

U  
B  
O

université  
de bretagne  
occidentale



**MASTER SML**

**SCIENCES DE LA MER ET DU LITTORAL**

**MENTION**

**SCIENCES BIOLOGIQUES MARINES**

**SPÉCIALITÉ**

**BIOLOGIE DES ORGANISMES MARINS**

**BISCÉRÉ Tom**

**Effet de l'acidification des océans et de concentrations plus élevées en cobalt sur la croissance et l'efficacité photosynthétique de deux espèces de coraux**

Mémoire de stage de Master 2

Année Universitaire **2012-2013**

Structure d'accueil : **IRD**

Tuteur universitaire : **Jacques Clavier**

Maître de stage : **Fanny Houlbrèque**



## *Remerciements*

*Mes remerciements vont tout d'abord à Monsieur Gilles Fédière, directeur du centre de l'Institut de Recherche pour le Développement de Nouméa, qui a accepté d'accueillir mon stage au sein des structures de recherche de l'I.R.D.*

*Je suis par ailleurs très redevable des financements consentis par le Lab.Ex. « Corail » du P.R.E.S. H.É.S.A.M. et le Lab.Ex. « Mer » de l'I.E.U.M., qui m'ont tous deux permis de réaliser ces travaux, de faire le voyage jusqu'en Nouvelle-Calédonie – et d'en revenir.*

*Je tiens également à remercier tout particulièrement ma directrice de stage, Fanny Houlbrière, pour son accueil, son encadrement vigilant et sa présence bienveillante tout au long de mon séjour.*

*Merci enfin à Riccardo Rodolfo-Metalpa, à tous les membres de l'équipe CoReUs, ainsi qu'à tous ceux qui, de près ou loin, m'ont entouré durant toute la durée de mon stage et ont grandement contribué par leur enthousiasme et leur bonne humeur à en faire la très belle et très profitable expérience qu'il a été.*

T.B.

## **TABLE DES ILLUSTRATIONS**

Figure 1 : Position systématique des genres <i>Acropora</i> et <i>Stylophora</i> .....	<b>5</b>
Figure 2 : Colonie d' <i>Acropora muricata</i> (A) et de <i>Stylophora pistillata</i> (B).....	<b>6</b>
Figure 3 : <i>A. muricata</i> fixée sur plaque (A), <i>S. pistillata</i> suspendue à un fil (B).....	<b>7</b>
Figure 4 : Schéma de l'installation expérimentale.....	<b>9</b>
Figure 5 : Représentation schématique de la technique de la pesée dans l'eau des échantillons.....	<b>10</b>
Figure 6 : Diving-PAM composé d'un caisson hermétique et d'une fibre optique permettant de soumettre les coraux à différentes irradiances et de mesurer en retour leur fluorescence.....	<b>11</b>
Figure 7 : Voies de désexcitation de la chlorophylle (d'après Ernez & Lannoye 1991).....	<b>12</b>
Figure 8 : $\Delta Fv/Fm'$ à $T_0 + 5$ semaines pour chaque espèce et chaque condition expérimentale (moyenne $\pm$ SE, N = 5).....	<b>16</b>
Figure 9 : Taux de transport d'électron en fonction d'intensité lumineuse croissante à $T_0 + 5$ semaines. (Moyenne $\pm$ SE, N = 5).....	<b>18</b>
Figure 10 : Taux de croissance des colonies coralliennes en fonction des conditions de pH <sub>T</sub> et de concentration en cobalt. (A, B) <i>S. pistillata</i> (C, D) <i>A. muricata</i> (moyenne $\pm$ SE, N = 5). (□) [Co] 0.03 $\mu$ g/l (▣) [Co] 0.2 $\mu$ g/l.....	<b>19</b>
Figure 11 : $\Delta Fv/Fm'$ à $T_0 + 3$ semaines pour chaque espèce et chaque condition expérimentale (moyenne $\pm$ SE, N = 5).....	<b>32</b>
Figure 12 : Taux de transport d'électron en fonction d'intensité lumineuse croissante à $T_0 + 3$ semaines. (Moyenne $\pm$ SE, N = 5).....	<b>33</b>
Figure 13 : Évolution du NPQ en fonction d'intensité lumineuse croissante à $T_0 + 5$ semaines. (Moyenne $\pm$ SE, N = 5).....	<b>34</b>

---

Tableau I : Effet d'une concentration plus élevée en cobalt et du pH sur la densité en zooxanthelles et la concentration en chlorophylle a des colonies de *S. pistillata* et *A. muricata* (moyenne  $\pm$  SE, N = 3).....

Tableau II : Concentrations en métaux dissous (cobalt, cuivre, fer manganèse et nickel) en  $\mu$ g.l<sup>-1</sup> à différentes stations situées dans le sud et le sud-ouest du lagon de Nouvelle-Calédonie d'après Moreton *et al.* (2008).....

# SOMMAIRE

---

<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>2</b>
<b>MATÉRIELS &amp; MÉTHODES.....</b>	<b>5</b>
1.1 MATÉRIEL BIOLOGIQUE.....	5
1.1.1 <i>Caractéristiques des espèces étudiées.....</i>	<i>5</i>
1.1.2 <i>Échantillonnage .....</i>	<i>6</i>
1.2 CONDITIONS DE CULTURE DES BOUTURES.....	7
1.2.1 <i>Conditions de pCO<sub>2</sub>.....</i>	<i>8</i>
1.2.2 <i>Enrichissement en cobalt .....</i>	<i>9</i>
1.3 MESURE DE LA CROISSANCE.....	10
1.4 MESURE DE L'EFFICACITE PHOTOSYNTHÉTIQUE.....	11
1.5 DÉTERMINATION DE LA DENSITÉ EN ZOOXANTHELLES ET DE LA CONCENTRATION EN CHLOROPHYLLES .....	13
1.5.1 <i>Densité en zooxanthelles .....</i>	<i>13</i>
1.5.2 <i>Concentration en chlorophylles.....</i>	<i>13</i>
1.5.3 <i>Détermination de la surface des micro-colonies.....</i>	<i>14</i>
1.6 TRAITEMENTS STATISTIQUES .....	14
<b>RÉSULTATS .....</b>	<b>15</b>
2.1 DENSITÉ EN ZOOXANTHELLES ET CONCENTRATION EN CHLOROPHYLLES .....	15
2.2 EFFICACITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE ET TAUX DE TRANSPORT D'ÉLECTRONS .....	16
2.3 ÉVOLUTION DES TAUX DE CROISSANCE .....	18
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>20</b>
3.1 EFFET DE L'ENRICHISSEMENT EN COBALT SUR LA CROISSANCE ET L'EFFICACITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE DES CORAUX .....	20
3.1 EFFET DE LA PCO <sub>2</sub> SUR LA PHYSIOLOGIE DES CORAUX.....	23
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>24</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>26</b>
<b>ANNEXE I.....</b>	<b>32</b>
<b>ANNEXE II .....</b>	<b>33</b>
<b>ANNEXE III.....</b>	<b>34</b>

## INTRODUCTION

---

Bien qu'ils ne couvrent qu'une très faible superficie des océans (0.2 %) (Smith 1978), les récifs coralliens représentent un des écosystèmes les plus riches de la planète et fournissent des services primordiaux pour certaines régions du globe (~15 % de la population mondiale vit à moins de 100 km d'un récif) (Pomerance 1999). Les pays bordés par des récifs coralliens bénéficient en effet de leur attrait touristique, de la protection que peut représenter une barrière récifale, et surtout de la diversité et de la biomasse en organismes marins présentes dans ces habitats (Moberg & Folke 1999 ; Høegh-Guldberg *et al.* 2007). Ils constituent également un apport en matériaux de construction et présentent un intérêt pour les entreprises de biotechnologie qui se tournent depuis peu vers l'utilisation des organismes récifaux à la recherche de nouveaux gènes et molécules pour l'industrie alimentaire et pharmaceutique (Moberg & Folke 1999). On comprend également que la métaphore de l'« oasis » revienne souvent pour caractériser ces récifs qui présentent une production primaire pouvant être près de mille fois supérieure à celle du milieu environnant (Hatcher 1988). Les récifs coralliens constituent un écosystème benthique bien particulier, capable de précipiter de 2 à 6 kg de carbonate de calcium par mètre carré et par an (Barnes & Devereux 1984). Les coraux scléactiniaires, qui en sont les principaux constructeurs, se trouvent ainsi placés parmi les principaux organismes calcificateurs. La pérennité et l'extension spatiale de ces coraux, dans des zones majoritairement oligotrophes (Odum & Odum 1955), sont en grande partie dues à leur symbiose avec des Dinoflagellés, appartenant au genre *Symbiodinium* (Freudenthal 1962) et communément appelés zooxanthelles. Ces zooxanthelles transfèrent une large partie du carbone fixé par la photosynthèse aux cellules animales des coraux, couvrant ainsi leurs besoins énergétiques (McCloskey & Muscatine 1984 ; Muscatine 1990).

Au cours de la dernière décennie, les récifs coralliens se sont largement dégradés sous l'influence des activités anthropiques. Ils doivent faire face à de nombreuses menaces : maladie, surpêche, destruction des habitats et dégradation de la qualité des eaux. De plus, l'augmentation de la concentration en dioxyde de carbone dans l'atmosphère conduisant au réchauffement climatique et à l'acidification des océans, ne cesse de progresser. En effet, la pression partielle actuelle en CO<sub>2</sub> (*p*CO<sub>2</sub>), estimée à 380 ppm, dépasse déjà de 80 ppm la plus forte pression enregistrée au cours des 740 000 dernières années (Petit *et al.* 1999), et si l'on s'en tient aux prévisions les plus optimistes, la *p*CO<sub>2</sub> devrait encore augmenter jusqu'à

atteindre 550 ppm à la fin du siècle (IPCC 2007). À la suite du réchauffement des eaux, les phénomènes de blanchissement des coraux (suite à la perte des zooxanthelles et/ou des pigments chlorophylliens) ne cessent de se répéter à des fréquences de plus en plus élevées à travers le monde (e.g. Hoegh-Guldberg *et al.* 1999). Par ailleurs dans la mesure où 25 % du CO<sub>2</sub> est pompé par les océans (Canadell *et al.* 2007), la chimie de l'eau de mer se trouve altérée, entraînant une diminution du pH, des concentrations en carbonate et de la saturation en aragonite ( $\Omega_{\text{arag}}$ ) (Orr *et al.* 2005). Alors que les effets du réchauffement des eaux sont maintenant bien documentés, les effets de l'acidification des océans sur les coraux sont encore largement méconnus. La communauté scientifique estime que d'ici à 2100, les taux de calcification des coraux vont être diminués jusqu'à 37 % suite à la diminution de la concentration en carbonates (Kleypas *et al.* 1999 ; Langdon & Atkinson 2005). Cependant, la réponse des coraux à l'acidification n'est pas aussi claire et est encore sujette, à l'heure actuelle, à controverse. Ainsi, il apparaît que plusieurs espèces de coraux tropicaux sont capables de continuer à calcifier même lorsqu'ils sont soumis à de fortes  $p\text{CO}_2$  (Atkinson *et al.* 1995 ; Krief *et al.* 2010 ; Houlbrèque *et al.* 2012).

Les récifs coralliens de Nouvelle-Calédonie, inscrits depuis 2008 au patrimoine mondial de l'Unesco, ne se trouvent malheureusement pas épargnés par ces pressions anthropiques (Chin *et al.* 2011). Le lagon de Nouvelle-Calédonie se révèle ainsi particulièrement exposé à des concentrations métalliques élevées, notamment en nickel, chrome, cobalt, fer et manganèse (Moreton *et al.* 2008), en grande partie dues au développement de l'industrie minière. Or, si un certain nombre d'études ont déjà porté sur les effets de l'interaction entre la  $p\text{CO}_2$  et la température, ou encore entre la  $p\text{CO}_2$  et la disponibilité en nutriments sur la santé des coraux (Reynaud *et al.* 2003 ; Langdon & Atkinson 2005 ; Renegar & Riegl 2005), aucune ne s'est intéressée jusqu'à présent à l'interaction entre la  $p\text{CO}_2$  et les métaux, pourtant essentiels au bon fonctionnement de nombreuses enzymes. Si les métaux sont souvent pointés du doigt pour leur impact négatif sur les écosystèmes lorsqu'ils sont en excès (Ferrier-Pagès *et al.* 2001 ; Reichelt-Brushett & Harrison 2005 ; Sabdono 2009), seules deux études se sont intéressées jusqu'à présent aux effets bénéfiques de concentrations modérées en l'un de ces métaux, le zinc, sur le métabolisme des coraux. Ainsi, lorsque l'espèce *Stylophora pistillata* bénéficie d'un léger apport en zinc, cofacteur de plus de 300 enzymes (Morel *et al.* 1994), cette espèce est capable de résister plus efficacement au blanchissement, en cas d'élévation de la température de l'eau (Houlbrèque *et al.* 2012a). Il a également été mis en évidence chez cette même espèce qu'une augmentation de la  $p\text{CO}_2$  diminuait les taux d'incorporation du

zinc dans ses tissus, entraînant des conséquences sur son métabolisme (Houlbrèque *et al.* 2012).

Parmi les métaux, le cobalt joue également un rôle de premier ordre. La vitamine B<sub>12</sub>, également appelée cobalamine en raison de son noyau de cobalt, est cruciale pour l'ensemble des animaux, pour la grande majorité des espèces phytoplanctoniques (Croft *et al.* 2005) et notamment pour la croissance des zooxanthelles (Agostini *et al.* 2009). Lane & Morel (2000) ont démontré qu'une espèce de phytoplancton avait la faculté d'utiliser le cobalt à la place du zinc pour activer l'anhydrase carbonique. Cette métalloenzyme est essentielle à l'acquisition du carbone inorganique, lui-même nécessaire à la photosynthèse des zooxanthelles et à la calcification de l'hôte (Furla *et al.* 2000).

Aussi, nous avons voulu déterminer les effets simultanés de l'acidification des océans et d'une concentration plus importante en cobalt sur le métabolisme de deux espèces de coraux scléactiniaires du lagon de Nouvelle-Calédonie, *Stylophora pistillata* et *Acropora muricata*. L'ensemble des expérimentations menées au cours de ce travail nous a permis de fournir quelques éléments de réponse aux questions suivantes :

- Quelle est l'influence de concentrations plus élevées en cobalt sur leurs taux de croissance, leur efficacité photosynthétique et leurs paramètres tissulaires ?
- Quels sont les effets de l'acidification des océans sur ces deux espèces de coraux de Nouvelle-Calédonie ?
- Les effets de l'acidification des océans sont-ils amplifiés par un apport en cobalt ?

Pour cela, nous avons maintenu ces deux espèces de coraux sous deux concentrations en cobalt et deux  $p\text{CO}_2$  différentes, puis nous avons réalisé un suivi de leurs principaux paramètres physiologiques : croissance, efficacité photosynthétique et paramètres tissulaires (densité en zooxanthelles, concentration en chlorophylles).

# MATÉRIELS & MÉTHODES

## 1.1 MATÉRIEL BIOLOGIQUE

### 1.1.1 Caractéristiques des espèces étudiées

L'expérimentation a été réalisée sur deux espèces de coraux scléractiniaires à zooxanthelles du lagon calédonien : *Stylophora pistillata* (Esper 1797) et *Acropora Muricata* (Linné 1758), dont la taxonomie est représentée sur la figure 1.

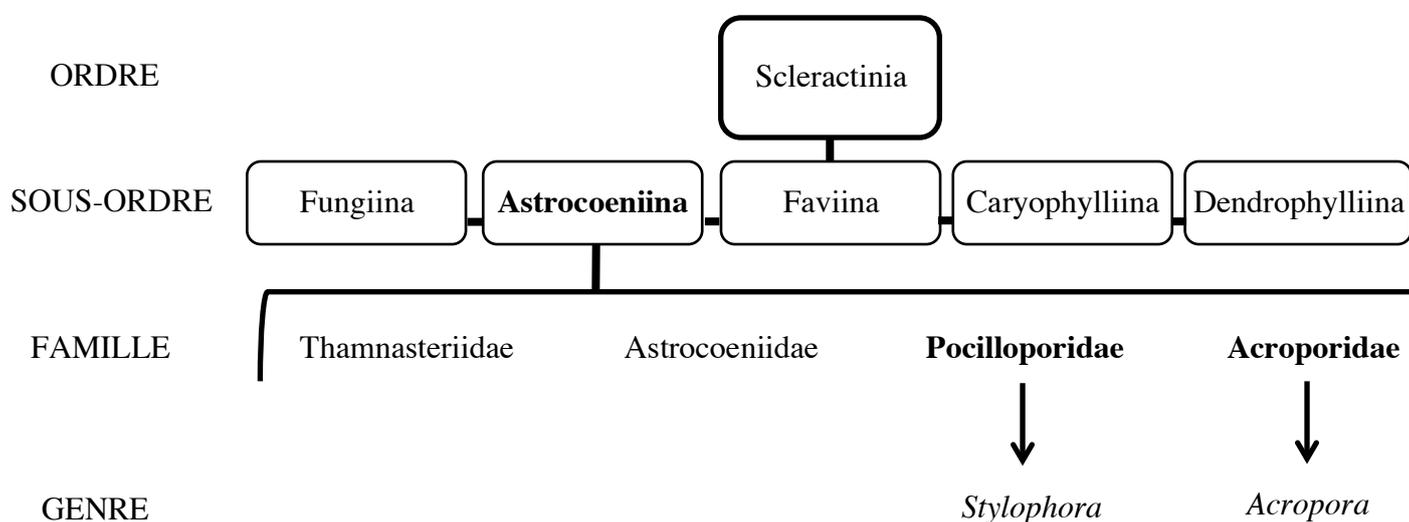


Figure 1 : Position systématique des genres *Stylophora* et *Acropora*

L'espèce *Stylophora pistillata* (fig. 2B) forme des colonies branchues et présente une large distribution géographique dans la province Indo-Pacifique, il s'agit d'une « espèce modèle » pour les études de biologie et de physiologie (Gattuso 1987). De plus, *S. pistillata* est une espèce très commune dans le lagon calédonien et se développe plus particulièrement au niveau des récifs et des zones détritiques peu profondes (Lasne 2007). Cette espèce atteint sa maturité sexuelle précocement et alloue une grande partie de son énergie à la reproduction (Rinkevitch & Loya 1979), ce qui la caractérise, d'un point de vue écologique, par une stratégie de type-r (Loya 1976).

*Acropora Muricata*, également nommée *Acropora formosa* (Wallace 1999) est une espèce arborescente de l'Indo-Pacifique (fig. 2A). Sa croissance est parmi les plus élevées chez les coraux scléactiniaires, avec une extension linéaire pouvant aller jusqu'à 121 mm.an<sup>-1</sup> (Jinendradasa & Ekaratne 2002). Dans le lagon calédonien, *A. muricata* est présente depuis les fonds de baie jusqu'au récif barrière (Lasne 2007). Les scléactiniaires appartenant au genre *Acropora* comptent parmi les plus importants constructeurs de récifs et présentent une reproduction par fragmentation plus efficace que chez les autres espèces, ce qui leurs permet d'être particulièrement compétitif dans la recolonisation d'un récif (Vosburgh 1982 ; Wallace 1999).



Figure 2 : Colonie d'*Acropora muricata* (A) et de *Stylophora pistillata* (B)

### 1.1.2 Échantillonnage

Les coraux utilisés pour l'expérimentation ont été prélevés au niveau du récif de l'Îlot Maître (GPS : 22°19.702'S ; 166°24.626'E), réserve marine située dans le lagon Sud-Ouest de la Nouvelle-Calédonie, à 4 km du littoral.

Des boutures de 1 à 2 cm de long ont été obtenues par fragmentation de l'apex de branches d'une même colonie de *S. pistillata* et d'*A. muricata*, à l'aide d'une pince coupante. Ce bouturage permet d'obtenir des fragments homogènes en taille et en forme. Les apex ont été sectionnés de façon à ce que la surface de fracture soit la plus petite possible, afin de faciliter la cicatrisation des colonies. Les boutures de *S. pistillata* ont été suspendues à des fils en nylon (Fig. 3A) tandis que celles d'*A. muricata* ont été fixées sur des plaques de PVC de 3x3 cm à l'aide de résine époxy (Holdfast) (Figure 3B). Les fils et les plaques ont été nettoyés deux fois par semaine afin d'éliminer les algues filamenteuses qui limiteraient la cicatrisation et la croissance des coraux.

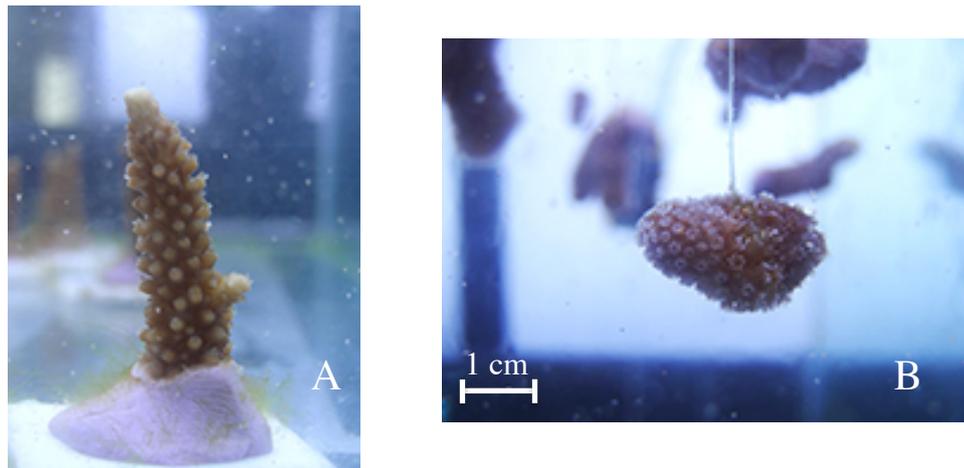


Figure 3 : *A. muricata* fixée sur plaque (A), *S. pistillata* suspendue à un fil (B)

## 1.2 CONDITIONS DE CULTURE DES BOUTURES

L'expérimentation a été réalisée dans les locaux techniques de l'*Aquarium des Lagons* de Nouméa. Les boutures (22 par espèce de coraux) ont été réparties dans six aquariums en circuit ouvert. Chacun de ces aquariums de 20 litres est alimenté en continu (taux de renouvellement de 16.5 l.h<sup>-1</sup>) par de l'eau de mer prélevée en Baie des Citrons à une profondeur de 5 mètres. Les concentrations en ammonium et phosphore sont mesurées chaque semaine à l'*Aquarium des Lagons* par un auto-analyseur de type Alliance II selon la méthode mise au point par Tréguer & Le Corre (1975). Les concentrations sont restées très faibles dans tous les bacs (<0.04 μM ammonium ; 0-09 μM phosphore et <0.5 μM pour nitrate et nitrite). La température est de 25.54 ± 0.99°C et la salinité de 35.70 ± 0.02. Les aquariums sont équipés chacun d'une pompe « micro-jet MC320 » (320 l.h<sup>-1</sup>) assurant une agitation permanente de l'eau. Tous les aquariums sont soumis au même éclairage de 120 ± 10 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, obtenu à l'aide d'une rampe équipée de néons de type T5 (Gieseemann), suivant une photopériode 12h : 12h. L'intensité lumineuse a été mesurée à l'aide d'un capteur sphérique quantique (LI-COR 1400). Les coraux ont été nourris deux fois par semaine avec des nauplii d'*Artemia salina* (1200 ± 50 nauplii l<sup>-1</sup>). Les bacs ont été régulièrement nettoyés dans le but d'éliminer toutes les algues s'y développant. Les colonies ont été acclimatées à ces conditions pendant deux semaines, temps nécessaire à leur cicatrisation.

Après ces deux semaines, les 6 aquariums ont été soumis à deux conditions de pCO<sub>2</sub> différentes. Pour chacune d'elles, deux lots de coraux ont été constitués, correspondant à deux concentrations en cobalt. Pendant toute la durée de l'expérimentation, les paramètres

physico-chimiques tels que la température ( $25.54 \pm 0.99^\circ\text{C}$ ), la salinité ( $35.70 \pm 0.02$ ) ou la luminosité ( $120 \pm 10 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) ont été maintenus constants. Après la période d'acclimatation, les coraux n'ont été nourris qu'une fois par semaine.

### 1.2.1 Conditions de $p\text{CO}_2$

Selon l'aquarium où elles se trouvaient, les colonies coralliennes ont été soumises :

- soit à la valeur actuelle de  $p\text{CO}_2$ ,  $366 \mu\text{atm}$ , correspondant à une valeur de pH total ( $\text{pH}_T$ ) de  $8.02 \pm 0.03$ . Il s'agissait des bacs 2, 3 et 4 (Fig. 5).
- soit à la valeur de  $p\text{CO}_2$  prévue d'ici la fin de ce siècle,  $1140 \mu\text{atm}$  ( $\text{pH}_T$   $7.75 \pm 0.06$ ) (Caldeira & Wickett 2003) Il s'agissait des bacs 1, 5 et 6 (Fig. 5).

Dans chacun des aquariums, le  $\text{pH}_T$  était contrôlé grâce à un système IKS (IKS, Karlsbad), dont la précision est de 0.05 unité pH. Les électrodes pH de ce système, reliées à l'interface IKS et placées dans chaque aquarium, mesurent en continu le pH. La commande de l'addition ou non de  $\text{CO}_2$  pur dans l'aquarium (permettant de diminuer ou d'augmenter le pH) se fait par l'intermédiaire de vannes magnétiques, reliées à des prises de commutation IKS. Ainsi, ce système permet de modifier le pH de l'eau de mer par simple bullage de  $\text{CO}_2$  pur dans les aquariums, qui bénéficient en parallèle d'un bullage constant d'air dépourvu de  $\text{CO}_2$ .

Les valeurs de pH du système IKS ont été ajustées quotidiennement à partir des mesures de pH réalisées en parallèle à l'aide d'un pH-mètre relié à une électrode de verre (Eutech Instruments EcoScan pH 6). Ces mesures ont été converties en valeur de pH sur l'échelle totale (appelées  $\text{pH}_T$ ) en utilisant la solution tampon TRIS/HCl de salinité 35 (Dickson *et al.* 2007). Les valeurs moyennes de  $\text{pH}_T$  ont été calculées à partir des concentrations en  $\text{H}^+$  de chaque mesure et ont été ensuite reconverties en valeurs de  $\text{pH}_T$  (Dickson *et al.* 2007). Deux fois par semaine, 100ml d'eau par aquarium ont été collectés, filtrés sur  $0.45 \mu\text{m}$  (GF/F Whatman), et stockés dans des flacons en polyéthylène à l'obscurité et à  $4^\circ\text{C}$  afin d'éviter toutes altérations biologiques. Trois réplicats de 20ml par échantillon d'eau ont ensuite été analysés à  $25^\circ\text{C}$  grâce à un titrateur composé d'un pH-mètre relié à une électrode à pH Metrohm et d'une burette automatique de 1mL. Le pH a été mesuré par incréments de 0.02mL de HCl 0.1N. L'alcalinité totale ( $A_T$ ) a été calculée selon la méthode de Gran (1952), appliquée aux variations de pH de 4.2 à 3.0, en  $\text{mEq.l}^{-1}$  à partir de la pente de la courbe du pH en fonction du volume d'HCl versé. L'alcalinité totale du standard fournie par AG Dickson (batch 13) est inférieure à  $0.04 \text{ mol par kilogramme d'eau}$ . L' $A_T$  moyen

calculée a été de  $2.341 \pm 0.047 \text{ mmol.kg}^{-1}$  ( $n = 20$ ). La  $p\text{CO}_2$  a été calculée à partir du  $\text{pH}_T$ , de l'alcalinité totale moyenne, de la température et de la salinité grâce au logiciel  $\text{CO}_2$  Systat.

### 1.2.2 Enrichissement en cobalt

Pour étudier les effets de concentrations plus élevées en cobalt, pour chaque condition de  $p\text{CO}_2$ , les coraux étaient soumis soit à une concentration normale en cobalt ( $0.035 \pm 0.007 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) (bacs 1, 2 et 3) soit à une concentration en cobalt plus élevée ( $0.222 \pm 0.006 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) (bacs 4, 5 et 6) (voir schéma de l'expérimentation, figure 4) (Annexe 1, tableau II : Concentration en métaux dissous dans le lagon sud et sud-ouest de Nouvelle-Calédonie). L'eau des aquariums 4, 5 et 6 a été enrichie à  $0.3 \mu\text{g.l}^{-1}$  de cobalt stable, grâce à l'utilisation d'une solution de cobalt sous forme de  $\text{CoNO}_3$  (CPAchem, Bulgarie). La solution fille ( $100 \mu\text{g.l}^{-1} \text{ Co}$ ) utilisée pour l'enrichissement a été distribuée dans les 3 aquariums concernés grâce à une pompe péristaltique (ISMATEC). L'analyse des teneurs en cobalt dans les six aquariums a été réalisée par le laboratoire AEL (*Analytical Environmental Laboratory*) de Nouméa en utilisant la technique de préconcentration du cobalt sur lit de résines chélatantes et ensuite analyse par ICP-OES. Le protocole d'analyse est décrit en détail dans Moreton *et al.* (2008).

**$25.54 \pm 0.99^\circ\text{C}$  – Salinité :  $35.70 \pm 0.02$  –  $120 \pm 10 \mu\text{moles photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$**

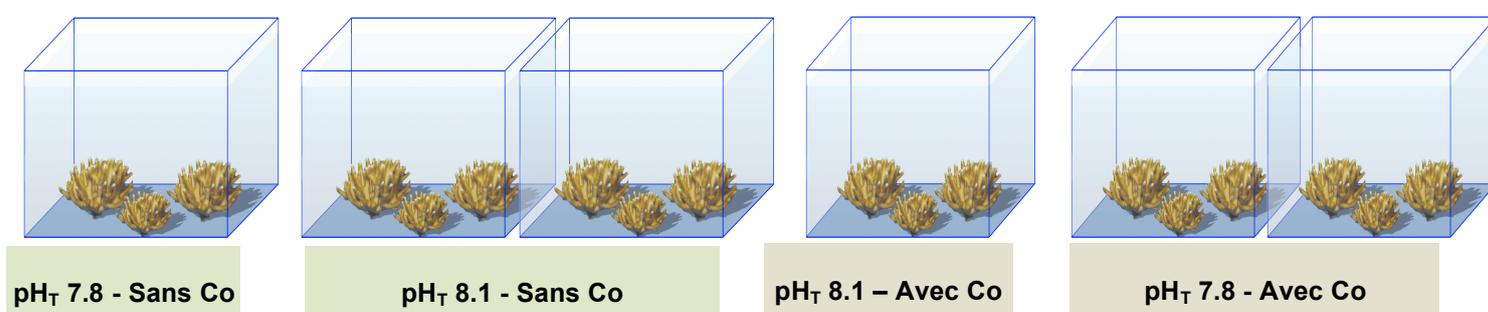


Figure 4 : Schéma de l'installation expérimentale

Les coraux ont été maintenus pendant cinq semaines sous les différentes conditions de culture. Les changements des paramètres physiologiques (croissance, efficacité photosynthétique, concentrations en chlorophylles a et  $c_2$ , densité en zooxanthelles) ont été suivis après trois semaines ( $T_0 + 3$  semaines) et cinq semaines ( $T_0 + 5$  semaines)

### 1.3 MESURE DE LA CROISSANCE

La biominéralisation des coraux dépend de nombreux paramètres parmi lesquels la saturation en aragonite de l'eau ( $\Omega_{\text{arag}}$ ) est primordiale. Celle-ci représente l'équilibre entre la dissolution ( $\Omega_{\text{arag}} < 1$ ) et la précipitation ( $\Omega_{\text{arag}} > 1$ ) du  $\text{CaCO}_3$  nécessaire à la calcification et dépend étroitement de la température et de la  $p\text{CO}_2$  (Gattuso et al. 1999). La mesure de la croissance des boutures de coraux a été réalisée grâce à la technique dite de « pesée dans l'eau » mise au point par Davies (1989). Cette méthode consiste à peser directement la colonie corallienne dans un bécher d'eau afin d'en déterminer la masse exacte. En effet, le squelette et le tissu corallien emprisonnent beaucoup d'eau interstitielle faussant la masse obtenue à l'air libre. Cependant, grâce à une équation, il est possible d'obtenir le poids du corail dans l'air à partir de son poids dans l'eau, ainsi que de la densité de l'eau et de son squelette.

$$\text{Poids dans l'air} = \frac{(\text{Poids dans l'eau} - \text{Poids de la plaque})}{\left(1 - \left(\frac{\text{Densité de l'eau}}{1000 \times \text{Densité du squelette}}\right)\right)}$$

Le poids de la plaque représente la masse du support sur lequel l'apex corallien a été fixé. Le calcul de la densité de l'eau nécessite de relever la température et la salinité régulièrement durant les pesées. Le squelette des coraux utilisés est constitué d'aragonite dont la densité est de  $2.94 \text{ g.cm}^{-3}$  (Hughes 1987). Le montage utilisé a été réalisé sur une balance M-Pact Sartorius (Figure 5).

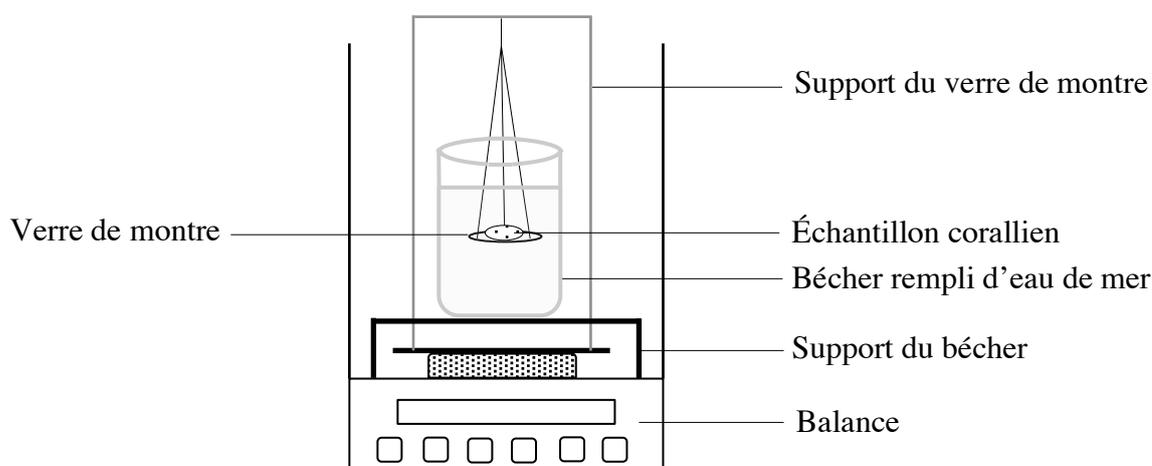


Figure 5 : Représentation schématique de la technique de la pesée dans l'eau des échantillons

## 1.4 MESURE DE L'EFFICACITE PHOTOSYNTHÉTIQUE

L'efficacité photosynthétique des zooxanthelles a été mesurée grâce à un PAM (*Pulse Amplitude Modulation*) fluorimètre submersible (DIVING-PAM, Walz, Allemagne) (Figure 6).



Figure 6 : Diving-PAM composé d'un caisson hermétique et d'une fibre optique permettant de soumettre les coraux à différentes irradiances et de mesurer en retour leur fluorescence

### *Principe de la PAM-fluorimétrie*

Sous des conditions physiologiques normales, la fluorescence de la chlorophylle émane principalement du photosystème II (PSII) (Barber *et al.* 1989). Le principe de base permettant de relier la fluorescence chlorophyllienne à la photosynthèse est que lorsque les molécules de chlorophylle *a* reçoivent de l'énergie lumineuse, elles passent d'un état fondamental à un état excité. Pour retourner ensuite à l'état fondamental, la chlorophylle *a* utilise différentes voies de désexcitation interdépendantes (Figure 7) : **la voie photochimique** (les molécules vont céder des électrons à l'accepteur primaire de la chaîne photosynthétique), **la voie non photochimique** (l'énergie est dissipée sous forme de radiations infrarouges), **la fluorescence** (les molécules excitées vont réémettre de la lumière pour retourner à l'état fondamental).

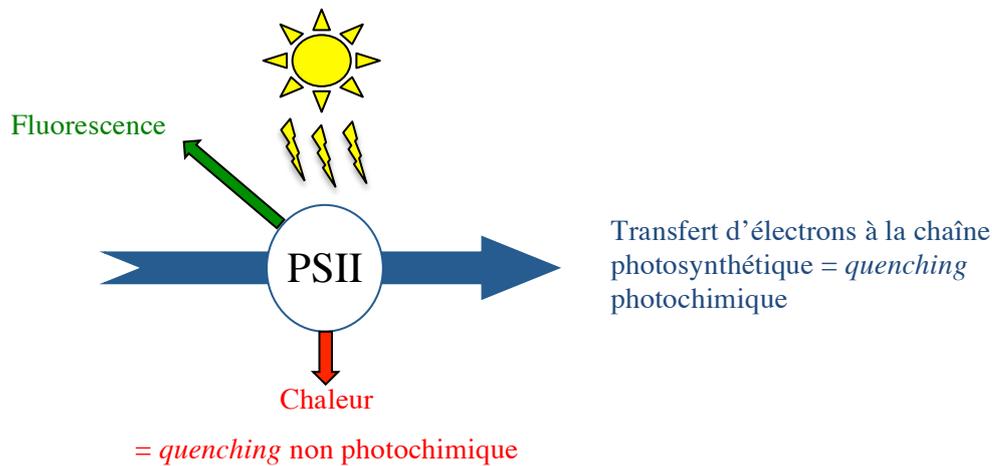


Figure 7 : Voies de désexcitation de la chlorophylle (d'après Ernez & Lannoye 1991)

Ces trois processus agissant en compétition, une augmentation de l'efficacité de l'un entraîne une diminution du rendement des deux autres (Richard 2006). De ce fait, la mesure de la fluorescence de la chlorophylle permet d'obtenir des informations sur les modifications d'efficacité de la photochimie et de la dissipation sous forme de chaleur (Schreiber & Bilger 1993). Lorsque la colonie corallienne est adaptée à l'obscurité :

- La fluorescence minimale ( $F_0$ ) et maximale ( $F_m$ ) peuvent être obtenues en appliquant respectivement une faible lumière rouge pulsée (intensité maximale  $< 1 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $3 \mu\text{s}$ , fréquence 0.6 kHz) et un flash saturant de lumière actinique (intensité maximale  $> 8.000 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , fréquence 800 ms). La différence entre  $F_0$  et  $F_m$  donne la fluorescence variable, appelée  $F_v$

- Si l'échantillon est laissé à la lumière, le niveau de fluorescence de la colonie corallienne atteint une valeur stable  $F$ . Si on applique à cette colonie corallienne un flash de lumière saturant, on obtient  $F_m'$  (qui est inférieur à  $F_m$ ). La différence entre  $F_m'$  et  $F$  ( $\Delta F$ ) représente le *quenching* photochimique (Schreiber *et al.* 1986)

Pour les différentes conditions d'incubation, plusieurs paramètres ont été mesurés. Toutes les mesures ont toujours été effectuées aux mêmes heures du jour, afin de s'affranchir du temps et de l'effet potentiel de variations de lumière autour des bacs expérimentaux :

- l'efficacité photosynthétique effective ( $\Delta F_v/F_m'$ ) qui représente la proportion de lumière absorbée par la chlorophylle associée au PSII et utilisée pour la voie photochimique. Cette mesure ne nécessite pas que les coraux soient acclimatés à l'obscurité.

- le taux de transport d'électrons (ETR) à la chaîne photosynthétique est directement relié à l'activité photosynthétique du PSII à un éclairage donné. Il est calculé en multipliant

$\Delta Fv/Fm'$  par la lumière incidente disponible pour la photosynthèse (PAR : *Photosynthetically Active Radiation*) (Genty *et al.* 1989).

- la dispersion de chaleur suite à l'excès d'énergie absorbée par le PSII, appelée NPQ est calculée selon la formule  $NPQ = (Fm - Fm')/Fm'$ .

Des courbes appelées « Rapid Light Curves (RLCs) » ont été réalisées en illuminant les coraux de 0 à 3000  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (PAR) en 8 étapes de 10s chacune. L' $ETR_{\text{max}}$  et le  $NPQ_{\text{max}}$  ont été déterminés grâce à ces RLCs.

## 1.5 DÉTERMINATION DE LA DENSITÉ EN ZOOXANTHELLES ET DE LA CONCENTRATION EN CHLOROPHYLLES

### 1.5.1 Densité en zooxanthelles

Afin d'estimer cette densité, il est nécessaire d'extraire les zooxanthelles du squelette corallien. C'est la technique de l'Air Pik qui a été retenue, elle consiste à détacher le tissu à l'aide d'un jet d'air sous pression dans un volume connu d'eau de mer filtrée sur 45  $\mu\text{m}$  (Godinot *et al.* 2011). Dans le but d'homogénéiser la solution tissulaire et de défaire les agrégats, celle-ci a été passée dans un potter. Par la suite, les zooxanthelles seront dénombrées sous microscope à l'aide d'une cellule de numération de Neubauer. Les résultats seront exprimés en nombre de zooxanthelles par  $\text{cm}^{-2}$ .

### 1.5.2 Concentration en chlorophylles

Une partie de la solution tissulaire obtenue précédemment a été utilisée pour doser les chlorophylles *a* et *c*<sub>2</sub> par spectrophotométrie. La solution a été centrifugée à 5000g et à 4°C pendant 10 minutes, puis le culot a été remis en suspension dans 10mL d'acétone pur. Les pigments ont été extraits pendant 24h à 4°C et à l'obscurité dans l'acétone, par la suite la solution a subi une seconde centrifugation à 10000g et à 4°C pendant 15 minutes. Enfin, la densité optique du surnageant a été mesurée au spectrophotomètre à trois longueurs d'ondes différentes : 620, 663 et 750 nm. Les zooxanthelles n'absorbant pas à 750 nm, cette mesure permet d'évaluer la turbidité de la solution afin d'éviter de fausser les deux premières mesures, ainsi l'absorbance à 750 nm ne doit pas dépasser 0.02 pour que l'échantillon soit validé. Le « blanc » a été réalisé avec de l'acétone pure. Les concentrations en chlorophylle *a* et *c*<sub>2</sub> ont été calculées grâce aux équations suivantes (Jeffrey & Humphrey 1975) :

$$\text{Chlorophylle } a = [11,43 (\lambda_{663} - \lambda_{750}) - 0,64 (\lambda_{620} - \lambda_{750})]$$

$$\text{Chlorophylle } c_2 = [27,09 (\lambda_{620} - \lambda_{750}) - 3,63 (\lambda_{663} - \lambda_{750})]$$

Les valeurs de concentrations sont obtenues en  $\mu\text{g.ml}^{-1}$  d'extrait acétonique. Les résultats doivent être ramenés à la quantité totale de chlorophylle avant d'être normalisés par la surface et exprimés en  $\mu\text{g}$  de chlorophylle par  $\text{cm}^2$ .

### 1.5.3 Détermination de la surface des micro-colonies

La densité en zooxanthelles et la concentration en chlorophylle doivent être standardisées par la surface des colonies coralliennes exprimée en  $\text{cm}^2$ . Cette surface de squelette a été estimée à l'aide de la technique du papier d'aluminium mise au point par Marsh en 1970 (Houlbrèque *et al.* 2004). Cette méthode consiste à recouvrir de manière très précise le squelette des colonies coralliennes de papier d'aluminium, qui est ensuite pesé. À l'aide d'une droite de régression établie auparavant entre des surfaces connues de feuille d'aluminium et leurs poids, il en est déduit la surface des colonies. Cette équation est la suivante :

$$\text{Poids (g)} = 0.0028 \times \text{Surface (cm}^2) - 5 \times 10^{-6} \text{ avec } R^2 = 0.99$$

## 1.6 TRAITEMENTS STATISTIQUES

La normalité et l'homoscédasticité des données ont été testées par le test de Cochran. Après vérification de l'absence de différence entre aquariums soumis au même traitement (ANOVA,  $P > 0.05$ ), les données ont été regroupées. Des ANOVAs à deux facteurs ont été utilisées pour tester l'effet du  $\text{pH}_T$  (7.75 and 8.02) et de la concentration en cobalt dissous (normale, ou plus élevée) sur les densités en zooxanthelles, les concentrations en chlorophylles, les taux de croissance, l'efficacité photosynthétique effective ( $\Delta Fv/Fm'$ ), le taux de transport d'électrons maximal ( $\text{ETR}_{\text{max}}$ ). Le logiciel PRISM® a été utilisé. Dans les cas où l'ANOVA a détecté des différences significatives, un test de Tukey a été appliqué afin d'attribuer des différences entre des facteurs spécifiques. Toutes les données sont exprimées sous la forme de moyenne  $\pm$  SE.

## RÉSULTATS

### 2.1 DENSITÉ EN ZOOXANTHELLES ET CONCENTRATION EN CHLOROPHYLLES

Le Tableau I représente les densités en zooxanthelles et les concentrations en chlorophylle *a* suivant les différents traitements après cinq semaines d'exposition. Aucun effet significatif du pH<sub>T</sub> ou de la concentration en Co ne peut être mis en évidence pour les densités en zooxanthelles (respectivement,  $P > 0.05$ , *Acropora* :  $F_{1,14} = 10.63$  et  $F_{1,14} = 0.022$  ; *Stylophora* :  $F_{1,14} = 9.25$  et  $F_{1,14} = 3.65$  ), et les concentrations en chlorophylle (respectivement,  $P > 0.05$ , *Acropora* :  $F_{1,14} = 10.27$  et  $F_{1,14} = 0.30$  ; *Stylophora* :  $F_{1,14} = 13.37$  et  $F_{1,14} = 8.03$ ). En revanche, les densités en zooxanthelles ont significativement diminué au cours des cinq semaines d'incubation et ce quelles que soient les conditions d'incubation (respectivement pour *S. pistillata* et *A. muricata*,  $P < 0.01$ ,  $F_{2,11} = 175.7$  et  $P < 0.05$ ,  $F_{2,11} = 18.99$ ). Les concentrations en chlorophylle diminuent également à la cinquième semaine pour *S. pistillata* ( $p < 0.05$ ,  $F_{2,11} = 10.26$ ). Les valeurs correspondantes sont présentées dans le tableau I.

Tableau I : Effet d'une concentration plus élevée en cobalt et du pH<sub>T</sub> sur la densité en zooxanthelles et la concentration en chlorophylle *a* des colonies de *S. pistillata* et *A. muricata* (moyenne  $\pm$  SE, N = 3)

			<i>Acropora muricata</i>		<i>Stylophora pistillata</i>	
	pH <sub>T</sub>	[Co] ( $\mu\text{g.l}^{-1}$ )	Zoox.cm <sup>-2</sup>	Chlo.cm <sup>-2</sup>	Zoox.cm <sup>-2</sup>	Chlo.cm <sup>-2</sup>
T <sub>0</sub> + 3	7.8	0.03	$1.68 \times 10^6 \pm 1.08 \times 10^5$	$8.57 \pm 0.07$	$1.78 \times 10^6 \pm 1.77 \times 10^5$	$10.1 \pm 0.92$
		0.2	$1.59 \times 10^6 \pm 1.32 \times 10^5$	$8.37 \pm 0.46$	$1.56 \times 10^6 \pm 1.47 \times 10^5$	$9.23 \pm 1.16$
	8.1	0.03	$1.51 \times 10^6 \pm 4.6 \times 10^4$	$8.17 \pm 0.38$	$1.43 \times 10^6 \pm 1.25 \times 10^5$	$10.8 \pm 0.60$
		0.2	$1.64 \times 10^6 \pm 9.05 \times 10^4$	$7.06 \pm 0.48$	$1.72 \times 10^6 \pm 1.61 \times 10^4$	$8.44 \pm 0.74$
T <sub>0</sub> + 5	7.8	0.03	$1.30 \times 10^6 \pm 2.78 \times 10^4$	$6.14 \pm 0.63$	$1.21 \times 10^6 \pm 2.78 \times 10^4$	$7.69 \pm 0.63$
		0.2	$1.21 \times 10^6 \pm 1.04 \times 10^5$	$5.89 \pm 0.46$	$1.09 \times 10^6 \pm 1.04 \times 10^5$	$5.88 \pm 0.46$
	8.1	0.03	$1.25 \times 10^6 \pm 9.87 \times 10^4$	$6.91 \pm 0.84$	$7.80 \times 10^5 \pm 9.87 \times 10^4$	$6.91 \pm 0.84$
		0.2	$1.17 \times 10^6 \pm 5.01 \times 10^4$	$6.87 \pm 0.6$	$1.13 \times 10^6 \pm 5.01 \times 10^4$	$6.87 \pm 0.60$

## 2.2 EFFICACITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE ET TAUX DE TRANSPORT D'ÉLECTRONS

Après 3 et 5 semaines de traitement, l'efficacité photosynthétique effective ( $\Delta Fv/Fm'$ ) de *S. pistillata* n'est affectée ni par une  $pCO_2$  plus élevée ( $P > 0.05$ ,  $F_{1,26} = 2.74$ ) ni par une concentration en cobalt plus importante ( $P > 0.05$ ,  $F_{1,26} = 10.51$ ). En revanche, après 5 semaines de traitement, *A. muricata* voit son  $\Delta Fv/Fm'$  diminué lorsque les colonies sont soumises à des conditions de pH plus faible ( $7.75 \pm 0.06$ ) ( $P < 0.05$ ,  $F_{1,26} = 14.97$ ) par rapport au pH normal ( $8.02 \pm 0.03$ ). Après 5 semaines, les  $\Delta Fv/Fm'$  des colonies d'*A. muricata* sont également plus élevées lorsqu'elles sont soumises à une concentration en Co plus importante ( $0.707 \pm 0.003$ ) par rapport à celles de colonies soumises à une concentration normale de Co ( $0.679 \pm 0.014$ ) ( $P < 0.01$ ,  $F_{1,26} = 30.24$ ) (Figure 8). Après 3 semaines de traitement, les  $\Delta Fv/Fm'$  d'*A. muricata* ne sont affectées ni par le pH, ni par la concentration en Co (Annexe I, Figure 11).

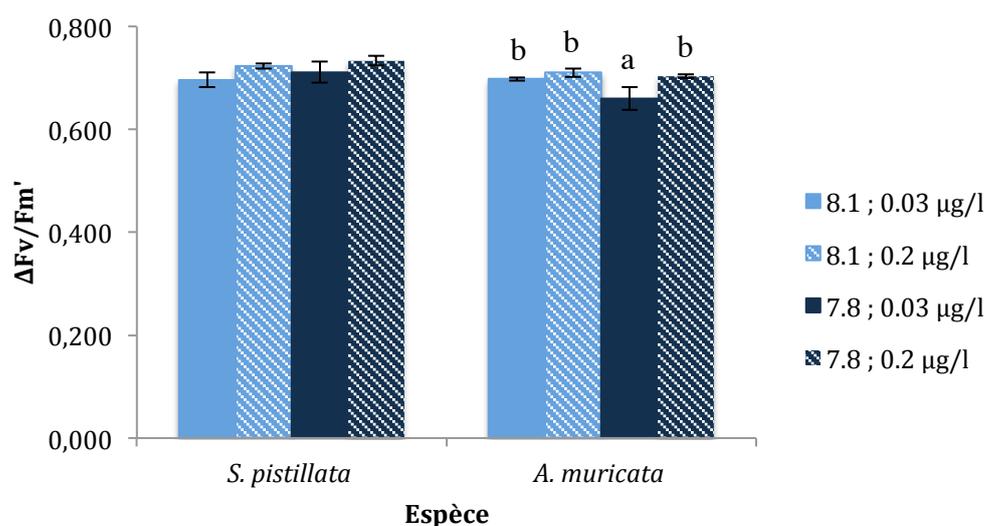


Figure 8 :  $\Delta Fv/Fm'$  à  $T_0 + 5$  semaines pour chaque espèce et chaque condition expérimentale (moyenne  $\pm$  SE,  $N = 5$ )

À partir de la troisième semaine, le cobalt a un effet sur les valeurs d' $ETR_{max}$  de *S. pistillata* ( $P < 0.01$ ,  $F_{1,20} = 19.27$ ), qui atteignent  $79.84 \pm 2.99$  et  $68.90 \pm 2.27$  pour les coraux soumis aux  $pH_T$  7.75 et 8.02 respectivement, contre  $68.25 \pm 4.80$  et  $61.16 \pm 3.38$  pour les coraux soumis aux  $pH_T$  7.75 et 8.02 ne bénéficiant pas d'un apport en cobalt. Cette tendance se confirme à la cinquième semaine ( $P < 0.01$ ,  $F_{1,26} = 15.82$ ) avec des valeurs d' $ETR_{max}$

variant de  $47.6 \pm 5.9$  à  $68.61 \pm 6.71$  pour les colonies se trouvant dans les aquariums enrichis en cobalt aux  $\text{pH}_T$  respectifs de 8.02 et 7.75, contre  $42.96 \pm 2.24$  à  $45.72 \pm 2.03$  pour les colonies de *S. pistillata* incubées sous des concentrations normales de Co et aux  $\text{pH}_T$  respectifs de 8.02 et 7.75. Pour les colonies d'*A. muricata*, l'effet significatif du cobalt sur les valeurs d' $\text{ETR}_{\text{max}}$  est observé après cinq semaines d'incubation ( $P < 0.05$ ,  $F_{1,26} = 20.84$ ), les valeurs d' $\text{ETR}_{\text{max}}$  atteignent  $59.16 \pm 4.75$  et  $53.80 \pm 2.58$  pour les coraux soumis aux  $\text{pH}_T$  8.02 et 7.75 respectivement, contre  $47.95 \pm 1.90$  et  $42.88 \pm 8.27$  pour les coraux soumis aux  $\text{pH}_T$  8.02 et 7.75 et maintenus sous une concentration normale de cobalt (Figure 9). (Les valeurs  $\text{ETR}_{\text{max}}$  à  $T_0 + 3$  semaines pour les deux espèces sont présentées en Annexe II, Figure 12).

Le  $\text{pH}_T$  n'a pas d'effet sur les valeurs d' $\text{ETR}_{\text{max}}$  des colonies d'*A. muricata* ( $p > 0.05$ ,  $F_{1,26} = 4.51$ ). Pour les colonies de *S. pistillata*, après cinq semaines d'incubation, les valeurs d' $\text{ETR}_{\text{max}}$  des colonies maintenues à un  $\text{pH}_T$  normal ( $44.51 \pm 2.30$ ) sont plus faibles que celles des coraux maintenus à  $\text{pH}_T$  7.75 ( $60.73 \pm 5.33$ ) ( $p < 0.05$ ,  $F_{1,26} = 14.04$ ).

Les conditions de  $\text{pCO}_2$  plus élevées n'ont pas modifié de façon significative le  $\text{NPQ}_{\text{max}}$  ( $P > 0.05$ ,  $F_{1,26} = 3.75$  et  $F_{1,26} = 0.01$  respectivement pour *A. muricata* et *S. pistillata*). Les valeurs de  $\text{NPQ}_{\text{max}}$  n'ont pas non plus été affectées par une concentration plus élevée en Co ( $P > 0.05$ ,  $F_{1,26} = 1.58$ ,  $p > 0.05$  et  $F_{1,26} = 2.35$  respectivement pour *A. muricata* et *S. pistillata*). Les valeurs de  $\text{NPQ}_{\text{max}}$  varient de  $0.22 \pm 0.07$  à  $0.38 \pm 0.07$  et de  $0.24 \pm 0.05$  à  $0.32 \pm 0.06$  respectivement pour *A. muricata* et *S. pistillata* (Annexe III, Figure 13 : Évolution du NPQ sous une intensité lumineuse croissante à  $T_0 + 5$  semaines pour *A. muricata* et *S. pistillata*).

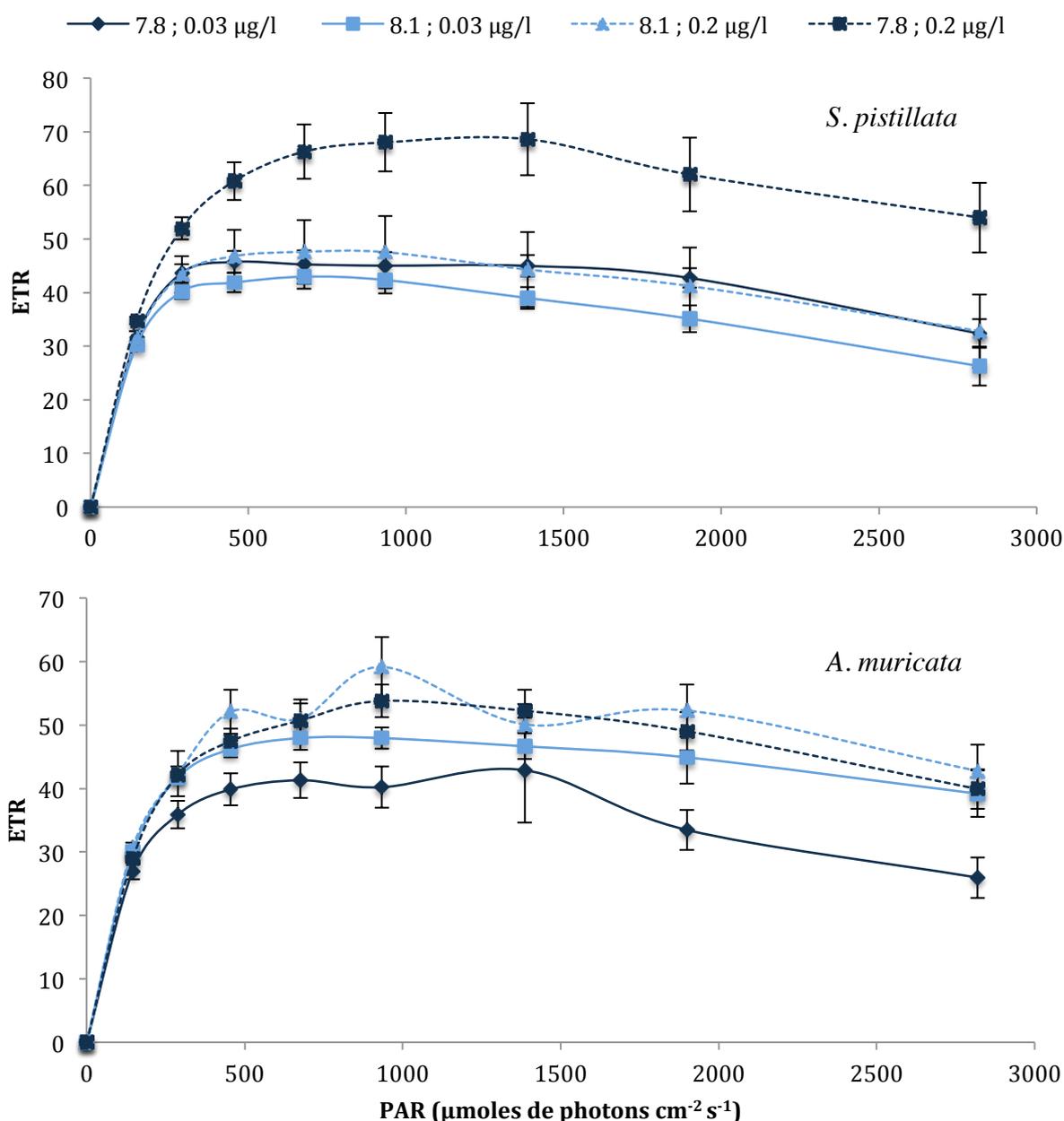


Figure 9: Taux de transport d'électrons en fonction d'intensité lumineuse croissante à  $T_0 + 5$  semaines. (Moyenne  $\pm$  SE, N = 5)

### 2.3 ÉVOLUTION DES TAUX DE CROISSANCE

L'exposition pendant 5 semaines à un plus fort  $pH_T$  ( $7.75 \pm 0.03$ ) n'a pas influencé les taux de croissance d'*A. muricata* et *S. pistillata* ( $P > 0.05$ ,  $F_{1,32} = 0.131$  et  $0.0003$ , respectivement) quelle que soit la teneur en cobalt considérée. Ces taux de croissance varient, respectivement en condition normale et en condition acidifiée, entre  $4.37 \pm 0.64$  et  $4.25 \pm 0.35$   $mg \cdot g^{-1} \cdot j^{-1}$  pour *A. muricata* et  $5.71 \pm 0.43$  et  $5.72 \pm 0.86$   $mg \cdot g^{-1} \cdot j^{-1}$  pour *S. pistillata*.

Après trois semaines d'exposition à une concentration plus élevée en Co, les taux de croissance des colonies de *S. pistillata* ( $3.80 \pm 0.71 \text{ mg g}^{-1} \text{ j}^{-1}$ ) sont significativement plus faibles que ceux des colonies exposées à une concentration normale ( $5.14 \pm 0.57 \text{ mg g}^{-1} \text{ j}^{-1}$ ) ( $P < 0.05$ ,  $F_{1,32} = 15.44$ ). Cette différence est confirmée après cinq semaines d'incubation, avec des taux de croissance pour les colonies de *S. pistillata* soumises à un apport supplémentaire en Co ( $4.72 \pm 0.69 \text{ mg g}^{-1} \text{ j}^{-1}$ ) inférieurs à ceux des colonies soumises à une concentration normale ( $6.71 \pm 0.6 \text{ mg g}^{-1} \text{ j}^{-1}$ ) ( $P < 0.01$ ,  $F_{1,32} = 22.96$ ).

Concernant *A. muricata*, les taux de croissance des colonies incubées sous une concentration en Co plus élevée ( $3.6 \pm 0.52 \text{ mg g}^{-1} \text{ j}^{-1}$ ) apparaissent significativement inférieurs aux taux des autres colonies ( $5.01 \pm 0.47 \text{ mg g}^{-1} \text{ j}^{-1}$ ) après seulement cinq semaines d'incubation ( $P < 0.01$ ,  $F_{1,32} = 18.62$ ) (Figure 10).

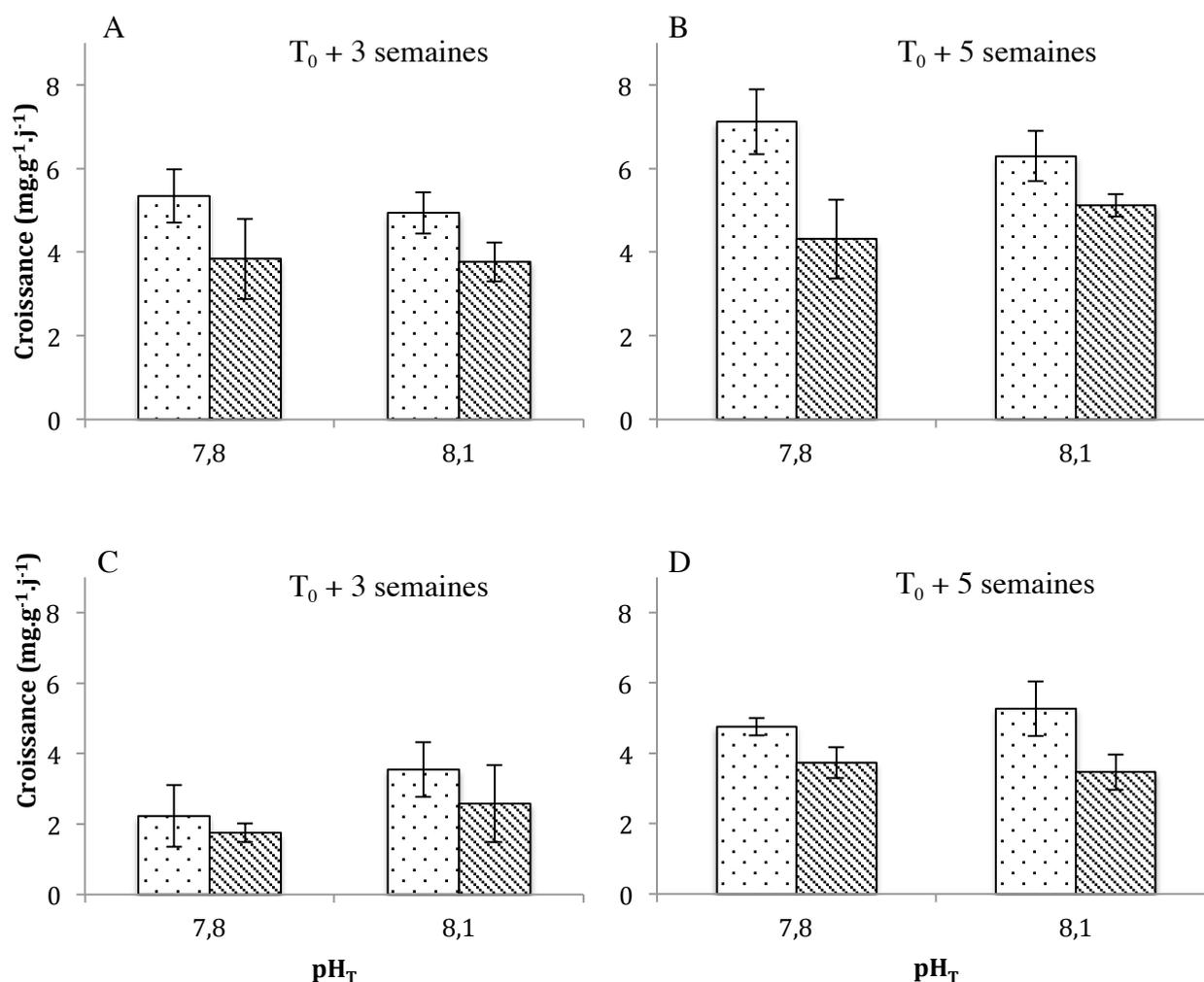


Figure 10 : Taux de croissance des colonies coralliennes en fonction des conditions de pH<sub>T</sub> et de concentration en cobalt. (A, B) *S. pistillata* (C, D) *A. muricata* (moyenne  $\pm$  SE, N = 5). (□) [Co] 0.03  $\mu\text{g/l}$  (▨) [Co] 0.2  $\mu\text{g/l}$

## DISCUSSION

---

Alors que les problèmes de pollution par les métaux concernent de nombreux récifs à travers le monde (*e.g.* Costa Rica, Mer Rouge, Indonésie, Nouvelle-Calédonie) (Reichelt-Brushett 2012 ; Guzman & Jimenez 1992 ; Ali *et al.* 2011), les études portant sur les effets de ces métaux sur le métabolisme des coraux restent peu nombreuses et concernent en grande majorité leurs stades larvaires et leurs mécanismes de reproduction (*e.g.* Reichelt-Brushett & Harrison 2005, Reichelt-Brushett & Michalek-Wagner 2005). De plus, nombre de ces recherches se sont appuyées sur des concentrations métalliques bien supérieures à celles mesurées *in situ*. Par ailleurs, dans le contexte actuel de réchauffement et d'acidification des océans, où les facteurs affectant le développement et la résilience des récifs se multiplient, comprendre les effets biologiques d'une exposition régulière de ces organismes clés aux pollutions métalliques devient impératif. Jusqu'à présent, les effets du changement climatique sur les coraux ont été étudiés indépendamment des autres pressions anthropiques. Il apparaît pourtant crucial d'intégrer ces deux dimensions. Aussi, le caractère innovant de ce travail réside dans l'étude des effets d'un enrichissement en cobalt (enrichissement correspondant aux concentrations maximales qui peuvent être rencontrées le long des côtes de Nouvelle-Calédonie) sur le métabolisme de coraux exposés à une  $p\text{CO}_2$  plus élevée (en adéquation avec les prévisions climatiques prévues d'ici la fin de ce siècle).

### **3.1 EFFET DE L'ENRICHISSEMENT EN COBALT SUR LA CROISSANCE ET L'EFFICACITÉ PHOTOSYNTHÉTIQUE DES CORAUX**

Il s'agit ici de la première étude s'intéressant aux effets de teneurs en cobalt plus élevées sur la physiologie de deux espèces de coraux scléactiniaires. Les résultats obtenus montrent que quelle que soit l'espèce, les colonies bénéficiant d'un apport supplémentaire en cobalt ne modifient pas leurs densités en zooxanthelles. L'ajout de Co n'aurait donc pas le même effet stimulateur qu'un enrichissement en ammonium (Muscatine *et al.* 1998) ou en fer (Ferrier-Pagès *et al.* 2001), ces derniers ayant mesuré une augmentation de la densité en zooxanthelles et du nombre de cellules algales par cellule hôte pour les coraux exposés à ces deux métaux. À l'inverse, une perte de zooxanthelles (blanchissement des coraux) en réponse à une exposition aux métaux a été rapportée dans plusieurs travaux (Harland and Brown 1989 ; Reichelt-Brushett & McOrist 2003 ; Bielmyer *et al.* 2010). Cependant, l'expulsion des

zooxanthelles n'a été observée que sous des concentrations en cuivre ou en fer 10 voire 100 fois plus importantes que celles mesurées dans le lagon calédonien par exemple. Il a été établi que les métaux s'accumulaient préférentiellement dans les tissus coralliens et plus particulièrement dans les zooxanthelles (Ferrier-Pagès *et al.* 2005 ; Houlbrèque *et al.* 2012), or Peters *et al.* (1997) avaient préalablement suggéré que leur expulsion représenterait un mécanisme de détoxification des métaux. Ainsi, dans la présente étude, l'absence de diminution du nombre de zooxanthelles semble suggérer que la concentration en cobalt délivrée aux coraux ne correspondrait pas au seuil dit « toxique » pour ces deux espèces.

Tout au long de l'expérimentation, l'efficacité photosynthétique effective des colonies coralliennes a varié de  $0.696 \pm 0.014$  à  $0.741 \pm 0.003$  et de  $0.660 \pm 0.022$  à  $0.713 \pm 0.005$  respectivement pour *S. pistillata* et *A. muricata*. Il est largement admis que lorsque la photosynthèse est à plein régime, alors les valeurs mesurées par le PAM fluorimètre sont comprises entre 0.5 et 0.7 en fonction des espèces et de la profondeur (Fitt *et al.* 2001). Les valeurs de  $\Delta Fv/Fm'$  obtenues pour les deux espèces indiquent donc que leurs processus de photosynthèse fonctionnaient à plein régime quelles que soient les conditions d'incubation.

Après cinq semaines de traitement, les valeurs maximales de *quenching* non-photochimiques ( $NPQ_{max}$ ) mesurées pour les deux espèces ne sont pas plus élevées pour les colonies incubées sous une plus forte concentration en cobalt par rapport à celles des autres colonies. Une augmentation du NPQ est le résultat d'un processus de défense contre une altération du photosystème II ou de l'altération même de ce dernier (Richard 2006 ; Rodolfo-Metalpa *et al.* 2006). Cette absence d'augmentation du  $NPQ_{max}$  chez les colonies enrichies en cobalt, ainsi que la stabilité de leurs densités en zooxanthelles semblent confirmer que cet enrichissement modéré en cobalt ne présente pas un facteur de stress pour les coraux.

À partir de trois et cinq semaines d'incubation respectivement pour *S. pistillata* et *A. muricata*, l'enrichissement de l'eau de mer en cobalt a entraîné une augmentation nette des valeurs d' $ETR_{max}$ . Bien que le nombre de leurs zooxanthelles par unité de surface n'ait pas augmenté avec l'enrichissement en cobalt, il semblerait cependant que ce métal rende les zooxanthelles plus efficaces dans leur photosynthèse. Ces résultats vont à l'encontre d'une seule étude menée sur *Acropora cervicornis* et *Pocillopora damicornis*, révélant une inhibition de l'efficacité photosynthétique de ces colonies lorsqu'elles sont soumises à un enrichissement en cuivre. Les concentrations en cuivre testées dans cette étude étaient

cependant cent fois supérieures aux concentrations mesurées sur le littoral calédonien (Bielmyer *et al.* 2010). En revanche, la stimulation des taux de transport en électrons par le cobalt va dans le même sens que les études menées sur des colonies de *S. pistillata*. En effet, ces dernières révèlent une stimulation de leur  $ETR_{max}$  et de leurs taux de photosynthèse maximale par un apport modéré en zinc ou en fer (Ferrier-Pagès *et al.* 2001, 2005). L'ETR étant directement relié à l'activité photosynthétique du photosystème II à un éclairage donné, deux hypothèses peuvent être émises pour expliquer cette stimulation de l'activité photosynthétique des coraux par le cobalt : (1) le cobalt étant un cofacteur de l'anhydrase carbonique, un apport supplémentaire stimulerait cette enzyme qui fournirait alors plus de carbone inorganique au processus de photosynthèse (Price & Morel 1990 ; Panzeca *et al.* 2009). (2) La cavité gastrique des coraux est très riche en bactéries qui s'avèrent être capables de produire de la vitamine B<sub>12</sub> (Agostini *et al.* 2012). Une production accrue de cette vitamine, appelée aussi cobalamine (car possédant un noyau de cobalt), pourrait stimuler le processus de photosynthèse. Des études supplémentaires s'avèrent nécessaires pour confirmer ces hypothèses.

Un des résultats majeurs de cette étude est que les deux espèces, *S. pistillata* et *A. muricata*, ont montré une diminution nette de leur croissance après respectivement trois et cinq semaines d'exposition à une concentration même modérée en cobalt ( $0.2 \mu\text{g.l}^{-1}$ ), équivalente à la concentration maximale mesurée au niveau du Port Moselle de Nouméa (voir Annexe 1). En effet, *S. pistillata* et *A. muricata* ont vu leur croissance diminuer en moyenne de, respectivement, 27.9% et 28.2% par rapport au témoin. Ce résultat est en accord avec la seule autre étude portant sur les effets d'un enrichissement en métal sur la croissance des coraux (Ferrier-Pagès *et al.* 2001). En effet dans cette étude, la croissance des colonies de *S. pistillata* est significativement diminuée (inférieure de 20% par rapport au témoin) lorsque ces dernières sont exposées à un enrichissement raisonnable en fer (6 nM) tandis que leurs taux de photosynthèse sont au contraire stimulés. Selon les auteurs, cette augmentation de l'activité photosynthétique due à un apport en fer provoquerait un déséquilibre de la relation hôte/symbionte, le carbone inorganique serait alors préférentiellement alloué à la photosynthèse, au détriment de la croissance. Dans notre étude, la stimulation par le cobalt des taux de transport d'électrons des deux espèces et de l'efficacité photosynthétique effective d'*A. muricata*, et donc potentiellement une utilisation accrue de carbone inorganique par les processus de photosynthèse pourrait être à l'origine de cette diminution de la croissance chez

*S. pistillata* et *A. muricata*. Toutefois, cet effet antagoniste du cobalt sur les taux de croissance et l'efficacité photosynthétique des deux espèces pourrait également s'expliquer par une toxicité du cobalt pour les cellules hôtes et non pour les zooxanthelles. L'ajout de cobalt pourrait en effet être responsable d'une diminution des taux d'incorporation de  $\text{Ca}^{2+}$  dans l'organisme comme cela a été démontré pour une espèce de coccolithophoridé, *Cricosphaera carterae*, soumis à une concentration en cobalt de  $200 \mu\text{M}$  (Blankenship & Wilbur 1975). Des mesures d'incorporation de l'isotope radioactif du calcium ( $^{45}\text{Ca}$ ) dans les tissus des deux espèces coralliennes incubées sous différentes concentrations en cobalt permettraient de confirmer cette hypothèse.

### 3.1 EFFET DE LA $p\text{CO}_2$ SUR LA PHYSIOLOGIE DES CORAUX

D'autre part, l'efficacité photosynthétique et les valeurs d' $\text{ETR}_{\text{max}}$  des deux espèces n'ont pas été clairement affectées par une augmentation de la  $p\text{CO}_2$ . Les colonies d'*A. muricata* ont cependant diminuées leur efficacité photosynthétique à pH plus faible. En théorie, on pourrait penser qu'une augmentation de la  $p\text{CO}_2$  dans l'eau stimulerait la photosynthèse, cependant les quelques résultats obtenus jusqu'à présent sont très controversés. Alors que certaines études ne montrent pas d'effet de l'acidification sur les taux de photosynthèse (Godinot *et al.* 2011 ; Houlbrèque *et al.* 2012), d'autres ont au contraire mis en évidence une diminution des taux d'efficacité photosynthétique (Kaniewska *et al.* 2008 ; Igushi *et al.* 2012). Ceci se retrouve seulement pour l'efficacité photosynthétique effective d'*A. muricata*. Ces variations des réponses au pH seraient simplement dues au type de symbiontes (Brading *et al.* 2011).

Aucune différence de croissance n'a été décelée entre les différentes conditions de  $\text{pH}_T$ , pour les deux espèces : *S. pistillata* et *A. muricata*. Cette absence d'effet du  $\text{pH}_T$  obtenue pour *S. pistillata* confirme l'étude précédente réalisée sur cette même espèce modèle, qui a mis en évidence qu'après cinq semaines d'incubation sous un  $\text{pH}_T$  de 7.5 toutes les colonies ont survécu et ont maintenu des taux de calcification positifs (Houlbrèque *et al.* 2012). Seule une très légère perturbation de la calcification de cette espèce à de très faibles  $\text{pH}_T$  (7.19 et 7.49) a pu être mise en évidence (Krief *et al.* 2010). Quant à *A. muricata*, aucune étude n'a porté sur les effets de plus fortes  $p\text{CO}_2$  sur cette espèce en particulier. Seul Anthony *et al.* (2008) ont mis en évidence qu'*Acropora intermedia* (espèce également présente dans le Pacifique Sud-Est) pouvait subir une diminution de la calcification d'environ 40% sous le

pH<sub>T</sub> attendu à la fin du siècle. Bien que nos résultats doivent être considérés avec prudence, nos coraux n'ayant été incubés que pendant une courte période à faible pH<sub>T</sub>, ils confirment plusieurs études récentes montrant que la réponse des coraux n'est pas uniforme et que certaines espèces sont capables de calcifier sous un faible pH<sub>T</sub> (Jury *et al.* 2009, Ries *et al.* 2009, Rodolfo-Metalpa *et al.* 2010). Ces études mettent en évidence que certains coraux sont capables de continuer à calcifier sous de fortes pCO<sub>2</sub> et donc de faibles concentrations en ions carbonate (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) car ils utiliseraient préférentiellement les ions bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) comme source de carbone pour la calcification (Atkinson *et al.* 1995 ; Ries *et al.* 2009, Rodolfo-Metalpa *et al.* 2010). L'hypothèse a également été émise que les coraux présentant une résistance accrue à l'acidification seraient peut-être capable de réguler le pH<sub>T</sub> au niveau de leur site de calcification (McCulloch *et al.* 2012, Ries *et al.* 2009, Venn *et al.* 2012) même s'ils sont soumis à des diminutions de pH<sub>T</sub> dans l'eau de mer environnante. Ainsi Comeau *et al.* (2013), après avoir étudié la réponse de huit espèces coralliennes à une augmentation de la pCO<sub>2</sub>, a émis l'idée de l'émergence de potentiels « gagnants écologiques » capables de s'acclimater à une diminution du pH<sub>T</sub> mieux que d'autres. Les deux espèces coralliennes testées dans notre étude feraient donc parties de ces « gagnants écologiques » et présenteraient une « faible sensibilité à une altération de la saturation en aragonite Ω<sub>arag</sub> », selon la définition émise par Langdon & Atkinson (2005).

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

---

Ce travail constitue une des premières études concernant les effets de concentrations modérées en métaux sur deux processus fondamentaux des coraux : la croissance et l'efficacité photosynthétique. L'enrichissement en cobalt a entraîné une nette diminution de la croissance des deux espèces testées et au contraire, une stimulation de leur efficacité photosynthétique. Les zooxanthelles semblent en effet être capables de tirer profit de concentrations plus élevées en augmentant leur efficacité photosynthétique. Sachant que les métaux s'accumulent dans les tissus des coraux (Ferrier-Pagès *et al.* 2005), le prolongement de cette étude sur le long-terme pourrait accentuer le rôle néfaste du cobalt sur la croissance et modifier ses effets sur l'activité photosynthétique, selon que le « seuil toxique » est franchi ou non. Les résultats obtenus ici ont permis de mettre en évidence que l'étude des métaux mérite

plus d'attention pour essayer de déterminer plus spécifiquement leurs mécanismes d'action et leurs voies d'incorporation chez les coraux.

Bien que notre étude n'ait été réalisée que sur un court terme et qu'elle n'ait testé qu'une seule valeur de  $pH_T$ , cette dernière est représentative de ce qui est annoncé pour la fin du siècle. Le fait que *S. pistillata* et *A. muricata* n'aient pas été affectées par une plus forte  $pCO_2$  va dans le sens des derniers travaux tendant à remettre en cause l'idée selon laquelle toutes les espèces de coraux seraient affectées de façon négative par l'acidification des océans. Malheureusement, à l'avenir, le phénomène d'acidification des océans s'accompagnera forcément d'un réchauffement des eaux. Or, il a été établi pour plusieurs espèces qu'une hausse des températures rend les coraux plus vulnérables à l'acidification (Reynaud *et al.* 2003 ; Anthony *et al.* 2008). Les deux espèces *A. muricata* et *S. pistillata*, appartenant vraisemblablement aux espèces de « faible sensibilité » à l'acidification montrent une diminution de leurs croissances de 28% lorsqu'elles sont soumises à un apport modéré en cobalt. Au vu de ces résultats, on peut penser que des espèces qui sont, à la base, de « forte sensibilité » à l'acidification tels que *Porites lutea* ou *Acropora cervicornis* (Erez *et al.* 2011) vont se trouver affectées de façon dramatique par des apports en métaux. Deux études pionnières menées sur des polychètes marins et des copépodes ont d'ailleurs récemment mis en évidence que les phénomènes de pollution par les métaux augmentaient la sensibilité de ces organismes à l'acidification des océans (Lewis *et al.* 2012, Pascal *et al.* 2012).

Jusqu'à présent, les récifs coralliens de Nouvelle-Calédonie n'ont fait l'objet que de très peu de travaux concernant leur devenir face aux changements climatiques, ce travail constitue donc une base indispensable. Les coraux de Nouvelle-Calédonie ont été jusqu'ici épargnés par les phénomènes de blanchissement (Wantiez, 2008) alors que ceux-ci s'intensifient de plus en plus dans les autres récifs de part le monde (Donner *et al.* 2005). Des expérimentations futures sur d'autres espèces calédoniennes permettront de déterminer s'il en est de même concernant la résistance des récifs locaux au phénomène d'acidification des océans.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Agostini S, Suzuki Y, Casareto BE, Nakano Y, Hidaka M & Badrun N, 2009.** Coral symbiotic complex : Hypothesis through vitamin B<sub>12</sub> for a new evaluation. *Journal of Coral Reefs Studies*. **11** : 1-11
- Ali AMM, Hamed MA & Abd El-Azim A, 2011.** Heavy metals distribution in the coral reef ecosystems of the Northern Red Sea. *Helgoland Marine Research*. **65** (1) : 67-80
- Anthony KRN, Kline DI, Diaz-Pulido G, Dove S & Høegh-Guldberg O, 2008.** Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *PNAS*. **105** (45) : 17442-17446
- Atkinson MJ, Carlson B & Crow GL, 1995.** Coral growth in high-nutrient, low-pH seawater : a case study of corals cultured at the Waikiki Aquarium, Honolulu, Hawaii. *Coral Reefs*. **14** : 215-223
- Barber J, Malkin S & Telfer A, 1989.** The origin of chlorophyll fluorescence *in vivo* and its quenching by the photosystem II reaction centre. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*. **323** : 227-239
- Barnes DJ & Devereux MJ, 1984.** Productivity and calcification on a coral reef : a survey using pH and oxygen electrode techniques. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **9** : 213-231
- Blankenship ML & Wilbur KM, 1975.** Cobalt effects on cell division and calcium uptake in the coccolithophorid *crucosphaera carterae* (haptophyceae). *Journal of Phycology*. **11** (2) : 211-219
- Bielmyer GK, Grosell M, Bhagooli R, Baker AC, Langdon C, Gillette P & Capo TR, 2010.** Differential effects of copper on three species of scleractinian corals and their algal symbionts (*Symbiodinium spp.*). *Aquatic Toxicology*. **97** (2) : 125-133
- Brading P, Warneer ME, Davey P, Smith DJ, Achterberg EP & Suggett DJ, 2011.** Differential effects of ocean acidification on growth and photosynthesis among phylotypes of *Symbiodinium* (Dinophyceae). *Limnology and Oceanography*. **56** : 927-938
- Caldeira K & Wickett ME, 2003.** Oceanography : Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*. **425** : 365
- Canadell JG, Le Quéré C, Raupach MR, Field CB, Buitenhuis ET, Ciais P, Conway TJ, Gillett NP, Houghton RA & Marland G, 2007.** Contributions to accelerating CO<sub>2</sub> growth from economic activity, carbon intensity, and efficiency of natural sinks. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104** : 18866-18870
- Chin A, Lison de Loma T, Reyntar K, Planes S, Gerhardt K, Clua E, Burke L & Wilkinson C, 2011.** Status of Coral Reefs of the Pacific and Outlook : 2011. *Publishers Global Coral Reef Monitoring Network*. 260p.
- Comeau S, Edmunds PJ, Spindel NB & Carpenter RC, 2013.** The responses of eight coral reef calcifiers to increasing partial pressure of CO<sub>2</sub> do not exhibit a tipping point. *Limnology and Oceanography*. **58** (1) : 388-398
- Croft M, Lawrence A, Raux-Deery E, Warren M & Smith A, 2005.** Algae acquire vitamin B<sub>12</sub> through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature*. **438** : 90-93

- Davies PS, 1989.** Short-term growth measurements of corals using an accurate buoyant weighing technique. *Marine Biology*. **101** : 389-395
- Donner SD, Skirving WJ, Little CM, Oppenheimer M & Hoegh-Guldberg O, 2005.** Global assessment of coral bleaching and required rates of adaptation under climate change. *Global Change Biology*. **11** : 2251-2265.
- Erez J, Reynaud S, Silverman J, Schneider K & Allemand D, 2011.** Coral calcification under ocean acidification and global change. *Coral Reefs : An Ecosystem in Transition*, pp 151-176
- Ernez M & Lannoye R, 1991.** Quantification des désordres photosynthétiques chez la plante stressée : aspects conceptuels et méthodologiques. In *L'amélioration des plantes pour l'adaptation aux milieux arides*. Ed. AUPELF-UREF, **9-23**. John Libbey Eurotext, Paris
- Ferrier-Pagès C, Schœlzke V, Jaubert J, Muscatine L & Hoegh-Guldberg O, 2001.** Response of a scleractinian coral, *Stylophora pistillata*, to iron and nitrate enrichment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **259 (2)** : 249-261
- Ferrier-Pagès C, Boisson F, Allemand D & Tambutté E, 2002.** Kinetics of strontium uptake in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Mar Ecol Prog*. **245** : 93-100
- Ferrier-Pagès C, Houlbrèque F, Wyse E, Richard C, Allemand D & Boisson F, 2005.** Bioaccumulation of zinc in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Coral Reefs*. **24** : 636-645
- Furla P, Galgani I, Durand I & Allemand D, 2000.** Sources and mechanisms of inorganic carbon transport for coral calcification and photosynthesis. *Experimental Biology*. **203** : 3445-3457
- Freudenthal HD, 1962.** *Symbiodinium* gen. nov. *Symbiodinium microadriaticum* sp. nov., a zooxanthella : taxonomy, life cycle, and morphology. *J. Protozool*. **9(1)** : 45-52
- Gattuso JP, 1987.** Écomorphologie, métabolisme, croissance et calcification du scléactiniaire à zooxanthelles *Stylophora pistillata* (Golfe d'Aqaba, Mer Rouge) : Influence de l'éclairement. *Thèse de l'Université Aix-Marseille II*. **289 p.**
- Gattuso JP, Allemand D & Frankignoulle M, 1999.** Photosynthesis and calcification at cellular, organismal and community levels in coral reefs : a review on interactions and control by carbonate chemistry. *Integrative and Comparative Biology*. **39 (1)** : 160-183
- Genty B, Briantais JM & Baker NR, 1989.** The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta*. **990** : 87-92
- Godinot C, Houlbrèque F, Grover R & Ferrier-Pagès C, 2011.** Coral uptake of inorganic phosphorus and nitrogen negatively affected by simultaneous changes in temperature and pH. *PLoS ONE*. **6(9)** : 1-10
- Gran G, 1952.** Determination of the equivalence point in potentiometric titrations. Part II. *Analyst*. **77** : 661-671
- Guzmán HM & Jiménez CE, 1992.** Contamination of coral reefs by heavy metals along the Caribbean coast of Central America (Costa Rica and Panama). *Marine Pollution Bulletin*. **24 (11)** : 554-561
- Harland AD & Brown BE, 1989.** Metal tolerance in the scleractinian coral *Porites lutea*. *Marine Pollution Bulletin*. **20 (7)** : 353-357
- Hatcher BG, 1988.** Coral reef primary productivity : a beggar's banquet. *Trends in Ecology and Evolution*. **3** : 106-111

- Hédouin L, Metian M, Teyssié J-L, Fowler SW, Fichez R & Warnau M, 2005.** Allometric relationships in the bioconcentration of heavy metals by the edible tropical clam *Gafrarium tumidum*. *Elsevier*. **366** : 154–163
- Høegh-Guldberg O et al., 2007.** Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*. **318** : 1737-1742
- Houlbrèque F et al., 2012a.** Zinc : a bit of a boost to resist to warming ! *International Coral Reef Symposium 12th*. July 9-13th. Cairns (Australia) Oral Communication
- Houlbrèque F, Rodolfo-Metalpa R, Jeffree R, Oberhänsli F, Teyssié J-L, Boisson F, Al-Trabeen K & Ferrier-Pagès C, 2012.** Effects of increased pCO<sub>2</sub> on zinc uptake and calcification in the tropical coral *Stylophora pistillata*. *Coral Reefs*. **31** : 101-109
- Houlbrèque F., Tambutté É., Allemand D. & Ferrier-Pagès C., 2004.** Interactions between zooplankton feeding, photosynthesis and skeletal growth in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *J. Exp. Biol.* **207** : 1461-1469
- Hughes TP, 1987.** Skeletal density and growth form of corals. *Marine Ecology Progress Series*. **35** : 259-266
- Iguchi A, Ozaki S, Nakamura T, Inoue M, Tanaka Y, Suzuki A, Kawahata H & Sakai K, 2012.** Effects of acidified seawater on coral calcification and symbiotic algae on the massive coral *Porites australiensis*. *Marine Environmental Research*. **73** : 32-36
- Intergovernmental Panel on Climate Changes, 2007.** Contributions of Working group I to the fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, *S. Salomon et al., Eds.* (Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK, and New York, 2007).
- Jeffrey SW & Humphrey GF, 1975.** New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c1 and c2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochimie und Physiologie der Pflanzen*. **167** : 191-194
- Jinendradasa SS & Ekaratne SUK, 2002.** Linear extension of *Acropora Muricata* (Dana) at selected Reef locations in Sri Lanka. *Proc. 9th Int. Coral Reef Symp.* **1** : 417-420
- Jury CP, Whitehead RF & Szmant AM, 2009.** Effects of variations in carbonate chemistry on the calcification rates of *Madracis auretenra* (= *Madracis mirabilis* sensus Wells, 1973) : bicarbonate concentrations best predict calcification rates. *Global Change Biology*. **16** : 1632-1644
- Kleypas JA, Buddemeier RW, Archer D, Gattuso J-P, Langdon C & Opdyke BN, 1999.** Geochemical consequences of increased atmospheric carbon dioxide on coral reefs. *Science*. **284** : 118-120
- Kleypas JA, Feely RA & Fabry VJ, et al., 2006** : Impact of ocean acidification on coral reefs and other marine calcifiers : A case guide for future research, report of a workshop held 18-20 April 2005, St. Petersburg, FL, sponsored by NSF, NOAA, and US Geological Survey, 88 pp.
- Kleypas JA & Langdon C, 2006.** Coral reefs and changing seawater carbonate chemistry. *Coastal and Estuarine Studies*. **61** : 73-110
- Krief S, Hendy EJ, Fine M, Yam R, Meibom A, Foster GL & Shemesh A, 2010.** Physiological and isotopic responses of scleractinian corals to ocean acidification. *Geochim. Cosmochim. Acta*. **74** : 4988-5001

- Kaniewska P, Campbell PR, Kline DI, Rodriguez-Lanetty M, Miller DJ, Dove S & Hoegh-Guldberg O, 2008.** Major cellular and physiological impacts of ocean acidification on a reef building coral. *PLoS ONE*. **7 (4)** : e34659
- Langdon C & Atkinson MJ, 2005.** Effect of elevated pCO<sub>2</sub> on photosynthesis and calcification of corals and interactions with seasonal change in temperature/irradiance and nutrient enrichment. *Journal of Geophysical Research*. **110** : 1-54
- Lasne G, 2007.** Les coraux de Nouvelle-Calédonie (synthèse bibliographique). Rapport *Coral Reef*, Initiative for the South Pacific. **93 p.**
- Loya Y, 1976.** The Red sea coral *Stylophora pistillata* is an r-strategist. *Nature*. **259** : 478-480
- Marsh Jr JA, 1970.** Primary Productivity of Reef-Building Calcareous Red Algae. *Ecology*. **51** : 255-263
- Marshall PA & Baird AH, 2000.** Bleaching of corals on the Great Barrier Reef : differential susceptibilities among taxa. *Coral Reefs*. **19 (2)** : 155-163
- Maxwell K & Johnson GN, 2000.** Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. **21** : 659-668
- McCloskey LR & Muscatine L, 1984.** Production and respiration in the Red Sea coral *Stylophora pistillata* as a function of depth. *Proc. R. Soc. Lond. B*. **222** : 215-230
- McCulloch M, Falter J, Trotter J & Montagna P, 2012.** Coral resilience to ocean acidification and global warming through pH up-regulation. *Nature Climate Change*. **2** : 623-627
- Moberg F & Folke C, 1999.** Ecological goods and services of coral reef ecosystems. *Elsevier*. **29 (2)** : 215-233
- Morel FMM, Reinfelder JR, Roberts SB, Chamberlain CP, Lee JG & Yee D, 1994.** Zinc and carbon colimitation of marine phytoplankton. *Nature*. **369** : 740-742
- Moreton BM, Fernandez J-M & Dolbecq MBD, 2008.** Development of a field preconcentration/elution unit for routine determination of dissolved metal concentrations y ICP-OES in marine waters : Application for monitoring of the New Caledonia lagoon. *Geostandards and Geoanalytical Research*. **33 (2)** : 205-218
- Muscatine L, 1990.** The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. In : Z. Dubinsky (ed.). *Ecosystems of the world. Coral Reefs*. **25** : 75-84
- Muscatine L, Ferrier-Pagès C, Blackburn A, Gates RD, Baghdasarian G & Allemand D, 1998.** Cell-specific density of symbiotic dinoflagellates in tropical anthozoans. *Coral Reefs*. **17 (4)** : 329-337
- Odum HT & Odum EP, 1955.** Trophic structure and productivity of windward coral reef community on Eniwetok Atoll. *Ecological Monographs*. **25 (3)** : 291-320
- Orr JC et al., 2005.** Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature*. **437** : 681-686
- Petit JR et al., 1999.** Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature*. **399** : 429-436
- Pomerance R, 1999.** Coral bleaching, coral mortality, and global climate change. Report presented by Deputy Assistant Secretary of State for the Environment and Development to the US Coral Reef Task Force. 5 March 1999, Maui, Hawaii

- Reichelt-Brushett AJ, 2012.** Risk assessment and ecotoxicology limitations and recommendations for ocean disposal of mine waste in the coral triangle. *Oceanography*. <http://dx.doi.org/10.5670/oceanog.2012.66>
- Reichelt-Brushett AJ & Harrison PL, 2005.** The effect of selected trace metals on the fertilization success of several scleractinian coral species. *Coral Reefs*. **24 (4)** : 524-534
- Reichelt-Brushett AJ & McOrist G, 2003.** Trace metals in the living and non-living components of scleractinian corals. *Marine Pollution Bulletin*. **46 (12)** : 1573-1582
- Reichelt-Brushett AJ & Michalek W, 2005.** Effets of copper on the fertilization success on the soft coral *Lobophytum compactum*. *Aquatic Toxicology*. **74 (3)** : 280-284
- Renegar DA & Riegl BM, 2005.** Effect of nutrient enrichment and elevated CO<sub>2</sub> partial pressure on growth rate of Atlantic scleractinian coral *Acropora cervicornis*. *Marine Ecology Progress Series*. **293** : 69-76
- Reynaud S, Leclercq N, Romaine-Lioud S, Ferrier-Pagès C, Jaubert J & Gattuso J-P, 2003.** Interacting effects of CO<sub>2</sub> partial pressure and temperature on photosynthesis and calcification in a scleractinian coral. *Global Climate Change*. **9 (11)** : 1660-1668
- Richard C, 2006.** Mise au point de la technique de PAM (*Pulse Amplitude Modulation*) fluorimétrie pour la mesure des paramètres photosynthétiques des Scléactiniaires à zooxanthelles. *Thèse du Centre Scientifique de Monaco*. **121p**
- Ries JB, Cohen AL & McCorkle DC, 2009.** Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO<sub>2</sub>-induced ocean acidification. *Geology*. **37** : 1131-1134
- Rinkevich B & Loya Y, 1979.** The reproduction of the Red Sea Coral *Stylophora pistillata*. I- Gonads and planulae. *Marine Ecology Progress Series*. **1** : 133-144
- Rodolfo-Metalpa R, Martin S, Ferrier-Pagès C & Gattuso JP, 2010.** Response of the temperate coral *Cladocora caespitosa* to mid- and long-term exposure to pCO<sub>2</sub> and temperature levels projected in 2100AD. *Biogeosciences*. **7** : 289-300
- Sabdon A, 2009.** Heavy metal levels and their potential toxic effect on coral *Galaxea fascicularis* from Java Sea, Indonesia. *Research Journal of Environmental Sciences*. **3 (1)** : 96-102
- Saito MA, Moffett JW, Chisholm SW & Waterbury JB, 2002.** Cobalt limitation and uptake in *Prochlorococcus*. *Limnology and Oceanography*. **47 (6)** : 1629-1636
- Schreiber U, Schliwa U & Bilger W, 1986.** Continuous recording of the photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosynthesis research*. **10** : 51-62
- Schreiber U & Bilger W, 1993.** Progress in chlorophyll fluorescence research: major developments during the past year in retrospect. *Progress in Botany*. **54** : 151-173
- Solomon S et al., IPCC, Climate Change 2007 : The Physical Science Basis.** Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Eds. (Cambridge Univ. Press, Cambridge, UK, and New York)
- Sunda WG & Huntsman SA, 1995.** Cobalt and zinc interreplacement in marine phytoplankton : Biological and geochemical implications. *Limnology and Oceanography*. **40 (8)** : 1404-1417
- Tambutté E, Allemand D, Bourge I, Gattuso JP & Jaubert J, 1995.** An improved <sup>45</sup>Ca protocol for investigating physiological mechanisms in coral calcification. *Marine Biology*. **122** : 453-459

- Tréguer P & LeCorre P, 1975.** Manuel d'analyse des sels nutritifs dans l'eau de mer. Utilisation de l'Auto-Analyser II Technicon. LOC-UBO, Brest, 2<sup>nd</sup> édition.
- Venn A, Tambutté E, Holcomba M, Laurenta J, Allemand D & Tambutté S, 2012.** Impact of seawater acidification on pH at the tissue–skeleton interface and calcification in reef corals. *PNAS*. **110 (5)** : 1634-1639
- Vosburgh F, 1982.** *Acropora reticulata* : Structure, mechanics and ecology of a reef coral. *Proceedings of the Royal Society B*. **214** : 481-499
- Wallace CC, 1985.** Reproduction, recruitment and fragmentation in nine sympatric species of the coral genus *Acropora*. *Marine Biology*. **88 (3)** : 217-233
- Wallace CC, 1999.** Staghorn corals of the world : a revision of the Genus *Acropora*. CSIRO Publishing Collingwood, Victoria, Australia. **438 p.**
- Wantiez L, 2008.** Les récifs coralliens de Nouvelle-Calédonie en 2006 : États des lieux et réseau de suivi. *Revue Écologie (La Terre et la Vie)*. **63** : 117-132
- Warnau M, Teyssié JL & Fowler SW, 1996.** Biokinetics of selected heavy metals and radionuclides in the common Mediterranean echinoid *Paracentrotus lividus* : seawater and food exposures. *Marine Ecology Progress Series*. **141** : 83-94
- Warner ME, Fitt WK & Schmidt GW, 1996.** The effect of elevated temperature on the photosynthetic efficiency of zooxanthellae *in hospite* from four different species of reef coral : a novel approach. *Plant, Celle and Environ*. **19** : 291-299
- Warren MJ, Raux E, Schubert HL & Escalante-Semerena JC, 2002.** The biosynthesis of adenosylcobalamin (vitamin B<sub>12</sub>). *Natural Product Report*. **19** : 390-412
- Whicker FW & Schultz V, 1982.** Radioecology : nuclear energy and the environment. *CRC Press*, Boca Raton, **440p**

## ANNEXE I

Tableau II : Concentrations en métaux dissous (cobalt, cuivre, fer manganèse et nickel) en  $\mu\text{g.l}^{-1}$  à différentes stations situées dans le sud et le sud-ouest du lagon de Nouvelle-Calédonie d'après Moreton *et al.* (2008)

Sampling location	Co	Cu	Fe	Mn	Ni
1 Grande Rade (end of bay) (n = 7)	0.09-0.13	0.08-0.17	0.12-0.20	1.44-2.01	3.29-4.35
2 Grand rade transect (n = 4)	0.028-0.109	0.02-0.13	0.13-0.16	0.38-1.74	0.57-3.98
3 Anse Vata (r = 21)	0.035 ± 0.007	0.06 ± 0.01	0.22 ± 0.06	1.32 ± 0.12	1.00 ± 0.04
4 Port Moselle (r = 9)	0.20 ± 0.02	1.63 ± 0.04	0.57 ± 0.05	2.53 ± 0.03	2.08 ± 0.01
5 Baie de St Vincent (n = 10)	0.04-0.09	0.02-0.25	0.71-2.65	0.94-2.48	1.95-7.10
6 Dumbea Bay (n = 10)	0.01-0.04	0.03-0.19	0.23-1.41	0.32-2.32	0.13-4.52
7 Boulari Bay (n = 10)	0.03-0.07	0.03-0.30	0.24-1.38	0.29-0.83	0.95-3.92
8 Canal de la Havannah (n = 6)	0.025-0.033	0.05-0.15	0.08-0.18	0.13-0.24	0.18-0.26
9 Reserve Merlet (n = 2)	< QL-0.009	0.07-0.07	0.09-0.10	0.09-0.11	0.09-0.10
10 Bay de Prony (n = 4)	0.058-0.082	0.08-0.09	0.05-0.10	0.25-0.43	0.44-0.54
11 Baie de Prony interstitial water (n = 10)	5.64-59.28	0.25-1.24	5.2-25.4	443-1964	6.6-37.4
12 La Coulée River (n = 3)	0.069-0.072	< QL	0.07-0.15	2.10-2.50	8.93-10.65
13 Dumbea River (n = 3)	0.011-0.018	< QL	0.14-0.17	0.66-0.86	5.63-7.05
14 La Tontouta River (n = 3)	0.012-0.023	< QL	0.05-0.06	1.17-1.68	1.92-2.12
15 Middle lagoon (n = 3)	< QL	< QL	0.17 ± 0.04	0.13 ± 0.02	0.15 ± 0.02
16 Outside Barrier reef (n = 3)	< QL	< QL	0.03 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.09 ± 0.02

n = number of sampling stations, n = number of replicate samples collected from the same location on different days and r = number of replicates, < QL = less than quantification limit.

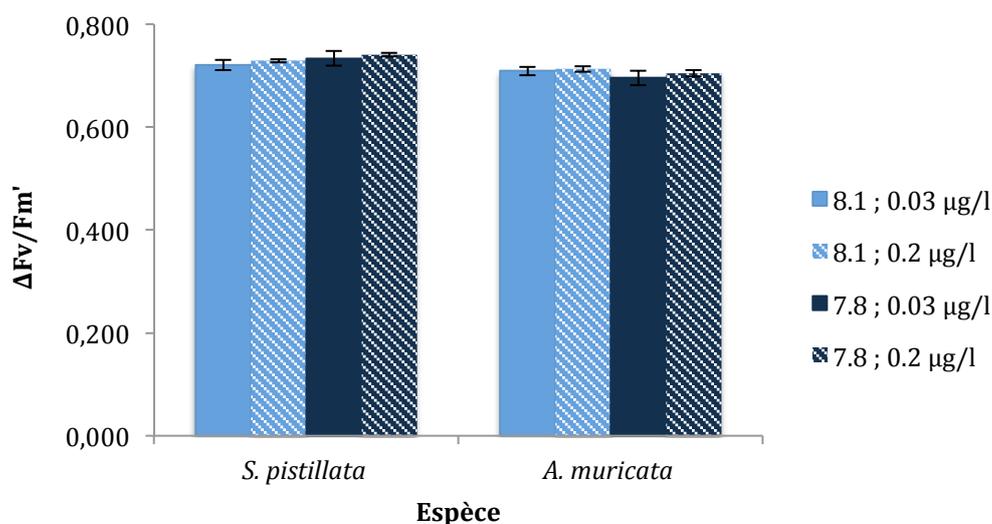


Figure 11 :  $\Delta\text{Fv}/\text{Fm}'$  à  $T_0 + 3$  semaines pour chaque espèce et chaque condition expérimentale (moyenne ± SE, N = 5)

## ANNEXE II

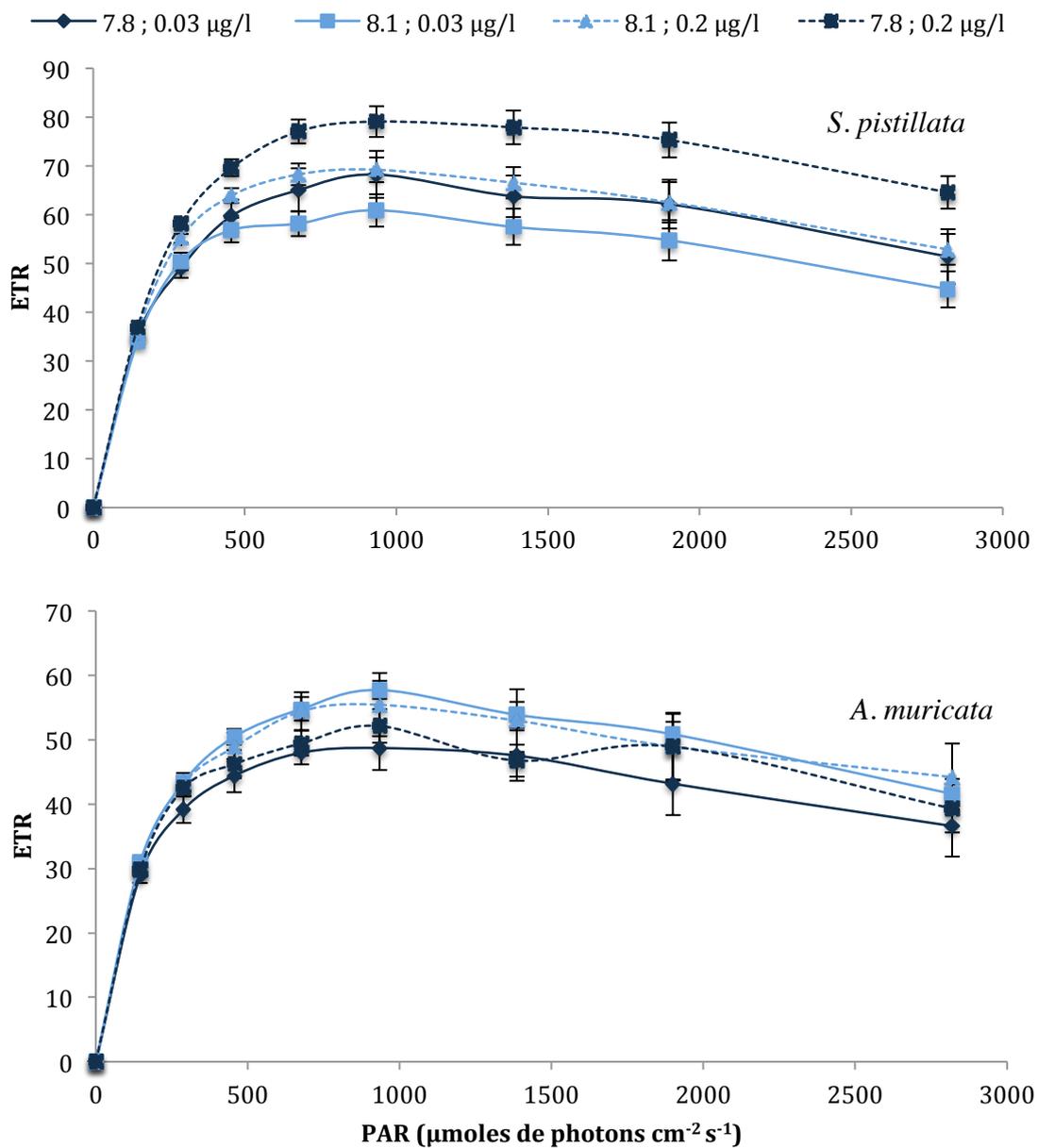


Figure 12 : Taux de transport d'électrons en fonction d'intensité lumineuse croissante à  $T_0 + 3$  semaines. (Moyenne  $\pm$  SE, N = 5)

## ANNEXE III

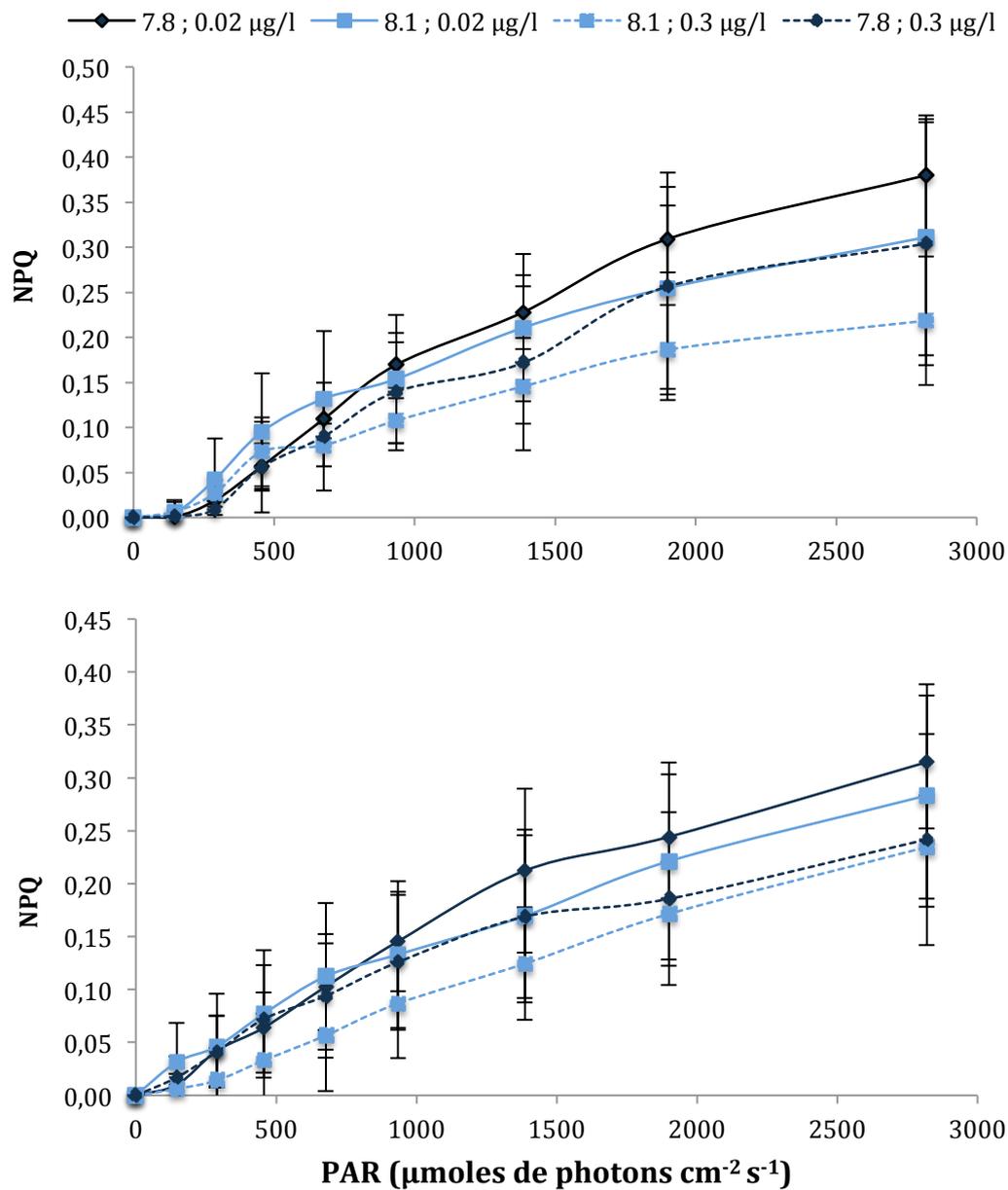


Figure 13 : Évolution du NPQ en fonction d'intensité lumineuse croissante à T<sub>0</sub> + 5 semaines. (Moyenne ± SE. N = 5)

BISCÉRÉ T., 2013. *Effet de l'acidification des océans et de concentrations plus élevées en cobalt sur la croissance et l'efficacité photosynthétique de deux espèces de coraux*. Master 2, Institut Universitaire Européen de la Mer – Institut de Recherche pour le Développement.

## RÉSUMÉ

---

Le but de cette étude était de déterminer les effets d'un enrichissement en cobalt combiné à une augmentation de la  $p\text{CO}_2$  sur la physiologie de deux espèces de coraux scléactiniaires de Calédonie, *Stylophora pistillata* et *Acropora muricata*. Les colonies de ces deux espèces ont été maintenues sous deux conditions de  $\text{pH}_T$  :  $\text{pH}_T$  normal (8.02) et plus faible (7.75) et deux concentrations en cobalt ( $0.03 \mu\text{g.l}^{-1}$  et  $0.20 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) durant cinq semaines. Au cours du temps, différents paramètres physiologiques des colonies coralliennes ont été suivis : leur efficacité photosynthétique grâce à un diving-PAM fluorimètre, leur croissance et leurs paramètres tissulaires (concentration en chlorophylle et densité en zooxanthelles). Les coraux exposés à une concentration plus élevée en cobalt ont diminué significativement leur croissance (de 27.9% pour *S. pistillata* et 28.2% pour *A. muricata*). Les valeurs d' $\text{ETR}_{\text{max}}$  des deux espèces ont, au contraire, été augmentées par l'apport en cobalt (de  $44.34 \pm 2.14$  à  $58.11 \pm 6.31$  pour *S. pistillata*, et de  $45.42 \pm 5.08$  à  $56.48 \pm 3.67$  pour *A. muricata*). La croissance des deux espèces n'a par contre pas été modifiée par des conditions de  $\text{pH}_T$  plus faible. Ces résultats montrent que le cobalt à cette concentration serait toxique pour la cellule hôte, mais pas pour les symbiontes pour lesquels il jouerait même un rôle stimulateur. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer les effets antagonistes de ce métal sur le métabolisme de ces deux espèces.

**Mots-clés** : coraux – cobalt – acidification – croissance – efficacité photosynthétique

## ABSTRACT

---

The purpose of this study was to determine whether a cobalt enrichment combined with a  $p\text{CO}_2$  increase affects the physiology of two scleractinian corals species, *Stylophora pistillata* and *Acropora muricata*. Colonies were maintained under two  $\text{pH}_T$  conditions: normal  $\text{pH}_T$  (8.02) and lower  $\text{pH}_T$  (7.75) and two cobalt concentrations ( $0.03 \mu\text{g.l}^{-1}$  and  $0.20 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) for five weeks. Several physiological parameters were followed during this period : photosynthetic efficiency with a DIVING-PAM fluorometer, growth rate and tissue parameters (chlorophyll concentration and zooxanthellae density). Corals exposed at a higher cobalt concentration have decreased significantly their growth rate (27.9% for *S. pistillata* and 28.2% for *A. muricata*). However  $\text{ETR}_{\text{max}}$  values of these two species have been stimulated by the cobalt input (from  $44.34 \pm 2.14$  to  $58.11 \pm 6.31$  for *S. pistillata*, and from  $45.42 \pm 5.08$  to  $56.48 \pm 3.67$  for *A. muricata*). Growth rates of both species were not affected by lower  $\text{pH}_T$  conditions. Our results suggest that cobalt would be toxic for the host cells, but not for the symbionts, for which it could even play a stimulating role. Several hypotheses have been proposed to explain antagonist effects of this metal on the coral metabolism.

**Key words** : corals – cobalt – acidification – growth rate – photosynthetic efficiency