 et 0,31°C entre 1950 et 2009 (Hoegh-Guldberg 2014). La symbiose entre les coraux et *Symbiodinium* est très sensible aux changements de l'environnement physique et chimique. Des périodes de températures et/ou de lumière élevées ou basses peuvent entraîner la rupture de la symbiose. Les symbiotes bruns sont évacués ou meurent à l'intérieur de l'hôte, laissant apparaître le squelette calcaire sous-jacent (d'où le «blanchissement») de l'hôte corallien (Hoegh-Guldberg 1999). Ce blanchissement est réversible si les conditions anormales ne durent pendant trop longtemps. Alors que le blanchissement des coraux est connu à l'échelle de quelques colonies depuis plus d'un siècle (Yonge 1931), les événements de blanchissement à une grande échelle géographique étaient eux inconnus de la littérature scientifique jusqu'en 1979. Depuis le début des années 1980, cependant, le blanchissement massif des coraux a touché des récifs et des régions entières, entraînant souvent une mortalité importante. L'absence de rapports scientifiques antérieurs à 1979, la relation étroite entre le blanchissement et la température élevée de la mer et de nombreuses études en laboratoire et en mésocosmes soutiennent fortement la conclusion selon laquelle le blanchissement et la mortalité de masse des coraux sont des phénomènes récents liés à la hausse des températures de l'eau de mer (Hoegh-Guldberg and Smith 1989; Glynn 1993; Hoegh-Guldberg 1999, 2014; Glynn et al. 2001; Hoegh-Guldberg et al.

2007, 2017; Baker et al. 2008; Eakin et al. 2010; Strong et al. 2011; Gattuso et al. 2014). Le blanchissement et la mortalité de masse des coraux peuvent être déclenchés par de légères augmentations des SST (1–2 °C) supérieures aux maxima d'été sur plusieurs semaines (Strong et al. 2011). Si les températures sont plus élevées pendant une durée plus longue, le blanchissement sera plus étendu et plus intense, entraînant une mortalité accrue (Hoegh-Guldberg 1999; Hoegh-Guldberg et al. 2007; Eakin et al. 2010). Il existe un lien étroit entre la hausse et la durée des températures extrêmes et le blanchissement et la mortalité massive des coraux (Hoegh-Guldberg 1999; Strong et al. 2011; Eakin et al. 2010). La perte des symbiotes des tissus coralliens cause une perte d'énergie issue de la photosynthèse et peut conduire à la famine, la maladie, l'échec de la reproduction et à une perte de capacité compétitive par rapport à d'autres organismes sur les récifs coralliens (Hoegh-Guldberg and Smith 1989; Glynn 1993; Hoegh-Guldberg 1999; Baker et al. 2008; Glynn and Manzello 2015 ; Hoegh-Guldberg et al. 2014, 2017).

Il a également été démontré que des températures plus élevées de l'eau de mer nuisent à l'approvisionnement larvaire et au recrutement des coraux en réduisant les taux de fertilisation, en retardant le développement embryonnaire et en modifiant le comportement des larves (Bassim et al. 2002; Bassim and Sammarco 2003; Negri et al. 2007; Randall and Szmant 2009a). Aux stades de l'implantation, l'augmentation de la température a été liée à des taux d'implantation réduits en provoquant un stress oxydatif et une diminution de l'énergie des larves (Edmunds et al. 2001; Ritson-Williams et al. 2016b). Les changements de température de l'eau de mer peuvent également perturber les mécanismes écologiques. Par exemple, dans le cas de températures élevées (soit des eaux à une température de 2 à 4°C au-dessus des températures moyennes maximale), la composition des communautés microbiennes à la surface de la CCA *Neogoniolithon fosliei* est modifiée, ainsi que sa capacité à induire la métamorphose des larves (Webster et al. 2011).

4.2 L'acidification des océans

Au cours des 100 dernières années, des changements se sont également produits au niveau du pH des eaux de surface des océans, un phénomène appelé acidification des océans (Kleypas et al. 1999; Caldeira and Wickett 2003; Gattuso et al. 2014). Lorsque le CO₂ pénètre dans l'océan, il réagit avec l'eau en augmentant la concentration en ions hydrogènes (diminuant ainsi le pH de l'océan) et en diminuant la concentration en ions carbonatés. Bien que la variation globale du pH de l'océan semble faible (0,1 unité de pH au cours des 150 dernières années), il s'agit en fait d'une augmentation de 26% de la concentration des ions hydrogènes. Des expériences montrent qu'une réduction des ions carbonatés peut avoir des effets biologiques considérables, car elle peut affecter la vitesse à laquelle les organismes marins, tels que les coraux, construisent leur squelette calcaire (Kroeker et al. 2013).

Des études récentes montrent que les algues corallines sont encore plus vulnérables à l'acidification des océans que les coraux en raison de leur squelette en calcite à haute teneur en magnésium. Le taux de

croissance et l'épaisseur du thalle sont directement liés à la teneur en carbonate de calcium (CaCO_3) et au taux de calcification. Il n'est donc pas surprenant que l'acidification des océans affecte les interactions écologiques par des effets sur la croissance (Gao et al. 1993; Martin and Gattuso 2009; Ries et al. 2009; Ragazzola et al. 2012, 2013; Egilsdottir et al. 2013; Noisette et al. 2013; Kato et al. 2014; Cornwall et al. 2017) et la morphologie (Ragazzola et al. 2012, 2013; Kato et al. 2014; McCoy and Ragazzola 2014), car la production de CaCO_3 devient plus coûteuse. Des exemples de ces effets incluent les interactions compétitives modifiées entre les algues corallines (McCoy and Pfister 2014), entre les algues corallines et les algues non calcifiées (Jokiel et al. 2008; Kuffner et al. 2008; Porzio et al. 2011; Kroeker et al. 2013), et entre les algues corallines et les brouteurs (McCoy and Pfister 2014). Un environnement riche en CO_2 affecte la dynamique écologique entre les organismes calcifiés et non calcifiés, car le coût énergétique de la calcification est augmenté. Il a été démontré qu'une acidité élevée favorise le recrutement des algues non calcifiées par rapport aux algues coralliennes (Kuffner et al. 2008; Kroeker et al. 2013), ce qui affecte la compétition entre ces deux groupes fonctionnels. Les algues non calcifiées peuvent bénéficier d'une disponibilité élevée en bicarbonate (HCO_3^-) pour une croissance photosynthétique plus rapide sans aucune réponse négative des tissus calcifiés à des états de saturation en CaCO_3 inférieurs au contraire des algues corallines (Jokiel et al. 2008; Kuffner et al. 2008; Porzio et al. 2011; Kroeker et al. 2013). Ce mécanisme affectera également les interactions entre les algues coralliennes et les algues non calcifiées épiphytes. Les principaux mécanismes de contrôle des épiphytes impliquent le fouling ou le broutage, qui provoquent tous deux une perte de croissance et sont susceptibles de devenir énergétiquement plus coûteux à mesure que l'acidification se poursuit.

Le rôle écologique des CCA en tant que stimuli du recrutement pour de nombreux invertébrés marins, y compris les coraux, sera également affecté par ce changement des conditions de l'environnement. Webster et al. (2013) ont montré que les communautés microbiennes associées de plusieurs espèces de CCA sont affectées par un pH réduit. Ils ont constaté qu'une augmentation de la pression partielle de gaz carbonique ($p\text{CO}_2$) entraîne un changement dans la composition de la communauté microbienne des CCA et réduit l'implantation des larves de corail dans les conditions d'acidification des océans prévues d'ici à 2100. Dans une autre étude, les larves du corail *Acropora millepora* voient leur préférence de substrats modifiée avec la hausse de $p\text{CO}_2$ (Doropoulos et al. 2012). Il a été suggéré que l'acidification des océans peut perturber les interactions écologiques entre les larves de corail et les CCA durant le processus d'implantation en modifiant les stimuli chimiques et/ou microbiens associés aux thalles des algues (Doropoulos and Diaz-Pulido 2013). Ce type d'impacts sur les interactions entre espèces commence tout juste à être démontré expérimentalement (Connell and Russell 2010; Dixson et al. 2010; Diaz-Pulido et al. 2011), mettant en évidence les effets considérables des perturbations locales et globales sur le potentiel de rétablissement des écosystèmes marins (Penin et al. 2010b ; Trajon et al. 2011; Doropoulos et al. 2012a ; Adjeroud et al. 2007a, 2009, 2018).

4.3 Oxygène

L'oxygène est un élément capital pour le vivant. Il est nécessaire au bon fonctionnement et à la santé des écosystèmes coralliens, et la dynamique des récifs coralliens ne peut être appréhendée sans comprendre le rôle de l'oxygène (Altieri and Gedan 2015; Nelson and Altieri 2019). Il a récemment été nommé comme la monnaie universelle des récifs coralliens, car il est produit par les organismes photosynthétiques tels que les coraux et les algues, consommés par presque toutes les espèces, échangés entre mutualistes et consommés par les compétiteurs et les maladies (Nelson and Altieri 2019). Cependant, la recherche sur les moteurs de la dégradation et du déclin des récifs coralliens tropicaux s'est jusqu'à présent principalement concentrée sur les températures élevées de l'océan, l'acidification des océans, l'eutrophisation et la surpêche (Pandolfi et al. 2003; Bruno et al. 2007; Hoegh-Guldberg et al. 2007; Mumby and Steneck 2008; Jackson et al. 2014; McCauley et al. 2015). Ce n'est que récemment que les faibles niveaux d'oxygène dissous (hypoxie) ont retenu l'attention (Mumby and Steneck 2008; Vaquer-Sunyer and Duarte 2008; Diaz and Breitburg 2009; Wangpraseurt et al. 2012; Côte and Knowlton 2013; Jorissen et al. 2016; Altieri et al. 2017; Nelson and Altieri 2019).

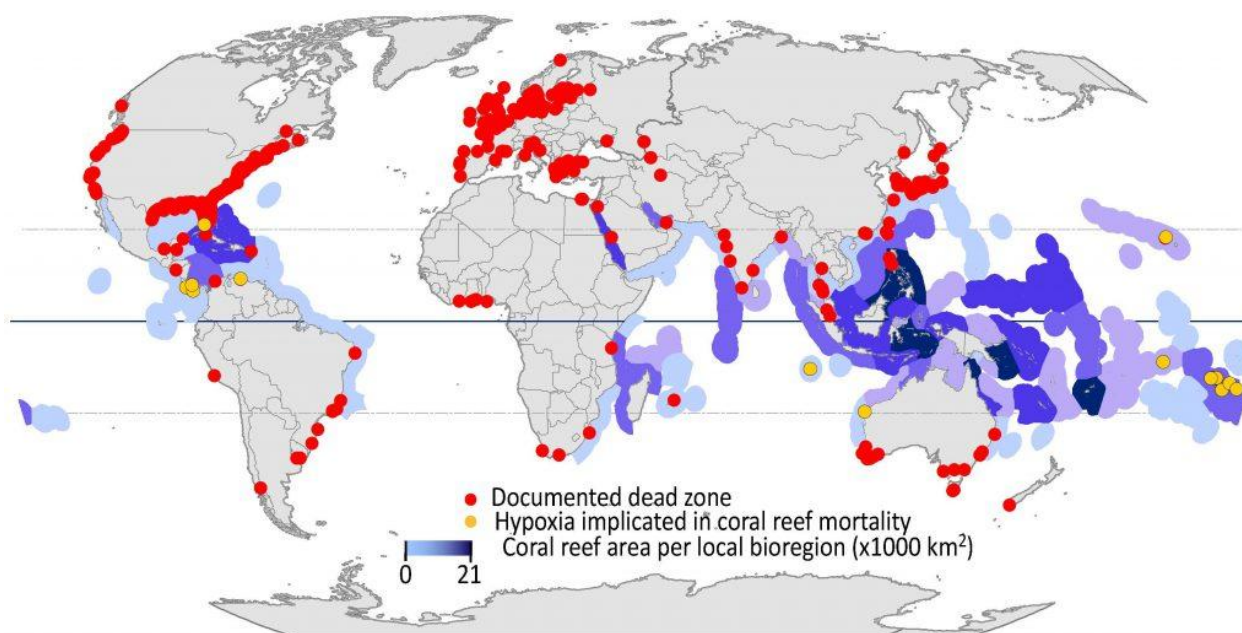


Figure 1.6: Carte des écosystèmes hypoxiques connus (en rouge), avec des événements de mortalité sur les récifs coralliens indiqués en jaune (Altieri et al. 2017).

Une analyse des bases de données mondiales par Altieri et al. (2017) a mis en évidence que plus de 10 % de tous les récifs coralliens sont à risque d'événements de mortalité liés à l'hypoxie et que, selon toute probabilité, ces événements sur les récifs coralliens tropicaux sont sous-estimés (Fig. 1.6). La mortalité liée à

l'hypoxie sur les récifs coralliens se produit généralement en raison d'une combinaison de facteurs qui augmentent la demande en oxygène et/ou empêchent la réoxygénation (Nelson and Altieri 2019). Ces facteurs comprennent les « spawn slicks » ou « marée de gamètes » de corail (Hobbs and Macrae 2012; Andréfouët et al. 2015), l'excès de matière organique et de nutriments (Albert et al. 2012; Altieri et al. 2017), et la hausse des températures d'eau de mer (Hobbs and McDonald 2010; Andréfouët et al. 2015; Altieri et al. 2017). Les récents événements de mortalité de masse sur les récifs coralliens associés à l'hypoxie, ainsi qu'une augmentation de la fréquence et de la gravité des zones mortes en raison de leur synergie avec d'autres variables du changement climatique, pointent vers le rôle critique de l'oxygène dans les récifs coralliens et soulignent l'importance de comprendre comment les organismes récifaux réagissent aux environnements pauvres en oxygène (Diaz 2001; Altieri and Gedan 2015; Altieri et al. 2017; Nelson and Altieri 2019).

Les faibles niveaux d'oxygène dissous ont non seulement un impact à grande échelle spatiale, mais peuvent également jouer un rôle clé à plus petite échelle en influençant la distribution et l'abondance des invertébrés marins sessiles (Ferguson et al. 2013). Par exemple, il peut être une ressource principalement limitant, utilisée et exploitée dans la compétition entre les organismes benthiques, comme dans les interactions entre les coraux et les algues à une échelle du micro au millimètre (Barott and Rohwer 2012; Ferguson et al. 2013; Gregg et al. 2013; Jorissen et al. 2016).

Il n'y a que deux options pour les organismes vivants sur les récifs coralliens pour éviter les environnements pauvres en oxygène. Ils doivent soit y faire face, soit éviter ces conditions. Pour les animaux mobiles tels que les poissons et le zooplancton, cela signifie nager verticalement dans la colonne d'eau vers des environnements plus riches en oxygène (Ludsin et al. 2009; Teuber et al. 2013; Schlaff et al. 2014). Cependant, l'option d'éviter les environnements stressants à faible teneur en oxygène n'est pas possible pour les organismes marins sessiles, tels que les coraux fixés, pour lesquels l'oxygène est un moteur critique direct et indirect pour nombreux processus physiologiques, tels que la respiration, la photosynthèse et la calcification (Yonge 1931; Gardella and Edmunds 1999; Finelli et al. 2006; Colombo-Pallotta et al. 2010; Wijgerde et al. 2012, 2014).

Les coraux adultes ont des stratégies d'adaptation lorsqu'ils rencontrent des périodes d'hypoxie, comme passer des voies métaboliques aérobies aux voies anaérobies (Vaquer-Sunyer and Duarte 2008). Cependant, ce n'est qu'une solution temporaire et celle-ci nécessite une période de récupération par la suite (Murphy and Richmond 2016). Chez les coraux, la phase larvaire est la seule occasion d'éviter les environnements pauvres en oxygène. Les larves de corail sont de faibles nageurs et dépendent principalement des courants océaniques pour se disperser sur de longues distances (Szmant and Meadows 2006; Hata et al. 2017). Cependant, elles ont la possibilité de changer leur position verticale dans la colonne d'eau, de descendre pour explorer le substrat et éventuellement de se fixer, ou de nager afin d'être

transportées par les courants océaniques (Szmant and Meadows 2006). En effet, de nombreuses larves d'invertébrés marins, y compris des larves de corail, utilisent des signaux chimiques et physiques pour diriger leur comportement de nage verticale et augmenter leur probabilité de rencontrer des substrats de fixation appropriés (Raimondi and Morse 2000; Gleason et al. 2006, 2009; Szmant and Meadows 2006; Ritson-Williams et al. 2009; Lagos et al. 2015; Da-Anoy et al. 2017). Cependant, les effets de l'oxygène sur le comportement et l'implantation des larves de corail n'ont guère été étudiés.

5. Objectifs de la thèse

Les algues corallines ou CCA jouent un rôle important dans les écosystèmes marins en facilitant le recrutement d'organismes écologiquement importants, y compris les coraux. Cependant, la capacité des CCA à induire le recrutement corallien n'est pas omniprésent parmi toutes les espèces de CCA ou de coraux. Les coraux présentent des préférences pour certaines espèces de CCA (Morse et al. 1994; Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2010, 2016a). Ces préférences démontrent la capacité des larves de corail à faire la distinction entre les espèces de CCA et posent la question des mécanismes sous-jacents. À l'heure actuelle, notre compréhension de l'écologie chimique et microbienne des CCA est encore à ses balbutiements. Les quelques études sur le microbiome des CCA montrent une grande diversité de bactéries (Negri et al. 2001; Webster et al. 2004; Tebben et al. 2011; Sneed et al. 2014). Plusieurs produits chimiques ont été isolés et identifiés à partir des CCA et/ou de leur microbiome associé. De nombreux produits chimiques produits par des bactéries épiphytes pourraient avoir un large éventail de fonctions, telles que des activités inhibitrices, cytotoxiques, antibiotiques, antifongiques et protéasomiques (Morse and Morse 1991; Kitamura et al. 2007; Tebben et al. 2015). De plus, seules quelques espèces de CCA, principalement celles qui induisent le recrutement corallien, ont été étudiées. Cependant, il existe une grande variété d'espèces de CCA sur les récifs coralliens. La diversité de leur composition chimique et de leurs communautés microbiennes associées et les implications écologiques de cette diversité pour le recrutement des coraux en particulier sont méconnues. À ce jour, les études portant sur les interactions corail-CCA ont: (i) rarement été menées sur de nombreuses combinaisons d'espèces (ii) ont souvent été menées dans des milieux de laboratoire dépourvus de conditions écologiquement réalistes (iii) ont été en grande partie à court terme (jours à semaines), (iv) ont été souvent effectués sur des substrats artificiels (plaques de recrutement), (v) ont rarement pris en compte la gamme complète des stades de vie des coraux, et (vi) se sont concentrées principalement sur le réchauffement et l'acidification des océans, avec peu de recherches sur l'influence d'autres facteurs abiotiques, tels que l'oxygène. En particulier, peu d'études ont illustré la capacité des larves nageuses à s'orienter dans la colonne d'eau en réponse à des signaux spécifiques, ou la capacité de certaines espèces de CCA à croître sur les recrues coralliennes et à entraîner leur mort.

Dans mon travail de thèse, j'ai essayé de combler ces lacunes dans nos connaissances scientifiques en répondant aux questions suivantes :

- 1) Identifier les espèces de CCA jouant un rôle clé dans le recrutement des coraux et déterminer les médiateurs microbiens et chimiques des interactions corail-CCA en caractérisant les communautés microbiennes et la composition métabolomique des CCA.
- 2) Étudier les effets à long terme de différentes espèces de CCA sur les recrues des coraux, en recherchant si les avantages des CCA pour l'implantation des larves s'étendent à la survie et la croissance des recrues.
- 3) Déterminer si les facteurs de stress environnementaux, tels que l'acidification des océans et l'hypoxie, peuvent impacter l'association corail-CCA en perturbant le comportement des larves de corail et leur implantation sur les espèces de CCA normalement préférées et bénéfiques.

Ces objectifs ont été adressés en alliant plusieurs disciplines (y compris l'écologie comportementale, la microbiologie, l'écologie chimique et la métabolomique) et plusieurs méthodes de recherche (expériences sur le terrain et en laboratoire) pour mieux comprendre le rôle des algues corallines, des microorganismes et des produits chimiques dans la dynamique à petite échelle du recrutement des coraux maintenant et dans les conditions futures de l'environnement marin.

Chapitre 2: Coral larval settlement preferences link with chemical and microbial signatures of crustose coralline algae

Manuscript in preparation for Proceedings of the Royal Society B

Hendrikje Jorissen^{1,*}, Pierre E. Galand², Isabelle Bonnard^{1,3}, Sonora Meiling^{1,4}, Delphine Raviglione¹, Anne-Leila Meistertzheim^{2,5}, Laetitia Hédouin^{1,3}, Bernard Banaigs^{1,3}, Claude E. Payri⁶ and Maggy M. Nugues^{1,3}

¹ EPHE, PSL Research University, UPVD-CNRS, USR3278 CRIOBE, 66860 Perpignan, France

² Observatoire Océanologique de Banyuls, LECOB, 66650 Banyuls-sur-Mer, France

³ Laboratoire d'Excellence « CORAIL », 98729 Papetoai, Moorea, French Polynesia

⁴ University of the Virgin Islands, St Thomas, 00802-6004, Virgin Islands

⁵ Plastic@Sea, 66650 Banyuls-sur-Mer, France

⁶ IRD Nouméa, UMR Entropie, 98848 Nouméa, New Caledonia

*hendrikjejorissen@gmail.com

Résumé

La résilience des récifs coralliens dépend fortement de la capacité de recrutement des coraux après perturbation. Bien que les algues corallines encroûtantes (CCA) soient considérées comme des substrats importants pour l'implantation des coraux, il n'est pas clair si les larves de coraux utilisent les métabolites des CCA et les assemblages microbiens lors du choix des sites d'attachement et de métamorphose. Cette étude a examiné les préférences d'implantation d'une abondante espèce de corail (*Acropora cytherea*) sur six espèces de CCA en laboratoire et a comparé ces préférences avec le métabolome et le microbiome des CCA. Alors que toutes les espèces de CCA ont induit des taux d'implantation totale relativement élevés, une seule espèce (*T. prototypum*) a induit une majorité de larves de coraux à se fixer sur la surface de l'algue, plutôt que sur la roche ou les surfaces inertes à proximité. Cette espèce possédait des communautés bactériennes épiphytes et des empreintes métabolomiques fortement distinctes, soutenant que les larves de coraux utilisent les métabolites des CCA et les assemblages microbiens pour sélectionner les sites d'attachement et de métamorphose. De plus, l'implantation des coraux et le microbiome et métabolome du CCA co-variaient avec l'habitat, ce qui suggère que les microbes et / ou les produits chimiques servent d'indicateurs environnementaux aux larves de coraux. Plusieurs variantes de séquence d'amplicons liées à des bactéries bénéfiques pour la santé des coraux et deux classes de lipides - glyco-glycérolipides et glycérophospholipides - présentes dans *T. prototypum* ont été identifiées comme des indices omiques potentiels influençant l'implantation des coraux.

Abstract

The resilience of coral reefs is highly dependent on the ability of corals to settle after disturbances. While crustose coralline algae (CCA) are considered important substrates for coral settlement, it remains unclear if coral larvae use CCA metabolites and microbial assemblages when selecting sites for attachment and metamorphosis. This study investigated the settlement preferences of an abundant coral species (*Acropora cytherea*) on six CCA species in laboratory assays and compared these preferences with the CCA metabolome and microbiome. While all CCA species induced relatively high rates of total settlement, only one species (*T. prototypum*) induced a majority of coral larvae to settle on the CCA surface, rather than on nearby dead coral or inert surfaces. This species possessed strongly distinct epiphytic bacterial communities and metabolomic fingerprints, supporting that coral larvae use CCA metabolites and microbial assemblages to select sites for attachment and metamorphosis. Furthermore, coral settlement and the CCA microbiome and metabolome co-varied with habitat, suggesting that microbes and/or chemicals serve as environmental indicators for coral larvae. Several amplicon sequence variants related to bacteria beneficial for coral health and two lipid classes - glycoacylglycerolipids and glycerophospholipids - present in *T. prototypum* were identified as potentially omic cues influencing coral settlement.

1. Introduction

Coral reefs are degrading rapidly in response to escalating anthropogenic disturbances (Hughes et al. 2017). While reef-building corals can recover from minor disturbances, the resilience of coral reef ecosystems after major disturbance events is highly dependent on successful coral recruitment (Hughes and Tanner 2000). Corals have a bipartite life history, composed of dispersive larvae and immobile juvenile and adult stages. This pelago-benthic transition is largely irreversible and therefore coral larvae must recruit onto appropriate benthic surfaces to complete their life cycle and contribute to the recovery of damaged reefs (Vermeij and Sandin 2008; Doropoulos et al. 2016). Coral larvae are capable of sensing fine-scale settlement cues when they actively explore the benthos in the search of a suitable settlement substrate (Tran and Hadfield 2013). A variety of physical, biological and chemical cues, ranging from environmental parameters to chemical extracts or bacterial isolates, convey information about the nursery quality of the microhabitat (Ritson-Williams et al. 2009; Gleason and Hofmann 2011). Coral larvae exhibit highly selective responses and even delay or avoid settlement when facing sub-optimal habitats, highlighting the crucial importance of these cues for coral reef communities (Graham et al. 2008).

Crustose coralline algae (CCA) are a group of calcifying red algae commonly found in coral reefs worldwide. They are thought to contribute to reef resilience by acting as highly inductive settlement surfaces for corals (Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2010). However, the specific properties of CCA that induce coral settlement are still highly debated (Tebben et al. 2015; Foster and Gilmour 2016; Gomez-Lemos et al. 2018). Coral settlement cues associated with CCA are primarily of chemical (Morse and Morse 1991; Harrington et al. 2004; Tebben et al. 2015) or microbial (Negri et al. 2001; Tebben et al. 2011; Sneed et al. 2014) origin. Bacterial culturing experiments have identified several CCA surface-associated bacteria capable of inducing coral settlement when offered as monospecies bacterial films (Negri et al. 2001; Siboni et al. 2012, 2014; Sneed et al. 2014). In particular, bacterial isolates within or affiliated with the genus *Pseudoalteromonas* can induce high levels of coral larval metamorphosis and/or attachment (Negri et al. 2001; Tebben et al. 2011; Sneed et al. 2014). However, its inductive capacity is severely reduced when presented in a mixed species biofilm (Tran and Hadfield 2011). To date, the ecological relevance of inductive bacterial isolates in the natural environment remains unclear. Furthermore, these studies are constrained by the limitations of culture-based approaches, which reveal less than 1% of the natural community (Staley and Konopka 1985). Several studies have used culture-independent techniques to examine the bacterial communities associated with CCA. While these studies have shown that CCA species harbour highly diverse and distinct bacterial communities (Sneed et al. 2015; Brodie et al. 2016; Quinlan et al. 2019), coral settlement has never been linked with the microbiome community composition of CCA using the same biological samples.

Coral settlement has been induced by contact with non-polar compounds bound in the cell walls of certain CCA species (Morse and Morse 1991, 1996; Harrington et al. 2004; Kitamura et al. 2007). A morphogen found within purified cell walls of the CCA *Hydrolithon boergesenii* induced settlement in agaricid corals in the Caribbean (Morse and Morse 1991). The molecule was associated with or contained glycosaminoglycan, but was never structurally characterised (Morse and Morse 1991). More recently, two classes of metabolites found in CCA cell walls (glycoglycerolipids and polysaccharides) have been identified as the main components of the coral settlement-inducing fraction (Tebben et al. 2015). While both compound classes were detected in natural samples, they have not been successfully characterized and may form bioactive conformational units that cannot be purified (Tebben et al. 2015). Furthermore, many CCA compounds are produced by epiphytic bacteria and can have a wide range of functions, which range from cytotoxic, antibiotic, antifungal and proteasome inhibitory activities (Kitamura et al. 2007, 2009; Tebben et al. 2011, 2014). However, systematic studies on the metabolomic diversity of CCA species are currently lacking, and information on the microbiome and metabolome of CCA has never been combined to explore the ecological functions of the CCA metabolome and microbiome.

To help us decipher how coral larvae perceive chemical and microbial signals from CCA and their associated surface biofilms, information on the microbiome and metabolome of CCA should be combined and compared with coral settlement preferences. In this study, we took this approach using untargeted metabolomics and culture-independent molecular techniques. We used larvae of the coral species *Acropora cytherea* because this coral genus is one of the most ecologically important coral genera to coral reefs worldwide and larvae of this species settle and metamorphose in response to CCA (Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2010). Larvae were exposed to six CCA species, which occupy different habitats (exposed, subcryptic and cryptic) on the coral reefs of Moorea (French Polynesia). By determining settlement preferences on each CCA species in laboratory assays and comparing this response to their metabolomic fingerprints and bacterial community composition, we tested the following hypotheses: (1) Different CCA species induce different coral settlement preferences. (2) Different CCA species have distinct epiphytic bacterial communities and metabolomic fingerprints. (3) Differences in coral settlement preferences link with differences in epiphytic bacterial communities and metabolomic fingerprints. (4) Coral settlement preferences and CCA microbiome and metabolome vary similarly among habitats. We seek to identify individual amplicon sequence variants (ASVs) and metabolites responsible for these observed differences between CCA species and that may have implications in coral settlement. Finally, microbiome and metabolome data were combined to assess important correlations between ASVs and metabolites.

2. Materials and methods

2.1 Coral collection and larval rearing

Ten *A. cytherea* colonies were collected one day after the new moon in October 2017 from the back reef at ca. 2 m depth on the west coast of the island of Moorea, French Polynesia (17°33'14.4"S 149°53'07.5"W) and transported to the CRIOBE research station (Annex 2). Colonies were kept in aquaria with flow-through sand filtered water and constant aeration and checked each evening at 19 h. When signs of imminent sperm-egg bundle release were observed, they were isolated in 10 L buckets. Bundles from several colonies (n = 8) were collected and mixed. The mixture was distributed over several small plastic containers (500 ml) containing filtered seawater (0.45 µm, FSW) and left to fertilize for 2 h. After rinsing the sperm and confirming fertilization under a dissecting microscope, embryos were kept on an agitator at slow speed, in a 12:12 light:dark regime and within a temperature range of 26-28°C. FSW was changed every 12 h and dead planulae were simultaneously removed with the water changes. Five days following spawning, larvae began actively searching the substrate and were considered competent to settle. The settlement assay was conducted 8 days following spawning in the same temperature controlled room in which the larvae were raised. Thus, water temperature in all treatments ranged between 26-28°C.

2.2 CCA collection

Six CCA species were chosen because they are widespread, easy to identify to species level *in situ*, and differ in habitat characteristics (Annex 1). Three species (*Porolithon onkodes*, *Lithophylum insipidum* and *Lithophylum flavescens*) are most commonly found in areas of the reef that are exposed to high light and offer easy access to grazers. The other three species are more readily encountered in subcryptic (*Neogoniolithon foslei* and *Paragoniolithon conicum*) and cryptic (*Titanoderma prototypum*) habitats, which are lower in light intensity and more protected from grazers. Subcryptic species are typically found in semi-protected habitats on vertical walls or under overhangs, while cryptic species are located in fully protected habitats inside cavities or consolidated rubbles. Twelve specimens (approximately 8 cm² of CCA surface) per species were collected from the same back reef site at ca. 2 m depth on the north coast of Moorea (17°28'47.8"S 149°50'45.3"W) using hammer and chisel. After cleaning of epiphytes, each specimen was cut using pliers to make two fragments: one fragment (approximately 1 cm x 1 cm of CCA surface) immediately used in settlement assays and later preserved for microbial analysis, and one fragment (approximately 4 cm² of CCA surface) immediately stored at -20°C and later freeze-dried and stored at -20°C for metabolome analysis. The remaining of the specimen was examined using a dissecting microscope and verified at species level using anatomically based taxonomic schemes (Gordon et al. 1976; Adey et al. 1982).

2.3 Settlement assay

Larvae were haphazardly removed from various larval containers for use in the settlement assay. 12 larvae were added with 12 ml FSW (0.45 µm) into individual wells (Annex 3). One treatment was added to an individual well, and 12 replicate wells were used. The treatments included FSW only, a 1 cm x 1 cm fragment of aragonite coral frag plugs (Ocean Wonders, IA, USA), and a fragment of one of either six CCA species. Larvae were added at 19:00 and the number of settled larvae that had begun metamorphosis according to the definition of Heyward and Negri (1999) was counted at 9:00 the next day using a dissecting microscope. The substrate on which each larva had settled (i.e. top surface of the CCA itself, underlying limestone rock, or plastic of the well) was also recorded. Immediately after scoring, settled larvae were removed using a sterile dissecting needle, and CCA fragments were placed into individual 1.5ml Eppendorf tubes containing 70% molecular grade EtOH and stored at -80°C until DNA extraction.

2.3.1 Data analyses

Settlement data did not fulfil the conditions of homoscedasticity and thus were analysed using non-parametric Kruskal–Wallis one-way ANOVA on ranks followed by Dunnett post hoc tests.

2.4 Metabolomic sample preparation and liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) analysis

Freeze-dried fragments from four randomly selected specimens per CCA species were processed for metabolome analyses (n = 4 replicates). The upper (~1mm deep) surface of each fragment was scraped and grinded to a powder (approximately 3.0 g per sample) into separate 1 ml glass hemolysis tubes using a file. A 2:1:4 solvent mixture of water, methanol and methyl tert-butyl ether was added to perform a biphasic solid-liquid extraction. The supernatant was separated in an organic phase and a hydroalcoholic phase, after which solvents were evaporated using a Genevac™ EZ-2 centrifugal concentrator. The organic phase was resolubilised in methanol at 1 mg/ml before LC-MS analysis. LC-MS analysis was performed using a UHPLC system (Vanquish Thermo Scientific, MA, USA) interfaced to a Q-TOF mass spectrometer (Maxis, Bruker, Daltonics, MA, USA) with an ESI source. The chromatographic separation was carried out on a Luna Omega 1.6µm Polar C18 100*2,1mm column (Phenomex, CA, USA) with a linear gradient of solvents (H₂O + 1 ‰ formic acid and MeOH/Isopropanol (50/50) + 1 ‰ formic acid). MS spectra were acquired in positive ion mode with full scan MS window of 200-1600 *m/z*, capillary voltage of 3500 V, ion source temperature 200°C, nebuliser gas pressure 35 psi, dry gas flow 8L/min, spectral rate of 3 Hz for MS1 and 10 Hz for MS2. MS/MS fragmentation of the 7 most intense selected ions per spectrum was performed using ramped collision-induced dissociation energy, ranged from 20 eV to 50 eV. Samples were analysed in a blocked design with quality control samples and methanol blanks to minimize any potential bias due to instrumental drift.

2.4.1 Data analyses

All data files were converted to mzXML files with MSConvert (ProteoWizard 3.0). Pre-processing, normalization and quality checks were performed using Workflow4metabolomics version 3.3 (Giacomoni et al. 2015). Processed data were analysed with MetaboAnalyst 3.0 after having been Pareto scaled (i.e., mean-centered and divided by the square root of the standard deviation of each variable) to provide equivalent weight among variables (Xia et al. 2015). Species profiles were compared using principle components analysis (PCA). PERMANOVA followed by pairwise comparisons was run to reveal differences in metabolomics fingerprints between CCA species. Shannon index and number of ions were analysed using one way ANOVAs with species as fixed factors, followed by Tukey posthoc tests. To compare metabolomic richness, ions were classified as 'union' if present in at least one sample of a given species and classified as 'core' if present in all samples of that species. Union and core ions were classified as 'unique' to a species if they were absent in all samples outside that species.

Partial least square discriminant analysis (PLS-DA) was used to find the metabolites that contributed most to the discrimination of *T. prototypum*. To increase the discriminative power of the model, the number of groups was reduced using habitat instead of species as factor. Significance of PLS-DA model was assessed with permutation tests (consisting of 1000 permutations) and leave one out cross-validation (LOOCV). Robustness of PLS-DA model was validated by calculating Q². Variable Importance in Projection (VIP) was used to summarize the importance of each variable (i.e. metabolite) in driving the separation among habitats. Using the exact mass, the molecular formulas were estimated and putative identifications were assessed for the VIPs which were present at significantly higher concentrations in *T. prototypum* (i.e., the cryptic group) relative to the subcryptic and exposed groups. Identifications were strengthened by fragmentation spectra issued from MS/MS analyses and according to literature and databases, including m/z cloud, KEGG, LIPID MAPS, Metlin and MarinLit.

2.5 DNA extraction, amplicon sequencing and sequence analysis

Fragments from the same four specimens used for metabolome analysis were processed for microbiome analysis (n = 4 replicates). DNA extraction followed the protocol of Meistertzheim et al. (2017). Briefly, this protocol starts with a mechanical lysis using a FastPrep Instrument (MP Biomedical, CA, USA) with Y Matrix tubes, followed by a chemical lysis phase by incubation for 1h at 56°C with added proteinase K. DNA was extracted using Maxwell 16 MDx Instrument with the Maxwell Blood DNA Purification Kit LEV (Promega, WI, USA). DNA concentrations were verified using a Victor Spectrofluorimeter (PerkinElmer Inc, Netherlands) with PicoGreen® dsDNA quantitation assays (Thermo Fisher Scientific, MA, USA).

The V1-V3 regions of bacterial 16S rRNA genes were amplified by PCR using bacteria specific primers 27F (AGRGTGGATCMTGGCTCAG) and 519R (GTNTTACNGCGGCKGCTG) with the barcode on the forward primer. Based on their DNA concentrations, samples were pooled in equal proportions and purified using

calibrated Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, CA, USA). Pooled and purified PCR products were then used to prepare a DNA library following the Illumina TruSeq DNA protocol. Using Miseqreagent kit V3 (Illumina), samples were sequenced on the same Miseq Illumina sequencer run (Illumina, CA, United States) to produce a 2 x 300-bp long reads in a commercial laboratory (MR DNA, TX, United States).

Using the *Dada2* pipeline in R (Callahan et al. 2016), the R1 and R2 reads were filtered, trimmed and merged to create an amplicon sequence variant (ASV) table. This is a higher resolution analogue to the traditional OTU table, which records the number of times each exact amplicon sequence variant is observed in each sample. Chimeras were removed and taxonomy was assigned using the SILVA v132 database (Quast et al. 2013). The taxonomic affiliation of ASVs of interest was further verified against sequences from the NCBI database using BLAST. Sequences that belonged to algal chloroplast and mitochondria were removed.

2.5.1 Data analyses

Data were analysed using the R package *vegan* after Hellinger transformation (Oksanen et al. 2012) and using the STAMP software (Parks et al. 2014). Alpha diversity was calculated at the ASV level using the Shannon diversity index and analysed using one way ANOVA with CCA species as fixed factor, followed by TukeyHSD posthoc tests. A non-metric multidimensional scaling ordination (NMDS), based on the Bray-Curtis similarity, was used to visualize community composition between species. PERMANOVA followed by pairwise comparisons was run to reveal differences in bacterial community composition between CCA species at the ASV level. Similarity percentage analysis (SIMPER) was used to determine the ASVs that contributed most to the dissimilarity between CCA species.

2.6 Integration of microbiome and metabolome data

Microbiome and metabolomics datasets were integrated using the DIABLO method in the R package *mixOmics* (Rohart et al. 2017). DIABLO (Data Integration Analysis for Biomarker discovery using a Latent component method for Omics studies) identifies correlated key omics variables in multiple matching datasets measured on the same biological samples (Singh et al. 2019). Briefly, it generalises PLS for several datasets (blocks) to identify variables that are correlated between several datasets and discriminate between groups of samples (i.e., here CCA species). Each block is summarized by a set of components, which lead to their own predictions when combined. When the first and second pair of components are highly positively correlated, the DIABLO model is able to highlight correlations between variables from the different datasets (Hervé et al. 2018). The first 100 ASVs and 100 metabolites separating the different CCA species were used to identify correlations between ASVs and metabolites. Correlations (using a cutoff $r \geq 0.9$) were illustrated with a circos plot also showing the level of expression of each variable for each CCA species. Finally, a clustered heatmap was constructed based on Euclidian distance and ordered through unsupervised clustering of both samples and compounds simultaneously.

3. Results

3.1 Settlement assay

The larvae of *A. cytherea* had different rates of total settlement in response to the treatments (Fig. 2.1a; ESM Table S1; Kruskal-Wallis $H_7 = 59.85$, $p < 0.001$). Hardly any larvae settled in the two controls. However, rates of total settlement were relatively high on all CCA species. Rates of total settlement were highest on *Po. onkodes*, lowest on *N. foslei*, and intermediate on the four other species.

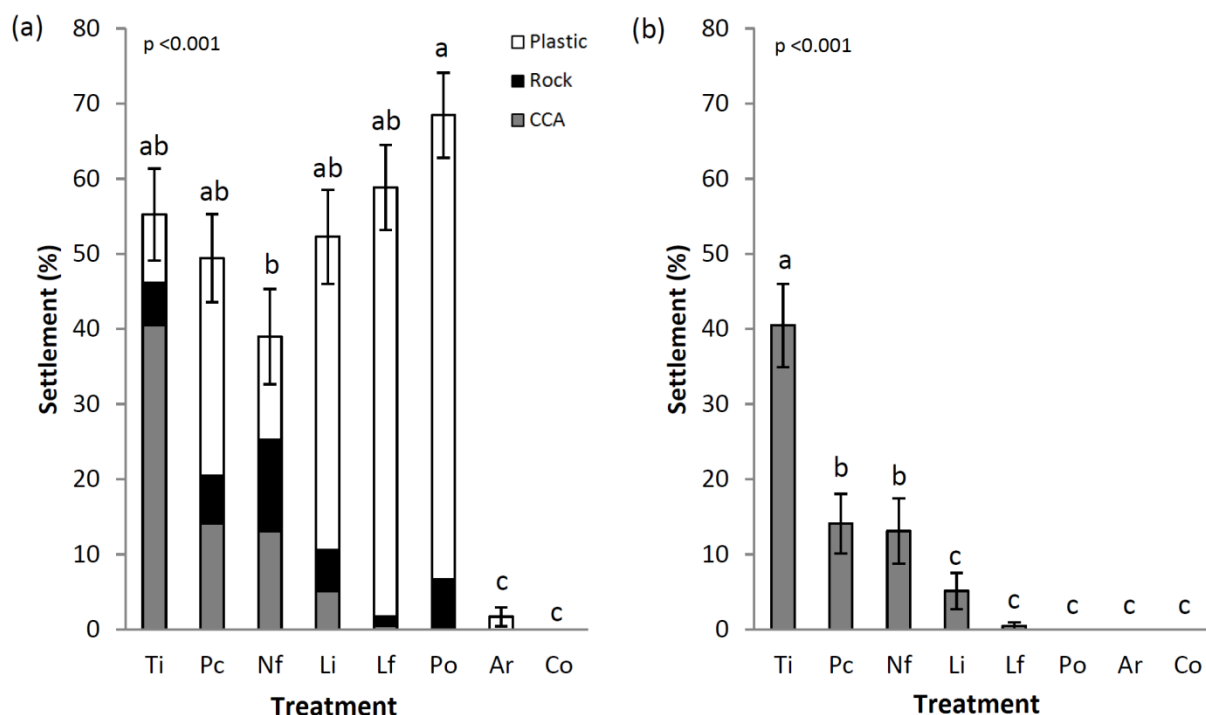


Figure 2.1: Percentage (mean \pm SEM, $n = 12$ wells) of *Acropora cytherea* larvae that settled in response to the different treatments. (a) Total settlement on the different surfaces. (b) Settlement on the CCA surface only. Analyzed by Kruskal-Wallis ANOVA on ranks. Letters indicate homogeneous subgroups by Dunnett post hoc tests. Ti = *Titanoderma prototypum*, Nf = *Neogoneolithon foslei*, Pc = *Paragoniolithon conicum*, Li = *Lithophyllum insipidum*, Lf = *Lithophyllum flavescens*, Po = *Porolithon onkodes*, Ar = aragonite control, Co = FSW control.

When examining settlement on the CCA top surface, differences in settlement between CCA species were greater (Fig. 2.1b; ESM Table S2; Kruskal-Wallis $H_7 = 67.55$, $p < 0.001$). The cryptic CCA species (*T. prototypum*) induced greater rates of settlement on the top surface than all other species, while the exposed species (*L. insipidum*, *L. flavescens* and *Po. onkodes*) induced the lowest rates.

3.2 Metabolomic fingerprints and richness

After filtering out potentially redundant ions, a total of 3,199 positive mass features were detected in all samples. The composition of the metabolic fingerprints differed significantly between species (PERMANOVA: $R=0.7093$, $p < 0.001$). The metabolomic profiles showed distinct clusters (Fig. 2.2a; ESM Fig. S1). The subcryptic species *N. foslei* and *Pa. conicum* clustered together, while the four other species formed

individual clusters. This was supported by pairwise comparisons showing that each CCA species had a significantly different metabolic fingerprints compared with every other species, except from the pair *N. foslei* - *Pa. conicum* (ESM Table S3). The PCA analysis further indicated that the cryptic species *T. prototypum* was clearly distinct from all other species. The exposed species *L. insipidum* and *L. flavescens* were close to each other, while *Po. onkodes* clustered in between the exposed and subcryptic species groups.

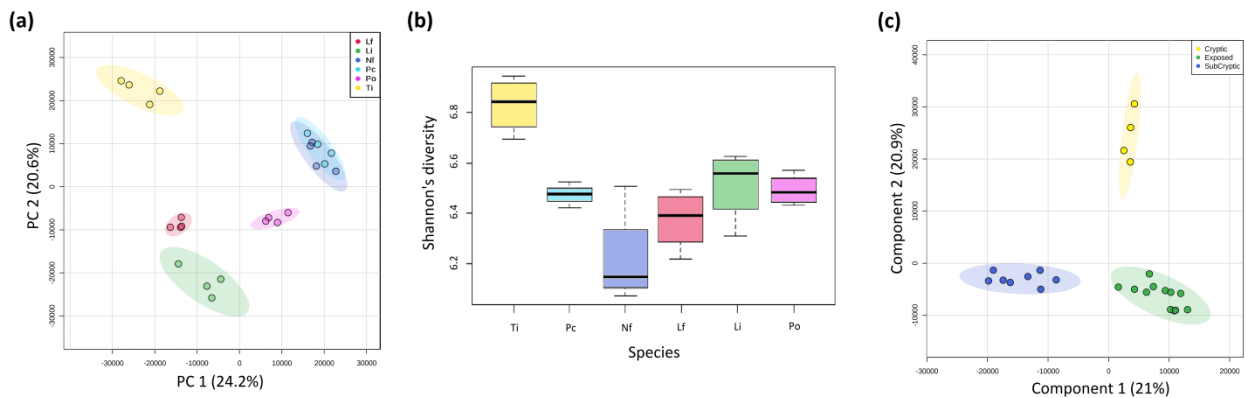


Figure 2.2: Metabolomic profiles and diversity of the different CCA species. (a) Principal component analysis (PCA) of Pareto-scaled normalized ion intensities. (b) Box plot showing the diversity (Shannon index) of metabolites. Boxes represent first to last quartile while whiskers represent maximum and minimum values excluding outliers. (c) Partial least square discriminant analysis (PLS-DA) model comparing metabolomic profiles among CCA species grouped according to habitats. The amount of variance explained is shown in parenthesis on each PCA and PLS-DA axis. Species abbreviation as in Fig. 2.1.

Metabolomic diversity differed between CCA species (Fig. 2.2b; Table 2.1; one way ANOVA: Shannon index: $F_{5,18} = 10.71$, $p < 0.001$; Number of ions: $F_{5,18} = 12.84$, $p < 0.001$). The Shannon index and number of ions of *T. prototypum* were higher than those of all other species (ESM Tables S4 & S5). *T. prototypum* also had the highest number of union ions and unique union ions of all species. *Pa. conicum* had the most core ions and unique core ions. *N. foslei* had the fewest core ions and no unique core ions. Metabolome richness and uniqueness were similar among the three exposed CCA species.

Table 2.1: Comparison of richness and uniqueness of the metabolomes of the different CCA species.

Species	Mean ions/sample \pm SEM	Core ions	Unique Core Ions	Union ions	Unique Union Ions
<i>T. prototypum</i>	931.50 \pm 50.45	242	11	1940	629
<i>Pa. conicum</i>	634 \pm 19.43	365	53	963	215
<i>N. foslei</i>	509.75 \pm 54.04	87	0	1083	204
<i>L. insipidum</i>	680.5 \pm 45.76	129	6	1495	284
<i>L. flavescens</i>	589.25 \pm 34.22	121	5	1276	152
<i>Po. onkodes</i>	661 \pm 20.67	160	0	1386	213

Abbreviations: CCA, crustose coralline algae

The PLS-DA model revealed separate clustering of the three habitats (Fig. 2.2c). Components 1 and 2 explained 21.0% and 20.9% of the total variance, respectively. The robustness of the model was validated ($Q^2 > 0.8$). Using the second component that clearly discriminated the cryptic species *T. prototypum* from the other habitats, we found 15 VIPs that were present at significantly higher concentrations in *T. prototypum* (Table 2.2). Of these VIPs, five molecules could be putatively identified, seven were of known metabolic class, and three could not be identified. The metabolites with the highest VIP scores were all glycerolipids: two monoacylglycerols (MG), five monogalactosyldiacylglycerols (MGDG), one digalactosyldiacylglycerols (DGDG), and three diacylglycerol-N,N,N-trimethylhomoserine (DGTS). The other metabolites might be phospholipids like phosphatidylcholine (PC).

Table 2.2: Mass measurements, molecular formulas and putative identification of the 15 VIPs showing a higher abundance in *T. prototypum* relative to exposed and subcryptic species groups. VIPs are ranked according to their VIP scores. The VIP M774T801 is mentioned twice as its peak likely contains two molecules.

Feature	Rt	parent ion form	m/z measured	m/z calculated	Error ppm	Molecular formula	A1 m/z	A2 m/z	FA1	FA2	Putative ID
M425T275_1	4.58		425.1931								NF
M329T275_1	4.59	[M+H] ⁺	329.2056	329.2686	191.48	C ₁₉ H ₃₆ O ₄			16:1*		GP MG(16:1)
M331T303_1	5.06	[M+H] ⁺	331.2684	331.2843	48.09	C ₁₉ H ₃₈ O ₄			16:0*		GP MG(16:0)
M579T306_1	5.09		579.2642								NF
M415T557_1	9.25		415.3931								NF
M745T743	12.39	[M+Na] ⁺	745.4896	745.4861	4.67	C ₄₁ H ₇₀ O ₁₀	493.279	493.279	16:2	16:2	PI MGDG(16:2/16:2)
M771T764	12.73	[M+Na] ⁺	771.5044	771.5018	3.41	C ₄₃ H ₇₂ O ₁₀	493.261	519.292	18:3	16:2	PI MGDG(18:3/16:2)
M748T770	12.84	[M+Na] ⁺	747.5054	747.5018	4.86	C ₄₁ H ₇₂ O ₁₀	495.294	493.299	16:2	16:1	PI MGDG(16:2/16:1)
M774T801	13.34	[M+Na] ⁺	773.5215	773.5174	5.27	C ₄₃ H ₇₄ O ₁₀	495.293	519.292	18:3	16:1	TM MGDG(18:3/16:1)
M774T801	13.34	[M+Na] ⁺	773.5215	773.5174	5.27	C ₄₃ H ₇₄ O ₁₀	493.279	521.311	18:2	16:2	TM MGDG(18:2/16:2)
M750T804	13.4	[M+Na] ⁺	749.5214	749.5174	5.31	C ₄₃ H ₇₈ O ₁₀	495.295	495.295	16:1	16:1	PI MGDG(16:1/16:1)
M940T813	13.55	[M+Na] ⁺	939.6071	939.6015	5.91	C ₄₉ H ₈₈ O ₁₅	659.363	683.364	18:2	16:0	PI DGDG(18:4/16:0)
M735T825	13.75	[M+H] ⁺	734.5959	734.4755	4.04	C ₄₄ H ₈₀ NO	478.3647	456.3804	18:4	18:3	GP DGTS(16:0/18:2) or
		[M+H] ⁺	734.5959	734.5929					16:0	18:2	DGTS(18:2/16:0)
M711T832	13.87	[M+H] ⁺	710.5968	710.5929	5.45	C ₃₉ H ₆₈ NO ₈ PC ₄₂ H ₈₀ NO	428.3381*	482.3856*	8:1*	14:0*	GP DGTS(18:1/14:0) or DGTS(14:0/18:1)
M835T836	13.93	[M+H] ⁺	834.6280	834.6007	32.67	C ₄₈ H ₈₄ NO ₈ P		522.3794	18:1	22:5	GP PC(18:1/22:5)
M737T848	14.14	[M+H] ⁺	736.6125	736.6086	5.32	C ₄₄ H ₈₂ NO ₇	480.3702*	456.3694*	18:3	18:3	GP DGTS(16:0/18:3) or
			736.6125						16:0	18:3	DGTS(18:3/16:0)

Abbreviations: Rt = Retention time (min), m/z = mass-to-charge ratio, A1 = [M+Na-FA1]⁺ or [M+H-FA1]⁺, A2 = [M+Na-FA2]⁺ or [M+H-FA2]⁺, FA = Fatty Acids, PI = putatively identified, GP = good probability but misses fragmented ions and high error, TM = two molecules under one peak, NF = not found. Errors were calculated using https://warwick.ac.uk/fac/sci/chemistry/research/barrow/barrowgroup/calculators/mass_errors/

* = Uncertainty about the location of fatty acids in the formula (position 1 or 2 on the glycerol).

3.3 Microbial community composition and richness

A total of 10,251 bacterial 16S rRNA gene sequences composed of 4219 different ASVs were retained after removing eukaryotic sequences (chloroplast 16S rRNA from algal cells), poor quality reads and singletons. At the class level, CCA surfaces were dominated by *Alphaproteobacteria*, except for *L. flavescens* and *L. insipidum* (Fig. 2.3a). *Alphaproteobacteria* were predominant on *T. prototypum*. *Gammaproteobacteria* were present in high abundances on *N. foslei* and *Pa. conicum*, and in lesser amount on *T. prototypum*. *Chloroflexia* were abundant on the exposed CCA species (*L. flavescens*, *L. insipidum* and *Po.onkodes*) and almost or completely absent in the less exposed species. At the order level, Chloroflexales were abundant in the exposed species, while Thalassobaculales and Alterromodales were more abundant in the subcryptic species (ESM Fig. S2). The most frequently encountered orders of bacteria on *T. prototypum* were Rhodospirillales, Thalassobaculales, Rhodobacterales, Cythophagales and Rhizobiales.

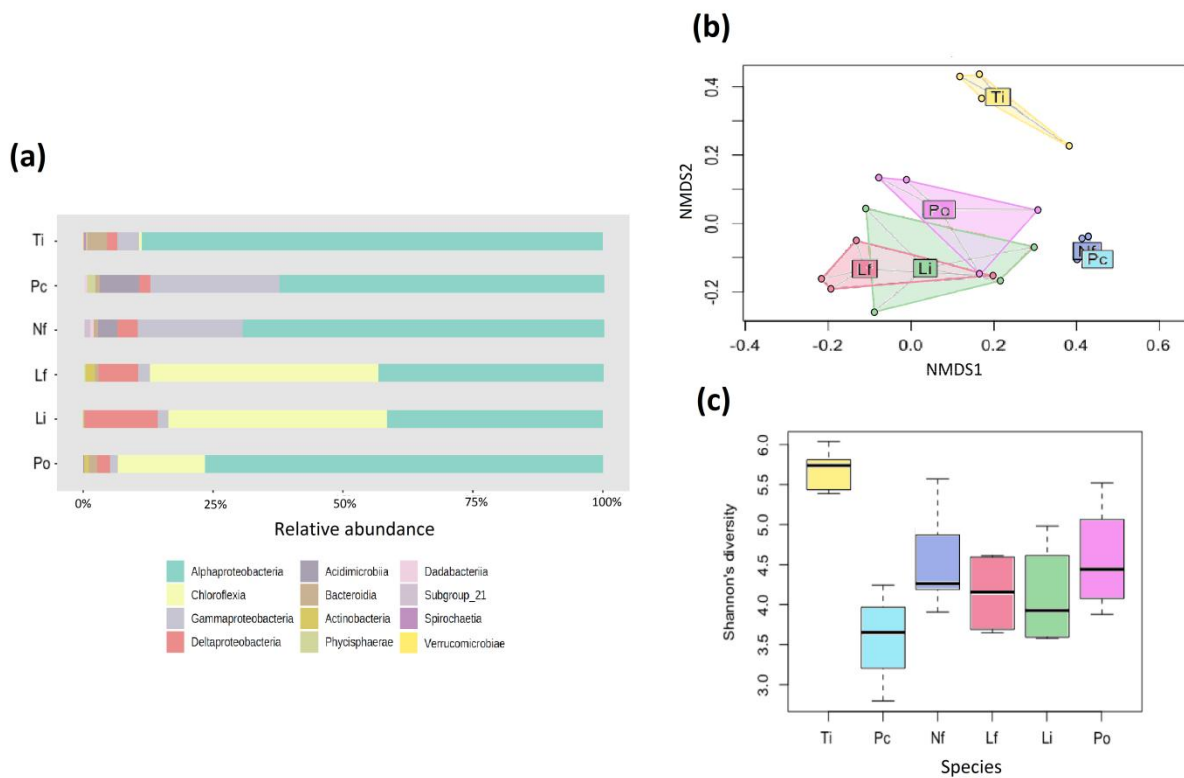


Figure 2.3: Microbiome profiles and diversity of the different CCA species. (a) Relative abundance of ASVs at the class level. (b) Nonmetric multidimensional scaling plot based on the Bray–Curtis similarity index. (c) Box plot showing the diversity (Shannon index) of ASVs. Boxes represent first to last quartile while whiskers represent maximum and minimum values excluding outliers. Species abbreviation as in Fig. 2.1.

The composition of the bacterial community differed significantly between species (PERMANOVA: $R=0.5153$, $p<0.001$). Species formed distinct clusters according to their habitats, with the exposed species, the subcryptic species and *T. prototypum* forming three distinct clusters (Fig. 2.3b). This was supported by pairwise comparisons (ESM Table S6). Bacterial diversity (Shannon index) differed between CCA species (Fig. 2.3c; ANOVA $F_{5,21}= 8.13$, $p<0.001$). Bacterial diversity in *T. prototypum* was significantly higher than that of all other species (ESM Table S7).

SIMPER analysis identified 22 ASVs that contributed to over 0.6% of the dissimilarity among CCA species (Table 2.3). The first four ASVs (051, 054, 093, and 110) that contributed most to the dissimilarity between CCA species were only found on *T. prototypum* and belonged to *Alphaproteobacteria*. The first two ASVs (051 & 054) belonged to the order of *Thalassobaculales* and aligned most closely (BLAST: 98.98%) with OTUs found to be associated with *Po. onkodes* (Webster et al. 2013). The 3rd ASV (ASV093) was strongly associated with “*Roseobacter* sp. S4466” (BLAST: 99.56%). Most species of the *Roseobacter* clade form biofilms and produce antibacterial compounds (Gram 2009; Bruhn et al. 2007, 2005; Brinkhoff 2004, 2008). Among the remaining ASVs, another four (ASV087, 106, 221, 189) were only present on *T. prototypum*; all were *Alphaproteobacteria*. Several ASVs (056, 046, 061, 025, 109, 031, and 063) were mainly encountered in the exposed CCA species (*L. insipidum*, *L. flavescens* and *Po. onkodes*) and in lesser quantities in *T. prototypum*, but never in subcryptic species (*N. foslei* and *Pa. conicum*). They were linked to the order of *Chloroflexales* (SILVA) and closely associated with *Chloroflexi* bacteria (BLAST: 98.62 %).

Table 2.3: SIMPER analysis showing the ASVs contributing >0.6% to the dissimilarity among the different CCA species.

ASV	% contr. to dissim.	Mean % abundance (# samples containing ASV)											SILVA		NCBI BLAST			
		Ti	Pc	Nf	Lf	Li	Po	Order	Family	Closest match source	% ID	Accession #						
ASV051	0.9688	1.27	(4)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Thalassobaculales	NA	CCA-associated	98.98	JQ178628.1
ASV054	0.9552	1.33	(4)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Thalassobaculales	NA	CCA-associated	98.98	JQ178628.1
ASV093	0.9425	0.87	(4)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	macro-algae associated	99.56	FJ460048.1
ASV110	0.8959	0.85	(4)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	coral-associated (Montastrea)	99.15	JQ516442.1
ASV122	0.8480	0	(0)	0	(0)	0	(0)	2.79	(3)	0.28	(2)	0.12	(1)	Alphaproteobacteria (class)	NA	coral-associated (Acropora)	94.38	GU118209.1
ASV087	0.8440	0.86	(4)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	coral-associated (Montastrea)	99.35	GU118711.1
ASV098	0.8368	0.91	(4)	3.85	(3)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	coral-associated (Diplora)	97.83	GU118265.1
ASV106	0.7900	0.89	(4)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	coral-associated (Montastrea)	99.35	GU118711.1
ASV221	0.7525	0.52	(3)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	CCA-associated	99.5	JQ179217.1
ASV189	0.7451	0.54	(3)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Alphaproteobacteria (class)	NA	coral-associated (Montastrea)	96.36	GU118868.1
ASV160	0.7388	0.55	(3)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0.06	(1)	Alphaproteobacteria (class)	NA	coral-associated (Acropora)	99.78	GU117977.1
ASV116	0.7145	0.71	(3)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0.11	(1)	Thalassobaculales	NA	coral-associated (Diplora)	99.78	GU117977.1
ASV056	0.6887	0	(0)	0	(0)	0	(0)	2.94	(3)	2.14	(2)	0.55	(2)	Chloroflexales	NA	macro-algae associated	98.62	KU689582.1
ASV046	0.6815	0	(0)	0	(0)	0	(0)	3.14	(3)	2.14	(2)	1.02	(2)	Chloroflexales	NA	macro-algae associated	98.62	KU689582.1
ASV014	0.6790	1.44	(4)	0	(0)	0	(0)	2.36	(3)	0.84	(2)	2.84	(3)	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	CCA-associated	99.75	JQ178787.1
ASV061	0.6606	0.05	(1)	0	(0)	0	(0)	2.25	(3)	1.44	(2)	0.57	(2)	Chloroflexales	Chloroflexaceae	macro-algae associated	98.62	KU689582.1
ASV025	0.6571	0.07	(1)	0	(0)	0	(0)	3.50	(3)	2.10	(2)	1.48	(2)	Chloroflexales	Chloroflexaceae	macro-algae associated	98.62	KU689582.1
ASV109	0.6565	0	(0)	0	(0)	0	(0)	2.37	(3)	1.37	(2)	0.35	(2)	Chloroflexales	NA	macro-algae associated	98.62	KU689582.1
ASV031	0.6418	0.21	(2)	0	(0)	0	(0)	3.39	(3)	2.28	(2)	0.86	(2)	Chloroflexales	NA	macro-algae	98.62	KU689582.1
ASV066	0.6219	0.49	(4)	0	(0)	0	(0)	1.32	(3)	0	(0)	1.13	(2)	Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	CCA-associated	100	JQ178656.1
ASV108	0.6175	0.77	(4)	0	(0)	0.27	(3)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	Alphaproteobacteria (class)	NA	coral-associated (Montastrea)	96.15	GU118868.1
ASV063	0.6045	0.13	(2)	0	(0)	0	(0)	2.61	(3)	1.41	(2)	0.59	(2)	Chloroflexales	NA	macro-algae	98.62	KU689582.1

Abbreviations: CCA, crustose coralline algae; ASV, amplicon sequence variant; SIMPER, similarity percentage; Species abbreviations as in Fig. 2.1. Closest order match is based on percent similarity in the SILVA database. Closest match source is based on BLAST search of the NCBI database.

3.4 Microbiome-metabolome integration

A strong correlation between the metabolome and microbiome datasets was observed (0.94 and 0.82 on the first and second component, respectively). The circos plot highlighted strong ($r \geq 0.9$) correlations between 8 ASVs and 27 metabolites (Fig. 2.4). All correlations were positive. M617T976 was correlated with ASV046 (Chloroflexales), which were both over expressed in *L. flavescens* and *L. insipidum*. All other metabolites and ASVs that were correlated were over expressed in *T. prototypum*. All eight ASVs were present in Table 2.3 and 5 of the 27 metabolites were listed in Table 2.2. The metabolites (M750T804 & M748T770), putatively identified as MGDGs, were both correlated with ASV051, ASV054 and ASV 116 (all three Thalassobaculales), ASV093 (Rhodobacterales), ASV087 and ASV106 (both Rhodospirillales) and ASV160 (unidentified *Alphaproteobacteria*). Metabolite M940T813 (putatively identified as a DGDG), M737T848 (putatively identified as a DGTS) and unidentified M415T557 were all correlated with ASV051, ASV054 and ASV116 (Thalassobaculales), ASV087 (Rhodospirillales), ASV160 (unidentified *Alphaproteobacteria*).

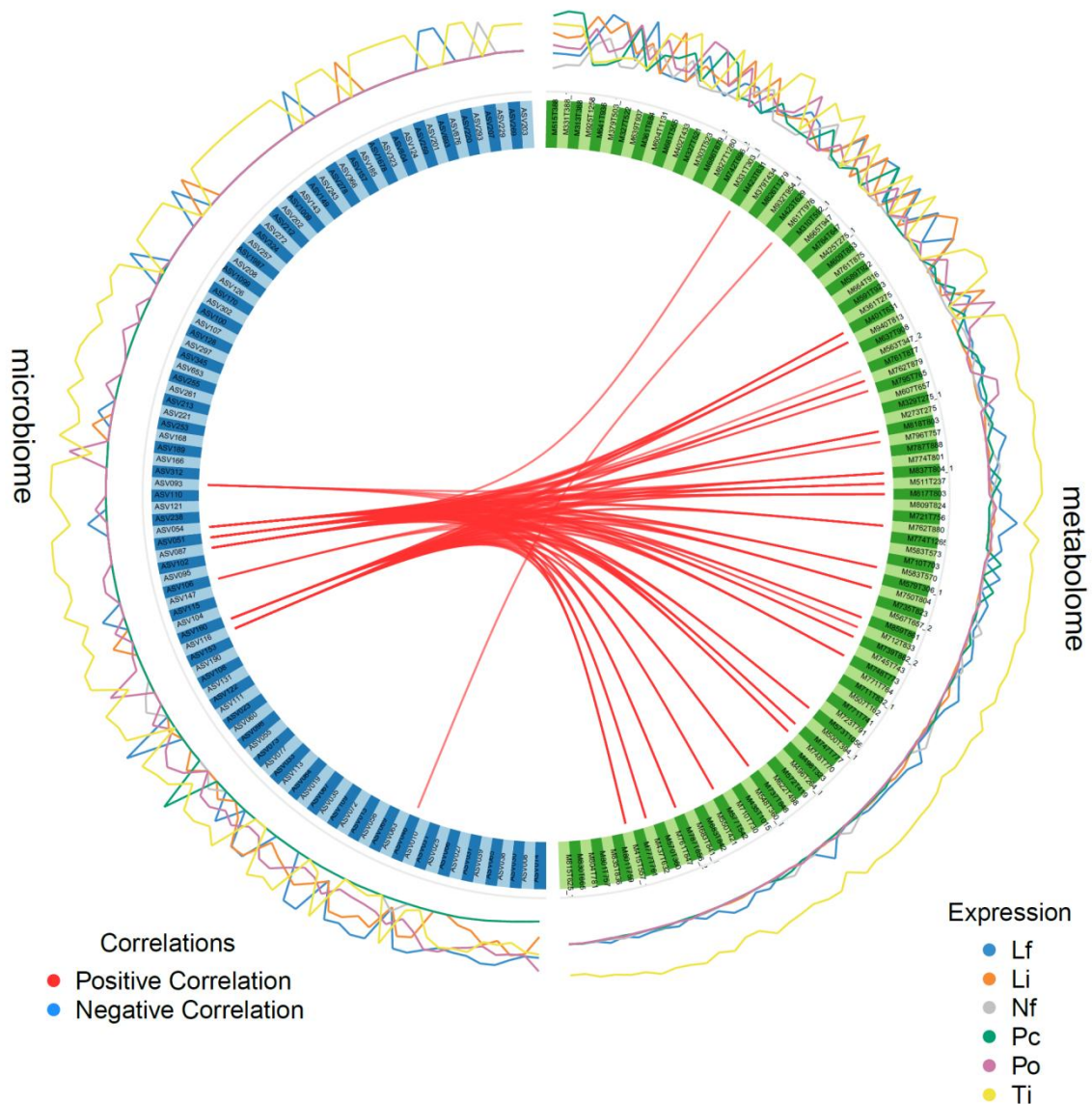


Figure 2.4: Circos plot depicting the strongest correlations between variables of microbiome (blue blocks) and metabolome (green blocks) data sets (correlation cut-off $r \geq 0.9$) and level of expression of each variable for each CCA species. Species abbreviation as in Fig. 2.1.

The heatmap (Fig. 2.5) clustered samples (rows) according to CCA species, confirming that the CCA species have specific metabolomic fingerprints and microbiome compositions. The exposed species, the subcryptic species and *T. prototypum* formed three distinct clusters. Variables (columns) formed two main clusters. *T. prototypum* was characterized by an over expression of variables from cluster 1 inside which there were several different subclusters of ASV and metabolites. Cluster 2 was formed by an over expression of metabolomic and microbial variables from the exposed CCA species.

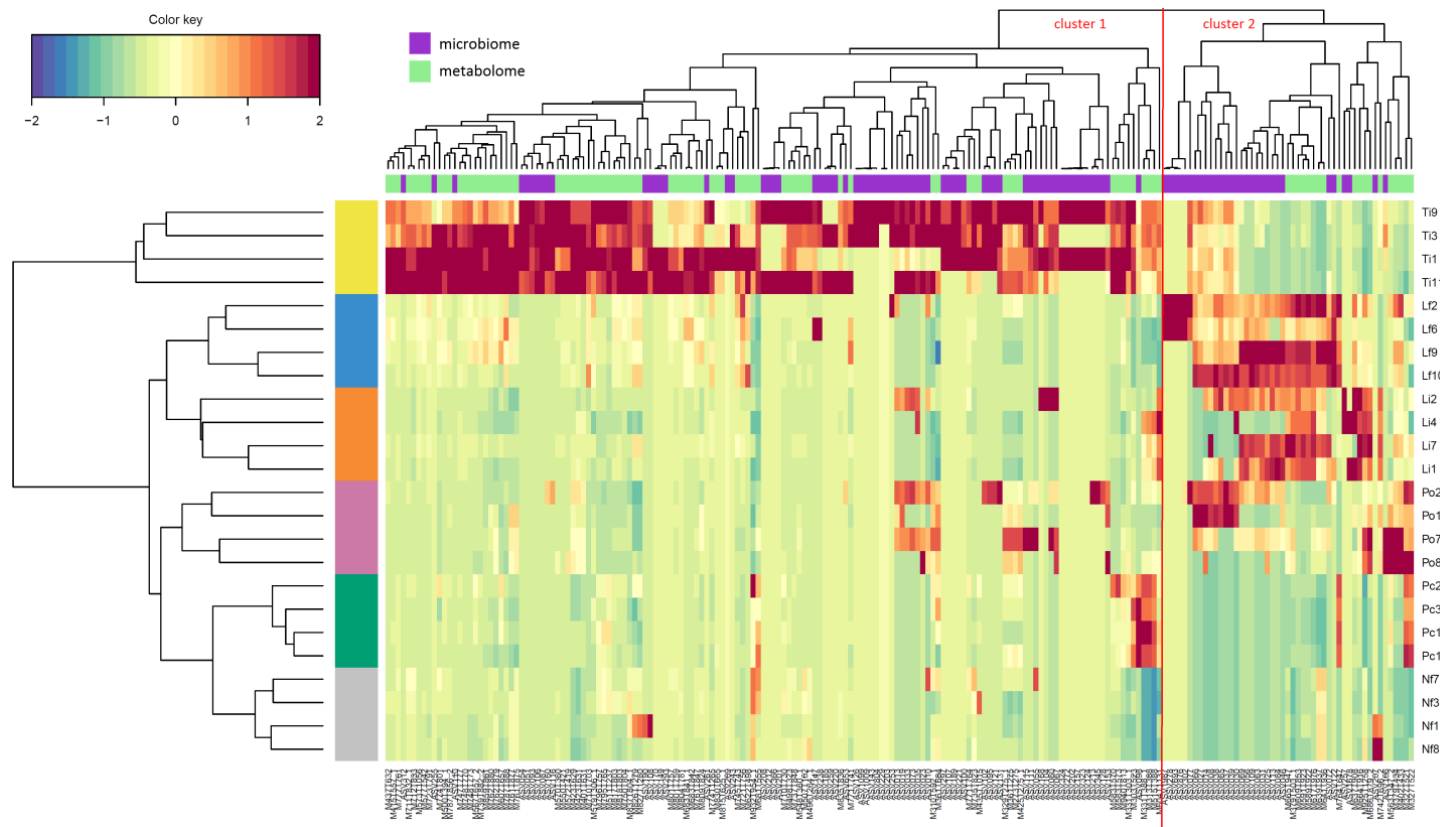


Figure 2.5: Clustered heatmap ordered through unsupervised clustering of both samples and variables from microbiome and metabolome datasets. Rows show samples which clustered according to CCA species (color code as in Fig. 2.4 and species abbreviation as in Fig. 2.1). Columns show variables clustering into two groups, each containing variables from both datasets (microbiome = purple, metabolome = green). *T. prototypum* was characterized by an over expression of compounds from cluster 1 and exposed CCA species by an over expression of cluster 2. Each individual cell displays the level of expression (see color key) of the variable in the sample.

4. Discussion

Our results show that all CCA species induced relatively high and similar rates of total settlement (i.e., settlement on all surfaces – top CCA surface, underlying rock and plastic substrata -), indicating that coral settlement, irrespective of settlement substrata, can be induced by numerous CCA species. Such finding is in agreement with several studies who reported that a wide range of crustose and non-crustose coralline algae species induce high rates of total coral settlement using similar laboratory assays (Heyward and Negri 1999; Ritson-Williams et al. 2010, 2014, 2016a). In our study, metabolomic and microbiome profiles of surface samples also differed significantly between CCA species. The observation that coral larvae settled in relatively high rates in presence of strongly different microbiome and metabolome suggests that coral settlement is mediated by several types of biofilm and/or chemicals, thus rejecting our first hypothesis. However, this conclusion differs when considering rates of settlement on the CCA top surface only, which represents a substratum that larvae naturally encounter. Rates of settlement on the CCA surface strongly differed between species. In particular, *T. prototypum* induced a majority of coral larvae to settle on its surface rather than on the nearby inert plastic or rock surfaces, relative to the other CCA species. Since this species also possessed strongly distinct epiphytic bacterial communities and metabolomic fingerprints, direct settlement on the CCA surface could depend on species-specific microbial and/or chemical components, in line with our first hypothesis.

These apparently contrasting conclusions could be explained by different larval behavioral responses to CCA species-specific biofilms and/or chemicals. Gomez-Lemos et al. (2018) recently proposed that coral settlement is the result of a synergistic interaction between CCA chemicals and epiphytic microbial biofilms. Specifically, the authors proposed that coral larvae settle in a two-step process: (1) an initial recognition of the epiphytic microbial biofilm by coral larvae mediated by dissolved organic carbon produced by CCA, and (2) the metamorphosis of coral larvae in response to specific chemical cues following direct contact with the CCA. In the presence of *T. prototypum*, larvae settled directly on the alga. An explanation consistent with this observation is that this CCA species produces positive (chemical and microbial) cues for both steps, ultimately leading to attachment and metamorphosis on the CCA surface itself. In the presence of other CCA species, larvae settled mostly on inert or rock surfaces and more rarely directly on the CCA surface (albeit to varying degree). These CCA species could have produced positive microbial cues that initiate the settlement process (i.e., step 1), but negative chemical cues for attachment and metamorphosis (i.e., step 2), driving coral larvae to choose neutral settlement sites (i.e., rock and/or plastic) close by on which to attach and metamorphose. These hypotheses are consistent with studies demonstrating settlement of coral larvae in response to biofilms or isolated bacterial strains only (Negri et al. 2001; Tran and Hadfield 2011; Sneed et al.

2014), as well as in response to chemicals only, or following antibiotic treatments (Sneed et al. 2014; Tebben et al. 2015; Gomez-Lemos et al. 2018). Pioneered work has also shown that, while larvae of several coral species only settle in presence of CCA, continued contact is not required since larvae can settle away from CCA surface (Morse et al. 1988). Consequently, coral larvae could respond to chemical and microbial stimuli in isolation or in combination, each producing variable outcomes in terms of overall settlement rates and sites of attachment and metamorphosis. In the natural environment, chemical and microbial stimuli will mix and form complex microbial and chemical landscapes shaped by the composition and metabolism of the benthos and hydrodynamic processes (Barott and Rohwer 2012). Price (2010) showed that the relative distribution, abundance, and species-species characteristics of preferred CCA species combine to facilitate coral recruitment within a natural environment. In her study, corals recruited more frequently to one species of CCA, *T. prototypum*, and significantly less so to other species of CCA, which is consistent with our *ex situ* results. Our study provides important insights on how these patterns link with the metabolome and microbiome of CCA.

According to the above hypotheses, our results further suggest that the initial recognition of the epiphytic biofilm is positively triggered by biofilms from a wide range of CCA species, while the attachment and metamorphosis on the CCA surface is positively triggered by chemical cues produced by a few CCA species. Vice versa, attachment and metamorphosis could be largely driven by negative chemical cues (i.e. antifouling compounds) produced by a wide range of CCA species and other benthic organisms. There is a precedent for coral larvae to choose CCA species that have the least effective antifouling defenses and avoid those with the strongest antifouling defenses. High coral settlement on *T. prototypum* has been observed in previous studies and associated with poor antifouling properties and the absence of shedding of epithelial cells (i.e., sloughing) (Harrington et al. 2004; Price 2010). These properties could also explain the high bacterial diversity present on this alga observed in our study. Since coral larvae settling *T. prototypum* have high rates of early post-settlement survival (Harrington et al. 2004), this selection process likely contributes to optimize their survivorship as settlers.

The majority of the metabolites that were found at higher concentrations in *T. prototypum* relative to the other CCA species and that could be putatively identified with great certainty were glycolipids, notably monoacylglycerols (MG), monogalactosyldiacylglycerols (MGDG), digalactosyldiacylglycerols (DGDG), and betaine lipids, diacylglycerol-N,N,N-trimethylhomoserine (DGTS). Glycolipids have recently gained interest due to their wide range of biological activities (da Gama et al. 2014; Zhang et al. 2014). Although these lipids are ubiquitous membrane and cytosolic constituents of all living cells, there is limited knowledge of the biochemical processes underlying their synthesis or plasticity (Han et al. 2012; Cajka and Fiehn 2014; Cutignano et al. 2016). Glycolipids are present in all photosynthetic life, but they are mainly produced by marine organisms, particularly marine algae and cyanobacteria (Leblond et al.

2010; Zhang et al. 2014). They have a wide variety of biological activities such as antibacterial, antiviral, antifungal, antimicrobial, antiherbivory, allelopathic and antifouling (Deal et al. 2003; Plouguerné et al. 2010, 2014, 2020; Dusane et al. 2011; Kiran et al. 2014; Slattery and Lesser 2014; Iglesias et al. 2020). Glycoglycerolipid-containing fractions have been reported as settlement cues for larvae of sea urchins (Takahashi et al. 2002), jellyfish (Schmahl 1985) and corals (Tebben et al. 2015). Two classes of glycoglycerolipids - monogalactosyl monoacylglycerols (MGMG) and sulfoquinovosyl diacylglycerols (SQDG) - were characterized as main constituents of the coral settlement inducing fractions of *Po. onkodes* (Tebben et al. 2015). Hence, these lipids could indeed play an important role in the recruitment of marine invertebrates. Another class of polar lipids, betaine lipids (BL) was also present as DGTS. Betaine lipids are regarded as analogous to the phosphatidylcholine in bacteria, fungi, algae, and basal land plants. The balance between betaine lipids and phospholipids has long been understood as an adaptive strategy to deal with periodic phosphorus deficiency in the natural environment. However, in certain algae species, BLs seem to have a distinct role even if there is currently little knowledge on this subject (Murakami et al. 2018). DGTS are predominant in red algae (Melo et al. 2015). Among the 15 VIPs that we found on *T. prototypum*, there is a good probability that glycerophospholipids such as phosphatidylcholines (PC) were also present. In contrary to glycerolipids, PCs are associated to non-photosynthetic membranes. Phospholipids with wax esters and triglycerides are the main lipid classes in some coral eggs or planulae (Imbs et al. 2019). However, fragmented ions were missing to identify them further, either calculated errors between observed and theoretical m/z were high, or we could not confirm their identity in databases and literature. Glycerophospholipid and generally glycerolipid identification is challenging due to a large number of structural isomers and the formation of different ions with various adducts. Further research should exactly identify and isolate these metabolites, and test them in settlement assays to determine whether they are responsible for settlement induction.

CCA surfaces were dominated by *Proteobacteria*, in particular *Alphaproteobacteria*, which agrees with previous studies on the CCA microbiome (Barrot et al. 2011; Webster 2011, 2013; Sneed et al. 2015). *T. prototypum* had the highest abundance of ASVs belonging to *Alphaproteobacteria*. This class of bacteria is dominant in the early life stages of corals (Lema et al. 2014). Eight ASVs that largely contributed to the separation between CCA species belonged to this class and were only present on *T. prototypum*. Of these eight ASVs, the two contributing most to the dissimilarity between CCA species belonged to the order of *Thalassobaculales* and closely related to OTUs associated with *Po. onkodes* from a previous study (Webster et al. 2013). These two ASVs were not found on *Po. onkodes* in our study, suggesting that these bacteria may differ from those of Webster et al. (2013). The third most important ASV was strongly associated with "*Roseobacter sp. S4466*" (99.56%; BLAST). Most bacteria of the *Roseobacter* clade form biofilms and produce antibacterial compounds (e.g., tropoethetic acid), which are effective against marine pathogens, including

Vibrio spp., one of the most frequently encountered disease causing bacteria in the marine environment (Brinkhoff et al. 2004, 2008; Bruhn et al. 2005, 2007; Garren et al. 2009; Sharp et al. 2015). Hence, the presence of this clade on *T. prototypum* could protect newly settled corals against disease, supporting the hypothesis of Sneed et al. (2015) that coral larvae select substrata that contain beneficial bacteria on their surface and avoid those harboring pathogenic or allelopathic bacteria. *Roseobacter* are also the first bacterial associates acquired from seawater by larvae of the Pacific coral *Pocillopora meandrina* (Aprill et al. 2009). Four other ASVs belonged to the class of Rhodospirillales, which was the most abundant class of identified *Alphaproteobacteria* in *T. prototypum*, and, more specifically, to the family of Rhodospirillaceae. Rhodospirillaceae are important bacteria associated with Symbiodiniaceae communities in adult corals globally (Bernasconi et al. 2019; Quigley et al. 2020). These bacterial taxa promote host productivity and regulate symbiont community evenness in aquatic and terrestrial ecosystems (Banerjee et al. 2018).

Several ASVs contributing to dissimilarity between the CCA species were linked to the order of Chloroflexales and mainly encountered in the exposed CCA species. These ASVs were closely associated (98.62 %) with Chloroflexi bacteria which are commonly encountered on canopy-forming macroalgae (Mancuso et al. 2016). Chloroflexi bacteria are mostly phototrophic, which could explain why they were specifically encountered on the exposed CCA species. Phototrophic chloroflexi bacteria are also important symbionts of several sponges (Ribes et al. 2012). *Pseudoaltermonas* sp. was detected at the surfaces of *L. flavescens*, *N. foslei* and *T. prototypum*. Isolates of this bacterial strain can induce high levels of coral larval metamorphosis (Negri et al. 2001; Tebben et al. 2011; Sneed et al. 2014). However, its role of natural inducer of coral larval settlement has been challenged, because its inductive capacity is severely reduced when present in a mixed species biofilm (Tran and Hadfield 2011), and the bacterial densities needed to initiate coral larval metamorphosis in laboratory conditions are magnitudes larger than those naturally present on CCA surfaces (Tebben et al. 2015). In our study, the relative abundances of this taxon were extremely low, consistent with this assessment.

We found that the CCA metabolome and microbiome differed significantly between species. This is in agreement with Sneed et al. (2015) who reported that four Caribbean CCA species had a unique bacterial community at the operational taxonomic unit level, as well as with research on other marine calcifiers, including corals (Nielsen et al. 2015; Quinlan et al. 2019; Vohsen et al. 2019). Interestingly, the metabolome and microbiome of the different CCA species showed distinct clusters according to habitats. In particular, several pairs of CCA species belonging to the same habitat shared the same metabolome and microbiome. These findings suggest that environmental factors, such as light, UV radiation, hydrodynamic regime and herbivory, which differ among habitats, could influence the CCA metabolome and microbiome. The relative abundances of lipid classes, as well as their individual components within a class, vary strongly in algal species according to physiological state, availability of elemental components (N, P and Si), temperature,

salinity, light/dark cycle and growth phase (Sharma et al. 2012; Cutignano et al. 2016). Differences in metabolomics profiles and diversity according to environmental conditions has been reported in several species of corals (Vohsen et al. 2019) and terrestrial plants (Son et al. 2009; Bernhardsson and Ingvarsson 2012; Carreno-Quintero et al. 2013; Jiang et al. 2014). Likewise for microbes, environmental parameters, such as temperature and pH, cause microbial shifts in CCA (Webster et al. 2011, 2013). Coral larvae are known to respond to physical parameters, such as light, UV radiation, depth, color and sound (Ritson-Williams et al. 2009). In particular, light can influence their settlement orientation, with larvae settling in cryptic habitats under high light regimes (Babcock and Mundy 1996). The observation that coral larvae settled on a cryptic species which had distinct microbiome and metabolome suggests that microbial and/or chemical cues could serve as environmental indicators for corals seeking suitable habitat and substrate.

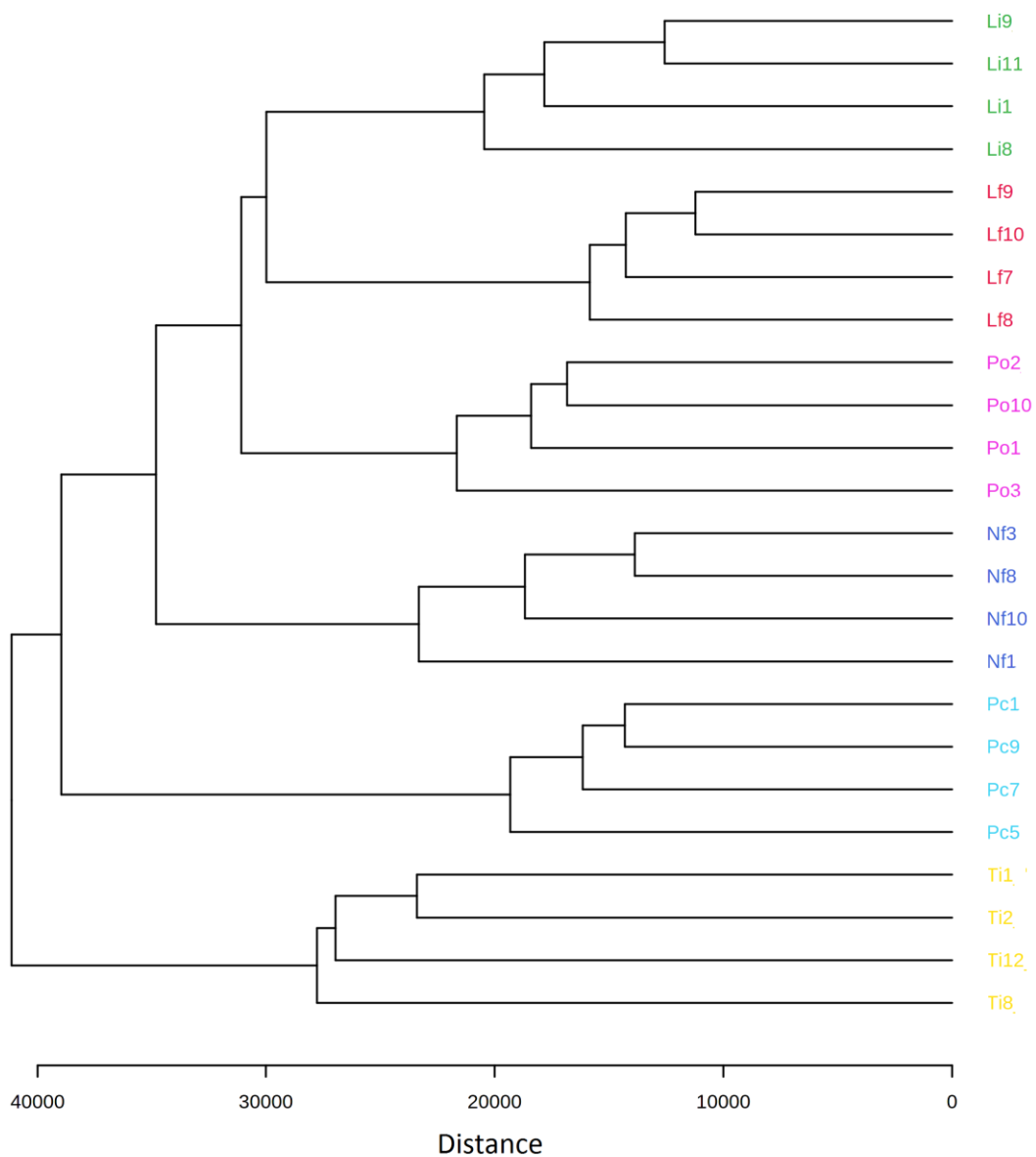
Not surprisingly, a strong correlation between the metabolome and microbiome datasets emerged, with clear distinctions among species and habitats. Correlations between metabolome and microbial community compositions have been described in one species of corals (Sogin et al. 2017). However, our study is the first to document it for CCA. We were able to identify several strong correlations between ASVs and metabolites that were abundant in *T. prototypum*. Several metabolites that were putatively identified as glycolipids and betaine lipids were positively correlated with several ASVs, notably those belonging to the orders of Thalassobaculales, Rhodobacterales and Rhodospirillales. Certain bacterial species can produce unusual glycolipids (Hölzl and Dörmann 2007). Further research should combine bacterial isolation and culturing in the presence of primary metabolites derived from CCA (e.g., DOC) with chemical identification to establish whether key bacteria produce key morphogens and to disentangle the complex biochemical communications between CCA, their associated microbial surface communities and coral larvae. The findings presented here increase our knowledge of the CCA metabolome and microbiome and provide a basis for future research into the role of metabolites and microbial assemblages on coral larval settlement.

Acknowledgements

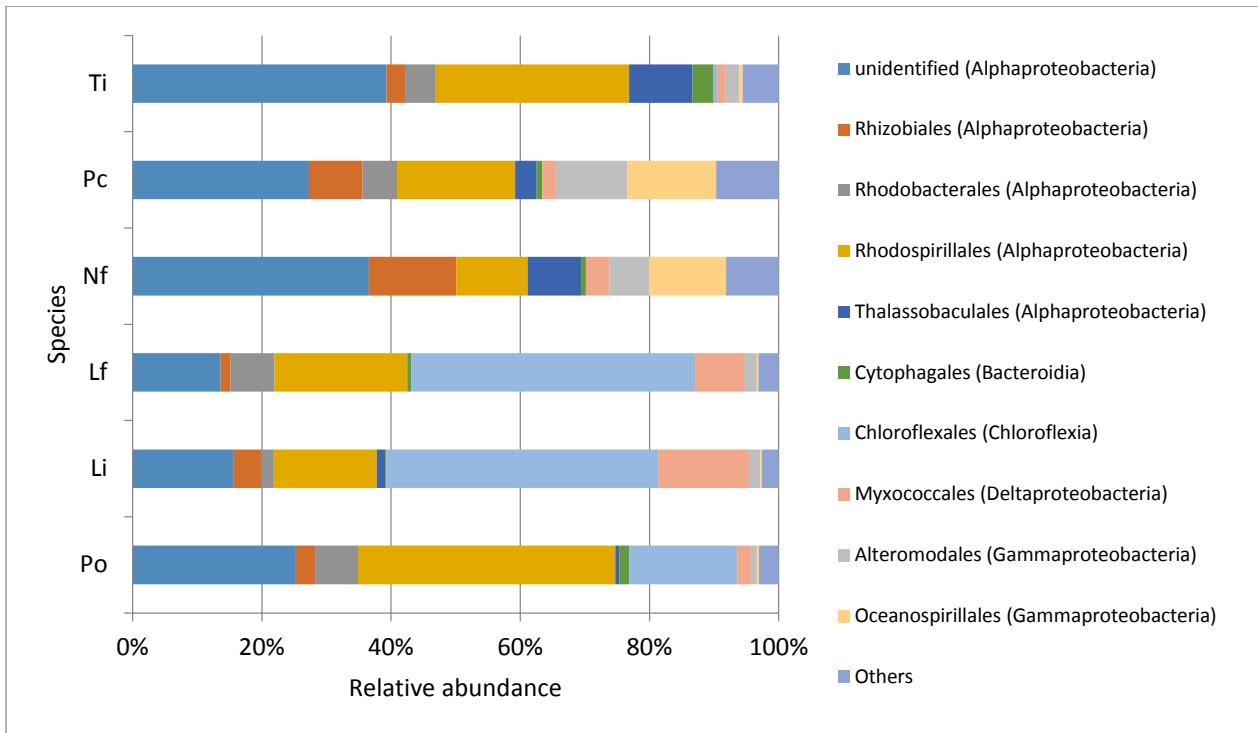
We thank the staff of the CRIOBE research station for logistical support. HJ was supported by a PhD grant (CORALINE) from the Laboratoire d'Excellence CORAIL. Additional support was provided by PEPS Exomod CNRS (ALGECO) and ANR (no. ANR-18-CE02-0009-01) to MMN. All research was performed under annual research permits (unnumbered) issued by the French Polynesian Ministry of Research to the CRIOBE. We want to thank the MSXM platform in Perpignan as part of the Bio2Mar platform.

On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest.

Supplementary materials



ESM Figure S1: Hierarchical clustering analysis of normalized ion intensities for the different CCA species. Ti = *Titanoderma prototypum*, Nf = *Neogoneolithon foslei*, Pc = *Paragoniolithon conicum*, Li = *Lithophyllum insipidum*, Lf = *Lithophyllum flavescens*, Po = *Porolithon onkodes*.



ESM Figure S2: Relative abundance of ASVs at the order level for the different CCA species. Only the 9 most abundant orders are shown, with their class in parenthesis.

ESM Table S1: Results of Kruskal-Wallis ANOVA on ranks and Dunnett pairwise tests comparing total settlement of *Acropora cytherea* larvae among treatments. Significant p values ($P < 0.05$) are in bold. Ti = *Titanoderma prototypum*, Nf = *Neogoneolithon foslei*, Pc = *Paragoniolithon conicum*, Li = *Lithophyllum insipidum*, Lf = *Lithophyllum flavescens*, Po = *Porolithon onkodes*, Ar = aragonite control, Co = FSW control.

Source	df	F	p	Pairwise	p
Treatment	7	59.85	<0.001	Ti vs Pc	0.653
				Ti vs Nf	0.176
				Ti vs Li	0.851
				Ti vs Lf	0.734
				Ti vs Po	0.210
				Ti vs Ar	<0.001
				Ti vs Co	<0.001
				Pc vs Nf	0.366
				Pc vs Li	0.793
				Pc vs Lf	0.430
				Pc vs Po	0.088
				Pc vs Ar	<0.001
				Pc vs Co	<0.001
				Nf vs Li	0.244
				Nf vs Lf	0.090
				Nf vs Po	0.009
				Nf vs Ar	0.005
				Nf vs Co	0.003
				Li vs Lf	0.598
				Li vs Po	0.149
				Li vs Ar	<0.001
				Li vs Co	<0.001
				Lf vs Po	0.360
				Lf vs Ar	<0.001
				Lf vs Co	<0.001
				Po vs Ar	<0.001
				Po vs Co	<0.001
				Ar vs Co	0.842

ESM Table S2: Results of Kruskal-Wallis ANOVA on ranks and Dunnett pairwise tests comparing the settlement of *Acropora cytherea* larvae on CCA surface among treatments. Significant p values ($P < 0.05$) are in bold. Species abbreviation as in Table S1.

Source	df	F	p	Pairwise	p
Treatment	7	67.55	<0.001	Ti vs Pc	0.044
				Ti vs Nf	0.020
				Ti vs Li	<0.001
				Ti vs Lf	<0.001
				Ti vs Po	<0.001
				Ti vs Ar	<0.001
				Ti vs Co	<0.001
				Pc vs Nf	0.747
				Pc vs Li	0.043
				Pc vs Lf	0.001
				Pc vs Po	<0.001
				Pc vs Ar	<0.001
				Pc vs Co	<0.001
				Nf vs Li	0.049
				Nf vs Lf	0.002
				Nf vs Po	0.001
				Nf vs Ar	0.001
				Nf vs Co	0.001
				Li vs Lf	0.156
				Li vs Po	0.089
				Li vs Ar	0.089
				Li vs Co	0.089
				Lf vs Po	0.776
				Lf vs Ar	0.776
				Lf vs Co	0.776
				Po vs Ar	1.000
				Po vs Co	1.000
				Ar vs Co	1.000

ESM Table S3: Pairwise comparisons of metabolomic fingerprints associated with the different CCA species following PERMANOVA. P-values are given above the diagonal. (p-values < 0.05 are indicated in bold) and R values are given below the diagonal. Species abbreviations as in Table S1

		p-values					
		Ti	Pc	Nf	Lf	Li	Po
R-values							
Ti			0.024	0.022	0.030	0.028	0.032
Pc	0.526			0.390	0.026	0.036	0.018
Nf	0.425	0.249			0.034	0.024	0.036
Lf	0.322	0.521	0.382			0.043	0.017
Li	0.332	0.501	0.362	0.217			0.022
Po	0.323	0.437	0.318	0.291	0.217		

ESM Table S4: One-way ANOVA and Tukey HSD pairwise tests comparing metabolomic diversity (Shannon index) among CCA species. Significant p values ($P < 0.05$) are in bold. Species abbreviation as in Table S1.

Source	df	F	p	Pairwise	p
Species	5	10.71	<0.001	Ti vs Pc	0.004
				Ti vs Nf	<0.001
				Ti vs Li	0.021
				Ti vs Lf	<0.001
				Ti vs Po	0.011
				Pc vs Nf	0.137
				Pc vs Li	0.974
				Pc vs Lf	0.947
				Pc vs Po	0.996
				Nf vs Li	0.003
				Nf vs Lf	0.510
				Nf vs Po	0.056
				Li vs Lf	0.598
				Li vs Po	0.999
				Lf vs Po	0.753

ESM Table S5: One-way ANOVA and Tukey HSD pairwise tests comparing the number of ions among CCA species. Significant p values ($P < 0.05$) are in bold. Species abbreviation as in Table S1.

Source	df	F	p	Pairwise	p
Species	5	12.84	<0.001	Ti vs Pc	<0.001
				Ti vs Nf	<0.001
				Ti vs Li	0.004
				Ti vs Lf	<0.001
				Ti vs Po	0.001
				Pc vs Nf	0.283
				Pc vs Li	0.959
				Pc vs Lf	0.965
				Pc vs Po	0.996
				Nf vs Li	0.067
				Nf vs Lf	0.721
				Nf vs Po	0.128
				Li vs Lf	0.598
				Li vs Po	0.999
				Lf vs Po	0.796

ESM Table S6: Pairwise comparisons of bacterial communities associated with the different CCA species following PERMANOVA. P-values are given above the diagonal. (p-values < 0.05 are indicated in bold) and R values are given below the diagonal. Species abbreviations as in Table S1

	p-values					
	Ti	Pc	Nf	Lf	Li	Po
R-values						
Ti		0.003	0.004	0.002	0.003	0.002
Pc	0.467		0.555	0.006	0.011	0.008
Nf	0.437	0.330		0.005	0.001	0.005
Lf	0.522	0.489	0.458		0.478	0.019
Li	0.466	0.415	0.383	0.326		0.298
Po	0.416	0.422	0.387	0.393	0.342	

ESM Table S7: One-way ANOVA and Tukey HSD pairwise tests comparing bacterial diversity (Shannon index) among CCA species. Significant p values ($P < 0.05$) are in bold. Species abbreviation as in Table S1.

Source	df	F	p	Pairwise	p
Species	5	8.13	<0.001	Ti vs Pc	<0.001
				Ti vs Nf	0.044
				Ti vs Li	0.003
				Ti vs Lf	0.005
				Ti vs Po	0.049
				Pc vs Nf	0.092
				Pc vs Li	0.796
				Pc vs Lf	0.722
				Pc vs Po	0.101
				Nf vs Li	0.677
				Nf vs Lf	0.759
				Nf vs Po	0.999
				Li vs Lf	0.999
				Li vs Po	0.665
				Lf vs Po	0.744

Chapitre 3: Contrasting effects of crustose coralline algae on coral recruits: Not all that glitters is gold

Manuscript under minor revisions for Coral Reefs

Jorissen, Hendrikje¹; Baumgartner, Chérine^{1,2}; Steneck, Robert S³; Nugues, Maggy M^{1,4}

1. EPHE, PSL Research University, UPVD-CNRS, USR3278 CRIOBE, F-66860 Perpignan, France.

2. Department of Environmental Systems Science, ETH Zurich, 8092 Zurich, Switzerland

3. Darling Marine Center, School of Marine Sciences, University of Maine, 193 Clark's Cove Road, Walpole, ME 04573, USA

4. Labex Corail, CRIOBE, 98729 Moorea, French Polynesia

E-mail address of communicating author: hendrikjejorissen@gmail.com

Résumé

Le recrutement des coraux est important pour maintenir les écosystèmes coralliens et contribuer à leur rétablissement après perturbation. Malgré l'acceptation générale que les algues corallines (CCA) influencent positivement le recrutement des coraux, en particulier en améliorant l'implantation des coraux et les premiers stades post-implantation, il n'y a pas de données expérimentales sur les effets à long-terme des espèces de CCA sur la survie et la croissance des recrues. Cette étude a testé l'impact de quatre espèces de CCA à croûte épaisse, communes dans deux habitats (exposés et subcryptiques) sur la survie et la croissance de deux catégories de tailles (5- <10 mm et 10-20 mm de diamètre maximum) de recrues du genre *Pocillopora*. Les recrues ont été placées à côté de CCA vivantes et mortes sur une période d'un an dans une expérience de transplantation. La mort des recrues a également été attribuée à différentes causes de mortalité. La présence de CCA a eu un effet contrasté sur la survie et la croissance des recrues selon l'habitat et la taille des recrues. Les espèces de CCA subcryptiques, *Neogoniolithon foslei* et *Paragoniolithon conicum*, ont eu une influence négative sur la survie des recrues de petite taille, tandis que les espèces de CCA exposées, *Porolithon onkodes* et *Lithophylum insipidum*, ont eu un impact positif. Aucune des espèces de CCA n'a affecté la survie des recrues de grande taille. Cependant, les espèces de CCA subcryptiques ont réduit leur taux de croissance. Les recrues adjacentes aux CCA exposées sont mortes en moindre proportion à cause de la compétition avec le gazon algal. En revanche, les recrues adjacentes aux CCA subcryptiques sont souvent mortes à cause de la surcroissance par les CCA. Ces résultats suggèrent que, dans les habitats subcryptiques, les CCA peuvent réduire la survie et / ou la croissance des recrues coralliennes via une compétition directe, tandis que, dans les habitats exposés, elles peuvent améliorer le recrutement des coraux en atténuant la compétition avec le gazon algal. Cette étude démontre que toutes les espèces de CCA ne sont pas bénéfiques pour la survie et la croissance des recrues et qu'il y a une variabilité considérable dans l'orientation et les processus de compétition entre les CCA et les coraux.

Abstract

Coral recruitment is important in sustaining coral reef ecosystems and contributing to their recovery after disturbances. Despite widespread acceptance that crustose coralline algae (CCA) positively influence coral recruitment success, especially by enhancing coral settlement and early post-settlement stages, there are no experimental data on the effects of CCA species on late post-settlement survival and growth of corals. This study tested the impact of four common, thick-crust CCA species from two habitats (exposed and subcryptic) on the survival and growth of two recruit size categories (5-<10 mm and 10-20 mm maximum diameter) of the coral genus *Pocillopora*. Coral recruits were placed adjacent to live and dead CCA over a 1-year period in a transplantation experiment. Death of recruits was also assigned to different causes of mortality. The presence of CCA had a contrasting effect on the survival of small-sized coral recruits depending on habitat. The subcryptic CCA species, *Neogoniolithon foslei* and *Paragoniolithon conicum*, had a negative influence on the survival of small-sized recruits, while the exposed CCA species, *Porolithon onkodes* and *Lithophyllum insipidum*, had a positive impact. None of the CCA species affected the survival of large-sized recruits. However, subcryptic CCA species reduced their growth rates. Recruits adjacent to exposed CCA died less from competition with turf algae. In contrast, recruits adjacent to subcryptic CCA frequently died from overgrowth by CCA. These results suggest that, in subcryptic habitats, CCA can reduce the survival and/or growth of coral recruits via direct competitive overgrowth, while, in exposed habitats, they can enhance coral recruitment by alleviating competition with turf algae. Thus, CCA may have different competitive effects on coral recruits depending on recruit size and habitat. Furthermore, the optimal environment for coral larvae to settle may not only be cryptic taxa as widely thought, but neighborhood of thick-crust, exposed CCA taxa.

1. Introduction

Reef building corals routinely experience disturbances which range from localized perturbations to ocean-scale events (Nyström and Folke 2001; Bellwood et al. 2004). With the diversity, frequency and severity of disturbances increasing at a rapid pace, understanding the factors driving the recovery of reefs after disturbance is becoming increasingly important (Nyström and Folke 2001; Bellwood et al. 2004; Diaz-Pulido et al. 2009; Hughes et al. 2010). The recovery of reefs depends on the re-establishment or replenishment of coral populations, either by the regrowth of surviving coral fragments or by the settlement (when larvae first attach to the benthos) and subsequent survival (recruitment) of new individuals (Ritson-Williams et al. 2009). Crustose coralline algae (CCA) are commonly associated with healthy reefs and are generally thought to have a positive effect on coral recruitment (Ritson-Williams et al. 2009; Arnold and Steneck 2011). Several CCA species act as cues and preferred substrates for coral settlement and metamorphosis (Morse et al. 1988; Heyward and Negri 1999; Baird and Morse 2004; Tebben et al. 2015; Gomez-Lemos et al. 2018), with rates of settlement being positively correlated with early post-settlement survival across species (Harrington et al. 2004; Golbuu and Richmond 2007; Price 2010; Ritson-Williams et al. 2016a). CCA are also thought to interact positively with late post-settlement survival of corals (Arnold and Steneck 2011). However, there is no direct, experimental study of the interaction between CCA and coral recruits. Much of the evidence commonly cited for the positive effects of CCA on coral recruits documents high abundance of coral recruits in areas with high abundance of CCA that are often a result of grazing by herbivorous fishes or urchins (Edmunds and Carpenter 2001; O'Leary and McClanahan 2010; Mumby et al. 2016). These studies are mostly correlative or indirect experiments, with intrinsic risks of confounded causality (McCook et al. 2001). Yet, most CCA species possess anti-fouling defenses that inhibit direct recruitment to the coralline surface (Keats et al. 1997; Harrington et al. 2004; Price 2010). As a result, coral larvae rarely settle directly on CCA thallus, but often adjacent to it (Heyward and Negri 1999; Ritson-Williams et al. 2010, 2016a). Some CCA species have exudates that select for bacterial clades associated with coral diseases (Quinlan et al. 2019), or can overgrow corals, including adjacent recruits and juveniles (Bak and Engel 1979; Sammarco 1980; Keats et al. 1997; Antonius and Afonso-Carillo 2001; Harrington et al. 2004; Golbuu and Richmond 2007; Vermeij and Sandin 2008), suggesting that competition between CCA and coral recruits could be complex but important.

The outcomes of coral-algal interactions typically vary depending on a range of biotic and abiotic factors, including species, life-history stage, colony size, herbivory, nutrients, sedimentation and light (Miller 1998; McCook 2001; Jompa and McCook 1998, 2002; Nugues and Roberts 2003; Nugues and Bak 2006; Vermeij et al. 2010b; Paul et al. 2011). Studies with coral recruits and juveniles have reported variable outcomes, including inhibition of coral growth and survival by macroalgae (Box and Mumby 2007; Birrell et

al. 2008; Venera-Ponton et al. 2011; Paul et al. 2011; Leong et al. 2018) and variable rates of survivorship in crevices and exposed microhabitats depending on the presence or absence of grazers (Babcock and Mundy 1996; Doropoulos et al. 2016). The mortality of young corals is very high when they are small and have less energy reserves to invest in competition than do adult corals (Raymundo and Maypa 2004; Box and Mumby 2007; Birrell et al. 2008). Thus, small corals are particularly vulnerable to overgrowth by competitors (Hughes and Jackson 1985; Edmunds 2000; Vermeij 2006; Arnold and Steneck 2011). Their mortality decreases sharply once a size escape threshold has been reached, highlighting the importance of size in competitive outcomes (Box and Mumby 2007; Arnold and Steneck 2011; Doropoulos et al. 2012b; Gallagher and Doropoulos 2017). Recruit size has been proposed as a mechanism for allowing corals to resist overgrowth by CCA (Buenau et al. 2012).

This study tested the competitive effects of CCA species on coral recruits, by comparing the survival and growth of pocilloporid recruits adjacent (i.e., < 1 mm from coralline margin) to live and dead CCA over a 1-yr period in a transplantation experiment in Moorea, French Polynesia. To assess the effects of habitat and coral recruit size, interactions between four common CCA species from two habitats and recruits of two size classes were compared. A separate dead CCA control was used for each of the two habitats to account for differences in environmental factors. To determine the life-history traits that affect how CCA interact with coral recruits, lateral growth rates were calculated in the absence of competitors for each CCA species and contrasted with their competitive effects on coral recruits. We hypothesized that: 1) live CCA have positive effects on coral recruit survival and growth relative to the dead CCA control within each habitat, 2) coral recruit survival increases with size, and 3) fast lateral growth rates make CCA more likely to overgrow coral recruits.

2. Materials & Methods

2.1 Study site

This study was conducted on the fore reef between 10 and 15 m depth at a site called Vaipahu (17°28'39.4"S 149°50'56.2"W) between Opunohu and Cook's Bays on the island of Moorea, French Polynesia. Pocilloporid recruits and all four CCA species occurred naturally in this area. The major herbivores observed at this site were roving herbivorous fishes, mainly scarinids, acanthurids and siganids (Han et al. 2016). The fore reef of Moorea has repeatedly recovered from disturbances (Adjeroud et al. 2007a, 2009; Kayal et al. 2012; Adjerhoud et al. 2018). It is largely free of direct anthropogenic disturbances and nutrient loads are low (Schrimm et al. 2004; Gil et al. 2016).

2.2 Transplantation experiment

Pocilloporid recruits were placed adjacent (i.e., < 1 mm from coralline margin) to crusts of CCA using nontoxic underwater epoxy (Z-Spar Splash Zone A-788, Pettitt Paint, New Jersey, USA) in standard plastic petri dishes (9 cm diameter) following Steneck et al. (1997) (Annex 2). Each petri dish contained one small-sized (5-<10 mm in maximum diameter) and one large-sized (10-20 mm) recruit, flanked on both sides with a $\pm 5 \text{ cm}^2$ crust of the same species of CCA (Fig. 3.1a) (Annex 4, 5).

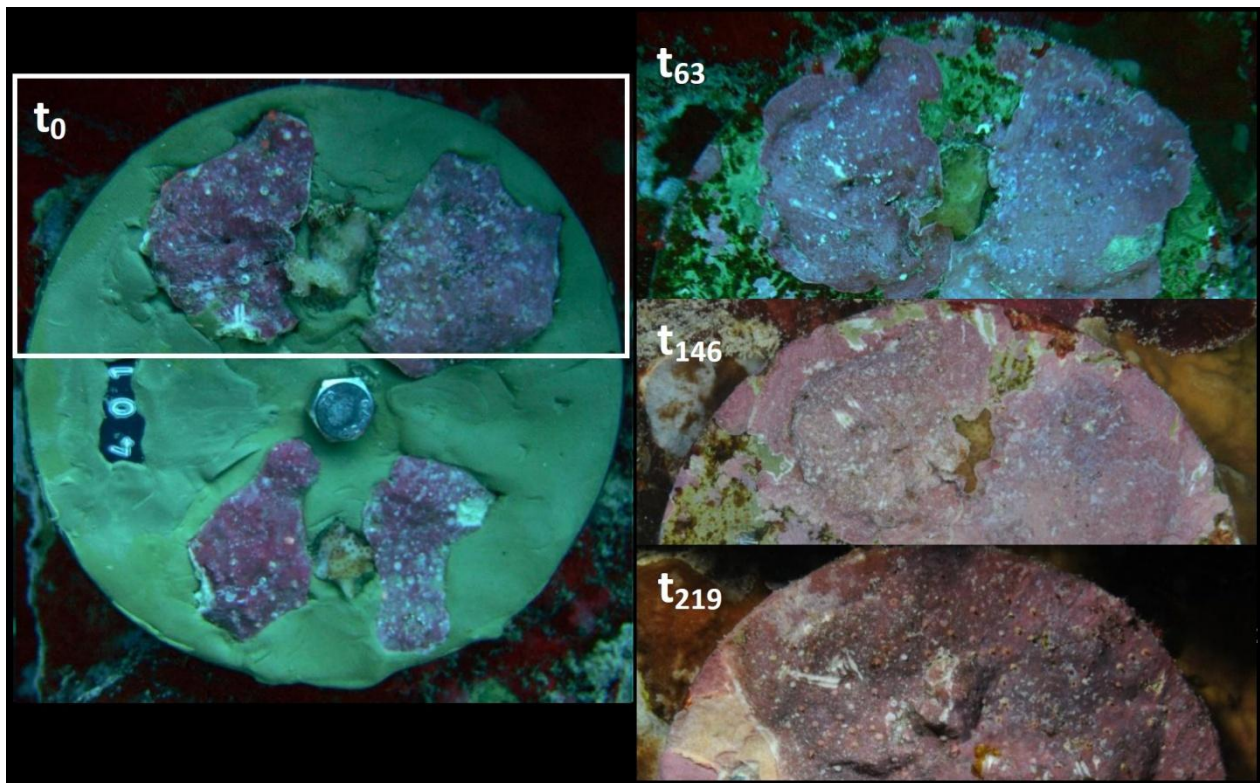


Figure 3.1 (a) Experimental petri dish with small- (bottom) and large-sized (top) recruits in contact with crusts of the subcryptic species *Neogoneolithon foslei*. (b) The same large-sized recruit is enlarged in subsequent repeated photographs to show overgrowth by the CCA over time.

These sizes correspond to recruits that are ca. 1-2 years old (Penin et al. 2007). The CCA examined included *Porolithon onkodes* and *Lithophylum insipidum*, two species commonly found in areas of the reef that are exposed to direct sunlight and offer easy access to grazers, thereafter referred to as exposed species, and *Neogoniolithon foslei* and *Paragoniolithon conicum*, readily encountered in semi-protected habitats on vertical walls or under overhangs, low in light intensity and relatively protected from grazers, thereafter referred to as subcryptic species.

Recruits and CCA fragments were collected at the study site using hammer and chisel and transported to outdoor aquarium facilities where they were housed in 200 L flow-through aquaria. At the time of collection, recruits of the small and large size classes had an average maximum diameter of $7.54 \text{ mm} \pm 0.49 \text{ (SEM)}$ and $15.20 \text{ mm} \pm 0.32 \text{ (SEM)}$, respectively. The identity of each CCA specimen was verified under a dissecting microscope using published, anatomically based taxonomic schemes (Adey et al. 1982; Gordon et al. 1976). To account for variations in environmental parameters between the exposed and subcryptic habitats (e.g., light, predation, water movement), a separate dead CCA control treatment was set up for each habitat. Since all studied CCA species are encrusting and their surface texture are similar, the most abundant species (*Po. onkodes*) was used to make the dead CCA fragments of both control treatments. To obtain pieces of dead CCA, crusts were bleached in a 10 % bleach solution for 48 h after collection, rinsed three times in distilled water and soaked in seawater for 12 h before use.

Recruits and fragments were randomly allocated to treatments ($n = 20$ replicates), embedded in the epoxy putty in the petri dishes under running seawater and left overnight in flow-through aquaria to harden. Each dish was labelled and had a hole drilled into the center to serve for attachment. They were transported shaded and underwater to the study site and bolted to the reef in their respective habitats using a plastic anchor, with a stainless steel bolt. The anchor was permanently fixed inside a hole drilled into the reef substratum using a pneumatic drill. Dishes from exposed and subcryptic CCA species/control treatments were placed horizontally with direct exposition to sunlight and vertically under overhangs, respectively. To facilitate dish localization, dishes were placed ca. 50 cm apart in blocks containing one replicate from each treatment, with blocks ca. 5 m apart from each other.

The experiment was run over a 1-year period (July 2017 to August 2018). For the first six months, the dishes were photographed every two weeks. The following six months, they were photographed every two months, based on the survival patterns of the recruits over time (Electronic supplementary material, ESM Fig. S1). Over the same period, natural interactions between *Pocillopora* coral recruits of the same two size classes and *Po. onkodes* on the reef ($n = 20$ replicates per size class) were tagged and similarly photographed as for the field experiment. Finally, to estimate CCA lateral growth rates, live crusts were embedded without any recruits on additional petri dishes (6 replicates per species). The dishes were similarly fixed, maintained and photographed as for the field experiment.

2.3 Measurements and data analyses

Recruit survivorship was calculated over the 1-year period. For each exposed and subcryptic habitat, a factorial logistic regression mixed effects model was used to test for differences between recruit size class (2 levels, fixed) and species (3 levels, fixed) in percent survival of recruits, with block and tile as random factors. When the species effect was significant, pairwise Bonferroni Holm comparisons were performed to resolve differences among levels. Growth rate was calculated for each recruit of the large-size class that survived

until the end of the experiment (small-size recruits had insufficient survivorship) by measuring changes in recruit surface area in the initial and final photographs using Image J software. For each exposed and subcryptic habitat, a one-way ANOVA with randomized blocking design was used to test for differences between species (3 levels, fixed) in growth rates, followed by LSD pairwise comparisons as appropriate. Assumptions were checked using Levene's and Shapiro-Wilks tests.

To make hypotheses on the mechanisms driving CCA-coral recruit interactions, the death of recruits that did not survive the experiment or the natural interactions was related to one of the following causes: overgrowth by (1) CCA and (2) turf algae (heterogeneous assemblages of filamentous algal and cyanobacterial species on average less than 5 mm in height; NB: macro-algae did not colonize the experimental dishes) when a continuous process of overgrowth of the recruit by CCA and turf algae, respectively, was observed between repeat photographs, without any other signs of tissue mortality; (3) sudden tissue loss when the recruit suddenly died between repeat photographs, with the skeleton remaining intact (i.e. possibly the result of disease or predation by corallivores); (4) grazing when the whole recruit went missing, with clear signs of teeth marks; and (5) unknown when not satisfying any of the above. A multiple logistic regression model was used to test for differences between the causes of death (5 levels, fixed) of the CCA species (3 levels, fixed) in each habitat, for both small and large recruits, followed by Bonferonni Holm pairwise comparisons as appropriate.

CCA lateral growth rates were calculated using Image J software by choosing 3 random points along the initial margin of each crust on the competitor free dishes and by measuring the gain in distance of living crust moving outwards perpendicularly to the initial margin from each point after 145 days (NB: over a longer time period, some margins had reached the side of the dish or the other embedded crust). The three distance gains were averaged across each crust and expressed in mm/month. A one-way ANOVA was used to test for differences between species (4 levels, fixed) in lateral growth rates, followed by Tukey HSD pairwise comparisons as appropriate. Assumptions were checked using Levene's and Shapiro-Wilks tests. A Pearson's correlation analysis was conducted to examine the relationship between the survivorship of small-sized recruits and lateral growth rates.

Survival, growth rates and causes of death of recruits naturally interacting with *Po. onkodes* were compared with those of the *Po. onkodes* transplants for both recruit sizes, using a logistic regression model, a one-way ANOVA and a multiple logistic regression model, respectively. All statistics were done using the packages *lme4*, *car*, *survival*, *survminer* and *multcomp* in R 3.3.5.

3. Results

Competition with CCA impacted the survival of small coral recruits, with effects of exposed and subcryptic species being positive and negative, respectively, relative to their controls (Table 3.1, Fig. 3.2a).

Table 3.1: Logistic regression mixed effects model with pairwise Bonferroni Holm comparisons of the survival of small and large coral recruits (Size) in contact with exposed and subcryptic CCA species (Species). Po = *Porolithon onkodes*, Li = *Lithophyllum insipidum*, Nf = *Neogoneolithon foslei*, Pc = *Paragoniolithon conicum*, Con = control

Exposed						
<i>Fixed factors</i>	χ^2	df	p	Pairwise		p
Size	5.1014	1	0.023			
Species	2.0897	2	0.047	Small	Po vs Li	0.171
					Po vs Con	0.024
					Li vs Con	0.024
				Large	Po vs Li	0.740
					Po vs Con	0.740
					Li vs Con	0.740
Size x Species	1.5720	2	0.4557			
<i>Random factors</i>	Variance	StDev				
Block	0.1624	0.403				
Block x Tile	0.0000	0.000				
Subcryptic						
<i>Fixed factors</i>	χ^2	df	p	Pairwise		p
Size	3.4225	1	0.046			
Species	5.4964	2	0.047	Small	Nf vs Pc	0.317
					Nf vs Con	0.012
					Pc vs Con	0.029
				Large	Nf vs Pc	0.800
					Nf vs Con	1.000
					Pc vs Con	0.800
Size x Species	1.5720	2	0.6423			
<i>Random factors</i>	Variance	StDev				
Block	2.2740	1.508				
Block x Tile	0.0000	0.000				

No difference between species within each habitat was detected. Survival of large-sized recruits was the same in all treatments. Both subcryptic CCA species had a negative effect on the growth rates of large-sized recruits relative to the control (ESM Table S1, Fig. 3.2b).

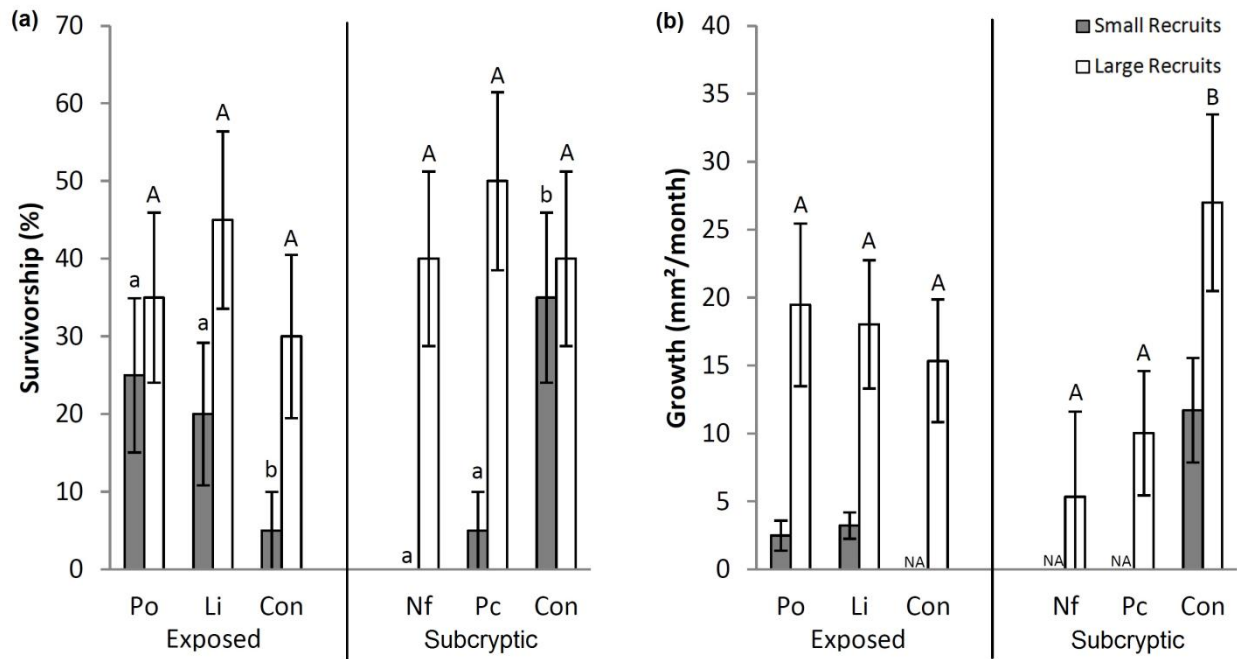


Figure 3.2: (a) Mean (\pm SEM, $n = 20$) survival (%) and (b) mean growth rates (mm²/month) of small- and large-sized recruits for the different experimental treatments. Letters indicate significant statistical differences between treatments for each habitat x size combination (pairwise comparisons for survival: Bonferroni Holm and growth: LSD). Po = *Porolithon onkodes*, Li = *Lithophyllum insipidum*, Nf = *Neogoneolithon foslei*, Pc = *Paragoniolithon conicum*, Con = control, NA = not available.

No effect was found for exposed species. Recruits adjacent to exposed CCA died proportionally less from competition with turf algae (Fig. 3.3, ESM Table S2). In contrast, recruits adjacent to subcryptic CCA died frequently from competition with CCA (Fig. 3.1 & 3.3, ESM Table S2).

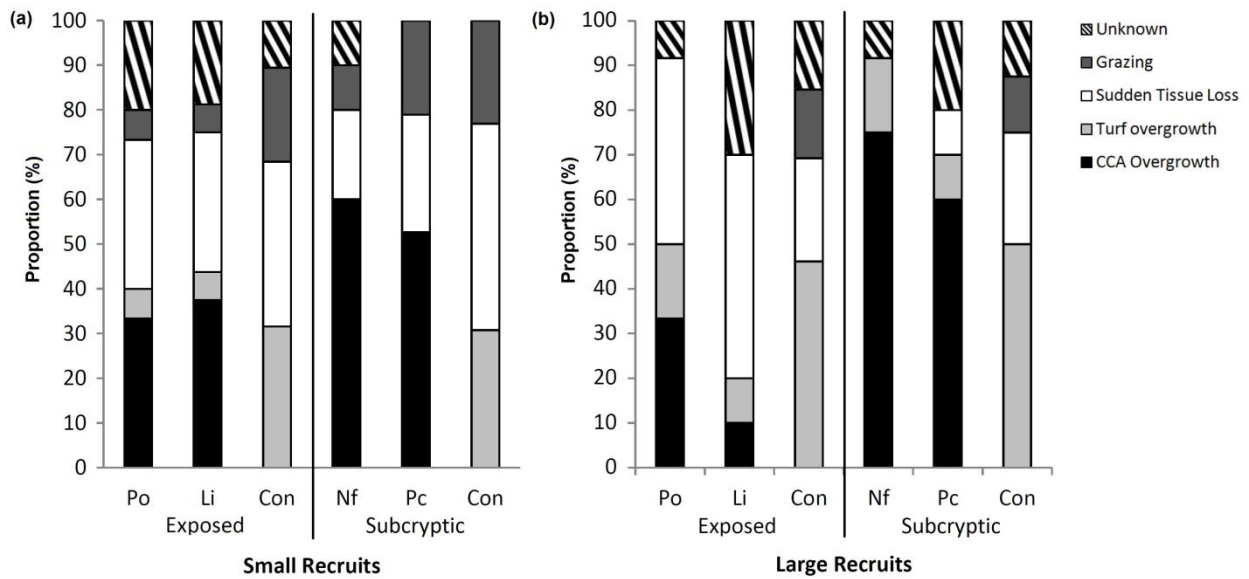


Figure 3.3: Percent estimates for recruit death attributed to the different causes (see ‘Materials and methods’ section) in the different experimental treatments for (a) small- and (b) large-sized coral recruits. Abbreviations as in Fig. 3.2.

Survival, growth rates and causes of death of recruits naturally interacting with *Po. onkodes* reflected those of the *Po. onkodes* transplants for both recruit sizes (ESM Figs. S2 & S3, Tables S3 – S5). Lateral growth rates differed among species (ESM Fig. S4, Table S6). Rates were highest for *N. foslei*, lowest for *Po. onkodes*, and intermediate for *L. insipidum* and *Pa. conicum*.

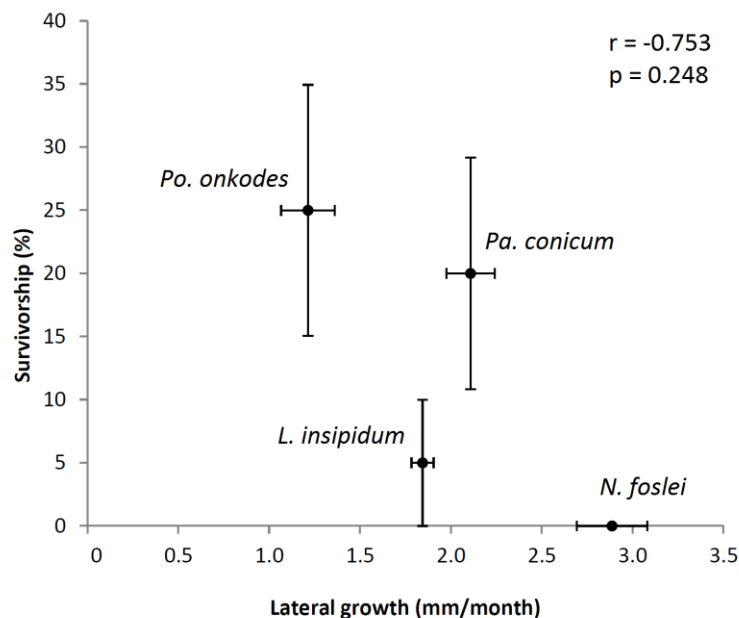


Figure 3.4: Survivorship of small-sized coral recruits (mean \pm SEM, $n = 20$) for each CCA species as a function of CCA lateral growth rates (mean \pm SEM, $n = 6$). Analyzed by Pearson’s correlation coefficients. Correlation between survivorship of large-sized recruits vs CCA lateral growth rates is not shown as survivorship did not differ between treatments.

There was a negative, but not significant trend between the survivorship of small-sized coral recruits and lateral CCA species growth rates (Fig. 3.4).

4. Discussion

Most studies on CCA-coral interactions are limited to observing whether corals preferentially settle on CCA and whether this preference has short-term survival benefits (Heyward and Negri 1999; Baird and Morse 2004; Harrington et al. 2004; Golbuu and Richmond 2007; Price 2010; Ritson-Williams et al. 2016a). Much less is known about whether CCA benefits to early post-settlement recruits extend through late post-settlement or beyond and the consequence for corals settling not on, but adjacent to CCA. The results of this experiment demonstrate that the late post-settlement survival of pocilloporid recruits is significantly affected by the presence of CCA and that there is considerable variability in the outcomes of the interaction between CCA and coral recruits. The different CCA species examined in this study showed strongly contrasting effects on coral recruits depending on habitat and recruit size. Contrary to our hypothesis, both subcryptic CCA species had a negative effect on the survival of small-sized coral recruits relative to dead CCA control. In contrast, both exposed CCA species had a positive effect. The subcryptic CCA species did not affect survivorship of large-sized recruits, supporting that corals undergo a competitive ontogenic shift and are able to resist overgrowth by CCA upon reaching a certain size (Buenau et al. 2012).

The most favorable CCA for coral settlement and survival are widely thought to be cryptic taxa on which corals settle directly (e.g., Harrington et al. 2004; Price 2010; Ritson-Williams et al. 2010; Doropoulos et al. 2012a). These preferred taxa form thin crusts (Buenau et al. 2012) that are relatively rare in exposed or subcryptic habitats where they are highly susceptible to herbivory and overgrowth (Steneck et al. 1991). Presumably, coral recruits can live longer on these cryptic taxa, allowing them to grow and eventually to reach full sunlight as successful juveniles (Harrington et al. 2004). Our study focused on dominant CCA species on the fore reef of Moorea and their interaction with coral recruits placed adjacent to their growing margins. All four species possess thick crusts that are relatively resilient to damage (Steneck 1986; Steneck et al. 1991) and can overgrow newly settled (Maida et al. 1994; Dunstan and Johnson 1998) and adult corals (Keats et al. 1997; Antonius and Afonso-Carillo 2001). While *N. foslei* has been shown to eliminate newly settled corals by shedding epithelial cells (i.e., sloughing; Harrington et al. 2004), this only applies to corals that settle directly on CCA thalli. In this study, coral recruits adjacent to subcryptic CCA frequently died from overgrowth by CCA, suggesting that direct overgrowth could be an important source of mortality for coral recruits and an important competitive mechanism affecting recruits settling close to subcryptic, thick-crust CCA taxa.

Unlike subcryptic CCA, both exposed CCA species had a positive effect on the survival of small-sized recruits. It is not possible to disentangle the exact mechanisms of such competitive reversal between habitats from our experiments, but at least four not mutually exclusive hypotheses could explain these results. First, recruits in contact with exposed CCA suffered less death from competition with turf algae. These recruits could benefit from the CCA abilities to locally inhibit the recruitment and growth of competitively superior algae (Vermeij et al. 2011) and to reduce exposure to sediment-laden and anoxic turf in the exposed habitat (Babcock and Mundy 1996; Ruiz-Zárata et al. 2000; Harrington et al. 2004; Jorissen et al. 2016). Adult corals are not negatively affected by neighboring CCA to the same extent that they are by turf algae or macroalgae (Vermeij et al. 2010b; Barott et al. 2009, 2012; Jorissen et al. 2016). In particular, coral interfaces with CCA have a thin diffusive boundary layer and low hypoxia at night in comparison with other benthic algae (Jorissen et al. 2016). It is likely that such favorable environments are largely beneficial for vulnerable recruits. Second, recruits in contact with exposed CCA suffered less death from fish grazing. Herbivores were not studied, but fish grazing could be less intense on or adjacent to exposed CCA, resulting in lower incidental loss of recruits. Third, the well-lit, exposed habitat could benefit coral recruits in terms of defensive ability. For instance, recruits could direct more energy towards vertical growth and branching morphology, making it difficult for CCA margins to grow above the colony (i.e., escape in height).

A fourth hypothesis is that subcryptic CCA species are characterized by faster lateral growth rates than exposed species, making them more likely to overgrow coral recruits. To date, little is known about the specific life-history traits or morphological attributes that affect how CCA interact with recruiting corals. All four studied CCA species form thick-crusted, indicating that crust thickness does not fully explain CCA competitiveness against corals. One of the subcryptic species had the highest lateral growth rates of all four species, while one of the exposed species had the lowest rates. The negative trend between the survivorship of small-sized recruits and lateral growth rates supports the hypothesis that lateral growth rates may partially explain competitive effects. However, this trend based on only 4 species was not significant. Further research should expand on the range of coral-CCA interactions to validate this relationship. *Po. onkodes* and *L. insipidum* have adherent margins, while both *Pa. conicum* and *N. foslei* possess leafy or only partially adherent margins (Keats et al. 1997). This margin morphology combined with fast lateral growth may make subcryptic species more of a threat to coral recruits.

Contact with *Po. onkodes* and *L. insipidum* is sufficient to trigger coral settlement and metamorphosis on nearby substrates, with settlement rarely observed on algal surfaces (Heyward and Negri 1999). Further research should determine whether such behavior could be finely tuned to create a favorable environment for young corals and to optimize their survivorship. If validated, the most favorable environment for coral larvae to settle may not be confined to cryptic, thin-layered taxa, but also neighborhood of thick crusted, well-exposed CCA taxa. Alternatively, if coral larvae settle in cryptic habitats

in the natural environment, our study suggests that they will need to select habitats away from thick-crusts, subcryptic CCA for successful recruitment, at least until they reach a size escape threshold.

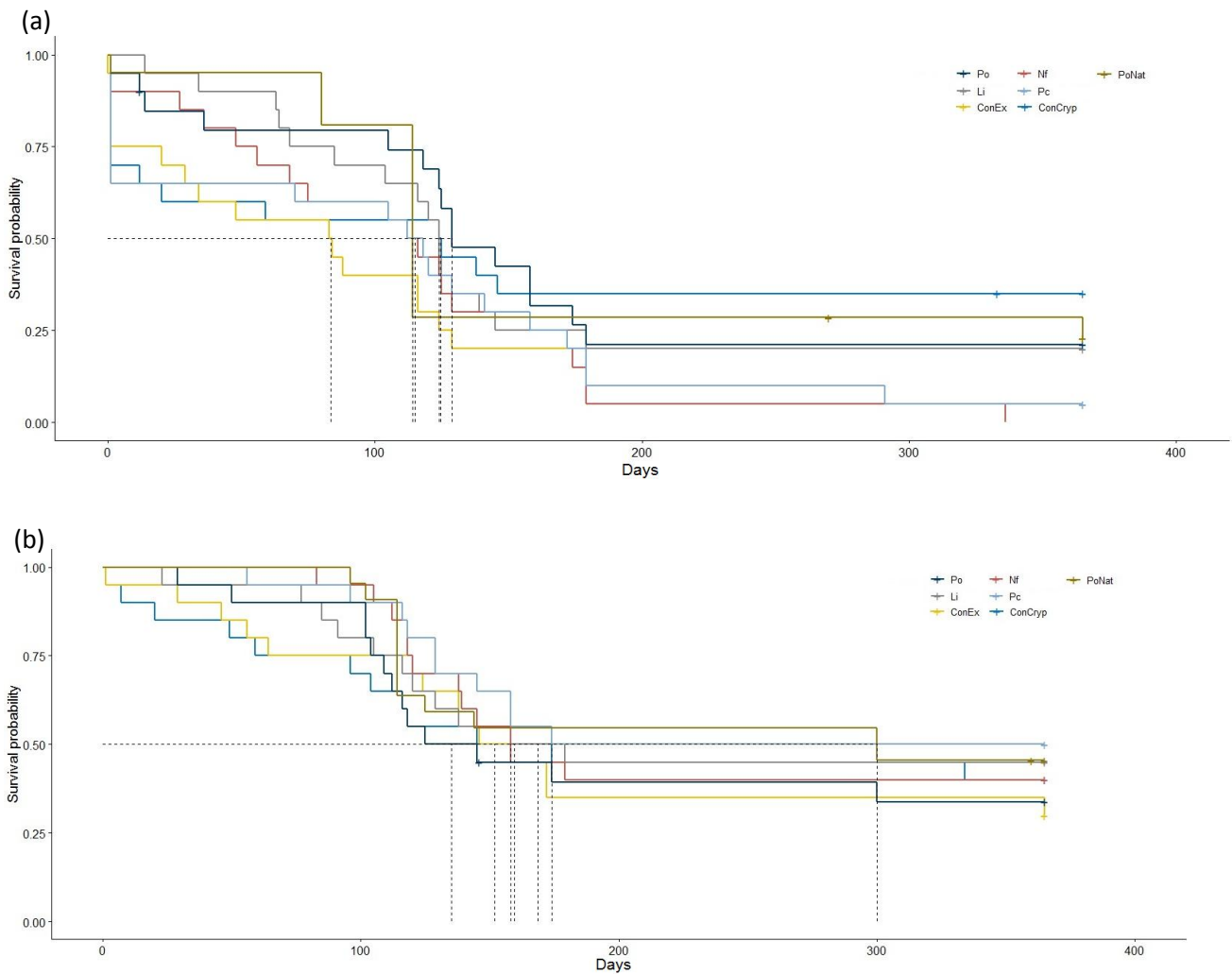
In summary, this study shows considerable variability in the outcomes of the interaction between CCA and coral recruits and suggests several mechanisms and properties by which CCA could affect coral recruits. A more effective understanding of the variability and complexity in the interaction between CCA and coral recruits could enable better predictions of the recruitment potential and nursery quality of the reef habitat under varying circumstances, with significant consequences for reef management.

Acknowledgements

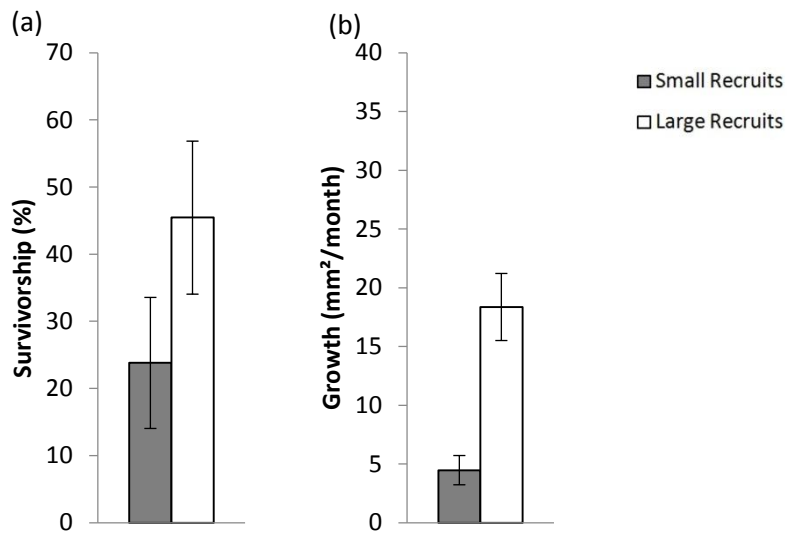
We thank the staff of the CRIOBE research station for logistical support and Sonora Meiling, Lauranne Sarribouette, Niké Dekkers and Anne Van Domburg for help with fieldwork. HJ was supported by a PhD grant (CORALINE) from the Laboratoire d'Excellence CORAIL. Additional support was provided by PEPS Exomod CNRS (ALGECO) and ANR (no. ANR-18-CE02-0009-01) to MMN. All research was performed under annual research permits (unnumbered) issued by the French Polynesian Ministry of Research to the CRIOBE.

On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest.

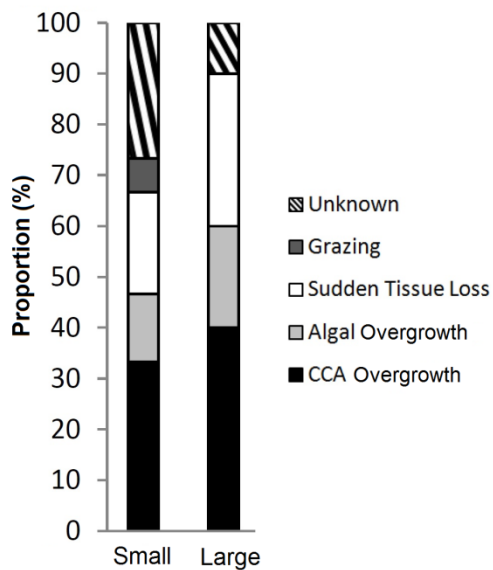
Supplementary materials



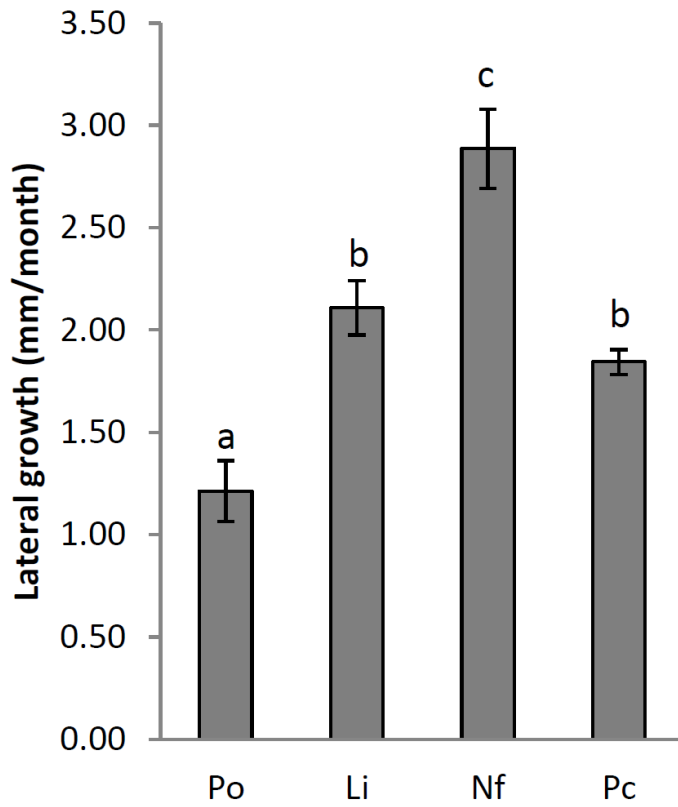
ESM Figure S1: Kaplan Meier curve for survivorship of (a) small coral recruits and (b) large coral recruits. Po = *Porolithon onkodes*, Li = *Lithophyllum insipidum*, ConEx = exposed control, Nf = *Neogoneolithon foslei*, Pc = *Paragoniolithon conicum*, ConCryp = subcryptic control, PoNat = Natural interactions with *Porolithon onkodes*



ESM Figure S2: (a) Mean (\pm SEM, $n = 20$) survival (%) and (b) mean growth rates (mm²/month) of small- and large-sized recruits for natural interactions of recruits with *Porolithon onkodes*.



ESM Figure S3: Percent estimates for recruit death attributed to the different causes for natural interactions of small and large recruits with *Porolithon onkodes*.



ESM Figure 4: Mean (\pm SEM, $n = 6$) lateral growth rates of the different CCA species. Letters indicate significant statistical differences between species (pairwise comparisons: Tukey HSD). Species abbreviation as in ESM Fig. S1.

ESM Table S1: One-way ANOVA with randomized blocking design for the growth rates of large coral recruits next to exposed and subcryptic CCA species. When there was a significant difference a LSD pairwise comparison were performed to resolve differences among levels. Significant p values ($P < 0.05$) are in bold. Po = *Porolithon onkodes*, Li = *Lithophyllum insipidum*, Nf = *Neogoniolithon foslei*, Pc = *Paragoniolithon conicum*, Con = control.

Exposed CCA							
	Sum Sq	Mean Sq	df	F	p	Pairwise p	
Exposed CCA	52.5	26.23	2	0.143	0.868		
Block	94.2	94.15	1	0.513	0.485		
Tile:Block	75.8	75.78	1	0.413	0.530		
Residuals	2754.6	183.64	15				
Subcryptic CCA							
	Sum Sq	Mean Sq	df	F	p	Pairwise p	
Subcryptic CCA	2105	1052.5	2	3.598	0.045	Nf vs Pc	0.561
						Nf vs Con	0.017
						Pc vs Con	0.044
Block	10	9.6	1	0.032	0.860		
Tile:Block	51	50.9	1	0.168	0.687		
Residuals	6384	304.0	21				

ESM Table S2: Multiple logistic regression model to test for differences between the causes of death of the CCA species in each habitat, for both small and large recruits. When there was a significant difference a Bonferonni Holm pairwise comparison were performed to resolve differences among levels. Significant p values ($P < 0.05$) are in bold. Abbreviations as in ESM Table S1.

Exposed	Small Recruits	χ^2	df	p	Pairwise	p
	CCA overgrowth	10.241	2	0.006	Po vs Li	0.727
					Po vs Con	0.027
					Li vs Con	0.026
	Turf overgrowth	6.805	2	0.033	Po vs Li	1.000
					Po vs Con	0.049
					Li vs Con	0.049
	Sudden Tissue Loss	0.644	2	0.725		
	Grazing	3.113	2	0.211		
Exposed	Large Recruits	χ^2	df	p	Pairwise	p
	CCA overgrowth	5.347	2	0.069		
	Turf overgrowth	6.464	2	0.039	Po vs Li	0.239
					Po vs Con	0.041
					Li vs Con	0.032
	Sudden Tissue Loss	0.824	2	0.663		
	Grazing	4.534	2	0.104		
Subcryptic	Small Recruits	χ^2	df	p	Pairwise	p
	CCA overgrowth	24.213	2	<0.001	Nf vs Pc	0.530
					Nf vs Con	<0.001
					Pc vs Con	<0.001
	Turf overgrowth	9.376	2	0.009	Nf vs Pc	0.530
					Nf vs Con	<0.001
					Pc vs Con	<0.001
	Sudden Tissue Loss	0.536	2	0.765		
	Grazing	0.797	2	0.671		
Subcryptic	Large Recruits	χ^2	df	p	Pairwise	p
	CCA overgrowth	15.520	2	<0.001	Nf vs Pc	0.333
					Nf vs Con	0.002
					Pc vs Con	0.013
	Turf overgrowth	5.268	2	0.032	Nf vs Pc	0.550
					Nf vs Con	0.047
					Pc vs Con	0.049
	Sudden Tissue Loss	2.177	2	0.237		
	Grazing	2.231	2	0.328		

ESM Table S3: Logistic regression model with pairwise Bonferroni Holm comparisons of the survival of small and large coral recruits (Size) in contact with *Porolithon onkodes* in experimental and natural setups (Treatment).

	df	χ^2	p
Size	3	3.119	0.374
Treatment	1	0.146	0.703
Size:Treatment	1	0.665	0.415

ESM Table S4: One-way ANOVA for the growth rates of small and large coral recruits in contact with *Porolithon onkodes* in experimental and natural setups.

	df	Sum Sq	Mean Sq	F value	p
Small recruits	1	9.96	9.960	1.614	0.240
Residuals	8	49.37	6.171		
Large recruits	1	5.2	5.24	0.041	0.843
Residuals	13	1663.7	127.98		

ESM Table S5: Multiple logistic regression model to test for differences between the causes of death of small and large coral recruits in contact with *Porolithon onkodes* in experimental and natural setups.

Small recruits			
	χ^2	df	p
CCA overgrowth	0.008	1	0.9293
Turf overgrowth	0.315	1	0.5744
Sudden tissue loss	0.754	1	0.3852
Grazing	0.001	1	0.9718
Large recruits			
	χ^2	df	p
CCA overgrowth	0.046	1	0.8295
Turf overgrowth	0.010	1	0.9202
Sudden tissue loss	0.881	1	0.3477
Grazing	0	1	1

ESM Table S6: One-way ANOVA with Tukey HSD pairwise comparisons to test for differences between the lateral growth rates of the different CCA species. Significant p values ($P < 0.05$) are in bold. Po = *Porolithon onkodes*, Li = *Lithophyllum insipidum*, Nf = *Neogoneolithon foslei*, Pc = *Paragoniolithon conicum*.

	Sum Sq	Mean Sq	Df	F	p	Pairwise	p
Species	8.641	2.880	3	23.83	<0.001	Li - Nf	0.005
						Li - Pc	0.564
						Li - Po	0.001
						Nf - Pc	<0.001
						Nf - Po	<0.001
						Pc - Po	0.024
Residuals	2.418	2.418	20				

Chapitre 4: Ocean acidification inhibits substratum exploration and settlement of coral larvae

Manuscript in preparation

Jorissen, Hendrikje¹; Martin, Anaïs²; Sarribouette, Lauranne³; Hédouin, Laetitia^{1,4}; Nugues, Maggy M^{1,4}

1. EPHE, PSL Research University, UPVD-CNRS, USR3278 CRIOBE, F-66860 Perpignan, France.

2. Paris Descartes University, Interdisciplinary Research Center, 75004 Paris, France.

3. University of Bordeaux, 33076 Bordeaux, France.

4. Labex Corail, CRIOBE, 98729 Moorea, French Polynesia.

E-mail address of communicating author: hendrikjejorissen@gmail.com

Résumé

Les facteurs biologiques et physiques affectant le recrutement et la survie des coraux ont une influence critique sur le rétablissement des communautés de coraux après une perturbation. Bien que l'acidification des océans (OA) puisse réduire l'implantation des coraux et la croissance précoce des recrues coralliennes, l'impact de l'OA sur le comportement de nage des larves de coraux est inconnu. Cette étude a porté sur les effets de l'OA sur le comportement de nage et l'implantation des larves de deux espèces communes de coraux émetteurs de gamètes (*Acropora cytherea* et *A. pulchra*). Les larves ont été exposées à quatre conditions de $p\text{CO}_2$ / pH conformes aux prévisions actuelles du IPCC pour les prochains siècles ($p\text{CO}_2$: 393, 853, 1485, 3022 μatm ; pH: 8,1, 7,8, 7,6, 7,3) dans deux expériences de laboratoire. Dans la première expérience, le comportement d'exploration du substrat a été estimé par la proportion des larves présentes dans la partie inférieure de cylindres verticaux. Dans la deuxième expérience, l'implantation des coraux a été mesurée par le nombre de larves se déposant sur l'algue coralline encroûtante *Titanoderma prototypum*, une espèce inductrice du recrutement bien connue. Les larves d'*A. cytherea* et *A. pulchra* ont évité l'exploration du fond à 1485 et 3022 μatm , respectivement, tandis que le nombre de larves d'*A. cytherea* et d'*A. pulchra* se déposant sur *T. prototypum* a été réduit à 3022 et 1485 μatm , respectivement. Ces résultats suggèrent que l'OA peut affecter négativement le recrutement des coraux via des effets directs sur le comportement de nage des larves, les larves évitant de sonder le benthos en réponse à une $p\text{CO}_2$ élevée.

Abstract

Biological and physical factors affecting coral recruitment and survival are critical in influencing the recovery of coral communities after disturbance. While ocean acidification (OA) can reduce coral settlement and the early growth of coral recruits, the impact of OA on coral larval swimming behavior is unknown. This study investigated the effects of OA on the swimming behavior and settlement of larvae from two common species of spawning corals (*Acropora cytherea* and *A. pulchra*). Larvae were exposed to four $p\text{CO}_2$ /pH conditions consistent with the current IPCC predictions for the next few centuries ($p\text{CO}_2$: 393, 853, 1485, 3022 μatm ; pH: 8.1, 7.8, 7.6, 7.3) in two laboratory experiments. In the first experiment, substratum exploration behavior was estimated as the proportion of the larvae present in the bottom part of vertical cylinders. In the second experiment, coral settlement was measured as the number of larvae settling on the crustose coralline algae *Titanoderma prototypum*, a well-known positive settlement cue. *A. cytherea* and *A. pulchra* larvae avoided bottom exploration at 1485 and 3022 μatm , respectively, while the number of *A. cytherea* and *A. pulchra* larvae settling on *T. prototypum* was reduced at 3022 and 1485 μatm , respectively. These results suggest that OA may negatively affect coral recruitment via direct effects on larval swimming behaviour, with larvae avoiding benthic probing in response to elevated $p\text{CO}_2$.

1. Introduction

Over the past 250 years, anthropogenic emissions of carbon dioxide (CO₂) are responsible for an increase in atmospheric CO₂ from approximately a partial pressure of 280 ppm prior to 1750 to over 400 ppm at present (Keeling et al. 2005; Meehl et al. 2007). These numbers still continue rising and it is predicted that the partial pressure of CO₂ ($p\text{CO}_2$) will have increased by 2100, depending on model type and assumptions, to between 730 and 1088 ppm (Meehl et al. 2007). Ocean uptake of atmospheric CO₂ alters the carbonate chemistry of seawater and has currently already reduced the global saturation state of the oceans by 20 % since 1800 (Orr et al. 2005; Raven et al. 2005). Organisms that accrete carbon, such as reef-building corals and calcifying algae, are directly affected, as calcification is reduced in seawater with lower pH due to depleted carbonate saturation (Schneider and Erez 2006; Anthony et al. 2008; Jokiel et al. 2008; Kuffner et al. 2008; Diaz-Pulido et al. 2012). These studies endorse the hypothesis that ocean acidification (OA) threatens the long term viability of coral reefs globally (Hoegh-Guldberg et al. 2007).

However, calcification is not the only process affected; many ecological processes which are essential for coral reef resilience are also impacted by ocean acidification, such as coral recruitment, herbivory, trophic integrity and connectivity (Knowlton 2001; Mumby et al. 2007). Coral recruitment is crucial for coral reef recovery following disturbance. Coral larval settlement and microhabitat selectivity are critical for successful coral recruitment and subsequent post-settlement survival (Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2009, 2016a; Price 2010). Coral larvae are capable of sensing fine scale settlement cues when they actively explore the benthos for suitable settlement substrates. In sub-optimal habitats, they can even delay or avoid settlement (Graham et al. 2008; Tran and Hadfield 2013). Certain crustose coralline algae (CCA) stimulate coral settlement and metamorphosis and act as preferred settlement substratum for larvae of numerous coral species (Morse and Morse 1996; Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2009; Price 2010; Sneed et al. 2014; Tebben et al. 2015; Doropoulos et al. 2016; Gomez-Lemos et al. 2018). However, interactions between settlement cues and coral larvae can be altered by environmental factors, such as OA, temperature and boat noise (Doropoulos et al. 2012a; Webster et al. 2013; Lecchini et al. 2018). Notably, OA can reduce coral settlement by disrupting the chemical and microbial cues produced by CCA, which act as signalling mechanisms used by coral larvae to settle (Albright and Langdon 2011; Doropoulos et al. 2012a; Doropoulos and Diaz-Pulido 2013; Webster et al. 2013).

Although coral larvae are weak swimmers and depend mostly on ocean currents for dispersal over long distances, they have the ability to use their swimming behaviour to control their position within the water column and to increase the probability that they will be transported to suitable settlement substrata (Szmant and Meadows 2006; Hata et al. 2017). Depending on chemical or physical cues, they can swim down to explore the substrate and eventually settle, or they can swim up to avoid their current environment by

being transported away by currents (Raimondi and Morse 2000; Gleason et al. 2006, 2009; Szmant and Meadows 2006; Ritson-Williams et al. 2009; Lagos et al. 2015; Da-Anoy et al. 2017). If OA acts as negative cues for swimming larvae, it may reduce the number of larvae reaching the reef and exploring the substratum, with detrimental downstream effects on coral recruitment. However, the effect of OA on coral larval swimming behavior, has to our knowledge, never been studied. This study tested the behavioural response and settlement success of two species of spawning corals (*Acropora cytherea* and *A. pulchra*) to a range of CO₂ concentrations in two separate laboratory experiments. The hypotheses were that coral larvae would respond to elevated pCO₂ by avoiding downward substratum exploration and settlement on a normally preferred settlement substratum.

2. Materials & Methods

2.1 Coral colony collection and larval rearing

Colonies of *A. cytherea* (n = 12) and *A. pulchra* (n = 8) were collected one day after the new moon in September and October 2018, respectively, from the back reef at ca. 2 m depth on the west coast of the island of Moorea, French Polynesia (17°33'14.4"S 149°53'07.5"W) and transported to the CRIOBE research station (Annex 2). Colonies were kept in aquaria with flow-through sand filtered water and constant aeration and checked each evening at 19 h. When signs of imminent sperm-egg bundle release were observed, colonies were isolated in 10 L buckets. Bundles from several colonies (n = 10 and 7 for *A. cytherea* and *A. pulchra*, respectively) were collected and mixed. The mixture was distributed over several small plastic containers (500 ml) containing filtered seawater (FSW, 0.45 µm) and left to fertilize for 2 h. Seawater used for larval rearing and experiments was collected from the outer reef slope just below the water surface. After rinsing the sperm, embryos were kept on an agitator at slow speed in a 12:12 light:dark regime and within a temperature range of 26–28°C. FSW was changed every 12 h. Dead larvae were simultaneously removed with the water changes. Five days following spawning, larvae began actively searching the substrate and were considered competent to settle. They were used in experiments within the following 5 days in the same temperature controlled room in which the larvae were raised. Thus, water temperature in all experimental treatments ranged between 26 and 28°C.

2.2 Experiment 1: Larval vertical swimming behavior assay

The effect of elevated pCO₂ on larval downward substratum exploration was tested by examining larval distribution within 500 mL graduated cylinders filled with FSW from four pCO₂ concentration treatments. Treatments included the control (pH 8.1, 393 µatm) and three elevated (pH 7.8, 853 µatm; pH 7.6, 1485 µatm; pH 7.3, 3022 µatm) levels of future CO₂ concentrations (Table 4.1) (Annex 6). These treatments were chosen to represent values corresponding to the future ocean acidification scenarios for the next few

centuries projected by the IPCC (Meehl et al. 2007). As pH is reduced in a predictable manner by elevated $p\text{CO}_2$, the CO_2 levels of the experimental waters were obtained by slowly diffusing CO_2 gas into the FSW, while continuously stirring the water and measuring the pH with a 914 pH/Conductometer (Metrohm, Switzerland) until they reached the desired levels. The calibration of the pH meter was checked before the start of each experiment, and recalibrated with Mettler-Toledo calibration buffers to 0.01 pH units when necessary. Alkalinity was measured on water samples (50 ml) from each treatment at the start of the experiments. Alkalinity replicates within a sample were analyzed until a maximum 2% error was met, using a Metrohm AGCH-9100 automatic titrator (Metrohm, Switzerland). The carbonate chemistry of the control and experimental seawater was calculated with CO2SYS (Lewis and Wallace 2006) using pH, total alkalinity, salinity ($36.5 \text{ ppt} \pm 0.3 \text{ SEM}$; $n = 6$) and temperature as inputs, with the constants from Mehrbach et al. (1973) refitted by Dickson and Millero (1987).

Table 4.1: Summary of the physical and chemical seawater values for CO_2 treatment levels

Treatment	Temp*		TA*	$p\text{CO}_2$ ♦	HCO_3^- ♦	CO_3^{2-} ♦	$\Omega_{\text{aragonite}}$ ♦
	°C	pH*	$\mu\text{mol kg}^{-1}$	μatm	$\mu\text{mol kg}^{-1}$	$\mu\text{mol kg}^{-1}$	
pH 8.1	26.6 (± 0.04)	8.06 (± 0.01)	2368 (± 12)	393 (± 10)	1794 (± 24)	235 (± 6)	3.8 (± 0.05)
pH 7.8	26.6 (± 0.04)	7.77 (± 0.01)	2365 (± 19)	853 (± 14)	2030 (± 21)	139 (± 3)	2.2 (± 0.05)
pH 7.6	26.6 (± 0.04)	7.56 (± 0.01)	2371 (± 20)	1485 (± 13)	2153 (± 16)	90 (± 4)	1.4 (± 0.04)
pH 7.3	26.6 (± 0.04)	7.27 (± 0.01)	2374 (± 14)	3022 (± 22)	2256 (± 19)	48 (± 4)	0.8 (± 0.07)

* Temperature, pH and total alkalinity (TA) are means ($\pm \text{SEM}$) of 6 replicates

♦ $p\text{CO}_2$, HCO_3^- , CO_3^{2-} and aragonite saturation (Ω) were calculated using CO2 SYS (Lewis & Wallace 2006)

Assays were carried out over two consecutive nights, with two runs per night, in order to keep graduated cylinders containing larvae in the dark. Each experimental run consisted of eight cylinders randomly assigned to each of the four $p\text{CO}_2$ treatments. Each cylinder was filled with the water of the assigned CO_2 level to a water column depth of 27 cm and, within fifteen minutes, fifteen actively swimming larvae were introduced in the middle of the cylinder. Larvae were haphazardly removed from various larval rearing containers for use in the cylinders. Every 30 minutes for a period of 2 hours, the numbers of larvae that were swimming in the bottom 3 cm (equivalent to 50 mL), middle and top 3 cm of the cylinder were counted by briefly illuminating (~ 20 s) each cylinder with a UV light. The pH of the cylinders was measured at the start and end of each experimental run with the pH probe submerged at 5 cm from the surface. There was no significant difference in pH between the start and end of each experimental run (Paired T-test: *A. cytherea* $T_{31} = 1.511$, $p = 0.141$; *A. pulchra* $T_{31} = 0.291$, $p = 0.772$).

To test for an effect of time and CO_2 level on larval downward substratum exploration, the percent of larvae found in the bottom 3 cm of the cylinders was analysed for each coral species separately using

repeated measures ANOVA with CO₂ treatments (4 levels) and time (4 levels) as fixed factors. When no significant effect of time and time x CO₂ level interaction was found, the percentage of larvae in the bottom 3 cm of the cylinders was averaged across all time points and compared between CO₂ treatments using a one-way ANOVA with Tukey-Kramer HSD posthoc tests. All statistics were done using R 3.3.5 using *nlme*, *car* and *emmeans* packages.

2.3 Experiment 2: Larval settlement assay

The effect of elevated *p*CO₂ on coral larval settlement was tested by examining the proportion of coral larvae settling on CCA (*Titanoderma prototypum*) and aragonite chips placed inside 200 ml sealed glass jars filled with FSW from the same *p*CO₂ concentration treatments described in Exp. 1 (Table 4.1) (Annex 7). In the Pacific, the genus *Titanoderma* has a remarkable capacity to induce the recruitment of several coral genera, including *Acropora* (Harrington et al. 2004; Price 2010; Doropoulos et al. 2012a), and is easy to identify to species level *in situ*. *T. prototypum* specimens (approximately 5 cm² of CCA surface) were collected on the day of the experiment from the back reef at ca. 2 m depth on the north coast of Moorea (17°28'51.5"S 149°50'52.6"W) using hammer and chisel. After cleaning of epiphytes, each specimen was cut using pliers to a 1 cm² (top surface area) size. The remaining of the specimen was examined using a dissecting microscope and verified at species level using anatomically based taxonomic schemes (Gordon et al. 1976; Adey et al. 1982). Aragonite coral frag plugs (Ocean Wonders, USA) were cut to a similar size to serve as control for the CCA settlement cue. At the start of the experiment at 1900 hrs, fifteen actively swimming larvae were introduced in each jar together with either a *T. prototypum* fragment or an aragonite fragment. Larvae were haphazardly removed from various larval rearing containers for use in the jars, and CCA and aragonite fragments were randomly assigned to individual jars. Six replicated jars were used per *p*CO₂ concentration and settlement substratum (CCA vs aragonite) treatment combination (total of 48 jars). At 0900 hrs the next morning, the number of coral larvae that had successfully settled on the fragments or still swimming, were counted under a binocular microscope (NB: no settlement was observed on the jar itself). pH was measured at the start and end of the experiment as for Exp. 1. There was no significant difference in pH values at the beginning and end of the experiments (Paired T-test: *A. cytherea* T₄₇ = 2.592, p = 0.127; *A. pulchra* T₄₇ = -2.371, p = 0.219). No to very little settlement occurred on the aragonite fragments. Therefore, only settlement data on *T. prototypum* were analysed. The effect of CO₂ level on larval settlement was tested for each coral species separately by comparing the percent of larvae that settled in the different *p*CO₂ concentration treatments using one-way ANOVA with CO₂ treatment (4 levels, fixed) as fixed factor, followed by Tukey-HSD posthoc tests. All statistics were done using R 3.3.5 using *car* and *emmeans* packages.

3. Results

3.1 Experiment 1: Larval vertical swimming behavior

There was a significant negative effect of elevated CO₂ on the percentage of larvae in the bottom 3 cm of the graduated cylinders for both coral species (Fig. 4.1; Table 4.2).

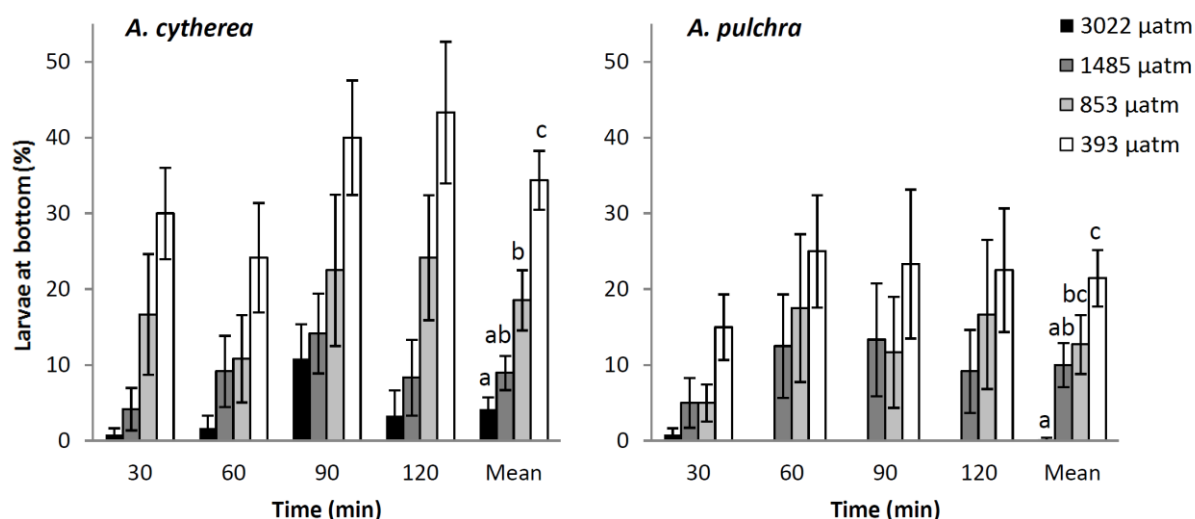


Figure 4.1: Percent (mean \pm SE, n = 8) of *Acropora cytherea* and *A. pulchra* planulae in the bottom 3 cm of the graduated cylinders in response to increased pCO₂. Letters indicate homogeneous subgroups by Tukey-Kramer HSD tests on data averaged across time periods.

There were no significant effects of time and time x CO₂ treatment. Post-hoc tests on data averaged across time periods indicated that bottom exploration by *A. cytherea* larvae was significantly reduced at 853 μatm compared to control pCO₂. Bottom exploration by *A. pulchra* larvae was significantly reduced at 1485 μatm compared to control pCO₂.

Table 4.2: Repeated measures analysis of variance testing for the effects of CO₂ treatment and time on the percentage of coral planulae in the bottom 3 cm of the cylinders for *Acropora cytherea* and *A. pulchra*.

Species	Effect	df	F	p
<i>A. cytherea</i>	CO ₂	3,32	17.76	<0.001
	Time	3,30	7.55	0.054
	CO ₂ x Time	9,62	12.94	0.165
<i>A. pulchra</i>	CO ₂	3,32	8.56	0.036
	Time	3,30	2.42	0.120
	CO ₂ x Time	9,62	1.57	0.665

3.2 Experiment 2: Larval settlement

No *A. cytherea* larvae and only one *A. pulchra* larvae settled on the 24 control fragments, demonstrating that settlement and metamorphosis did not occur as a result of increasing $p\text{CO}_2$ alone (Fig. 4.2). Although overall percent settlement on *T. prototypum* was low, there were significant differences in settlement on *T. prototypum* between CO_2 treatments for both species (One-way ANOVA: *A. cytherea* $F_{3,24} = 18.95$, $p < 0.001$; *A. pulchra* $F_{3,24} = -18.87$, $p < 0.001$). Settlement on *T. prototypum* declined rapidly with increasing $p\text{CO}_2$, particularly for *A. pulchra*. The number of *A. cytherea* and *A. pulchra* larvae settling on *T. prototypum* was significantly reduced from the control CO_2 level at 1485 and 853 μatm , respectively. No larval settlement and metamorphosis occurred at 1485 and 3022 μatm .

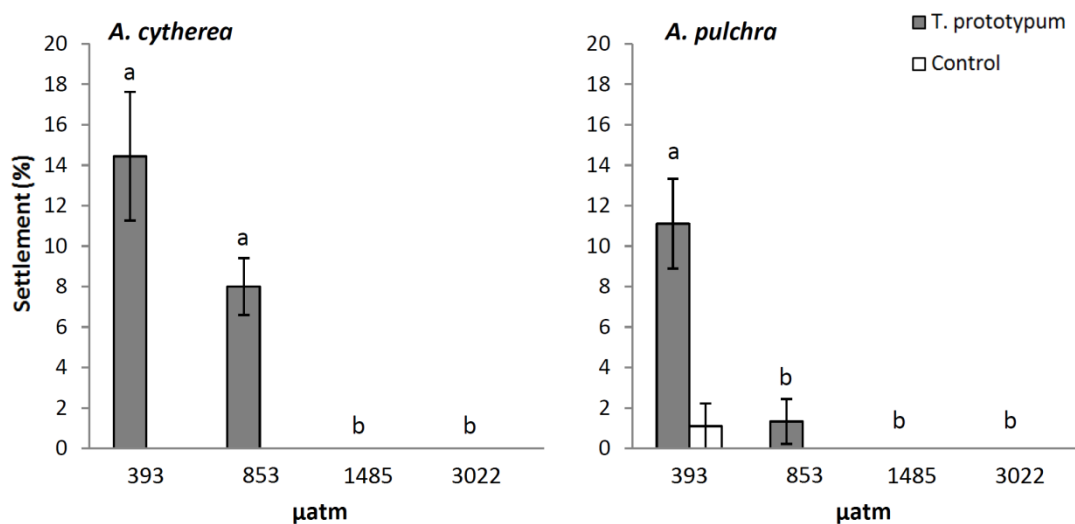


Figure 4.2: Percent (mean \pm SE, $n = 6$) of *Acropora cytherea* and *A. pulchra* larvae that settled on *Titanoderma prototypum* and control (aragonite) fragments in response to increased $p\text{CO}_2$. Letters indicate homogeneous subgroups by Tukey-HSD tests on *T. prototypum* settlement data.

4. Discussion

CCA are often the most preferred settlement substrata of spawning corals due to the presence of algal morphogens (Morse et al. 1988; Heyward and Negri 1999; Harrington et al. 2004) and associated epiphytic bacterial communities (Negri et al. 2001; Webster et al. 2004; Gomez-Lemos et al. 2018). Reduction in settlement with increasing $p\text{CO}_2$ has been associated with declines in CCA cover and recruitment rate (Hall-Spencer et al. 2008; Kuffner et al. 2008; Fabricius et al. 2011; Doropoulos et al. 2012a) and altered CCA composition of the settlement substrata (Albright and Langdon 2011; Doropoulos et al. 2012a). However, short-term studies using single species of CCA (i.e. without changing CCA abundance) found similar reductions in coral settlement, suggesting that OA reduces coral settlement by rapidly altering the chemical cues associated with the CCA thalli and/or their associated microbial community (Doropoulos et al. 2012a;

Doropoulos and Diaz-Pulido 2013; Webster et al. 2013). The negative settlement response to OA in our second experiment is consistent with these studies, providing support for this hypothesis. However, our first experiment demonstrates that OA reduces bottom exploration in coral larvae within minutes of exposure. This finding is important as it suggests that the reduction in settlement observed in the second experiment, and potentially earlier studies, could also be due to direct effects of OA on coral larval swimming behaviour, with larvae avoiding benthic probing in response to elevated $p\text{CO}_2$.

The results of our ~15h settlement assays disagree with those of Webster et al. (2013) who found no reduction in larval settlement of *A. millepora* on the CCA *Hydrolithon onkodes* using 18h assays, or after a 24h pre-exposure of larvae to acidified conditions followed by settlement assays with CCA extracts. Short-term exposure to low pH also did not affect the settlement rates of several brooding coral species (Albright et al. 2010; Albright and Langdon 2011; Anlauf et al. 2011). Webster and colleagues (2013) only found reduced settlement when the CCA was exposed to acidified conditions for a period of 6 weeks, overall suggesting that OA does not affect the physiology and searching behaviour of coral larvae. However, our results are consistent with those of Nakamura et al. (2011) who reported reductions in larval metamorphosis of *A. digitifera* after only 2h pre-exposure to seawater at pH 7.6 followed by settlement assays using CCA extracts. Nakamura and colleagues also found significant reduction in larval metabolic rates, as expressed by oxygen consumption, after 3 days exposure, indicative of an effect of OA on larval physiology. Together combined, OA could negatively affect coral recruitment through multiple mechanisms, including the disruption of chemical cues used by coral larvae to select a settlement site, the reduction of the abundance of appropriate settlement substrates, and the alteration of larval swimming behaviour as suggested by this study. Unfortunately, this study does not allow us to estimate the relative importance of each of these mechanisms. It does not preclude that chemical and/or microbial changes occurred to the CCA during the settlement assays and that those played a role in the reduction in coral settlement.

Coral larvae can change their vertical position in the water column according to chemical and physical cues (Gleason et al. 2009; Hata et al. 2017). A multitude of larval behaviours, including photo-, geo-, and barotaxis are potentially used during dispersal and settlement (Mundy and Babcock 1998; Raimondi and Morse 2000; Stake and Sammarco 2003; Gleason et al. 2006). Using the same experimental set up, Gleason et al. (2009) showed an increase in bottom exploration in larvae of two brooding species in reef water relative to oceanic water, suggesting that substances carried in reef waters could be used by larvae to select a settlement site. pH regimes vary enormously across small spatial and temporal scales on the reef and according to benthic organisms (Suzuki et al. 1995; Anthony et al. 2008; Hauri et al. 2010; Cornwall et al. 2013). Our study demonstrates that larvae will avoid exploring benthic substrates under acidified conditions. Since a slight water movement may be enough to transport larvae away to a new location, this behavior might help larvae to reach a more favorable environment. However, this will come at the cost of delaying

settlement. Short-term exposure to low pH can cause decreased metabolic rates in coral larvae, which is thought to act as an energy saving strategy for stressful conditions over short periods (Guppy and Withers 1999; Albright et al. 2008; Suwa et al. 2010; Albright and Langdon 2011; Nakamura et al. 2011). Assuming that the cost of delayed settlement is balanced by other advantages, such as increased post-settlement survival by settling in a more favourable environment, delaying settlement under low pH conditions combined with decreasing metabolism may be a short-term coping strategy for enhanced survival. However, this strategy might become detrimental under chronic CO₂ elevation and result in larvae having to settle with low energy reserves, or not settling at all. To better predict the effect of OA on coral recruitment, further research should investigate the swimming response of larvae that have been previously exposed to acidified conditions and test whether their avoidance behavior declines over time or varies in relation with energy reserves.

At very small spatial scales, pH increases during daytime and decreases in nighttime within macroalgal canopies and turf algal assemblages as a result of photosynthesis and respiration (Anthony et al. 2011; Cornwall et al. 2013). On macroalgal surfaces, pH values between 7.0 and 8.1 have been observed in darkness due to respiration, which can go far lower than the predicted values of pH under ocean acidification scenarios for the coming century (Beer and Larkum 2001; Caldeira and Wickett 2003; Larkum et al. 2003; Riebesell et al. 2009; Cornwall et al. 2013). There are no direct experimental studies assessing whether pH fluctuations on CCA surfaces will be less severe than on macroalgal surfaces. However, since DBLs are thinner over CCA surfaces than over macroalgal surfaces, pH fluctuations are likely to be lessened on CCA surfaces (Okubo et al. 2001; Cornwall et al. 2013; Jorissen et al. 2016). Therefore, the advantages of avoiding acidic environments may be more just than physiological; low pH levels may be used by coral larvae as a proxy of competition intensity. Many marine invertebrate larvae can delay settlement to avoid dominant competitors (Young and Chia 1981; Birrell et al. 2008; Rius et al. 2009; von der Meden et al. 2015). It is still unclear how larvae can recognize and classify many different species and their abilities as competitors. Using a proxy such as pH to gauge for the presence of competitors could provide coral larvae with the information they need.

Titanoderma sp. is known to be a highly inductive CCA for coral metamorphosis (Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2010). The abundance of *Titanoderma* sp. and the preferential settlement of coral larvae on this taxa were both demonstrated to decrease under elevated *p*CO₂ (Doropoulos et al. 2012a). Although much emphasis has been placed on the impact of OA on the ability of CCA to induce coral metamorphosis in coral larvae, studies on the effects of OA on coral larval settlement behaviour are still few. This study is first to examine the impacts of OA on the substratum exploration in coral larvae and adds to the growing body of literature demonstrating the negative effects of anthropogenic-induced OA on the recruitment of marine invertebrates. Our findings indicate that even small increases in *p*CO₂ concentrations

can significantly decrease explorative larval swimming behaviour and settlement. The compounding nature of increasing $p\text{CO}_2$ on successive early coral life history stages suggests that the consequences of OA on coral populations might be more severe than originally perceived. Although further studies are needed to fully understand the impacts of OA on coral recruitment, the reduction in larval benthic probing in response to elevated $p\text{CO}_2$ raise serious concerns for the recovery of reefs under future OA conditions predicted to occur into the next century.

Acknowledgements

We thank the staff of the CRIOBE research station for logistical support and Rachel Lamore for help with fieldwork. HJ was supported by a PhD grant (CORALINE) from the Laboratoire d'Excellence CORAIL. This work was funded by the Fondation de France (ACID-REEFS) and Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire (FRB, ACID REEFS2) to LH. Additional support was provided by PEPS Exomod CNRS (ALGECO) and ANR (no. ANR-18-CE02-0009-01) to MMN. All research was performed under annual research permits (unnumbered) issued by the French Polynesian Ministry of Research to the CRIOBE.

On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest.

Chapitre 5: Coral larvae avoid substratum exploration and settlement in low oxygen environments

Manuscript under revisions for Coral Reefs

Jorissen, Hendrikje¹; Nugues, Maggy M^{1,2}

1. EPHE, PSL Research University, UPVD-CNRS, USR3278 CRIOBE, F-66860 Perpignan, France.

2. Labex Corail, CRIOBE, 98729 Moorea, French Polynesia

E-mail address of communicating author: hendrikjejorissen@gmail.com

Résumé

L'oxygène est un facteur critique qui régit une multitude de processus et d'interactions essentiels à plusieurs échelles dans les récifs coralliens. Chez les coraux adultes, l'oxygène peut avoir un impact direct ou indirect sur des processus physiologiques, tels que la photosynthèse, la respiration et la calcification. De plus, de nombreux coraux blanchissent en réponse à l'hypoxie. La nature sessile des coraux adultes rend la sélection de l'habitat cruciale pour la survie post-implantation et donc les larves pélagiques utilisent un éventail de stimuli pour déterminer leur lieu d'implantation. Cependant, les effets de l'oxygène sur les premiers stades de vie des coraux sont encore mal connus. Cette étude a examiné l'importance de l'oxygène comme stimuli d'implantation et son effet sur le comportement des larves de coraux chez deux espèces d'*Acropora*. Deux expériences ont été réalisées, l'une examinant le comportement de nage des larves de corail sous différentes conditions d'oxygène et l'autre étudiant l'implantation des larves de corail sur un gradient d'oxygène. Les larves des deux espèces d'*Acropora* ont réduit leur comportement d'exploration du substrat dans des environnements réduits en oxygène. Lorsqu'elles sont exposées à un substrat approprié (*Titanoderma prototypum*) le long d'un gradient d'oxygène, elles se sont installées uniquement sur les substrats situés dans la partie oxygénée, avec des taux de colonisation augmentant de façon exponentielle avec la concentration en oxygène. Ces résultats suggèrent que les zones pauvres en oxygène affectent négativement le succès d'implantation des larves de coraux et que l'oxygène agit comme stimulus chimique pour l'orientation et l'implantation des larves de coraux.

Abstract

Oxygen is a critical factor that mediates a multitude of essential processes and interactions on multiple scales on coral reefs. In adult corals, oxygen can directly or indirectly impact physiological processes, such as photosynthesis, respiration and calcification. Moreover, many corals bleach as a consequence of being exposed to hypoxia. The sessile adult phase of corals makes habitat selection crucial for post-settlement survival and thus their pelagic larvae use a diverse array of cues to determine a suitable spot for settlement. However, the effects of oxygen on the early life stages of corals are still poorly known. This study investigated the importance of oxygen as a potential settlement cue and its effect on swimming and settlement behavior of coral larvae of two *Acropora* species. Two experiments were performed, one investigating coral larval swimming behavior under different oxygen conditions and the other studying coral larval settlement along an oxygen gradient. Larvae of both *Acropora* species avoided bottom exploration in reduced oxygen environments. When offered the choice to settle on an otherwise preferred settlement substrate (*Titanoderma prototypum*) along an oxygen gradient, they settled only on *T. prototypum* fragments placed in well-oxygenated environments, with settlement rates increasing exponentially with oxygen concentrations. These results suggest that low oxygen areas can negatively influence the settlement success of coral larvae and that oxygen is a chemical cue for coral larval orientation and settlement.

1. Introduction

Oxygen is a fundamental driver of the functioning and health of coral reef ecosystems, and the dynamics of coral reefs cannot be understood without comprehending the role of oxygen (Altieri and Gedan 2015; Nelson and Altieri 2019). It has recently been called the universal currency of coral reefs, as it is produced by photosynthetic organisms such as corals and algae, consumed by nearly all reef species, exchanged between mutualists, and suppressed by competitors and diseases (Nelson and Altieri 2019). However, research on the drivers behind the degradation and decline of tropical coral reefs has so far mainly focused on elevated ocean temperatures, ocean acidification, eutrophication and overfishing (Pandolfi et al. 2003; Bruno et al. 2007; Hoegh-Guldberg et al. 2007; Mumby and Steneck 2008; Jackson et al. 2014; McCauley et al. 2015). It is only recently that low dissolved oxygen levels (hypoxia) has gained attention (Mumby and Steneck 2008; Vaquer-Sunyer and Duarte 2008; Diaz and Breitburg 2009; Wangpraseurt et al. 2012; Côte and Knowlton 2013; Jorissen et al. 2016; Altieri et al. 2017; Nelson and Altieri 2019).

An analysis of global databases by Altieri et al. (2017) found that more than 10 % of all coral reefs are at risk of hypoxic related mortality events and that in all likelihood these events on tropical coral reefs are under reported. Hypoxia related mortality on coral reefs typically occurs because of a combination of factors that increase oxygen demand and/or prevent re-oxygenation (Nelson and Altieri 2019). These factors include coral spawn slicks (Hobbs and Macrae 2012; Andréfouët et al. 2015), excess organic matter and nutrients (Albert et al. 2012; Altieri et al. 2017), and increased seawater temperatures (Hobbs and McDonald 2010; Andréfouët et al. 2015; Altieri et al. 2017). The recent mass mortality events on coral reefs associated with hypoxia, together with a projected increase in frequency and severity of dead zones due to their synergy with other climate change variables, point toward the critical role of oxygen in coral reef environments and underline the importance of understanding how reef organisms respond to low-oxygen environments (Diaz 2001; Altieri and Gedan 2015; Altieri et al. 2017; Nelson and Altieri 2019).

Low dissolved oxygen levels do not only have an impact at large spatial scales, but can also play a key role at smaller scales by influencing the distribution and abundance of sessile marine invertebrates (Ferguson et al. 2013). For example, it can be a primarily limiting resource, used and exploited in the competition between benthic organisms, such as in interactions between corals and algae at micro- to millimeter scales (Barott and Rohwer 2012; Ferguson et al. 2013; Gregg et al. 2013; Jorissen et al. 2016).

There are only two options for organisms living on coral reefs to avoid low-oxygen environments, they must either cope or avoid these conditions. For mobile animals such as fish and zoo-plankton this means swimming up vertically in the water column to more oxygen rich environments (Ludsin et al. 2009; Teuber et al. 2013; Schlaff et al. 2014). However, the option to avoid stressful low oxygen environments is not available for sessile marine organisms, such as adult corals, for which oxygen is a critical direct and

indirect driver of many physiological processes, such as respiration, photosynthesis and calcification (Yonge 1932; Gardella and Edmunds 1999; Finelli et al. 2006; Colombo-Pallotta et al. 2010; Wijgerde et al. 2012, 2014).

Adult corals have coping strategies when encountering periods of hypoxia, such as switching from aerobic to anaerobic metabolic pathways (Vaquer-Sunyer and Duarte 2008). However, this is only a temporarily solution and requires a recovery period afterwards (Murphy and Richmond 2016). For corals, the mobile planula larvae phase might be the only opportunity to avoid low-oxygen environments. Coral larvae are weak swimmers and depend mostly on ocean currents for dispersal over long distances (Szmant and Meadows 2006; Hata et al. 2017). However, they have the ability to change their vertical position in the water, to swim down to explore the substrate and eventually settle, or to swim up to try and avoid being transported away by ocean currents (Szmant and Meadows 2006). Indeed many larvae of marine invertebrates, including coral larvae, have been shown to use chemical and physical cues to direct their vertical swimming behavior and increase the probability that they encounter suitable settlement substrata (Raimondi and Morse 2000; Gleason et al. 2006, 2009; Szmant and Meadows 2006; Ritson-Williams et al. 2009; Lagos et al. 2015; Da-Anoy et al. 2017). However, the effects of oxygen on coral larval behavior and settlement have hardly been studied.

In this study, the behavioral response and settlement preferences of two species of spawning corals (*Acropora cytherea* and *A. pulchra*) to a range of oxygen conditions were tested in two laboratory experiments. The hypothesis was that coral larvae would respond by avoiding downward substratum exploration and settlement in hypoxic conditions.

2. Materials & Methods

2.1 Coral colony collection and larval rearing

Colonies of *A. cytherea* (n = 12) and *A. pulchra* (n = 8) were collected one day after the new moon in September and October 2018, respectively, on the back reef at ca. 2 m depth on the West coast of the island of Moorea, French Polynesia (17°33'14.4"S 149°53'07.5"W) and transported to the CRIOBE research station (Annex 2). Colonies were kept in aquaria with flow-through sand filtered water and constant aeration and checked each evening at 19 h. When signs of imminent sperm-egg bundle release were observed, colonies were isolated in 10 L buckets. Bundles from several colonies (n = 10 and 7 for *A. cytherea* and *A. pulchra*) were collected and mixed, and the mixture was distributed over several small plastic containers (500 ml), containing filtered seawater (0.45 µm, FSW) and left to fertilize for 2 h. After rinsing the sperm, embryos were kept on an agitator at slow speed, in 12:12 light:dark regime and within a temperature range of 26-28°C. Filtered seawater was changed every 12 h. Dead planulae were simultaneously removed with the

water changes. After 5 days, the larvae were swimming and were used in experiments within the following 5 days. Experiments were conducted in the same temperature controlled room and thus water temperature in all experiments stayed between 26-28°C.

2.2 Experiment 1: Larval vertical swimming behavior assay

The effect of oxygen on larval downward substratum exploration was tested in 500 mL graduated cylinders with a water column depth of 27 cm. Treatments were filtered seawater with three different oxygen concentrations: 45-60 $\mu\text{mol l}^{-1}$, 130-150 $\mu\text{mol l}^{-1}$ and 190-200 $\mu\text{mol l}^{-1}$, thereafter called low, intermediate and high oxygen treatments, respectively (Annex 6). The concentrations of the low and intermediate treatments were obtained by slowly diffusing nitrogen gas into the seawater, while continuously stirring the water and measuring the oxygen content (OXROB3 oxygen probe and FireSting O₂ oxygen meter, PyroScience, Germany) until they reached the desired concentration. No nitrogen was added to the high oxygen treatment (i.e., ambient oxygen concentration was used). The oxygen concentrations were chosen to represent oxygen regimes which have been measured at night at the edges of benthic competitors of corals: 45-60 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (cyanobacteria, macroalgae, thick ungrazed turf), 130-150 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (well grazed/short turf algae) and 190-200 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ (corals, crustose coralline algae) (Barott and Rohwer 2012; Wangpraseurt et al. 2012; Gregg et al. 2013; Haas et al. 2013; Jorissen et al. 2016). Eight replicate cylinders were randomly assigned to each of three oxygen treatments. In each container, fifteen actively swimming larvae were introduced in the middle of the cylinder. Oxygen content of the cylinders was measured at the beginning and the end of each experimental run with the oxygen probe submerged at 5 cm from the surface. There was no significant difference between the oxygen concentration at the beginning and the end of each experiment in the graduated cylinders (Paired T-test: *A. cytherea* $t_{23} = 1.963$, $p = 0.062$; *A. pulchra* $t_{23} = 1.834$, $p = 0.080$). Every 30 minutes for a period of 2 hours, the number of larvae that were swimming in the bottom 3 cm (equivalent to 50 mL), the top 3 cm and the middle of the cylinder were counted.

To test for an effect of time and oxygen concentration on larval downward substratum exploration, the percent of larvae found in the bottom 3 cm of the cylinders was compared across oxygen and time using repeated measures ANOVA. When no significant effect of time and time x oxygen interaction was found, the percentage of larvae in the bottom 3 cm was averaged across all time points and compared between oxygen concentrations using a one-way ANOVA with Tukey-Kramer HSD posthoc tests. All statistics were done using R 3.3.5.

2.3 Experiment 2: Larval settlement assay

The effect of oxygen on coral larval settlement was tested in four 40 cm long hypoxitron tubes with a diameter of 4.8 cm (Fig. 5.2). The tubes were adapted from the design of the “hypoxitron 2” by Bodamer and Bridgeman (2014). The oxygen gradient in each hypoxitron was created by pumping ambient air on one end

and nitrogen on the other end in smaller tubes with microscopic holes during the entire duration of the experiment. The smaller tubes were attached and sealed at the bottom of the bigger plastic tube. The microscopic holes created micro-bubbles, barely visible to the naked eye, which generated very little water movement. During the testing of the hypoxitron, a coral larva was pipetted in the middle of the tube and its position and swimming behavior were followed for a period of 5 minutes. The test was repeated 20 times with new larvae. The micro-bubbles did not disturb the swimming trajectories of the larvae and the larvae could equally access all areas of the hypoxitron.

The experiment was run over 3 consecutive days. The end of the hypoxitron receiving ambient air and the end receiving nitrogen were initially assigned randomly and switched the next day. Pieces of the CCA *Titanoderma prototypum* were collected daily in the backreef of Moorea (17°28'51.5"S 149°50'52.6"W). In the Pacific, the genus *Titanoderma* has a remarkable capacity to induce coral recruitment (Harrington et al 2004; Price 2010; Doropoulos et al. 2012a). In each hypoxitron, 6 pieces, cut to a 1 cm² size, were placed every five centimeters. At the start of the experiment at 1900 hrs, thirty actively swimming larvae were introduced in the middle of each hypoxitron and at 0900 hrs the next morning the number of coral larvae that had successfully settled on each CCA chip or still swimming were counted under a binocular microscope. Oxygen was measured above each CCA piece with OXROB3 oxygen probes and FireSting O2 oxygen meter (PyroScience, Germany) to assess the gradient at the beginning and end of each experimental day. There was no significant difference in oxygen concentrations at the beginning and end of the experiments (Paired T-test: *A. cytherea* $t_{71} = -0.086$, $p = 0.932$; *A. pulchra* $t_{71} = -0.559$, $p = 0.578$).

The effect of oxygen on coral settlement was tested by comparing the percent of larvae that settled on each of the six settlement locations on the consecutive days of the experiment using repeated measures ANOVA. When no significant effect of day and day x settlement location was found, the percentage of settlement was averaged across all experimental days and compared at the different settlement locations using a one-way ANOVA with Bonferroni with Holm adjustment posthocs. Finally, pooling all consecutive days of the experiment, settlement rates were plotted against oxygen concentrations averaged between beginning and end measurements on each chip. Both linear and exponential curves were tested using regression statistics. All statistics were done using R 3.3.5.

3. Results

3.1 Experiment 1: Larval vertical swimming behavior

There was a significant effect of oxygen on the percentage of larvae in the bottom 3 cm of the graduated cylinders for both coral species (Table 5.1; Fig. 5.1).

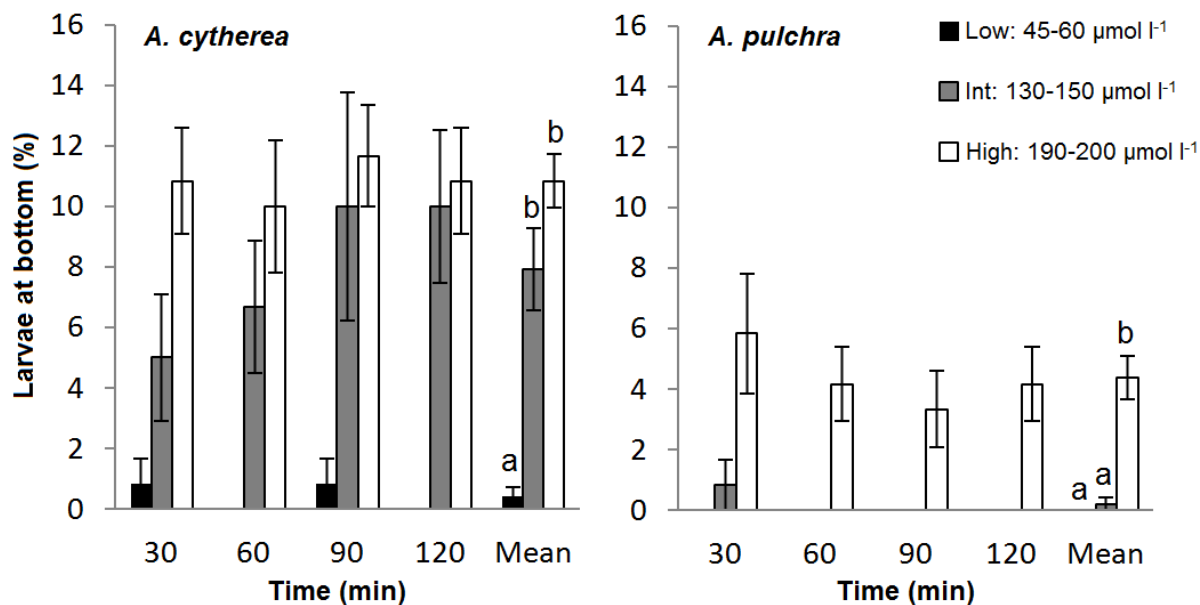


Figure 5.1: Percent of coral planulae (mean ± SE, n = 8) of (a) *Acropora cytherea* and (b) *Acropora pulchra*, swimming in the bottom 3 cm of the water column depth of 27 cm in the graduated cylinders for the three oxygen treatments. Letters indicate homogeneous subgroups by Tukey-Kramer HSD tests on data averaged across time periods.

No effect of time was found and there was also no interaction between time x oxygen treatment. Post-hoc tests on data averaged across time periods indicated that *A. cytherea* larvae avoided low oxygen water but were found exploring the bottom in both intermediate and high oxygen treatments.

Table 5.1: Repeated measures analysis of variance testing for the effects of oxygen treatment and time on the percent of larvae of *Acropora pulchra* and *Acropora cytherea* larvae in the bottom 3 cm of the cylinders.

Species	Effect	df	F	p
<i>A. cytherea</i>	Oxygen	2,24	47.97	<0.001
	Time	3,22	1.27	0.26
	Oxygen x Time	6,44	3.00	0.22
<i>A. pulchra</i>	Oxygen	2,24	37.64	<0.001
	Time	3,22	1.46	0.23
	Oxygen x Time	6,44	1.02	0.60

A. pulchra larvae explored the bottom less, even at high oxygen concentration. Almost no *A. pulchra* larvae were found exploring the bottom in low and intermediate oxygen treatments.

3.2 Experiment 2: Larval settlement

All larvae that had not settled at the end of the experiments were still swimming. There was an overall settlement rate of 26.94 % \pm 1.66 for *A. cytherea* and 17.78 % \pm 0.85 for *A. pulchra* (mean \pm SE, n = 12). There was no interaction effect between settlement location x day and day had no effect on settlement (Table 5.2).

Table 5.2: Repeated measures analysis of variance testing for the effects of day of the experiment and settlement location on the percent settlement of *Acropora pulchra* and *Acropora cytherea* larvae along the oxygen gradient.

Species	Effect	df	F	p
<i>A. cytherea</i>	Day (D)	2,22	0.05	0.976
	Settlement location (SL)	5,55	150.16	<0.001
	D x SL	10,75	0.75	0.687
<i>A. pulchra</i>	Day (D)	2,22	0.63	0.729
	Settlement location (SL)	5,55	171.92	<0.001
	D x SL	10,75	0.03	0.729

There was a significant effect of settlement location on settlement rates (*A. pulchra*: $F_5 = 32.02$, $p < 0.001$ and *A. cytherea*: $F_5 = 53.50$, $p < 0.001$. Bonferroni with Holm adjustment, $\alpha = 0.05$). Larvae of both coral species preferred settling on *T. prototypum* in high oxygen concentration water compared to water at intermediate oxygen concentrations, while completely avoiding settlement in hypoxic conditions (Fig. 5.2).

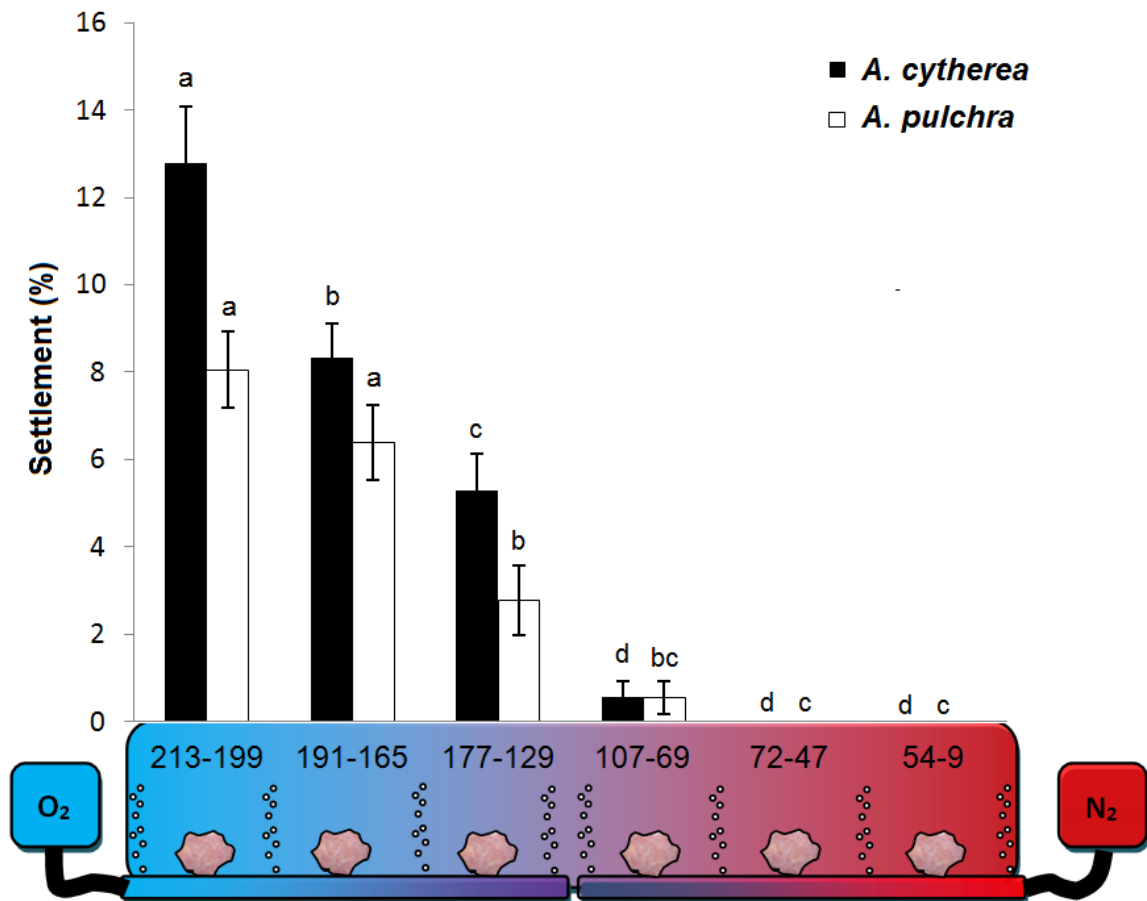


Figure 5.2: Percentage (mean \pm SE, n = 12) of *Acropora cytherea* and *Acropora pulchra* larvae that settled on pieces of *Titanoderma prototypum* and oxygen concentrations measured along the hypoxitron. The oxygen range on the x-axis represents the minimum and maximum values measured above the *T. prototypum* pieces in $\mu\text{mol l}^{-1}$. Letters indicate homogeneous subgroups of pairwise comparison (Bonferroni with Holm adjustment).

There was a positive relationship between settlement rates and oxygen concentrations, with settlement increasing exponentially rather than linearly with increased oxygen levels (*A. cytherea*, n = 72, $R^2 = 0.789$, $p < 0.001$; *A. pulchra*, n = 72, $R^2 = 0.709$, $p < 0.001$) (Fig. 5.3).

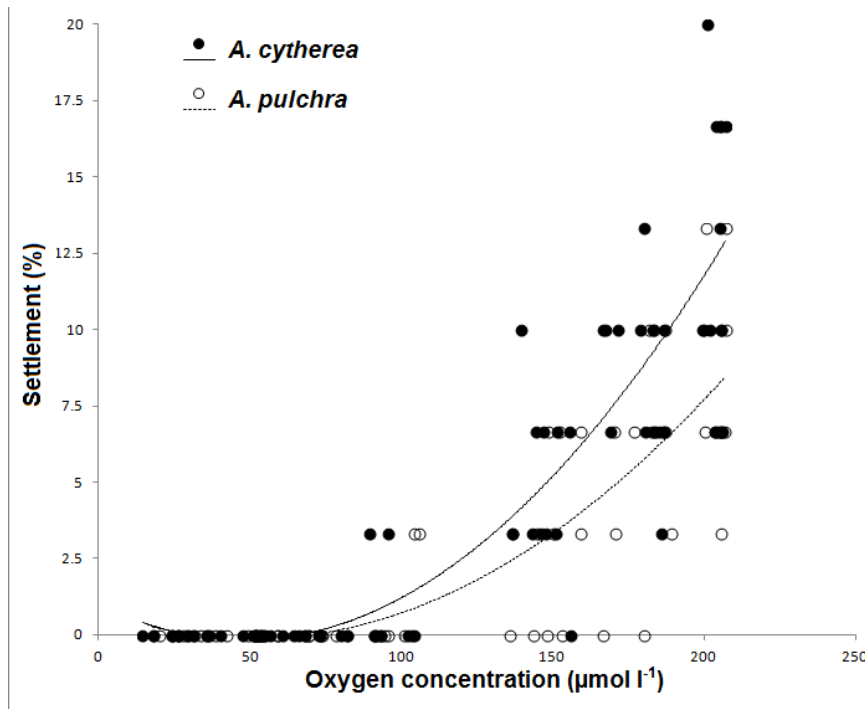


Figure 5.3: Settlement rates (%) in hypoxitron at different oxygen concentrations with fitted exponential curves (*Acropora cytherea*: solid dots and line, n=72, R²= 0.789; *Acropora pulchra*: white dots and dashed line, n=72, R²=0.709).

4. Discussion

Oxygen is a very important environmental variable for adult corals, as it can directly or indirectly impact physiological processes, such as photosynthesis, respiration and calcification. Moreover, many corals bleach as a consequence of being exposed to hypoxia (Yonge 1932; Zhu 2004; Altieri et al. 2017; Nelson and Altieri 2019). Our results suggest that corals can also be severely impacted by low-oxygen conditions during the settlement stage. Larvae of both *Acropora* species avoided bottom exploration in reduced oxygen environments. When offered the choice to settle on an otherwise preferred settlement substrate (*Titanoderma prototypum*) in oxygen rich or oxygen poor environments, they settled in the oxygen rich environment.

Chemotaxis, or the use of chemical cues, is very common among marine invertebrates as a mechanism to enhance their fitness by selecting optimal settlement habitats (Morse 1990; Rodriguez et al. 1993; Hadfield and Paul 2001; Dumas et al. 2014). Since habitat selection has a strong influence on their post-settlement survival, coral larvae are known to use a plethora of physical and chemical cues to find a suitable settlement substrate (Babcock and Mundy 1996; Harrington et al. 2004; Birrell et al. 2008; Ritson-Williams et al. 2009; Da-Anoy et al. 2017). However the use of oxygen as a chemical cue or oxytaxis has hardly been studied. While it is a common mechanism used by bacteria and micro-algae to avoid low oxygen environments (Hillesdon and Pedley 1996; Porterfield 1997), there are hardly any studies on the use of

oxygen as a chemical cue in marine invertebrates. A study by Forward et al. (2001) shows that post-larvae of brachyuran crabs use oxygen as a cue to delay metamorphosis, as hypoxia increases both mortality and time to metamorphosis (Forward et al. 2001; Tankersley et al. 2002). Another example is the study by Lagos et al. (2015), which shows that under low oxygen levels, larvae of the bryozoan *Bugula neritina* reduced the time spent in habitat exploration and delayed settlement. To our knowledge, the study by Lagos et al. (2015) was the only study so far demonstrating oxytaxis in a marine invertebrate with a biphasic lifecycle and our study is the first to demonstrate oxytaxis in coral larvae.

Although coral larvae rely on ocean currents to be transported over longer distances (Gleason et al. 2009; Hata et al. 2017), they can change their vertical position in the water column, responding to chemical and physical cues. They will swim down to explore benthic substrates and upward to escape unfavorable conditions by relying on water flow to carry them away (Stake and Sammarco 2003; Gleason et al. 2006, 2009; Szmant and Meadows 2006; Da-Anoy et al. 2017). Oxygen regimes vary enormously at small scales on the reef and according to benthic organisms (Ferguson et al. 2013; Gregg et al. 2013; Jorissen et al. 2016). Therefore, only a slight water movement may be enough to transport larvae away to a new location with a more favorable oxygen environment. While coral larvae can survive for a long time in the water column, the energy spent on swimming or staying in the water column cannot be used for post-settlement growth (Graham et al. 2008; Ritson-Williams et al. 2016a). Therefore, if behavioural avoidance of low-oxygen conditions is adaptive, the cost of delayed settlement should be balanced by other advantages, such as increased post-settlement survival by settling in a more favourable environment.

The high oxygen treatment was similar to values found on crustose coralline algae, while the low oxygen treatments were typical of those found on thick (ungrazed) turf algae and macro-algae (Barott and Rohwer 2012; Haas et al. 2013; Jorissen et al. 2016). These last two functional groups are known to be hostile competitors for coral recruits and thus well worth avoiding by coral larvae (McCook et al. 2001; Ritson-Williams et al. 2009; Mumby et al. 2013; Webster et al. 2015; Elmer et al. 2018). In contrast, crustose coralline algae are commonly favored by coral recruits (Morse and Morse 1991; Morse et al. 1994; Heyward and Negri 1999; Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2016a). It is plausible that the advantages of avoiding low oxygen environments are more just than physiological, but also that low oxygen levels are used by coral larvae as a proxy of competition intensity. Marine invertebrate larvae can delay settlement to avoid dominant competitors (Young and Chia 1981; Birrell et al. 2008; Rius et al. 2009; von der Meden et al. 2015). It is still unclear how larvae can recognize and classify many different species and their abilities as competitors. Using a proxy such as oxygen to gauge for the presence of competitors could potentially provide coral larvae with the information they need.

In the settlement assay, oxygen could have altered the composition of the microbial communities or the biochemistry of *T. prototypum* and the larvae could have responded to these changes instead of the

changes in oxygen concentrations. Disentangling these mechanisms would require running further experiments using chemical extracts of *T. prototypum*. However, previous research has shown that short term exposure (<24 hr) of settlement substrates to stressors such as low pH or high temperatures does not cause changes in settlement patterns of coral larvae (Albright et al. 2008; Webster et al. 2013). Moreover, when using biofilms in settlement experiments with marine invertebrates, these biofilms are generally conditioned for at least 7 days before use in experiments (Cheung et al. 2014). Finally, the results of the swimming behavior assay (i.e. without settlement substrate) support that coral larvae respond to different oxygen concentrations.

In adult corals, several case studies of hypoxic events have shown that there are differences in tolerance to hypoxia between coral genera. Guzmán et al. (1990) found that an hypoxic event following a dinoflagellate bloom in Caño island (Costa Rica) caused 90-100% mortality among *Pocillopora* spp. while other species such as *Porites lobata*, *Gardineroseris planulata*, *Pavona clavus* and *Pavona gigantea* were unaffected. Generally massive and encrusting corals, such as *Porites* and *Favia* spp., are the least affected by hypoxic events. Branching and solitary corals, however, such as *Acropora*, *Pocillopora*, *Stylophora*, *Fungia* spp suffer high mortality rates (Guzmán et al. 1990; Simpson et al. 1993; Genin et al. 1995; Adjeroud et al. 2001; Laboy-Nieves et al. 2001). In our experiment we saw a difference between coral larvae from the same genus. Unlike *A. cytherea*, *A. pulchra* avoided exploring the bottom at intermediate oxygen concentrations, suggesting a possible species-specific larval response to low-oxygen environments. These differences could be important to predict recruitment success and survival in certain locations and to make informed choices on which coral species can be successful to replenish certain degraded coral reef areas. Our results show that coral larvae are able to detect and to react to variations in local oxygen environments. This is a first step into investigating how local oxygen regimes can influence successful coral propagation and survival. It shows that oxygen can be an important factor to take into account when considering placement of coral reef nurseries, choices of reefs to protect and chances of success of reef recovery efforts.

Acknowledgements

We thank the staff of the CRIOBE research station for logistical support, and Anaïs Martin and Rachael Lamore for help with the collections of gametes during the coral spawning and for help in the lab. HJ was supported by a PhD grant (CORALINE) from the Laboratoire d'Excellence CORAIL. Additional support was provided by PEPS Exomod CNRS (ALGECO) and ANR (no. ANR-18-CE02-0009-01) to MMN. All research was performed under annual research permits (unnumbered) issued by the French Polynesian Ministry of Research to the CRIOBE.

Chapitre 6: Discussion

Cette thèse améliore notre compréhension du rôle des algues corallines, des micro-organismes et des produits chimiques dans la dynamique à petite échelle du recrutement des coraux aujourd'hui et dans les conditions futures du milieu marin en combinant plusieurs disciplines, dont l'écologie comportementale, la microbiologie, l'écologie chimique et la métabolomique, ainsi que plusieurs méthodes de recherche dont des expériences de terrain et de laboratoire. Les résultats marquants se résument en trois grands points discutés dans les trois sections suivantes: (1) les préférences d'implantation des coraux sont liées aux métabolites et assemblages microbiens des algues corallines. (2) Toutes les espèces d'algues corallines ne sont pas bénéfiques pour la survie et la croissance des recrues et il existe une variabilité considérable dans l'orientation et les processus de compétition entre les algues corallines et les coraux. (3) L'acidification des océans et les milieux pauvres en oxygène affectent négativement le recrutement des coraux via des effets directs sur le comportement de nage des larves, les larves évitant de sonder le benthos en réponse à une concentration élevée en CO₂ ou à une concentration faible en oxygène.

1. Objectif 1 : Examiner les signatures chimiques et microbiennes des algues corallines et leurs liens avec le recrutement des coraux

Les CCA fournissent des stimuli chimiques, physiques et microbiens aux larves de coraux. Mais la nature et l'importance des stimuli sont encore débattus, et on sait peu sur la façon dont ils interagissent (Morse and Morse 1991; Negri et al. 2001; Webster et al. 2004; Siboni et al. 2012; Sneed et al. 2014, 2015; Foster and Gilmour 2016; Gomez-Lemos et al. 2018). Malgré l'importance des CCA pour le recrutement des coraux, il existe des lacunes considérables dans notre compréhension des mécanismes chimiques et microbiens par lesquels certaines espèces de CCA facilitent la colonisation des coraux. De plus, notre compréhension de l'écologie chimique et microbienne du CCA est encore à ses balbutiements. Bien que les CCA abritent une grande diversité de bactéries (Sneed et al. 2015; Brodie et al. 2016; Quinlan et al. 2019), seules quelques espèces de CCA, principalement celles jouant un rôle dans le recrutement corallien, ont été étudiées. Des recherches sont nécessaires pour identifier les taxons procaryotes et pour déterminer la nature de la relation entre les bactéries et l'hôte calcifié (Sneed et al. 2015; Brodie et al. 2016; Hester et al. 2016; Quinlan et al. 2019). Plusieurs molécules chimiques ont été isolées et identifiées avec succès à partir des CCA. Beaucoup d'entre elles sont produites par des bactéries épiphytes et peuvent avoir un large éventail de fonctions, qui vont des activités inhibitrices cytotoxiques, antibiotiques, antifongiques et protéasomiques

(Kitamura et al. 2007, 2009; Tebben et al. 2011, 2014). Il manque actuellement des études systématiques sur la diversité métabolomique des espèces de CCA, qui sont essentielles pour explorer la fonction écologique du métabolome des CCA. Enfin, les informations sur le microbiome et le métabolome des CCA n'ont jamais été combinées et liées au succès du recrutement corallien.

Les résultats du premier chapitre de données (chapitre 2) montrent que toutes les espèces de CCA dans notre expérience ont induit des taux relativement élevés et similaires d'implantation totale (c.-à-d. incluant toutes les surfaces - surface supérieure de la CCA, roches sous-jacentes et substrats plastiques -), indiquant que l'implantation des coraux, indépendamment de la surface d'implantation, peut être induite par de nombreuses espèces de CCA. Les profils métabolomiques et microbiologiques des échantillons de surface différaient également de façon significative entre les espèces de CCA. L'observation selon laquelle les larves de coraux se sont installées à des taux relativement élevés en présence de microbiomes et métabolomes fortement différents suggère que l'implantation des coraux peut être médiée par plusieurs types de biofilms et / ou de produits chimiques. Cependant, cette conclusion diffère lorsque l'on considère les taux d'implantation à la surface des CCA uniquement. Les taux d'implantation à la surface des CCA diffèrent fortement entre espèces. En particulier, *T. prototypum* a induit une majorité de larves de coraux à se déposer sur sa surface plutôt que sur les surfaces plastiques ou de roche inertes adjacentes, par rapport aux autres espèces de CCA. Étant donné que cette espèce possédait également des communautés bactériennes et des empreintes métabolomiques distinctes, l'implantation directe sur les surfaces des CCA pourrait dépendre de composants microbiens et / ou chimiques spécifiques à l'espèce. En suivant les conclusions de Gomez-Lemos et al. (2018), j'en ai déduit que la reconnaissance initiale du biofilm épiphyte qui initie le processus d'implantation est déclenchée positivement par des biofilms provenant d'un large éventail d'espèces de CCA, tandis que l'attachement et la métamorphose sur la surface de CCA sont déclenchés positivement par des signaux chimiques produits par quelques espèces de CCA.

1.1 Métabolites des CCA et leurs rôles écologiques

Dans le milieu marin, les algues représentent une source élevée de diversité chimique, également appelée métabolites spécialisés. Aujourd'hui, plus de 3000 métabolites spécialisés ont été identifiés chez les algues rouges (Rhodophyta), vertes (Chlorophyta) et brunes (Ochrophyta) (Olafsson 2016). Ils sont impliqués dans la communication chimique et jouent diverses fonctions écologiques, telles que la dissuasion contre les compétiteurs et les herbivores (Hay and Fenical 1988; Dell and Hay 2016), la défense contre les agents pathogènes (Kubanek et al. 2003; Kremb et al. 2014) et les épibiontes (da Gama et al. 2014), et la protection contre les ultraviolets (Pessoa 2012). Ces produits chimiques sont également impliqués dans la compétition pour l'espace (Box and Mumby 2007; Foster et al. 2008) ou dans la communication chimique avec d'autres

organismes benthiques, tels que les coraux (Morse and Morse 1996; Tebben et al. 2015; Gomez-Lemos et al. 2018).

1.1.1 Mécanismes de défense physiques et chimiques des CCA

Les algues benthiques sont limitées à la zone euphotique des océans du monde, où la croissance et la diversité des colonisateurs potentiels sont les plus élevées. Les épibiontes sont connus pour avoir des effets néfastes sur les algues, ce qui est un facteur important pour l'évolution des défenses contre l'épibiose (c-à-d. les mécanismes antifouling). Les défenses physiques (ex: perte de l'épithallus superficiel) et chimiques (ex : signalisation chimique interactive avec les communautés bactériennes de surface) font partie des diverses stratégies que les algues utilisent pour se protéger des épibiontes nuisibles (da Gama et al. 2014). Bien que tous ces mécanismes aient été largement étudiés chez les macroalgues, il n'y a eu qu'une poignée d'études sur les CCA (Littler and Littler 2013).

Les CCA ont la capacité de garder leur épithallus exempt d'épiphytes (Keats et al. 1994, 1997), leur permettant de croître et de concurrencer avec succès l'espace (Kim et al. 2004). Par exemple, Vermeij et al. (2011) ont constaté que les communautés mixtes de CCA (principalement *Porolithon* spp. et *Hydrolithon* spp.) inhibent la croissance et le recrutement de l'algue *Ulva fasciata*. Cependant, on sait peu de choses sur le type de mécanismes antifouling impliqués dans la prévention d'implantation des macroalgues sur les CCA (Vermeij et al. 2011). À ce jour, deux mécanismes ont été suggérés. Le premier, la perte de l'épithallus superficiel, est de nature mécanique. Les cellules épithalliales se détachent, soit en feuilles soit individuellement; ce mécanisme est commun à de nombreuses espèces de CCA (Gordon et al. 1976; Steneck 1986; Keats et al. 1993, 1994, 1997; Littler and Littler 1997, 2013). Cependant, les taux de desquamation ne sont pas égaux entre les espèces de CCA (Masaki et al. 1984; Johnson and Mann 1986). Chez *Sporolithon* spp. et *Neogoniolithon* spp., on observe une desquamation synchrone des cellules épithalliales. La desquamation des cellules épithalliales peut aussi s'effectuer de manière séquentielle (ex : *Neogoniolithon mammillare*) ou diffuse (ex : *Porolithon* et *Hydrolithon*). Enfin, chez *T. prototypum*, il n'y a pas de desquamation. Cette anatomie et ce mode de croissance semblent être la clé de la survie post-colonisation élevée des coraux sur *T. prototypum* (Harrington et al. 2004) et peut expliquer la diversité bactérienne élevée que j'ai documenté sur cette espèce dans le chapitre 2.

Le deuxième mécanisme antifouling utilisé par les CCA est une stratégie chimique par laquelle la production de composés allélopathiques réduit l'implantation des spores d'algues (Denboh et al. 1997; Suzuki et al. 1998). Malgré le rôle connu des composés chimiques dans l'implantation et la métamorphose des larves de coraux sur les CCA, la nature potentiellement allélopathique de certains de leurs métabolites n'a jusqu'à présent reçu que peu d'attention. Certaines espèces de CCA utilisent des composés allélopathiques comme antifoulants naturels (Suzuki et al. 1998; Degnan and Johnson 1999). Par exemple, la

CCA *Lithophyllum yessoense* produit de multiples substances ayant une activité inhibitrice contre la colonisation et la germination des spores de plusieurs espèces d'algues (Kim et al. 2004). Dans les recherches de Harrington et al. (2004), des extraits de cinq espèces de CCA (*Neogoniolithon foslei*, *Porolithon onkodes*, *Hydrolithon reinboldii*, *Titanoderma prototypum* et *Lithoporella melobesioides*) ont induit des niveaux d'implantation allant jusqu'à 80% à des concentrations d'extrait faibles à moyennes, cependant, des concentrations plus élevées (50 mg CCA / mL) ont inhibé la fixation et la métamorphose des coraux. L'allongement des larves et une activité de recherche réduite à des concentrations élevées d'extrait indiquent la présence soit d'inhibiteurs d'implantation non spécifiques co-extraits par le méthanol, soit de composés allélopathiques dissous. Comme les larves de coraux se sont installées avec succès sur les fragments vivants de chacune des espèces de CCA testées dans leurs recherches, il est peu probable que ces espèces contiennent ou libèrent des produits allélopathiques contre la fixation des coraux à des concentrations naturelles. Par contre, des concentrations très faibles d'extraits étaient nécessaires pour induire l'implantation des coraux sur *T. prototypum*, ce qui conforte la piste chimique menant à l'attachement et à la métamorphose des coraux chez cette espèce.

Un troisième mécanisme pourrait être lié aux propriétés antifouling des microbes associés à la surface des CCA, car les bactéries marines vivant sur les biofilms peuvent produire des composés aux propriétés algicides (Holmström et al. 1996; Lovejoy et al. 1998; Armstrong et al. 2001; Egan et al. 2002; Patel et al. 2003; Silva-Aciaras and Riquelme 2008). Gomez-Lemos et Diaz-Pulido (2017) ont montré que trois espèces communes de CCA (*Titanoderma pustulatum*, *Porolithon onkodes* et *Neogoniolithon sp.*) ont une capacité remarquable à inhiber la colonisation des spores d'algues de *Padina boergesenii*, en utilisant une stratégie combinée d'allélopathie et d'inhibition microbienne, en plus de la desquamation du tissu épithallial. *T. prototypum* étant une espèce cryptique, donc vivant dans un environnement où le fouling est moindre, il se peut que ce mécanisme ne soit pas développé chez cette espèce, favorisant la fixation des coraux sur sa surface.

1.1.2 Métabolites et induction de l'implantation

La plupart des métabolites des algues qui sont allélopathiques aux coraux sont solubles dans les lipides, et non dans l'eau. Ces composés sont présents généralement à la surface d'algues où ils peuvent être efficaces directement dans la compétition pour l'espace avec d'autres espèces, telles que les coraux (Longo and Hay 2017). Alors que l'utilisation de composés allélopathiques pour concurrencer l'espace avec les coraux adultes a été largement documentée (Rasher and Hay 2010; Rasher et al. 2011; Vieira et al. 2016; Del Monaco et al. 2017; Longo and Hay 2017), peu d'études ont examiné l'effet des composés allélochimiques des algues sur les larves de coraux. L'implantation des coraux a été induit par le contact avec des composés non polaires liés aux parois cellulaires de certaines espèces de CCA (Morse et Morse 1991, 1996; Harrington

et al. 2004; Kitamura et al. 2007). Un morphogène trouvé dans les parois cellulaires purifiées du CCA *Hydrolithon boergesenii* a induit l'implantation des larves de coraux agaricidés (Morse et Morse 1991). La molécule était associée ou contenait du glycosaminoglycane, mais n'a jamais été structurellement caractérisée (Morse et Morse 1991). Plus récemment, deux classes de métabolites trouvés dans les parois cellulaires des CCA (glycoglycérolipides et polysaccharides) ont été identifiées comme les principaux composants de la fraction induisant l'implantation des coraux (Tebben et al. 2015). Bien que les deux classes de composés aient été détectées dans des échantillons naturels, elles n'ont pas été caractérisées avec succès et peuvent former des unités conformationnelles bioactives qui ne peuvent pas être purifiées (Tebben et al. 2015). Les études systématiques sur la diversité métabolomique des espèces CCA font actuellement défaut. Dans notre étude, nous avons constaté que les profils métabolomiques des échantillons de surface différaient considérablement entre les espèces des CCA et selon l'habitat. La majorité des métabolites que nous avons trouvés à des concentrations plus élevées dans *T. prototypum* par rapport aux autres espèces de CCA et qui pourraient être identifiés avec une grande certitude étaient les glycoglycérolipides, notamment les monoacylglycérols (MG), les monogalactosyldiacylglycérols (MGDG) et les digalactosyldiacylglycérols (DGDG), et les lipides de bêtaïne, diacylglycérol-N, N, N-triméthyl homosérine (DGTS). Les glycoglycérolipides ont récemment suscité de l'intérêt en raison de leur large éventail d'activités biologiques (da Gama et al. 2014; Zhang et al. 2014). Bien que ces lipides soient des constituants membranaires et cytosoliques omniprésents de toutes les cellules vivantes, la connaissance des processus biochimiques sous-jacents à leur synthèse ou plasticité est limitée (Han et al. 2012; Cajka and Fiehn 2014; Cutignano et al. 2016). Les glycoglycérolipides sont présentes dans toute vie photosynthétique, mais elles sont principalement produites par des organismes marins, en particulier les algues marines et les cyanobactéries (Leblond et al. 2010; Zhang et al. 2014). Ils ont une grande variété d'activités biologiques, notamment antibactériennes, antivirales, antifongiques, antimicrobales, antiherbivores, allélopathiques et antifouling (Deal et al. 2003; Plouguerné et al. 2010, 2014, 2020; Dusane et al. 2011; Kiran et al. 2014; Slattery and Lesser 2014). Des fractions contenant des glycoglycérolipides ont été signalées comme stimuli d'implantation pour les larves d'oursins (Takahashi et al. 2002), de méduses (Schmahl 1985) et de coraux (Tebben et al. 2015). Deux classes de glycoglycérolipides - les monogalactosyl monoacylglycérols (MGMG) et les sulfoquinovosyl diacylglycérols (SQDG) - ont été caractérisées comme les principaux constituants des fractions induisant la colonisation corallienne de *Po. onkodes* (Tebben et al. 2015). Par conséquent, ces lipides pourraient en effet jouer un rôle important dans le recrutement des invertébrés marins. Une autre classe de lipides polaires, les lipides de bêtaïne (BL) étaient également présents en tant que DGTS. Les lipides de bêtaïne sont considérés comme analogues à la phosphatidylcholine dans les bactéries, les champignons, les algues et les plantes terrestres basales. L'équilibre entre les lipides de bêtaïne et les phospholipides a longtemps été compris comme une stratégie adaptative pour faire face à une carence périodique en phosphore en milieu naturel. Cependant,

dans certaines espèces d'algues, les BL semblent jouer un rôle distinct même si les connaissances sont minimales à ce sujet (Murakami et al. 2018). Les DGTS sont prédominants dans les algues rouges (Melo et al. 2015). Parmi les 15 VIP que nous avons trouvés sur *T. prototypum*, il y a une bonne probabilité que des glycérophospholipides comme les phosphatidylcholines (PC) soient également présents. Contrairement aux glycérolipides, les PC sont associés à des membranes non photosynthétiques. Les phospholipides avec des esters de cire et des triglycérides sont les principales classes de lipides dans certains œufs ou planules de corail (Imbs et al. 2019). Cependant, soit il manquait des ions fragmentés pour les identifier davantage, soit les erreurs calculées entre les m/z observés et théoriques étaient élevées, soit nous n'avons pas pu confirmer leur identité dans les bases de données et la littérature. L'identification des glycérophospholipides et généralement des glycérolipides est difficile en raison d'un grand nombre d'isomères structuraux et de la formation de différents ions avec divers adduits. Des recherches plus approfondies devraient isoler et identifier exactement ces métabolites et les tester dans des analyses de tassement pour déterminer s'ils sont responsables de l'induction d'implantation.

1.2 Bactéries liées à l'induction des colonies

Des expériences de culture bactérienne ont identifié plusieurs bactéries associées à la surface des CCA capables d'induire l'implantation des coraux lorsqu'elles sont proposées sous forme de films bactériens monospécifiques (Negri et al. 2001; Siboni et al. 2012, 2014; Sneed et al. 2014). En particulier, les isolats bactériens appartenant au genre *Pseudoalteromonas* ou affiliés à celui-ci peuvent induire des taux élevés de métamorphose et / ou d'attachement des larves de coraux (Negri et al. 2001; Tebben et al. 2011; Sneed et al. 2014). Cependant, sa capacité inductive est considérablement réduite lorsqu'elle est présentée dans un biofilm d'espèces mixtes (Tran and Hadfield 2011). À ce jour, la pertinence écologique des isolats bactériens inductifs dans le milieu naturel reste incertaine. De plus, ces études sont limitées par les limites des approches fondées sur la culture, qui révèlent moins de 1% de la communauté naturelle (Staley and Konopka 1985). Plusieurs études ont utilisé des techniques indépendantes de la culture pour examiner les communautés bactériennes associées au CCA. Bien que ces études aient montré que les espèces de CCA abritent des communautés bactériennes très diverses et distinctes (Sneed et al. 2015; Brodie et al. 2016; Quinlan et al. 2019), l'implantation corallienne n'a jamais été reliée à la composition de la communauté de microbiomes de CCA en utilisant les mêmes échantillons biologiques. Les surfaces des espèces CCA dans nos expériences étaient dominées par des protéobactéries, en particulier des alphaprotéobactéries, ce qui correspond aux études antérieures sur le microbiome des CCA (Barott et al. 2011; Webster et al. 2011, 2013; Sneed et al. 2015). *T. prototypum* avait la plus grande abondance d'ASVs appartenant aux *Alphaproteobacteria*. Cette classe de bactéries est dominante dans les premiers stades de vie des coraux (Lema et al. 2014). Huit ASVs qui ont largement contribué à la séparation entre les espèces CCA

appartenait à cette classe et n'étaient présents que sur *T. prototypum*. De ces huit ASV, les deux contribuant le plus à la dissimilarité entre les espèces de CCA appartenaient à l'ordre des Thalassobaculales et étaient étroitement liés aux OTUs associées à *Po. onkodes* d'une étude précédente (Webster et al. 2013). Ces deux ASV n'ont pas été trouvés sur *Po. onkodes* dans notre étude, ce qui suggère que ces bactéries peuvent différer de celles de Webster et al. (2013). Le troisième ASV le plus important était fortement associé à «*Roseobacter* sp. S4466 » (99,56%; BLAST). La plupart des bactéries du clade *Roseobacter* forment des biofilms et produisent des composés antibactériens (par exemple, l'acide tropothiétique), qui sont efficaces contre les agents pathogènes marins, y compris *Vibrio* spp., l'une des bactéries causant les maladies les plus fréquemment rencontrées dans le milieu marin (Brinkhoff et al. 2004, 2008; Bruhn et al. 2005, 2007; Garren et al. 2009; Sharp et al. 2015). Par conséquent, la présence de ce clade sur *T. prototypum* pourrait protéger les coraux nouvellement installés contre la maladie, soutenant l'hypothèse de Sneed et al. (2015) que les larves de coraux sélectionnent des substrats qui contiennent des bactéries bénéfiques à leur surface et évitent celles qui hébergent des bactéries pathogènes ou allélopathiques. *Roseobacter* sont également les premières bactéries acquises dans l'eau de mer par les larves de l'espèce de corail *Pocillopora meandrina* (Aprill et al. 2009). Quatre autres ASV appartenaient à la classe des Rhodospirillales, qui était la classe la plus abondante d'alphaprotéobactéries identifiées chez *T. prototypum* et, plus spécifiquement, à la famille des Rhodospirillacées. Les rhodospirillacées sont des bactéries importantes associées aux communautés de Symbiodiniaceae dans les coraux adultes à l'échelle mondiale (Bernasconi et al. 2018; Quigley et al. 2019). Ces taxons bactériens favorisent la productivité de l'hôte et régulent la stabilité des communautés de symbiotes dans les écosystèmes aquatiques et terrestres (Banerjee et al. 2018).

1.3 Lien entre les préférences d'implantation larvaire des coraux et les signatures chimiques et microbiennes

Alors que toutes les espèces de CCA ont induit des taux relativement élevés de colonisation totale, une seule espèce (*T. prototypum*) a induit une majorité de larves de coraux à se déposer sur la surface de CCA, plutôt que sur des coraux morts ou des surfaces inertes à proximité. Cette espèce possédait des communautés bactériennes épiphytes fortement distinctes et des empreintes métabolomiques, soutenant que les larves de coraux utilisent des métabolites CCA et des assemblages microbiens pour sélectionner les sites d'attachement et de métamorphose. Nous avons constaté que le métabolome et le microbiome des CCA différaient considérablement entre les espèces. Ceci est en accord avec Sneed et al. (2015) qui ont signalé que quatre espèces de CCA des Caraïbes avaient une communauté bactérienne unique au niveau de l'unité taxonomique opérationnelle, ainsi que des recherches sur d'autres organismes calcificateurs marins, y compris les coraux (Nielsen et al. 2015; Quinlan et al. 2019; Vohsen et al. 2019). Fait intéressant, le métabolome et le microbiome des différentes espèces de CCA ont montré des clusters distincts selon des

niches écologiques. En particulier, plusieurs paires d'espèces CCA appartenant à la même niche écologique partagent le même métabolome et/ou microbiome. Ces résultats suggèrent que des facteurs environnementaux, tels que la lumière, le rayonnement UV, le régime hydrodynamique et l'herbivorie, qui diffèrent selon les niches écologiques, pourraient influencer le métabolome et le microbiome des CCA. Les abondances relatives des classes de lipides, ainsi que leurs composants individuels au sein d'une classe, varient fortement chez les espèces d'algues en fonction de l'état physiologique, de la disponibilité des composants élémentaires (N, P et Si), de la température, de la salinité, du cycle lumière/obscurité et de la phase de croissance (Sharma et al. 2012; Cutignano et al. 2016). Des différences dans les profils métaboliques et la diversité en fonction des conditions environnementales ont été signalées chez plusieurs espèces de coraux (Vohsen et al. 2019) et de plantes terrestres (Son et al. 2009; Bernhardsson and Ingvarsson 2012; Carreno-Quintero et al. 2013; Jiang et al. 2014). De même pour les microbes, les paramètres environnementaux, tels que la température et le pH, provoquent des changements microbiens dans les CCA (Webster et al. 2011, 2013). Les larves de coraux sont connues pour répondre à des paramètres physiques, tels que la lumière, le rayonnement UV, la profondeur, la couleur et le son (Ritson-Williams et al. 2009). En particulier, la lumière peut influencer leur orientation d'implantation, les larves se déposant dans des habitats cryptiques sous des régimes de forte luminosité (Babcock and Mundy 1996). L'observation que les larves de coraux se sont installées sur une espèce cryptique qui avait un microbiome et un métabolome distincts suggère que des signaux microbiens et / ou chimiques pourraient aussi servir d'indicateurs environnementaux pour les coraux à la recherche d'un habitat et d'un substrat convenables.

Notre étude a révélé une forte corrélation entre les ensembles de données du métabolome et du microbiome, avec des distinctions claires suivant les espèces et les niches écologiques. Des corrélations entre le métabolome et les compositions des communautés microbiennes ont été décrites chez les coraux (Sogin et al. 2017). Cependant, notre étude est la première à le documenter pour les CCA. Nous avons pu identifier plusieurs fortes corrélations entre les ASVs et les métabolites qui étaient tous deux abondants dans *T. prototypum*. Plusieurs variantes de séquence d'amplicons liées à des bactéries bénéfiques pour la santé des coraux et deux classes de lipides - glycolipides et lipides de bétaïne - présentes dans *T. prototypum* ont été identifiées comme des indices omiques influençant potentiellement l'implantation corallienne. Cependant, il faut rester prudent sur le rôle possible des bactéries et des métabolites dans les processus d'implantation des coraux. Notre étude soutient le lien entre le métabolome/microbiome des CCA et les préférences d'implantation des coraux, mais elle n'apporte aucune preuve de causalité et donc elle ne permet pas de tirer des conclusions définitives.

1.4 Perspectives futures

Des recherches futures devraient combiner l'isolement et la culture de bactéries en présence de métabolites primaires dérivés des CCA (par exemple, le DOC) avec l'identification chimique pour établir si des bactéries clés produisent des morphogènes clés et pour démêler les communications biochimiques complexes entre les CCA, leurs communautés de surface microbienne associées et les larves de coraux. Les résultats que nous avons présentés dans notre recherche augmentent notre connaissance du métabolome et du microbiome des CCA et fournissent une base pour de futures recherches sur le rôle des métabolites et des assemblages microbiens sur l'implantation larvaire des coraux.

Dans notre étude, *T. prototypum* avait la plus grande abondance d'ASV appartenant aux Alphaproteobacteria, par rapport aux autres espèces de CCA. De plus, les 8 ASVs ayant le plus fort effet sur la séparation entre les espèces CCA appartenaient tous à cette classe et n'étaient présents que sur *T. prototypum*. Il a également été démontré que les alphaprotéobactéries sont plus dominantes au début de la vie des coraux et que, plus tard dans la vie, la dominance se déplace vers les gammaprotéobactéries (Lema et al. 2014). Ces observations soutiennent l'hypothèse de Sneed et al. (2015) qui proposent que les communautés bactériennes associées aux CCA pourraient servir de réservoir pour le développement du microbiome des jeunes recrues. Cette hypothèse est aussi soutenue par Sharp et al. (2010) qui ont découvert que les coraux émetteurs de gamètes n'acquièrent pas, ou ne sont pas colonisés par, un nombre décelable de bactéries qu'après fixation des larves et le développement du polype juvénile. Ces recherches donnent les perspectives pour tester de nouvelles hypothèses concernant les mécanismes qui régulent le développement du microbiome chez les coraux, et notamment du rôle du substrat d'implantation. En outre, une étude histologique plus approfondie de la présence bactérienne chez les recrues coralliennes est nécessaire pour déterminer quand et comment les bactéries pénètrent dans les tissus coralliens.

Les facteurs de stress globaux (acidification des océans, augmentation de la température de la surface de la mer, hypoxie) et locaux (compétition par les algues) ont un impact sur la reproduction et le recrutement des coraux (Hughes et al. 2017). L'élevage des coraux et la restauration des récifs offrent une solution potentielle pour atténuer le manque de recrues naturelles chez les espèces de coraux menacées par la construction des récifs (Petersen et al. 2005, 2006, 2008). Ma thèse confirme conclusions antérieures selon lesquelles *T. prototypum* a une remarquable capacité à induire le recrutement des coraux (Harrington et al. 2004; Price 2010; Doropoulos et al. 2012a) et à dissuader le recrutement des macroalgues (Gomez-Lemos and Diaz-Pulido 2017). Cette espèce pourrait ainsi contribuer aux efforts de restauration, par exemple, en obtenant des densités élevées de *T. prototypum* sur des substrats d'implantation artificiels préconditionnés sur le terrain. Ces substrats pourraient permettre une forte implantation de larves de coraux élevées en laboratoire et maximiser la survie des recrues sur le terrain. Il serait judicieux de déterminer les paramètres environnementaux qui permettent le recrutement et la croissance de *T.*

prototypum. De plus, la recherche sur les fractions chimiques induisant l'implantation des coraux à partir des CCA pourrait être le point de départ pour synthétiser ces stimuli en laboratoire. Cela permettrait l'utilisation à grande échelle de ces signaux synthétiques pour obtenir des taux d'implantation élevés dans des conditions de laboratoire sur des substrats d'implantation artificiels ou une application directe *in situ* pour augmenter le repeuplement des récifs récemment blanchis, à l'instar du « fly paper » développé initialement par Morse et al. (1994).

Les communautés bactériennes des CCA peuvent être modifiées par des changements environnementaux tels que la température (Webster et al. 2011), le pH (Webster et al. 2013) ou les maladies (Kimes et al. 2010). Ces changements entraînent généralement d'importants changements microbiens impliquant la perte de taxons spécifiques et l'apparition de nouveaux groupes microbiens (Webster et al. 2013; Nielsen et al. 2015; Nelson et al. 2020). De plus, des effets interactifs entre les facteurs de stress ont également été identifiés (Webster et al. 2016; Nelson et al. 2020). Webster et al. (2016) ont révélé que le corail *Acropora millepora* et le CCA *Hydrolithon onkodes* ont développé des communautés microbiennes distinctes dans différentes conditions de $p\text{CO}_2$ qui n'étaient évidentes qu'à 31°C. Par conséquent, il serait important d'analyser le microbiome des principaux organismes des récifs coralliens dans des conditions climatiques futures et d'évaluer les impacts combinés de ces facteurs de stress.

La métabolomique en sciences marines est une discipline émergente qui peut apporter des informations utiles, non seulement sur la communication chimique entre les organismes, mais aussi pour explorer les réponses des organismes marins aux changements environnementaux ou aux facteurs de stress. Les facteurs de stress globaux, tels que l'acidification des océans et les températures élevées, réduisent l'implantation des coraux, très probablement en perturbant la médiation chimique entre les larves coralliennes et les CCA (Webster et al. 2011, 2013; Fabricius et al. 2017). L'étude du métabolome est une approche intéressante pour poursuivre les travaux sur les effets du changement climatique sur les algues corallines, en particulier parce que les métabolites sont impliqués dans de nombreuses fonctions importantes telles que les mécanismes d'antifouling ou d'induction du recrutement. Les empreintes métabolomiques peuvent fournir une image globale pour comprendre les différentes voies biochimiques impliquées et reprogrammées sous des perturbations environnementales. Les développements récents des techniques analytiques en chromatographie liquide-spectrométrie de masse (LC-MS) et en résonance magnétique nucléaire (RMN) permettent l'observation et la comparaison d'un métabolome de plus de milliers de métabolites dans différentes conditions expérimentales. De plus, la chimie est fortement liée à la biologie et peut fournir des informations importantes pour mieux comprendre et prédire comment les organismes marins s'adapteront ou évolueront dans l'océan futur.

2. Objectif 2: Effets contrastés des algues corallines sur les recrues

Le deuxième chapitre de données (chapitre 3) pallie à l'absence d'études expérimentales sur les interactions entre CCA et recrues des coraux. Dans notre expérience, nous avons testé les effets compétitifs de plusieurs espèces de CCA sur les recrues, en comparant la survie et la croissance de recrues du genre *Pocillopora* situés à proximité (<1 mm) de CCA vivantes et mortes sur une période d'un an. Pour évaluer les effets de l'habitat et de la taille des recrues, les interactions entre quatre espèces communes de CCA de deux habitats (exposé et subcryptique) et des recrues de deux classes de taille ont été comparées. Un contrôle CCA morte distinct a été utilisé pour chacun des deux habitats pour tenir compte des différences de facteurs environnementaux. Pour déterminer les traits d'histoire de vie qui affectent la façon dont les CCA interagissent avec les recrues, les taux de croissance latérale ont été calculés en l'absence de concurrents pour chaque espèce de CCA et contrastés avec leurs effets compétitifs sur les recrues. De plus, pour faire des hypothèses sur les mécanismes sous-jacents, la mort des recrues a été attribuée à différentes causes de mortalité.

Les résultats de notre expérience démontrent que la survie et la croissance post-colonisation tardive des recrues de coraux sont considérablement affectées par la présence des CCA et qu'il existe une variabilité considérable à la fois dans l'orientation et les processus d'interaction entre les CCA et les recrues. Les différentes espèces de CCA examinées dans cette étude ont montré des effets contrastés sur les recrues en fonction de l'habitat et de la taille des recrues. Contrairement à notre hypothèse, les deux espèces de CCA subcryptiques ont eu un effet négatif sur la survie des recrues de petite taille par rapport au contrôle (CCA morte). En revanche, les deux espèces de CCA exposées ont eu un effet positif. Les espèces subcryptiques de CCA n'ont pas affecté la survie des recrues de grande taille, soutenant que les coraux subissent un changement ontogénique dans la compétition et sont capables de résister à la prolifération des CCA lorsqu'ils atteignent une certaine taille (Buenau et al. 2012).

2.1 Mécanismes de défense des CCA

Les CCA les plus favorables à l'implantation et à la survie des coraux sont souvent considérées comme étant des taxons cryptiques sur lesquels les coraux s'installent directement (Harrington et al. 2004; Price 2010; Ritson-Williams et al. 2010; Doropoulos et al. 2012a). Dans le premier chapitre de données de cette thèse, nous avons également confirmé une forte préférence des larves d'*A. cytherea* pour l'espèce cryptique de CCA, *T. prototypum*. Ces taxons de CCA préférés forment des croûtes minces (Buenau et al. 2012) qui sont relativement rares dans les habitats exposés ou subcryptiques car ils sont très sensibles à l'herbivorie et à la compétition (Steneck et al. 1991). Vraisemblablement, les recrues coralliennes peuvent vivre plus longtemps sur ces taxons cryptiques, leur permettant de croître pour finalement atteindre une exposition ensoleillée en

tant que coraux adultes (Harrington et al. 2004). La microscopie électronique à balayage a révélé que *T. prototypum* n'a pas de taux de croissance vertical élevé car son épithallus reste généralement intact, sans desquamation. Cette anatomie et ce mode de croissance semblent être la clé de la survie post-colonisation élevée des recrues sur *T. prototypum* (Harrington et al. 2004). Cependant, *T. prototypum* est rare et donc dans notre étude, nous nous sommes concentrés sur les espèces CCA dominantes sur la pente externe de Moorea et leur interaction avec les recrues coralliennes placées en contact presque directe avec l'algue. Les quatre espèces de CCA étudiées possèdent des croûtes épaisses qui résistent relativement bien aux agressions (Steneck 1986; Steneck et al. 1991) et capable de croître sur les recrues (Maida et al. 1994; Dunstan and Johnson 1998) et les coraux adultes (Keats et al. 1997; Antonius and Afonso-Carillo 2001). Une grande partie des défenses des espèces de CCA ne fonctionnent que si la recrue corallienne s'installe directement sur les thalles des CCA (Harrington et al. 2004). Cependant, la compétition avec les recrues adjacentes aux CCA a été beaucoup moins étudiée. Dans notre étude, nous avons constaté que les recrues adjacentes aux CCA subcryptiques mouraient fréquemment de la compétition directe avec la CCA, ce qui suggère que cette compétition pourrait être une source importante de mortalité chez les recrues et un mécanisme compétitif important affectant les recrues s'installant à proximité de taxons CCA subcryptiques à croûte épaisse.

Contrairement aux CCA subcryptiques, les deux espèces de CCA exposées ont eu un effet positif sur la survie des recrues de petite taille. Il n'est pas possible de démêler les mécanismes exacts d'un tel retournement de compétition entre les habitats de nos expériences, mais au moins quatre hypothèses (pas forcément exclusives) pourraient expliquer ces résultats. Premièrement, les recrues en contact avec les CCA exposées ont subi moins de mortalité en raison de la compétition avec le gazon algal (turf). Ces recrues pourraient bénéficier des capacités des CCA à inhiber localement le recrutement et la croissance des algues supérieures aux coraux en terme de compétitivité (Vermeij et al. 2011) et à réduire l'exposition aux gazons chargés de sédiments et anoxiques dans l'habitat exposé (Babcock and Mundy 1996; Ruiz-Zárata et al. 2000; Harrington et al. 2004; Jorissen et al. 2016). Les coraux adultes ne sont pas affectés négativement par les CCA voisines dans la même mesure qu'ils le sont par le gazon algal ou les macroalgues (Barott et al. 2009, 2012; Vermeij et al. 2010b; Jorissen et al. 2016). En particulier, les interfaces coralliennes avec les CCA ont une fine couche limite de diffusion et une faible hypoxie la nuit par rapport à d'autres algues benthiques (Jorissen et al. 2016). Il est probable que ces environnements favorables soient largement bénéfiques aux recrues vulnérables. Deuxièmement, les recrues en contact avec les CCA exposées ont subi moins de mortalité par broutage. Les espèces d'herbivores et le taux d'herbivorie n'ont pas été ici spécifiquement étudiés, mais le broutage des poissons pourrait être moins intense sur ou à côté de la CCA exposée, entraînant une diminution des pertes accidentelles de recrues. Troisièmement, l'habitat bien éclairé et exposé pourrait profiter aux recrues en termes de capacité défensive. Par exemple, les recrues pourraient

diriger plus d'énergie vers la croissance verticale et la morphologie de ramification, ce qui rend difficile pour les CCA de croître au-dessus de la colonie (c.-à-d., s'échapper en hauteur). Une quatrième hypothèse est que les espèces de CCA subcryptiques sont caractérisées par des taux de croissance latérale plus rapides que les espèces exposées, ce qui les rend plus susceptibles d'envahir les recrues. À ce jour, on en sait peu sur les traits spécifiques du cycle biologique ou les attributs morphologiques qui affectent la façon dont les CCA interagissent avec les recrues. Les quatre espèces de CCA étudiées forment des croûtes épaisses, ce qui indique que l'épaisseur de la croûte n'explique pas pleinement la compétitivité des CCA contre les coraux. L'une des espèces subcryptiques avait les taux de croissance latérale les plus élevés des quatre espèces, tandis que l'une des espèces exposées avait les taux les plus faibles. La tendance négative entre la survie des recrues de petite taille et les taux de croissance latérale soutient l'hypothèse que les taux de croissance latérale peuvent expliquer en partie les effets de la compétition. Cependant, cette tendance basée sur seulement 4 espèces n'était pas significative. Des recherches supplémentaires devraient élargir la gamme des interactions coraux-CCA pour valider cette hypothèse. *Po. onkodes* et *L. insipidum* ont des marges adhérentes, tandis que les deux *Pa. conicum* et *N. foslei* possèdent des marges feuilles ou seulement partiellement adhérente (Keats et al. 1997). Cette morphologie des marges combinée à une croissance latérale rapide peut rendre les espèces subcryptiques plus menaçantes pour les recrues coralliennes.

2.2 Conclusions et perspectives futures

Le succès reproducteur des coraux dépend de la survie des larves et des jeunes coraux à travers plusieurs stades de vie, notamment l'implantation et la survie post-implantation. Lorsque nous combinons les résultats des premiers et deuxièmes chapitres de données, nous avons des informations sur la préférence de colonisation des larves de coraux et la survie des recrues. Le contact avec *Po. onkodes* et *L. insipidum* est suffisant pour déclencher l'implantation des coraux, mais l'attachement et la métamorphose ont souvent lieu sur des substrats à proximité, et non sur la surface des algues (Heyward and Negri 1999). Dans notre premier chapitre de données, nous montrons des taux d'implantation élevés sur toutes les espèces de CCA, qu'elles soient cryptiques, subcryptiques ou exposées. Cependant, les espèces exposées comme *Po. onkodes* ont induit une implantation très élevée sur le substrat adjacent à la surface des CCA. Dans ce deuxième chapitre, il se trouve que la survie des recrues est également plus élevée lorsque les recrues se trouvent à côté de ces espèces de CCA exposées. Des recherches plus poussées devraient déterminer si un tel comportement pourrait exister pour créer un environnement favorable aux jeunes coraux et optimiser leur survie. Ainsi, l'environnement le plus favorable à l'implantation des larves de coraux pourrait ne pas être limité à des taxons cryptiques à couches minces (comme *T. prototypum*), mais aussi à proximité de taxons à croûte épaisse et bien exposés. À l'inverse, si les larves de coraux s'installent dans des habitats cryptiques

dans l'environnement naturel, notre étude suggère qu'elles devront sélectionner des habitats loin des CCA à croûte épaisse et subcryptique pour survivre jusqu'à ce qu'elles atteignent un seuil d'échappement de taille.

Principalement, cette étude remet en question le point de vue selon lequel les CCA ont un effet positif sur le recrutement des coraux, avec des conséquences importantes pour nos prévisions du potentiel de récupération des récifs et la façon dont nous gérons les récifs. Si toutes les espèces de CCA ne sont pas bénéfiques pour la survie et la croissance des jeunes coraux, un recouvrement important en CCA ne conduira pas nécessairement à un potentiel de recrutement amélioré pour les coraux. Une compréhension plus efficace de la variabilité et de la complexité de l'interaction entre les CCA et les recrues pourrait permettre de meilleures prévisions du potentiel de recrutement et de la qualité nourricière de l'habitat récifal dans diverses circonstances, avec des conséquences importantes pour la gestion des récifs.

3. Objectif 3: Effets des facteurs de stress environnementaux sur le comportement de colonisation et le recrutement des larves de coraux

Dans les troisièmes et quatrièmes chapitres de données (chapitres 4 et 5), j'ai réalisé plusieurs expériences indépendantes mais complémentaires sur les effets directs d'une diminution de l'oxygène ou d'une augmentation du $p\text{CO}_2$ sur la réponse comportementale et le succès d'implantation de deux espèces de coraux émetteurs de gamètes (anglais: « broadcast spawners »). Ces expériences ont montré que l'acidification des océans et une faible teneur en oxygène peuvent influencer négativement le recrutement des coraux. Plus précisément, nous avons établi qu'une faible teneur en oxygène et une augmentation de $p\text{CO}_2$ affectent directement le taux d'implantation larvaire et le comportement de nage des larves en diminuant le sondage benthique.

3.1 Comportement d'exploration et de nage des larves

Les expériences de cette thèse démontrent que les larves éviteront d'explorer des substrats benthiques dans des conditions stressantes, comme des taux bas de pH ou d'oxygène. Puisqu'un léger mouvement de l'eau peut être suffisant pour transporter les larves vers un nouvel emplacement, ce comportement peut aider les larves à atteindre un environnement plus favorable. Cependant, cela se fera au prix d'un retard dans l'implantation. Une exposition à court terme à un pH bas peut entraîner une diminution des taux métaboliques des larves de coraux, ce qui est considéré comme une stratégie d'économie d'énergie dans des conditions de stress temporaires (Guppy and Withers 1999; Albright et al. 2008; Suwa et al. 2010; Albright and Langdon 2011; Nakamura et al. 2011). En supposant que le coût d'une implantation retardée est contrebalancé par d'autres avantages, tels qu'une augmentation de la survie après l'implantation en s'installant dans un environnement plus favorable, le retard d'implantation dans des conditions sous-

optimales combinée à une diminution du métabolisme peuvent représenter une stratégie d'adaptation à court terme pour améliorer la survie. Cependant, cette stratégie pourrait devenir préjudiciable dans des scénarios de stress chronique et entraîner les larves à s'implanter avec de faibles réserves d'énergie, ou ne pas s'implanter et mourir. Pour mieux prédire l'effet de l'acidification des océans sur le recrutement des coraux, des recherches supplémentaires devraient étudier la réponse comportementale de larves précédemment exposées à des conditions acidifiées et tester si leur comportement d'évitement diminue avec le temps ou varie en fonction des réserves d'énergie. Enfin, ces recherches devraient aussi en évaluer les conséquences sur la survie post-implantation.

3.2 Taux d'implantation

Dans les expériences d'implantation, différentes configurations ont été utilisées pour les expériences de pH et d'oxygène. Les premiers tests ont montré que pendant des périodes plus longues d'environ ~ 15 h, qui étaient nécessaires pour effectuer des analyses d'implantation, l'oxygène ne resterait pas stable dans les configurations expérimentales. Pour résoudre ce problème, j'ai construit un hypoxytron qui m'a également permis de créer un gradient d'oxygène, afin que les larves puissent choisir entre s'installer dans l'oxygène ambiant ou dans des environnements à faible teneur en oxygène. Ce gradient d'oxygène pouvait être créé en utilisant de fines sondes à oxygène qui permettaient de mesurer directement l'oxygène dans l'hypoxytron et de faire des ajustements continus au bouillonnement de l'air ou de l'azote. Il n'était malheureusement pas possible d'avoir le même équipement de mesure pour l'expérience avec le pH. Nous avons donc choisi de faire les expériences d'implantation sur le pH dans des bocaux fermés, qui ont pu maintenir un pH constant pendant plus de 15 heures.

Les résultats de nos analyses d'implantation sous différents $p\text{CO}_2$ ne concordent pas avec ceux de Webster et al. (2013) qui n'ont trouvé aucune réduction de l'implantation larvaire d'*A. millepora* sur la CCA *Po. onkodes* en utilisant des expériences d'implantation de 18 heures, ou après une pré-exposition de 24 heures des larves à des conditions acidifiées, suivi de tests d'implantation avec des extraits de CCA. L'exposition à court terme à un pH bas n'a pas non plus affecté les taux d'implantation de plusieurs espèces des coraux « couveur » de larves (anglais: brooder) (Albright et al. 2010; Albright and Langdon 2011; Anlauf et al. 2011). Webster et ses collègues (2013) n'ont trouvé un taux d'implantation réduit que lorsque les CCA ont été exposées à des conditions acidifiées pendant une période de 6 semaines, ce qui suggère globalement que l'acidification des océans n'affecte pas la physiologie et le comportement de recherche des larves de coraux. Cependant, nos résultats sont cohérents avec ceux de Nakamura et al. (2011) qui ont signalé des réductions de la métamorphose larvaire d'*A. digitifera* après seulement 2 heures de pré-exposition à l'eau de mer à pH 7,6, suivi d'essais d'implantation à l'aide d'extraits de CCA. Nakamura et ses collègues (2011) ont également constaté une réduction significative des taux métaboliques des larves, exprimés par la

consommation d'oxygène, après une exposition de 3 jours, indiquant un effet de l'acidification des océans sur la physiologie larvaire. Ainsi, l'acidification des océans pourrait affecter négativement le recrutement des coraux à travers de multiples mécanismes, y compris la perturbation des signaux chimiques utilisés par les larves de coraux pour sélectionner un site d'implantation, la réduction de l'abondance des substrats d'implantation appropriés (Hall-Spencer et al. 2008; Kuffner et al. 2008; Fabricius et al. 2011; Doropoulos et al. 2012a), et l'altération du comportement de nage des larves comme suggérée par notre étude. Malheureusement, notre étude ne nous permet pas d'estimer l'importance relative de chacun de ces mécanismes. Cela n'empêche pas que des changements chimiques et / ou microbiens se soient produits dans les CCA pendant les essais de colonisation et que ceux-ci ont joué un rôle dans la réduction de la colonisation corallienne.

Dans les expériences d'implantation sur l'oxygène, les larves se sont installées dans un milieu riche en oxygène lorsqu'elles ont eu le choix de se déposer sur un substrat d'implantation normalement approprié (*T. prototypum*) le long d'un gradient d'oxygène. L'utilisation de signaux chimiques (ou chimiotactisme) est très fréquente chez les invertébrés marins pour sélectionner les habitats d'implantation optimaux (Morse 1990; Rodriguez et al. 1993; Hadfield and Paul 2001; Dumas et al. 2014). Cependant, l'utilisation de l'oxygène comme stimulus chimique ou oxytaxie n'a guère été étudiée. Bien qu'il s'agisse d'un mécanisme commun utilisé par les bactéries et les micro-algues pour éviter les environnements à faible teneur en oxygène (Hillesdon and Pedley 1996; Porterfield 1997), il n'y a pratiquement aucune étude sur l'utilisation de l'oxygène comme stimulus chimique chez les invertébrés marins. Une étude de Forward et al. (2001) montre que les post-larves de crabes brachyurans utilisent l'oxygène comme signal pour retarder la métamorphose, car l'hypoxie augmente à la fois la mortalité et le délai de métamorphose (Forward et al. 2001; Tankersley et al. 2002). Un autre exemple est l'étude de Lagos et al. (2015) qui montre que, sous de faibles niveaux d'oxygène, les larves du bryozoaire *Bugula neritina* ont réduit le temps consacré à l'exploration de l'habitat et retardé l'implantation. À notre connaissance, l'étude de Lagos et al. (2015) était jusqu'à présent la seule étude démontrant un phénomène d'oxytaxie chez un invertébré marin avec un cycle de vie biphasique. Notre étude est la première à démontrer une oxytaxie chez des larves de coraux.

3.3 Oxygène et $p\text{CO}_2$ comme indicateurs de la compétition

Le pH et l'oxygène peuvent varier à de très petites échelles spatiales, les deux paramètres augmentent également pendant la journée et diminuent pendant la nuit en raison de la photosynthèse et de la respiration (Anthony et al. 2011; Cornwall et al. 2013). L'ampleur de ces fluctuations dépend donc en grande partie des communautés benthiques présentes. Dans notre expérience, le traitement à haute teneur en oxygène était similaire aux valeurs trouvées sur les CCA, tandis que les traitements à faible teneur en oxygène étaient typiques de ceux trouvés sur les macro-algues et gazon algal épais (non broutée) (Barott

and Rohwer 2012; Haas et al. 2013; Jorissen et al. 2016). Sur les surfaces des macroalgues, des valeurs de pH comprises entre 7,0 et 8,1 ont été observées dans l'obscurité en raison de la respiration, ce qui peut aller bien plus bas que les valeurs prévues de pH dans les scénarios d'acidification des océans pour le siècle à venir (Beer and Larkum 2001; Caldeira and Wickett 2003; Larkum et al. 2003; Riebesell et al. 2009; Cornwall et al. 2013). Il n'y a pas d'études expérimentales directes évaluant si les fluctuations du pH sur les surfaces des CCA seront moins grandes que sur les surfaces des macroalgues. Cependant, étant donné que les DBL sont plus minces sur les surfaces des CCA par rapport à celles des macroalgues, les fluctuations du pH sont aussi susceptibles d'être plus réduites sur les surfaces des CCA (Okubo et al. 2001; Cornwall et al. 2013; Jorissen et al. 2016). Les macroalgues et le gazon algal sont connus pour être des compétiteurs hostiles pour les recrues coralliennes et méritent donc d'être évitées par les larves de coraux (McCook et al. 2001; Ritson-Williams et al. 2009; Mumby et al. 2013; Webster et al. 2015; Elmer et al. 2018). Ce qui n'est pas le cas des CCA comme le montre cette thèse et d'autres travaux (Morse and Morse 1991; Morse et al. 1994; Heyward and Negri 1999; Harrington et al. 2004; Ritson-Williams et al. 2016a). Par conséquent, les avantages d'éviter les environnements acides ou hypoxiques pourraient être plus que simplement physiologiques ; les faibles niveaux de pH et d'oxygène pourraient être utilisés par les larves de coraux comme indicateur indirect de l'intensité de la compétition. De nombreuses larves d'invertébrés marins peuvent retarder l'implantation pour éviter les compétiteurs dominants (Young and Chia 1981; Birrell et al. 2008; Rius et al. 2009; von der Meden et al. 2015). On ne sait toujours pas comment les larves peuvent reconnaître et classer de nombreuses espèces différentes et leurs capacités en tant que compétiteurs. L'utilisation d'un proxy tel que le pH ou l'oxygène pour mesurer la présence de concurrents pourrait fournir aux larves de coraux les informations dont elles ont besoin.

3.4 Perspectives futures

3.4.1 Effets directs et indirects des facteurs de stress environnementaux sur l'implantation larvaire

La réduction de l'implantation des coraux avec l'augmentation du $p\text{CO}_2$ a été associée à une baisse de la couverture des CCA et du taux de recrutement (Hall-Spencer et al. 2008; Kuffner et al. 2008; Fabricius et al. 2011; Doropoulos et al. 2012a) et à une composition modifiée des CCA des substrats d'implantation (Albright and Langdon 2011; Doropoulos et al. 2012a). Cependant, des études à court terme utilisant une seule espèce de CCA (c'est-à-dire sans changer l'abondance de CCA) ont trouvé des réductions similaires dans l'implantation des coraux, suggérant que l'acidification des océans réduit l'implantation des coraux en modifiant rapidement les indices chimiques associés aux thalles du CCA et / ou à leur communauté microbienne associée (Doropoulos et al. 2012a; Doropoulos and Diaz-Pulido 2013; Webster et al. 2013). De même, dans l'expérience de l'influence de l'oxygène sur le succès de la colonisation, l'oxygène aurait pu modifier la composition des communautés microbiennes ou la biochimie de *T. prototypum* et les larves

auraient pu réagir à ces changements au lieu des changements des concentrations d'oxygène. La réponse négative d'implantation à une diminution du pH et de l'oxygène dans notre expérience d'implantation est cohérente avec ces études sur l'effet indirect des CCA et les conséquences pour l'implantation, ce qui confirme cette hypothèse. Cependant, nos expériences sur le comportement de nage montrent que la diminution du pH et de l'oxygène réduisent à la fois l'exploration du fond des larves de coraux en quelques minutes d'exposition. Cette constatation est importante car elle suggère que la réduction d'implantation observée dans l'expérience de colonisation, et potentiellement des études antérieures, pourrait également être due aux effets directs du pH et de l'oxygène sur le comportement de nage des larves de coraux, les larves évitant le sondage benthique en réponse à $p\text{CO}_2$ élevé et hypoxie. Démêler ces mécanismes nécessiterait d'autres expériences, par exemple, en utilisant des extraits chimiques de *T. prototypum*.

3.4.2 Différences entre espèces

Chez les coraux adultes, plusieurs études de cas d'événements hypoxiques ont montré qu'il existe des différences de tolérance à l'hypoxie entre les genres de coraux. Par exemple, les coraux ramifiés, tels que les espèces d'*Acropora* qui sont dominants dans le Pacifique, souffrent de taux de mortalité élevés dans des conditions hypoxiques (Simpson et al. 1993; Genin et al. 1995; Adjeroud et al. 2001; Laboy-Nieves et al. 2001). Dans nos expériences, nous avons vu des différences entre les espèces de coraux au sein d'un même genre. Contrairement à *A. cytherea*, *A. pulchra* a évité d'explorer le fond à des concentrations d'oxygène intermédiaires. De même dans les expériences de pH, il n'y avait pas de différence dans l'exploration du fond par les larves d'*A. cytherea* entre les traitements de pH témoin et de pH 7,8, tandis que les larves d'*A. pulchra* n'ont exploré le fond que dans le traitement de contrôle et pas dans les autres traitements à pH réduit. Ceci suggère une réponse larvaire spécifique aux espèces à de faibles teneurs en oxygène et à des concentrations élevées de $p\text{CO}_2$. Ces réponses spécifiques de l'espèce à l'oxygène sur les jeunes stades de vie des coraux n'ont pas encore été étudiées. Il y a quelques études sur le pH qui n'ont trouvé aucune différence dans les taux d'implantation sous pH réduit chez certaines espèces de coraux (y compris *A. spicifera*, *A. tenuis*, *A. millepora*, *Porites astreoides* et *P. panamensis*), indiquant des réponses spécifiques à l'espèce à ce facteur de stress (Kurihara 2008; Anlauf et al. 2011; Chua et al. 2013; Olsen et al. 2015; Campbell et al. 2017). Parallèlement, d'autres études ont montré des réductions significatives des implantations liés à une augmentation du $p\text{CO}_2$ chez *A. millepora*, *A. tenuis*, *A. palmata*, *A. digitifera* et *A. gemmifera* (Albright et al. 2010; Nakamura et al. 2011; Doropoulos et al. 2012a; Webster et al. 2013; Yuan et al. 2018). Ces différences pourraient être importantes pour prévoir le succès du recrutement et la survie dans certains environnements et pour faire des choix éclairés sur les espèces de coraux qui peuvent repeupler certaines zones de récifs coralliens dégradés.

3.4.3 Multi-stress et implantation larvaire

Dans cette thèse, les expériences sur l'oxygène et le pH étaient séparées et nous n'avons pas étudié les effets d'interaction entre les deux. Il s'agissait d'une première étape dans l'exploration des influences de ces deux facteurs de stress sur l'implantation des larves de coraux, mais la prochaine étape devrait inclure l'effet interactif entre ces deux facteurs, ainsi qu'avec d'autres facteurs de stress environnementaux, car il est clair qu'il y aura toujours plus d'un facteur de stress présent dans l'environnement naturel (Hoegh-Guldberg et al. 2017). L'acidification des océans, par exemple, s'est révélé concomitant avec d'autres facteurs de stress liés au changement climatique, tels que le réchauffement de l'océan, l'hypoxie, les changements dans les concentrations ou la stratification des nutriments et la salinité (Przeslawski et al. 2015; Espinel-Velasco et al. 2018). Il est donc important de considérer les interactions entre plusieurs facteurs de stress liés au changement global. Alors que plusieurs études ont examiné les effets de multiples facteurs de stress sur les larves marines, peu ont spécifiquement examiné les effets de multiples facteurs de stress sur les processus d'implantation et de post-implantation (Byrne and Przeslawski 2013; Przeslawski et al. 2015; Espinel-Velasco et al. 2018). Chez les larves de coraux, l'interaction entre un faible taux d'oxygène et un pH réduit n'a pas encore été étudiée, mais des recherches sur les larves d'un autre invertébré marin (*Balanus amphitrite*) ont montré que le taux d'implantation était plus faible sous oxygène réduit et dans un traitement pH/O₂ réduit mais pas lorsque le pH a été appliqué comme facteur de stress unique (Campanati et al. 2016). Des expériences encore plus compliquées pourraient également intégrer des effets interactifs avec des facteurs biotiques (par exemple : compétition avec les macroalgues, corallivorie) et d'autres facteurs abiotiques (par exemple : sédimentation, nutriments, salinité). Bien que trop peu d'études aient été menées pour permettre une généralisation des effets directs de multiples facteurs de stress sur les processus d'implantation et de post-implantation, il est probable que des interactions importantes soient mises en évidence (Przeslawski et al. 2015).

4. Conclusions

Dans cette thèse nous avons montré que toutes les espèces de CCA que nous avons étudié, ont induit des taux d'implantation totale relativement élevés, mais que seulement *T. prototypum* a induit une majorité de larves de coraux à se fixer sur la surface de l'algue, plutôt que sur la roche ou les surfaces inertes à proximité. Cette espèce possédait des communautés bactériennes épiphytes et des empreintes métabolomiques fortement distinctes, soutenant que les larves de coraux utilisent les métabolites des CCA et les assemblages microbiens associés pour sélectionner les sites d'attachement et de métamorphose. De plus, l'implantation des coraux et le microbiome et métabolome du CCA co-variaient avec l'habitat, ce qui suggère que les microbes et / ou les produits chimiques servent d'indicateurs environnementaux aux larves

de coraux. Plusieurs variantes de séquence d'amplicons liées à des bactéries bénéfiques pour la santé des coraux et deux classes de lipides - glycolipides et glycérophospholipides - présentes dans *T. prototypum* ont été identifiées comme des indices omiques potentiels influençant l'implantation des coraux. Cependant, au cours de la phase post-implantation tardive, nous avons montré que les CCA n'ont pas toujours un impact positif sur les recrues des coraux. Quand nous avons placées des recrues à côté de CCA vivante et morte sur une période d'un an dans une expérience de transplantation, nous avons constaté que la présence des CCA avait un effet contrasté sur la survie des recrues en fonction de l'habitat et de la taille des recrues. Les espèces subcryptiques de CCA, *Neogoniolithon foslei* et *Paragoniolithon conicum*, ont eu une influence négative sur la survie des recrues de petite taille, tandis que les espèces exposées, *Porolithon onkodes* et *Lithophylum insipidum*, ont eu un impact positif. Aucune des espèces de CCA n'a affecté la survie des recrues de grande taille. Cependant, les espèces de CCA subcryptiques ont réduit les taux de croissance des recrues. Les recrues adjacentes aux CCA exposées sont mortes en moindre proportion du fait de la compétition avec le gazon algal. En revanche, les recrues adjacentes aux CCA subcryptiques sont souvent mortes en proportion importante de la compétition avec les CCA. Ces résultats suggèrent que, dans les habitats subcryptiques, les algues corallines peuvent réduire la survie et/ou la croissance des recrues via la compétition directe, tandis que, dans les habitats exposés, elles peuvent améliorer le recrutement des coraux en atténuant la compétition avec le gazon algal. Il est important de noter que cette étude a démontré que toutes les espèces de CCA ne sont pas bénéfiques à la survie et à la croissance des recrues coralliennes et qu'il existe une variabilité considérable dans l'issue et le processus de compétition entre les CCA et les coraux. Chapitres 4 et 5 déterminent si deux facteurs de stress environnementaux, respectivement l'acidification des océans (AO) et l'hypoxie, affectent l'association corail-CCA en perturbant le comportement des larves des deux espèces de coraux (*A. cythera* et *A. pulchra*), ainsi que leur implantation sur *T. prototypum*. Les larves des deux espèces évitaient l'exploration et l'implantation dans des environnements à faible pH ou à oxygène réduit. Ces résultats indiquent que les zones à faible teneur en oxygène et pH peuvent influencer négativement le succès d'implantation des larves de coraux et que l'oxygène et le pH peuvent être des signaux chimiques pour l'orientation et l'implantation larvaire. En conclusion, en utilisant une combinaison de plusieurs disciplines et approches de recherche, cette thèse aide à mieux comprendre le rôle des algues corallines, des micro-organismes et des produits chimiques dans le dynamique à petite échelle du recrutement des coraux maintenant et dans les conditions océaniques futures. Ces résultats peuvent avoir des applications pratiques pour la restauration des récifs et les efforts de conservation. Ils remettent en cause le fait que les algues corallines dans leur ensemble ne sont pas forcément un bon indicateur de santé des récifs. Cependant, ils soutiennent que l'augmentation de l'abondance de certaines espèces de CCA pourrait promouvoir le recrutement des coraux et ainsi aider à soutenir la résilience des écosystèmes et la restauration des écosystèmes coralliens.

5. Perspectives de recherche future

Cette thèse fait partie d'un effort de recherche pour répondre au besoin pressant de mieux comprendre les mécanismes de recrutement des coraux pour faciliter la récupération des récifs et soutenir la résilience de ces écosystèmes. Il est essentiel que nous améliorions notre compréhension des premières phases de la vie des coraux, d'autant plus que l'implantation larvaire et la métamorphose sont sans doute les processus les plus importants dans le cycle de vie des invertébrés marins, car ils déterminent et optimisent la survie de ces organismes sessiles. Des taux d'implantation larvaire modifiés influenceront donc sur l'écologie et la structuration des futures communautés côtières.

L'élevage des coraux et la restauration récifale offrent une solution potentielle pour atténuer la pénurie de recrues naturelles chez les espèces importantes pour la complexité structurale et la formation des récifs comme *Acropora* spp. (Petersen et al. 2005, 2006). Les larves de coraux peuvent être capturées, élevées en laboratoire jusqu'aux stades juvéniles et repiquées sur le terrain (Petersen et al. 2008). Cependant, l'utilisation des CCA et du microbiote et/ou des produits chimiques associés comme substrats d'implantation et de nurserie dans les efforts de restauration des récifs coralliens a été très limitée. Il est donc essentiel que les efforts de recherche futurs évaluent si ces « acteurs invisibles » (algues, microbes et biomolécules) peuvent être utilisés pour améliorer la restauration des récifs coralliens. Cet objectif peut être atteint en combinant l'élevage en laboratoire, les études sur le terrain des coraux naturellement installés et la modélisation écologique. Tout en gardant à l'esprit le rapport coûts-bénéfices, la mise en place ex situ sur des substrats expérimentaux avec une CCA et / ou des produits chimiques bénéfiques suivie d'une plantation in situ par rapport à une utilisation des processus naturels. Pour que ces approches réussissent, il est essentiel de mieux comprendre les stimuli d'implantation, et en particulier les inducteurs biochimiques qui contrôlent l'implantation des larves, et de déterminer si leurs utilisations pourraient faciliter l'attachement des larves cultivées en masse sur des substrats naturels ou artificiels pour la restauration. Une implantation réussie sur n'importe quelle surface requiert généralement un « pré-conditionnement biologique » de plusieurs semaines pour permettre le développement de biofilms microbiens et le recrutement des CCA (Harrison and Wallace 1990; Webster et al. 2004), ou une induction artificielle (Omori and Iwao 2014; Chamberland et al. 2017). De petits copeaux (~ 5 mm) de CCA vivants ou morts ont été utilisés de manière fiable pour attirer et déclencher l'implantation larvaire sur des surfaces expérimentales (Morse and Morse 1996; Heyward and Negri 1999). Cette méthode pourrait être appliquée pour installer des larves cultivées en laboratoire sur des surfaces naturelles et artificielles avant déploiement sur les sites à restaurer. Cependant, l'intensification de ce processus nécessite la récolte ou la culture des CCA, et les espèces utilisées peuvent ne pas induire activement l'implantation de toutes les espèces de coraux ciblées (Baird and Morse 2004; Davies

et al. 2014). L'application d'inducteurs biochimiques extraits de CCA et de biofilms sur les surfaces pour la réhabilitation des récifs est à l'étude depuis plus de 2 décennies (Morse et al. 1994; Morse and Morse 1996). Cette approche dépend de l'extraction des produits chimiques actifs produits par les CCA ou du biofilm et de l'immobilisation des produits chimiques sur une surface (Morse et al. 1994; Morse and Morse 1996). L'application de ces produits chimiques sur des surfaces artificielles pour la restauration des récifs nécessiterait l'isolement et la synthèse de substances biochimiques complexes, qui peuvent être instables et coûteuses, et aucune n'a jusqu'à présent prouvé qu'elle avait une activité inductrice universelle. L'application d'inducteurs naturels et artificiels pour implanter les larves en masse nécessite des recherches plus fondamentales, et actuellement, le conditionnement des surfaces sur le terrain ou en laboratoire pour développer des CCA multi-espèces et des biofilms bactériens représente une approche moins contrôlée mais plus réalisable pour obtenir une diversité d'espèces de coraux pour la restauration récifale. La sélection du site par des larves compétentes est une considération importante pour le réensemencement des larves. Les changements de comportement de colonisation commencent dans la colonne d'eau avant qu'une rencontre physique entre une larve et le substrat ne se produise, où les produits chimiques en suspension dans l'eau associés aux organismes benthiques ou aux polluants peuvent les attirer ou les repousser (Barott and Rohwer 2012). Parce que les effets allélopathiques peuvent s'étendre bien au-delà de la couche limite de diffusion du substrat (Birrell et al. 2005, 2008; Morrow et al. 2017), ils peuvent conduire à la sélection larvaire ou au rejet d'un site d'implantation. Compte tenu de la nature très sensible des larves aux agents physiques, biologiques et chimiques, il est essentiel d'évaluer et d'atténuer les inhibiteurs potentiels d'implantation, en particulier sur un site où le recrutement des larves est une stratégie de restauration de base (Beyer et al. 2018). Les risques posés par les inhibiteurs d'implantation sur les sites de restauration peuvent être quantifiés en comparant les mesures de la qualité de l'eau *in situ* avec les seuils dérivés des analyses de laboratoire. De plus, il existe de plus en plus de preuves que les facteurs de stress et les inhibiteurs peuvent interagir de manière cumulative pour réduire le recrutement corallien (Humanes et al. 2017) et devraient donc être pris en compte dans la sélection et la gestion des sites de restauration (Randall et al. 2020).

Alors que le changement climatique continue de modifier la température et la chimie de l'eau de mer à l'échelle mondiale, les récifs coralliens présentent des altérations importantes de la structure et du fonctionnement des communautés benthiques (Hoegh-Guldberg et al. 2007; Ban et al. 2014). Tandis que l'implantation des larves de coraux est favorisée par des stimuli chimiques associés aux CCA, il est très probable que les facteurs anthropiques altèrent la production, la libération (excrétion épithéliale), la puissance, la détection ou la dégradation de ces stimuli. L'augmentation des SST et la diminution du pH ambiant nuisent à la santé des CCA et aux microbes associés (Kuffner et al. 2008; Latham 2008; Webster et al. 2011; Fabricius et al. 2014). Ils provoquent également une diminution de la fertilisation des gamètes

coralliens et des taux de colonisation larvaire (Doropoulos et al. 2012a; Albright and Mason 2013; Doropoulos and Diaz-Pulido 2013; Hédouin et al. 2016). Les facteurs de stress climatiques pourraient ainsi affecter la nature fragile de l'interaction entre les CCA et les coraux et interagir avec les facteurs de stress à l'échelle locale pour perturber le recrutement des coraux. Il existe une multitude de données empiriques sur la façon dont les facteurs de stress affectent le fonctionnement des récifs, mais ces données se concentrent généralement sur des aspects limités d'une fonction individuelle et sont dérivées d'études qui ne traitent que des changements de quelques espèces exposées à un seul facteur de stress (Ateweberhan et al. 2013). Les réponses des espèces peuvent être très spécifiques et plusieurs facteurs de stress peuvent interagir les uns avec les autres, il est donc important de mener des efforts de recherche multifactorielle et multi-espèces.

Comblir ces lacunes dans les connaissances permettra de mieux comprendre les processus et les interactions complexes qui affectent et orientent le succès du recrutement corallien. Il fournira une meilleure compréhension de l'importance relative de la réponse du recrutement aux facteurs de stress climatiques par rapport à d'autres processus importants du cycle de vie des coraux et permettra une compréhension plus holistique en examinant une plus grande gamme d'espèces de coraux. De plus, ces connaissances aideraient les gestionnaires et décideurs politiques à prendre des décisions concernant la conservation et la gestion des récifs coralliens dans le cadre de futurs scénarios de changement climatique.

References

- Adey WH, Townsend RA, Boykins WT (1982) The crustose coralline algae (Rhodophyta: Corallinaceae) of the Hawaiian Islands. *Smithson Contrib Mar Sci*
- Adjeroud M, Andréfouët S, Payri C (2001) Mass mortality of macrobenthic communities in the lagoon of Hikueru atoll (French Polynesia). *Coral Reefs* 19:287–291
- Adjeroud M, Penin L, Carroll A (2007a). Spatio-temporal heterogeneity in coral recruitment around Moorea, French Polynesia: implications for population maintenance. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 341: 204-218.
- Adjeroud M, Pratchett MS, Kospartov MC, Lejeune C and Penin L (2007b) Small-scale variability in the size structure of scleractinian corals around Moorea, French Polynesia: patterns across depths and locations. *Hydrobiologia* 589:117-126
- Adjeroud M, Michonneau F, Edmunds PJ, Chancerelle Y, de Loma TL, Penin L, Thibaut L, Vidal-Dupiol J, Salvat B, Galzin R (2009) Recurrent disturbances, recovery trajectories, and resilience of coral assemblages on a South Central Pacific reef. *Coral Reefs* 28:775–780
- Adjeroud M, Chancerelle Y, Lison de Loma T (2010) Vulnérabilité et résilience des récifs coralliens de Polynésie française face aux perturbations de grande ampleur. *Le Courrier de la Nature* 252:20-25
- 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. *Scientific Reports* 8:9680
- Airoldi L (2000) Effects of disturbance, life histories, and overgrowth on coexistence of algal crusts and turfs. *Eff Disturb Life Hist Overgrowth Coexistence Algal Crusts Turfs* 81:798–814
- Albert S, Dunbabin M, Skinner M, Moore B, Grinham A (2012) Benthic shift in a Solomon Islands' lagoon: corals to cyanobacteria. In: *Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium*. Cairns, Australia
- Albright R, Langdon C (2011) Ocean acidification impacts multiple early life history processes of the Caribbean coral *Porites astreoides*. *Glob Change Biol* 17:2478–2487
- Albright R, Mason B (2013) Projected near-future levels of temperature and $p\text{CO}_2$ reduce coral fertilization success. *PLoS One* 8:e56468
- Albright R, Mason B, Langdon C (2008) Effect of aragonite saturation state on settlement and post-settlement growth of *Porites astreoides* larvae. *Coral Reefs* 27:485–490
- Albright R, Mason B, Miller M, Langdon C (2010) Ocean acidification compromises recruitment success of the threatened Caribbean coral *Acropora palmata*. *Proc Natl Acad Sci* 107:20400–20404
- Altieri AH, Gedan KB (2015) Climate change and dead zones. *Glob Change Biol* 21:1395–1406
- Altieri AH, Harrison SB, Seemann J, Collin R, Diaz RJ, Knowlton N (2017) Tropical dead zones and mass mortalities on coral reefs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114:3660–3665

- Andréfouët S, Dutheil C, Menkes CE, Bador M, Lengaigne M (2015) Mass mortality events in atoll lagoons: environmental control and increased future vulnerability. *Glob Change Biol* 21:195–205
- Anlauf H, D’Croze L, O’Dea A (2011) A corrosive concoction: The combined effects of ocean warming and acidification on the early growth of a stony coral are multiplicative. *J Exp Mar Biol Ecol* 397:13–20
- Anthony KRN, Kleypas JA, Gattuso J-P (2011) Coral reefs modify their seawater carbon chemistry – implications for impacts of ocean acidification. *Glob Change Biol* 17:3655–3666
- Anthony KRN, Kline DI, Diaz-Pulido G, Dove S, Hoegh-Guldberg O (2008) Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proc Natl Acad Sci* 105:17442–17446
- Antonius A (2001) *Pneophyllum conicum*, a coralline red alga causing coral reef-death in Mauritius. *Coral Reefs* 19:418–418
- Antonius A, Afonso-Carillo J (2001) *Pneophyllum conicum* killing reef-corals in Mauritius: A new Indo-Pacific syndrome? *Bull Mar Sci* 69:613–618
- Apprill A, Marlow HQ, Martindale MQ, Rappé MS (2009) The onset of microbial associations in the coral *Pocillopora meandrina*. *ISME J* 3:685–699
- Armstrong E, Yan L, Boyd KG, Wright PC, Burgess JG (2001) The symbiotic role of marine microbes on living surfaces. *Hydrobiologia* 461:37–40
- Arnold SN, Steneck RS (2011) Settling into an increasingly hostile world: The rapidly closing “recruitment window” for corals. *PLoS One* 6:e28681
- Ateweberhan M, Feary DA, Keshavmurthy S, Chen A, Schleyer MH, Sheppard CRC (2013) Climate change impacts on coral reefs: Synergies with local effects, possibilities for acclimation, and management implications. *Mar Pollut Bull* 74:526–539
- Babcock R, Davies P (1991) Effects of sedimentation on settlement of *Acropora millepora*. *Coral Reefs* 9:205–208
- Babcock RC, Mundy CP (1996) Coral recruitment: Consequences of settlement choice for early growth and survivorship in two scleractinians. *J Exp Mar Biol Ecol* 206:179–201
- Babcock RC (1985) Growth and mortality in juvenile corals (*Goniastrea*, *Platygyra* and *Acropora*): the first year. *Fifth International Coral Reef Congress* 355–360
- Baird AH, Babcock RC, Mundy CP (2003) Habitat selection by larvae influences the depth distribution of six common coral species. *Mar Ecol Prog Ser* 252:289–293
- Baird AH, Morse ANC (2004) Induction of metamorphosis in larvae of the brooding corals *Acropora palifera* and *Stylophora pistillata*. *Mar Freshw Res* 55:469–472
- Bak RPM, Borsboom JLA (1984) Allelopathic interaction between a reef coelenterate and benthic algae. *Oecologia* 63:194–198
- Bak RPM, Engel MS (1979) Distribution, abundance and survival of juvenile hermatypic corals (Scleractinia) and the importance of life history strategies in the parent coral community. *Mar Biol* 54:341–352

- Baker AC, Glynn PW, Riegl B (2008) Climate change and coral reef bleaching: An ecological assessment of long-term impacts, recovery trends and future outlook. *Estuar Coast Shelf Sci* 80:435–471
- Ban SS, Graham NAJ, Connolly SR (2014) Evidence for multiple stressor interactions and effects on coral reefs. *Glob Change Biol* 20:681–697
- Banerjee S, Schlaeppi K, van der Heijden MGA (2018) Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning. *Nat Rev Microbiol* 16:567–576
- Barott K, Smith J, Dinsdale E, Hatay M, Sandin S, Rohwer F (2009) Hyperspectral and physiological analyses of coral-algal interactions. *PLoS One* 4:e8043
- Barott KL, Rodriguez-Brito B, Janouškovec J, Marhaver KL, Smith JE, Keeling P, Rohwer FL (2011) Microbial diversity associated with four functional groups of benthic reef algae and the reef-building coral *Montastraea annularis*. *Environ Microbiol* 13:1192–1204
- Barott KL, Rodriguez-Mueller Beltran, Youle Merry, Marhaver Kristen L., Vermeij Mark J. A., Smith Jennifer E., Rohwer Forest L. (2012) Microbial to reef scale interactions between the reef-building coral *Montastraea annularis* and benthic algae. *Proc R Soc B Biol Sci* 279:1655–1664
- Barott KL, Rohwer FL (2012) Unseen players shape benthic competition on coral reefs. *Trends Microbiol* 20:621–628
- Bassim K, Sammarco P (2003) Effects of temperature and ammonium on larval development and survivorship in a scleractinian coral (*Diploria strigosa*). *Mar Biol* 142:241–252
- Bassim K, Sammarco P, Snell T (2002) Effects of temperature on success of (self and non-self) fertilization and embryogenesis in *Diploria strigosa* (Cnidaria, Scleractinia). *Mar Biol* 140:479–488
- Baums IB, Miller MW, Hellberg ME (2006) Geographic variation in clonal structure in a reef-building Caribbean coral, *Acropora palmata*. *Ecol Monogr* 76:503–519
- Beer DD, Larkum AWD (2001) Photosynthesis and calcification in the calcifying algae *Halimeda discoidea* studied with microsensors. *Plant Cell Environ* 24:1209–1217
- Bellwood DR, Hughes TP, Folke C, Nyström M (2004) Confronting the coral reef crisis. *Nature* 429:827–833
- Bernasconi R, Stat M, Koenders A, Papparini A, Bunce M, Huggett MJ (2019) Establishment of coral-bacteria symbioses reveal changes in the core bacterial community with host ontogeny. *Front Microbiol* 10
- Bernhardsson C, Ingvarsson PK (2012) Geographical structure and adaptive population differentiation in herbivore defence genes in European aspen (*Populus tremula* L., Salicaceae). *Mol Ecol* 21:2197–2207
- Beyer HL, Kennedy EV, Beger M, Chen CA, Cinner JE, Darling ES, Eakin CM, Gates RD, Heron SF, Knowlton N, Obura DO, Palumbi SR, Possingham HP, Puotinen M, Runting RK, Skirving WJ, Spalding M, Wilson KA, Wood S, Veron JE, Hoegh-Guldberg O (2018) Risk-sensitive planning for conserving coral reefs under rapid climate change. *Conserv Lett* 11:e12587
- Birrell CL, McCook LJ, Diaz-Pulido BLW & GA (2008) Effects of benthic algae on the replenishment of corals and the implications for the resilience of coral reefs. *Oceanogr Mar Biol* 31–70
- Birrell CL, McCook LJ, Willis BL (2005) Effects of algal turfs and sediment on coral settlement. *Mar Pollut Bull* 51:408–414

- Bittner L, Payri CE, Maneveldt GW, Couloux A, Cruaud C, de Reviers B, Le Gall L (2011) Evolutionary history of the Corallinales (Corallinophycidae, Rhodophyta) inferred from nuclear, plastidial and mitochondrial genomes. *Mol Phylogenet Evol* 61:697–713
- Bodamer BL, Bridgeman TB (2014) Experimental dead zones: two designs for creating oxygen gradients in aquatic ecological studies. *Limnol Oceanogr Methods* 12:441–454
- Box SJ, Mumby PJ (2007) Effect of macroalgal competition on growth and survival of juvenile Caribbean corals. *Mar Ecol Prog Ser* 342:139–149
- Brinkhoff T, Bach G, Heidorn T, Liang L, Schlingloff A, Simon M (2004) Antibiotic production by a *Roseobacter* clade affiliated species from the German Wadden Sea and its antagonistic effects on indigenous isolates. *Appl Environ Microbiol* 70:2560–2565
- Brinkhoff T, Giebel H-A, Simon M (2008) Diversity, ecology, and genomics of the *Roseobacter* clade: a short overview. *Arch Microbiol* 189:531–539
- Brock RE, Lewis C, Wass RC (1979) Stability and structure of a fish community on a coral patch reef in Hawaii. *Mar Biol* 54:281–292
- Brodie J, Williamson C, Barker GL (2016) Characterising the microbiome of *Corallina officinalis*, a dominant calcified intertidal red alga. *FEMS Microbiol Ecol* 92
- Bruhn JB, Gram L, Belas R (2007) Production of antibacterial compounds and biofilm formation by *Roseobacter* species are influenced by culture conditions. *Appl Environ Microbiol* 73:442–450
- Bruhn JB, Nielsen KF, Hjelm M, Hansen M, Bresciani J, Schulz S, Gram L (2005) Ecology, inhibitory activity, and morphogenesis of a marine antagonistic bacterium belonging to the *Roseobacter* clade. *Appl Environ Microbiol* 71:7263–7270
- Bruno JF, Selig ER (2007) Regional decline of coral cover in the Indo-Pacific: Timing, extent, and subregional comparisons. *PLoS One* 2:e711
- Bruno JF, Selig ER, Casey KS, Page CA, Willis BL, Harvell CD, Sweatman H, Melendy AM (2007) Thermal stress and coral cover as drivers of coral disease outbreaks. *PLoS Biol* 5:e124
- Buenau KE, Price NN, Nisbet RM (2012) Size dependence, facilitation, and microhabitats mediate space competition between coral and crustose coralline algae in a spatially explicit model. *Ecol Model* 237–238:23–33
- Burke L, Reytar K, Spalding M, Perry A (2011) Reefs at risk revisited. World Resources Institute, Washington DC, USA
- Buss LW, Jackson JBC (1979) Competitive networks: nontransitive competitive relationships in cryptic coral reef environments. *Am Nat* 113:223–234
- Byrne M, Przeslawski R (2013) Multistressor impacts of warming and acidification of the ocean on marine invertebrates' life histories. *Integr Comp Biol* 53:582–596
- Cajka T, Fiehn O (2014) Comprehensive analysis of lipids in biological systems by liquid chromatography-mass spectrometry. *TrAC Trends Anal Chem* 61:192–206
- Caldeira K, Wickett ME (2003) Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* 425:365–365

- Callahan BJ, McMurdie PJ, Rosen MJ, Han AW, Johnson AJA, Holmes SP (2016) DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat Methods* 13:581–583
- Campanati C, Yip S, Lane A, Thiagarajan V (2016) Combined effects of low pH and low oxygen on the early-life stages of the barnacle *Balanus amphitrite*. *ICES J Mar Sci* 73:791–802
- Campbell JE, Sneed JM, Johnston L, Paul VJ (2017) Effects of ocean acidification and contact with the brown alga *Styopodium zonale* on the settlement and early survival of the coral *Porites astreoides*. *Mar Ecol Prog Ser* 577:67–77
- Carroll A, Harrison P, Adjeroud M (2006) Sexual reproduction of *Acropora* reef corals at Moorea, French Polynesia. *Coral Reefs* 25: 93–97
- Carpenter KE, Abrar M, Aeby G, Aronson RB, Banks S, Bruckner A, Chiriboga A, Cortés J, Delbeek JC, DeVantier L, Edgar GJ, Edwards AJ, Fenner D, Guzmán HM, Hoeksema BW, Hodgson G, Johan O, Licuanan WY, Livingstone SR, Lovell ER, Moore JA, Obura DO, Ochavillo D, Polidoro BA, Precht WF, Quibilan MC, Reboton C, Richards ZT, Rogers AD, Sanciangco J, Sheppard A, Sheppard C, Smith J, Stuart S, Turak E, Veron JEN, Wallace C, Weil E, Wood E (2008) One-third of reef-building corals face elevated extinction risk from climate change and local impacts. *Science* 321:560–563
- Carpenter RC (1986) Partitioning herbivory and its effects on coral reef algal communities. *Ecol Monogr* 56:345–364
- Carreno-Quintero N, Bouwmeester HJ, Keurentjes JJB (2013) Genetic analysis of metabolome–phenotype interactions: from model to crop species. *Trends Genet* 29:41–50
- Cesar HSJ (2000) Coral reefs: their functions, threats and economic value. *Collect Essays Econ Coral Reefs* 14–39
- Chamberland VF, Petersen D, Guest JR, Petersen U, Brittsan M, Vermeij MJA (2017) New seeding approach reduces costs and time to outplant sexually propagated corals for reef restoration. *Sci Rep* 7:1–12
- Chisholm J (2003) Primary productivity of reef-building crustose coralline algae. *Limnol Ocean* 48:1376–1387
- Cheung SG, Chan CYS, Po BHK, Li AL, Leung JYS, Qiu JW, Ang PO, Thiagarajan V, Shin PKS, Chiu JMY (2014) Effects of hypoxia on biofilms and subsequently larval settlement of benthic invertebrates. *Mar Pollut Bull* 85:418–424
- Chua C-M, Leggat W, Moya A, Baird AH (2013) Near-future reductions in pH will have no consistent ecological effects on the early life-history stages of reef corals. *Mar Ecol Prog Ser* 486:143–151
- Cinner JE, McClanahan TR, Daw TM, Graham NAJ, Maina J, Wilson SK, Hughes TP (2009) Linking social and ecological systems to sustain coral reef fisheries. *Curr Biol* 19:206–212
- Colombo-Pallotta MF, Rodríguez-Román A, Iglesias-Prieto R (2010) Calcification in bleached and unbleached *Montastraea faveolata*: evaluating the role of oxygen and glycerol. *Coral Reefs* 29:899–907
- Connell JH (1997) Disturbance and recovery of coral assemblages. *Coral Reefs* 16:S101–S113
- Connell JH, Hughes TP, Wallace CC (1997) A 30-year study of coral abundance, recruitment, and disturbance at several scales in space and time. *Ecol Monogr* 67:461–488

- Connell SD, Russell BD (2010) The direct effects of increasing CO₂ and temperature on non-calcifying organisms: increasing the potential for phase shifts in kelp forests. *Proc R Soc B Biol Sci* 277:1409–1415
- Connolly SR, Baird AH (2010) Estimating dispersal potential for marine larvae: dynamic models applied to scleractinian corals. *Ecology* 91:3572–3583
- Cornwall CE, Comeau S, McCulloch MT (2017) Coralline algae elevate pH at the site of calcification under ocean acidification. *Glob Change Biol* 23:4245–4256
- Cornwall CE, Diaz-Pulido G, Comeau S (2019) Impacts of ocean warming on coralline algal calcification: meta-analysis, knowledge gaps, and key recommendations for future research. *Front Mar Sci* 6:186
- Cornwall CE, Hepburn CD, Pilditch CA, Hurd CL (2013) Concentration boundary layers around complex assemblages of macroalgae: Implications for the effects of ocean acidification on understory coralline algae. *Limnol Oceanogr* 58:121–130
- Costanza R, d’Arge R, de Groot R, Farber S, Grasso M, Hannon B, Limburg K, Naeem S, O’Neill RV, Paruelo J, Raskin RG, Sutton P, van den Belt M (1997) The value of the world’s ecosystem services and natural capital. *Nature* 387:253–260
- Costanza R, de Groot R, Sutton P, van der Ploeg S, Anderson SJ, Kubiszewski I, Farber S, Turner RK (2014) Changes in the global value of ecosystem services. *Glob Environ Change* 26:152–158
- Côte M, Knowlton N (2013) Coral reef ecosystems: A decade of discoveries. In: Bertness M.D., Bruno J.F., Silliman B.R., Stachowics J.J. (eds) *Marine Community Ecology and Conservation*. pp 299–314
- Cruz DW dela, Harrison PL (2017) Enhanced larval supply and recruitment can replenish reef corals on degraded reefs. *Sci Rep* 7:1–13
- Cutignano A, Luongo E, Nuzzo G, Pagano D, Manzo E, Sardo A, Fontana A (2016) Profiling of complex lipids in marine microalgae by UHPLC/tandem mass spectrometry. *Algal Res* 17:348–358
- Da-Anoy JP, Villanueva RD, Cabaitan PC, Conaco C (2017) Effects of coral extracts on survivorship, swimming behavior, and settlement of *Pocillopora damicornis* larvae. *J Exp Mar Biol Ecol* 486:93–97
- Daume S, Brand-Gardner S, Woelkerling WmJ (1999) Settlement of abalone larvae (*Haliotis laevis* Donovan) in response to non-geniculate coralline red algae (Corallinales, Rhodophyta). *J Exp Mar Biol Ecol* 234:125–143
- Davies SW, Meyer E, Guermond SM, Matz MV (2014) A cross-ocean comparison of responses to settlement cues in reef-building corals. *PeerJ* 2:e333
- Davies SW, Rahman M, Meyer E, Green EA, Buschiazzi E, Medina M, Matz MV (2013) Novel polymorphic microsatellite markers for population genetics of the endangered Caribbean star coral, *Montastraea faveolata*. *Mar Biodivers* 43:167–172
- De Ruyter van Steveninck ED, Van Mulekom LL, Breeman AM (1988) Growth inhibition of *Lobophora variegata* (Lamouroux) Womersley by scleractinian corals. *J Exp Mar Biol Ecol* 115:169–178
- Deal MS, Hay ME, Wilson D, Fenical W (2003) Galactolipids rather than phlorotannins as herbivore deterrents in the brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *Oecologia* 136:107–114

- Dean AJ, Steneck RS, Tager D, Pandolfi JM (2015) Distribution, abundance and diversity of crustose coralline algae on the Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 34:581–594
- De'ath G, Fabricius KE, Sweatman H, Puotinen M (2012) The 27-year decline of coral cover on the Great Barrier Reef and its causes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109:17995–17999
- Degnan BM, Johnson CR (1999) Inhibition of settlement and metamorphosis of the ascidian *Herdmania curvata* by non-geniculate coralline algae. *Biol Bull* 197:332–340
- Del Monaco C, Hay ME, Gartrell P, Mumby PJ, Diaz-Pulido G (2017) Effects of ocean acidification on the potency of macroalgal allelopathy to a common coral. *Sci Rep* 7:1–10
- Dell C, Hay ME (2016) Induced defence to grazing by vertebrate herbivores: uncommon or under-investigated? *Mar Ecol Prog Ser* 561:137–145
- Denboh T, Suzuki M, Mizuno Y, Ichimura T (1997) Suppression of *Laminaria* sporelings by allelochemicals from coralline red algae. *Bot Mar* 40:249–256
- Diaz RJ (2001) Overview of hypoxia around the world. *J Environ Qual* 30:275–281
- Diaz RJ, Breitburg DL (2009) The hypoxic environment. In: Richards J.G., Farrell A.P., Brauner C.J. (eds) *Fish Physiology*. Academic Press, pp 1–23
- Diaz-Pulido G, Anthony KRN, Kline DI, Dove S, Hoegh-Guldberg O (2012) Interactions between ocean acidification and warming on the mortality and dissolution of coralline algae. *J Phycol* 48:32–39
- Diaz-Pulido G, Gouezo M, Tilbrook B, Dove S, Anthony KRN (2011) High CO₂ enhances the competitive strength of seaweeds over corals. *Ecol Lett* 14:156–162
- Diaz-Pulido G, Harii S, McCook LJ, Hoegh-Guldberg O (2010) The impact of benthic algae on the settlement of a reef-building coral. *Coral Reefs* 29:203–208
- Diaz-Pulido G, McCook LJ, Dove S, Berkelmans R, Roff G, Kline DI, Weeks S, Evans RD, Williamson DH, Hoegh-Guldberg O (2009) Doom and boom on a resilient reef: climate change, algal overgrowth and coral recovery. *PLoS One* 4:e5239
- Dickson AG, Millero FJ (1987) A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media. *Deep Sea Res Part Oceanogr Res Pap* 34:1733–1743
- Dixson DL, Munday PL, Jones GP (2010) Ocean acidification disrupts the innate ability of fish to detect predator olfactory cues. *Ecol Lett* 13:68–75
- Doropoulos C, Diaz-Pulido G (2013) High CO₂ reduces the settlement of a spawning coral on three common species of crustose coralline algae. *Mar Ecol Prog Ser* 475:93–99
- Doropoulos C, Roff G, Bozec Y-M, Zupan M, Werninghausen J, Mumby PJ (2016) Characterizing the ecological trade-offs throughout the early ontogeny of coral recruitment. *Ecol Monogr* 86:20–44
- Doropoulos C, Ward S, Diaz-Pulido G, Hoegh-Guldberg O, Mumby PJ (2012a) Ocean acidification reduces coral recruitment by disrupting intimate larval-algal settlement interactions. *Ecol Lett* 15:338–346
- Doropoulos C, Ward S, Marshall A, Diaz-Pulido G, Mumby PJ (2012b) Interactions among chronic and acute impacts on coral recruits: the importance of size-escape thresholds. *Ecology* 93:2131–2138

- Downs CA, Fauth JE, Robinson CE, Curry R, Lanzendorf B, Halas JC, Halas J, Woodley CM (2005) Cellular diagnostics and coral health: Declining coral health in the Florida Keys. *Mar Pollut Bull* 51:558–569
- Doyle RW (1975) Settlement of planktonic larvae: A theory of habitat selection in varying environments. *Am Nat* 109:113–126
- Dumas P, Tiavouane J, Senia J, Willam A, Dick L, Fauvelot C (2014) Evidence of early chemotaxis contributing to active habitat selection by the sessile giant clam *Tridacna maxima*. *J Exp Mar Biol Ecol* 452:63–69
- Dunstan PK, Johnson CR (1998) Spatio-temporal variation in coral recruitment at different scales on Heron Reef, southern Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 17:71–81
- Dusane DH, Pawar VS, Nancharaiah YV, Venugopalan VP, Kumar AR, Zinjarde SS (2011) Anti-biofilm potential of a glycolipid surfactant produced by a tropical marine strain of *Serratia marcescens*. *Biofouling* 27:645–654
- Eakin CM, Morgan JA, Heron SF, Smith T, Liu G, Alvarez-Filip L, Baca B, Bartels E, Bastidas C, Bouchon C, Brandt M, Bruckner AW, Bunkley-Williams L, Cameron A, Causey BD, Chiappone M, Christensen TRL, Crabbe MJC, Day O, de la Guardia E, Diaz-Pulido G, DiResta D, Gil-Agudelo DL, Gilliam DS, Ginsburg RN, Gore S, Guzman HM, Hendee JC, Hernandez-Delgado EA, Husain E, Jeffrey CFG, Jones RJ, Jordan-Dahlgren E, Kaufman LS, Kline DI, Kramer PA, Lang JC, Lirman D, Mallela J, Manfrino C, Marechal J-P, Marks K, Mihaly J, Miller WJ, Mueller EM, Muller EM, Orozco Toro CA, Oxenford HA, Ponce-Taylor D, Quinn D, Ritchie KB, Rodriguez S, Rodriguez Ramirez A, Romano S, Samhoury JF, Sanchez JA, Schmahl GP, Shank BV, Skirving WJ, Steiner SCC, Villamizar E, Walsh SM, Walter C, Weil E, Williams EH, Woody Roberson K, Yus Y (2010) Caribbean corals in crisis: record thermal stress, bleaching, and mortality in 2005. *PLoS One* 5:e13969
- 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
- Edmunds PJ (2000) Patterns in the distribution of juvenile corals and coral reef community structure in St. John, US Virgin Islands. *Mar Ecol Prog Ser* 202:113–124
- Edmunds PJ, Carpenter RC (2001) Recovery of *Diadema antillarum* reduces macroalgal cover and increases abundance of juvenile corals on a Caribbean reef. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:5067–5071
- Egan S, James S, Kjelleberg S (2002) Identification and characterization of a putative transcriptional regulator controlling the expression of fouling inhibitors in *Pseudoalteromonas tunicata*. *Appl Environ Microbiol* 68:372–378
- Egilsdottir H, Noisette F, Noël LM-LJ, Olafsson J, Martin S (2013) Effects of $p\text{CO}_2$ on physiology and skeletal mineralogy in a tidal pool coralline alga *Corallina elongata*. *Mar Biol* 160:2103–2112
- Elmer F, Bell JJ, Gardner JPA (2018) Coral larvae change their settlement preference for crustose coralline algae dependent on availability of bare space. *Coral Reefs* 37:397–407
- Erwin PM, Szmant AM (2010) Settlement induction of *Acropora palmata* planulae by a GLW-amide neuropeptide. *Coral Reefs* 29:929–939
- Espinel-Velasco N, Hoffmann L, Agüera A, Byrne M, Dupont S, Uthicke S, Webster NS, Lamare M (2018) Effects of ocean acidification on the settlement and metamorphosis of marine invertebrate and fish larvae: a review. *Mar Ecol Prog Ser* 606:237–257

- Fabricius KE, De'ath G, Noonan S, Uthicke S (2014) Ecological effects of ocean acidification and habitat complexity on reef-associated macroinvertebrate communities. *Proc R Soc B Biol Sci* 281:20132479
- Fabricius KE, Langdon C, Uthicke S, Humphrey C, Noonan S, De'ath G, Okazaki R, Muehllehner N, Glas MS, Lough JM (2011) Losers and winners in coral reefs acclimatized to elevated carbon dioxide concentrations. *Nat Clim Change* 1:165–169
- Fabricius KE, Noonan SHC, Abrego D, Harrington L, De'ath G (2017) Low recruitment due to altered settlement substrata as primary constraint for coral communities under ocean acidification. *Proc R Soc B Biol Sci* 284:20171536
- Fadlallah YH (1983) Sexual reproduction, development and larval biology in scleractinian corals. *Coral Reefs* 2:129–150
- Ferguson N, White CR, Marshall DJ (2013) Competition in benthic marine invertebrates: the unrecognized role of exploitative competition for oxygen. *Ecology* 94:126–135
- Figueiredo J, Baird AH, Connolly SR (2013) Synthesizing larval competence dynamics and reef-scale retention reveals a high potential for self-recruitment in corals. *Ecology* 94:650–659
- Finelli CM, Helmuth BST, Pentcheff ND, Wetthey DS (2006) Water flow influences oxygen transport and photosynthetic efficiency in corals. *Coral Reefs* 25:47–57
- Fisher R, O'Leary RA, Low-Choy S, Mengersen K, Knowlton N, Brainard RE, Caley MJ (2015) Species richness on coral reefs and the pursuit of convergent global estimates. *Curr Biol* 25:500–505
- Forward RB, Tankersley RA, Rittschof D (2001) Cues for metamorphosis of brachyuran crabs: An overview. *Am Zool* 41:1108–1122
- Foster NL, Box SJ, Mumby PJ (2008) Competitive effects of macroalgae on the fecundity of the reef-building coral *Montastraea annularis*. *Mar Ecol Prog Ser* 367:143–152
- Foster T, Gilmour JP (2016) Seeing red: Coral larvae are attracted to healthy-looking reefs. *Mar Ecol Prog Ser* 559:65–71
- Gallagher C, Doropoulos C (2017) Spatial refugia mediate juvenile coral survival during coral–predator interactions. *Coral Reefs* 36:51–61
- da Gama BAP, Plouguerné E, Pereira RC (2014) The antifouling defence mechanisms of marine macroalgae. In: Bourguignon N. (eds) *Advances in Botanical Research*. Academic Press, pp 413–440
- Gao K, Aruga Y, Asada K, Ishihara T, Akano T, Kiyohara M (1993) Calcification in the articulated coralline alga *Corallina pilulifera*, with special reference to the effect of elevated CO₂ concentration. *Mar Biol* 117:129–132
- Gardella DJ, Edmunds PJ (1999) The oxygen microenvironment adjacent to the tissue of the scleractinian *Dichocoenia stokesii* and its effects on symbiont metabolism. *Mar Biol* 135:289–295
- Garren M, Raymundo L, Guest J, Harvell CD, Azam F (2009) Resilience of coral-associated bacterial communities exposed to fish farm effluent. *PLoS One* 4:e7319
- Gattuso JP, Hoegh-Guldberg O, Pörtner HO (2014) Cross-chapter box on coral reefs. In: Barros V., Dokken D., Mach K., Mastrandrea M., Bilir T., Chatterjee M., Ebi K., Estrada Y., Genova R., Girma B., Kissel E.,

Levy A., MacCracken S., Mastandrea P., White L. (eds) Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel of Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK

Genin A, Lazar B, Brenner S (1995) Vertical mixing and coral death in the Red Sea following the eruption of Mount Pinatubo. *Nature* 377:507–510

Giacomoni F, Le Corguillé G, Monsoor M, Landi M, Pericard P, Pétéra M, Duperier C, Tremblay-Franco M, Martin J-F, Jacob D, Goullitquer S, Thévenot EA, Caron C (2015) Workflow4Metabolomics: a collaborative research infrastructure for computational metabolomics. *Bioinforma Oxf Engl* 31:1493–1495

Gil MA, Goldenberg SU, Ly Thai Bach A, Mills SC, Claudet J (2016) Interactive effects of three pervasive marine stressors in a post-disturbance coral reef. *Coral Reefs* 35:1281–1293

Gleason DF, Danilowicz BS, Nolan CJ (2009) Reef waters stimulate substratum exploration in planulae from brooding Caribbean corals. *Coral Reefs* 28:549–554

Gleason DF, Edmunds PJ, Gates RD (2006) Ultraviolet radiation effects on the behavior and recruitment of larvae from the reef coral *Porites astreoides*. *Mar Biol* 148:503–512

Gleason DF, Hofmann DK (2011) Coral larvae: From gametes to recruits. *J Exp Mar Biol Ecol* 408:42–57

Glynn PW (1993) Coral reef bleaching: ecological perspectives. *Coral Reefs* 12:1–17

Glynn PW, Manzello DP (2015) Bioerosion and coral reef growth: A dynamic balance. In: Birkeland C. (eds) *Coral Reefs in the Anthropocene*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp 67–97

Glynn PW, Maté JL, Baker AC, Calderón MO (2001) oral bleaching and mortality in Panama and Ecuador during the 1997–1998 El Niño–Southern Oscillation event: spatial/temporal patterns and comparisons with the 1982–1983 event. *Bull Mar Sci* 69:79–109

Golbuu Y, Richmond RH (2007) Substratum preferences in planula larvae of two species of scleractinian corals, *Goniastrea retiformis* and *Stylaraea punctata*. *Mar Biol* 152:639–644

Gomez-Lemos LA, Diaz-Pulido G (2017) Crustose coralline algae and associated microbial biofilms deter seaweed settlement on coral reefs. *Coral Reefs* 36:453–462

Gomez-Lemos LA, Doropoulos C, Bayraktarov E, Diaz-Pulido G (2018) Coralline algal metabolites induce settlement and mediate the inductive effect of epiphytic microbes on coral larvae. *Sci Rep* 8:1–11

Gordon GD, Masaki T, Akioka H (1976) Floristic and distributional account of the common crustose coralline algae on Guam. *Micronesica* 12:31

Goreau NI, Goreau TJ, Hayes RL (1981) Settling, survivorship and spatial aggregation in planulae and juveniles of the coral *Porites porites* (Pallas). *Bull Mar Sci* 31:424-435

Graham EM, Baird AH, Connolly SR (2008) Survival dynamics of scleractinian coral larvae and implications for dispersal. *Coral Reefs* 27:529–539

- Grasso LC, Negri AP, Fôret S, Saint R, Hayward DC, Miller DJ, Ball EE (2011) The biology of coral metamorphosis: Molecular responses of larvae to inducers of settlement and metamorphosis. *Dev Biol* 353:411–419
- Gregg A, Hatay M, Haas A, Robinett N, Barott K, Vermeij M, Marhaver K, Meirelles P, Thompson F, Rohwer F (2013) Biological oxygen demand optode analysis of coral reef-associated microbial communities exposed to algal exudates. *PeerJ* 1:e107
- Guppy M, Withers P (1999) Metabolic depression in animals: Physiological perspectives and biochemical generalizations. *Biol Rev* 74:1–40
- Guzmán H, Cortés J, Glynn P, Richmond R (1990) Coral mortality associated with dinoflagellate blooms in the eastern Pacific (Costa Rica and Panama). *Mar Ecol Prog Ser* 60:299–303
- Haas AF, Gregg AK, Smith JE, Abieri ML, Hatay M, Rohwer F (2013) Visualization of oxygen distribution patterns caused by coral and algae. *PeerJ* 1:e106
- Hadfield M, Paul V (2001) Natural chemical cues for settlement and metamorphosis of marine-invertebrate larvae. *Mar Chem Ecol* 13:431–461
- Hallock P (1997) Reefs and reef limestones in earth history. In: Birkland C. (eds) *Life and Death of Coral Reefs*. Springer, New York, USA, pp 13–42
- Hall–Spencer J, Allain V, Fosså JH (2002) Trawling damage to Northeast Atlantic ancient coral reefs. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 269:507–511
- Hall-Spencer JM, Rodolfo-Metalpa R, Martin S, Ransome E, Fine M, Turner SM, Rowley SJ, Tedesco D, Buia M-C (2008) Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature* 454:96–99
- Han X, Yang K, Gross RW (2012) Multi-dimensional mass spectrometry-based shotgun lipidomics and novel strategies for lipidomic analyses. *Mass Spectrom Rev* 31:134–178
- Han X, Adam TC, Schmitt RJ, Brooks AJ, Holbrook SJ (2016) Response of herbivore functional groups to sequential perturbations in Moorea, French Polynesia. *Coral Reefs* 35:999–1009
- Harrington L, Fabricius K, De’ath G, Negri A (2004) Recognition and selection of settlement substrata determine post-settlement survival in corals. *Ecology* 85:3428–3437
- Harrison P (2006) Settlement competency periods and dispersal potential of scleractinian reef coral larvae. *Proc 10th Int Coral Reef Symp* 78–82
- Harrison PL, Wallace CC (1990) Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals. *Ecosystems of the world* 25:133–207
- Hata T, Madin JS, Cumbo VR, Denny M, Figueiredo J, Harii S, Thomas CJ, Baird AH (2017) Coral larvae are poor swimmers and require fine-scale reef structure to settle. *Sci Rep* 7:2249
- Hauri C, Fabricius KE, Schaffelke B, Humphrey C (2010) Chemical and physical environmental conditions underneath mat- and canopy-forming macroalgae, and their effects on understory corals. *PLoS One* 5:e12685

- Hay ME, Fenical W (1988) Marine plant-herbivore interactions: the ecology of chemical defense. *Annu Rev Ecol Syst* 19:111–145
- Hédouin LS, Wolf RE, Phillips J, Gates RD (2016) Improving the ecological relevance of toxicity tests on scleractinian corals: Influence of season, life stage, and seawater temperature. *Environ Pollut* 213:240–253
- Hervé MR, Nicolè F, Lê Cao K-A (2018) Multivariate analysis of multiple datasets: a practical guide for chemical ecology. *J Chem Ecol* 44:215–234
- Hester ER, Barott KL, Nulton J, Vermeij MJ, Rohwer FL (2016) Stable and sporadic symbiotic communities of coral and algal holobionts. *ISME J* 10:1157–1169
- Heyward AJ, Negri AP (1999) Natural inducers for coral larval metamorphosis. *Coral Reefs* 18:273–279
- Hillesdon AJ, Pedley TJ (1996) Bioconvection in suspensions of oxytactic bacteria: linear theory. *J Fluid Mech* 324:223–259
- Hobbs J-PA, Macrae H (2012) Unusual weather and trapped coral spawn lead to fish kill at a remote coral atoll. *Coral Reefs* 31:961–961
- Hobbs J-PA, McDonald CA (2010) Increased seawater temperature and decreased dissolved oxygen triggers fish kill at the Cocos (Keeling) Islands, Indian Ocean. *J Fish Biol* 77:1219–1229
- Hoegh-Guldberg O (1999) Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Mar Freshw Res* 50:839–866
- Hoegh-Guldberg O (2014) Coral reef sustainability through adaptation: glimmer of hope or persistent mirage? *Curr Opin Environ Sustain* 7:127–133
- Hoegh-Guldberg O, Mumby PJ, Hooten AJ, Steneck RS, Greenfield P, Gomez E, Harvell CD, Sale PF, Edwards AJ, Caldeira K, Knowlton N, Eakin CM, Iglesias-Prieto R, Muthiga N, Bradbury RH, Dubi A, Hatzitolos ME (2007) Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science* 318:1737–1742
- Hoegh-Guldberg O, Poloczanska ES, Skirving W, Dove S (2017) Coral reef ecosystems under climate change and ocean acidification. *Front Mar Sci* 4:158
- Hoegh-Guldberg O, Smith GJ (1989) The effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Stylophora pistillata* Esper and *Seriatopora hystrix* Dana. *J Exp Mar Biol Ecol* 129:279–303
- Holmström C, James S, Egan S, Kjelleberg S (1996) Inhibition of common fouling organisms by marine bacterial isolates with special reference to the role of pigmented bacteria. *Biofouling* 10:251–259
- Hölzl G, Dörmann P (2007) Structure and function of glycolipids in plants and bacteria. *Prog Lipid Res* 46:225–243
- Hönisch B, Ridgwell A, Schmidt DN, Thomas E, Gibbs SJ, Sluijs A, Zeebe R, Kump L, Martindale RC, Greene SE, Kiessling W, Ries J, Zachos JC, Royer DL, Barker S, Marchitto TM, Moyer R, Pelejero C, Ziveri P, Foster GL, Williams B (2012) The geological record of ocean acidification. *Science* 335:1058–1063
- Hudspith M, Reichelt-Brushett A, Harrison PL (2017) Factors affecting the toxicity of trace metals to fertilization success in broadcast spawning marine invertebrates: A review. *Aquat Toxicol* 184:1–13

- Hughes TP, Graham NAI, Jackson JBC, Mumby PJ, Steneck RS (2010) Rising to the challenge of sustaining coral reef resilience. *Trends Ecol Evol* 25:633–642
- Hughes TP, Jackson JBC (1985) Population dynamics and life histories of foliaceous corals. *Ecol Monogr* 55:141–166
- Hughes TP, Kerry JT, Álvarez-Noriega M, Álvarez-Romero JG, Anderson KD, Baird AH, Babcock RC, Beger M, Bellwood DR, Berkelmans R, Bridge TC, Butler IR, Byrne M, Cantin NE, Comeau S, Connolly SR, Cumming GS, Dalton SJ, Diaz-Pulido G, Eakin CM, Figueira WF, Gilmour JP, Harrison HB, Heron SF, Hoey AS, Hobbs J-PA, Hoogenboom MO, Kennedy EV, Kuo C, Lough JM, Lowe RJ, Liu G, McCulloch MT, Malcolm HA, McWilliam MJ, Pandolfi JM, Pears RJ, Pratchett MS, Schoepf V, Simpson T, Skirving WJ, Sommer B, Torda G, Wachenfeld DR, Willis BL, Wilson SK (2017) Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature* 543:373–377
- Hughes TP, Tanner JE (2000) Recruitment failure, life histories, and long-term decline of Caribbean corals. *Ecology* 81:2250–2263
- Humanes A, Ricardo GF, Willis BL, Fabricius KE, Negri AP (2017) Cumulative effects of suspended sediments, organic nutrients and temperature stress on early life history stages of the coral *Acropora tenuis*. *Sci Rep* 7:1–11
- Hunte W, Wittenberg M (1992) Effects of eutrophication and sedimentation on juvenile corals. *Mar Biol* 114:625–631
- Hutchings P, Kingsford M, Hoegh-Guldberg O (2019) *The Great Barrier Reef: Biology, environment and management*. Csiro Publishing, Australia
- Iglesias MJ, Soengas R, Martins CB, Correia MJ, Ferreira JD, Santos LMA, Ortiz FL (2020) Chemotaxonomic profiling through NMR1. *J Phycol* 56:521–539
- Imbs AB, Dang LPT, Nguyen KB (2019) Comparative lipidomic analysis of phospholipids of hydrocorals and corals from tropical and cold-water regions. *PLoS One* 14:e215759
- Iwao K, Omori M, Taniguchi H, Tamura M (2010) Transplanted *Acropora tenuis* (Dana) spawned first in their life 4 years after culture from eggs. *Galaxea J Coral Reef Stud* 12:47–47
- Jackson JBC, Donovan M, Cramer K, Lam W (2014) Part I: Overview and synthesis for the wider Caribbean region. *Status and trends of Caribbean coral reefs: 1970-2012*. pp 55–154
- Jiang M, Wang C, Zhang Y, Feng Y, Wang Y, Zhu Y (2014) Sparse partial-least-squares discriminant analysis for different geographical origins of *Salvia miltiorrhiza* by 1H-NMR-based metabolomics. *Phytochem Anal* 25:50–58
- Johnson CR, Lewis TE, Nichols DS, Degnan BM (1997) Bacterial induction of settlement and metamorphosis in marine invertebrates. In: Lessios H.A., Macintyre I.G. (eds) *Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium*. Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa, Panama, pp 1219–1224
- Johnson CR, Mann KH (1986) The crustose coralline alga, *Phymatolithon foslie*, inhibits the overgrowth of seaweeds without relying on herbivores. *J Exp Mar Biol Ecol* 96:127–146
- Jokiel PL, Rodgers KS, Kuffner IB, Andersson AJ, Cox EF, Mackenzie FT (2008) Ocean acidification and calcifying reef organisms: a mesocosm investigation. *Coral Reefs* 27:473–483

- Jompa J, McCook L (1998) Seaweeds save the reef?!: *Sargassum* canopy decreases coral bleaching on inshore reefs. Reef Res 8
- Jompa J, McCook LJ (2002) The effects of nutrients and herbivory on competition between a hard coral (*Porites cylindrica*) and a brown alga (*Lobophora variegata*). Limnol Oceanogr 47:527–534
- Jompa J, McCook LJ (2003) Coral-algal competition: macroalgae with different properties have different effects on corals. Mar Ecol Prog Ser 258:87–95
- Jones R, Ricardo GF, Negri AP (2015) Effects of sediments on the reproductive cycle of corals. Mar Pollut Bull 100:13–33
- Jorissen H, Skinner C, Osinga R, de Beer D, Nugues MM (2016) Evidence for water-mediated mechanisms in coral–algal interactions. Proc R Soc B Biol Sci 283:20161137
- Kato A, Hikami M, Kumagai NH, Suzuki A, Nojiri Y, Sakai K (2014) Negative effects of ocean acidification on two crustose coralline species using genetically homogeneous samples. Mar Environ Res 94:1–6
- Kayal M, Vercelloni J, Lison de Loma T, Bosserelle P, Chancerelle Y, Geoffroy S, Stievenart C, Michonneau F, Penin L, Planes S, Adjeroud M (2012) Predator crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) outbreak, mass mortality of corals, and cascading effects on reef fish and benthic communities. PLoS One 7:e47363
- Keats DW, Groener A, Chamberlain YM (1993) Cell sloughing in the littoral zone coralline alga, *Spongites yendoii* (Foslie) Chamberlain (Corallinales, Rhodophyta). Phycologia 32:143–150
- Keats DW, Knight MA, Poeschel CM (1997) Antifouling effects of epithallial shedding in three crustose coralline algae (Rhodophyta, Corallinales) on a coral reef. J Exp Mar Biol Ecol 213:281–293
- Keats DW, Wilton P, Maneveldt G (1994) Ecological significance of deep-layer sloughing in the eulittoral zone coralline alga, *Spongites yendoii* (Foslie) Chamberlain (Corallinales, Rhodophyta) in South Africa. J Exp Mar Biol Ecol 175:145–154
- Keeling CD, Piper SC, Bacastow RB, Wahlen M, Whorf TP, Heimann M, Meijer HA (2005) Atmospheric CO₂ and ¹³CO₂ exchange with the terrestrial biosphere and oceans from 1978 to 2000: Observations and carbon cycle implications. In: Baldwin I.T., Caldwell M.M., Heldmaier G., Jackson R.B., Lange O.L., Mooney H.A., Schulze E.-D., Sommer U., Ehleringer J.R., Denise Dearing M., Cerling T.E. (eds) A History of Atmospheric CO₂ and Its Effects on Plants, Animals, and Ecosystems. Springer, New York, USA, pp 83–113
- Kim M-J, Choi J-S, Kang S-E, Cho J-Y, Jin H-J, Chun B-S, Hong Y-K (2004) Multiple allelopathic activity of the crustose coralline alga *Lithophyllum yessoense* against settlement and germination of seaweed spores. J Appl Phycol 16:175–179
- Kimes NE, Nostrand JDV, Weil E, Zhou J, Morris PJ (2010) Microbial functional structure of *Montastraea faveolata*, an important Caribbean reef-building coral, differs between healthy and yellow-band diseased colonies. Environ Microbiol 12:541–556
- Kiran GS, Sabarathnam B, Thajuddin N, Selvin J (2014) Production of glycolipid biosurfactant from sponge-associated marine Actinobacterium *Brachybacterium paraconglomeratum* MSA21. J Surfactants Deterg 17:531–542

- Kitamura M, Koyama T, Nakano Y, Uemura D (2007) Characterization of a natural inducer of coral larval metamorphosis. *J Exp Mar Biol Ecol* 340:96–102
- Kitamura M, Schupp PJ, Nakano Y, Uemura D (2009) Luminaolide, a novel metamorphosis-enhancing macrodiolide for scleractinian coral larvae from crustose coralline algae. *Tetrahedron Lett* 50:6606–6609
- Kleypas JA, Mcmanus JW, Meñez L a. B (1999) Environmental limits to coral reef development: Where do we draw the line? *Integr Comp Biol* 39:146–159
- Kline DI, Kuntz NM, Breitbart M, Knowlton N, Rohwer F (2006) Role of elevated organic carbon levels and microbial activity in coral mortality. *Mar Ecol Prog Ser* 314:119–125
- Knowlton N (2001) Sea urchin recovery from mass mortality: New hope for Caribbean coral reefs? *Proc Natl Acad Sci* 98:4822–4824
- Knowlton N, Jackson JBC (2008) Shifting baselines, local impacts, and global change on coral reefs. *PLoS Biol* 6:e60054
- Kremb S, Helfer M, Kraus B, Wolff H, Wild C, Schneider M, Voolstra CR, Brack-Werner R (2014) Aqueous extracts of the marine brown alga *Lobophora variegata* inhibit HIV-1 infection at the level of virus entry into cells. *PLoS One* 9:e103895
- Kroeker KJ, Kordas RL, Crim R, Hendriks IE, Ramajo L, Singh GS, Duarte CM, Gattuso J-P (2013) Impacts of ocean acidification on marine organisms: quantifying sensitivities and interaction with warming. *Glob Change Biol* 19:1884–1896
- Kubaneck J, Jensen PR, Keifer PA, Sullards MC, Collins DO, Fenical W (2003) Seaweed resistance to microbial attack: A targeted chemical defense against marine fungi. *Proc Natl Acad Sci* 100:6916–6921
- Kuffner IB, Andersson AJ, Jokiel PL, Rodgers KS, Mackenzie FT (2008) Decreased abundance of crustose coralline algae due to ocean acidification. *Nat Geosci* 1:114–117
- Kuffner IB, Paul VJ (2004) Effects of the benthic cyanobacterium *Lyngbya majuscula* on larval recruitment of the reef corals *Acropora surculosa* and *Pocillopora damicornis*. *Coral Reefs* 23:455–458
- Kuffner IB, Walters LJ, Becerro MA, Paul VJ, Ritson-Williams R, Beach KS (2006) Inhibition of coral recruitment by macroalgae and cyanobacteria. *Mar Ecol Prog Ser* 323:107–117
- Kurihara H (2008) Effects of CO₂-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates. *Mar Ecol Prog Ser* 373:275–284
- Laboy-Nieves EN, Klein E, Conde JE, Losada F, Cruz JJ, Bone D (2001) Mass mortality of tropical marine communities in Morocco, Venezuela. *Bull Mar Sci* 68:163–179
- Lagos M, White C, Marshall D (2015) Avoiding low-oxygen environments: oxytaxis as a mechanism of habitat selection in a marine invertebrate. *Mar Ecol Prog Ser* 540:99–107
- Lam EKY, Chui APY, Kwok CK, Ip AHP, Chan SW, Leung HN, Yeung LC, Ang PO (2015) High levels of inorganic nutrients affect fertilization kinetics, early development and settlement of the scleractinian coral *Platygyra acuta*. *Coral Reefs* 34:837–848

- Larkum AWD, Koch E-MW, Kühl M (2003) Diffusive boundary layers and photosynthesis of the epilithic algal community of coral reefs. *Mar Biol* 142:1073–1082
- Latham H (2008) Temperature stress-induced bleaching of the coralline alga *Corallina officinalis*: a role for the enzyme bromoperoxidase. *Biosci Horiz Int J Stud Res* 1:104–113
- Leal MC, Ferrier-Pagès C, Petersen D, Osinga R (2016) Coral aquaculture: applying scientific knowledge to ex situ production. *Reviews in Aquaculture* 8:136–153
- Leblond JD, Timofte HI, Roche SA, Porter NM (2010) Mono- and digalactosyldiacylglycerol composition of glaucocystophytes (Glaucophyta): A modern interpretation using positive-ion electrospray ionization/mass spectrometry/mass spectrometry. *Phycol Res* 58:222–229
- Lecchini D, Bertucci F, Gache C, Khalife A, Besson M, Roux N, Berthe C, Singh S, Parmentier E, Nugues MM, Brooker RM, Dixon DL, Hédouin L (2018) Boat noise prevents soundscape-based habitat selection by coral planulae. *Sci Rep* 8:1–9
- Lema KA, Bourne DG, Willis BL (2014) Onset and establishment of diazotrophs and other bacterial associates in the early life history stages of the coral *Acropora millepora*. *Mol Ecol* 23:4682–4695
- Lewis J (1974) The settlement behaviour of planulae of the hermatypic coral *Favia fragum* (Esper). *J Exp Mar Biol Ecol* 15:165–172
- Lewis PDE, Wallace DWR (2006) MS Excel program developed for CO₂ system calculations.
- Lirman D (2001) Competition between macroalgae and corals: Effects of herbivore exclusion and increased algal biomass on coral survivorship and growth. *Coral Reefs* 19:392–399
- Littler MM, Littler DS (2013) The nature of crustose coralline algae and their interactions on reefs. *Research and Discoveries: The Revolution of Science through Scuba*. pp 199–212
- Littler MM, Littler DS, Blair SM, Norris JN (1985) Deepest known plant life discovered on an uncharted seamount. *Science* 227:57–59
- Littler MM, Littler P (1997) Disease-induced mass mortality of crustose coralline algae on coral reefs provides rationale for the conservation of herbivorous fish stocks. *Proc 8th Int Coral Reef Sym* 1:719–724
- Longo GO, Hay ME (2017) Seaweed allelopathy to corals: are active compounds on, or in, seaweeds? *Coral Reefs* 36:247–253
- Lovejoy C, Bowman JP, Hallegraeff GM (1998) Algicidal effects of a novel marine *Pseudoalteromonas* isolate (class Proteobacteria, Gamma subdivision) on harmful algal bloom species of the genera *Chattonella*, *Gymnodinium*, and *Heterosigma*. *Appl Environ Microbiol* 64:2806–2813
- Loya Y (1976) The Red Sea coral *Stylophora pistillata* is an r strategist. *Nature* 259:478–480
- Ludsin SA, Zhang X, Brandt SB, Roman MR, Boicourt WC, Mason DM, Costantini M (2009) Hypoxia-avoidance by planktivorous fish in Chesapeake Bay: Implications for food web interactions and fish recruitment. *J Exp Mar Biol Ecol* 381:S121–S131
- Macintyre IG, Glynn PW, Hinds F (2005) Evidence of the role of *Diadema antillarum* in the promotion of coral settlement and survivorship. *Coral Reefs* 24:273–273

- Maida M, Coll JC, Sammarco PW (1994) Shedding new light on scleractinian coral recruitment. *J Exp Mar Biol Ecol* 180:189–202
- Maida M, Sammarco PW, Coll JC (1995) Preliminary evidence for directional allelopathic effects of the soft coral *Sinularia flexibilis* (Alcyonacea: Octocorallia) on scleractinian coral recruitment. *Bull Mar Sci* 56:303–311
- Mancuso FP, D’Hondt S, Willems A, Airoidi L, De Clerck O (2016) Diversity and temporal dynamics of the epiphytic bacterial communities associated with the canopy-forming seaweed *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff and Nizamuddin. *Front Microbiol* 7:476
- Martin S, Gattuso J-P (2009) Response of Mediterranean coralline algae to ocean acidification and elevated temperature. *Glob Change Biol* 15:2089–2100
- Masaki T, Fujita D, Hagen NT (1984) The surface ultrastructure and epithallium shedding of crustose coralline algae in an ‘Isoyake’ area of southwestern Hokkaido, Japan. 218–223
- Mason B, Beard M, Miller MW (2011) Coral larvae settle at a higher frequency on red surfaces. *Coral Reefs* 30:667–676
- McCauley DJ, Pinsky ML, Palumbi SR, Estes JA, Joyce FH, Warner RR (2015) Marine defaunation: animal loss in the global ocean. *Science* 347:1255641
- McCook L, Jompa J, Diaz-Pulido G (2001) Competition between corals and algae on coral reefs: a review of evidence and mechanisms. *Coral Reefs* 19:400–417
- McCoy SJ, Pfister CA (2014) Historical comparisons reveal altered competitive interactions in a guild of crustose coralline algae. *Ecol Lett* 17:475–483
- McCoy SJ, Ragazzola F (2014) Skeletal trade-offs in coralline algae in response to ocean acidification. *Nat Clim Change* 4:719–723
- von der Meden CEO, Cole VJ, McQuaid CD (2015) Do the threats of predation and competition alter larval behaviour and selectivity at settlement under field conditions? *J Exp Mar Biol Ecol* 471:240–246
- Meehl GA, Covey C, Delworth T, Latif M, McAvaney B, Mitchell JFB, Stouffer RJ, Taylor KE (2007) The WCRP CMIP3 multimodel dataset: A new era in climate change research. *Bull Am Meteorol Soc* 88:1383–1394
- Mehrbach C, Culbertson CH, Hawley JE, Pytkowicz RM (1973) Measurement of the apparent dissociation constants of carbonic acid in seawater at atmospheric pressure. *Limnol Oceanogr* 18:897–907
- Meistertzheim A-L, Nugues MM, Quéré G, Galand PE (2017) Pathobiomes differ between two diseases affecting reef building coralline algae. *Front Microbiol* 8:1686
- Melo T, Alves E, Azevedo V, Martins AS, Neves B, Domingues P, Calado R, Abreu MH, Domingues MR (2015) Lipidomics as a new approach for the bioprospecting of marine macroalgae — Unraveling the polar lipid and fatty acid composition of *Chondrus crispus*. *Algal Res* 8:181–191
- Miller MW (1998) Coral/seaweed competition and the control of reef community structure within and between latitudes. *Ocean Mar Biol Annu Rev* 36:65–96

- Mizrahi D, Navarrete SA, Flores AAV (2014) Uneven abundance of the invasive sun coral over habitat patches of different orientation: An outcome of larval or later benthic processes? *J Exp Mar Biol Ecol* 452:22–30
- van Moorsel GWNM (1989) Juvenile ecology and reproductive strategies of reef corals.
- Morrow KM, Bromhall K, Motti CA, Munn CB, Bourne DG (2017) Allelochemicals produced by brown macroalgae of the *Lobophora* genus are active against coral larvae and associated bacteria, supporting pathogenic shifts to *Vibrio* dominance. *Appl Environ Microbiol* 83: e02391-16
- Morse ANC, Morse DE (1996) Flypapers for coral and other planktonic larvae. *BioScience* 46:254–262
- Morse DE (1990) Recent progress in larval settlement and metamorphosis: closing the gaps between molecular biology and ecology. *Bull Mar Sci* 46:465–483
- Morse DE, Hooker N, Morse ANC, Jensen RA (1988) Control of larval metamorphosis and recruitment in sympatric agariciid corals. *J Exp Mar Biol Ecol* 116:193–217
- Morse DE, Morse ANC (1991) Enzymatic characterization of the morphogen recognized by *Agaricia humilis* (scleractinian coral) larvae. *Biol Bull* 181:104–122
- Morse DE, Morse ANC, Raimondi PT, Hooker N (1994) Morphogen-based chemical flypaper for *Agaricia humilis* coral larvae. *Biol Bull* 186:172–181
- Mumby PJ (1999) Bleaching and hurricane disturbances to populations of coral recruits in Belize. *Mar Ecol Prog Ser* 190:27–35
- Mumby PJ (2006) The impact of exploiting grazers (Scaridae) on the dynamics of Caribbean coral reefs. *Ecol Appl* 16:747–769
- Mumby PJ, Bejarano S, Golbuu Y, Steneck RS, Arnold SN, van Woesik R, Friedlander AM (2013) Empirical relationships among resilience indicators on Micronesian reefs. *Coral Reefs* 32:213–226
- Mumby PJ, Hastings A, Edwards HJ (2007) Thresholds and the resilience of Caribbean coral reefs. *Nature* 450:98–101
- Mumby PJ, Steneck RS (2008) Coral reef management and conservation in light of rapidly evolving ecological paradigms. *Trends Ecol Evol* 23:555–563
- Mumby PJ, Steneck RS, Adjeroud M, Arnold SN (2016) High resilience masks underlying sensitivity to algal phase shifts of Pacific coral reefs. *Oikos* 125:644–655
- Mundy CN, Babcock RC (1998) Role of light intensity and spectral quality in coral settlement: Implications for depth-dependent settlement. *J Exp Mar Biol Ecol* 223:235–255
- Murakami H, Nobusawa T, Hori K, Shimojima M, Ohta H (2018) Betaine lipid is crucial for adapting to low temperature and phosphate deficiency in *Nannochloropsis*. *Plant Physiol* 177:181–193
- Murphy JWA, Richmond RH (2016) Changes to coral health and metabolic activity under oxygen deprivation. *PeerJ* 4:e1956

- Muscatine L (1990) The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. In: Dubinsky Z. (eds) Ecosystems of the World. Elsevier Science Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands, pp 75–87
- Muscatine L, Porter JW (1977) Reef corals: Mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments. *BioScience* 27:454–460
- Nakamura M, Ohki S, Suzuki A, Sakai K (2011) Coral Larvae under ocean acidification: Survival, metabolism, and metamorphosis. *PLoS One* 6:e14521
- Negri A, Vollhardt C, Humphrey C, Heyward A, Jones R, Eaglesham G, Fabricius K (2005) Effects of the herbicide Diuron on the early life history stages of coral. *Mar Pollut Bull* 51:370–383
- Negri AP, Heyward AJ (2000) Inhibition of fertilization and larval metamorphosis of the coral *Acropora millepora* (Ehrenberg, 1834) by petroleum products. *Mar Pollut Bull* 41:420–427
- Negri AP, Marshall PA, Heyward AJ (2007) Differing effects of thermal stress on coral fertilization and early embryogenesis in four Indo Pacific species. *Coral Reefs* 26:759–763
- Negri AP, Webster NS, Hill RT, Heyward AJ (2001) Metamorphosis of broadcast spawning corals in response to bacteria isolated from crustose algae. *Mar Ecol Prog Ser* 223:121–131
- Nelson HR, Altieri AH (2019) Oxygen: the universal currency on coral reefs. *Coral Reefs* 38:177–198
- Nelson KS, Baltar F, Lamare MD, Morales SE (2020) Ocean acidification affects microbial community and invertebrate settlement on biofilms. *Sci Rep* 10:1–9
- Nielsen SJ, Harder T, Steinberg PD (2015) Sea urchin larvae decipher the epiphytic bacterial community composition when selecting sites for attachment and metamorphosis. *FEMS Microbiol Ecol* 91:1–9
- Noisette F, Egilsdottir H, Davoult D, Martin S (2013) Physiological responses of three temperate coralline algae from contrasting habitats to near-future ocean acidification. *J Exp Mar Biol Ecol* 448:179–187
- Nozawa Y (2008) Micro-crevice structure enhances coral spat survivorship. *J Exp Mar Biol Ecol* 367:127–130
- Nozawa Y, Harrison PL (2005) Temporal settlement patterns of larvae of the broadcast spawning reef coral *Favites chinensis* and the broadcast spawning and brooding reef coral *Goniastrea aspera* from Okinawa, Japan. *Coral Reefs* 24:274–282
- Nugues MM, Delvoye L, Bak RPM (2004) Coral defence against macroalgae: differential effects of mesenterial filaments on the green alga *Halimeda opuntia*. *Mar Ecol Prog Ser* 278:103–114
- Nugues MM, Szmant AM (2006) Coral settlement onto *Halimeda opuntia*: a fatal attraction to an ephemeral substrate? *Coral Reefs* 25:585–591
- Nugues MM, Roberts CM (2003) Coral mortality and interaction with algae in relation to sedimentation. *Coral Reefs* 22:507–516
- Nyström M, Folke C (2001) Spatial resilience of coral reefs. *Ecosystems* 4:406–417
- Okamoto M, Nojima S, Fujiwara S, Furushima Y (2008) Development of ceramic settlement devices for coral reef restoration using in situ sexual reproduction of corals. *Fish Sci* 74:1245–1253

- Oken L (1815) Lehrbuch der Naturgeschichte: 3. Theil. Zoologie; 1. Abt. Fleischlose Thiere
- Oksanen J, Blanchet FG, Kindt R, Legendre P, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Sólymos P, Stevens MHH, Wagner H (2012) vegan: Community ecology package.
- Okubo A, Ackerman JD, Swaney DP (2001) Passive diffusion in ecosystems. In: Okubo A., Levin S.A. (eds) Diffusion and Ecological Problems: Modern Perspectives. Springer, New York, USA, pp 31–106
- Olafsson E (2016) Marine macrophytes as foundation species. CRC Press, Florida, USA
- O'Leary JK, McClanahan TR (2010) Trophic cascades result in large-scale coralline algae loss through differential grazer effects. *Ecology* 91:3584–3597
- Olsen K, Paul VJ, Ross C (2015) Direct effects of elevated temperature, reduced pH, and the presence of macroalgae (*Dictyota* spp.) on larvae of the Caribbean coral *Porites astreoides*. *Bull Mar Sci* 91:255–270
- Omori M, Iwao K (2014) Methods of farming sexually propagated corals and outplanting for coral reef rehabilitation; with list of references for coral reef rehabilitation through active restoration measure. *Akajima Mar Sci Lab* 1–63
- Orr JC, Fabry VJ, Aumont O, Bopp L, Doney SC, Feely RA, Gnanadesikan A, Gruber N, Ishida A, Joos F, Key RM, Lindsay K, Maier-Reimer E, Matear R, Monfray P, Mouchet A, Najjar RG, Plattner G-K, Rodgers KB, Sabine CL, Sarmiento JL, Schlitzer R, Slater RD, Totterdell IJ, Weirig M-F, Yamanaka Y, Yool A (2005) Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437:681–686
- Pandolfi JM, Bradbury RH, Sala E, Hughes TP, Bjorndal KA, Cooke RG, McArdle D, McClenahan L, Newman MJH, Paredes G, Warner RR, Jackson JBC (2003) Global trajectories of the long-term decline of coral reef ecosystems. *Science* 301:955–958
- Pandolfi JM, Connolly SR, Marshall DJ, Cohen AL (2011) Projecting coral reef futures under global warming and ocean acidification. *Science* 333:418–422
- Parks DH, Tyson GW, Hugenholtz P, Beiko RG (2014) STAMP: statistical analysis of taxonomic and functional profiles. *Bioinformatics* 30:3123–3124
- Patel P, Callow ME, Joint I, Callow JA (2003) Specificity in the settlement – modifying response of bacterial biofilms towards zoospores of the marine alga *Enteromorpha*. *Environ Microbiol* 5:338–349
- Paul VJ, Kuffner IB, Walters LJ, Ritson-Williams R, Beach KS, Becerro MA (2011) Chemically mediated interactions between macroalgae *Dictyota* spp. and multiple life-history stages of the coral *Porites astreoides*. *Mar Ecol Prog Ser* 426:161–170
- Pawlik JR, Steindler L, Henkel TP, Beer S, Ilan M (2007) Chemical warfare on coral reefs: Sponge metabolites differentially affect coral symbiosis in situ. *Limnol Oceanogr* 52:907–911
- Penin L, Adjeroud M, Pratchett MS, Hughes TP (2007a) Spatial distribution of juvenile and adult corals around Moorea (French Polynesia): implications for population regulation. *Bull Mar Sci* 80:379–389
- Penin L, Adjeroud M, Schrimm M, Lenihan HS (2007b) High spatial variability in coral bleaching around Moorea (French Polynesia): patterns across locations and water depths. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Biologie, Paris* 330:171–181

- Penin L, Michonneau F, Baird A, Connolly SR, Pratchett MS, Kayal M, Adjeroud M (2008) Importance of post-settlement mortality on scleractinian population maintenance around Moorea, French Polynesia. 11th International Coral Reef Symposium, Fort Lauderdale, United States
- Penin L, Michonneau F, Baird AH, Connolly SR, Pratchett MS, Kayal M, Adjeroud M (2010a) Early post-settlement mortality and the structure of coral assemblages. *Marine Ecology Progress Series* 408 : 55-64
- Penin L, Mohsen K, Bosserelle P, Adjeroud M (2010b) How do different coral life-cycle stages respond to disturbances ? Implications for recovery capacities. *Euro ISRS Symposium* 178
- Penin L, Michonneau F, Carroll A, Adjeroud M (2011) Effects of predators and grazers exclusion on early post-settlement coral mortality. *Hydrobiologia*, 663: 259-264
- Pessoa MF (2012) Algae and aquatic macrophytes responses to cope to ultraviolet radiation - a review. *Emir J Food Agric* 24:527–545
- Petersen D, Carl M, Borneman E, Brittsan M, Hagedorn M, Laterveer M, Schick M (2008) Noah’s ark for the threatened Elkhorn coral *Acropora palmata*. *Coral Reefs* 27:715–715
- Petersen D, Laterveer M, Bergen DV, Hatta M, Hebbinghaus R, Janse M, Jones R, Richter U, Ziegler T, Visser G, Schuhmacher H (2006) The application of sexual coral recruits for the sustainable management of ex situ populations in public aquariums to promote coral reef conservation — SECORE Project. *Aquat Conserv Mar Freshw Ecosyst* 16:167–179
- Petersen D, Laterveer M, Schuhmacher H (2005) Spatial and temporal variation in larval settlement of reefbuilding corals in mariculture. *Aquaculture* 249:317–327
- Plouguerné E, De Souza LM, Sasaki GL, Hellio C, Trepos R, Da Gama BAP, Pereira RC, Barreto-Bergter E (2020) Glycoglycerolipids from *Sargassum vulgare* as potential antifouling agents. *Front Mar Sci* 7:9
- Plouguerné E, da Gama BAP, Pereira RC, Barreto-Bergter E (2014) Glycolipids from seaweeds and their potential biotechnological applications. *Front Cell Infect Microbiol* 4:174
- Plouguerné E, Ioannou E, Georgantea P, Vagias C, Roussis V, Hellio C, Kraffe E, Stiger-Pouvreau V (2010) Anti-microfouling activity of lipidic metabolites from the invasive brown alga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *Mar Biotechnol* 12:52–61
- Policansky D (1982) Sex change in plants and animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 13:471-495
- Porterfield DM (1997) Orientation of motile unicellular algae to oxygen: Oxytaxis in *Euglena*. *Biol Bull* 193:229–230
- Pörtner H-O, Karl DM, Boyd PW, Cheung W, Lluch-Cota SE, Nojiri Y, Schmidt DN, Zavialov PO, Alheit J, Aristegui J, Armstrong C, Beaugrand G, Belkovich V, Bowler C, Brewer P, Church M, Cooley SR, del Monte-Luna P, Edwards M, Flint M, Follows MJ, Frölicher T, Fulton EA, Gattuso J-P, Hoegh-Guldberg O, Hofmann EE, Knoll AH, Levin LA, Menzel L, Moloney CL, Perry RI, Poloczanska ES, Roberts JM, Rost B, Sarmiento JL, Sedlacek J, Storch D, Wiencke C, Wittmann AC (2014) Ocean systems. *Climate Change 2014: Impacts, Adaptation, and Vulnerability. Part A: Global and Sectoral Aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp 411–484

- Porzio L, Buia MC, Hall-Spencer JM (2011) Effects of ocean acidification on macroalgal communities. *J Exp Mar Biol Ecol* 400:278–287
- Price N (2010) Habitat selection, facilitation, and biotic settlement cues affect distribution and performance of coral recruits in French Polynesia. *Oecologia* 163:747–758
- Przeslawski R, Byrne M, Mellin C (2015) A review and meta-analysis of the effects of multiple abiotic stressors on marine embryos and larvae. *Glob Change Biol* 21:2122–2140
- Putnam HM, Edmunds PJ, Fan T-Y (2008) Effect of temperature on the settlement choice and photophysiology of larvae from the reef coral *Stylophora pistillata*. *Biol Bull* 215:135–142
- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO (2013) The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 41:D590–D596
- Quigley KM, Roa CA, Torda G, Bourne DG, Willis BL (2020) Co-dynamics of Symbiodiniaceae and bacterial populations during the first year of symbiosis with *Acropora tenuis* juveniles. *MicrobiologyOpen* 9:e959
- Quinlan ZA, Ritson-Williams R, Carroll BJ, Carlson CA, Nelson CE (2019) Species-specific differences in the microbiomes and organic exudates of crustose coralline algae influence bacterioplankton communities. *Front Microbiol* 10:2397
- Ragazzola F, Foster LC, Form A, Anderson PSL, Hansteen TH, Fietzke J (2012) Ocean acidification weakens the structural integrity of coralline algae. *Glob Change Biol* 18:2804–2812
- Ragazzola F, Foster LC, Form AU, Büscher J, Hansteen TH, Fietzke J (2013) Phenotypic plasticity of coralline algae in a High CO₂ world. *Ecol Evol* 3:3436–3446
- Raimondi PT, Morse ANC (2000) The consequences of complex larval behavior in a coral. *Ecology* 81:3193–3211
- Randall CJ, Negri AP, Quigley KM, Foster T, Ricardo GF, Webster NS, Bay LK, Harrison PL, Babcock RC, Heyward AJ (2020) Sexual production of corals for reef restoration in the Anthropocene. *Mar Ecol Prog Ser* 635:203–232
- Randall CJ, Szmant AM (2009a) Elevated temperature reduces survivorship and settlement of the larvae of the Caribbean scleractinian coral, *Favia fragum* (Esper). *Coral Reefs* 28:537–545
- Randall CJ, Szmant AM (2009b) Elevated temperature affects development, survivorship, and settlement of the Elkhorn coral, *Acropora palmata* (Lamarck 1816). *Biol Bull* 217:269–282
- Rasher DB, Hay ME (2010) Chemically rich seaweeds poison corals when not controlled by herbivores. *Proc Natl Acad Sci* 107:9683–9688
- Rasher DB, Stout EP, Engel S, Kubanek J, Hay ME (2011) Macroalgal terpenes function as allelopathic agents against reef corals. *Proc Natl Acad Sci* 108:17726–17731
- Raven J, Caldeira K, Elderfield H, Hoegh-Guldberg O, Liss PS, Riebesell U, Sheperd J, Turley C, Watson A (2005) Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. *Royal Society Special Report* 68

- Raymundo LJ, Maypa AP (2004) Getting bigger faster: mediation of size-specific mortality via fusion in juvenile coral transplants. *Ecol Appl* 14:281–295
- Reichelt-Brushett AJ, Harrison PL (2000) The effect of copper on the settlement success of larvae from the scleractinian coral *Acropora tenuis*. *Mar Pollut Bull* 41:385–391
- Ribes M, Jiménez E, Yahel G, López-Sendino P, Diez B, Massana R, Sharp JH, Coma R (2012) Functional convergence of microbes associated with temperate marine sponges. *Environ Microbiol* 14:1224–1239
- Ricardo GF, Jones RJ, Nordborg M, Negri AP (2017) Settlement patterns of the coral *Acropora millepora* on sediment-laden surfaces. *Sci Total Environ* 609:277–288
- Richmond R, Hunter C (1990) Reproduction and recruitment of corals: comparisons among the Caribbean, the tropical Pacific, and the Red Sea. *Mar Ecol Prog Ser* 60:185–203
- Richmond RH (1987) Energetics, competency, and long-distance dispersal of planula larvae of the coral *Pocillopora damicornis*. *Mar Biol* 93:527–533
- Richmond RH (1997) Reproduction and recruitment in corals: critical links in the persistence of reefs. *Life and death of coral reefs*. Chapman & Hall, New York, USA, pp 175–198
- Riebesell U, Körtzinger A, Oschlies A (2009) Sensitivities of marine carbon fluxes to ocean change. *Proc Natl Acad Sci* 106:20602–20609
- Riegl B, Bruckner A, Coles SL, Renaud P, Dodge RE (2009) Coral reefs. *Ann N Y Acad Sci* 1162:136–186
- Ries JB, Cohen AL, McCorkle DC (2009) Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification. *Geology* 37:1131–1134
- Ritson-Williams R, Arnold S, Fogarty N, Steneck RS, Vermeij M, Paul VJ (2009) New perspectives on ecological mechanisms affecting coral recruitment on reefs. *Smithson Contrib Mar Sci* 437–457
- Ritson-Williams R, Arnold S, Paul V (2016a) Patterns of larval settlement preferences and post-settlement survival for seven Caribbean corals. *Mar Ecol Prog Ser* 548:127–138
- Ritson-Williams R, Arnold SN, Paul VJ, Steneck RS (2014) Larval settlement preferences of *Acropora palmata* and *Montastraea faveolata* in response to diverse red algae. *Coral Reefs* 33:59–66
- Ritson-Williams R, Paul VJ, Arnold SN, Steneck RS (2010) Larval settlement preferences and post-settlement survival of the threatened Caribbean corals *Acropora palmata* and *A. cervicornis*. *Coral Reefs* 29:71–81
- Ritson-Williams R, Ross C, Paul VJ (2016b) Elevated temperature and allelopathy impact coral recruitment. *PLoS One* 11:e166581
- Rius M, Turon X, Marshall DJ (2009) Non-lethal effects of an invasive species in the marine environment: the importance of early life-history stages. *Oecologia* 159:873–882
- Roberts, CM (1997) Connectivity and management of Caribbean coral reefs. *Science*. 278:1454-1457
- Rodriguez S, Ojeda F, Inestrosa N (1993) Settlement of benthic marine invertebrates. *Mar Ecol Prog Ser* 97:193–207

- Rohart F, Gautier B, Singh A, Cao K-AL (2017) mixOmics: an R package for 'omics feature selection and multiple data integration. *bioRxiv* 108597
- Ruiz-Zárata MA, Espinoza-Avalos J, Carricart-Ganivet JP, Fragoso D (2000) Relationships between *Manicina areolata* (Cnidaria: Scleractinia), *Thalassia testudinum* (Anthophyta) and *Neogoniolithon* sp. (Rhodophyta). *Mar Ecol Prog Ser* 206:135–146
- Ruppert EE (2004) *Invertebrate zoology: A functional evolutionary approach*. Saunders College Publishing, New York, USA
- Rylaarsdam KW (1983) Life histories and abundance patterns of colonial corals on Jamaican reefs. *Mar Ecol Prog Ser* 13:249–260
- Sammarco PW, Williams AH (1982) Damselfish territoriality: influence on *Diadema* distribution and implications for coral community structure. *Mar Ecol Prog Ser* 8:53–59
- Sammarco PW (1980) *Diadema* and its relationship to coral spat mortality: Grazing, competition, and biological disturbance. *J Exp Mar Biol Ecol* 45:245–272
- Schlaff AM, Heupel MR, Simpfendorfer CA (2014) Influence of environmental factors on shark and ray movement, behaviour and habitat use: a review. *Rev Fish Biol Fish* 24:1089–1103
- Schmahl G (1985) Induction of stolon settlement in the scyphopolyps of *Aurelia aurita* (Cnidaria, Scyphozoa, Semaestomeae) by glycolipids of marine bacteria. *Helgoländer Meeresunters* 39:117–127
- Schmidt-Roach S, Miller K J, Woolsey E, Gerlach G, Baird AH (2012) Broadcast spawning by Pocillopora species on the Great Barrier Reef. *PLoS One* 7:e50847
- Schneider K, Erez J (2006) The effect of carbonate chemistry on calcification and photosynthesis in the hermatypic coral *Acropora eurystoma*. *Limnol Oceanogr* 51:1284–1293
- Schrimm M, Buscail R, Adjeroud M (2004) Spatial variability of the biogeochemical composition of surface sediments in an insular coral reef ecosystem: Moorea, French Polynesia. *Estuar Coast Shelf Sci* 60:515–528
- Sebens KP (1982) Competition for space: growth rate, reproductive output, and escape in size. *Am Nat* 120:189–197
- Sebens KP (1986) Spatial relationships among encrusting marine organisms in the New England subtidal zone. *Ecol Monogr* 56:73–96
- Sharma KK, Schuhmann H, Schenk PM (2012) High lipid induction in microalgae for biodiesel production. *Energies* 5:1532–1553
- Sharp KH, Ritchie KB, Schupp PJ, Ritson-Williams R, Paul VJ (2010) Bacterial acquisition in juveniles of several broadcast spawning coral species. *PLoS One* 5:e10898
- Sharp KH, Sneed JM, Ritchie KB, Mcdaniel L, Paul VJ (2015) Induction of larval settlement in the reef coral *Porites astreoides* by a cultivated marine *Roseobacter* strain. *Biol Bull* 228:98–107
- Shlesinger Y, Loya Y (1985) Coral community reproductive patterns: Red Sea versus the Great Barrier Reef. *Science* 228:1333–1335

- Siboni N, Abrego D, Motti CA, Tebben J, Harder T (2014) Gene expression patterns during the early stages of chemically induced larval metamorphosis and settlement of the coral *Acropora millepora*. PLoS One 9:e91082
- Siboni N, Abrego D, Seneca F, Motti CA, Andreakis N, Tebben J, Blackall LL, Harder T (2012) Using bacterial extract along with differential gene expression in *Acropora millepora* larvae to decouple the processes of attachment and metamorphosis. PLoS One 7:e37774
- Silva-Aciares F, Riquelme C (2008) Inhibition of attachment of some fouling diatoms and settlement of *Ulva lactuca* zoospores by film-forming bacterium and their extracellular products isolated from biofouled substrata in Northern Chile. Electron J Biotechnol 11:60–70
- Simpson CJ, Cary JL, Masini RJ (1993) Destruction of corals and other reef animals by coral spawn slicks on Ningaloo Reef, Western Australia. Coral Reefs 12:185–191
- Singh A, Shannon CP, Gautier B, Rohart F, Vacher M, Tebbutt SJ, Lê Cao K-A (2019) DIABLO: an integrative approach for identifying key molecular drivers from multi-omics assays. Bioinformatics 35:3055–3062
- Slattery M, Lesser MP (2014) Allelopathy in the tropical alga *Lobophora variegata* (Phaeophyceae): mechanistic basis for a phase shift on mesophotic coral reefs? J Phycol 50:493–505
- Smith JE, Shaw M, Edwards RA, Obura D, Pantos O, Sala E, Sandin SA, Smriga S, Hatay M, Rohwer FL (2006) Indirect effects of algae on coral: algae-mediated, microbe-induced coral mortality. Ecol Lett 9:835–845
- Smith SR (1992) Patterns of coral recruitment and post-settlement mortality on Bermuda's reefs: comparisons to Caribbean and Pacific reefs. Integr Comp Biol 32:663–673
- Sneed JM, Ritson-Williams R, Paul VJ (2015) Crustose coralline algal species host distinct bacterial assemblages on their surfaces. ISME J 9:2527–2536
- Sneed JM, Sharp KH, Ritchie KB, Paul VJ (2014) The chemical cue tetrabromopyrrole from a biofilm bacterium induces settlement of multiple Caribbean corals. Proc R Soc B Biol Sci 281:20133086
- Sogin EM, Putnam HM, Nelson CE, Anderson P, Gates RD (2017) Correspondence of coral holobiont metabolome with symbiotic bacteria, archaea and *Symbiodinium* communities. Environ Microbiol Rep 9:310–315
- Son H-S, Hwang G-S, Ahn H-J, Park W-M, Lee C-H, Hong Y-S (2009) Characterization of wines from grape varieties through multivariate statistical analysis of 1H NMR spectroscopic data. Food Res Int 42:1483–1491
- Stake JL, Sammarco PW (2003) Effects of pressure on swimming behavior in planula larvae of the coral *Porites astreoides* (Cnidaria, Scleractinia). J Exp Mar Biol Ecol 288:181–201
- Staley JT, Konopka A (1985) Measurement of in situ activities of nonphotosynthetic microorganisms in aquatic and terrestrial habitats. Annu Rev Microbiol 39:321–346
- Steneck RS (1986) The ecology of coralline algal crusts: convergent patterns and adaptive strategies. Annu Rev Ecol Syst 17:273–303

- Steneck RS, Dethier MN (1994) A functional group approach to the structure of algal-dominated communities. *Oikos* 69:476–498
- Steneck RS, Hacker SD, Dethier MN (1991) Mechanisms of competitive dominance between crustose coralline algae: An herbivore-mediated competitive reversal. *Ecology* 72:938–950
- Steneck RS, Lang JC (2003) Mexico. Rapid assessment of Mexico's Yucatan reef in 1997 and 1999: Pre- and post-1998 mass bleaching and hurricane Mitch (Stony corals, algae and fishes). *Atoll Res Bull* 496:294-317
- Steneck RS, Macintyre IG, Reid RP (1997) A unique algal ridge system in the Exuma Cays, Bahamas. *Coral Reefs* 16:29–37
- Strader ME, Davies SW, Matz MV (2015) Differential responses of coral larvae to the colour of ambient light guide them to suitable settlement microhabitat. *R Soc Open Sci* 2:150358
- Strong AE, Liu G, Skirving W, Eakin CM (2011) NOAA's Coral Reef Watch program from satellite observations. *Ann GIS* 17:83–92
- Suwa R, Nakamura M, Morita M, Shimada K, Iguchi A, Sakai K, Suzuki A (2010) Effects of acidified seawater on early life stages of scleractinian corals (Genus *Acropora*). *Fish Sci* 76:93–99
- Suzuki A, Nakamori T, Kayanne H (1995) The mechanism of production enhancement in coral reef carbonate systems: model and empirical results. *Sediment Geol* 99:259–280
- Suzuki G, Kai S, Fujikura Y, Yamashita H (2018) Post-settlement survivorship of artificially supplied *Acropora* coral larvae in the Sekisei Lagoon. *Mar Ecol Prog Ser* 603:105–115
- Suzuki Y, Takabayashi T, Kawaguchi T, Matsunaga K (1998) Isolation of an allelopathic substance from the crustose coralline algae, *Lithophyllum* spp., and its effect on the brown alga, *Laminaria religiosa* Miyabe (Phaeophyta). *J Exp Mar Biol Ecol* 225:69–77
- Szmant AM (1986) Reproductive ecology of Caribbean reef corals. *Coral Reefs* 5:43–53
- Szmant AM, Meadows MG (2006) Developmental changes in coral larval buoyancy and vertical swimming behavior: Implications for dispersal and connectivity. In *Proc 10th Int Coral Reef Symp*, pp. 431-437
- Takahashi Y, Itoh K, Ishii M, Suzuki M, Itabashi Y (2002) Induction of larval settlement and metamorphosis of the sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* by glycolipids from the green alga *Ulva* lens. *Mar Biol* 140:763–771
- Tankersley RA, Bullock TM, Forward RB, Rittschof D (2002) Larval release behaviors in the blue crab *Callinectes sapidus*: role of chemical cues. *J Exp Mar Biol Ecol* 273:1–14
- Tebben J, Motti CA, Siboni N, Tapiolas DM, Negri AP, Schupp PJ, Kitamura M, Hatta M, Steinberg PD, Harder T (2015) Chemical mediation of coral larval settlement by crustose coralline algae. *Sci Rep* 5:10803
- Tebben J, Motti CA, Tapiolas DM, Thomas-Hall P, Harder T (2014) A coralline algal-associated bacterium, *Pseudoalteromonas* strain J010, yields five new korormicins and a bromopyrrole. *Mar Drugs* 12:2802–2815

- Tebben J, Tapiolas DM, Motti CA, Abrego D, Negri AP, Blackall LL, Steinberg PD, Harder T (2011) Induction of larval metamorphosis of the coral *Acropora millepora* by tetrabromopyrrole isolated from a *Pseudoalteromonas* bacterium. *PLoS One* 6:e19082
- Teuber L, Schukat A, Hagen W, Auel H (2013) Distribution and ecophysiology of calanoid copepods in relation to the oxygen minimum zone in the eastern tropical atlantic. *PLoS One* 8:e77590
- Tran C, Hadfield MG (2011) Larvae of *Pocillopora damicornis* (Anthozoa) settle and metamorphose in response to surface-biofilm bacteria. *Mar Ecol Prog Ser* 433:85–96
- Tran C, Hadfield MG (2013) Localization of sensory mechanisms utilized by coral planulae to detect settlement cues. *Invertebr Biol* 132:195–206
- Trapon ML, Pratchett MS, Penin L (2011) Comparative effects of different disturbances in coral reef habitats in Moorea, French Polynesia. *Journal of Marine Biology* 807625
- Trapon ML, Pratchett MS, Hoey AS, Baird AH (2013) Influence of fish grazing and sedimentation on the early post-settlement survival of the tabular coral *Acropora cytherea*. *Coral Reefs* 32:1051–1059
- Vaquer-Sunyer R, Duarte CM (2008) Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. *Proc Natl Acad Sci* 105:15452–15457
- Venera-Ponton DE, Diaz-Pulido G, McCook LJ, Rangel-Campo A (2011) Macroalgae reduce growth of juvenile corals but protect them from parrotfish damage. *Mar Ecol Prog Ser* 421:109–115
- Vermeij MJA (2005) Substrate composition and adult distribution determine recruitment patterns in a Caribbean brooding coral. *Mar Ecol Prog Ser* 295:123–133
- Vermeij MJA (2006) Early life-history dynamics of Caribbean coral species on artificial substratum: the importance of competition, growth and variation in life-history strategy. *Coral Reefs* 25:59–71
- Vermeij MJA, Dailer ML, Smith CM (2011) Crustose coralline algae can suppress macroalgal growth and recruitment on Hawaiian coral reefs. *Mar Ecol Prog Ser* 422:1–7
- Vermeij MJA, Marhaver KL, Huijbers CM, Nagelkerken I, Simpson SD (2010a) Coral larvae move toward reef sounds. *PLoS One* 5:e10660
- Vermeij MJA, Moorselaar I van, Engelhard S, Hörnlein C, Vonk SM, Visser PM (2010b) The effects of nutrient enrichment and herbivore abundance on the ability of turf algae to overgrow coral in the Caribbean. *PLoS One* 5:e14312
- Vermeij MJA, Sandin SA (2008) Density-dependent settlement and mortality structure the earliest life phases of a coral population. *Ecology* 89:1994–2004
- Vermeij MJA, Smith JE, Smith CM, Vega Thurber R, Sandin SA (2009) Survival and settlement success of coral planulae: independent and synergistic effects of macroalgae and microbes. *Oecologia* 159:325–336
- Vieira C, Thomas OP, Culioli G, Genta-Jouve G, Houlbreque F, Gaubert J, De Clerck O, Payri CE (2016) Allelopathic interactions between the brown algal genus *Lobophora* (Dictyotales, Phaeophyceae) and scleractinian corals. *Sci Rep* 6:1–11
- Vohsen SA, Fisher CR, Baums IB (2019) Metabolomic richness and fingerprints of deep-sea coral species and populations. *Metabolomics* 15:34

- Wakeford M, Done TJ, Johnson CR (2008) Decadal trends in a coral community and evidence of changed disturbance regime. *Coral Reefs* 27:1–13
- Wangpraseurt D, Weber M, Røy H, Polerecky L, Beer D de, Suharsono, Nugues MM (2012) In situ oxygen dynamics in coral-algal interactions. *PLoS One* 7:e31192
- Webster FJ, Babcock RC, Keulen MV, Loneragan NR (2015) Macroalgae inhibits larval settlement and increases recruit mortality at Ningaloo reef, Western Australia. *PLoS One* 10:e0124162
- Webster NS, Negri AP, Botté ES, Laffy PW, Flores F, Noonan S, Schmidt C, Uthicke S (2016) Host-associated coral reef microbes respond to the cumulative pressures of ocean warming and ocean acidification. *Sci Rep* 6:1–9
- Webster NS, Smith LD, Heyward AJ, Watts JEM, Webb RI, Blackall LL, Negri AP (2004) Metamorphosis of a scleractinian coral in response to microbial biofilms. *Appl Environ Microbiol* 70:1213–1221
- Webster NS, Soo R, Cobb R, Negri AP (2011) Elevated seawater temperature causes a microbial shift on crustose coralline algae with implications for the recruitment of coral larvae. *ISME J* 5:759–770
- Webster NS, Uthicke S, Botté ES, Flores F, Negri AP (2013) Ocean acidification reduces induction of coral settlement by crustose coralline algae. *Glob Change Biol* 19:303–315
- Whalan S, Abdul Wahab MA, Sprungala S, Poole AJ, de Nys R (2015) Larval settlement: The role of surface topography for sessile coral reef invertebrates. *PLoS One* 10:e117675
- Wijgerde T, Jurriaans S, Hoofd M, Verreth JAJ, Osinga R (2012) Oxygen and heterotrophy affect calcification of the scleractinian coral *Galaxea fascicularis*. *PLoS One* 7:e52702
- Wijgerde T, Silva CIF, Scherders V, van Bleijswijk J, Osinga R (2014) Coral calcification under daily oxygen saturation and pH dynamics reveals the important role of oxygen. *Biol Open* 3:489–493
- Wilson J, Harrison P (2005) Post-settlement mortality and growth of newly settled reef corals in a subtropical environment. *Coral Reefs* 24:418–421
- Xia J, Sinelnikov IV, Han B, Wishart DS (2015) MetaboAnalyst 3.0 making metabolomics more meaningful. *Nucleic Acids Res* 43:251–257
- Yonge CM (1931) Studies on the physiology of corals. IV. The structure, distribution and physiology of the zooxanthellae. *Gt Barrier Reef Exped 1928–29 Sci Rep* 1:135–176
- Young CM, Chia FS (1981) Laboratory evidence for delay of larval settlement in response to a dominant competitor. *Int J Invertebr Reprod* 3:221–226
- Yuan X, Yuan T, Huang H, Jiang L, Zhou W, Liu S (2018) Elevated CO₂ delays the early development of scleractinian coral *Acropora gemmifera*. *Sci Rep* 8:1–10
- Zhang J, Li C, Yu G, Guan H (2014) Total synthesis and structure-activity relationship of glyco-glycerolipids from marine organisms. *Mar Drugs* 12:3634–3659
- Zhu B (2004) Effects of temperature, hypoxia, ammonia and nitrate on the bleaching among three coral species. *Chin Sci Bull* 49:1923

Websites

https://warwick.ac.uk/fac/sci/chemistry/research/barrow/barrowgroup/calculators/mass_errors/

<https://www.algaebase.org/>

<http://www.coralsoftheworld.org/>

Annexes

Annex 1: Crustose coralline algae (CCA) (www.algaebase.org)

Les algues corallines sont des algues rouges, fortement calcifiées de l'ordre des Corallinales (Rhodophyta). Le corps de la plante (thalle) est composé de chaînes de cellules (filaments) qui peuvent fusionner latéralement ou former également des connexions secondaires (latérales). Les plantes mâles et femelles haploïdes séparées produisent des gamètes dans des sori (amas de spores) ou des conceptacles en forme de dôme à un seul pore, avec des spores (tétraspoires haploïdes ou bispoires diploïdes) se formant dans des sori qui sont généralement modifiés en conceptacles à un ou à plusieurs pores.

Porolithon onkodes (Heydrich) Foslie 1909: 57

Classification:

Domaine Eukaryota

Règne Plantae

Embranchement Rhodophyta

Sous-embranchement Eurhodophytina

Classe Florideophyceae

Souss-classe Corallinophycidae

Ordre Corallinales

Famille Porolithaceae

Sous-famille Porolithoideae

Genre Porolithon



Lithophyllum insipidum W.H.Adey, R.A.Townsend & Boykins 1982

Classification:

Domaine Eukaryota

Règne Plantae

Embranchement Rhodophyta

Sous-embranchement Eurhodophytina

Classe Florideophyceae

Sous-classe Corallinophycidae

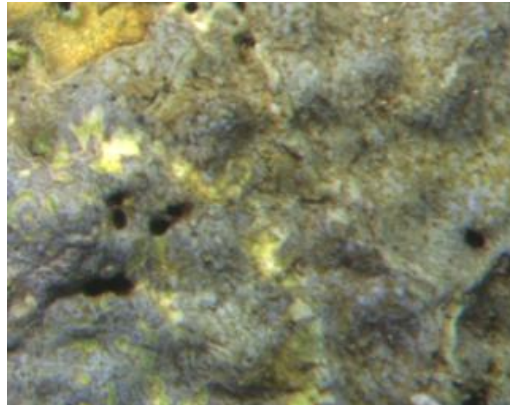
Ordre Corallinales

Famille Lithophyllaceae

Sous-famille Lithophylloideae

Tribu Lithophylleae

Genre Lithophyllum



Lithophyllum flavescens Keats 1997: 357, figs 23-39

Classification:

Domaine Eukaryota

Règne Plantae

Embranchement Rhodophyta

Sous-embranchement Eurhodophytina

Classe Florideophyceae

Sous-classe Corallinophycidae

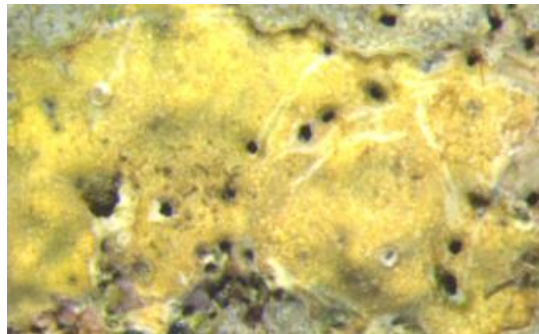
Ordre Corallinales

Famille Lithophyllaceae

Sous-famille Lithophylloideae

Tribu Lithophylleae

Genre Lithophyllum



Neogoniolithon foslei (Heydrich) Setchell & L.R.Mason 1943

Classification:

Domaine Eukaryota

Règne Plantae

Embranchment Rhodophyta

Sous-embranchement Eurhodophytina

Classe Florideophyceae

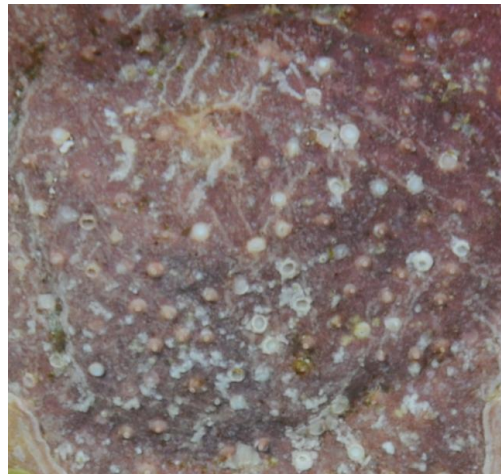
Souss-classe Corallinophycidae

Ordre Corallinales

Famille Spongitaceae

Sous-famille Neogoniolithoideae

Genre Neogoniolithon



Paragoniolithon conicum (E.Y.Dawson) W.H.Adey, R.A.Townsend & Boykins 1982

Classification:

Domaine Eukaryota

Règne Plantae

Embranchment Rhodophyta

Sous-embranchement Eurhodophytina

Classe Florideophyceae

Souss-classe Corallinophycidae

Ordre Corallinales

Famille Corallinaceae

Genre Paragoniolithon



Titanoderma prototypum (Foslie) Woelkerling, Y.M.Chamberlain & P.C.Silva 1985

Classification:

Domaine Eukaryota

Règne Plantae

Embranchement Rhodophyta

Sous-embranchement Eurhodophytina

Classe Florideophyceae

Souss-classe Corallinophycidae

Ordre Corallinales

Famille Lithophyllaceae

Sous-famille Lithophylloideae

Tribu Dermatolitheae

Genre Titanoderma



Annex 2: Informations sur les espèces de coraux utilisées dans cette thèse

2.1 Différents modes de reproduction des coraux

La reproduction asexuée produit des modules génétiquement identiques qui peuvent prolonger la survie du génotype, tandis que la reproduction sexuée permet la recombinaison génétique et la production de nouveaux génotypes de corail qui peuvent améliorer l'aptitude et la survie de l'espèce. Quatre modèles de base de reproduction sexuée sont évidents parmi les coraux, qui comprennent: les « broadcast spawners » hermaphrodites, les « brooders » hermaphrodites, les « broadcast spawners » gonochoriques ou les « brooders » gonochoriques (Figure 1). Les coraux hermaphrodites ont les deux sexes développés dans leurs polypes et leurs colonies, tandis que les coraux gonochoriques ont des sexes séparés; et les coraux avec ces modèles sexuels génèrent à la volée leurs gamètes pour la fécondation externe et le développement ultérieur d'embryons et de larves, ou ont une fécondation interne et des embryons de couvain et des larves de planules dans leurs polypes (Harrison et Wallace 1990; Richmond et Hunter 1990).

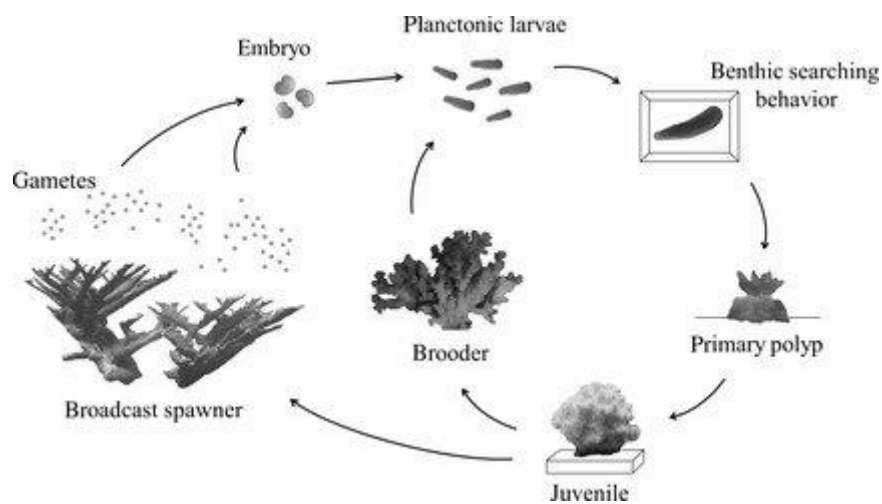


Figure 7: Cycle de reproduction des reproducteurs et reproducteurs à la volée. (Leal et al. 2016)

Les espèces de corail hermaphrodites produisent généralement des gamètes mâles et femelles dans les polypes des colonies au cours de leur vie, et au sein de ce groupe, on peut distinguer l'hermaphroditisme simultané et séquentiel. Un total de 295 espèces de coraux exclusivement hermaphrodites ont été signalés à ce jour. Cela représente 70,9% des 416 espèces pour lesquelles le modèle sexuel est connu; par conséquent, l'hermaphroditisme est clairement le modèle sexuel dominant parmi les espèces de corail étudiées jusqu'à présent.

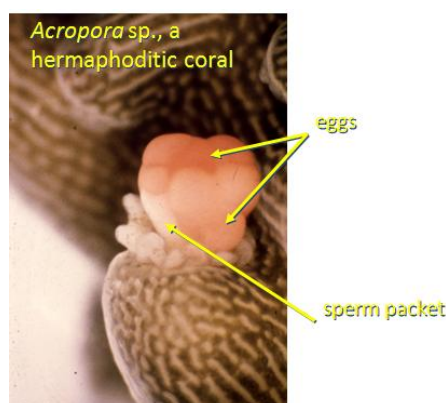


Figure 8: Un corail *Acropora* où le paquet, contenant à la fois des œufs et un sachet de sperme, est libéré du polype (photo: Antoine Puissay)

Les hermaphrodites simultanés développent des ovules matures et des spermatozoïdes matures en même temps chez le même individu (Policansky 1982), et la grande majorité des espèces de coraux hermaphrodites connues sont des hermaphrodites simultanés qui développent à la fois des ovules et des spermatozoïdes dans chaque polype, comme *Acropora cytherea* et *Acropora pulchra* (Figure 2).

2.2 Espèces d'études: *Acropora cytherea* et *Acropora pulchra*

(www.coralsoftheworld.org)

Actuellement, environ 120 à 140 espèces vivantes sont reconnues dans le genre *Acropora* (Oken, 1815), mais de nouvelles espèces sont encore découvertes dans des assemblages de coraux vivants et fossiles. Le nom latin dérive du mode de croissance, où les branches sont formées par un polype central ou axial, qui bourgeonne de nombreux d'un second type, les polypes radiaux, autour de son extrémité pendant qu'il s'étend. De nouvelles branches sont formées par le développement de nouveaux polypes axiaux le long de la branche. Ce mode de croissance, similaire au mode axial des plantes fluides, permet de nombreuses variations sur un thème de ramification.

Classification:

Domaine Eukaryota

Règne Animalia

Embranchement Cnidaria

Classe Anthozoa

Souss-classe Hexacorallia

Ordre Scleractinia

Famille Acroporidae

Genre *Acropora*

Ecologie

Selon l'espèce et l'emplacement, les espèces d'*Acropora* peuvent se développer sous forme de plaques ou de branches minces ou larges. Comme les autres coraux, les coraux *Acropora* sont des colonies de polypes individuels, qui mesurent environ 2 mm de diamètre et partagent des tissus et un filet nerveux. Les polypes peuvent se retirer dans le corail en réponse aux mouvements ou aux perturbations de prédateurs potentiels, mais lorsqu'ils ne sont pas dérangés, ils dépassent légèrement.

Colonies arborescentes d'*A. pulchra* à corallites radiales à lèvres pointues, la plupart ne se touchent pas avec un mélange de tailles. Ils se produisent sur les plaines intérieures du récif.

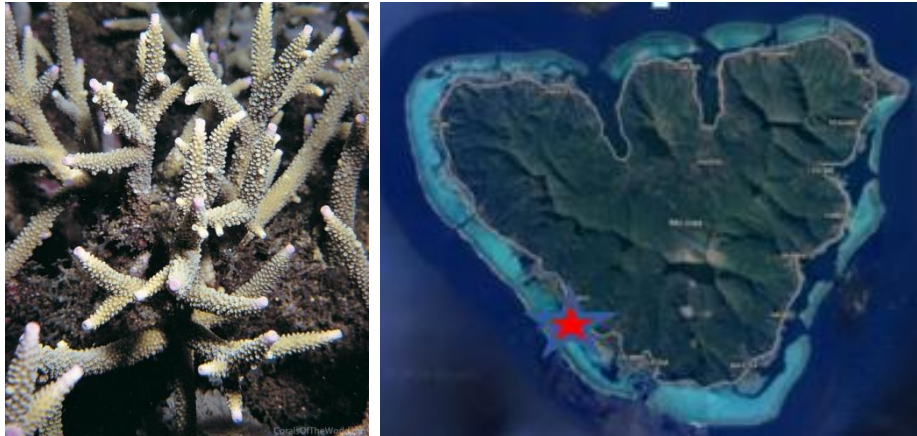


Figure 9: Colonie d'*Acropora pulchra* (photo de gauche) qui ont été collectés sur planes intérieures du récifs à la côte ouest de Moorea (comme indiqué par l'étoile rouge sur la photo de droite) (www.coralsoftheworld.org)

A. cytherea est un corail en forme de plateau avec des corallites à sommet plat et radiales allongées avec une lèvre pointant vers le haut. Ils s'effritent facilement au toucher en raison de corallites radiales légèrement calcifiées. Les corallites axiales sont allongées. Ils se produisent sur les pentes ou sur les plateaux intérieurs du récif.



Figure 10: Colonie d'*Acropora cytherea* (photo de gauche) qui ont été collectés sur planes intérieures du récifs à la côte ouest de Moorea (comme indiqué par l'étoile rouge sur la photo de droite) (www.coralsoftheworld.org)

Reproduction et cycle de vie

Les espèces d'*Acropora* se reproduisent sexuellement en développant des gamètes (œufs et spermatozoïdes) le long des mésentères (structures de division radiale) à l'intérieur des polypes. Chez *Acropora*, les polypes ont les deux sexes (hermaphrodites), certains mésentères portant des œufs et d'autres du sperme (Carroll et al. 2006) (Figure 3).



Figure 11: *Acropora cytherea* aux aquariums du CRIOBE sur le point de libérer ses paquets avec les gamètes (« bundles ») dans la colonne d'eau

La fécondation a lieu à l'extérieur, après la libération des gamètes dans la colonne d'eau (Fig 4).



Figure 12: les « bundles » d'*Acropora* après avoir été relâchés dans la colonne d'eau (photo de gauche), qui sont collectés de chaque colonie pour une fertilisation croisée dans les labo au CRIOBE (photo de droite).

Les œufs fécondés se transforment en larves ciliées appelées planules, qui passent quelques jours dans l'eau avant d'être prêtes à s'installer à la surface du récif pour commencer une nouvelle colonie (Figure 5 et 6).

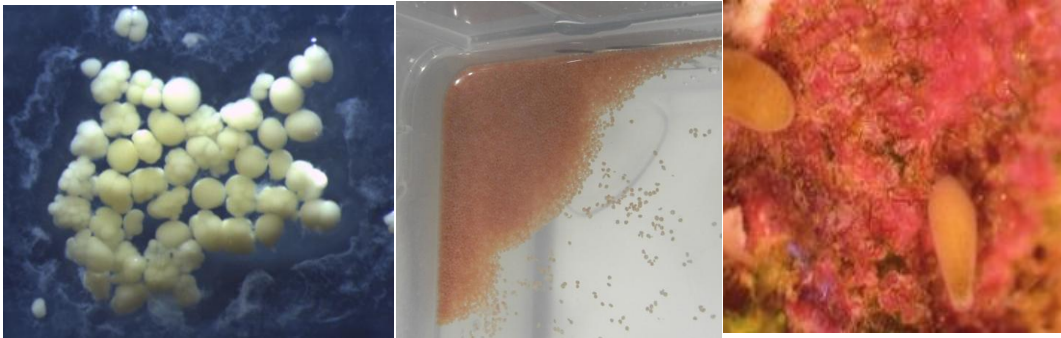


Figure 13: Après la fécondation, l'œuf commence à se diviser (photo de gauche) et à se développer en larves de corail (photo du milieu) et après 5 jours, les larves étaient complètement développées et prêtes à commencer à chercher un endroit pour s'implanter (photo de droite, Ritson- Williams et al. 2009).

Les larves de corail restent viables pendant des jours à des semaines et peuvent être transportées sur de longues distances et s'installer loin du récif d'origine.



Figure 14: Lorsque les larves de corail trouvent un bon endroit pour s'implanter (comme sur *T. prototypum* dans ces images), elles se fixent et se métamorphosent en polypes. Les polypes sur la photo de gauche a moins de 12h et le polype sur la photo de droite a 48h.

2.3 Espèces d'études: *Pocillopora* sp. (www.coralsoftheworld.org)

Colonies irrégulièrement ramifiées (« ramose »), de moins de 30 cm de diamètre, couvertes de verrues; corallites plocoides, d'environ 0,1 cm de diamètre, trouvé à la fois sur les verrues et entre les deux. Les colonies se trouvent sur l'avant-récif et ont de grosses branches généralement de plus de 1 cm de diamètre, mais leur morphologie peut varier avec l'exposition au mouvement de l'eau et à la profondeur.

Classification:

Domaine Eukaryota

Règne Animalia

Embranchement Cnidaria

Classe Anthozoa

Souss-classe Hexacorallia

Ordre Scleractinia

Famille Pocilloporidae

Genre Pocillopora

Ecologie

Les colonies qui poussent dans des eaux peu profondes ou exposées à l'action des vagues ont tendance à avoir des branches épaisses et robustes, tandis que celles des eaux profondes et calmes ont tendance à avoir des branches plus minces.

Reproduction

Le genre de corail *Pocillopora* est l'un des rares à inclure certaines espèces qui font du « broadcast spawning » et certaines espèces qui font du « brooding », bien que les rapports sur le mode de reproduction et le moment varient dedans et entre les espèces dans leur aire de répartition. Notamment, l'omniprésent *Pocillopora damicornis* a été décrit à la fois comme un « brooder » et un « spawner », bien que les preuves de « spawning » soient rares (Schmidt-Roach et al. 2012).

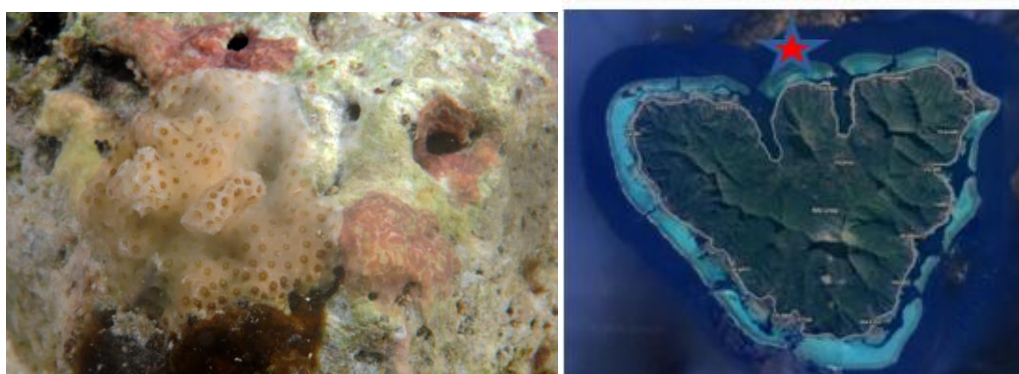
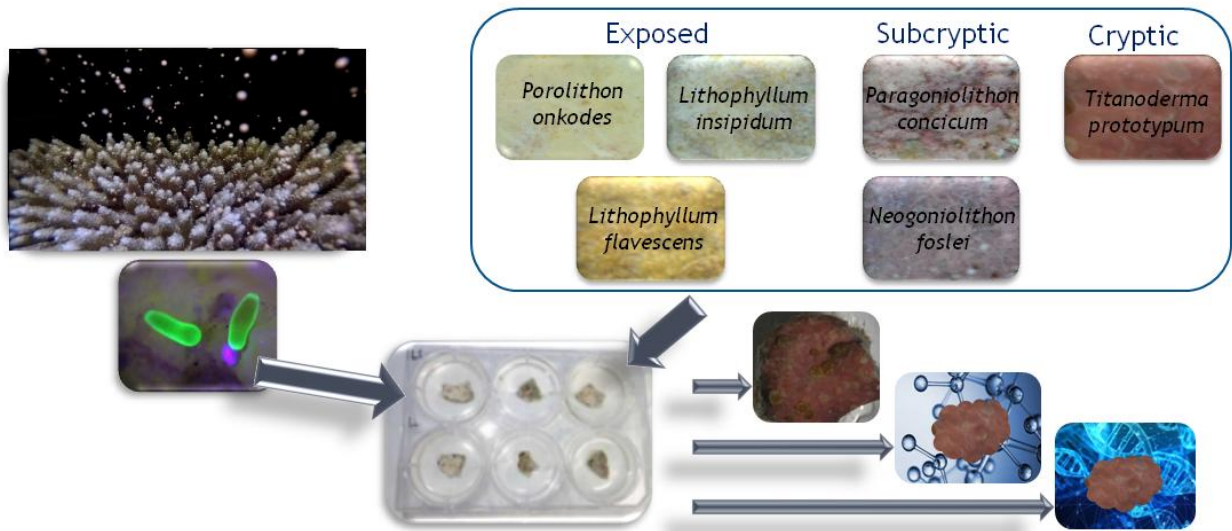
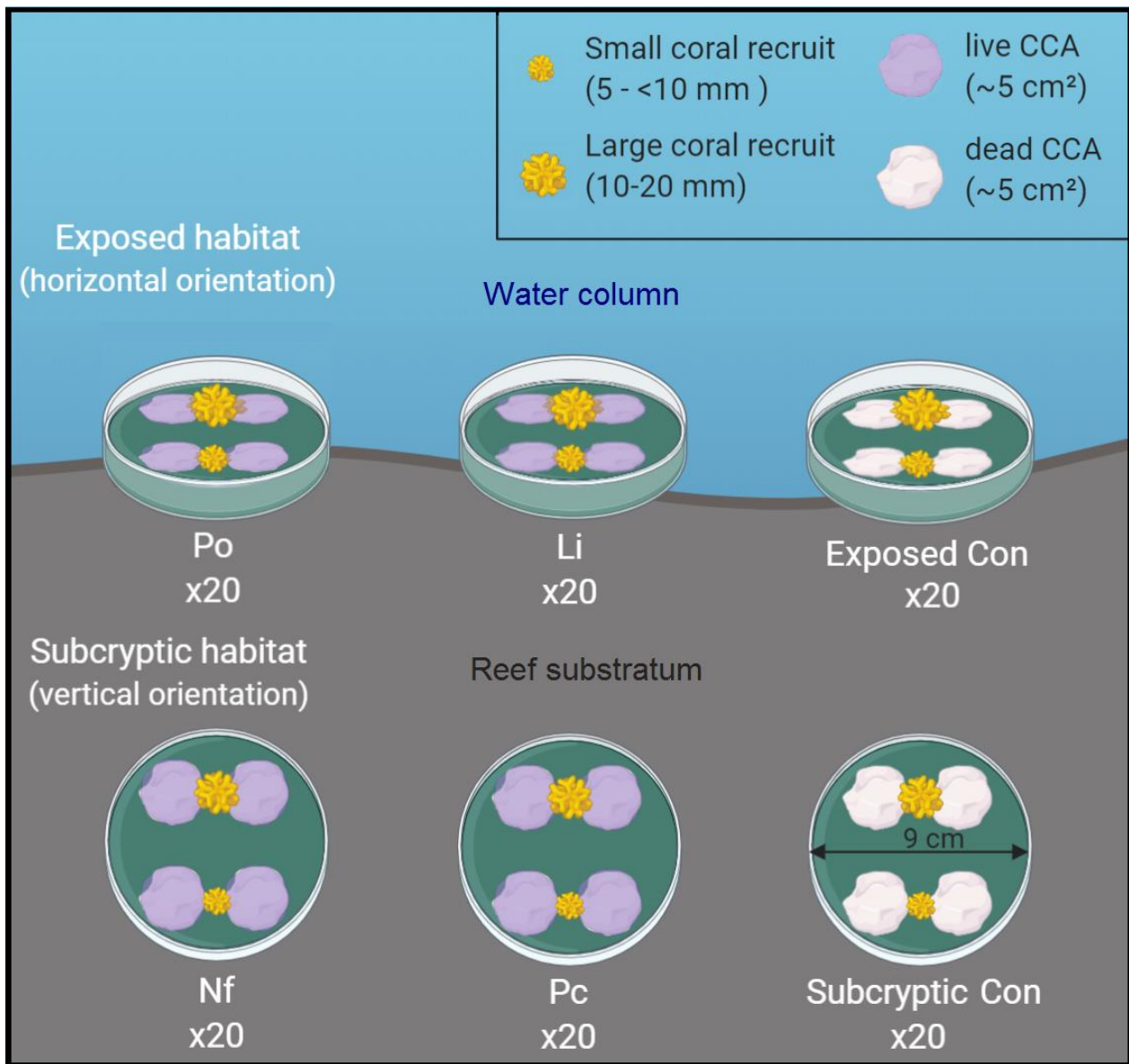


Figure 15: Une recrue de *Pocillopora* spp. de 1-2 ans (photo de droite) sur pente externe de Moorea à la côte du nord (étoile rouge sur la photo de gauche), qui a été collectée pour les expériences de transplantation

Annex 3 : Mise en place expérimentale d'expérience de chapitre 2



Annex 4 : Présentation de la configuration expérimentale de chapitre 3

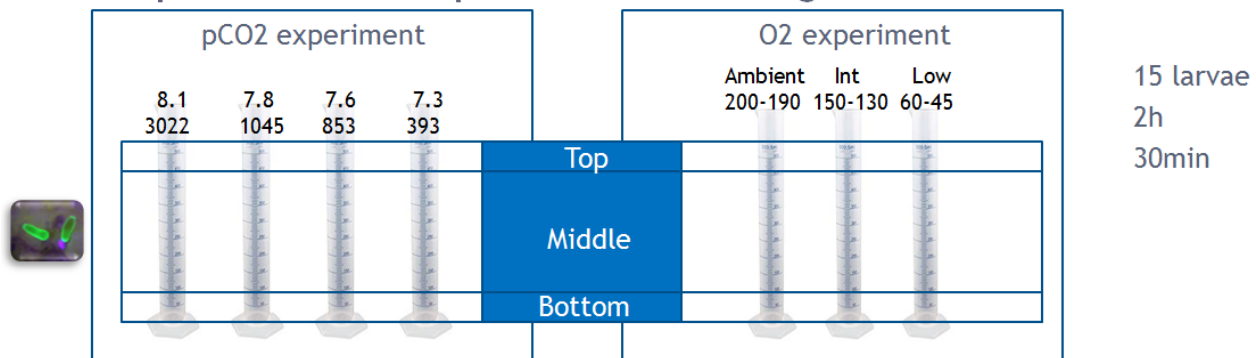


Annex 5 : Plaques expérimentales des expériences du chapitre 3 in situ



Photo : Isabelle Ender

Annex 6 : Présentation de la configuration expérimentale sur le comportement de nage des larves de coraux de chapitre 4 et 5



Annex 7 : Présentation de la configuration expérimentale sur l'implantation des larves de coraux de chapitre 4

