

## Analyse des processus de photoacclimation chez le corail symbiotique *Stylophora pistillata*.

**Auteur :** Bomhals, Julie

**Promoteur(s) :** Plumier, Jean-Christophe; Roberty, Stéphane

**Faculté :** Faculté des Sciences

**Diplôme :** Master en biologie des organismes et écologie, à finalité approfondie

**Année académique :** 2019-2020

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/9829>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

Université de Liège  
Faculté des Sciences  
Département Biologie, Ecologie, Evolution

## Analyse des processus de photoacclimatation chez le corail symbiotique *Stylophora pistillata*



BOMHALS Julie

Mémoire réalisé dans le cadre de l'obtention du diplôme de master en  
Biologie des Organismes et Ecologie, à finalité approfondie

Août 2020

Promoteurs :  
Prof. Jean-Christophe PLUMIER  
Dr. Stéphane ROBERTY

Laboratoire de physiologie animale  
Unité de recherche InBioS - PhytoSYSTEMS



## Table des matières

<b>REMERCIEMENTS .....</b>	1
<b>ABRÉVIATIONS COURANTES.....</b>	2
<b>Chapitre 1 – Introduction .....</b>	3
<b>1.1    Récifs coralliens .....</b>	3
<b>1.2    Symbiose corallienne.....</b>	4
<b>1.3    Phénomène de blanchissement .....</b>	5
<b>1.3.1    Définition .....</b>	5
<b>1.3.2    Causes et conséquences.....</b>	6
<b>1.3.3    Mécanismes menant au blanchissement corallien .....</b>	6
<b>1.4    Distribution des récifs coralliens .....</b>	7
<b>1.4.1    Distribution géographique des récifs .....</b>	7
<b>1.4.2    Distribution verticale des récifs.....</b>	9
<b>1.4.3    Ecosystèmes des coraux mésophotiques .....</b>	10
<b>1.5    Photosynthèse et mécanismes d’acclimatation à la lumière.....</b>	11
<b>1.5.1    La photosynthèse .....</b>	11
<b>1.5.2    Mécanismes de photoacclimatation .....</b>	12
<b>1.5.3    Importance des voies alternatives de transport d’électrons lors de la photosynthèse</b>	14
<b>1.6    Objectifs .....</b>	16
<b>Chapitre 2 – Matériel et méthodes .....</b>	18
<b>2.1    Matériel biologique et échantillonnage.....</b>	18
<b>2.1.1    Isolement des Symbiodiniaceae .....</b>	19
<b>2.1.2    Estimation de la surface des fragments .....</b>	19
<b>2.2    Analyses pigmentaires.....</b>	20
<b>2.2.1    Détermination du contenu en chlorophylles par spectrophotométrie.....</b>	20
<b>2.2.2    Détermination du contenu pigmentaire par HPLC.....</b>	20
<b>2.3    Analyses des Symbiodiniaceae.....</b>	22
<b>2.3.1    Densité et taille des cellules .....</b>	22
<b>2.3.2    Identification génétique des Symbiodiniaceae .....</b>	22
<b>2.4    Mesures de fluorescence et P700 .....</b>	24
<b>2.4.1    Mesure de la fluorescence chlorophyllienne .....</b>	24
<b>2.4.2    Absorbance de la chlorophylle P700 .....</b>	25
<b>2.4.3    Transport relatif d’électrons et rendement d’extinction non-photochimique .....</b>	25
<b>2.4.4    Flux cyclique d’électrons .....</b>	26
<b>2.5    Mesures de la photosynthèse et de la respiration .....</b>	26
<b>2.6    Analyses statistiques et présentation des données .....</b>	27

<b>Chapitre 3 – Résultats.....</b>	28
<b>3.1    Description morphologique des colonies et densité en polytes .....</b>	28
<b>3.2    Biomasse cellulaire et diversité génétique .....</b>	29
3.2.1    Densité en Symbiodiniaceae et taille des cellules.....	29
3.2.2    Diversité génétique des Symbiodiniaceae.....	30
<b>3.3    Analyses pigmentaires.....</b>	31
3.3.1    Concentrations pigmentaires .....	31
<b>3.4    Activité photosynthétique.....</b>	33
3.4.1    Rapport Fv/Fm.....	33
3.4.2    Transport relatif d'électrons au niveau des PSII et PSI.....	34
3.4.3    Mécanismes de dissipation d'énergie sous forme de chaleur .....	35
<b>3.5    Mesures de la respiration et de la photosynthèse par dégagement d'oxygène .....</b>	38
3.5.1    Courbe de saturation de la photosynthèse (photosynthèse nette).....	38
3.5.2    Photosynthèse brute .....	39
<b>3.6    Voies alternatives de transport d'électrons .....</b>	40
3.6.1    Relation PSII/PSI et flux cyclique d'électrons .....	40
3.6.2    Relation Pnet-rETR <sub>PSII</sub> .....	41
<b>Chapitre 4 – Discussion.....</b>	43
<b>Chapitre 5 – Conclusion et perspectives.....</b>	50
<b>BIBLIOGRAPHIE .....</b>	52
<b>ANNEXES .....</b>	59
<b>RESUME.....</b>	64

## REMERCIEMENTS

Je souhaite avant tout sincèrement remercier mes promoteur et co-promoteur, Jean-Christophe Plumier et Stéphane Roberty, d'avoir rendu ce mémoire possible et pour toute l'aide qu'ils ont pu m'apporter durant ces 6 mois. Merci à vous, pour votre disponibilité, votre temps et vos conseils tant au labo que par mail ou encore, lors de nos sessions Skype. Je vous remercie également pour l'accueil chaleureux au laboratoire, les semaines que j'y ai passées n'auront malheureusement pas été nombreuses mais tout de même enrichissantes !

Je tiens aussi à remercier Maud, Chloé et Noémie de m'avoir aidée à me familiariser avec le labo, les différentes techniques et appareils de mesures utilisés les premières semaines et d'avoir rendu l'ambiance de travail agréable (tout en restant sérieuse !).

Je remercie aussi mes amies et « collègues » de master, Marion, Mélanie et Justine pour le soutien et l'écoute que nous nous sommes mutuellement apportés durant cette période. Et Julien, pour ses encouragements, sa présence et ses paroles réconfortantes.

Enfin je remercie mes parents, sans qui tout cela n'aurait pas été possible, de m'avoir permis de faire ces belles années études mais aussi de m'avoir fait confiance, d'avoir été à l'écoute et de bons conseils quand cela était nécessaire !

## ABRÉVIATIONS COURANTES

ROS : « Reactive Oxygen Species » ; Espèce réactive de l'oxygène

AEF : « Alternative electron flows » ; Voies alternatives de transport d'électrons

CEF : « Cyclic electron flow » ; Flux cyclique d'électrons

NPQ : « Non-Photochemical Quenching » ; Rendement d'extinction non-photochimique

PSI-PSII : Photosystèmes I et II

$\varphi_{\text{PSII}}$  : Rendement quantique effectif du PSII

$r\text{ETR}_{\text{PSII}}$  et  $r\text{ETR}_{\text{PSI}}$  : Transports relatifs d'électrons au niveau des photosystèmes I et II

PPFD : « Photosynthetic Photon Flux Density » ( $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) ; Intensité lumineuse dont le spectre est compris entre 400 et 700 nm

# Chapitre 1 – Introduction

## 1.1 Récifs coralliens

Les récifs coralliens constituent un des écosystèmes les plus productifs et diversifiés en termes d'espèces sur Terre (Allsopp et al., 2008; Moberg and Folke, 1999). Ils couvrent une surface estimée de 284.300 km<sup>2</sup> correspondant environ à moins de 0,1 % de la surface des fonds marins (Spalding, 2001). En plus d'être productifs et diversifiés, ils sont importants pour les 600 000 à 9 millions d'espèces qui leur sont associées (Knowlton, 2001). Ils fournissent divers services écosystémiques tels que l'approvisionnement en nourriture, la protection des côtes, mais ont aussi une valeur récréative et culturelle et suscitent un intérêt croissant pour l'industrie pharmaceutique (Moberg and Folke, 1999).

Les récifs sont majoritairement constitués de coraux durs appartenant à l'ordre des scléractiniaires. Ces cnidaires sont à l'origine des structures de carbonate de calcium formant les récifs coralliens (Sheppard et al., 2017). Une grande partie de ceux-ci sont hermatypiques et vivent en symbiose avec des algues (dinoflagellés) communément appelées zooxanthelles de la famille des Symbiodiniaceae, des genres *Breviolum*, *Cladocopium*, *Durusdinum* et

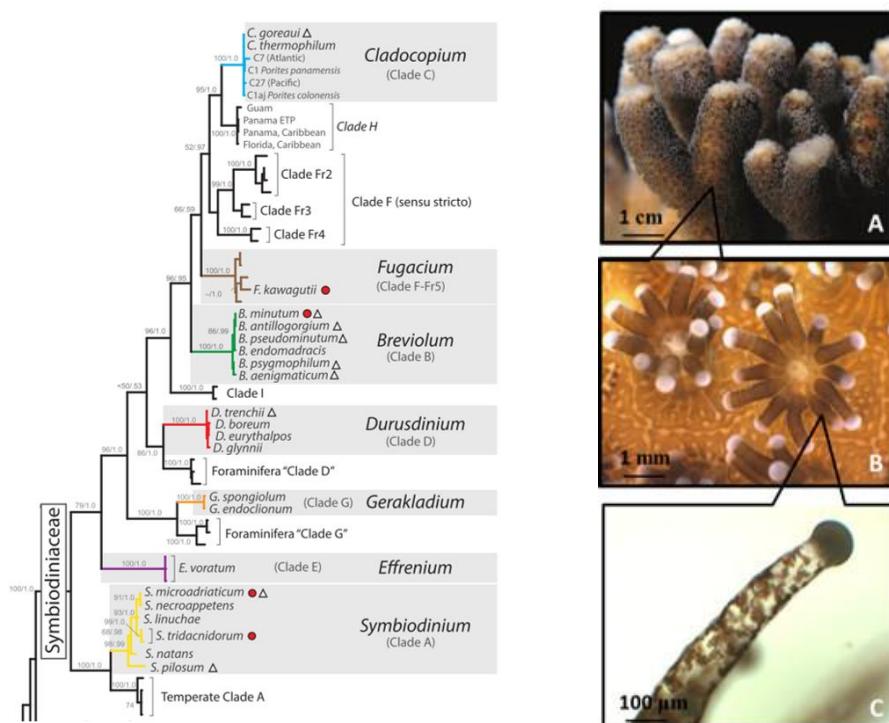


Figure 1 : Gauche : Proposition de nouveaux genres pour la famille des Symbiodiniaceae. (LaJeunesse et al., 2018). Droite : A) Colonie de *Stylophora pistillata*. B) Polype de *S. pistillata*. C) Tentacule contenant des Symbiodiniaceae (zooxanthelles). (Encyclopedie-environnement.org)

*Symbiodinium*. Les Symbiodiniaceae forment aujourd’hui une famille (Fig. 1) qui regroupe plusieurs genres d’algues encore considérées, il y a peu, comme différents clades de *Symbiodinium* sp. (clades A, B, C et D notamment) (Mansfield and Gilmore, 2019). Ces clades se distinguent entre autres par leur spécificité vis-à-vis de certains hôtes et leur capacité à tolérer des conditions environnementales variables ou de stress (Smith et al., 2005). De nombreuses études récentes ont cependant démontré qu’il existait des variations physiologiques inter et intraspécifiques chez les Symbiodiniaceae qui peuvent dépendre de l’environnement (Warner and Suggett, 2016). Il faut donc rester très prudent lorsqu’on associe des capacités d’adaptation et d’acclimatation particulières à un genre/espèce de Symbiodiniaceae.

Les coraux ne sont pas les seuls à avoir mis en place ce type de symbiose, d’autres cnidaires (méduses, anémones) ainsi que des spongiaires, foraminifères et autres groupes d’organismes vivant dans des milieux oligotrophes profitent de ce mode de vie.

## 1.2 Symbiose corallienne

Les coraux sont considérés comme étant « polytrophes » en raison de leur capacité à se nourrir de manière hétérotrophe et autotrophe grâce aux produits photosynthétiques fournis par leurs zooxanthelles (Sheppard et al., 2017). Ils se nourrissent en plus ou moins grande proportion de zooplancton (copépodes, larves et œufs d’autres organismes) et de matières organiques dissoutes (MOD) grâce à leurs tentacules pourvus de nématocystes et leur mucus capable d’emmagasiner des MOD (carbohydrates, urée, acides aminés libres) ainsi que des proies de petites tailles (bactéries, flagellés et ciliés) (Houlbreque and Ferrier-Pages, 2009). Bien que l’apport autotrophe puisse fournir jusqu’à 95% des besoins énergétiques de l’hôte (Yellowlees et al., 2008), l’apport hétérotrophe procure d’autres nutriments essentiels (azote et phosphore) que les symbiontes ne peuvent fournir. De plus, il pourrait permettre de compenser des approvisionnements autotrophes plus faibles la nuit, à de plus grandes profondeurs où la luminosité est moindre, lors des saisons moins favorables à la photosynthèse ou encore lors de conditions de stress (Houlbreque and Ferrier-Pages, 2009).

La symbiose entre les Symbiodiniaceae et les scléractiniaires repose sur des échanges mutuels de composés nécessaires à leur métabolisme. Les Symbiodiniaceae obtiennent de cette association des nutriments (composés azotés et phosphorés), du CO<sub>2</sub>, un positionnement vis-à-vis de la lumière favorable à la photosynthèse ainsi qu’un environnement stable et protégé

au sein des tissus du cnidaire. Le scléractiniaire profite, lui, des produits issus de la photosynthèse (glucose, glycérol, acides aminés et acides gras) ainsi que de l'O<sub>2</sub>, essentiels à la respiration, la croissance et la reproduction (Davy et al., 2012; Muscatine, 1990; Roth, 2014). La translocation des composés photosynthétiques vers l'hôte impliquerait des facteurs de translocation appelés « Host Releasing Factors » (HRFs) qui forceraient les symbiontes à céder une partie de ces produits voire même, dans certains cas, à en synthétiser davantage (Sheppard et al., 2017; Yellowlees et al., 2008). De plus, l'énergie fournie par la photosynthèse des microalgues faciliterait la calcification (Jokiel, 2011).

Cependant, l'équilibre établi entre les deux organismes peut être perturbé par des facteurs environnementaux et/ou anthropiques menant au phénomène de blanchissement corallien (Weis, 2008).

### 1.3 Phénomène de blanchissement

#### 1.3.1 Définition

Le blanchissement peut être défini comme étant la rupture de la symbiose entre un organisme (polypes, méduses, anémones, éponges, plathelminthes, bivalves, ...) et ses symbiontes photosynthétiques (le plus souvent appartenant à la famille des Symbiodiniaceae) à la suite d'un stress (Douglas, 2003; Weis, 2008). Le blanchissement (Fig. 2) observé chez les coraux peut être dû à une perte/expulsion des algues unicellulaires ou à une dégradation de leurs pigments, ce qui rend le tissu animal transparent et laisse apparaître le squelette de carbonate de calcium.

Ce phénomène est observé depuis des décennies, à échelle locale, ne touchant que de petites zones des récifs. Depuis les années 80, les événements sont devenus plus fréquents et



Figure 2 : Photos représentant de gauche à droite du corail vivant, blanchi et mort (recouvert d'algues) (Reef-world.org)

touchent des portions plus grandes de récifs voire, des récifs entiers (blanchissement de masse)(van Oppen, 2018).

### 1.3.2 Causes et conséquences

Différentes causes environnementales et anthropiques ont été identifiées comme étant responsables à plus ou moins grande échelle du blanchissement corallien. Les scléractiniaires composants les récifs sont particulièrement sensibles aux variations de température, de salinité, aux hautes intensités de rayonnements visible et ultraviolet, mais aussi à l'augmentation de la sédimentation, des nutriments et des polluants comme les métaux lourds (Weis, 2008) ou encore des produits émanant de certaines techniques de pêche (van Oppen, 2018). Aujourd'hui, il est accepté que les évènements de blanchissement de masse soient causés par la hausse des températures des eaux de surface associée à de plus fortes radiations solaires sur le long-terme, parfois renforcés par les épisodes El-Niño. De plus, des coraux affaiblis par l'un de ces facteurs sont moins susceptibles de résister à d'autres facteurs biotiques locaux comme les pathogènes et les maladies (Douglas, 2003).

Les endosymbiontes fournissant environ 90% des besoins en carbone et 30% en azote de l'hôte, le blanchissement a un impact direct sur la croissance et la survie de ce dernier (McClanahan et al., 2018). La conséquence de ce phénomène à long terme résulte en un changement dans la composition d'espèces peuplant les récifs. Les coraux « ramifiés » moins résistants vont laisser place à des structures plus planes et massives, changeant la structure des communautés qui y vivent (Dias et al., 2019).

### 1.3.3 Mécanismes menant au blanchissement corallien

Parmi les mécanismes menant au blanchissement corallien, ceux liés à un dysfonctionnement photosynthétique semblent être particulièrement importants lors de conditions extrêmes de température et de rayonnement solaire. En effet, dans ces conditions, un excès d'énergie qui ne peut être dissipé (par des mécanismes repris dans la section 5.2.) peut mener à une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et endommager plusieurs composants de l'appareil photosynthétique (Weis, 2008). Lors de la photosynthèse et de la respiration, des ROS ( ${}^1\text{O}_2$ ,  $\text{O}_2^-$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$  et  $\text{OH}^-$ ) sont continuellement produites et rapidement prises en charge par les mécanismes antioxydants afin d'en limiter les effets négatifs (Apel and Hirt, 2004). En

condition de stress, elles sont produites en excès et ne peuvent être détoxifiées efficacement par les mécanismes naturellement présents dans les cellules algales.

Les mécanismes antioxydants comprennent des processus enzymatiques (catalase (CAT), superoxyde dismutase (SOD), ascorbate peroxidase (APX)) et non-enzymatiques (GSH, tocophérol, caroténoïdes, MAAs)(Apel and Hirt, 2004; Roberty et al., 2016). Le stress oxydant se produit lorsque ces mécanismes de défense sont dépassés et que les ROS provoquent des dégâts au niveau des lipides, protéines ou encore de l'ADN des cellules dans lesquelles ces substances sont générées (Lesser, 2006).

## 1.4 Distribution des récifs coralliens

### 1.4.1 Distribution géographique des récifs

La distribution des récifs coralliens est déterminée par un certain nombre de facteurs physico-chimiques et environnementaux qui vont limiter la distribution des coraux hermatypiques aux eaux peu profondes entre les tropiques du Cancer et du Capricorne (Fig. 3), avec une répartition plus concentrée dans la région Indo-pacifique qui comprendrait 91% de la surface récifale mondiale (Spalding, 2001).

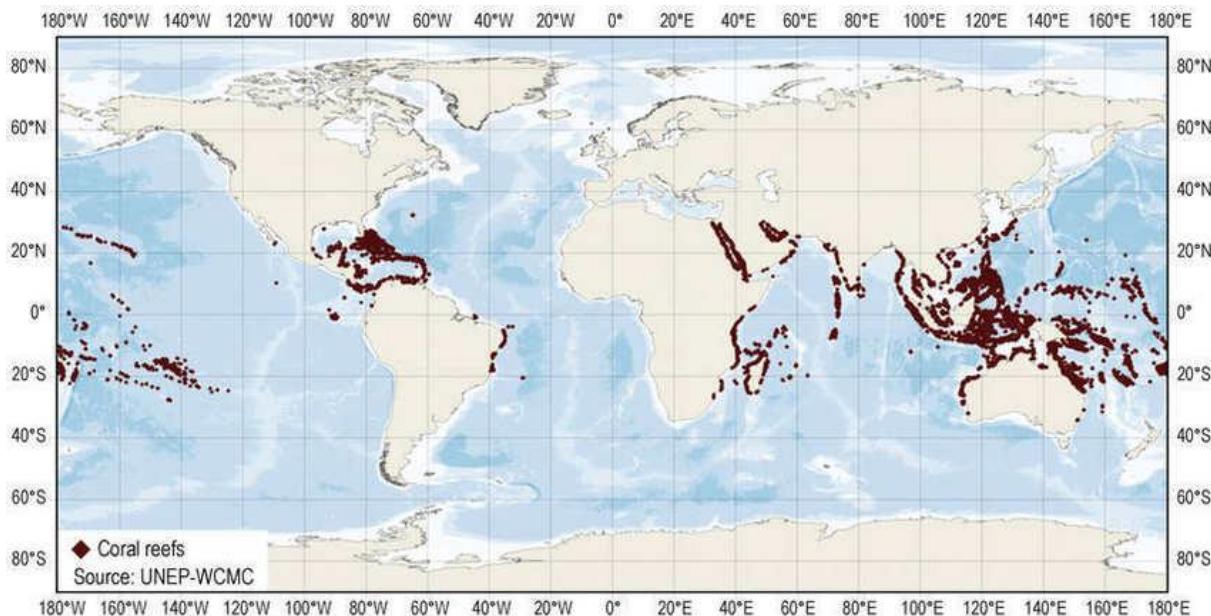


Figure 3 : Distribution géographique des récifs coralliens. (UNEP-WCWC)

### Répartition de la diversité des espèces corallienes

La répartition actuelle des récifs coralliens en deux grandes régions distinctes (Indo-pacifique et Atlantique) résulte à la fois de facteurs historiques et contemporains. La différence de

diversité entre ces deux régions en termes d'espèces et de nombres d'espèces s'explique d'une part par les mouvements des continents lors du Miocène. Ceux-ci ont mené à la fermeture de la mer de Téthys et à la séparation des océans Indien et Pacifique (ouest) des océans Atlantique et Pacifique (est), laissant donc les espèces de ces deux régions se diversifier et développer leurs propres caractéristiques. D'autre part, la plus faible diversité en Atlantique s'explique par le fait que ces récifs ont été plus impactés par les phénomènes de glaciation du Pliocène/Pléistocène. Ils comptent moins d'espèces que ceux de l'Indo-Pacifique qui ont toujours vécu dans des conditions climatiques plus stables (Sheppard et al., 2017; Spalding, 2001).

#### *Facteurs abiotiques et conditions physico-chimiques requises*

La présence des coraux dans la zone intertropicale est régulée par divers paramètres tels que la salinité, la température, la disponibilité en nutriments et composés essentiels, la qualité de l'eau et enfin la lumière, tant en quantité qu'en qualité (Hoegh-Guldberg, 2005; Sheppard et al., 2017). Ces facteurs sont la plupart du temps mutuellement liés et agissent ensemble sur les coraux et leurs aires de répartition.

La plupart des coraux vivent dans des zones modérément concentrées en sel (32-40 PSU). Leur capacité osmo-régulatrice limitée les rend sensibles aux fortes variations de salinité, pouvant impacter à la fois leur métabolisme (modification de l'activité photosynthétique) et leurs tissus (Downs et al., 2009; Sheppard et al., 2017). Les coraux se développent habituellement dans des eaux possédant des minima de 21°C, des maxima de 29,5°C et de faibles concentrations en nutriments (0,6 et 0,2 µM). Ce dernier facteur est essentiel car dans ces conditions, les algues et le phytoplancton ne se développent que très peu et n'entrent donc pas en compétition avec les coraux pour la lumière. Les scléractiniaires bâtisseurs de récifs sont caractérisés par leur capacité à précipiter le carbonate de calcium ( $\text{CaCO}_3$ ) pour former leur squelette et croître, en grande partie grâce à l'énergie fournie par la photosynthèse de leurs microalgues. Le taux de saturation des eaux en aragonite ( $\text{CaCO}_3$  enrichi en certains éléments traces (Sr, Zn)), est donc tout aussi déterminant que les facteurs précédents dans l'explication de la distribution des récifs coralliens qui se développent particulièrement bien dans des eaux riches en aragonite ( $\Omega_{\text{arag}}$  entre 3,5 et 4,0). Ce dernier paramètre varie avec la température et diminue de l'équateur vers les latitudes plus élevées où les récifs coralliens sont moins nombreux et plus acclimatés à des conditions de saturations faibles (Sheppard et

al., 2017). La qualité de l'eau joue aussi un rôle capital car elle affecte directement la propagation de la lumière dans l'eau. Elle est caractérisée par la présence de polluants, de fertilisants, de sédiments, de toxines et de pathogènes principalement rejetés aux niveaux des côtes. Ces composés en plus de nuire directement aux coraux, peuvent affecter la turbidité de l'eau et limiter la propagation des rayons lumineux dans la colonne d'eau (Hoegh-Guldberg et al., 2007; Spalding, 2001).

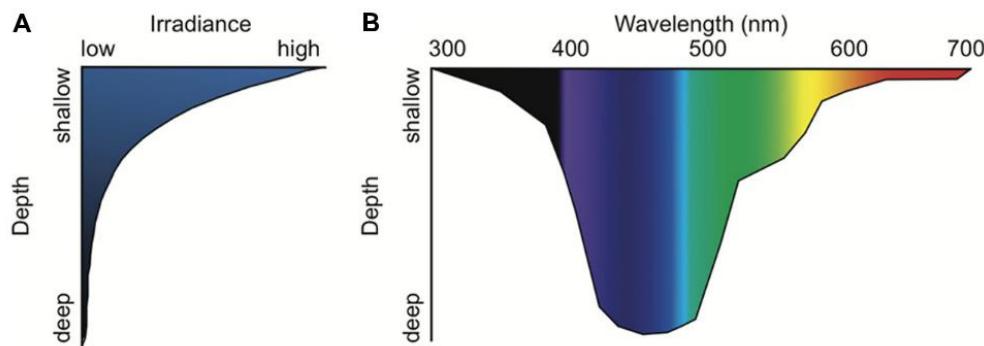
La lumière est l'élément clé à la base de la symbiose entre les Symbiodiniaceae et les scléractiniaires. En effet, la quantité de lumière disponible pour la photosynthèse affecte directement le taux de fixation de carbone, la croissance et la calcification des coraux hermatypiques (Sheppard et al., 2017). Afin de maintenir ces hauts taux de productivité les récifs coralliens sont plutôt limités aux faibles profondeurs où la quantité de rayonnement actif pour la photosynthèse (PAR : Photosynthetically Active Radiation ; 400-700 nm) est largement suffisante. La fraction de lumière transmise dépend de plusieurs facteurs tels que les conditions atmosphériques (nébulosité), les variations saisonnières, l'angle d'incidence des rayons lumineux et l'agitation des eaux de surface causée par les vagues (Kahng et al., 2017).

#### 1.4.2 Distribution verticale des récifs

Dès lors, la qualité de l'eau et la lumière s'avèrent être les facteurs principaux qui expliquent la distribution des récifs coralliens en profondeur (Sheppard et al., 2017). Bien que certains coraux puissent vivre très profondément, les structures récifales se retrouvent généralement proches de la surface jusqu'à des profondeurs de 30-50 m voire 60-75 m selon la clarté de l'eau (Roth, 2014; Sheppard et al., 2017).

La lumière disponible pour la photosynthèse décroît exponentiellement avec la profondeur, de même que le spectre se rétrécit (Fig. 4). Cette atténuation du rayonnement lumineux ( $K_d$ ) est directement proportionnelle à la clarté de l'eau qui est fonction de la quantité de matières dissoutes. Les eaux tropicales claires où se situent les récifs les plus profonds sont caractérisées par des valeurs de  $K_d$  de 0,03-0,04 m alors que les eaux côtières soumises à des conditions hydrodynamiques plus fortes (resuspension continue de matière et apports des rivières) voient ces valeurs de  $K_d$  grimper jusque 0,15 et 0,30 m dans les eaux tempérées (Kahng et al., 2017; Sheppard et al., 2017).

Les longueurs d'ondes composant la partie UV-visible du spectre lumineux ont des propriétés d'atténuation différentes et ne sont pas absorbées équitablement par la matière organique et les micro-organismes, ce qui explique que le spectre en profondeur soit totalement différent de celui retrouvé en surface. Les rayons ultraviolets (200-400 nm) et la lumière rouge (620-740 nm) étant absorbés très rapidement, la lumière bleue (400-500 nm) prédomine en profondeur (Fig. 4B) (Roth, 2014).



*Figure 4 : A) Graphe représentant l'intensité lumineuse en fonction de la profondeur. B) Atténuation du spectre lumineux en fonction de la profondeur, où les rayonnements bleus sont ceux qui pénètrent le plus en profondeur. (Roth, 2014)*

Cette distribution verticale due à l'atténuation lumineuse implique donc que les coraux et leurs symbiontes s'adaptent non seulement à l'intensité lumineuse reçue mais aussi à la largeur du spectre lumineux auquel ils sont soumis (Kahng et al., 2017).

#### 1.4.3 Ecosystèmes des coraux mésophotiques

En raison du gradient de luminosité important qui s'établit avec la profondeur, les zones où l'intensité lumineuse pour la photosynthèse est optimale sont distinguées de celles où les rayons lumineux sont fortement atténués par la profondeur et la qualité de l'eau. Ces dernières sont généralement retrouvées entre 30 et 100 m de profondeur et sont communément appelées écosystèmes des coraux mésophotiques (MCE : Mesophotic Coral Ecosystems) (Ben-Zvi et al., 2020). Elles sont donc comprises entre les zones dites photiques et peu profondes et la zone aphotique où la lumière pour la photosynthèse n'est plus disponible (Eyal et al., 2019). Ces écosystèmes mésophotiques sont peuplés des mêmes groupes d'organismes que ceux présents près de la surface ainsi que d'organismes qui vivent exclusivement dans ces milieux (Kahng et al., 2017).

En comparaison aux coraux de surface qui sont exposés à des intensités lumineuses pouvant excéder les  $2000 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , les coraux mésophotiques sont, eux, soumis à des

intensités variant de 5 à 100  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$  et à un rétrécissement de spectre autour de 467 nm (bleu) (Ben-Zvi et al., 2020). Ces valeurs, parfois plus de 100 fois inférieures à celles retrouvées en surface vont impliquer des mécanismes d'acclimatation à la lumière (photoacclimatation) de la part des organismes qui y vivent.

## 1.5 Photosynthèse et mécanismes d'acclimatation à la lumière

Les scléractiniaires et les zooxanthelles tirent chacun de nombreux bénéfices de leur symbiose. Dans les eaux oligotrophes, où la lumière est la principale source d'énergie, le bénéfice principal pour les coraux réside dans le fait de pouvoir utiliser des produits issus de la photosynthèse de leurs symbiontes pour soutenir leur métabolisme (Sheppard et al., 2017).

### 1.5.1 La photosynthèse

La photosynthèse convertit le  $\text{CO}_2$  en glucides dans les chloroplastes des organismes photosynthétiques grâce à l'énergie lumineuse. Les chloroplastes sont constitués d'une double membrane renfermant une matrice aqueuse nommée stroma ainsi que des « sacs » de replis membranaires internes appelés thylakoïdes (Staehelin, 1986). C'est dans ces empilements de thylakoïdes que se passent les réactions photochimiques et où l'on retrouve une grande partie des protéines essentielles à la photosynthèse (Taiz and Zeiger, 2002).

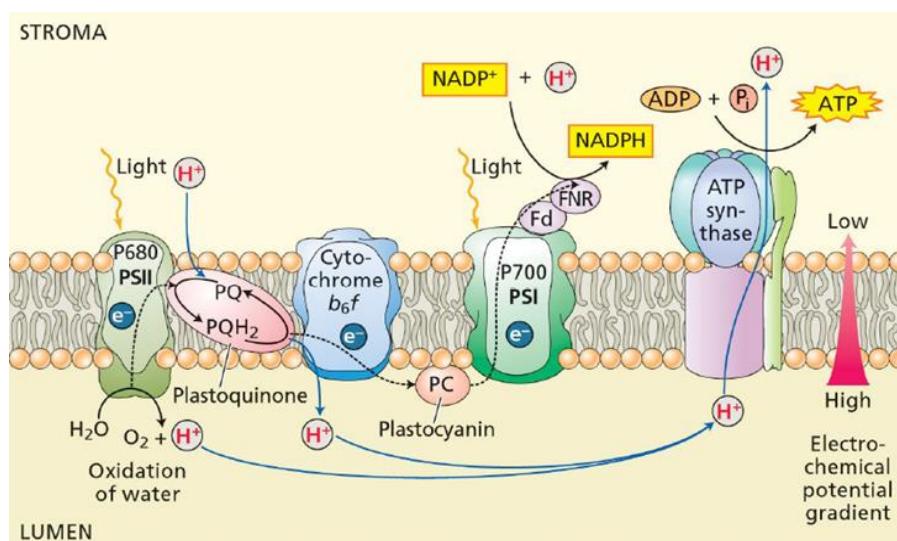


Figure 5 : Schéma des photosystèmes I (P700) et II (P680) ainsi que de la chaîne de transport d'électrons (phase claire de la photosynthèse). Taiz, L., and Zeiger, E. (2002).

La phase claire de la photosynthèse (réactions dépendantes de la lumière) est catalysée par 4 sous-unités protéiques membranaires : le photosystème II (PSII), le cytochrome  $b_6f$ , le photosystème I (PSI) et une pompe ATP-synthase (Fig. 5). Dans ce processus, l'eau est oxydée au niveau des membranes thylakoïdiennes, le NADP<sup>+</sup> est réduit au niveau du PSI et de l'ATP

est finalement synthétisé grâce au gradient de protons généré suite à ces réactions (Nelson and Yocom, 2006). La seconde phase (sombre) non détaillée ici, permet la fixation de carbone grâce à l'énergie produite lors de la phase claire. Les PSI et PSII sont les centres réactionnels impliqués dans les premières étapes de transformation de l'énergie lumineuse en produits biochimiques. Ils sont chacun constitués d'un complexe LHC (Light-Harvesting Complex) qui absorbe l'énergie lumineuse et d'un cœur qui contient des pigments (chlorophylles, caroténoïdes et péricidine) capables de capter la lumière et des cofacteurs nécessaires aux réactions photochimiques et au transfert d'électrons (Nugent, 1996). Le système antennaire LHC du PSII absorbe les photons, les chlorophylles sont excitées (état de triplet) et transmettent rapidement leur excès d'énergie au centre réactionnel (RC) où la séparation de charge se produit et où les électrons entrent dans la chaîne de transport linéaire constituée de nombreux cofacteurs en série. Les électrons passent successivement de la chlorophylle excitée à une phéophytine (Pheo I) et aux quinones ( $Q_A$  et puis  $Q_B$ ). La réduction de  $Q_B$  nécessite 2 électrons, une fois que cette plastoquinone est entièrement réduite, elle cède ces 2 électrons à la plastoquinone PQ.  $PQH_2$  se dissocie du PSII et diffuse vers le complexe *Cytb6f*/protéine Fe-S (protéine de Rieske), les électrons sont transmis à une plastocyanine (PC), capable de diffuser librement à la surface du lumen, et arrivent ensuite au PSI. Une nouvelle séparation de charge se produit au niveau du PSI suite à l'absorption d'énergie lumineuse, le RC du PSI est excité et la chlorophylle  $\alpha$  réduite. Les électrons sont ensuite transférés à d'autres quinones et centres Fe-S pour enfin arriver à la ferrédoxine (Fd). L'enzyme FNR (Fd NADP réductase) permet à la Fd de réduire le  $NADP^+$  en  $NADPH$  (Nugent, 1996; Taiz and Zeiger, 2002).

### 1.5.2 Mécanismes de photoacclimatation

Selon que les coraux vivent près de la surface ou plus profondément, ils font face à des intensités lumineuses parfois trop faibles ou trop élevées qui peuvent dans les deux cas impacter leur métabolisme. Les mécanismes d'acclimatation à ces différentes conditions lumineuses sont donc cruciaux pour la survie de ces organismes et concernent aussi bien l'hôte que ses symbiontes (Kahng et al., 2017; Lesser et al., 2018).

Des intensités lumineuses élevées peuvent provoquer une inhibition de la photosynthèse ainsi qu'une surproduction d'espèces réactives de l'oxygène (ROS : Reactive Oxygen Species). Alors que des intensités lumineuses faibles vont au contraire limiter la photosynthèse et donc

l'apport énergétique fourni à l'holobionte. Pour se protéger et pallier ce manque d'énergie, les organismes vivant dans ces environnements peuvent mettre en place différentes stratégies au niveau morphologique et /ou physiologique.

Certaines espèces comme *S. pistillata* montrent une variation marquée de leur morphologie en fonction de la quantité de lumière qu'elles reçoivent. Les colonies vivant dans des environnements suffisamment ensoleillés ont tendance à être plus sphériques et massives alors que celles vivant plus profondément ont généralement une forme plate ou encroûtante et des branches plus fines afin de maximiser la capture de lumière (Einbinder et al., 2009; Lesser et al., 2018). Aux faibles intensités lumineuses, les coraux ont également tendance à investir moins dans leur croissance et leur squelette ce qui explique leurs faibles taux de croissance et diamètre de branches en comparaison aux coraux de surface. Par ailleurs le squelette de certains coraux mésophotiques présente une microstructure poreuse qui permettrait de maximiser le taux de photons absorbés (Roth, 2014). Au niveau de l'animal, des mécanismes d'acclimatation permettent de limiter les dommages liés à une intensité lumineuse trop forte tels que la rétraction des polypes/tissus pour limiter les dommages oxydants et la mise en place de différentes défenses biochimiques (pigments fluorescents, MAAs : mycosporine-like amino acids, enzymes antioxydantes) (Brown et al., 2002). L'hôte peut également réguler sa densité en symbiontes, en l'augmentant afin d'optimiser la capture de lumière et par conséquent, la photosynthèse (Mass et al., 2010) ou en la diminuant pour limiter les dommages liés à une surproduction de ROS (Ben-Zvi et al., 2020). D'autres espèces peuvent augmenter leur apport énergétique hétérotrophe pour compenser un apport phototrophe moins important avec la profondeur (Ben-Zvi et al., 2020; Mass et al., 2007) ou encore subir un blanchissement saisonnier qui pourrait être bénéfique énergétiquement pour l'holobionte et garantir sa survie à long terme (Nir et al., 2014).

De la même façon que les espèces corallines possèdent différents mécanismes de photoacclimatation, les genres/espèces de Symbiodiniaceae possèdent aussi leurs particularités vis-à-vis de la lumière. Sans oublier qu'il existe des variations inter et intra spécifiques importantes, il a été remarqué par exemple que les Symbiodiniaceae du clade D avaient tendance à être plus thermotolérantes (Bongaerts et al., 2011). On retrouve ce clade communément dans des eaux plus chaudes, qui subissent ponctuellement des pics de températures ou encore chez des coraux venant de subir un épisode de blanchissement

(Mieog et al., 2007; Rowan, 2004; Ulstrup et al., 2006). Le clade A est plus souvent retrouvé proche de la surface aux hautes latitudes et est connu pour sa tolérance aux stress thermiques et ses capacités de photoacclimatation accrues (diminution des concentrations en pigments chlorophylliens et augmentation des concentrations en xanthophylles) (Krämer et al., 2012). Des Symbiodiniaceae acclimatées à de fortes intensités lumineuses peuvent fortement augmenter leurs défenses antioxydantes enzymatiques (SOD, CAT et peroxydase) et non enzymatiques (glutathione, xanthophylles et MAAs)(Roth, 2014). Le cycle des xanthophylles est la composante la plus importante du « Non-Photochemical Quenching » (NPQ), il permet une dissipation de chaleur en présence d'un excès d'énergie grâce à la conversion réversible de la diadinoxanthine en diatoxanthine, sa forme dé-époxydée (Brown et al., 2002; Warner and Berry-Lowe, 2006). Le NPQ est composé d'au moins deux autres processus en plus de celui qui vient d'être énoncé, il s'agit de la dissociation transitoire des antennes collectrices (LHCII) du photosystème II et de l'inhibition de la photosynthèse. Ces deux derniers paramètres bien que dissipant un excès d'énergie, semblent cependant jouer un moins grand rôle dans la photoprotection (Müller et al., 2001). Les zooxanthelles peuvent aussi montrer des variations au niveau de leur appareil photosynthétique : volume du chloroplaste, nombre et longueur des thylakoïdes, variations des concentrations en pigments (chlorophylles et périclamine) (Mass et al., 2010), taille des unités photosynthétiques (PSI, PSII) et de leurs antennes collectrices (LHC) (Roth, 2014). Certaines espèces sont adaptées à des conditions spectrales particulières (380-460 nm) ce qui leur permet de maintenir des taux de photosynthèse optimaux en profondeur (Kahng et al., 2017; Lesser et al., 2018; Mass et al., 2010).

On observe chez certaines espèces de scléractiniaires, un shift dans la composition génétique des Symbiodiniaceae avec la profondeur. Ce changement de composition pourrait être dû à des adaptations différentes vis-à-vis de la lumière (quantité et spectre) mais pourrait aussi être expliqué par d'autres facteurs et conditions environnementales pouvant varier avec la profondeur comme la température, le spectre lumineux et la disponibilité en ressources hétérotrophes (Bongaerts et al., 2011; Winters et al., 2009).

### 1.5.3 Importance des voies alternatives de transport d'électrons lors de la photosynthèse

En plus de ces différentes stratégies, les voies alternatives de transport d'électrons semblent également jouer un rôle dans les processus de photoacclimatation en dissipant l'excès

d'énergie générée lors d'un stress thermique ou lumineux et en permettant une production supplémentaire d'ATP (Dang et al., 2019). En effet, des conditions biotiques ou abiotiques particulières peuvent altérer la production d'ATP et de NADPH lors des réactions photochimiques de la phase claire et perturber le ratio ATP/NADPH nécessaire à la fixation de carbone pendant la phase sombre de la photosynthèse (Cardol et al., 2011). Des mécanismes alternatifs de transport d'électrons peuvent donc agir en parallèle avec le transport linéaire d'électrons (photosynthèse oxygénique) afin de protéger l'appareil photosynthétique de dommages liés à un excès d'énergie.

Le **transport cyclique d'électrons** (CEF) au niveau du PSI implique que la ferrédoxine réduite (accepteur final du PSI) cède ses électrons au pool de plastoquinones via le NADPH ou directement au complexe *Cytb6f*, ces électrons retournent ensuite vers le PSI grâce à la plastocyanine (Fig. 6). Ce flux cyclique d'électrons est couplé à une translocation de protons du stroma vers le lumen favorisant la formation d'ATP (Cardol et al., 2011; Rochaix, 2011).

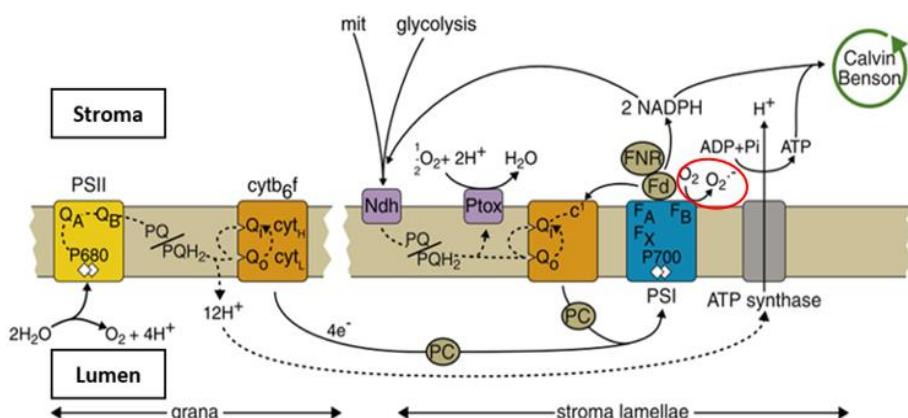
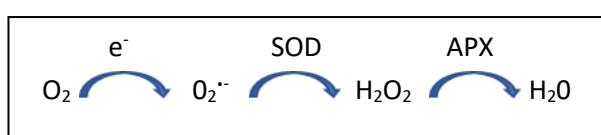


Figure 6 : Schéma représentant les voies alternatives de transport d'électrons (AEF) et le site de production d'ions superoxydes par la réaction de Mehler (entouré en rouge). (Modifié de Rochaix, 2011)

La **réaction de Mehler** au PSI permet également une gestion de l'excès d'électrons en réduisant l'oxygène et en formant des ions superoxydes ( $O_2^{-\cdot}$ ). Ces ions superoxydes sont ensuite rapidement pris en charge par deux enzymes associées au système chloroplastique, la superoxidase dismutase (SOD) et l'ascorbate peroxidase (APX) qui transforment respectivement  $O_2^{-\cdot}$  en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) et en eau. En transportant les électrons, ce processus génère, au travers des membranes thylakoïdiennes, un gradient de protons supplémentaires pouvant mener à la production d'ATP (Roberty et al., 2014; Rochaix, 2011).



La **chlororespiration** fait intervenir différentes protéines dont la Ndh (NAD(P)H Dehydrogenase) et la PTOX (Plastid Terminal Oxidase) (Fig. 7). Dans ce processus, la Ndh transfère les électrons du NADPH pour réduire une quinone (probablement PQ), la quinone réduite ( $\text{PQH}_2$ ) est ensuite oxydée par la PTOX et mène à la production d'eau (Casano et al., 2000; Rochaix, 2011; Rumeau et al., 2007).

La **photorespiration** résulte de la capacité de la Rubisco à fixer l' $\text{O}_2$  lorsque celui-ci est plus présent que le  $\text{CO}_2$  en consommant de l'ATP. Ce processus serait impliqué dans la dissipation d'énergie, en prévenant la saturation de la chaîne de transport d'électrons et donc la photoinhibition (Ort and Baker, 2002; Wingler et al., 2000).

Pour finir, la **navette malate/oxaloacétate** permet de transférer du pouvoir réducteur du chloroplaste vers les mitochondries, de réoxyder le NADPH produit lors de la photosynthèse par la chaîne respiratoire mitochondriale et de former de l'ATP nécessaire à la fixation de carbone (Eberhard et al., 2008).

## 1.6 Objectifs

La lumière est le facteur clé à la base de la symbiose entre les scléractiniaires et leurs endosymbiontes photosynthétiques. En raison des fluctuations temporelles et spatiales qui régissent l'intensité et la qualité de la lumière, les Symbiodiniaceae et leurs hôtes ont dû mettre en place différents mécanismes d'une part pour optimiser la photosynthèse et d'autre part se protéger d'un excès d'énergie que ces fluctuations peuvent engendrer.

Ce travail avait pour objectif d'évaluer les stratégies d'acclimatation à la lumière déployées par le corail modèle *S. pistillata*. Pour ce faire nous avons d'abord comparé la composition de colonies de *S. pistillata* de faible et forte profondeur (10 et 45 m, respectivement) en observant leurs caractéristiques morphologiques, densités en polypes et en Symbiodiniaceae et en analysant la composition génétique de leur communauté de Symbiodiniaceae par des techniques de séquençage à haut débit. Ensuite, grâce aux mesures de dégagement d'oxygène et aux analyses d'émissions de fluorescence de la chlorophylle-*a*, nous avons comparé les activités photosynthétiques et l'importance des mécanismes de dissipation d'énergie sous forme de chaleur. Pour finir, à l'aide des mêmes techniques spectroscopiques nous avons cherché à mettre en évidence l'existence de voies alternatives de transport d'électrons chez

les Symbiodiniaceae de *S. pistillata* (le CEF et la réaction de Mehler), afin de comprendre comment celles-ci pouvaient être modulées par la luminosité/la profondeur.

## Chapitre 2 – Matériel et méthodes

### 2.1 Matériel biologique et échantillonnage

Le matériel biologique étudié durant ce projet de recherche était constitué de colonies de *Stylophora pistillata* prélevées en Mer Rouge, en face de l'Interuniversity Institute for Marine Sciences à Eilat (Israël). Ce corail scléractiniaire a été choisi en raison de son abondance dans cette région et de sa répartition verticale étendue, allant de la surface jusqu'à 70 m de profondeur. D'autre part, cette espèce est déjà largement étudiée, se développe rapidement et est connue pour sa résistance au stress (Mass et al., 2010).

Dans un premier temps, des colonies de *S. pistillata* ont été prélevées à 10 et 45 m de profondeur. Pour chacune des profondeurs, 5 colonies différentes d'une taille comprise entre 10 et 20 cm de diamètre et espacées de 10 m le long d'un transect horizontal, ont été collectées. Les colonies ont ensuite été placées individuellement dans des aquariums alimentés de manière continue en eau de mer naturelle et l'intensité lumineuse à laquelle ces colonies étaient exposées a été ajustée à l'aide de filtres de densité neutre, afin de correspondre à la luminosité endurée sur le récif à 10 et 45 m de profondeur (Tableau 1).

Les colonies échantillonnées ont été maintenues dans ces conditions 2 semaines avant que les premières mesures soient réalisées.

Dans un second temps, 5 fragments de colonies ont été collectés aux deux profondeurs, selon la méthodologie utilisée précédemment et ont été analysés directement au laboratoire afin de vérifier que les paramètres mesurés n'avaient pas été impactés par la période d'acclimatation.

Les conditions maximales de température et d'intensité lumineuse sur le récif à 10 et 45 m de profondeur ont été mesurées et sont reprises dans le tableau 1.

Tableau 1 : Conditions de température et d'intensité lumineuse sur le lieu de récolte.

	Température (°C)	Intensité lumineuse ( $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )
10 m	25-26	500
45 m	25-26	20-25

### 2.1.1 Isolement des Symbiodiniaceae

Les tissus des fragments de coraux ont été retirés du squelette à l'aide d'un aérographe connecté à un réservoir d'eau de mer filtrée (FSW ; 0,2 µm). Les Symbiodiniaceae ont ensuite été séparées du tissu animal en faisant passer l'extrait 10 fois dans une seringue munie d'une aiguille de 20G. L'extrait obtenu a été centrifugé à 3600 RPM pendant 5 minutes, le surnageant contenant les débris de cellules animales a été jeté et le culot contenant les algues a été resuspendu dans 3 mL d'eau de mer filtrée. De cette solution : 250 µL ont été prélevés, fixés avec 25 µL d'une solution de formaldéhyde 35% et stocké à 4°C jusqu'au comptage cellulaire ; 1 mL a été prélevé pour la détermination du contenu en chlorophylles par spectrophotométrie et le reste de la solution a été congelé à -80°C jusqu'à l'analyse du contenu pigmentaire par HPLC.

### 2.1.2 Estimation de la surface des fragments

Certains paramètres comme la densité en symbiontes et le contenu en chlorophylles ont pu être normalisés par la surface des fragments coralliens. Après avoir isolé les Symbiodiniaceae comme expliqué ci-dessus, les squelettes des différents fragments ont été récupérés et séchés au soleil pendant 8h. L'aire de la surface a ensuite été estimée par la technique du « trempage dans la cire » (Stimson and Kinzie, 1991). Les échantillons séchés ont été pesés, trempés dans la cire à 60°C et mis dans un bain d'eau avec de la glace pour refroidir. Ils ont ensuite été trempés et refroidis une deuxième fois avant d'être pesés à nouveau. L'augmentation de masse due à la couche de cire a ensuite permis d'extrapoler l'aire du fragment grâce à des modules cylindriques d'aires connues qui ont permis d'établir une courbe de calibration.

Pour les mesures d'O<sub>2</sub> (voir 2.5.), l'aire des fragments utilisés a été estimée via la méthode de « comptage des pixels » et un logiciel de traitement d'images. Après analyse, les fragments d'échantillons (de surface quasiment plane) ont été pris en photo sur une feuille quadrillée. La zone correspondant au fragment a été sélectionnée et le nombre de pixels a été déterminé. Ce dernier a ensuite été rapporté au nombre de pixels contenu dans un cm<sup>2</sup> et la surface des fragments a pu être extrapolée.

## 2.2 Analyses pigmentaires

### 2.2.1 Détermination du contenu en chlorophylles par spectrophotométrie

Lors du protocole d'isolement des symbiontes, 1mL de solution avait été conservé (voir 2.1.1.) pour la détermination du contenu en chlorophylles. Ce millilitre a été centrifugé à 10 000 RPM pendant 5 minutes et le surnageant jeté. Le culot restant a ensuite été resuspendu dans 1 mL de MeOH 100% (froid) avec 250 µL de billes de verre (710–1,180 µm ; Sigma-Aldrich) avant d'être passé au Vortex pendant 3 min. Pour finir, l'échantillon a été placé dans un bain à sonication à 4°C avant d'être centrifugé à nouveau (10 000 RPM ; 5 min). Le surnageant a été prélevé et les absorbances à 632 et 665 nm ont été mesurées par spectrophotométrie.

Les concentrations en chlorophylles *a* et *c2* (en µg mL<sup>-1</sup>) ont été calculées à l'aide coefficients d'extinction molaire de Ritchie pour les dinophytes (Ritchie, 2006) :

$$[\text{Chl } a] = (13,6849 * A_{665}) - (3,4551 * A_{632})$$

$$[\text{Chl } c2] = (32,9371 * A_{632}) - (7,014 * A_{665})$$

### 2.2.2 Détermination du contenu pigmentaire par HPLC

Les extraits congelés après l'isolement des Symbiodiniaceae ont été analysés par HPLC une fois de retour au laboratoire à Liège. De chaque extrait, 1mL a été prélevé et centrifugé à 13 000 RPM pendant 5 minutes. Après avoir enlevé les surnageants, les culots contenant les Symbiodiniaceae ont été resuspendus dans 1mL de MeOH 100% (froid). Les cellules ont ensuite été lysées avec le TissueLyser II (30 Hz, 5 minutes, 4°C ; Qiagen) en présence de 250µL de billes de verre (710–1,180 µm ; Sigma-Aldrich) avant d'être centrifugées une dernière fois (16 000 g, 20 min, 4°C).

Les pigments ont été séparés par HPLC en phase reverse, en utilisant le système HPLC Prominence de Shimadzu. Ce système comprend une unité de dégazage DGU-20A5R, un chromatographe en phase liquide LC-20AT, un échantillonneur automatique SIL-20AC, un four à colonne CTO-10ASVP et un détecteur à barrettes de diodes SPD-M20A (Shimadzu, Japon).

La colonne d'HPLC (Nova Pak C18, 60A column, 150 mm de long, pores de 4 µm de diamètre) a été éluée avec un gradient de phase mobile (solvants A, B et C \*) (1mL min<sup>-1</sup>) selon le programme repris dans le tableau 2.

Tableau 2 : Profil d'élution avec la composition des phases mobiles à chaque phase d'élution.

<b>Temps (min)</b>	<b>Solvant A (%)</b>	<b>Solvant B (%)</b>	<b>Solvant C (%)</b>
0,0 → 0,5	100 → 0	0 → 100	0
0,5 → 1,0	0	100 → 90	0 → 10
1,0 → 11,0	0	90 → 65	10 → 35
11,0 → 12,0	0	65 → 55	35 → 45
12,0 → 15,0	0	55 → 40	45 → 60
15,0 → 20,0	0	40 → 0	60 → 100
20,0 → 22,0	0 → 100	0	100 → 0

\*Solvant A : 80% méthanol et 20% acétate d'ammonium 0,5M à pH 7 ; Solvant B : 90% acétonitrile dans de l'eau ; Solvant C : 100% acétate d'éthyle.

Le chromatogramme d'absorbance a été détecté à 430 nm et les pigments (chlorophylles *a* et *c2*, péricidine, diadinoxanthine, diatoxanthine et β-carotène) quantifiés au moyen de standards provenant de DHI Lab (Horstholm, Denmark).

L'acquisition et le traitement des données ont ensuite été réalisés en utilisant le logiciel LabSolutions de Shimadzu.

Les temps de rétention et le(s) maximum(s) d'absorbance des différents pigments analysés sont repris dans le tableau 3.

Tableau 3: Temps de rétention et maximum d'absorbance des différents pigments contenus dans les Symbiodiniaceae.

<b>Pigment</b>	<b>Temps de rétention (min)</b>	<b>Maximum(s) d'absorbance (nm)</b>
<i>Chlorophylle c2</i>	3.68 ± 0.01	445, 630
<i>Péricidine</i>	4.12 ± 0.00	472
<i>Cis-péricidine</i>	5.23 ± 0.01	330, 467
<i>Diadinoxanthine</i>	6.13 ± 0.01	427, 447, 476
<i>Diatoxanthine</i>	7.20 ± 0.01	427, 452, 480
<i>Chlorophylle a</i>	10.74 ± 0.01	430, 662
<i>β-carotène</i>	14.10 ± 0.01	454, 480

## 2.3 Analyses des Symbiodiniaceae

### 2.3.1 Densité et taille des cellules

Les échantillons fixés dans du formaldéhyde lors du protocole d'isolement des Symbiodiniaceae ont été ramenés au laboratoire à Liège, où la densité cellulaire et la taille des cellules ont pu être déterminées au moyen d'un compteur de particule, Z2 Beckman Coulter Particle Counter (Beckman, USA).

### 2.3.2 Identification génétique des Symbiodiniaceae

Afin d'identifier génétiquement les symbiontes des coraux prélevés, des fragments frais de 3 colonies Shallow et de 3 colonies Deep ont été sélectionnés au hasard. Les symbiontes ont été extraits des tissus comme indiqué dans la section « Isolement des Symbiodiniaceae » avec quelques modifications, pour finalement obtenir un culot ne contenant que les algues. Les fragments ont d'abord été rincés avec de l'eau de mer filtrée et les tissus ont été extraits avec un aérographe connecté à une solution stérile de PBS.

#### ❖ Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN s'est basée sur la méthode utilisée par (Ziegler et al., 2017). L'ADN des 6 échantillons à analyser a été extrait à l'aide du kit « DNeasy Plant Mini Kit » (Qiagen, Hilden, Germany) en suivant les instructions du fabricant avec des modifications mineures. Les culots contenant les algues ont été resuspendus dans 400µL de tampon de lyse AP3 en présence de 500µL de bille de verre (710–1,180 µm ; Sigma-Aldrich) lavées à l'acide et autoclavées.

Les échantillons ont ensuite été homogénéisés avec le TissueLyzer II (2 min ; 30 Hz ; Qiagen) et la suite de l'extraction a été réalisée en suivant les instructions du fabricant.

Pour finir, tous les échantillons ont été quantifiés au moyen d'un spectrophotomètre Synergy MX (BioTek) et normalisés à 5 ng µL<sup>-1</sup> pour les réactions PCR ultérieures.

#### ❖ Primers

Afin d'évaluer la diversité en Symbiodiniaceae des échantillons, la paire d'amorces SYM\_VAR\_5.8S2/SYM\_VAR\_REV du marqueur génétique ITS2 a été utilisée. Les amorces ainsi que les séquences adaptatrices MiSeq étaient les suivantes (Hume et al., 2018) :

(MiSeq adapter) + SYM\_VAR\_5.8S2 :

5' (TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG)GAATTGCAGAACTCCGTGAACC 3'

(MiSeq adapter) + SYM\_VAR\_REV :

5' (GTCTCGTGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG)CGGGTTCWCTGTYTGACTTCATGC 3'

❖ *Amplification PCR*

Les extraits d'ADN ont été amplifiés par PCR selon les conditions reprises dans les tableaux 4 et 5.

Tableau 4 : Préparation des échantillons PCR.

Réactifs	µL
Phusion High-Fidelity PCR Master Mix 2X	12,5
SYM_VAR_5.8S2 @ 10µM	1
SYM_VAR_REV @ 10µM	1
DMSO	0,75
Water DNase-free	8,75
Genomic DNA 5-10 ng	1
<b>Volume final</b>	<b>25</b>

Tableau 5 : Conditions des cycles PCR.

Température et durée des cycles	Etape du cycle	
98° C - 2 min	Dénaturation initiale	
98° C - 10 sec	Dénaturation	
56° C - 30 sec	Recrutement des primers sur l'ADN	X 35 cycles*
72° C - 30 sec	Extension	
72° C - 5 min	Extension finale	

\*27 cycles ont été réalisés au labo de Génétique et Physiologie des microalgues et 8 autres au centre de recherche GIGA (Liège) pour la préparation de la librairie avant séquençage.

Les amplifications PCR ont été réalisées en triplicat sur chaque échantillon et les produits PCR obtenus ont été analysés par un QIAxcel Advanced Instrument (QIAGEN) avant d'être poolés. Une fois regroupés, les échantillons ont été nettoyés avec des billes AMPure XP (Beckman Coulter, Brea, CA, USA). Les adaptateurs de séquençage et d'indexation Nextera XT ont été ajoutés par PCR suivant les instructions du fabricant (8 cycles).

❖ Séquençage Illumina

Les échantillons ont ensuite été quantifiés sur un Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, USA) et regroupés dans des rapports équimolaires. Cette librairie a ensuite été séquencée avec 10% de phiX sur la plateforme Illumina MiSeq avec une configuration de lecture de 2 X 250 pb.

❖ Bioinformatique

Chaque génome de Symbiodiniaceae contient des centaines voire des milliers de copies du gène ITS2, chacune capable d'accumuler des mutations de manière indépendante. Symportal identifie des ensembles spécifiques de variantes intragénomiques de la séquence ITS2 (DIVs ; unité taxonomique de Symportal) et les utilise pour définir des taxons de Symbiodiniaceae génétiquement différenciés (Gardner et al., 2019). Les résultats du séquençage obtenus par Illumina sequencing (fichiers.fastq.gz) ont été entrés dans la plateforme Symportal (SymPortal.org) afin d'être analysés. Cette plateforme permet d'identifier génétiquement des Symbiodiniaceae (inter et intra-genre) en analysant des résultats de séquençage (marqueur génétique ITS2) entrés dans le programme et en les comparant aux séquences présentes dans une base de données (SQL) (Hume et al., 2019).

## 2.4 Mesures de fluorescence et P700

Ces mesures ont été faites sur des tranches de coraux de 2-3 mm d'épaisseur et d'environ 1 cm<sup>2</sup> de surface, réalisées avec une Dremel 8220 (Dremel, USA) munies d'un disque en diamant.

### 2.4.1 Mesure de la fluorescence chlorophyllienne

Les émissions de fluorescence chlorophyllienne ont été mesurées au moyen d'un système d'imagerie SpeedZen (BeamBio/API, France) ou d'un spectrophotomètre JTS-10 (Bio-logic, France). Après une adaptation de 20 min à l'obscurité, le **rendement quantique photochimique maximum du Photosystem II [Fv/Fm]** a été calculé comme suit :  $[F_m - F_o]/F_m$ ,

où  $F_o$  est le niveau d'émission de fluorescence minimum et  $F_m'$  le niveau d'émission de fluorescence maximum induit par la superposition d'un pulse de lumière saturante de 3500  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  d'une durée de 150 ms. Ensuite des courbes de saturation de la photosynthèse ont été réalisées. Celles-ci comprenaient 6 paliers lumineux d'une durée de 3 min chacun (0, 90, 138, 220, 350, 680, 1200  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  avec le JTS-10 et 40, 130, 320, 570, 840 and 1000  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  avec le SpeedZen). À la fin de chaque étape, le **rendement quantique photochimique effectif du photosystème II ( $\varphi_{\text{PSII}}$ )** a été calculé comme suit :  $[Fm' - F']/Fm'$  (Genty et al., 1989), où  $F'$  est la fluorescence stationnaire émise à la lumière et  $Fm'$  est l'émission maximale de fluorescence induite par l'ajout d'un pulse de lumière saturante de 3500  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  d'une durée de 150 ms.

#### 2.4.2 Absorbance de la chlorophylle P700

Les changements d'absorbance de P700 ont été mesurés avec un spectrophotomètre JTS-10 (Bio-logic, France). De manière similaire aux mesures de fluorescence de la chlorophylle, des courbes de saturation de la photosynthèse présentant les mêmes paliers lumineux et de même durée ont été réalisées.

Le **rendement quantique de la conversion d'énergie photochimique par le PSI ( $Y_I$  ou  $\varphi_I$ )** et le **rendement quantique de la dissipation d'énergie non-photochimique due à la limitation du côté donneur du PSI ( $Y_{ND}$ )** ou à la **limitation du côté accepteur du PSI ( $Y_{NA}$ )** ont été calculés à la fin de chaque étape lumineuse respectivement comme suit (Schreiber and Klughammer, 2008):

$$Y(I) = (P_m' - P)/(P_m - P_0); Y(ND) = (P - P_0)/(P_m - P_0); Y(NA) = (P_m - P_m')/(P_m - P_0)$$

Où  $P_0$  est le niveau d'absorption quand P700 est complètement réduite,  $P_m$  le niveau d'absorption quand P700 est complètement oxydée en présence de 20  $\mu\text{M}$  de DCMU (inhibiteur du PSII) et lorsqu'un pulse saturant (3500  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; de 150 ms) est appliqué.  $P$  est le niveau d'absorbance sous éclairage continu et  $P_m'$  est le niveau maximal d'absorbance atteint lorsqu'un pulse saturant (3500  $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 200 ms) se superpose à la lumière actinique.

#### 2.4.3 Transport relatif d'électrons et rendement d'extinction non-photochimique

Les transports relatifs d'électrons ( $r\text{ETR}$ ;  $\mu\text{mol e}^{-} \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) au travers du PSI ( $r\text{ETR}_{\text{PSI}}$ ) et du PSII ( $r\text{ETR}_{\text{PSII}}$ ) ont été calculés comme suit :

$$rETR_{PSII} = \varphi_{PSII} * \text{Int. lumineuse}$$

$$rETR_{PSI} = \varphi_{PSI} * \text{Int. lumineuse}$$

Pour finir, le rendement d'extinction non-photochimique ou « non-photochemical quenching » (NPQ) a été estimé par le rapport  $(F_m - F_m')/F_m'$ .

#### 2.4.4 Flux cyclique d'électrons

Le flux cyclique d'électrons (CEF ;  $e^- s^{-1}$ ) a été évalué en mesurant les taux de re-réduction de P700 en présence de DCMU 20  $\mu M$  ajouté 10 minutes avant les mesures avec la caméra (JTS 10).

### 2.5 Mesures de la photosynthèse et de la respiration

Les taux de photosynthèse et de respiration (exprimés en  $nmol O_2 \mu g^{-1} chl min^{-1}$  et en  $nmol O_2 cm^{-2} min^{-1}$ ) ont été mesurés en utilisant un senseur optique d'oxygène FireStingO2 (Pyro Science) installé dans une chambre d'incubation en Plexiglas (8 mL). Le senseur à oxygène a été calibré par rapport à de l'eau de mer saturée en oxygène (saturation en air de 100%) et à une solution d'eau de mer saturée en dithionite de sodium (saturation en oxygène de 0%). La lumière actinique était fournie par le système d'imagerie de fluorescence SpeedZen et des courbes de saturation de la photosynthèse ont été réalisées.

Les taux de photosynthèse et de respiration ont été mesurés pendant 3 minutes, après une période d'acclimatation de 10 minutes à l'obscurité (première mesure : 0  $\mu mol photons m^{-2} s^{-1}$ ) puis à la lumière (successivement : 40, 130, 320, 570, 840, 1000  $\mu mol photons m^{-2} s^{-1}$ ).

Les taux de consommation ou de production d'oxygène ont alors été déduits de la pente de régression linéaire des variations des concentrations en oxygène dans la chambre en fonction du temps.

A la fin des mesures, les tranches de coraux ont été congelées à -20°C jusqu'à ce que les concentrations en chlorophylles et la surface des fragments aient été déterminés.

En parallèle des mesures d'O<sub>2</sub>, les activités PSII des fragments ont été évaluées via l'utilisation de la caméra de fluorescence Speedzen, comme décrit dans le point 2.4.1.

## 2.6 Analyses statistiques et présentation des données

Lorsque les conditions de normalité et d'égalité des variances étaient respectées, les comparaisons entre les échantillons indépendants « Shallow » et « Deep » pour les différents paramètres étudiés ont été réalisées au moyen de tests de Student (t-test). Lorsqu'une de ces conditions n'était pas remplie, un test non-paramétrique de Mann-Withney a été utilisé. L'évolution des paramètres tels que la photosynthèse nette,  $r\text{ETR}_{\text{PSII}}$ ,  $r\text{ETR}_{\text{PSI}}$ , NPQ, Y(NA) et Y(ND) pour les échantillons « Shallow » et « Deep » en fonction de l'intensité lumineuse  $a$ , elle aussi, a été testée et comparée par des tests de Student ou de Mann-Whitney suivant le respect des conditions de normalité et d'égalité des variances. Les différences étaient considérées comme significatives lorsque la p-value ( $P$ ) était inférieure au niveau de significativité  $\alpha$  fixé à 0,05. Le tableau en fin de page reprend les différentes abréviations qui ont été utilisées pour distinguer les types d'échantillons utilisés, analysés et comparés dans la suite de ce travail.

Avant d'aller plus loin dans les résultats, il est important de vous signaler que durant la période d'acclimatation en mésocosme, les échantillons Deep ont subi un blanchissement modéré dont nous n'avons pas eu connaissance au début des mesures. Ce n'est que lorsque les premiers comptages ont été effectués que nous nous sommes rendu compte du problème. Suite à ces observations, de nouvelles colonies ont été prélevées et analysées endéans les 48h. Ceci afin de s'assurer que les observations réalisées sur le lot « acclimaté » soient également valables pour les colonies fraîchement collectées. Lors du traitement des données, des tests statistiques ont été effectués entre les données issues de colonies acclimatées (appelées Shallow (S) ; Deep (D)) et fraîchement collectées (appelées Shallow Fresh (SF) ; Deep Fresh (DF)). Sauf indication contraire, lorsque les données Shallow/Deep et Shallow/Deep Fresh étaient significativement différentes ( $P < 0,05$ ), seules les données Fresh étaient prises en compte pour la comparaison entre Shallow et Deep. Dans le cas contraire, les données des échantillons acclimatés et frais étaient traitées ensemble. Les détails de ces tests et les résultats complets (Shallow – Deep – Deep Fresh) se trouvent en annexes ainsi que la description des graphes « box-plot » (ou boîte à moustache).

**S** = Shallow : échantillons collectés à 10 m, analysés 15 jours après la collecte.

**D** = Deep : échantillons collectés à 45 m, analysés 15 jours après la collecte.

**SF** = Shallow Fresh : échantillons analysés directement après la collecte à 10 m.

**DF** = Deep Fresh : échantillons analysés directement après la collecte à 45 m.

**Acclimatés** : échantillons analysés 15 jours après la collecte.

**Frais** : échantillons analysés directement après la collecte.

## Chapitre 3 – Résultats

### 3.1 Description morphologique des colonies et densité en polypes

Les colonies Shallow (Fig. 7 – gauche), exposées à des intensités lumineuses maximales d'environ  $500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Annexe 1), ont une morphologie globale hémisphérique et un diamètre de branche plus élevé que les colonies Deep (Fig. 7 – droite). Ces dernières exposées à des intensités lumineuses maximales de  $20-25 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Annexe 1) présentent une forme plus plane et des branches nettement plus fines. A l'origine les colonies Deep étaient plus pigmentées qu'elles ne le sont sur la figure 1. La photo a été prise environ 25 jours après la récolte, les colonies Deep avaient légèrement blanchi et paraissent en conséquence plus claires que les colonies Shallow.



Figure 7 : Photo d'une colonie « Shallow » (gauche) et d'une colonie « Deep » (droite) récoltées respectivement à 10 et 45 m de profondeur. (S. Roberty)

#### Densité en polypes

Ces densités ont été déterminées en comptant le nombre de polypes sur des fragments de colonies fraîches dont la surface était connue. La densité en polypes (Fig. 8) entre les deux types d'échantillons est significativement différente avec des moyennes de  $51 \pm 9$  (Shallow) et  $42 \pm 9$  (Deep) polypes par  $\text{cm}^2$ .

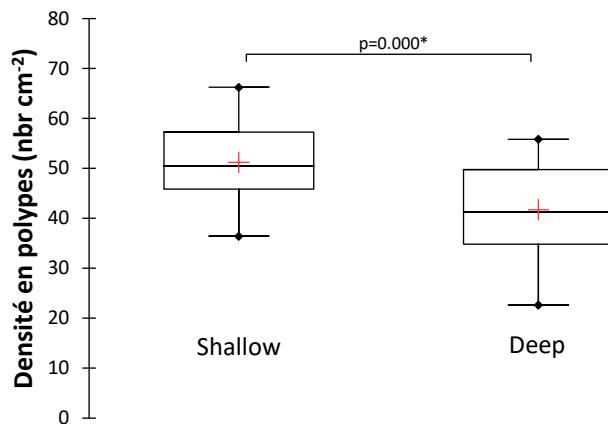


Figure 8 : Comparaison de la densité en polytes dans les échantillons Shallow ( $N=24$ ) et Deep ( $N=24$ ). T-test (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

### 3.2 Biomasse cellulaire et diversité génétique

En plus de la densité en polytes, nous avons également mesuré la densité en Symbiodiniaceae et étudié leur diversité génétique, afin de mettre en évidence les genres de Symbiodiniaceae présents dans les échantillons de coraux aux deux profondeurs étudiées.

#### 3.2.1 Densité en Symbiodiniaceae et taille des cellules

Après avoir extrait les tissus des fragments collectés, la densité cellulaire ainsi que la taille des cellules ont pu être déterminées. La densité en Symbiodiniaceae dans les coraux récoltés à 10 et 45 m de profondeur est significativement différente (Fig. 9A) avec des moyennes respectives de  $815\ 638 \pm 221\ 064$  cell  $\text{cm}^{-2}$  et  $419\ 749 \pm 82\ 481$  cell  $\text{cm}^{-2}$ . Le diamètre des cellules dans les deux types d'échantillons ne montre pas de différence significative (Fig. 9B).

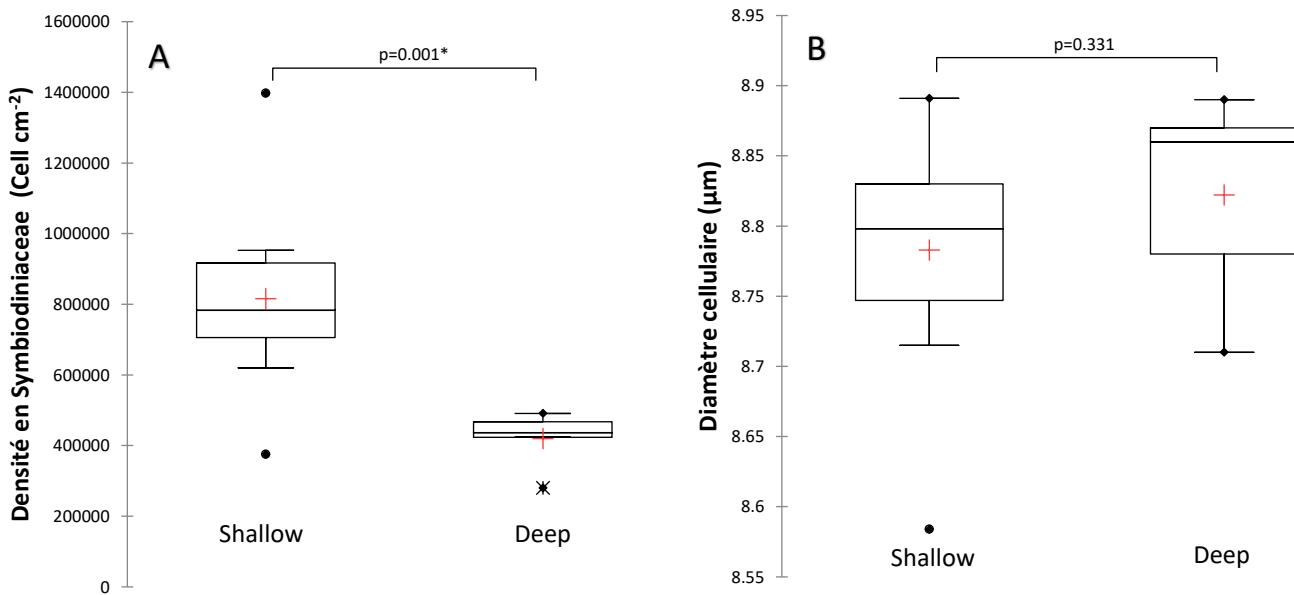


Figure 9 : A) Densité en Symbiodiniaceae dans les échantillons Shallow ( $N=15$ ) et Deep ( $N=5$ ). T-test. B) Taille des cellules de Symbiodiniaceae dans les échantillons Shallow ( $N=15$ ) et Deep ( $N=5$ ). T-test (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

### 3.2.2 Diversité génétique des Symbiodiniaceae

Les résultats des analyses génétiques réalisées sur la région ITS2 du gène codant pour l'ARNr de 6 échantillons frais Shallow et Deep (Fig. 10) sont repris ci-dessous. Pour chacun des 6 échantillons, seules les 10 séquences les plus abondantes ont été représentées sur les 86 séquences renvoyées par Symportal. Les échantillons Shallow sont majoritairement représentés par des Symbiodiniaceae du genre *Symbiodinium* et plus précisément du sous-clade A1 qui correspond à l'espèce *S. microadriaticum*. Les échantillons Deep sont, eux, caractérisés par une forte présence de Symbiodiniaceae du genre *Cladocopium* et plus précisément du sous-clade C72 (nom d'espèce non-défini). Les pourcentages de ces séquences sont repris en annexes (Annexes 2a et 2b).

**Shallow :** Les 5 premières séquences sont communes aux 3 échantillons analysés. Ces 10 séquences représentent pour les échantillons 1, 2 et 3 respectivement 98,51%, 98,80% et 98,03% de la diversité génétique totale de l'échantillon.

**Deep** : Seule la première séquence (C72) est commune aux 3 échantillons. Les 10 séquences représentent pour les échantillons 1, 2 et 3 respectivement 90,43%, 99,93% et 99,93% de la diversité génétique totale de l'échantillon. La composition de l'échantillon Deep1 diffère légèrement des deux autres échantillons Deep pour les séquences minoritaires mais reste néanmoins dominé par le genre *Cladocopium* avec 71,28% d'ITS2 de type C72 et de ses variants (C72<sub>c-b-g</sub>).

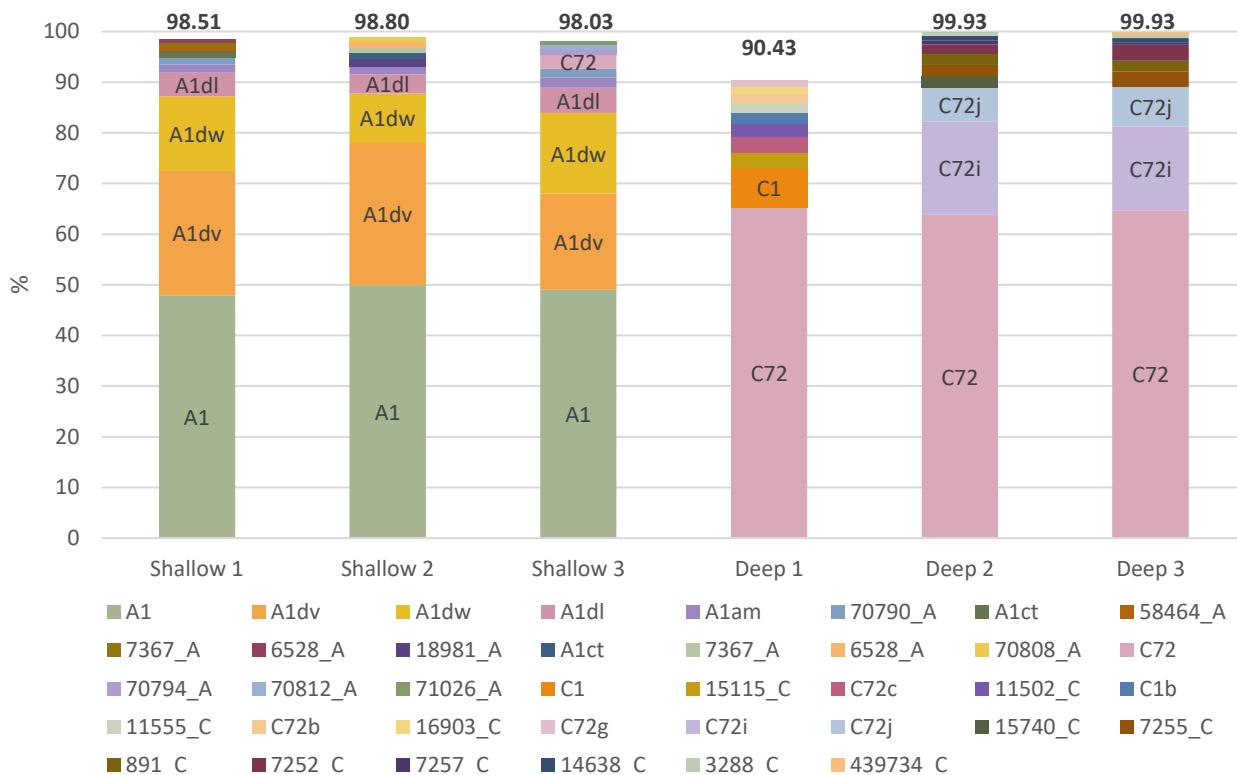


Figure 10 : Résultats de l'analyse génétique des échantillons Shallow (N=3) et Deep (N=3).

### 3.3 Analyses pigmentaires

Les analyses pigmentaires ont été réalisées dans le but de déterminer si la composition et la proportion en pigments pouvaient varier et nous renseigner sur les processus de photoacclimatation employés par les endosymbiontes, en fonction de la profondeur.

#### 3.3.1 Concentrations pigmentaires

Les concentrations pigmentaires (en pg cellule<sup>-1</sup>) déterminées par HPLC ainsi que le rapport des chlorophylles (Chl-*c*<sub>2</sub>/Chl-*a*) sont repris dans les figures 11 et 12. Les Symbiodiniaceae des échantillons Deep ont des concentrations en chlorophylle-*a* et *c*<sub>2</sub> (Fig. 11 A et B) significativement plus élevées que celles des échantillons Shallow. Le rapport Chl-*c*<sub>2</sub>/Chl-*a* est de 0,21 pour les deux types d'échantillons ce qui indique que les chlorophylles *a* et *c*<sub>2</sub> voient

leur concentrations augmenter dans les mêmes proportions avec la profondeur. La figure 12 reprend en plus les concentrations cellulaires en pérnidinine, xanthophylles (diadinoxanthine et diatoxanthine) et  $\beta$ -carotène qui sont en moyenne toutes plus élevées dans les échantillons Deep. Les différences sont significatives pour la somme des chlorophylles, les chlorophylles  $a$  et  $c_2$ , la pérnidinine et le  $\beta$ -carotène. L'absence de diatoxanthine s'explique très probablement par le fait que ce pigment a été complètement retransformé en diadinoxanthine durant le processus d'extraction des algues depuis les colonies. Pour pouvoir quantifier la diatoxanthine, il aurait fallu que l'échantillon ait été immédiatement congelé dans l'azote liquide après un traitement à une intensité lumineuse relativement importante.

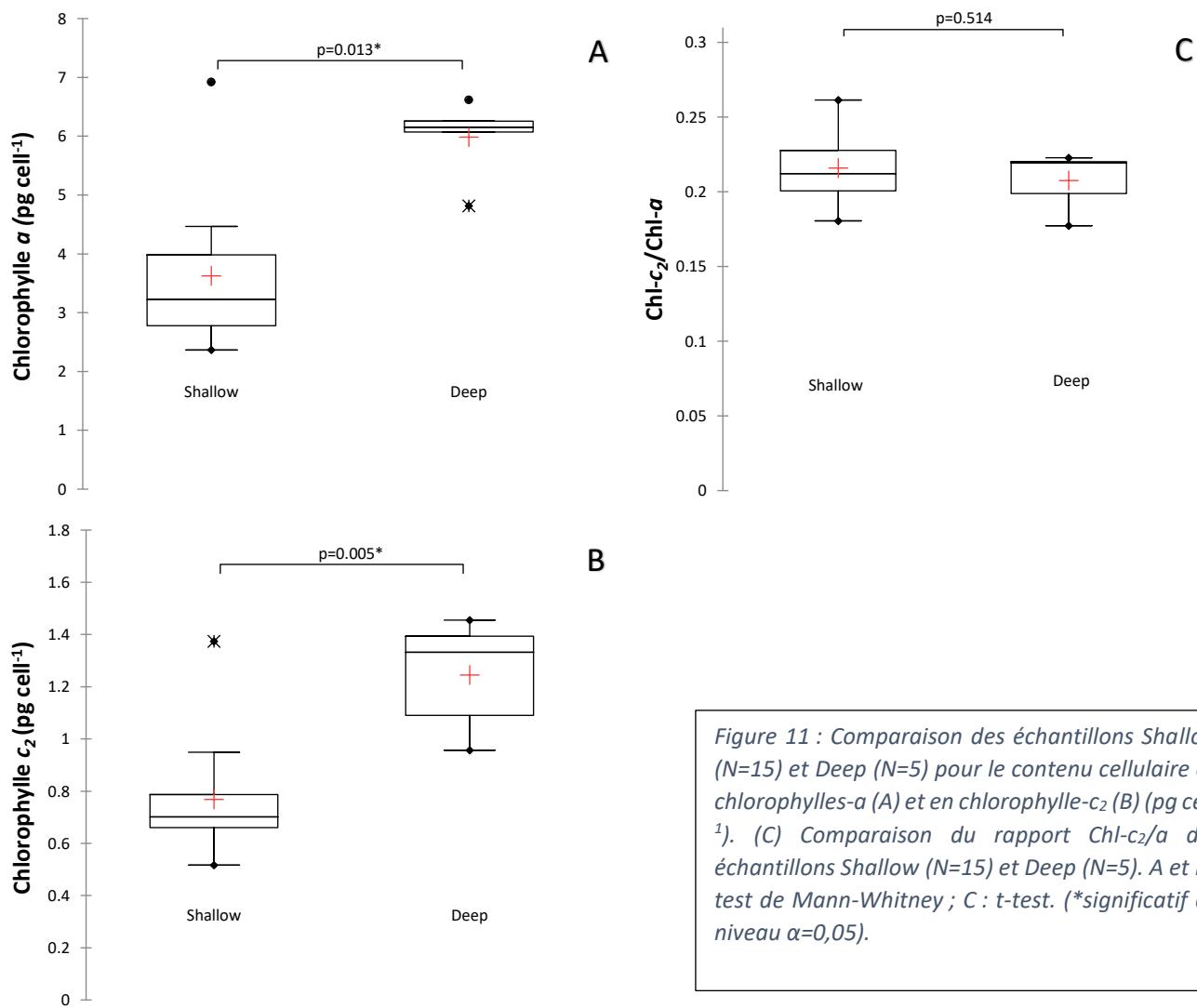


Figure 11 : Comparaison des échantillons Shallow ( $N=15$ ) et Deep ( $N=5$ ) pour le contenu cellulaire en chlorophylle- $a$  (A) et en chlorophylle- $c_2$  (B) ( $\text{pg cell}^{-1}$ ). (C) Comparaison du rapport  $\text{Chl-}c_2/\text{Chl-}a$  des échantillons Shallow ( $N=15$ ) et Deep ( $N=5$ ). A et B : test de Mann-Whitney ; C : t-test. (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

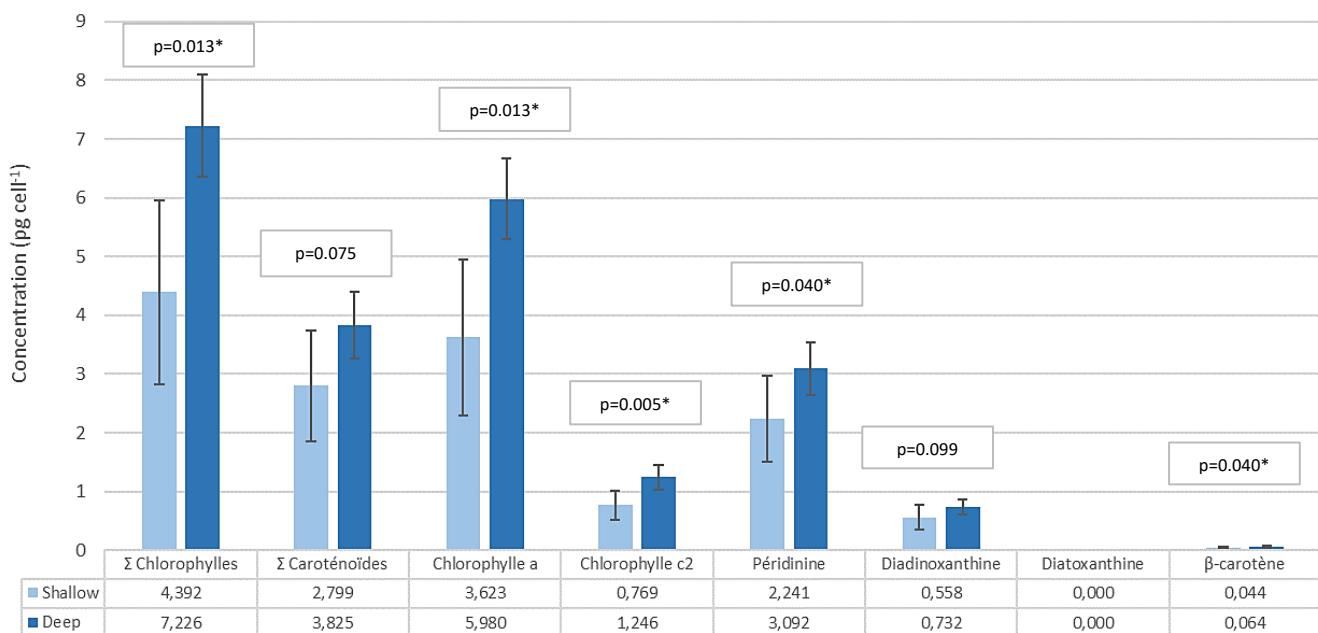


Figure 12 : Détermination des concentrations pigmentaires par HPLC des Symbiodiniaceae des échantillons Shallow ( $N=10$ ) et Deep ( $N=5$ ).  $\pm$  écart-types. Tests de Mann-Whitney et t-test pour le  $\beta$ -carotène (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

### 3.4 Activité photosynthétique

#### 3.4.1 Rapport Fv/Fm

Ce paramètre permet de quantifier l'efficacité photosynthétique maximale, il traduit la capacité du photosystème II (PSII) à utiliser la lumière pour la conversion photochimique et renseigne également sur le niveau de photoinhibition. Le rapport  $F_v/F_m$  est significativement plus élevé pour les échantillons de coraux prélevés à 45 m de profondeur ( $0,663 \pm 0,029$ ) que ceux prélevés à 10 m ( $0,607 \pm 0,047$ ) (Fig. 13).

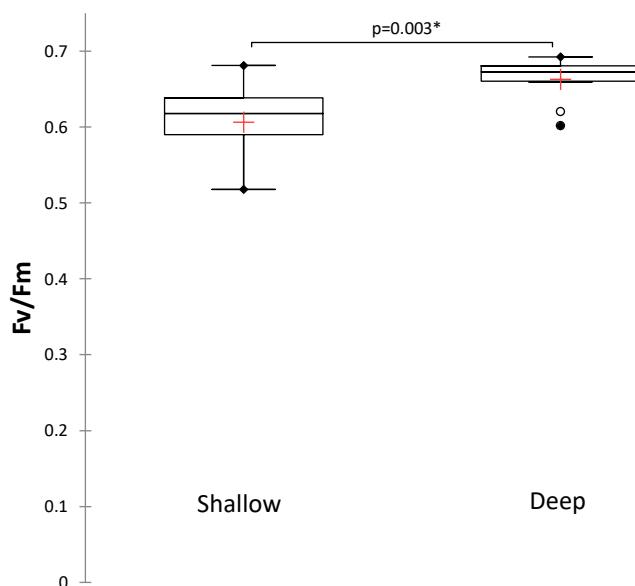


Figure 13 : Rapport  $F_v/F_m$  pour les échantillons Shallow ( $N=15$ ) et Deep ( $N=10$ ). Test de Mann-Whitney (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

### 3.4.2 Transport relatif d'électrons au niveau des PSII et PSI

Les transports relatifs d'électrons au niveau des photosystèmes I (PSI) et II (PSII) (Figures 14 et 15) ont été calculés en multipliant le rendement photochimique effectif du PSII ou du PSI ( $\varphi_{PSII}$  ou  $\varphi_{PSI}$ ) par l'intensité lumineuse appliquée. Pour ces deux paramètres, une augmentation linéaire est observée aux faibles intensités lumineuses (entre 0 et 200  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) pour les échantillons Shallow et Deep. Cette augmentation est liée à la capacité d'attraper des photons et est donc indirectement liée à la taille des antennes collectrices. Une saturation progressive (rETR max) apparaît ensuite à des intensités lumineuses différentes, les Deep saturant à des intensités lumineuses plus faibles que les échantillons Shallow. Dans le cas du rETR<sub>PSII</sub> (Fig. 14), un déclin (photoinhibition) se produit vers 680  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  pour les échantillons Shallow et vers 600  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  pour les Deep. Pour rETR<sub>PSI</sub> (Fig. 15), les Shallow se démarquent avec des taux de transport relatif d'électrons plus élevés que ceux des Deep à des intensités lumineuses de 350 et 680  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A une intensité lumineuse de 680  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , les échantillons Shallow montrent des valeurs de rETR<sub>PSI</sub> significativement plus élevées que les échantillons Deep (Fig. 16B). Pour rETR<sub>PSII</sub>, les moyennes sont visuellement différentes entre les échantillons S et D mais la variabilité des données ne permet pas de les distinguer statistiquement (Fig. 16A).

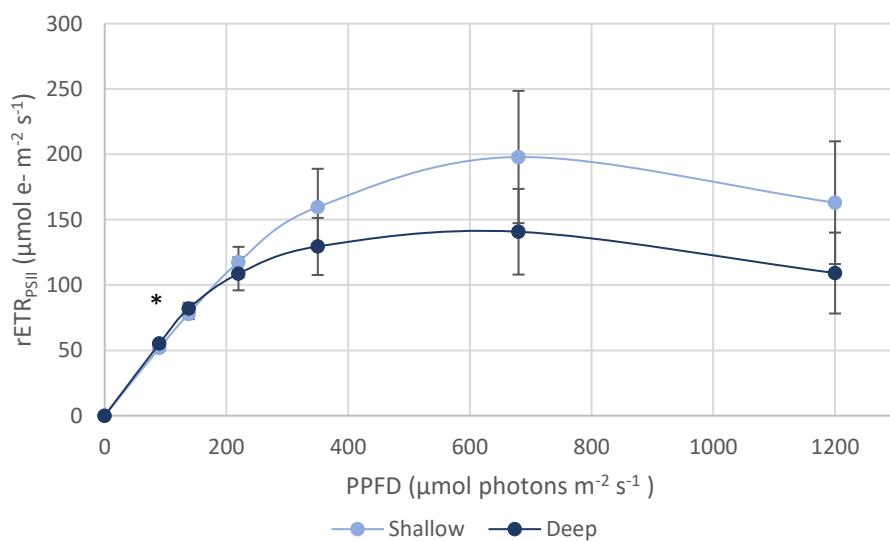


Figure 14 : Comparaison des transports relatifs d'électrons au niveau du PSII. Moyennes  $\pm$  écart-types. NS = 5 et ND = 10. T-test (90 et 138  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) et test de Mann-Whitney (220, 350, 680 et 1200  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

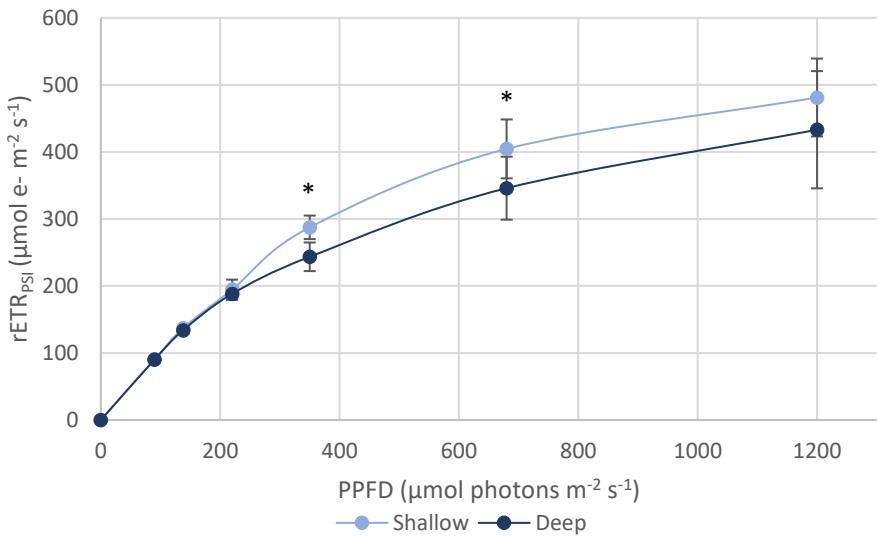


Figure 15 : Comparaison des transports relatifs d'électrons au niveau du PSI. Moyennes  $\pm$  écart-types. NS = 5 et ND = 10. T-test (90, 220, 350, 680 et 1200  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) et test de Mann-Whitney (138  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

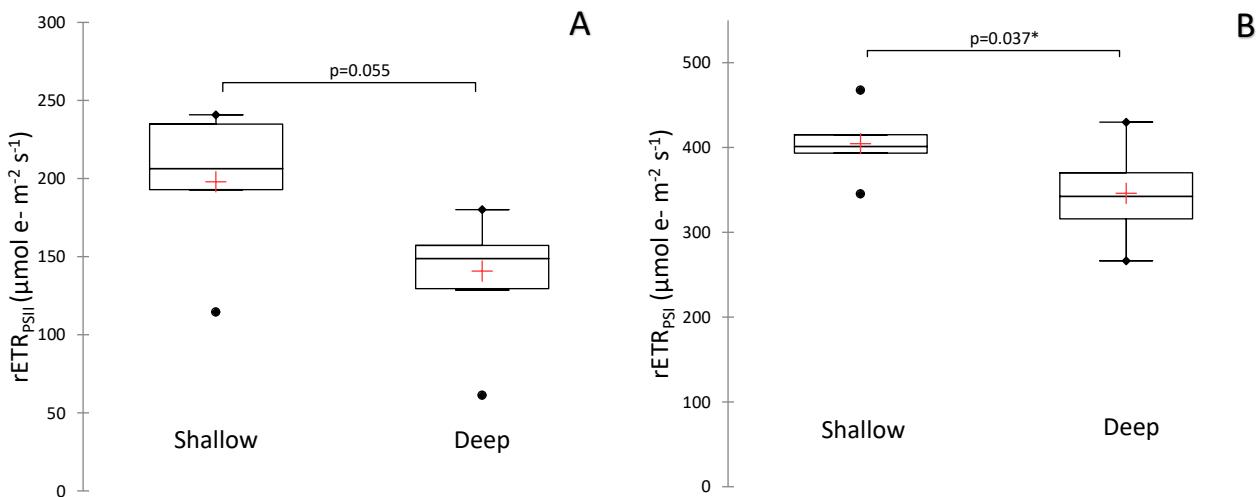


Figure 16 : Comparaison des transports relatifs d'électrons aux niveaux des PSII (A) et PSI (B) à 680  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  entre des échantillons de coraux Shallow (N=5) et Deep (N=10). Test de Mann-Whitney (A) et T-test (B). (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

### 3.4.3 Mécanismes de dissipation d'énergie sous forme de chaleur

Ces paramètres reflètent des mécanismes de dissipation d'énergie sous forme de chaleur, notamment via l'action des xanthophylles (conversion de la diadinoxanthine en diatoxanthine).

### Non-Photochemical Quenching (NPQ)

Le rendement d'extinction non-photochimique diffère significativement entre les coraux Shallow et Deep pour toutes les intensités lumineuses appliquées à l'exception de la mesure à  $220 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Fig.17). Cependant, en dessous  $200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$  nous pouvons considérer qu'il n'y a pas de différence entre les colonies Shallow et Deep.

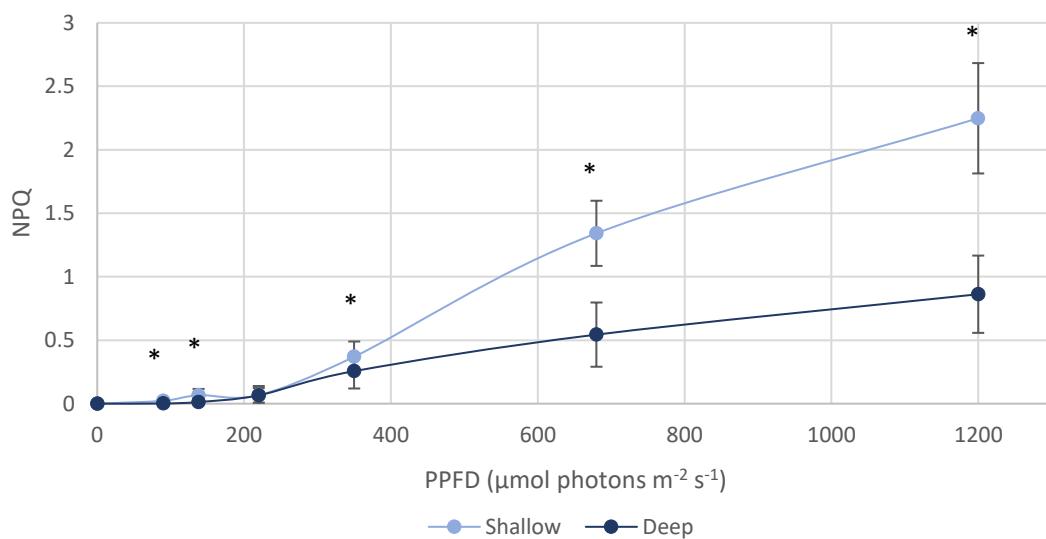


Figure 17 : Rendement d'extinction non-photochimique (NPQ) dans les échantillons Shallow ( $N=15$ ) et Deep ( $N=20$ ). Moyennes  $\pm$  écart-types. T-test ( $1200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) et test de Mann-Whitney ( $90, 138, 220, 350$  et  $680 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

### $Y(ND)$ et $Y(NA)$

Le rendement quantique de la dissipation d'énergie non-photochimique due à la limitation du côté donneur du PSI ( $Y(ND)$  - Fig. 18)) reflète les électrons qui viennent du PSII et du cytB6f et diffère significativement entre les échantillons Shallow et Deep pour toutes les intensités lumineuses appliquées à l'exception de la mesure à  $90 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A  $680 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $Y(ND)$  est en moyenne de  $0,353 \pm 0,092$  pour les coraux Shallow et de  $0,473 \pm 0,088$  pour les coraux Deep.

Le rendement quantique de la dissipation d'énergie non-photochimique due à la limitation du côté accepteur du PSI ( $Y(NA)$  – Fig. 19) reflète les électrons qui vont vers la ferrédoxine, le cycle de Calvin et la réaction de Mehler. Ce paramètre ne diffère significativement entre les échantillons Shallow et Deep que pour les intensités lumineuses de  $680$  et  $1200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . A  $680 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $Y(NA)$  est en moyenne de  $0,101 \pm 0,042$  pour les coraux Shallow et de  $0,076 \pm 0,029$  pour les coraux Deep.

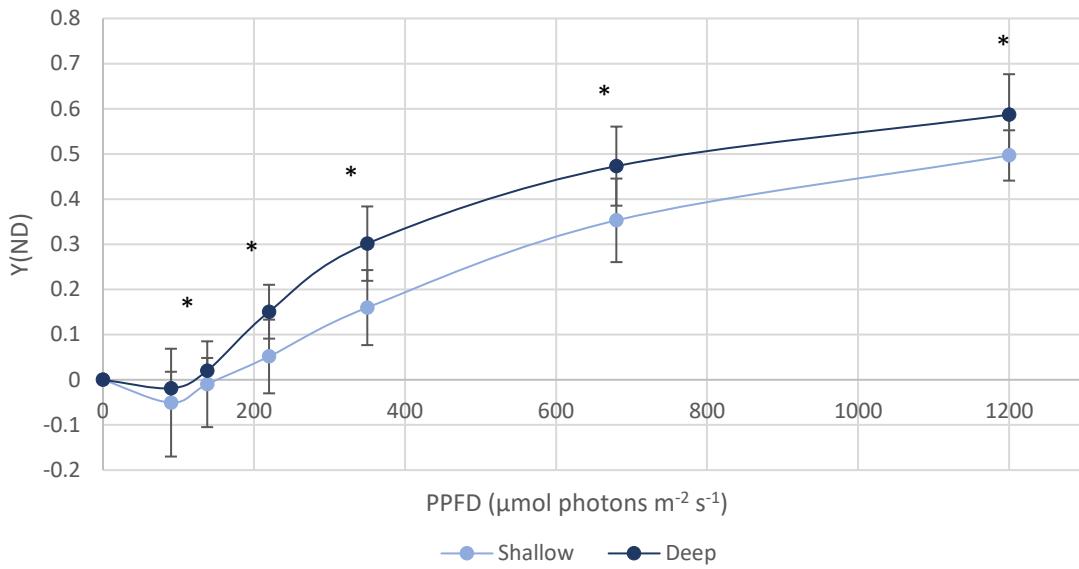


Figure 18 : Rendement quantique de la dissipation d'énergie non-photochimique due à la limitation du côté donneur du PSI dans les échantillons Shallow ( $N=15$ ) et Deep ( $N=20$ ). Moyennes  $\pm$  écart-types. T-test ( $1200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) et test de Mann-Whitney ( $90, 138, 220, 350$  et  $680 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

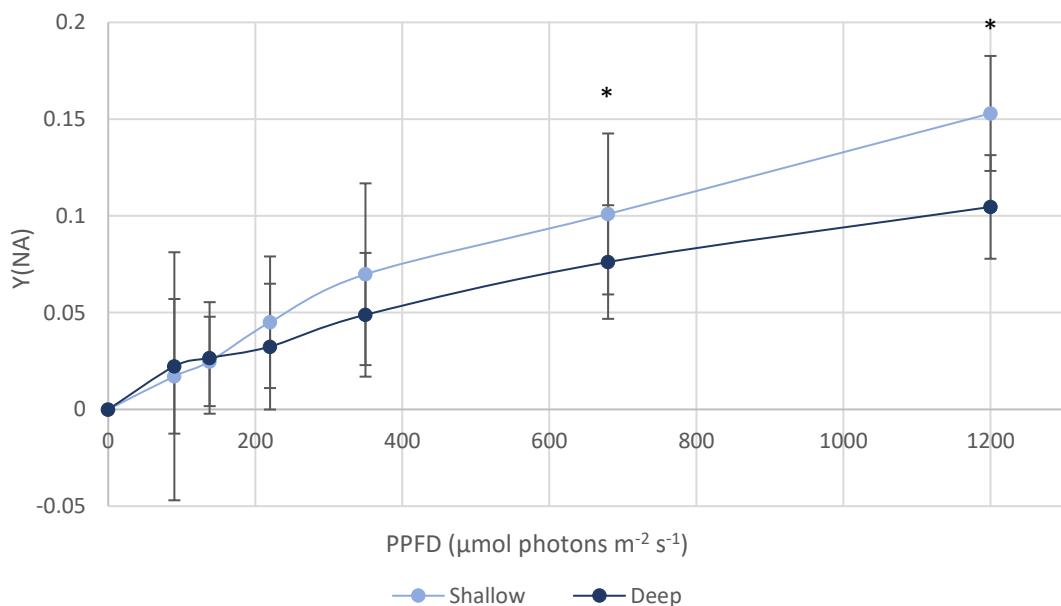


Figure 19 : Rendement quantique de la dissipation d'énergie non-photochimique due à la limitation du côté accepteur du PSI dans les échantillons Shallow ( $N=15$ ) et Deep ( $N=20$ ). Moyennes  $\pm$  écart-types. Test de Mann-Whitney ( $90, 138, 220, 350, 680$  et  $1200 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

### 3.5 Mesures de la respiration et de la photosynthèse par dégagement d'oxygène

#### 3.5.1 Courbe de saturation de la photosynthèse (photosynthèse nette)

Des courbes de saturation de la photosynthèse pour les coraux Shallow et Deep ont pu être établies à partir des taux de photosynthèse (exprimés en  $\text{nmol O}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{ chl min}^{-1}$  et  $\text{nmol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ ) mesurés à différentes intensités lumineuses, successivement : 0, 40, 130, 320, 570, 840, 1000  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Lorsqu'elles sont exprimées en  $\text{nmol O}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{ chl min}^{-1}$ , les données sont significativement différentes pour toutes les intensités lumineuses considérées à l'exception de la mesure à 130  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Fig. 20). Avant cette mesure à 130  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , les coraux Deep montrent des taux de photosynthèse nette ( $P_{\text{net}}$ ) plus élevés. Au-delà de cette intensité lumineuse, la tendance s'inverse et ce sont les coraux Shallow qui présentent des taux de  $P_{\text{net}}$  plus élevés.

La photosynthèse nette au niveau de l'holobionte (exprimée en  $\text{nmol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ ; Fig. 21) est significativement plus élevée pour les coraux Deep aux intensités lumineuses de 0, 40 et 130  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . A partir de 320  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , les coraux S et D montrent des valeurs de  $P_{\text{net}}$  similaires. Le taux de respiration ( $R$ ) est significativement plus élevé chez les coraux Shallow, ces taux sont respectivement de  $8,14 \pm 1,84$  et de  $3,11 \pm 1,23 \text{ nmol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$  pour les coraux Shallow et Deep ( $N(S)=5$ ,  $N(D)=10$  ; t-test ;  $P < 0,001$ ).

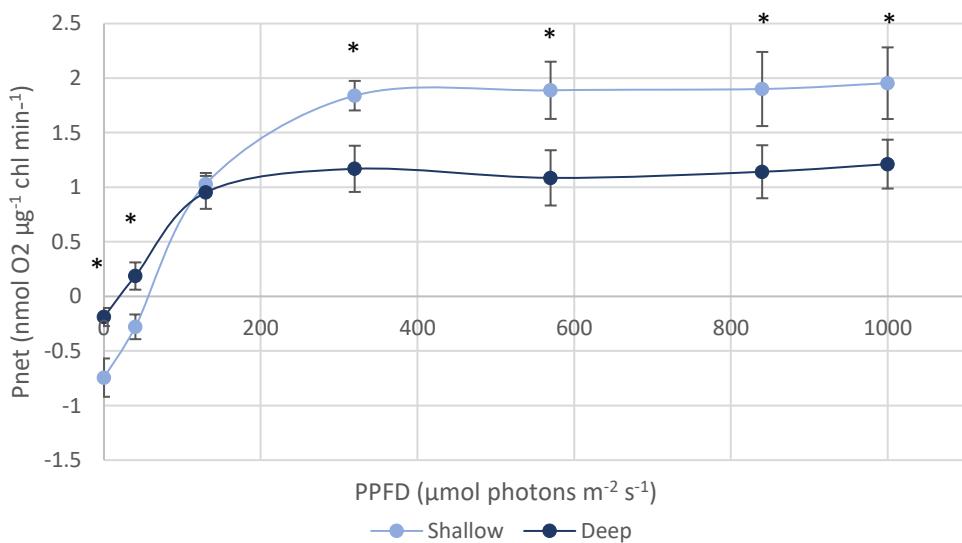


Figure 20 : Courbe de saturation de la photosynthèse nette pour les coraux Shallow ( $N=5$ ) et Deep ( $N=10$ ). Moyennes  $\pm$  écart-types. T-test (0, 130, 320, 840, 1000  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) et test de Mann-Whitney (40  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

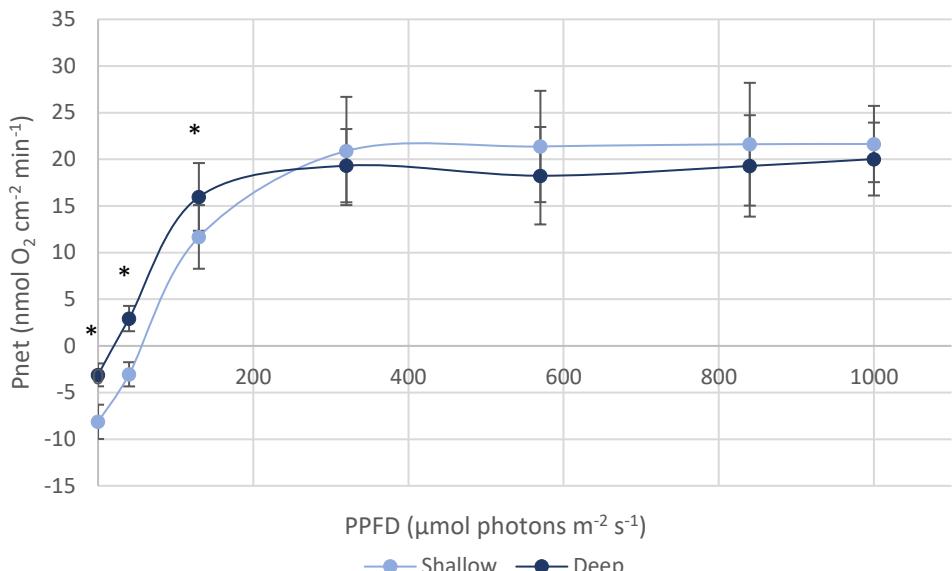


Figure 21 : Courbe de saturation de la photosynthèse nette pour les coraux Shallow ( $N=5$ ) et Deep ( $N=10$ ). Moyennes  $\pm$  écart-types. T-test (0, 40, 130, 320, 570, 840 et 1000  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

### 3.5.2 Photosynthèse brute

La photosynthèse brute ( $P_{brute}$ ) correspond à la quantité de dioxygène produit lors de la photosynthèse sans déduire l'oxygène respiré par l'organisme photosynthétique, elle est calculée en additionnant la photosynthèse nette et la respiration.

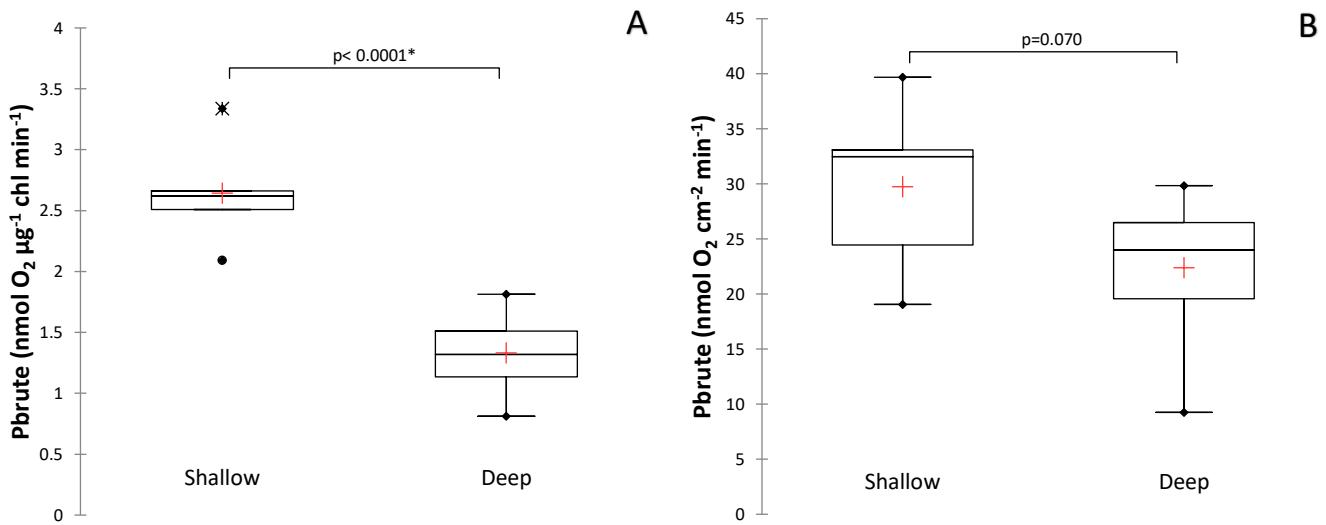


Figure 22 : A) Comparaison de la photosynthèse brute ( $\text{nmol O}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{ chl min}^{-1}$ ) entre des coraux Shallow ( $N=5$ ) et Deep ( $N=10$ ) à 840  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . T-test. B) Comparaison de la photosynthèse brute ( $\text{nmol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ ) entre des coraux Shallow ( $N=5$ ) et Deep ( $N=10$ ) à 840  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . T-test. (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

Lorsqu'elle est exprimée en  $\text{nmol O}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{ chl min}^{-1}$  (Fig. 22A) la photosynthèse brute est significativement plus élevée chez les coraux Shallow. Ces derniers présentent des valeurs environ 2 fois plus importantes que celles des coraux Deep avec respectivement  $2,64 \pm 0,45$  (S) et  $1,33 \pm 0,30$  (D)  $\text{nmol O}_2 \mu\text{g}^{-1} \text{ chl min}^{-1}$ . La photosynthèse brute exprimée en  $\text{nmol O}_2 \text{ cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$  (Fig. 22B) ne diffère pas entre les échantillons Shallow et Deep.

### 3.6 Voies alternatives de transport d'électrons

Lorsqu'il y a moins d'accepteurs d'électrons que d'électrons qui arrivent au niveau des photosystèmes (notamment lors de conditions de stress), les électrons peuvent être détournés de la voie linéaire de transport d'électrons (photosynthèse oxygénique) afin de limiter les dommages qu'un excès d'énergie peut causer à l'appareil photosynthétique et de maintenir un certain équilibre entre l'ATP produit et le NADPH. Ces électrons détournés entrent alors dans ce que l'on appelle les voies alternatives de transport d'électrons (AEF).

#### 3.6.1 Relation PSII/PSI et flux cyclique d'électrons

Le graphe représentant la relation entre les deux taux de transports relatifs d'électrons (Fig. 23) met en évidence une relation presque linéaire entre ces deux paramètres aux plus faibles intensités lumineuses (de 0 à 350  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  pour les coraux Deep et de 0 à 680 pour les coraux Shallow). Au-delà de ces valeurs,  $r\text{ETR}_{\text{PSII}}$  sature, et ce, à des intensités lumineuses plus faibles pour les coraux Deep, alors que  $r\text{ETR}_{\text{PSI}}$  continue d'augmenter avec l'intensité lumineuse.

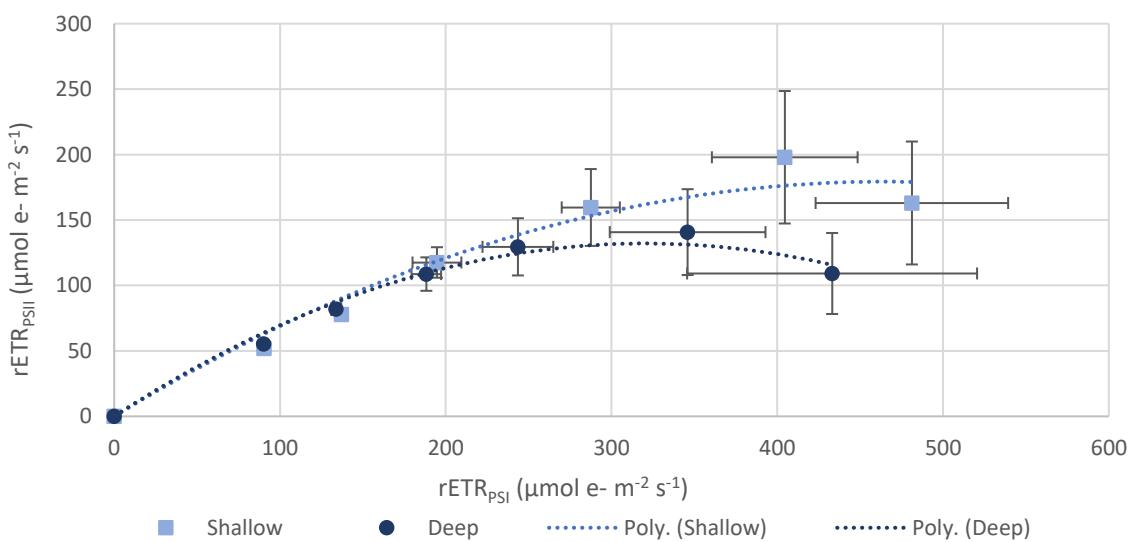


Figure 23 : Relation entre le transport relatif d'électrons du PSII et du PSI des échantillons de coraux Shallow ( $N=5$ ) et Deep ( $N=10$ ). Moyennes  $\pm$  écart-types.

La relation non-linéaire entre  $r\text{ETR}_{\text{PSII}}$  et  $r\text{ETR}_{\text{PSI}}$  en faveur d'un  $r\text{ETR}_{\text{PSI}}$  qui ne sature pas, suggère l'existence d'un flux cyclique d'électrons (CEF) au niveau du PSI à partir d'une certaine intensité lumineuse. L'importance du CEF a été estimée en mesurant le taux de re-réduction de  $\text{P}_700$  en présence de DCMU, le DCMU bloquant les électrons venant du PSII, il n'y a que les électrons réinjectés à partir du PSI qui sont capables de venir re-réduire  $\text{P}_700$ . Le CEF s'est avéré significativement plus élevé pour les coraux Shallow, avec une moyenne de  $25 \pm 10 \text{ e}^- \text{ s}^{-1}$  contre une moyenne de  $6 \pm 2 \text{ e}^- \text{ s}^{-1}$  pour les échantillons Deep (Fig. 24).

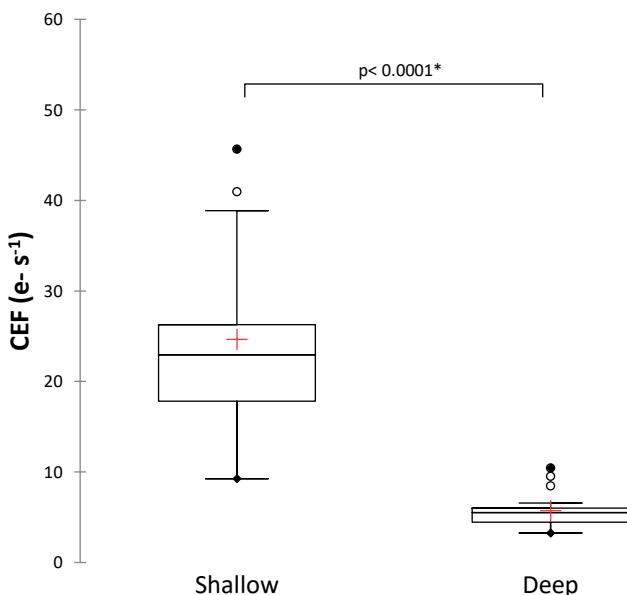


Figure 24 : Flux cyclique d'électrons ( $\text{e}^- \text{ s}^{-1}$ ) dans les échantillons Shallow ( $N=15$ ) et Deep ( $N=20$ ). Test de Mann-Whitney (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).

### 3.6.2 Relation Pnet- $r\text{ETR}_{\text{PSII}}$

Parallèlement aux mesures d' $\text{O}_2$ , les taux de  $r\text{ETR}_{\text{PSII}}$  ont été mesurés. La relation entre la production d' $\text{O}_2$  et le transport relatif d'électrons au niveau du PSII est pratiquement linéaire entre 0 et  $320 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  pour les coraux Shallow et entre 0 et  $130 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  pour les coraux Deep (Fig. 25). Au-delà de ces intensités lumineuses, la production d' $\text{O}_2$  diminue (consommation d' $\text{O}_2$ ) alors que le transport relatif d'électrons au niveau du PSII continue d'augmenter. Cette saturation indique la présence d'AEF impliquant la réduction de de l' $\text{O}_2$  au niveau du chloroplaste, comme la réaction de Mehler.

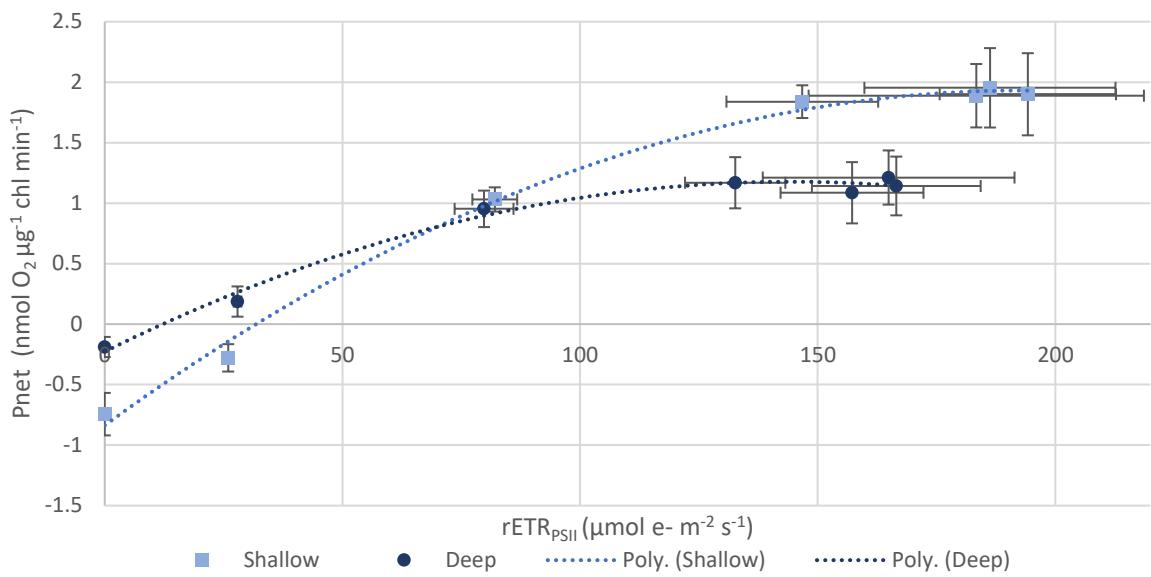


Figure 25 : Relation entre la production d' $O_2$  et le transport relatif d'électrons au niveau du PSII dans des coraux Shallow ( $N=5$ ) et Deep ( $N=10$ ). Mesures à 0, 40, 130, 320, 570, 840 et 1000  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

## Chapitre 4 – Discussion

Les coraux hermatypiques peuvent obtenir de leurs algues symbiotiques jusqu'à 95% du carbone nécessaire pour soutenir leur métabolisme et leur croissance (Muscatine, 1990). La lumière est donc un facteur essentiel qui va directement impacter leur physiologie ainsi que leur distribution en profondeur. Avec cette dernière, ce n'est pas seulement la quantité de lumière qui décroît, le spectre se rétrécit également jusqu'à ce que seuls les rayonnements bleus (~467 nm) persistent au début de la zone aphotique (Einbinder et al., 2016). Ce dernier point implique des adaptations et mécanismes d'acclimatation vis-à-vis de la lumière de la part de l'hôte et de ses symbiontes, les coraux de faible profondeur devant faire face aux fortes intensités lumineuses pour limiter les photo-dommages et les autres devant compenser le manque de lumière disponible pour la photosynthèse.

Le but de ce travail était de comparer les mécanismes de photoacclimatation de colonies de *Stylophora pistillata* de faible et forte profondeur. Des paramètres morphologiques et physiologiques pouvant intervenir dans ces mécanismes ont donc été mesurés. Parmi ceux-ci nous pouvons citer la composition pigmentaire et génétique, l'activité photosynthétique, les mécanismes de dissipation d'énergie sous forme de chaleur et les voies alternatives de transport d'électrons. Les mesures réalisées dans le cadre de ce travail sur des fragments coralliens de fine épaisseur ont l'avantage d'être moins invasives et de tenir compte des effets que l'hôte pourrait avoir sur la photosynthèse tout en restant représentatif de ce qu'il se passe au niveau de l'holobionte (Vega de Luna et al., in press)

### La profondeur induit des variations morphologiques chez *S. pistillata*

Suite à l'observation des échantillons Shallow et Deep récoltés, nous avons remarqué que la profondeur avait un impact sur la morphologie des colonies. Les colonies Deep ont une forme plus aplatie et des « branches » plus fines et plus espacées ce qui permettrait de maximiser la capture de lumière et de minimiser l'ombrage que pourraient se donner les branches entre elles, alors que les colonies Shallow présentent des branches plus épaisses et une forme plus sphérique. Ces observations rejoignent celles faites par Einbinder et al. (2009) et Mass et al. (2007). Le diamètre de branche reflète à la fois l'investissement que les coraux mettent dans leur squelette (calcification moins importante en profondeur) et les conditions hydrodynamiques du milieu (énergie des vagues et courants plus importants en surface). Une diminution du nombre de polypes par cm<sup>2</sup> avec la profondeur a également été observée, cette

diminution pourrait résulter d'une réduction du volume de tissu vivant, réduisant les demandes énergétiques du corail sur ses symbiontes. Cette tendance a été observée pour *S. pistillata* par Einbinder et al. (2009) et Fricke and Schuhmacher (1983) et pour d'autres espèces comme *Orbicella annularis* (Dustan, 1973). Cette diminution de densité en polypes avec la profondeur pourrait avec d'autres paramètres (taille des polypes, différenciation/spécialisation des tentacules, analyses isotopiques) confirmer l'hypothèse selon laquelle ces coraux comptent en plus grosse partie sur un apport nutritif hétérotrophe (Einbinder et al., 2009).

#### La densité en Symbiodiniaceae varie avec la saisonnalité et la profondeur

Nos résultats indiquent une diminution d'environ 50% de la densité en Symbiodiniaceae entre 10 et 45 m de profondeur, ce qui est en accord avec les observations faites par Mass et al. (2007) sur *S. pistillata* à la même période de l'année. La densité en Symbiodiniaceae varie en fonction de la saisonnalité (fonction de la quantité de lumière incidente), de la quantité en nutriments et de la profondeur. En automne-hiver, la densité en symbiontes a tendance à diminuer avec la profondeur chez *S. pistillata* alors qu'une tendance inverse s'observe vers le printemps-été, cependant moins marquée (Mass et al., 2007). En effet, durant cette période, lorsque l'intensité lumineuse est plus élevée, la densité en surface tend à diminuer ce qui permet de limiter les quantités de ROS produites en excès. Durant la période hivernale, la densité en symbiontes tend à diminuer avec la profondeur en raison de la luminosité limitée ce qui diminue d'une part les coûts énergétiques pour l'hôte et d'autre part la compétition pour la lumière entre les symbiontes. Cette variation avec la profondeur a aussi été observée chez *O. annularis* qui voit sa densité en symbiontes diminuer d'un facteur 3 entre 1 et 45 m (Mass et al., 2007). A l'inverse, des coraux du genre *Acropora* venant de zones biogéographiques différentes et n'hébergeant pas les mêmes symbiontes, montrent en été une augmentation significative de la densité en symbiontes avec la profondeur (comparaison faite entre 6 et 18 m) (Ladrière et al., 2014). Ceci met en évidence qu'il existe une variabilité dans les mécanismes de photoacclimation entre les genres/espèces de coraux scléractiniaires : certains vont garder leurs symbiontes et moduler leur densité alors que d'autres peuvent changer leur composition génétique (shift) avec la profondeur comme nous le décrirons plus tard (Ladrière et al., 2014; Sheppard et al., 2017).

### Les Symbiodiniaceae s'acclimatent à la diminution de lumière en augmentant leur contenu pigmentaire

En hiver, la densité cellulaire n'augmente pas avec la profondeur, la pigmentation plus marquée de *S. pistillata* en profondeur ne résulte donc pas d'une augmentation en cellules algales mais plutôt d'une augmentation générale des concentrations en pigments, comme l'ont confirmé nos analyses pigmentaires. Des études réalisées sur *S. pistillata* (Mass et al., 2007, 2010) et autres espèces comme *Montastraea cavernosa* et *Seriatopora hystrix* (Mer Rouge) montrent également des concentrations en chl-a plus élevées avec la profondeur. Une diminution de concentration avec la profondeur est également observée pour *Pachyseris speciosa* ou *S. hystrix* du côté ouest de l'Australie démontrant que ce mécanisme ne dépend pas seulement des espèces mais présente aussi des variations intraspécifiques (Kahng et al., 2014). Chez *S. pistillata*, cette augmentation cellulaire des concentrations en chlorophylles (*a* et *c2*) et péricidine, et donc de la taille des unités photosynthétiques (PSU), permettrait d'optimiser la capture de lumière lorsque celle-ci diminue avec la profondeur (Nir et al., 2011; Sheppard et al., 2017). Les concentrations en β-carotène sont significativement plus élevées dans les coraux Deep mais ne représentent cependant qu'une très petite proportion du contenu pigmentaire pour les deux types d'échantillons de coraux. Nous aurions pu penser qu'en raison de ses propriétés antioxydantes, ce pigment aurait été plus présent dans les échantillons Shallow, soumis à des intensités lumineuses plus élevées. En raison de ses faibles concentrations nous pouvons donc supposer que ce pigment ne joue pas un rôle majeur dans les mécanismes antioxydants. Nous observons donc une augmentation générale des concentrations pigmentaires avec la profondeur, plutôt qu'une variation spécifique des pigments impliqués dans la capture de lumière. La conversion de la diadinoxanthine (DDX) en diatoxanthine (DDT) (cycle des xanthophylles), composante du « Non-Photochemical Quenching » permet de dissiper un excès d'énergie sous forme de chaleur. Pour les mêmes raisons que le β-carotène on aurait pu s'attendre à en observer de plus grandes quantités dans les échantillons Shallow mais le traitement appliqué aux échantillons ne permettait pas de quantifier tous les pigments xanthophylles.

### L'efficacité photosynthétique des Symbiodiniaceae diffère avec la profondeur

Les taux de photosynthèse (exprimés par rapport à la chlorophylle ; nmol O<sub>2</sub> µg<sup>-1</sup>chl min<sup>-1</sup>) mesurés à des intensités lumineuses croissantes mettent en évidence que les coraux Shallow

et Deep ont des taux optimaux de photosynthèse ( $P_{max}$ ) aux intensités lumineuses auxquelles ils sont naturellement exposés, et qu'ils sont par conséquent plus faibles pour les coraux Deep. Par contre, lorsque l'on analyse ces résultats au niveau de l'holobionte, on remarque que les coraux Deep arrivent à atteindre des valeurs de  $P_{max}$  similaires à celles des coraux Shallow vraisemblablement en raison de leurs concentrations plus élevées en chlorophylles. Aux faibles intensités lumineuses, une différence significative persiste entre les échantillons Shallow et Deep indiquant que les coraux Shallow captureraient moins efficacement les photons dans des conditions de faibles intensités lumineuses. Ces résultats montrent que les symbiontes présents dans chaque type d'échantillon sont donc adaptés aux conditions lumineuses auxquelles ils sont soumis, les Deep arrivant à compenser le manque de lumière. Une autre stratégie possible pour maximiser la capture de lumière avec la profondeur serait d'augmenter la densité en Symbiodiniaceae mais celle-ci ne serait pas nécessairement avantageuse en condition de faible luminosité car les algues pourraient alors entrer en compétition pour la lumière par le phénomène d'auto-ombrage (« self-shading » ou « packaging effect ») (Winters et al., 2009).

#### L'extinction non-photochimique et les voies alternatives de transport d'électrons sont plus importantes chez les coraux de faible profondeur

Aux plus fortes intensités lumineuses, les coraux Shallow montrent des taux de NPQ environ deux fois plus élevés que ceux des coraux Deep. Ce qui indique, comme l'a souligné Einbinder et al. (2016), que le NPQ est une réponse plus spécifique aux coraux Shallow. Malgré le fait que nous n'avons pas pu quantifier les xanthophylles, il a été démontré que ces dernières jouaient un rôle important dans la photoprotection chez les Symbiodiniaceae. En effet leur activité est corrélée positivement avec la luminosité, se maintient en cas d'exposition à la lumière et suit le rythme jour-nuit à la fois en culture et en symbiose. Le fait que cette réponse soit plus observée chez les coraux de faible profondeur suggère qu'il existe des variations au sein des espèces de Symbiodiniaceae et que celles-ci seraient liées au pool de pigments présents avant l'exposition lumineuse. Par ailleurs, l'hôte peut également moduler la lumière transmise aux Symbiodiniaceae (rétractation de polypes et atténuation par les tissus hôtes) ce qui complique l'établissement d'une liaison potentielle entre la génétique et la portée de ce mécanisme (Warner and Suggett, 2016).

Les mesures des transports relatifs d'électrons au sein des photosystèmes I et II (rETR en fonction de PPFD) mettent en évidence que le PSII, contrairement au PSI, montre des signes de photoinhibition aux fortes intensités lumineuses alors que le transport relatif d'électrons au niveau du PSI continue d'augmenter. Ceci a également été observé par Hoogenboom et al. (2012) et pourrait s'expliquer par le fait que le PSII soit plus sensible aux stress thermiques et lumineux. La protéine D1 qui le compose ainsi que son mécanisme de réparation assurent la fonctionnalité du PSII et sont tous deux impactés négativement par de fortes températures et/ou intensités lumineuses (Takahashi et al., 2004).

La relation entre ces deux transports relatifs d'électrons montre qu'aux fortes intensités lumineuses, le flux d'électrons continue d'augmenter au niveau du PSI alors qu'il sature au niveau du PSII, ce qui suggère que des électrons du PSI (côté accepteur) sont réinjectés en amont du PSI (côté donneur)(Cardol et al., 2011). La capacité à détourner les électrons de la voie de transport linéaire (photosynthèse oxygénique) a été calculée à partir de la vitesse de re-réduction du PSI en bloquant le PSII avec du DCMU. Les résultats de ces mesures indiquent que les coraux Shallow présentent des capacités accrues à utiliser ce mécanisme de photoprotection. En effet en détournant les électrons de la voie linéaire, ce mécanisme diminue la pression d'excitation exercée sur les photosystèmes et produit de l'ATP supplémentaire utile à la fixation du CO<sub>2</sub> ou d'autres réactions métaboliques (Roberty et al., 2014) impliquées par exemple dans la synthèse d'enzymes antioxydantes. Il est intéressant de noter que les coraux Deep habituellement exposés à des intensités lumineuses plus faibles (20 X plus faibles que les coraux Shallow) et moins fluctuantes présentent aussi une capacité à effectuer du transport cyclique d'électrons lorsqu'ils sont exposés à de fortes intensités lumineuses.

La relation entre la production d'O<sub>2</sub> (P<sub>net</sub>) et rETR<sub>PSII</sub> a permis de comparer l'importance des voies alternatives de transport d'électrons réduisant l'O<sub>2</sub>, chez des Symbiodiniaceae de coraux Shallow et Deep. Des mesures similaires ont été réalisées précédemment par Roberty et al. (2014) sur plusieurs clades de Symbiodiniaceae en cultures en utilisant différents inhibiteurs. Ces résultats ont permis de démontrer que la réaction de Mehler était en plus grande partie responsable de la réduction d'O<sub>2</sub> aux plus fortes intensités lumineuses, que les processus de photorespiration et de chlororespiration qui en consomment également (Roberty et al., 2014).

Plus spécifiquement, les mesures prises sur deux souches de Symbiodiniaceae appartenant au clade A1 (*Symbiodinium microadriaticum*) : Avir et Stylodid (prélevées sur *S. pistillata* en Mer Rouge), correspondent aux résultats obtenus « *in vivo* » dans ce travail et montrent une consommation d'oxygène par la réaction de Mehler aux alentours de 400 µmol photons m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. Ce à quoi nous pouvions nous attendre en apprenant grâce aux analyses génétiques que les Symbiodiniaceae des coraux Shallow appartiennent majoritairement au clade A1 (*S. microadriaticum*) (Dang et al., 2019; Roberty et al., 2015).

En plus d'alléger la pression d'excitation sur les photosystèmes, en consommant l'O<sub>2</sub> au niveau du chloroplaste, la réaction de Mehler diminue la possibilité pour la Rubisco de type II d'exercer son activité oxygénase et favorise en conséquence la fixation de CO<sub>2</sub>. Lors de cette réaction, de l'O<sub>2</sub> est réduit au niveau du PSI et génère des ions superoxydes (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>) qui sont ensuite rapidement détoxifiés par les enzymes antioxydantes (SOD, APX) (Einbinder et al., 2016; Roberty et al., 2014). Ce processus ne nuit donc pas à la cellule tant que les mécanismes antioxydants ne sont pas dépassés comme ils peuvent l'être en condition de stress (Roberty et al., 2015).

#### Génétique – Adaptation ou Acclimatation

Après avoir mis en évidence les stratégies et mécanismes adoptés par les colonies de *S. pistillata* de faible et forte profondeur, il reste à déterminer si les différences observées sont dues aux espèces présentes aux deux profondeurs étudiées (adaptation) ou à une capacité d'acclimatation des symbiontes.

Les analyses génétiques ont montré que les colonies de *S. pistillata* de faible profondeur à Eilat hébergent majoritairement *S. microadriaticum* (clade A, ITS2-type A1) alors que les colonies profondes possèdent majoritairement des Symbiodiniaceae du genre *Cladocopium* (ITS2-type C72 et ses variants). Nos résultats rejoignent les observations faites par Einbinder et al. (2016) et Winters et al. (2009). Les cas où les coraux changent d'endosymbiontes avec la profondeur ne sont pas rares. Dans les Caraïbes, par exemple, *Montastraea annularis* et *Acropora cervicornis* (Winters et al., 2009) ont également du clade A en faible profondeur et du clade C en profondeur. *S. hystrix* passe du clade D au clade C avec la profondeur, le clade D étant avantageux aux fortes intensités lumineuses (stockage d'énergie sous forme de lipides) mais génère un coût trop important s'il est maintenu en profondeur (diminution du

rapport photosynthèse/respiration) (Bongaerts et al., 2011). Cependant, il a aussi été observé que *S. pistillata* dans la Grande Barrière de Corail en Australie pouvait également héberger les mêmes symbiontes (variants du clade C) tout le long de sa distribution verticale (Winters et al., 2009). La composition en symbiontes est donc dépendante de l'espèce hôte et de la distribution géographique et bathymétrique des Symbiodiniaceae.

Dans certaines conditions environnementales la capacité à s'établir le long d'un gradient lumineux serait donc due à une capacité de changer sa composition en symbiontes (avantage compétitif en hébergeant les symbiontes les « mieux adaptés »). Pour d'autres espèces soumises à des conditions environnementales différentes, l'avantage résiderait dans le fait de posséder des symbiontes présentant une grande capacité à s'acclimater à différents régimes lumineux. Ces deux stratégies sont évidemment à mettre en relation avec les autres facteurs qui influencent l'établissement et la survie des coraux, ainsi que la stabilité temporelle de l'environnement dans lequel ils résident (Winters et al., 2009).

Winters (et al. 2009) a également suggéré que la prédominance du clade C en profondeur chez certaines espèces pouvait s'expliquer par leur capacité à utiliser la lumière bleue pour la photosynthèse et leur plus grande sensibilité aux variations de température. D'après d'autres auteurs, les Symbiodiniaceae de Clade A, et plus particulièrement A1 (*S. microadriaticum*) que l'on retrouve dans nos échantillons Shallow, possèderaient des mécanismes plus efficaces de protection à la lumière (CEF, NPQ, chlororespiration) que d'autres Symbiodiniaceae étudiées en cultures (Reynolds et al., 2008; Roberty et al., 2014).

## Chapitre 5 – Conclusion et perspectives

Cette étude montre que les mécanismes de photoacclimatation à la profondeur vont impliquer, chez *S. pistillata*, des processus à la fois morphologiques, physiologiques et génétiques. La structure aplatie et le fin diamètre des branches des colonies profondes de *S. pistillata* vont respectivement permettre de maximiser la capture de lumière et de limiter l'auto-ombrage des colonies, alors que celle des colonies de faible profondeur, plus massive et arrondie, leur permet notamment de mieux résister à de plus fortes conditions hydrodynamiques. En hiver, les conditions lumineuses n'étant pas optimales pour la photosynthèse en profondeur, la densité en Symbiodiniaceae plus faible chez les coraux profonds s'explique par le fait que l'hôte réduit sa densité en symbiontes de manière à ce que l'hébergement de ces derniers ne devienne trop coûteux énergétiquement. Par ailleurs, l'augmentation générale du contenu pigmentaire observée dans les Symbiodiniaceae des colonies Deep confirme que *S. pistillata* à Eilat s'acclimate à la lumière grâce à l'augmentation des concentrations pigmentaires de ses symbiontes plutôt qu'en modulant la densité de ces derniers. Les mesures de photosynthèse exprimées par µg de chlorophylle montrent que les coraux de faible profondeur ont des meilleurs taux de photosynthèse aux hautes intensités lumineuses mais lorsque l'on regarde ces mesures au niveau de l'holobionte, on se rend compte que ces taux sont similaires à une même intensité lumineuse donnée pour les deux types de coraux. Les mesures de photosynthèse au niveau de l'holobionte mettent donc en évidence que malgré une diminution de la densité en symbiontes, les coraux Deep atteignent des valeurs de  $P_{max}$  similaires à celles des coraux de faible profondeur, et ce, grâce à l'augmentation des concentrations pigmentaires.

D'autre part, les résultats obtenus pour les mécanismes de protection (NPQ) et les voies alternatives de transport d'électrons nous montrent qu'il existe bien une différence entre les coraux de faible et forte profondeur dans la portée/efficacité de ces mécanismes et que ceux-ci sont plus importants à faible profondeur.

La composition génétique en Symbiodiniaceae varie avec la profondeur pour beaucoup d'espèces ayant une large distribution verticale, ce qui suggère que l'origine génétique des symbiontes pourrait jouer un rôle important dans les processus d'adaptation/d'acclimatation de l'holobionte aux conditions lumineuses auxquelles il est exposé. Les colonies Deep peuvent cependant montrer des réponses typiques de colonies Shallow (légère augmentation du NPQ,

CEF, réaction de Mehler) lorsqu'elles sont exposées à de fortes intensités lumineuses, ce qui suggère qu'il y a une part d'acclimatation qui leur permet de résister, dans une certaine mesure, à de fortes intensités lumineuses.

Afin de clarifier l'implication de la génétique dans les processus de photoacclimatation il serait intéressant d'étudier des coraux qui possèdent les mêmes symbiontes tout le long d'un gradient vertical de luminosité. Ceci permettrait de n'observer que les effets de la profondeur et refléterait directement les capacités d'acclimatation des symbiontes. Une autre possibilité serait de transplanter des colonies Shallow en profondeur et des colonies Deep en surface et de pouvoir comparer leurs réponses physiologiques avant et après transplantation tout en regardant si la composition génétique en Symbiodiniaceae varie au cours de l'expérience d'acclimatation. Les résultats présentés dans ce travail concernent des colonies prélevées à Eilat en Mer Rouge, en analysant cette même espèce dans d'autres régions, nous pourrions avoir une idée de l'effet des conditions environnementales sur les mécanismes de photoprotection. Nous pourrions aussi comparer nos résultats à ceux d'une espèce qui augmente sa densité en Symbiodiniaceae avec la profondeur afin de mieux comprendre ce qui caractérise ces deux stratégies de photoacclimatation contrastées. Pour finir, il serait également intéressant dans le contexte du changement climatique, de superposer un stress thermique au stress lumineux afin de comparer la sensibilité des coraux profonds et de faible profondeur et l'amplitude des voies alternatives de transport d'électrons dans ces conditions.

## BIBLIOGRAPHIE

- Allsopp, M., Pambuccian, S. E., Johnston, P., and Santillo, D. (2008). In *State of the World's Oceans*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9116-2>
- Apel, K., and Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: Metabolism, Oxidative Stress, and Signal Transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55(1), 373–399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
- Ben-Zvi, O., Tamir, R., Keren, N., Tchernov, D., Berman-Frank, I., Kolodny, Y., Benaltabet, T., Bavli, H., Friedman, M., Glanz-Idan, N., Traugott, H., Loya, Y., and Eyal, G. (2020). Photophysiology of a mesophotic coral 3 years after transplantation to a shallow environment. *Coral Reefs*, 39(4), 903–913. <https://doi.org/10.1007/s00338-020-01910-0>
- Bongaerts, P., Sampayo, E. M., Bridge, T. C. L., Ridgway, T., Vermeulen, F., Englebert, N., Webster, J. M., and Hoegh-Guldberg, O. (2011). *Symbiodinium* diversity in mesophotic coral communities on the Great Barrier Reef: A first assessment. *Marine Ecology Progress Series*, 439, 117–126. <https://doi.org/10.3354/meps09315>
- Brown, B. E., Downs, C. A., Dunne, R. P., and Gibb, S. W. (2002). Preliminary evidence for tissue retraction as a factor in photoprotection of corals incapable of xanthophyll cycling. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 277(2), 129–144. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(02\)00305-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(02)00305-2)
- Cardol, P., Forti, G., and Finazzi, G. (2011). Regulation of electron transport in microalgae. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1807(8), 912–918. <https://doi.org/10.1016/j.bbabiobio.2010.12.004>
- Casano, L. M., Zapata, M., and Martí, M. (2000). Chlororespiration and Poising of Cyclic Electron Transport. *Biochemistry*, 275(2), 942–948.
- Dang, K. Van, Pierangelini, M., Roberty, S., and Cardol, P. (2019). Alternative Photosynthetic Electron Transfers and Bleaching Phenotypes Upon Acute Heat Stress in *Symbiodinium* and *Breviolum* spp. (Symbiodiniaceae) in Culture. *Frontiers in Marine Science*, 6, 1–10. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00656>
- Davy, S. K., Allemand, D., and Weis, V. M. (2012). Cell Biology of Cnidarian-Dinoflagellate Symbiosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76(2), 229–261. <https://doi.org/10.1128/mmbr.05014-11>
- Dias, M., Madeira, C., Jogee, N., Ferreira, A., Gouveia, R., Cabral, H., Diniz, M., and Vinagre, C. (2019). Oxidative stress on scleractinian coral fragments following exposure to high temperature and low salinity. *Ecological Indicators*, 107, 105586. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105586>
- Douglas, A. E. (2003). Coral bleaching—how and why? In *Marine Pollution Bulletin*, 46(4), 385–392. Elsevier Ltd. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00037-7](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00037-7)

- Downs, C. A., Kramarsky-Winter, E., Woodley, C. M., Downs, A., Winters, G., Loya, Y., and Ostrander, G. K. (2009). Cellular pathology and histopathology of hypo-salinity exposure on the coral *Stylophora pistillata*. *Science of the Total Environment*, 407(17), 4838–4851. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.015>
- Dustan, P. (1973). Distribution of zooxanthellae and photosynthetic chloroplast pigments of the reef-building coral *Montastrea annularis* Ellis and Solander in Relation to Depth on a West Indian Coral Reef. *Bulletin of Marine Science*, 29(1), 79–95.
- Eberhard, S., Finazzi, G., and Wollman, F.-A. (2008). The Dynamics of Photosynthesis. *Annual Review of Genetics*, 42(1), 463–515. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.42.110807.091452>
- Einbinder, S., Gruber, D. F., Salomon, E., Liran, O., Keren, N., and Tchernov, D. (2016). Novel adaptive photosynthetic characteristics of mesophotic symbiotic microalgae within the reef-building coral, *Stylophora pistillata*. *Frontiers in Marine Science*, 3, 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00195>
- Einbinder, S., Mass, T., Brokovich, E., Dubinsky, Z., Erez, J., and Tchernov, D. (2009). Changes in morphology and diet of the coral *Stylophora pistillata* along a depth gradient. *Marine Ecology Progress Series*, 381, 167–174. <https://doi.org/10.3354/meps07908>
- Eyal, G., Cohen, I., Eyal-Shaham, L., Ben-Zvi, O., Tikochinski, Y., and Loya, Y. (2019). Photoacclimation and induction of light-enhanced calcification in the mesophotic coral *Euphyllia paradoxa*. *Royal Society Open Science*, 6(2), 180527.
- Fricke, H. W., and Schuhmacher, H. (1983). The Depth Limits of Red Sea Stony Corals: An Ecophysiological Problem (A Deep Diving Survey by Submersible). *Marine Ecology*, 4(2), 163–194. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.1983.tb00294.x>
- Gardner, S. G., Camp, E. F., Smith, D. J., Kahlke, T., Osman, E. O., Gendron, G., Hume, B. C. C., Pogoreutz, C., Voolstra, C. R., and Suggett, D. J. (2019). Coral microbiome diversity reflects mass coral bleaching susceptibility during the 2016 El Niño heat wave. *Ecology and Evolution*, 9(3), 938–956. <https://doi.org/10.1002/ece3.4662>
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, A. J., Steneck, R. S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C. D., Sale, P. F., Edwards, A. J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C. M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R. H., Dubi, A., and Hatziolos, M. E. (2007). Coral Reefs under Rapid Climate Change and Ocean Acidification. *Science*, 318(5857), 1737–1742. <https://doi.org/10.1126/science.1152509>
- Hoegh-Guldberg, O. (2005). Low coral cover in a high-CO<sub>2</sub> world. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 110(C9).
- Hoogenboom, M. O., Campbell, D. A., Beraud, E., DeZeeuw, K., and Ferrier-Pagès, C. (2012). Effects of light, food availability and temperature stress on the function of photosystem

II and photosystem I of coral symbionts. *PLoS ONE*, 7(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030167>

Houlbreque, F., and Ferrier-Pages, C. (2009). Heterotrophy in Tropical Scleractinian Corals. *Biological Reviews*, 84(1), 1–17. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00058.x>

Hume, B. C. C., Smith, E. G., Ziegler, M., Warrington, H. J. M., Burt, J. A., LaJeunesse, T. C., Wiedenmann, J., and Voolstra, C. R. (2019). SymPortal: A novel analytical framework and platform for coral algal symbiont next-generation sequencing ITS2 profiling. *Molecular Ecology Resources*, 19(4), 1063–1080. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13004>

Hume, B. C. C., Ziegler, M., Poulain, J., Pochon, X., Romac, S., Boissin, E., de Vargas, C., Planes, S., Wincker, P., and Voolstra, C. R. (2018). An improved primer set and amplification protocol with increased specificity and sensitivity targeting the *Symbiodinium* ITS2 region. *PeerJ*, 2018(5), 1–22. <https://doi.org/10.7717/peerj.4816>

Jokiel, P. L. (2011). The reef coral two compartment proton flux model: A new approach relating tissue-level physiological processes to gross corallum morphology. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 409(1–2), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.10.008>

Kahng, S., Copus, J. M., and Wagner, D. (2017). Mesophotic coral ecosystems. In *Marine Animal Forests: The Ecology of Benthic Biodiversity Hotspots*. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-21012-4\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-21012-4_4)

Kahng, S., Copus, J. M., and Wagner, D. (2014). Recent advances in the ecology of mesophotic coral ecosystems (MCEs). *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 7, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2013.11.019>

Kaniewska, P., Anthony, K. R. N., and Hoegh-Guldberg, O. (2008). Variation in colony geometry modulates internal light levels in branching corals, *Acropora humilis* and *Stylophora pistillata*. *Marine Biology*, 155(6), 649–660. <https://doi.org/10.1007/s00227-008-1061-5>

Knowlton, N. (2001). The future of coral reefs. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(10), 5419 – 5425. <https://doi.org/10.1073/pnas.091092998>

Krämer, W. E., Caamaño-Ricken, I., Richter, C., and Bischof, K. (2012). Dynamic regulation of photoprotection determines thermal tolerance of two phylotypes of *symbiodinium* clade a at two photon fluence rates. *Photochemistry and Photobiology*, 88(2), 398–413. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.2011.01048.x>

Ladrière, O., Penin, L., Van Lierde, E., Vidal-Dupiol, J., Kayal, M., Roberty, S., Pouliceck, M., and Adjeroud, M. (2014). Natural spatial variability of algal endosymbiont density in the coral *Acropora globiceps*: A small-scale approach along environmental gradients around Moorea (French Polynesia). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 94(1), 65–74. <https://doi.org/10.1017/S0025315413001252>

- Lesser, M. P., Slattery, M., and Mobley, C. D. (2018). Biodiversity and Functional Ecology of Mesophotic Coral Reefs. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 49(1), 49–71. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110617-062423>
- Mansfield, K. M., and Gilmore, T. D. (2019). Innate immunity and cnidarian-Symbiodiniaceae mutualism. *Developmental and Comparative Immunology*, 90, 199–209. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.09.020>
- Mass, T., Einbinder, S., Brokovich, E., Shashar, N., Vago, R., Erez, J., and Dubinsky, Z. (2007). Photoacclimation of *Stylophora pistillata* to light extremes: Metabolism and calcification. *Marine Ecology Progress Series (Halstenbek)*, 334, 93–102. <https://doi.org/10.3354/meps334093>
- Mass, T., Kine, D. I., Roopin, M., Veal, C. J., Cohen, S., Iluz, D., and Levy, O. (2010). The spectral quality of light is a key driver of photosynthesis and photoadaptation in *Stylophora pistillata* colonies from different depths in the Red Sea. *Journal of Experimental Biology*, 213(23), 4084–4091. <https://doi.org/10.1242/jeb.039891>
- McClanahan, T. R., Weil, E., and Baird, A. H. (2018). Consequences of coral bleaching for sessile reef organisms. In *Coral bleaching*. Springer Berlin Heidelberg. 205, 121–138. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-69775-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-3-540-69775-6_8)
- Mieog, J. C., Van Oppen, M. J. H., Cantin, N. E., Stam, W. T., and Olsen, J. L. (2007). Real-time PCR reveals a high incidence of *Symbiodinium* clade D at low levels in four scleractinian corals across the Great Barrier Reef: Implications for symbiont shuffling. *Coral Reefs*, 26(3), 449–457. <https://doi.org/10.1007/s00338-007-0244-8>
- Moberg, F., and Folke, C. (1999). Ecological goods and services of coral reef ecosystems. *Ecological Economics*, 29(2), 215–233. [https://doi.org/10.1016/S0921-8009\(99\)00009-9](https://doi.org/10.1016/S0921-8009(99)00009-9)
- Müller, P., Li, X. P., and Niyogi, K. K. (2001). Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiology*, 125(4), 1558–1566. <https://doi.org/10.1104/pp.125.4.1558>
- Muscatine, L. (1990). The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. *Coral Reefs*, 25, 1–29.
- Nelson, N., and Yocom, C. F. (2006). Structure and function of photosystems I and II. *Annual Review of Plant Biology*, 57(1), 521–565. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105350>
- Nir, O., Gruber, D. F., Einbinder, S., Kark, S., and Tchernov, D. (2011). Changes in scleractinian coral *Seriatopora hystrix* morphology and its endocellular *Symbiodinium* characteristics along a bathymetric gradient from shallow to mesophotic reef. *Coral Reefs*, 30(4), 1089–1100. <https://doi.org/10.1007/s00338-011-0801-z>
- Nir, O., Gruber, D. F., Shemesh, E., Glasser, E., and Tchernov, D. (2014). Seasonal mesophotic

coral bleaching of *Stylophora pistillata* in the northern Red Sea. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084968>

Nugent, J. H. A. (1996). Oxygenic photosynthesis Electron transfer in photosystem I and photosystem II. *European Journal of Biochemistry*, 237(3), 519–531. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.00519.x>

Ort, D. R., and Baker, N. R. (2002). A photoprotective role for O<sub>2</sub> as an alternative electron sink in photosynthesis? *Current Opinion in Plant Biology*, 5(3), 193–198. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00259-5](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00259-5)

Reynolds, J. M. C., Bruns, B. U., Fitt, W. K., and Schmidt, G. W. (2008). Enhanced photoprotection pathways in symbiotic dinoflagellates of shallow-water corals and other cnidarians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(44), 17206. <https://doi.org/10.1073/pnas.0809220105>

Ritchie, R. J. (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research*, 89(1), 27–41. <https://doi.org/10.1007/s11120-006-9065-9>

Roberty, S., Fransolet, D., Cardol, P., Plumier, J. C., and Franck, F. (2015). Imbalance between oxygen photoreduction and antioxidant capacities in *Symbiodinium* cells exposed to combined heat and high light stress. *Coral Reefs*, 34(4), 1063–1073. <https://doi.org/10.1007/s00338-015-1328-5>

Roberty, S., Furla, P., and Plumier, J. C. (2016). Differential antioxidant response between two *Symbiodinium* species from contrasting environments. *Plant Cell and Environment*, 39(12), 2713–2724. <https://doi.org/10.1111/pce.12825>

Roberty, S., Bailleul, B., Berne, N., Franck, F., and Cardol, P. (2014). PSI Mehler reaction is the main alternative photosynthetic electron pathway in *Symbiodinium* sp., symbiotic dinoflagellates of cnidarians. *New Phytologist*, 204(1), 81–91. <https://doi.org/10.1111/nph.12903>

Rochaix, J. D. (2011). Regulation of photosynthetic electron transport. *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics*, 1807(3), 375–383. <https://doi.org/10.1016/j.bbabiobio.2010.11.010>

Roth, M. S. (2014). The engine of the reef: Photobiology of the coral-algal symbiosis. *Frontiers in Microbiology*, 5, 422-. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00422>

Rowan, R. (2004). Thermal adaptation in reef coral symbionts. *Nature*, 430(7001), 742. <https://doi.org/10.1038/430742a>

Rumeau, D., Peltier, G., and Cournac, L. (2007). Chlororespiration and cyclic electron flow around PSI during photosynthesis and plant stress response. *Plant, Cell and Environment*, 30(9), 1041–1051. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01675.x>

- Schreiber, U., and Klughammer, C. (2008). Non-photochemical fluorescence quenching and quantum yields in PS I and PS II: analysis of heat-induced limitations using Maxi-Imaging-PAM and Dual-PAM-100. *PAM Application Notes*, 1, 15–18.
- Sheppard, C., Davy, S., Pilling, G., and Graham, N. (2017). *The biology of coral reefs*. Oxford University Press.
- Smith, D. J., Suggett, D. J., and Baker, N. R. (2005). Is photoinhibition of zooxanthellae photosynthesis the primary cause of thermal bleaching in corals? *Global Change Biology*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2003.00895.x>
- Spalding, M. (2001). *World atlas of coral reefs*. University of California Press.
- Staehelin, L. A. (1986). Chloroplast structure and supramolecular organization of photosynthetic membranes. In *Photosynthesis III* (pp. 1–84). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-70936-4\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-70936-4_1)
- Stimson, J., and Kinzie, R. A. (1991). The temporal pattern and rate of release of zooxanthellae from the reef coral *Pocillopora damicornis* (Linnaeus) under nitrogen-enrichment and control conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 153(1), 63–74. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(05\)80006-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0022-0981(05)80006-1)
- Taiz, L., and Zeiger, E. (2002). *Plant physiology*. Sinauer associates.
- Takahashi, S., Nakamura, T., Sakamizu, M., Woesik, R. van, and Yamasaki, H. (2004). Repair Machinery of Symbiotic Photosynthesis as the Primary Target of Heat Stress for Reef-Building Corals. *Plant and Cell Physiology*, 45(2), 251–255. <https://doi.org/10.1093/pcp/pch028>
- Ulstrup, K. E., Berkelmans, R., Ralph, P. J., and Van Oppen, M. J. H. (2006). Variation in bleaching sensitivity of two coral species across a latitudinal gradient on the Great Barrier Reef: The role of zooxanthellae. *Marine Ecology Progress Series*, 314, 135–148. <https://doi.org/10.3354/meps314135>
- van Oppen, M. J. H. (2018). *Coral Bleaching Patterns, Processes, Causes and Consequences* (2nd ed. 2018.). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-75393-5>
- Vega de Luna, F., Córdoba-Granados, J. J., Dang, K. Van, Roberty, S., and Cardol, P. (in press). Biophysical analyses of respiration and photosynthesis on small coral fragments: assessment of mitochondrial alternative oxidase and cyclic photosynthetic electron flow. *Scientific Reports*.
- Warner, M. E., and Berry-Lowe, S. (2006). Differential xanthophyll cycling and photochemical activity in symbiotic dinoflagellates in multiple locations of three species of Caribbean coral. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 339(1), 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2006.07.011>

Warner, M. E., and Suggett, D. J. (2016). The Photobiology of *Symbiodinium* spp.: Linking Physiological Diversity to the Implications of Stress and Resilience. In *The Cnidaria, Past, Present and Future* (pp. 489–509). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-31305-4\\_30](https://doi.org/10.1007/978-3-319-31305-4_30)

Weis, V. M. (2008). Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: Stress causes the collapse of symbiosis. *Journal of Experimental Biology*, 211(19), 3059–3066. <https://doi.org/10.1242/jeb.009597>

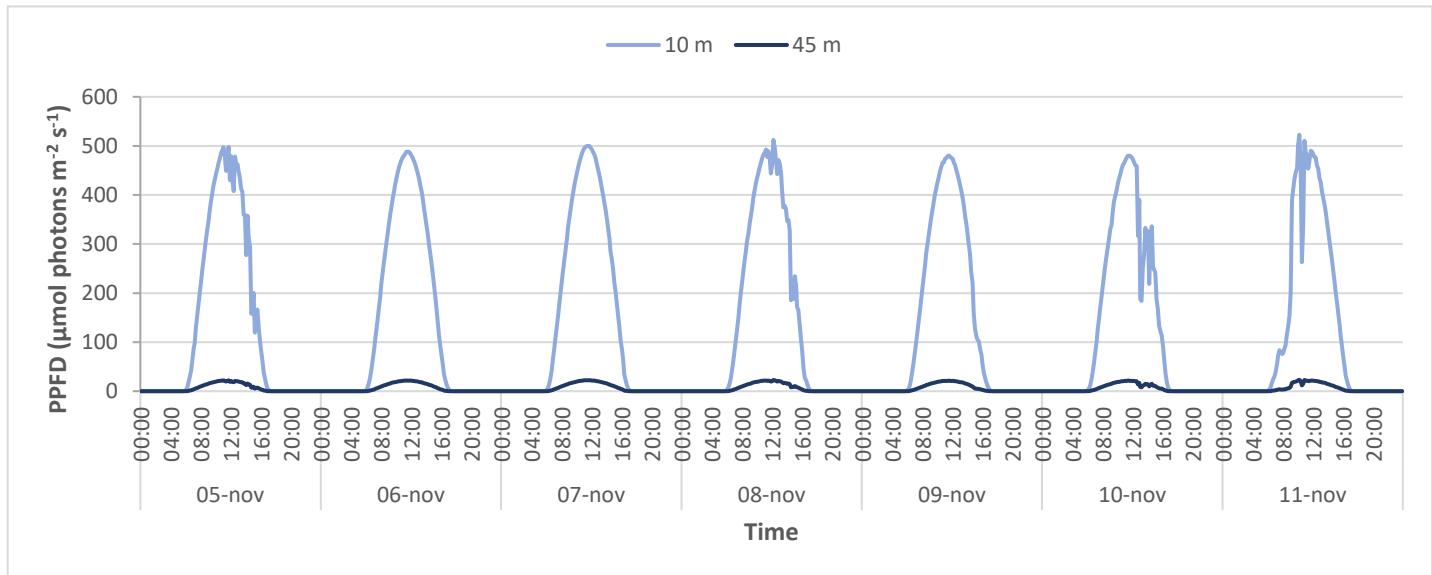
Wingler, A., Lea, P. J., Quick, W. P., and Leegood, R. C. (2000). Photorespiration: Metabolic pathways and their role in stress protection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355(1402), 1517–1529. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0712>

Winters, G., Beer, S., Ben Zvi, B., Brickner, I., and Loya, Y. (2009). Spatial and temporal photoacclimation of *Stylophora pistillata*: Zooxanthella size, pigmentation, location and clade. *Marine Ecology Progress Series*, 384, 107–119. <https://doi.org/10.3354/meps08036>

Yellowlees, D., Rees, T. A. V., and Leggat, W. (2008). Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts. *Plant, Cell & Environment*, 31(5), 679–694. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01802.x>

Ziegler, M., Arif, C., Burt, J. A., Dobretsov, S., Roder, C., LaJeunesse, T. C., and Voolstra, C. R. (2017). Biogeography and molecular diversity of coral symbionts in the genus *Symbiodinium* around the Arabian Peninsula. *Journal of Biogeography*, 44(3), 674–686. <https://doi.org/10.1111/jbi.12913>

## ANNEXES



Annexe 1 : Graphe représentant les variations de PPFD, mesures prises toutes les 10 min du 5 novembre (00 :00) au 11 novembre (23 :50).

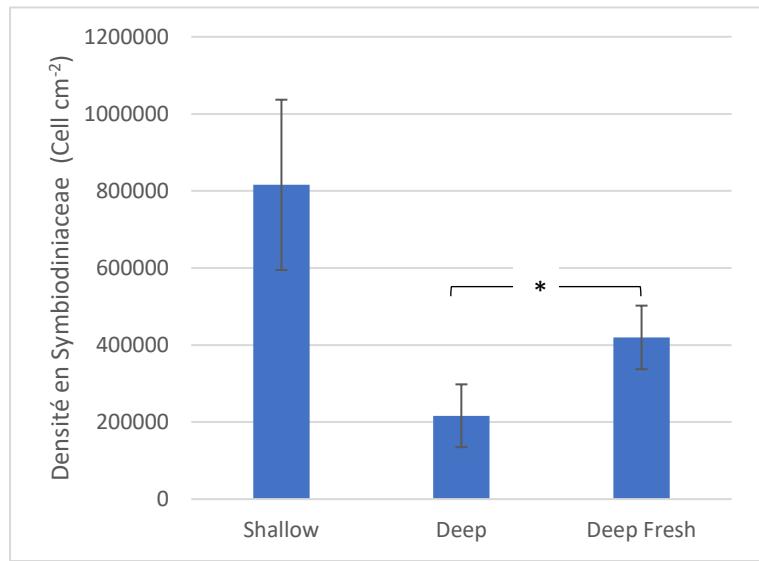
	SHALLOW 1	SHALLOW 2	SHALLOW 3
A1	47,88	49,93	49,04
A1dv	24,61	28,06	18,96
A1dw	14,72	9,80	15,90
A1dl	4,64	3,76	5,00
A1am	1,63	1,57	2,01
70790_A	1,36		1,76
A1ct	1,32		
58464_A	0,88		
7367_A	0,86		
6528_A	0,60		
18981_A		1,48	
A1ct		1,21	
7367_A		1,07	
6528_A		1,01	
70808_A		0,90	
C72			2,76
70794_A			0,96
70812_A			0,91
71026_A			0,71
<b>TOTAL (%)</b>	<b>98,51</b>	<b>98,80</b>	<b>98,03</b>

Annexe 2a : Pourcentages des 10 séquences les plus abondantes dans les échantillons Shallow ( $n=3$ ).

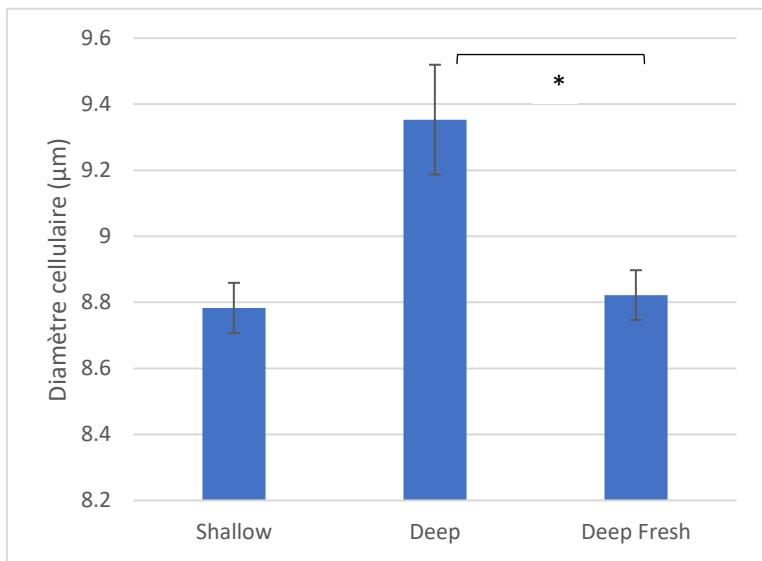
	DEEP 1	DEEP 2	DEEP 3
C72	65,28	63,86	64,70
C1	7,89		
15115_C	3,06		
C72c	2,96		
11502_C	2,68		
C1b	2,07		
11555_C	1,99		
C72b	1,72		
16903_C	1,46		
C72g	1,32		
C72i		18,38	16,57
C72j		6,74	7,77
15740_C		2,24	
7255_C		2,17	3,09
891_C		2,15	2,07
7252_C		1,90	3,18
7257_C		0,85	0,52
14638_C		0,84	0,84
3288_C		0,79	0,75
439734_C			0,44
<b>TOTAL (%)</b>	<b>90,43</b>	<b>99,93</b>	<b>99,93</b>

Annexe 2b : Pourcentages des 10 séquences les plus abondantes dans les échantillons Deep ( $n=3$ ).

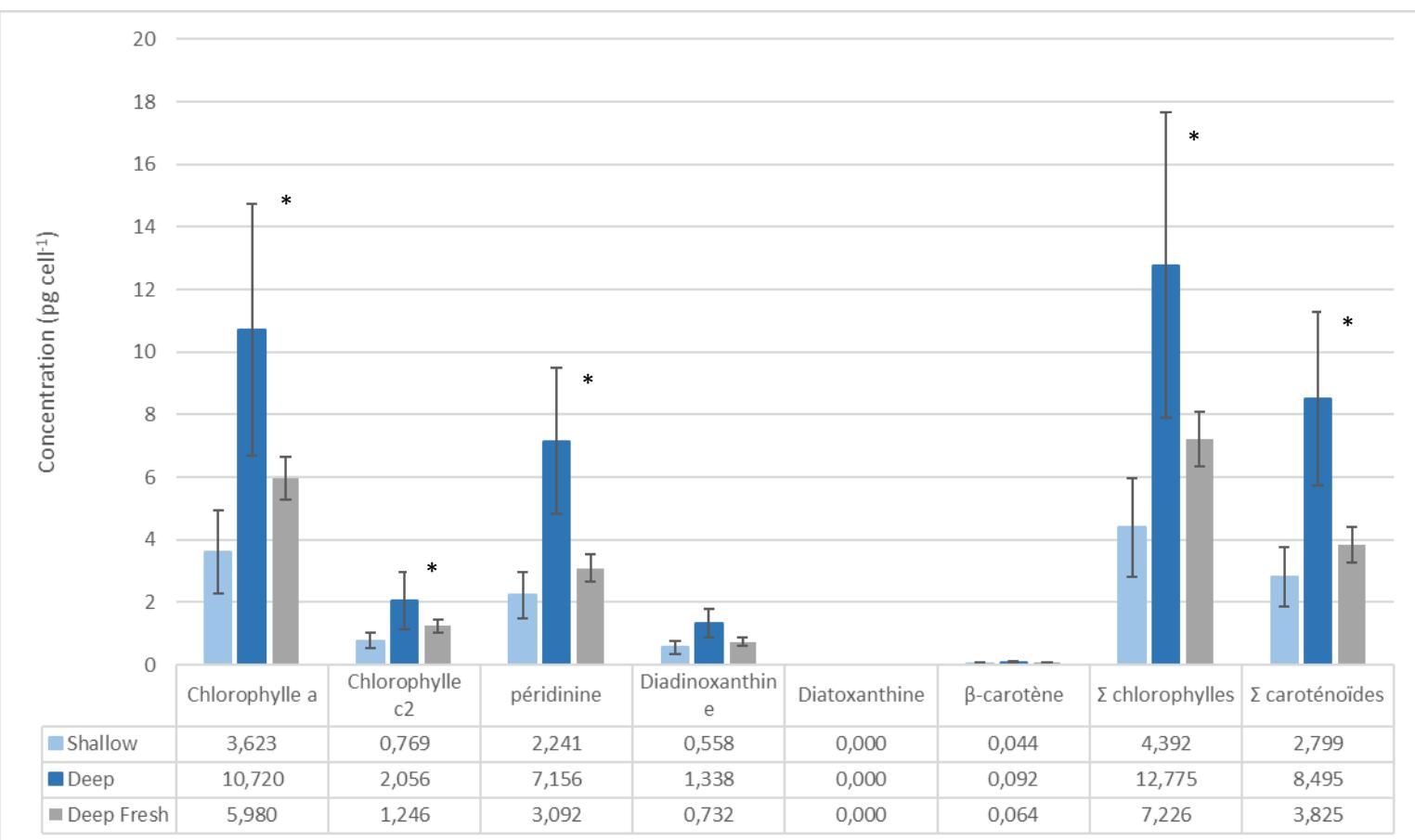
Les différences significatives entre Deep et Deep Fresh ou Shallow et Shallow Fresh sont indiquées par « \* »



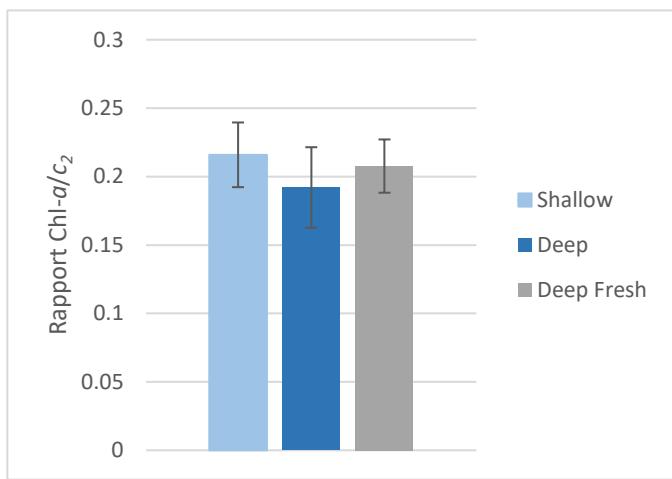
Annexe 3 : Densité en Symbiodiniaceae dans les échantillons Shallow ( $n=15$ ), Deep ( $n=15$ ) et Fresh Deep ( $n=5$ ) ;  $\pm$  écart-types (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).



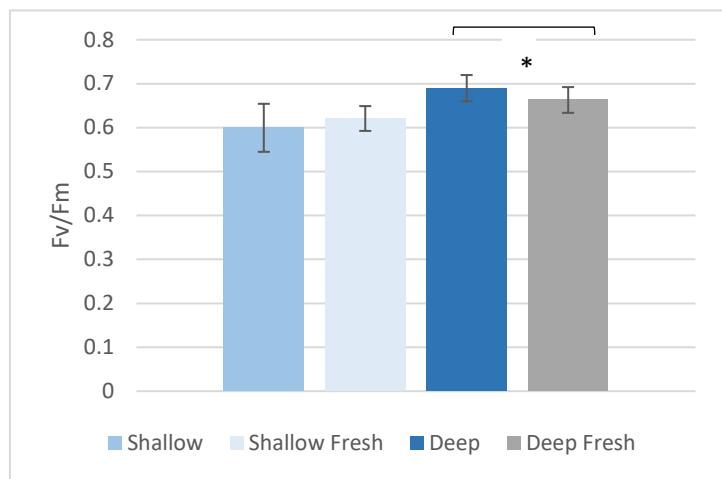
Annexe 4 : Taille des cellules de Symbiodiniaceae dans les échantillons Shallow ( $n=15$ ), Deep ( $n=15$ ) et Fresh Deep ( $n=5$ ) ;  $\pm$  écart-types (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).



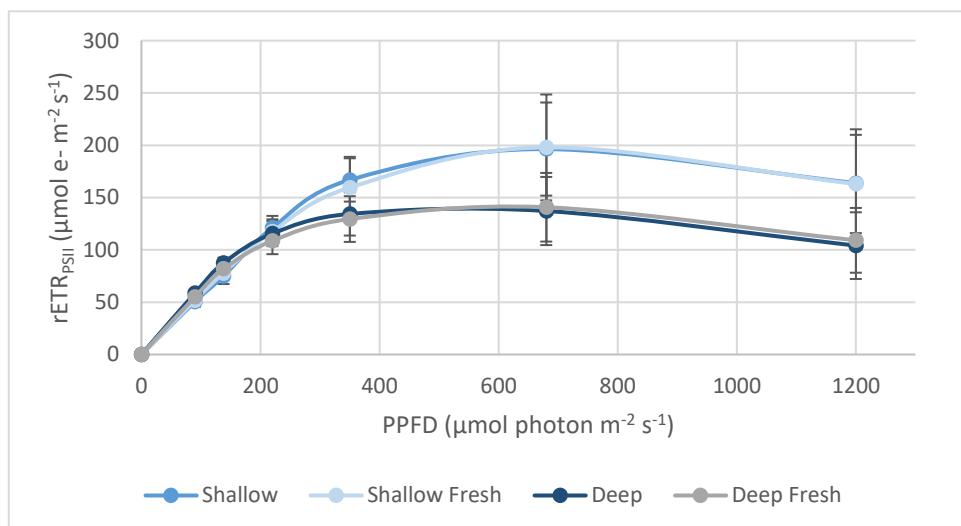
Annexe 5 : Détermination des concentrations pigmentaires par HPLC des Symbiodiniaceae des échantillons Shallow ( $N=10$ ), Deep ( $N=10$ ) et Deep Fresh ( $N=5$ ).  $\pm$  écart-types (\*significatif au niveau  $\alpha=0,05$ ).



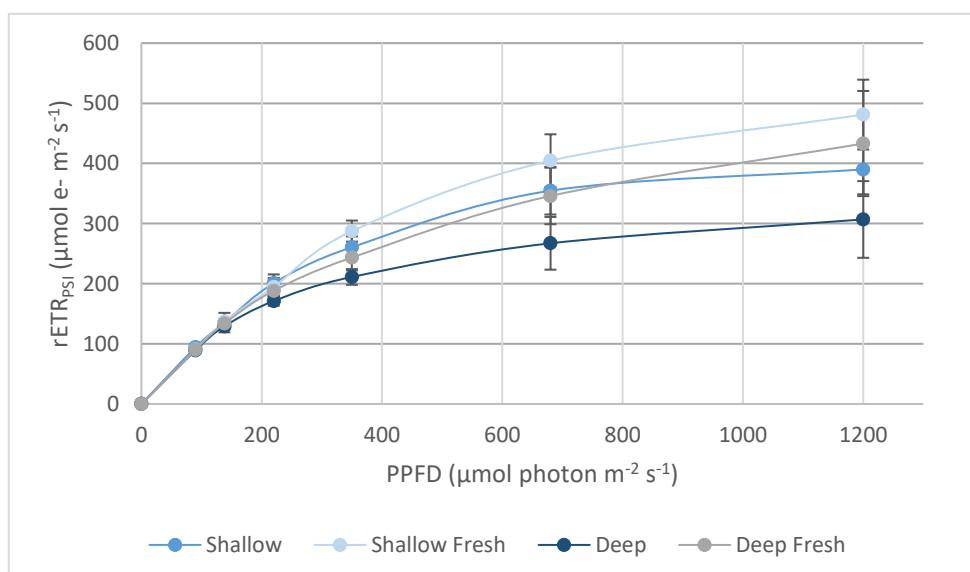
Annexe 6 : Comparaison du rapport Chl-c<sub>2</sub>/a des échantillons Shallow (N=10), Deep (N=10) et Deep Fresh (N=5). ± écart-types.



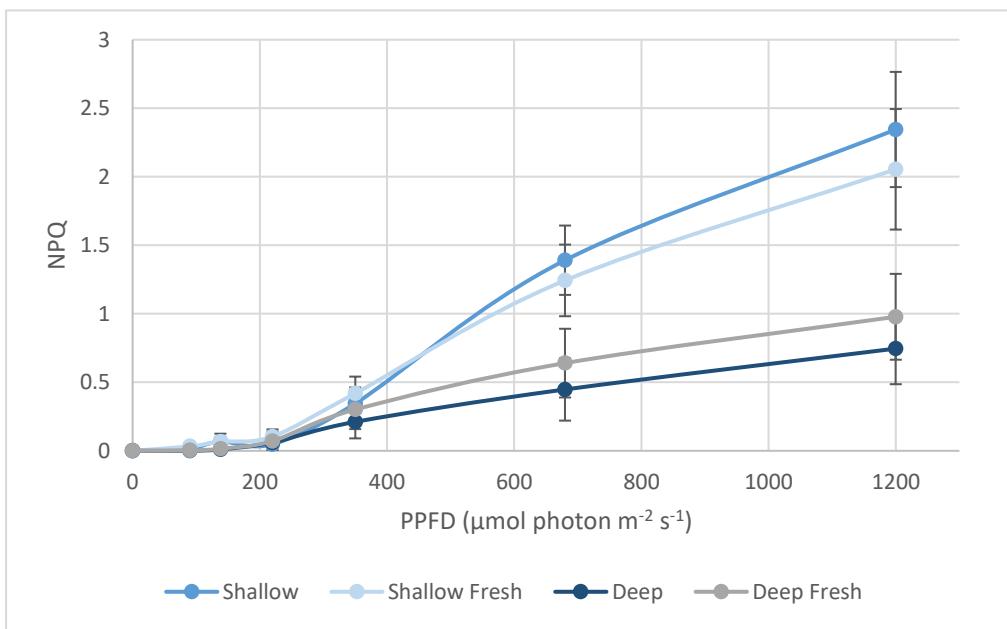
Annexe 7 : Rapport Fv/Fm pour les échantillons Shallow (N=10), Shallow Fresh (N=5), Deep (N=10) et Deep Fresh (N=10). ± écart-types.



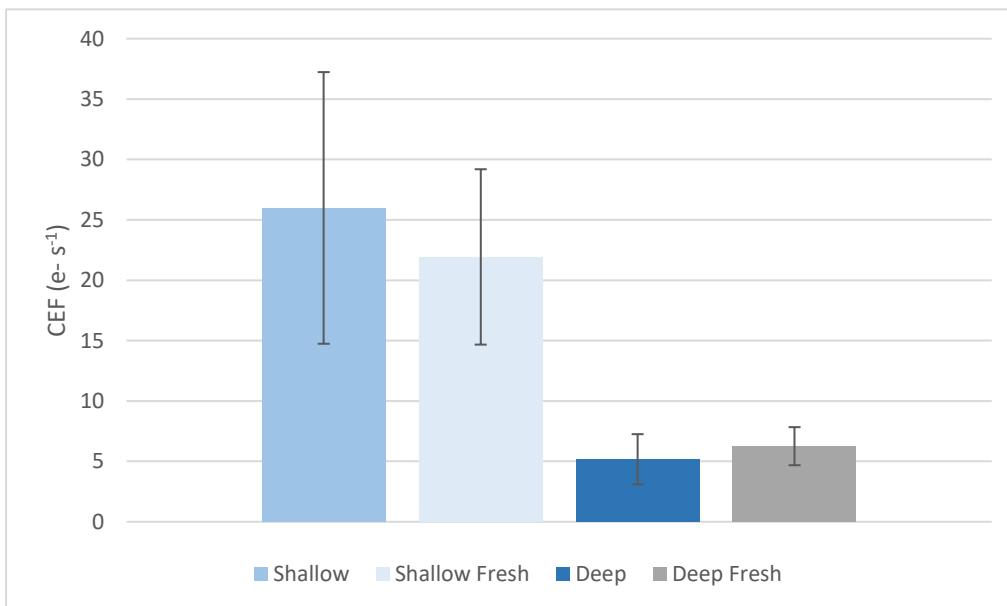
Annexe 8 : Comparaison des transports relatifs d'électrons au niveau du PSII. Moyennes ± écart-types. NS = 10 ; NSF = 5 ; ND = 10 et NDF = 10.



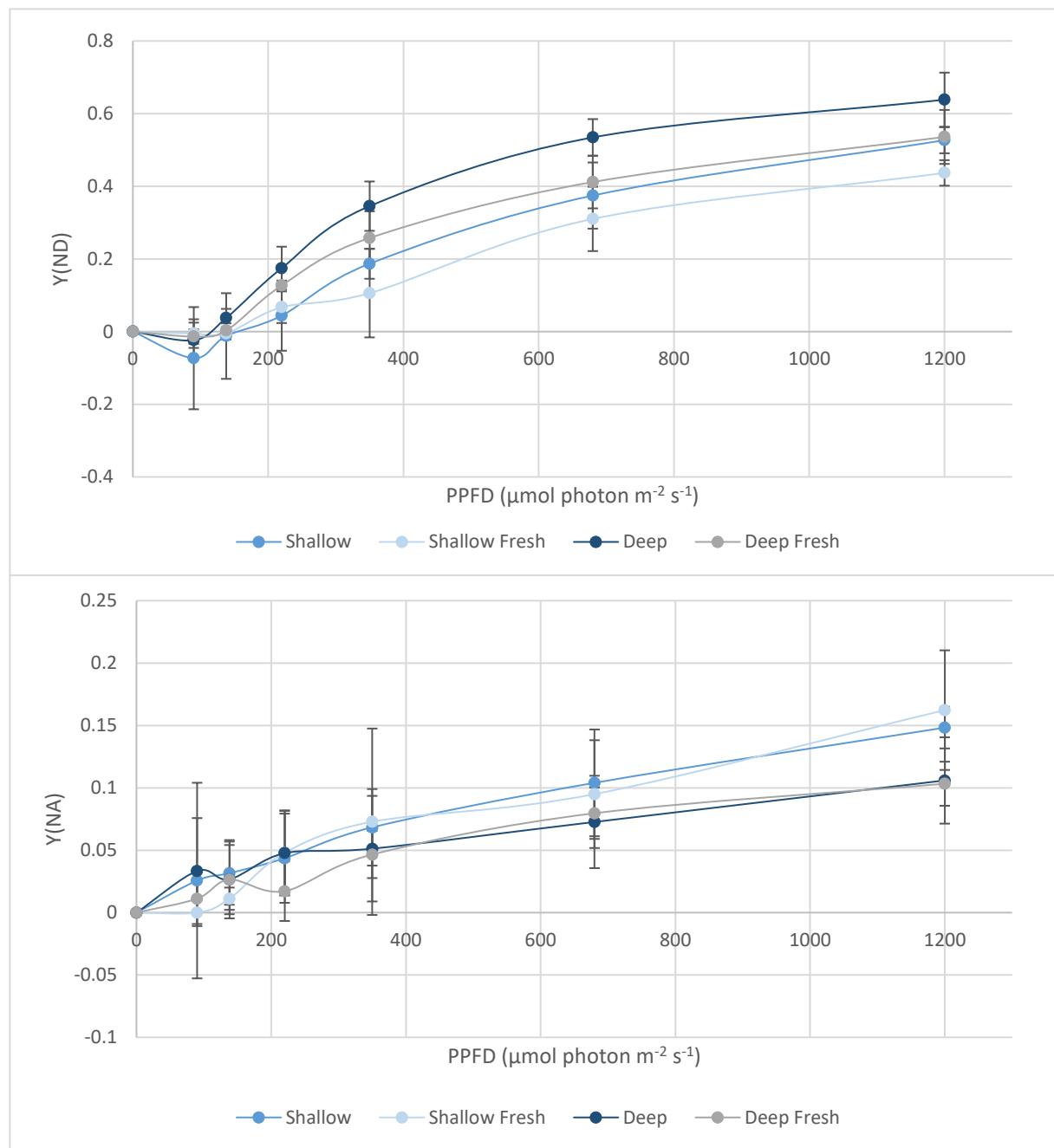
Annexe 9 : Comparaison des transports relatifs d'électrons au niveau du PSI. Moyennes ± écart-types. NS = 10 ; NSF = 5 ; ND = 10 et NDF = 10.



Annexe 10 : Rendement d'extinction non-photochimique (NPQ) dans les échantillons Shallow ( $N=10$ ), Shallow Fresh ( $N=5$ ), Deep ( $N=10$ ) et Deep Fresh ( $N=10$ ). Moyennes  $\pm$  écart-types.



Annexe 11 : Flux cyclique d'électrons ( $e^- \text{s}^{-1}$ ) dans les échantillons Shallow ( $N=10$ ), Shallow Fresh ( $N=5$ ), Deep ( $N=10$ ) et Deep Fresh ( $N=10$ ).  $\pm$  écart-types.



Annexe 12 : Rendement quantique de la dissipation d'énergie non-photochimique due à la limitation du côté donneur (haut) et accepteur (bas) du PSI dans les échantillons Shallow ( $N=10$ ), Shallow Fresh ( $N=5$ ), Deep ( $N=10$ ) et Deep Fresh ( $N=10$ ). Moyennes  $\pm$  écart-types.

#### Description des graphes type « Box-plot » ou boîte à moustache

Les croix rouges représentent les moyennes et les barres horizontales centrales, les médianes. Les limites inférieure et supérieure des boîtes sont les premiers et troisièmes quartiles, respectivement. 50% des données centrales se trouvent entre ces deux limites (dans la boîte), 25% se trouvent au-dessus et 25% en-dessous. Les points noirs représentent les valeurs maximum et minimum. Les points vides et croisés (\*) correspondent à des valeurs extrêmes.

## RESUME

### Analyse des processus de photoacclimatation chez le corail symbiotique *Stylophora pistillata*

Julie BOMHALS - Août 2020

*Mémoire réalisé sous la supervision du professeur Jean-Christophe PLUMIER (promoteur) et du docteur Stéphane ROBERTY (co-promoteur) au laboratoire de physiologie animale.*

La lumière étant le facteur clé à la base de la symbiose entre les scléractiniaires et leurs endosymbiontes photosynthétiques, il est intéressant de comprendre comment ce facteur influence les réponses physiologiques en termes de capacités photosynthétiques et de photoprotection. L'objectif de cette étude était d'évaluer les stratégies d'acclimatation à la lumière déployées par le corail *S. pistillata* et de mettre en évidence l'existence de voies alternatives de transport d'électrons. Pour répondre à nos questions, nous avons dans un premier temps comparé la morphologie et les densités en polypes de colonies de *S. pistillata* à 10 (=S) et 45 m (=D) de profondeur afin de dégager les différentes stratégies d'adaptation mises en place par l'hôte. Nous avons ensuite analysé les différences au niveau de la densité en Symbiodiniaceae, des concentrations pigmentaires (HPLC) et de la composition génétique de leur communauté de Symbiodiniaceae par des techniques de séquençage à haut débit. Ces dernières analyses nous ont permis, respectivement, de constater que la densité en Symbiodiniaceae doublait entre 10 et 45 m ( $815\ 638 \pm 221\ 064\ \text{cell cm}^{-2}$  (S) et  $419\ 749 \pm 82\ 481\ \text{cell cm}^{-2}$  (D)), que le contenu pigmentaire augmentait globalement chez les Symbiodiniaceae de coraux Deep ( $\text{chl}_{\text{total}} : 4,39 \pm 1,57\ \text{pg cell}^{-1}$  (S) et  $7,23 \pm 0,87\ \text{pg cell}^{-1}$  (D)) et que les Symbiodiniaceae hébergées aux deux profondeurs appartenaient à des clades différents (clade A1 (S) ; clade C72 (D)). Des mesures de dégagement d' $\text{O}_2$  et d'émissions de fluorescence de la chlorophylle-a ont ensuite permis de comparer les activités photosynthétiques et l'importance des mécanismes de dissipation d'énergie sous forme de chaleur (NPQ :  $1,34 \pm 0,26$  (S) et  $0,54 \pm 0,25$  (D)). Grâce à ces mêmes techniques nous avons également pu mettre en évidence les différences au niveau des voies alternatives de transport d'électrons (AEF ; CEF et réaction de Mehler), avec un flux cyclique d'électrons pratiquement 5x plus élevé chez les coraux de faible profondeur ( $25 \pm 10\ \text{e- s}^{-1}$  (S) et de  $6 \pm 2\ \text{e- s}^{-1}$  (D)). Nous avons donc remarqué que *S. pistillata* s'acclimatait à la lumière en grande partie grâce à sa morphologie et aux variations des concentrations pigmentaires de ses symbiontes. L'acclimatation aux fortes intensités lumineuses est, elle, permise par des capacités accrues de « Non-Photochemical Quenching » et la présence d'AEF plus importantes qu'en profondeur.

La composition génétique en Symbiodiniaceae change avec la profondeur (shift de clades) mais le fait que les symbiontes présents en profondeur présentent également des réponses typiques de colonies de faible profondeur (légère augmentation du NPQ, du CEF et de la réaction de Mehler), suggère que les mécanismes de photoacclimatation chez les Symbiodiniaceae ne dépendent pas uniquement du génotype.