

# Catégorie Agronomique

Mise en place d'une technique de mesure de photosynthèse chez les coraux scléractiniaires : application à *Galaxea fascicularis (L.) 1767* 

Travail de fin d'études présenté par

Jessica Save Garrido

en vue de l'obtention du grade académique

de Bachelier en agronomie

Orientation: Environnement

Promoteur: Mme Fourbisseur

Mise en place d'une technique de mesure de photosynthèse chez les coraux scléractiniaires : application à *Galaxea fascicularis L. 1767* 

## **Haute Ecole Provinciale de Hainaut- Condorcet**

**ENSEIGNEMENT SUPERIEUR AGRONOMIQUE** 

Rue Paul Pastur, 11
7800 Ath

Mise en place d'une technique de mesure de photosynthèse chez les coraux scléractiniaires : application à *Galaxea* fascicularis L. 1767

## **Remerciements:**

Je remercie toute l'équipe du département : Ecologie Numérique des Milieux Aquatiques, pour ce stage qui fut pour moi une belle découverte. Ce fut un grand plaisir de travailler avec chacun d'entre eux.

Je remercie Mr. Grosjean, mon maître de stage, qui m'a accepté au sein du département et qui m'a permis d'y effectuer mes quatre mois de stage.

Je remercie ensuite Antoine qui fut présent pour moi durant tout mon stage. Grâce à lui, j'ai réussi à faires toutes les manipulations correctement. Au moindre souci, il trouvait une solution au problème. Merci pour ta bonne humeur.

Merci à ma promotrice, Mme fourbisseur et à Mme Eyletters pour votre aide au sein de ce travail.

Enfin, je tiens à remercier tout particulièrement Guyliann Engels pour toutes ces heures consacrées avec moi sur le programme R et à analyser mes résultats. Merci pour toute l'aide que tu m'as apporté dans ce travail de fin d'étude.

## Table des matières

A)	Introduction	1
B)	Partie théorique	2
1	.) Le déclin des coraux et la formation des récifs coralliens	2
2	2) Les cnidaires	4
	2.1) La classification des coraux	4
3	S) Les coraux	5
	3.1) La défense du corail	6
4	l) Le corail scléractiniaire	7
	4.1) La reproduction du corail scléractiniaire	8
	4.1.1) Reproduction sexuée	8
	4.1.2) Reproduction asexuée	8
	4.2) Formation du squelette / calcification	8
	4.3) Métabolisme	10
	4.3.1) La circulation d'eau chez les coraux hermatypiques	10
	4.3.2) La nutrition des coraux scléractiniaires hermatypiques	11
5	S) Galaxea fascicularis L. 1767	12
	5.1) Description	12
	5.2) Classification	12
6	S) Le récif corallien, un ensemble d'holobionte	13
	6.1) Les zooxanthelles	13
	6.1.1) Ecologie, cycle de vie et structure	13
	6.1.2) Clades de zooxanthelles	15
	6 .1.3) Relation entre coraux et Zooxanthelles	15
	6.1.4) mécanisme de symbiose	17
7	') La Photosynthèse chez le corail	18
	7.1) Généralité	18
	7.3) La phase dépendante de la lumière : réaction photochimique primaire	21
	7.4) La phase indépendante de la lumière : cycle de calvin	22
	7.5) Principe de la photosynthèse chez les algues	22
8	3. L'étude de la photosynthèse	23
C)	Matériel et méthode	25
1	Bouturage des coraux :	25
	1.1. Pesée en poids immergé :	25
2	L. Utilisation de la microélectrode	25
	2.1 Dispositif expérimental	26

		2.1	.1. Schéma du dispositif expérimental	26
	2	2.2. N	1éthodologie:	27
3	3.	Etu	de de la respiration :	29
	3	3.1 Sc	héma dispositif expérimentale	30
D)	F	Résult	tats	31
	1.	Bila	an photosynthèse – respiration	31
:	2.	Etu	de de la croissance des boutures de corail Galaxea	31
3	3.	Élal	boration du protocole de la microélectrode	33
4	4.	Ana	alyse des résultats de la microélectrode	34
		A)	Variation d'oxygène sur une alternance de 0 à 0,1 millimètre	34
		A	A.1) Analyse	35
		B)	Variation d'oxygène sur une distance de 0 à 5 millimètre	35
		E	3.1) Analyse	36
		C)	Zone d'influence du a la couche stagnante	36
		C	C.1 Analyse :	36
		[	D) Détermination de la couche d'eau stagnante	37
		E)	Suite de la détermination de la couche d'eau stagnante	38
		F)	Alternance de lumière	39
		F	1 : Analyse	39
		G)	Alternance lumière suite	40
		(	G.1) Analyse	40
į	5.	Les	coefficients de pentes	41
E)		Discus	ssions des résultats:	42
	5	5.1) N	Nouvement de la microélectrode	43
	5	5.2) Z	one d'influence du a la couche stagnante	43
	5	5.3) A	lternance de lumière	44
	5	5.4) A	nalyse du coefficient de pente	44
	5	5.5) N	Nouvement d'eau	45
F)	(	Concl	usion :	46
G)	Е	Biblio	graphie	48
An	ne	хе		. 1
	1.1	) F	Protocole de la mise en place du respiromètre :	. 2
:	1.2	) F	Protocol de calibration	. 2
:	1.3	) F	Protocol du temps de mesure lumière on / off	. 2
	1.4	) F	Protocol complet de la mise en place de la microélectrode	. 3

Figure 1 Répartition géographique des récifs corallien au niveau mondial source : Ali's Earth Biomes	
https://sites.google.com/site/aliearthbiome/coral-reef	2
Figure 2 Formation des récifs. Source : Coral Guardian	3
Figure 3 : Classification des coraux	5
Figure 4: Structure tissulaire du corail, A= Polypes; B = Schéma tissu interne; C= Zooxanthelles	6
Figure 5 Anatomie simplifiée du polype Source : cap récifal, Hétérotrophie chez les coraux scléractiniaires	7
Figure 6: Plateau de corail. Source, Aquario-Phil	7
Figure 7: Branchure Seriatopora hystrix	7
Figure 8 Galaxea fascicularis L	
Figure 9 Les différents clades et leurs hôtes	15
Figure 10 Relation corail-Zooxanthelles, Source: http://vieoceane.free.fr/paf/ficheb32.html	16
Figure 11 : Stratégie de transmission verticale et horizontale Source :	
http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1433831906000035	17
Figure 12 Longueur d'onde d'absorption Source:	
https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chlorophyll_ab_spectra-fr.svg	
Figure 13 : représentation schématique des réaction photosynthétique	
Figure 14: Principe de photosynthèse (phase claire = réaction photochimique primaire ; phase sombre = cycle	e de
calvin)	21
Figure 15 : réactions photochimiques primaires (Raven et al, 2000)	21
Figure 16: photosynthèse chez les algues. Source, the story of symbiosis whith zooxanthellae, 2013	22
Figure 17 : bouture de corail	
Figure 18: pesée en poids immergé	25
Figure 19 Microélectrode	25
Figure 20: schéma dispositif microélectrode	26
Figure 21: respiromètre	
Figure 22: dispositif expérimental respiromètre	
Figure 23 : Bouture de Galaxea f. après 4 mois de manipulation	
Figure 24: Bouture de Galaxea avant manipulation	
Figure 25 Variation d'oxygène dissous dans l'eau avec une microélectrode à oxygène placée sur le coénosarc	
(0mm) et distant de ce dernier (0,1mm) dans l'obscurité	
Figure 26 : Variation d'oxygène dissous en fonction de la profondeur du tissu grâce à un mouvement de 0,1m	
toutes les 50 secondes. (Analyse sur Galaxea fascicularis L.)	
Figure 27 détermination de l'épaisseur de la couche d'eau stagnante sur Galaxea fascicularis L	
Figure 28: Profil de la teneur en oxygène dissous en fonction de la distance par rapport à l'épiderme sur Gala	
fascicularis L. La teneur en oxygène dissous dans l'eau est représentée par la ligne bleu	37
Figure 29:Profil de la teneur en oxygène dissous en fonction de la distance par rapport a l'épiderme.	
La teneur en oxygène dissous dans l'eau est représentée par la ligne bleu	
Figure 30 : Variation d'oxygène dissout lors d'une alternance de OPAR/100PAR SUR Galaxea fascicularis	
Figure 31: Détermination de la pente créée par une alternance de OPAR/100PAR	40
Figure 32 : Détermination des pentes créée par une alternance de 0 à 100 PAR chaque 30 seconde sur	
l'épiderme (A), à 110 μm (B), à 20 μm (C), à 30 μm (D) de l'épiderme	
Figure 33 : coefficient de pente des régressions linéaires réalisées à distance croissante de l'épiderme lors de	
l'alternance de 0 à 100 PAR chaque 30 secondes.	
Figure 34: Profils de concentration en oxygène	
Figure 35: Variation d'oxygène en fonction du positionnement, Source : Miroenvironment and photosynthesis	-
zooxanthellae in scleractinian corals studied whit microsensors for $o_2$ , pH, and light.	
Figure 36 : profils d'oxygène dissous sur le coénosarc sous différentes intensité lumineuse	
Figure 37; Donnée relative aux analyses de respiromètre	
Figure 38 : Croissance de différentes espèces de bouture	
Figure 39: Croissance moyenne	
Figure 40: Scripte manipulation T43	×

## **Glossaire:**

Autotrophie : production de matière organique grâce à une diminution de matière inorganique et minérale.

Bulleur : pompe à air qui permet un renouvèlement d'oxygène

Cellules ectodermiques : cellule située sur le feuillet externe de l'holobionte

Clade : Groupement de plusieurs embranchements ayant une organisation et une origine commune

Cnidaire: Embranchement animal spécifique du milieu aquatique.

Coénosarc : Tissu mou qui relie les polypes

Corallum: squelette du corail

Coraux hermatypiques : coraux littéralement constructeurs de récif, pratique la production

d'un squelette calcaire

Entéroides : filaments issus du mésentère, permet la capture des proies

Épiderme aboral : permet à l'ensemble des polypes de former une colonie

Hermatypiques : Organisme constructeur de récif

Holobionte : regroupe deux organismes holobiontiques, une association par mutualisme ou commensalisme, de deux espèces vivant intrinsèquement ensembles » (Aquaportail, 2017).

Lagon : Zone d'eau peu profonde fermée généralement par un récif corallien

Mésocosme : dispositif expérimental clos qui permet d'effectuer des études écologiques et biologique

Micromanipulateur: Appareil qui permet des manipulations allant sur l'ordre du micron

PAR: Radiation photo-synthétiquement active

Photochimique : Action de la lumière

Polype: l'une des formes que prend les cnidaires

Photosystème II: centre réactionnel de la photosynthèse qui contient les pigment P<sub>680</sub>

Liste des abréviations :

ATP Adénosine triphosphate

ADP: Adénosine diphosphate

LED: Diode électroluminescente

PAR: Radiation photo-synthétiquement active

## A) Introduction

Ce travail de fin d'étude a été réalisé au sein du service d'Ecologie Numérique des Milieux Aquatiques. Il s'agit d'un laboratoire où différentes recherches et études sont effectuées dans le domaine aquatique comme : les coraux, le phytoplancton, les algues ou encore les moules. La plupart des recherches se tournent vers les impacts anthropiques comme les changements climatiques qui menacent une grande partie des écosystèmes naturels.

Les récifs coralliens sont des milieux extrêmement riches avec 25% de la biodiversité marine. Cette richesse a attiré les hommes pour la pêche qui y ont établis des centres de vies importants.

Les principaux bâtisseurs de récifs coralliens sont les coraux appartenant aux scléractiniaires (ordre des *Scleractinia*) qui possèdent la capacité de précipiter le carbonate de calcium dans leur squelette. Les coraux vivent en symbiose avec un ensemble d'organismes comme : des bactéries, des archées ou encore des algues unicellulaires. Afin de former un complexe appelé holobionte. Leur capacité de précipitation du carbonate est décuplée grâce à l'énergie photosynthétique apportée de la symbiose mutualiste avec les microalgues, que sont les zooxanthelles. Cependant, le réchauffement climatique, ainsi que les nombreuses perturbations liées aux effets anthropiques induisent de nombreux stress au récif corallien qui sont à plus de 15% en déclin. Étant donné que leur capacité de précipiter le carbonate de calcium est lié à la photosynthèse, l'étude de l'activité photosynthétique est un bon indicateur de dérèglement.

Les coraux tropicaux vivent à une température proche de leur maximum thermique cela leur apporte une forte sensibilité à tout changement climatique. (Schuhmacher, 1976) Un réchauffement entraine comme conséquence une diminution d'oxygène dissout dans l'eau, une augmentation de la photosynthèse et de la production de molécules oxydantes est alors observée. Le corail ainsi que les zooxanthelles doivent à ce moment se débarrasser des molécules oxydantes. L'un des méthodes que le corail utilise lorsque le stress est trop important est d'expulser momentanément ses symbiontes algaux pour se protéger. C'est à ce moment que l'on observe le phénomène de blanchissement.

Ainsi l'objectif de ce travail porte sur la mise au point d'une technique de mesure de l'activité photosynthétique sur le coénosarc. Cette méthode pourra par la suite être combinée avec d'autres méthodes de mesure plus globales comme les bilans respiration – photosynthèse et les mesures de fluorescences.

Afin de réaliser ces expériences, le laboratoire s'appuie sur des mésocosmes avec des colonies coralliennes acclimatées depuis plus de cinq ans maintenant.

## B) Partie théorique

## 1) Le déclin des coraux et la formation des récifs coralliens

#### Le déclin des coraux

Le changement climatique, connu depuis ces dernières années, provoque un blanchissement des récifs coralliens. Vivant proche de leurs maximum thermique, une simple hausse de température à un impact spectaculaire sur le développement des colonies de coraux. Constituant de l'un des plus riches biotopes sur terre, ces derniers représentent aussi l'un des espaces vitaux les plus productifs. Les récifs coralliens regroupent 9% de la biomasse totale mondiale piscicole. Une importance quant à l'étude de l'impact de ce changement sur les récifs est donc primordiale.

Les récifs coralliens se situent dans des eaux oligotrophes qui sont donc pauvres en substances nutritives. Pourtant, une surface récifale d'un mètre carré serait capable de produire 1500 à 5000 grammes de carbone en une année (Schuhmacher, 1976).

### La formation des récifs coralliens

La formation d'un récif est une succession d'étapes complexes :

- 1. L'ébauche d'un squelette
- 2. L'agglutination des divers éléments de construction
- 3. La sédimentation
- 4. Le durcissement

Le déroulement de chacun de ces processus est étroitement lié. Le squelette primaire est édifié par des espèces spécifiques (Madréporaores, Hydrocoralliaire Milepora, Octocoralliaires Heliopora, Tubipora). C'est ultérieurement que le territoire va être comblé par d'autres organismes qui vont permettre d'obtenir une biodiversité importante.

Un récif se forme selon un processus continu. Il est créé par des coraux hermatypiques là où

les conditions de lumières et températures sont favorable à leur croissance.

Les récifs se retrouvent en grande partie dans des zones aquatiques d'une profondeur d'environ 0 à 30 mètres. Le contact avec la lumière est ainsi assuré. L'eau doit avoir une faible turbidité. La température est comprise

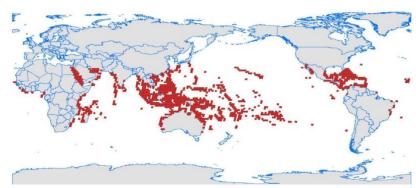


Figure 1 Répartition géographique des récifs corallien au niveau mondial source : Ali's Earth Biomes <a href="https://sites.google.com/site/aliearthbiome/coral-reef">https://sites.google.com/site/aliearthbiome/coral-reef</a>

entre 18° et 30°C (figure1). Afin que la calcification soit optimale, la concentration en carbonate de calcium doit être élevée. Toutefois, l'eau doit être oligotrophe afin que les effets néfastes sur la calcification ne soient pas présents. (G. Todinanahary, 2016)

La chronologie de formation des récifs est bien connue. En premier lieu une couronne de corail se forme le long des côtes.Il s'agit de récif « frangeant ». Avec le temps, cette structure se renforce grâce à un accroissement du calcaire pour former un plateau récifal. L'apport de

sédiment qui vient de la terre ralentit le développement des coraux sur le plateau. Parallèlement il progresse du côté extérieur du récif grâce à l'apport de plancton. Un phénomène de régression du côté terrestre et de croissance du côté océan est alors observé. Le terme « récif frangeant » n'est plus utilisé à partir de ce moment. Son appellation change pour le terme : « fausse barrière récifale » du fait qu'elle est encore en liaison avec la côte. Il est parfois difficile de distinguer ces deux récifs parce que leur seule différence est leur grandeur de taille

Il existe donc trois grands types de récifs (IFRECOR.):

Le récif « frangeant » : Il s'agit de la forme de base qui se compose de calcaire corallien. Sa surface supérieure est appelée platier récifal. Sa face antérieure dirigée vers la mer constitue la pente externe. Le platier récifal est disposé de manière horizontale mais peut s'incliner légèrement vers la mer ou s'élever sous la forme d'une crête algale. Le platier récifal littoral débute sur le rivage. Les coraux vivants sont en grande partie fixés sur la partie du platier orienté vers la mer.

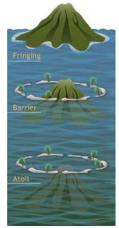


Figure 2 Formation des récifs. Source : Coral Guardian.

- Le récif « fausse barrière » : il est parfois difficile de le différencier du récif frangeant mais il se caractérise par des lagons de plusieurs kilomètres de diamètre avec des profondeurs assez importantes. Sa formation est particulière, situé loin de la mer, il n'est cependant pas formé à cause d'une régression vers le large. C'est un récif fixé dès l'origine et qui exige des processus biologiques particuliers pour sa formation.
- Le récif « atoll » : il s'agit d'un récif de large, ce qui n'exclut pas leur implantation sur un socle continental plus avancé. Il peut être continu ou discontinu. Il est caractérisé par la présence d'un lagon. Afin qu'il soit formé, il faut de base une île accidentée qui s'enfonce sous la mer (figure 2). Les détritus coralliens et de sable vont, avec les années, s'accumuler et former la couronne qui édifie des îles.

Il existe encore un autre type, constitué par des conditions plus spécifiques.

Le récif « plate-forme » : celui-ci est entièrement entouré par des eaux profondes mais peut encore reposer sur un socle continental. Il subit une influence moins directe du continent et peut également siéger au large. Leurs contours sont généralement ovales ou allongés et se croisent dans toutes les directions contrairement au récif « barrière » qui ne se développe qu'en direction de la mer.

Le récif corallien est entièrement constitué à partir des coraux hermatypiques. Ce paragraphe sera expliqué plus implicitement au point trois. Ils peuvent être formés par des structures différentes, une structure particulière sur chaque surface de récifs coralliens est retrouvée, celle-ci aura un impact important sur la composition des communautés.

## 2) Les cnidaires

#### 2.1) La classification des coraux

Le terme « corail » peut amener à plusieurs interprétations différentes. À la base de la classification on retrouve l'embranchement des cnidaires. Ce groupe cette embranchement rassemble : les coraux, les méduses ou encore les anémones. Tous ces animaux possèdent une caractéristique commune. Ils sont dotés de cellules venimeuses nommé les cnidocytes. Ce sont des organismes diploblastiques constitués de deux feuillets embryonnaires entre lequel se trouve la mésoglée.

Les deux feuillets embryonnaires sont les suivantes :

- La couche interne = endoderme
- La couche externe = ectoderme

Un orifice central est utilisé pour remplir deux fonctions différentes qui sont primordiales : l'anus et la bouche. En fonction de leur propriété de fixation, cet orifice central peut se trouver à deux positions différentes. Sur le contour de ces orifices centraux sont fixée des tentacules, celles-ci sont constitué de cellules urticantes. (Club de minéralogie et de paléontologie, 2014)

Comme démontrer dans la figure 3, cet embranchement est constitué de 4 classes : celles des scyphozoaires, des hydrozoaires, des anthozoaires et enfin des cubozoaires. Ces différentes classes sont définies par l'état de fixation du cnidaire. A partir de la classe des Anthozoaires, on retrouve encore deux sous-classes : celles des Octocoralliaires et celles des Hexacoralliaires. C'est dans la sous-classe des Hexacoralliaires que l'on retrouve l'ordre des Scléractiniaires qui sont les coraux dur (J.Charles Delbeek et Julian Sprung, 1997).

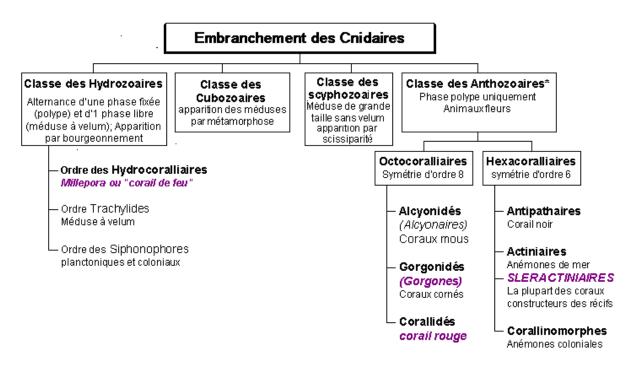


Figure 3: Classification des coraux

### 3) Les coraux

Les coraux se trouvent dans de nombreux endroits au niveau de l'océan (voir figure1). Dans cette classe, les polypes peuvent vivre seul, fixée ou en formant des colonies. (Club de minéralogie et de paléontologie, 2014).

Le terme « corail hermatypique » désigne les espèces bâtisseuses de récifs. Ceux-ci sont en symbiose avec des zooxanthelles du genre *symbiodinium* qui permettent une formation plus rapide du squelette calcaire.

Il existe deux types de coraux : les coraux durs « bâtisseurs » et les coraux mous. Seuls les bâtisseurs vont permettre la formation de calcaire et donc de créer un squelette ou un récif. Il ne s'agit pas seulement d'une masse calcaire solide mais d'un échafaudage de cristaux de calcium, de strontium et de magnésium complexe. Afin que la formation soit optimale, la quantité de calcium qui se trouve dans l'eau de mer doit être située aux alentours de 400 mg/L. En dessous de 250 mg/L, la synthèse du calcaire est suspendue, on considère que la valeur minimale est de 350 mg/L. (Schuhmacher, 1976)

Le corail est une structure constituée de plusieurs organismes appelés polypes (§ 4).

L'épiderme oral est constitué de plusieurs cellules dont des ciliées ainsi que des cnidocytes (cellules spécifiques aux cnidaires). L'épiderme aboral, quant à lui, est constitué de cellules permettant la formation du squelette calcaire

#### 3.1) La défense du corail

Afin de survivre au facteur de prédation, différentes tactiques ont été mises en place par le corail.

En fonction de l'espèce, le corail dur aura une rapidité de croissance différente. Il s'agit ici d'un avantage qui va leur permettre de coloniser rapidement de nouvelles zones et d'être dominant face à d'autres espèces. On parle ici de la défense « passive ».

L'autre type de défense est la défense « agressive ». Elle peut se faire de quatre manières différentes (J.Charles Delbeek et Julian Sprung, 1997) :

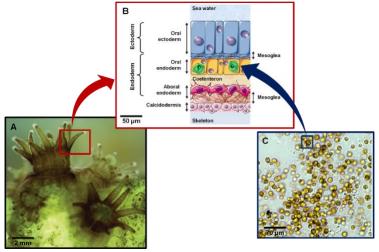


Figure 4: Structure tissulaire du corail A= Polypes ; B = Schéma tissu interne ; C= Zooxanthelles

- Filaments mésentériques : Il s'agit d'organe digestif qui lors d'une agression par un autre corail, éjecte ses filaments par la bouche ou au travers des parois de son corps. Au contact de ces filaments, les tissus de l'agresseur seront littéralement digérés. Cela va laisser des zones nues sur le squelette de la victime. Ces filaments ne servent pas uniquement à agresser un corail à proximité, ils peuvent aussi être utilisés dans l'élimination de substrat.
- Acrorhagi : Il s'agit ici de structures spécialisées. Des boursouflures remplies de cellules urticantes se situent sur le dessous des tentacules. Lors du contact avec un autre organisme, elles détruisent localement les tissus.
- Tentacules répulsifs : Lorsqu'un polype est mis en contact durant plusieurs semaines avec un autre organisme, des tentacules spécialisés se développent. Il s'agit d'organes généralement plus longs et plus minces que les tentacules habituels.
- Substances toxiques : Chez beaucoup de coraux mous des substances toxiques telles que les sacrohines, des terpénoides, des diterpénoides et d'autres encore sont sécrétées. Ces substances sont très efficaces et agissent comme agent répulsif.

## 4) Le corail scléractiniaire

Le corail scleractinaire fait partie de l'ordre où un squelette calcaire est observé. Il possède une structure assez particulière et vit en colonie composée de polypes.

Un polype: est une structure de moins d'un centimètre de diamètre en général. Ses parois sont constituées d'un épiderme et d'un gastroderme délimité par un réseau de collagène. Sur la paroi extérieure du polype, deux sections se présentent : la section inférieure et la section supérieure. C'est la section inferieure qui précipite le calcaire alors que la section supérieure domine le squelette lorsqu'elle est en turgescence (gonflée d'eau).

La plupart des polypes se regroupent afin de vivre en colonie. Ils sont reliés par un coénosarc : il s'agit d'un tissu formé à partir des parties exothècales. Il y a une relation entre le coénosarc et la cavité gastrique qui se fait par-dessus le bord de la thèque (paroi externe du squelette). Le gastroderme permet de délimiter un orifice, la bouche qui est entourée d'un disque oral et de tentacules. Sous l'orifice, se présente une cavité

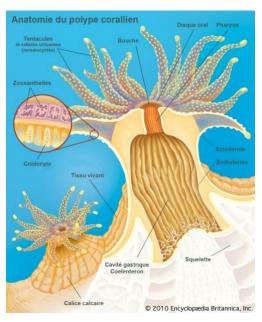


Figure 5 Anatomie simplifiée du polype Source : <u>cap récifal, Hétérotrophie chez les coraux</u> <u>scléractiniaires</u>

qui sert non seulement de cavité gastrique mais aussi de système circulatoire entre les polypes (l'impact d'un choc thermique sur la photosynthèse des zooxanthelles chez le corail Seriatopora hystrix, 2017).

Le polype se loge dans un calice qui est une construction en carbonate de calcium, l'ensemble des calices se regroupent et forment le corallum qui est le squelette. Le corallum peut prendre plusieurs formes différentes comme les branchures, les plateaux, ...

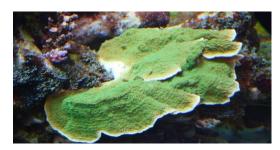


Figure 6: Plateau de corail. Source, Aquario-Phil



Figure 7: Branchure Seriatopora hystrix

Il dispose de plusieurs manières pour se nourrir :

- La photosynthèse : celle-ci est réalisée par ses symbiontes : les algues Zooxanthelles.
- Capture du plancton.
- Absorption de matière organique.

#### 4.1) La reproduction du corail scléractiniaire

Afin de se développer, le corail scléractiniaire bourgeonne ou subit une division longitudinale. Deux méthodes de reproduction sont distinctes : la reproduction sexuée et asexuée.

#### 4.1.1) Reproduction sexuée

Certaines espèces pratiquent une fécondation dans la cavité gastrique des polypes alors que pour d'autres cela se produit dans l'eau.

Les espèces dites ovovivipares sont celles dont la fécondation et le développement embryonnaire se déroulent dans la cavité gastrique des polypes. L'ovule est fécondé par le sperme qui aura pénétré cette cavité. Cela donne naissance à des larves appelées « Planulae ».

L'autre type de reproduction sexuée nécessite une synchronisation des espèces. Il s'agit ici d'une libération des gamètes mâles et femelles dans l'eau. Cette reproduction peut être saisonnière, mensuelle ou continue. Les gamètes vont être lâchées en fonction d'un stimulus ressenti dans l'environnement. Cela peut être dû à un changement de température, de cycle lunaire, ...

Une grande partie des coraux sont hermaphrodites et peuvent donc lâcher le sperme et les ovules ensemble ou séparément. Ce type de reproduction permet une évolution ainsi qu'une diversité au point de vue génétique (J.Charles Delbeek et Julian Sprung, 1997).

#### 4.1.2) Reproduction asexuée

Il s'agit ici de la reproduction la plus fréquente chez les coraux. On retrouve plusieurs stratégies à ce niveau. « Cette stratégie comprend la libération de planulae, le bourgeonnement de polypes-fils, la production de colonies-satellites, la scissiparité et la fragmentation. » (Citation)

Lorsqu'un corail devient trop lourd dû à sa forte croissance. Une partie de celui-ci va se détacher. Par la suite, il va se déposer sur un substrat divers où il va recommencer une croissance et produire un nouvel individu. On obtient alors génétiquement parlant un clone issu de la colonie mère (J.Charles Delbeek et Julian Sprung, 1997).

## 4.2) Formation du squelette / calcification

Afin de former leurs squelettes calcaires, le corail a besoin d'éléments de base comme l'ion calcium et l'acide carbonique. Ces éléments existent en abondance dans l'eau de mer, ce qui apporte une quantité suffisante aux cellules qui édifient le squelette des polypes.

Un inconvénient est que seule une faible quantité de ces substances se combine afin de précipiter du carbonate de calcium. Les coraux symbiotiques sont capables d'aspirer constamment du  $CO_2$  afin de le consommer dans le processus de photosynthèse. Cela va permettre aux Zooxanthelles de fournir les éléments nécessaires aux coraux afin de former suffisamment de calcaire et arriver à une quantité dix fois supérieur à un corail démuni d'algues.

Dans la région basale du polype, des cellules ectodermiques (qui appartiennent au feuillet externe) produisent des filaments chitineux très fin. Ceux-ci garnissent les vides situés entre le polype et le squelette. C'est dans cette zone que se forment des cristaux de calcaire dans une solution sursaturée en ions calcium. Grâce aux filaments, les cristaux vont prendre une certaine orientation. La température et la lumière vont jouer un rôle important dans la précipitation du calcaire.

Seuls les coraux qui sont constitués de Zooxanthelles arrivent à former assez de calcaire pour la réalisation d'un récif. Actuellement, seul des hypothèses à ne pas exclure sont émises (Vimal, 2007).

- Les zooxanthelles absorbent le gaz carbonique situé dans les polypes afin de déplacer l'équilibre des réactions<sup>1</sup> de calcification. Le déplacement des réactions vers la droite favorise la dissociation des acides carboniques et donc le dépôt de carbonate de calcium.
- Les zooxanthelles sont capables de sécréter des hormones/ substances qui ont un impact sur l'augmentation du métabolisme des calcioblastes
- Les zooxanthelles sont capables d'absorber des phosphates en quantité assez importante, ce qui provoque une inhibition de la formation des cristaux d'aragonite.

Il faut savoir que les facteurs de croissance du squelette dépendent aussi des facteurs génétiques et écologiques :

#### - Facteurs génétiques :

- En fonction de la porosité ou de la compactassion du squelette, la croissance sera différente. Effectivement, un squelette poreux aura un taux de croissance plus élevé qu'un squelette compact.
- En fonction de l'âge et de la dimension de la colonie. Plus la colonie est âgée au moins sa croissance sera élevée. Cela s'explique par un métabolisme des polypes plus lent mais aussi par une diminution de surface de la colonie par rapport au volume.

#### - Facteur écologique :

 La température : elle joue un rôle sur la croissance moyenne annuelle de la colonie. La calcification optimale des coraux tropicaux se fait entre l'ordre de 25°C et 28°C (Howe et Marshall,2002).

9

 $<sup>^{1}</sup>$  Ca<sup>2+</sup> + 2HCO3<sup>-</sup> <→ (CO<sub>3</sub>H)<sub>2</sub>Ca (CO<sub>3</sub>H)<sub>2</sub> Ca ←> CO<sub>3</sub>Ca + CO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> CO<sub>3</sub>H<sub>2</sub> <--> CO<sub>2</sub> + H<sub>2</sub>O

- La lumière : elle joue un rôle dans le prélèvement du calcium chez les espèces hermatypiques. On constate qu'au plus les zooxanthelles photosynthétisent au plus la calcification est élevée.
- La profondeur : elle joue un rôle direct sur la lumière. Au plus nous nous trouvons en profondeur au plus les zooxanthelles seront privées de lumière et donc la photosynthèse diminue (Chalker,1997).
- La présence de nourriture : Différentes expériences ont démontré qu'en fonction de la turbidité du milieu la croissance des coraux et donc sa calcification varie. (Leclercq, 1993)
  - Sédiments: En fonction de la quantité de sédiments présents dans l'eau, le taux de lumière qui arrivera jusqu'au polype sera différent. Au plus la présence de sédiments est importante au plus la croissance diminue.
- Composition de l'eau de mer : Afin de réaliser une calcification optimale, il est important d'avoir certains éléments dans l'eau.

#### 4.3) Métabolisme

#### 4.3.1) La circulation d'eau chez les coraux hermatypiques

Il s'agit d'un aspect fondamental au sein des colonies coralliennes. Elle joue un rôle dans la facilitation de la nutrition, des échanges gazeux ainsi que des échanges de matière avec le milieu. Cette circulation est assurée par des cils. Le mouvement de ces derniers permet de distinguer différents types de courants en fonction de leurs activités :

- Courant principal : ce courant permet un mouvement d'eau de la bouche vers la périphérie du disque oral.
- Courant de faible activité : Il permet un mouvement vers l'orifice oral entraînant des particules alimentaires.
- Courant tentaculaire : lorsque l'individu est dans de bonnes conditions, ses tentacules vont créer un mouvement d'eau par leur mobilité.
- Courant ascendant/ descendant : il s'agit d'un courant qui se crée au niveau de la colonne murale.
- Courant circulaire : il s'agit d'un mouvement d'eau situé à la base des polypes. Ce courant n'est pas présent chez tous les genres.

L'élimination des filaments muqueux ainsi que l'oxygénation se fait grâce au courant d'eau. Ceux-ci ont donc une importance primordiale (Vimal, 2007). Lors de leurs nutritions, les coraux inversent le mouvement ciliaire afin de transporter le mucus et les proies vers leur orifice oral.

#### 4.3.2) La nutrition des coraux scléractiniaires hermatypiques.

Les coraux hermatypiques se nourrissent de plusieurs sortes d'aliment :

- Leur source de nourriture principale est le zooplancton, celui-ci est principalement présent la nuit dans les océans.
- Les matières organiques en suspension : Ils sont absorbés en grande partie par des cordons ou des filets de muqueuses.
- La matière organique dissoute : Les polypes vont grâce à leurs cellules ectodermiques absorber et métaboliser ces produits.
- Les matières minérales dissoutes.
- Les bactéries : Le taux d'assimilation des bactéries peut atteindre les 80% chez les coraux.

Afin de se nourrir, les scléractiniaires peuvent pratiquer différent mode de capture :

- Capture par les tentacules.
- Capture grâce aux entéroides.
- Capture grâce à un mucus, un mouvement ciliaire et aux tentacules.
- Capture grâce à un mouvement ciliaire et au mucus.

La réaction de l'organisme afin de capturer ses proies est due à des stimuli chimique. Ce sont en grande partie les acides aminées et d'autres substances qui permettent de déclencher les réflexes de nutrition.

## 5) Galaxea fascicularis L. 1767

Ce travail porte sur l'espèce de corail, *Galaxea fascicularis* L. 1767.

#### 5.1) Description

La composition des colonies est massive et généralement en forme de coussin / dôme, elle peut aussi prendre des formes plus irrégulières. Leur envergure peut dépasser cinq mètres. Une même colonie peut avoir différents diamètres. Leur partie peut prendre des couleurs variables, un squelette calcaire les relient entre eux. Cette espèce est souvent rencontrée entre trois et vingt mètres de profondeur. À l'abri des fortes vagues.

Il s'agit d'une espèce répandue dans l'Indopacifique. Il remonte jusqu'au japon. Il s'agit d'un scléractiniaire hermatypique et se nourrit grâce aux Zooxanthelles contenu dans leurs tissus. De plus, les polypes sont constitués de cellules urticantes qui peuvent capturer de petits organismes planctoniques(J.Veron, 2000 & V. Lemara, 2016)



igure 8 Galaxea fascicularis I

#### 5.2) Classification

	Termes scientifiques	Termes français
Embranchement	Cnidaria	Cnidaires
Classe	Anthozoa	Anthozoaires
Sous-classe	Hexacorallia/Zoantharia	Hexacoralliaires/
		Zoanthaires
Ordre	Sclractinia	Scléractiniaires
Famille	Euphyliidae	Euphyliidés
Genre	Galaxea	
Espèce	Fascicularis	

Tableau 1 : classification de Galaxea fascicularis L.

Dans le tableau 1 ci-dessus, il est possible de suivre la classification de l'espèce fascicularis en détails. Partant de l'embranchement des cnidaires, il se situe ensuite dans la classe des anthozoaires, la sous classes des hexacoralliaires, dans l'ordre des scléractiniaires et enfin dans la famille des euphyliidés. L'explication de ses différents thermes se situe dans le paragraphe 2.1 classification des coraux.

## 6) Le récif corallien, un ensemble d'holobionte

Un holobionte est un ensemble d'organisme qui forme une communauté, celle-ci peut être interne, externe ainsi que de surface. Chez le corail, l'holobionte principal est un organisme symbiotique du genre symbiodinium. Celui-ci peut vivre plusieurs milliers d'année et donne la couleur brune au polype.

Au sein d'un récifs corallien, la concurrence est constante, les espèces qui n'arrivent pas à s'acclimater sont rapidement étouffées puis évincées par d'autres organismes. Afin de lutter contre cette pression, les habitants du récif ont développé différentes stratégies de symbiose. Les poissons sont en grande partie utilisés comme moyen de défense, l'accélération de croissance est aussi l'un des processus fortement rencontrée.(D. Knop, 2004)

En plus de cela, de nombreuses sortes de mutualisme se sont aussi installés, pour de nombreux animaux qui ont des faiblesses, la force de l'autre devient un moyen de combat. La relation est si intense que les différentes espèces s'influencent réciproquement au niveau de leur développement et de leur survie.

Parmi ce complexe, il est possible de trouver des :

- Poissons
- Archée
- Bactérie
- Zooxanthelles

#### 6.1) Les zooxanthelles

6.1.1) Ecologie, cycle de vie et structure

Il s'agit d'une algue unicellulaire du genre Symbiodinium.

Règne : ProtistesOrdre : Dinoflagellés

La nomenclature au sein de cette espèce est assez complexe. À la base, la classification fut réalisée grâce à des séquences de gènes ribosomaux. On utilise maintenant des régions situées dans ces séquences afin de réaliser la classification et représenter la diversité des *Symbiodinium*.

Les zooxanthelles ont deux sortes de cycle de vie. Ils peuvent passer par un stade de kyste végétatif ou par un stade de zoospore mobile.

Les kystes végétatifs :
 Ils ont une taille entre 5 et 15 μm, et sont constitués de cytosol ; ils sont entourés par

une membrane contenant des chloroplastes, des grains d'amidon, une (deux) vacuoles et un noyau. Lors de la symbiose, la forme dominante est le kyste haploïde et ses divisions cont on grande partie contrôlés par l'hête.

divisions sont en grande partie contrôlés par l'hôte.

La reproduction peut se faire de deux manières : sexuée ou asexuée. La reproduction sexuée n'est actuellement pas encore étudiée en profondeur.

Au point de vue morphologique, la différence entre les zooxanthelles est peu marquée. Au contraire, leurs compositions et leurs infrastructures ont une grande diversité, une différence de chromosomes, de tailles des cellules lors de la phase végétative, de composition d'acide gras est visible.

Pour la plus grande part de leur cycle de vie, les zooxanthelles sont en symbiose avec un hôte. Il peut s'agir de mollusques, de cnidaires, d'éponges de protistes. Dans le cas d'une symbiose avec des scléractiniaires, ils se situent à l'intérieur des cellules endodermique de la cavité gastro-vasculaire dans un symbiosome (compartiment cellulaire formée d'une membrane provenant de l'hôte) (V.Dudome.).

La répartition de ceux-ci dans le tissu de l'hôte varie en fonction de plusieurs paramètres :

- Géométrie du polype : en fonction du type de colonie, les polypes auront différents aspects. Les zooxanthelles sont moins abondantes sur les extrémités des rameaux ainsi que sur les colonies lamellaires.
- Comportement des polypes : En fonction de l'état de développement du polype, des tentacules dans le milieu, la proportion de zooxanthelle sera plus élevée ou non.
- Milieu : Comme dit plus haut, la lumière joue un rôle fondamental sur la présence des zooxanthelles du fait qu'il s'agit d'une espèce autotrophe.

#### 6.1.2) Clades de zooxanthelles

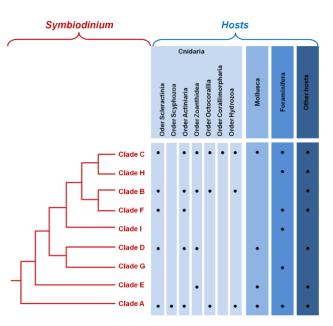
Des recherches récentes démontrent qu'il existe plusieurs clades de Zooxanthelles. Il s'agit d'une classification selon leur propriété biologique. On dénombre 9 clades différents allant de "A" à "I" à l'heure actuelle. Cependant il en existe peut-être d'autres. Chaque famille de corail peut être constitué d'un ou de plusieurs clades différents.

Chaque clade possède des propriétés physiques différentes. Chez les coraux, il y a toujours un clade qui domine les autres.

Si un changement environnemental est provoqué, un clade qui était dominé peut devenir dominant. Il y a donc une adaptation à l'environnement qui se fait afin que le corail puisse survivre dans son milieu (Fournier, 2013).

#### Voici un exemple:

Chez le corail Scleractinaire, il s'agit du clade « A » qui est dominant. Lors d'une augmentation de température, on observe un changement dans la domination des clades. C'est alors le clade « C » qui vient Figure 9 Les différents clades et leurs hôtes prendre la place du clade « A » Cela



s'explique par le fait que ce dernier est thermorésistant. Ce changement permet donc au corail de survivre à l'augmentation de température. (stresse environnementaux chez le corail scléractiniaire, 2011)

#### 6.1.3) Relation entre coraux et Zooxanthelles

Dans les récifs, les zones sont relativement pauvres en nutriments. Afin de compenser cela les coraux ont développé une relation symbiotique avec une algue appelée zooxanthelle. Dès son stade larvaire, le corail hermatypique peut être doté de zooxanthelles. Ceux-ci proviennent de la colonie de laquelle il est né.

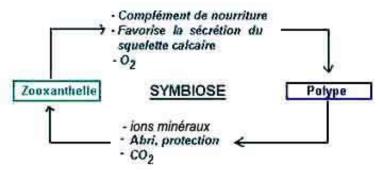
Le zooxanthelle, qui est une algue unicellulaire permet une fourniture en énergie pour son hôte. En contrepartie, le corail produit de l'ammoniaque et un déchet métabolique que l'algue peut utiliser comme source d'azote.

Le terme zooxanthelle vient du grec « Xantos » qui signifie Jaune-brun. En effet cette algue n'est pas verte et il s'agit d'un dinoflagellé doré. Cette couleur leur permet de pratiquer une absorption des radiations lumineuses bleues plus facilement (Schuhmacher, 1976).

Il existe plusieurs sortes de Zooxanthelles. Certaines sont à multiplication rapide alors que d'autres sont à multiplication lente. Elles sont présentes dans la plupart des coraux constructeurs, de nombreux Octocoralliaires, quelques gorgones, anémones de mer, Zoanthides, Corallimorphaires et de bénitiers.

Celles-ci viennent se loger dans la seconde couche de cellule qui constitue le tissu corallien. Leur présence est essentielle pour les coraux hermatypiques du fait qu'elles pourvoient leur nutrition, éliminent leurs résidus métaboliques et permettent la formation du squelette. Le bicarbonate dérivé du glycérol et du glucose est transformé par photosynthèse grâce à l'utilisation de l'énergie lumineuse en glucide. La production de glycérol, de glucose, d'acide gras et aminée est ainsi assurée. Afin que ces processus puissent se produire, l'algue nécessite certains nutriments principaux comme : l'azote et le phosphore. Par exemple : l'ammoniaque produit par les coraux est également utilisé comme source d'azote. (E. Houliez, 2012)

Il est suggéré que l'azote ainsi que le phosphore proviennent de la digestion des zooplanctons ingérés en petite quantité. De plus, le corail arrive facilement à absorber l'ammonium, le phosphore et le nitrate. Le carbone utilisé par l'algue provient essentiellement du dioxyde de carbone produit par leur hôte et



non d'une source externe. Pour finir, le corail permet aux zooxanthelles de s'alimenter

Figure 10 Relation corail-Zooxanthelles Source: http://vieoceane.free.fr/paf/ficheb32.html

aussi en acétates, cela leur permette d'élaborer leurs acides gras qui contribuent à la stabilisation de leur chloroplaste.

98% des produits de la photosynthèse peuvent être fourni à l'hôte. Le corail sécrète une enzyme digestive qui favorise les échanges en rendant les parois cellulaires des algues perméables. Les acides aminées sont utilisées par le corail afin de fabriquer des protéines (J.Charles Delbeek et Julian Sprung, 1997).

En résumé, l'énergie lumineuse permet aux zooxanthelles de convertir le dioxyde de carbone qui provient de la respiration des tissus coralliens ou issus du bicarbonates en glucide (glycérol et glucose), lipides et acides aminées. Le tout est transféré à l'organisme de l'hôte qui va ensuite restituer aux algues de l'azote et du phosphate.

#### 6.1.4) mécanisme de symbiose

Premièrement la zooxanthelle va pénétrer dans la cellule endodermique du scléractiniaire (cela se fait sans réponse immunitaire de la part de ce derniers). L'acquisition d'une zooxanthelle par un scléractiniaire peut se faire de deux manières différentes (Stat, Carter, & Hoegh-Guldberg, 2006) :

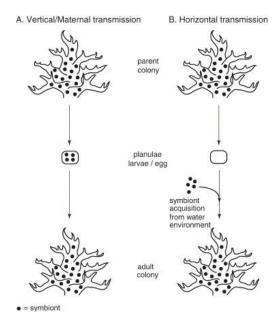


Figure 11 : Stratégie de transmission verticale et horizontale Source : http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1433831906000035

- Transmission maternelle : Le zygote est constitué d'une zooxanthelle avant même sa libération dans la colonne d'eau
- Transmission horizontale : Le zygote ne contient pas de zooxanthelle avant sa libération. Il va en acquérir dans le milieu dans lequel il se trouve.

Les colonies de coraux sont dominées par un type de Symbiodinium. Cependant elles possèdent un pool diversifié de ces derniers ; Cela crée un avantage quant à l'adaptation de certains scléractiniaires lors d'un changement de condition (V.Dudome, n.d.)

## 7) La Photosynthèse chez le corail

## 7.1) Généralité

Il s'agit d'un processus qui permet l'autotrophie aux espèces photolithoautotrophe. La photosynthèse est un processus physiologique où l'énergie lumineuse va être convertie en énergies chimiques (ATP et NADPH), celles-ci vont ensuite être nécessaires au fonctionnement du cycle de Calvin qui fixera le CO2 et aboutira à la synthèse de molécules organiques complexes indispensable au développement et à la croissance de ses espèces. De plus, la photosynthèse libère de l'oxygène (O2) indispensable à la vie sur terre mais aussi à la respiration cellulaire et dans la synthèse de l'ATP qui l'accompagne.

Différentes expériences ont montré que la photosynthèse se réalise en deux grandes étapes. Une étape photochimique, dépendante de la lumière (claire) et un autre non photochimique, indépendante de la lumière (sombre). La réaction générale de la photosynthèse est la suivante :

$$6H_2 O + 6 CO_2 \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6 O_2$$

Pour que les êtres vivants puissent utiliser l'énergie lumineuse dans la photosynthèse, ils doivent d'abord l'absorber grâce à l'intermédiaire de pigments. Chaque pigment absorbent des longueurs d'ondes spécifiques c'est-à-dire qu'ils transmettent ou réfléchissent celles qu'ils n'absorbent pas.

La chlorophylle, pigment responsable de la couleur verte des plantes absorbent principalement dans la gamme du violet et du bleu ainsi que dans le rouge.

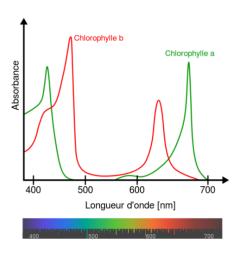
Les principaux pigments photosynthétiques sont les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobillines dont le spectre d'absorption est complémentaire pour permettre une absorption optimale de la lumière visible comme le montre le schéma ci-dessous.

Chlorophylles a/b	Caroténoïdes
Absorbent la lumière bleu et rouge	Absorbent la lumière bleu et vert

La chlorophylle a est primordiale pour la photosynthèse, son spectre d'absorption va de 440

à 680 nm. La chlorophylle b permet d'élargir la gamme de lumière utilisable pour la photosynthèse et intervient indirectement. La chlorophylle C, est une chlorophylle qui remplace la b chez les algues et les diatomées. C'est cette complémentarité dans le spectre d'absorption qui permet d'utiliser un maximum des longueurs d'onde du visible.

En absorbant la lumière, ces molécules entrent en vibration c'est-à-dire un état existé ou instable.



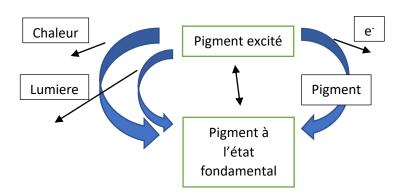


Figure 12 Longueur d'onde d'absorption Source: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Chlorophyll\_a b spectra-fr.svg

Lorsque les molécules de chlorophylle (ou tout autre pigment) absorbent de la lumière, les électrons passent d'un « état fondamental » à un « état excité » qui correspond à un niveau énergétique supérieur. Cet état excité est instable et va avoir tendance à revenir vers l'état fondamental via 3 voies possibles :

- 1. Convertion de l'énergie en chaleur
- 2. Convertion de l'énergie en lumière (avec longueur d'onde supérieure) c'est la fluorescence
- 3. Piègeage de l'énergie transmise par le pigment piège au niveau du photosystème (c'est le déclenchement de la réaction photochimique)

Ces différentes voies de déexcitation des pigments sont complémentaires et permettent d'évacuer des excédents d'énergie. Il y a donc une interdépendance entre les voies de déexcitation des pigments.

Dans le principe général, l'eau est absorbée par les racines puis passe par les feuilles au niveau des chloroplastes. L'eau est en effet indispensable au déclenchement de la photosynthèse puisqu'elle va subir la photolyse grâce à l'energie que la lumière va procurer au niveau des pigments.

On observe à ce moment une dissociation de la molécule d'eau (photolyse de l'eau):

$$2H_2O^- \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$$

Grâce à cette réaction, la chlorophylle va retrouver son état fondamental et va ainsi fournir des électrons qui déclenchera la chaîne de transferts d'électrons entre des accepteurs et donneurs d'électrons.

L'oxygène sera éjecté de la cellule par diffusion et les protons envoyés dans l'ATPase pour former de l'ATP

Dès lors à l'issue de la réaction photochimique primaire, cette première étape permet de :

- Convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique
- De photolyser l'eau en libérant de l'oxygène, des protons et des électrons
- De déclencher la chaine de transport d'électrons
- Former l'ATP à partir de l'ADP (1ere molécule d'énergie chimique)
- Former du NADPH+H+ (2eme molécule d'énergie chimique)

C'est dans la seconde phase de la photosynthèse que l'ATP et le NADPH+H+ sont utilisés comme énergie chimique dans le cycle de Calvin.

Afin que les électrons portés à un état excité reviennent à leurs états initiaux, trois possibilités sont retrouvées :

- L'énergie est convertie en chaleur
- L'énergie est convertie en fluorescence
- L'énergie est utilisée dans la photochimie.

Le schéma suivant montre bien la complémentarité entre la réaction photochimique qui a lieu dans les membranes thylakoïdiennes du chloroplaste et le cycle de Calvin qui a lieu dans le stroma du chloroplaste.

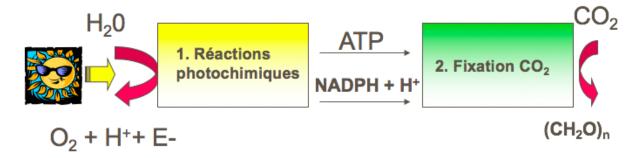


Figure 13 : représentation schématique des réactions photosynthétique

#### 7.3) La phase dépendante de la lumière : réaction photochimique primaire

Cette phase est appelée réaction photochimique primaire car elle dépend de la lumière pour effectuer la photolyse de l'eau. Il s'agit d'une phase photochimique qui permet la capture de l'énergie lumineuse grâce à des pigments absorbants. Ceux-ci vont ensuite convertir cette source lumineuse en énergie chimique sous la forme d'ATP et de NADPH+H<sup>+</sup>. Afin que cette réaction soit possible, les pigments photosensibles (caroténoïdes, chlorophylles et phycobiline) absorbent et canalisent l'énergie lumineuse vers la chlorophylle « A ». Les électrons de la chlorophylle « A » sont à un potentiel d'énergie supérieure et lors de leur passage à l'état fondamental vont envoyer les électrons vers les pigments piège (+ chaleur et fluorescence).

Ce transfert d'électron est dû à la scission des molécules d'eau qui donnent des atomes

eau surface d'un thylakoïde

Chlorophylle

Le gaz carbonique renferme un atome de carbone.

La photosynthèse génère des molécules de sucres comprenant 3 atomes de carbone.

La photosynthèse génère des molécules de sucres comprenant 3 atomes de carbone.

La phase sombre est indépendante de la feuille

La phase claire nécessite l'éclairage de la feuille

d'hydrogène et d'oxygène. (Botarela, 2012). Les électrons sont alors envoyés dans le schéma en Z (selon des potentiels redox précis) où des donneurs et des accepteurs d'électrons vont se passer les électrons pour arriver à l'accepteur final NADP+ qui recoit l'électron et passe sous la forme de NADPH+ H<sup>+</sup>

Parallèlement à cette réaction chimique, les protons issus de la photosynthèse seront envoyés dans l'ATPase et formeront la seconde énergie chimique : l'ATP

Figure 14: Principe de photosynthèse (phase claire = réaction photochimique primaire ; phase sombre = cycle de calvin)

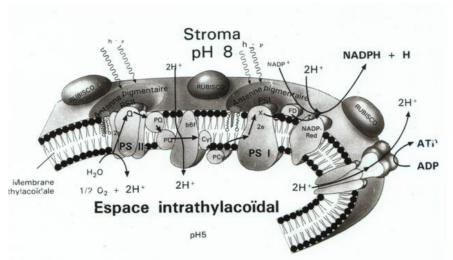


Figure 15 : réactions photochimiques primaires (Raven et al, 2000)

A l'issue de cette première phase « réactions photochimiques primaires », et grâce à l'utilisation des 2 énergies chimiques formées, se mettra en place la seconde étape de la photosynthèse appelée « cycle de Calvin où le CO2 sera fixé et transformé en sucre.

## 7.4) La phase indépendante de la lumière : cycle de calvin

Cette phase est appelée phase sombre (cycle de Calvin) car elle ne dépend pas directement de la lumière mais uniquement de l'énergie chimique formée à l'issue de la réaction photochimique primaire (ATP et NADPH+ H<sup>+</sup>)

Elle se déroule dans le stroma du chloroplaste.

Le CO<sub>2</sub> est absorbé afin d'être réduit en sucre à travers le cycle de Calvin en tuilisant l'énergie sous forme d'ATP et de NADPH+ H+ issue de la réaction photochimique. Le CO<sub>2</sub> prélevé dans l'atmosphère s'unit avec un sucre (ribulosediphosphate RuDP) au niveau de la première étape du cycle-

Ce procédé métabolique permet la fabrication de divers sucres comme le glucose et le fructose. Ils vont ensuite pouvoir se combiner pour former le saccharose (principal sucre transporté dans les plantes) et éventuellement de l'amidon (glucide de réserve). Les glucides fournissent à la plante une énergie chimique et le squelette carboné qui permet la synthèse des molécules organiques. Ceux-ci quittent le lieu de synthèse sous forme de saccharose utilisé ensuite dans la respiration cellulaire et dans des voies de biosynthèse des protéines, des lipides, des constituants de la paroi et dans d'autres composés. Cette étape nécessite de l' NADPH ainsi que de l'énergie sous forme d'ATP. (Botarela, 2012)

#### 7.5) Principe de la photosynthèse chez les algues

Chez le corail, ce sont les Zooxanthelles qui pratiquent la photosynthèse. Ils sont les principaux

responsables de la productivité photosynthétique permettant la croissance des récifs coralliens.

Etant un dinoflagellé doré, les zooxanthelles absorbent la chlorophylle A + C ainsi que les caroténoïde (M. Oceanes & Maelann, 2011). Elles utilisent également une partie de la matière organique fournie par le corail. Il s'agit ici des déchets azotés et phosphorés principalement mais aussi le dioxyde de carbone issu de la respiration. L'utilisation du dioxyde de Carbonne par ses algues, permet une meilleure précipitation du carbonate de calcium dans le squelette corallien. Leur the story of symbiosis whith zooxanthellae, 2013 production d'oxygène, de glucose, de peptide ainsi

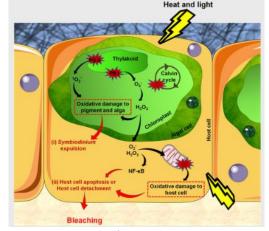


Figure 16: photosynthèse chez les algues. Source,

que d'autres éléments sont utilisées par le polype. La précipitation du carbonate de calcium est facilitée dans le squelette corallien grâce à l'utilisation du dioxyde de carbone par ses algues.

$$Ca^{2+} + 2HCO_3^- < == > CaCO_3 (s) + H_{2O} + CO_2$$

L'équilibre de cette équation chimique est déplacé vers la droite lorsque le corail consomme du CO<sub>2</sub>, cela favorise la précipitation des ions calcium et carbonates en carbonate de calcium. En fonction de l'intensité lumineuse la production d'oxygène sera différente. Une intensité trop élevée aura comme conséquence de provoquer une saturation(J. Vidal-Dupiol, 2011).

## 8. L'étude de la photosynthèse

La photosynthèse étant un point central dans le développement des coraux. Plusieurs méthodes ont été mise en avant afin d'étudier ce phénomène physiologique de grande importance pour la survie des coraux. Comme :

- Spectrométrie : il s'agit de la discipline qui étudie les spectres issus d'une interaction entre une matière et des rayonnements.
- PAM : il s'agit d'une étude par fluorimetrie qui permet de mesurer la fluorescence chlorophyllienne.
- Microsonde a oxygène

Les principales méthodes d'étude de la photosynthèse se focalisent :

Soit sur la réaction photochimique en étudiant l'émission d'oxygène ou les voies de désexcitation des pigments comme la fluorescence chlorophyllienne

Soit sur le cycle de Calvin en mesurant la quantité de CO2 captée ou par les sucres produits

Parmi les outils cités ci-dessous, ce travail s'intéresse à l'utilisation de la microélectrode à fibre optique qui permet de détecter et de quantifier finement l'O2 produit sur le coénosarc localement.

Deux principes de base sont utilisés ici :

- Un matériel réactionnel va être excité à la lumière rouge
- La mesure de luminescence produite par le matériel en lui-même est inversement proportionnel à la quantité d'O<sub>2</sub> qui se trouve dans le milieu.

L'extrémité de l'électrode qui est constitué de la partie la plus sensible, contient un matériel solide enduit d'un colorant fluorescent sensible à  $l'O_2$ ; Il est excité à la lumière à une certaine longueur d'onde. L'utilisation de cette méthode est basée sur l'extinction du colorant luminescent causé par la collision entre les molécules d'oxygène et l'indicateur immobilisé sur le support ou sur la fibre. Lors de la mise sous lumière orange-rouge, les luminophores sont excitables et vont avoir une luminescence dépendante de  $l'O_2$  dans l'infrarouge proche.

La lumière d'excitation du capteur est transmise par la fibre optique tout en transmettant au dispositif de mesure la réponse de fluorescence du capteur.

Le temps de réponse de l'électrode est extrêmement rapide et ses mesures ont l'avantage d'être d'une fiabilité élevée. De plus, elle n'interfère à aucun moment avec le phénomène étudié ce qui permet une meilleure analyse. (Manual FireStingO<sub>2</sub>, version 3.07)

L'oxygène est un gaz ce qui signifie qu'il se dissout dans l'eau. Sa dissolution est limitée à une valeur seuil dite « teneur en saturation ». Il s'agit d'une valeur qui varie en fonction de la température, de la salinité ainsi que de la pression atmosphérique.

Au plus la salinité et la température seront élevées, au plus la solubilité de l'oxygène est faible. Par rapport à la pression atmosphérique, la teneur en saturation est proportionnelle à celleci. Il existe une formule qui permet de calculer la teneur en saturation cependant, nous ne l'utilisons pas dans le cadre de mon TFE.

Une autre formule permet d'obtenir la valeur de la pression atmosphérique :

$$Pa = [O_2]$$
à 1013  $mbar \times (\frac{Pa \ r\'{e}elle}{1013 \ mbar})$ 

Lorsqu'une source lumineuse est envoyée sur le corail, il y a une production maximale d'oxygène à la profondeur du tissu où se trouvent les Zooxanthelles. L'O2 va ensuite diffuser au travers des tissus. De ce fait, plus on s'éloigne de cette couche, plus la quantité d'oxygène dosée est faible. Il est important de savoir qu'il existe une couche de 25 micromètres sur la surface du corail constitué d'eau stagnante. Il ne s'agit pas d'une couche présente uniquement chez le corail mais bien d'une couche présente chez tout être qui se situe dans un milieu aqueux.

La respiration du corail se fait de jour comme de nuit. La respiration de jour est nettement supérieure à celle de nuit (jusqu'à 6 fois).

## C) Matériel et méthode

## 1. Bouturage des coraux :

Afin de réaliser les expériences dans les mésocosmes, la première étape consiste dans le bouturage de la colonie mère. Cette technique consiste à séparer une colonie mère en plusieurs colonies filles. Une diversité génétique constante est ainsi conservée puisqu'il s'agit

de clones de la colonie mère, ce qui permet de minimiser les changements lors de la réplication des analyses et de maximiser la maîtrise d'une potentielle source de variation. Un bouturage de corail s'opère assez simplement. Il suffit de venir couper le corail en petits morceaux à l'aide d'une pince ou de ciseaux tranchants.

Les boutures effectuées sont placées dans le mesocosme, accrochées à un fil de nylon relié à un support en plastique. La position haute et proche de la lumière permet un développent optimal. C'est sur ces boutures que vont se réaliser les différentes expérimentations.



Figure 17 : bouture de corail

### 1.1. Pesée en poids immergé:

La pesée en poids immergée est une méthode de suivi de croissance mis au point par Jokiel et al. Pour ce faire, une balance analytique d'une précision de +/- 0.001g est utilisée, ainsi qu'un crochet placé sous le socle de cette dernière afin d'y suspendre les boutures dans un récipient d'eau provenant du mesocosme d'un volume d'1L.

Cette méthode permet de constater l'état de condition de croissance du corail. Le poids immergé est converti en poids squelettique.



Figure 18: pesée en poids immergé

#### 2. Utilisation de la microélectrode

La microélectrode à oxygène employée est de la marque Pyrosciences Sensor Technology. Elle est composée d'un part un capteur constitué d'une fibre optique. Lors des manipulations, il est possible de choisir entre trois positions de sortie du capteur par rapport à la protection : 0, 6 ou 12 millimètres. Le diamètre de l'aiguille est de 0.5 millimètre, celui de la fibre de 230 nanomètres.



Figure 19 Microélectrode

#### 2.1 Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental mis en place autour de la microsonde à oxygène est composé d'une cuve de mesure en verre (1) où l'organisme à étudié est placé (3). Cette dernière est alimentée en eau via un système de pompe qui permet d'apporter un courant dans la cuve expérimentale (8). L'eau de renouvellement est monitorée pour être à 25°C via une sonde température et une résistance chauffante (7). De plus cette cuve de renouvellement est dotée d'un bulleur afin de fournir de l'O2 dans l'eau (6). Un dispositif LED permet d'obtenir une lumière d'intensité constante et précise. La sonde microO2 est placé sur un micromanipulateur manuel (2). Le positionnement de la sonde est aidé via une caméra placée dans l'eau ainsi que d'un binoculaire (9).

L'ensemble des mesures obtenu par la sonde, le mecanisme d'allumage des LED ainsi que de la température de la cuve de renouvellement sont géré par ordinateur (4).

## 2.1.1. Schéma du dispositif expérimental

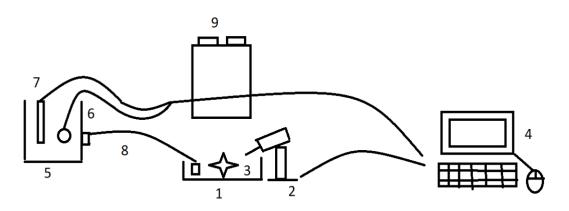


Figure 20: schéma dispositif microélectrode

#### Manipulation générale :

Une bouture du corail *Galaxea f.* est déposée dans la cellule de mesure remplie d'eau. Une fois la bouture mise en place et le binoculaire réglé de manière à ce que le coénosarc soit visible, on vient placer la microélectrode.

La microélectrode doit être placée afin de se trouver au plus proche de l'épiderme du corail. Pour cela, une avancée par micromanipulateur (un support métallique dans lequel la position de la microélectrode est modifiée) est effectuée. La température de l'eau est fixée à  $25^{\circ}$ C lors des manipulations. Il s'agit en effet de la température à laquelle se trouve le corail dans les aquariums. Une fois tout le matériel installé, un programme informatique permet de pratiquer la calibration microélectrode. Ce même programme, mesure la concentration en  $O_2$  et la température lors des mesures. Ils sont enregistrés avec un laps de temps défini, les résultats

sont reportés sur graphique ainsi que sur une fiche. Avant de commencer les prises de mesures, il est important de calibrer la microélectrode. Pour cela, vous pourrez trouver les détails dans le point calibration situé dans le paragraphe plus bas.

Les manipulations avec la microélectrode sont une grande nouveauté au sein du laboratoire. Il a donc fallu procéder à différents tests afin de mettre cette technique en place. Au départ, des tests de temps, de position par rapport au corail, d'impact, les plateaux, ... s'est mis en place

#### 2.2. Méthodologie:

Au départ, de manière plus pratique, les tests étaient répétés de nombreuses fois afin de trouver les bonnes conditions de mesure. Cette phase d'essai a été primordiale pour la définition d'un protocole fiable. Pour cela, différentes données ont été prise de manière aléatoire au départ :

#### - Zone de prise de mesure

Les premiers tests ont été effectués directement sur le polype du corail du fait qu'il s'agit de la zone par laquelle le corail se nourrit. Après réflexion et discussion, le coénosarc fût définit comme partie la plus représentative. Effectivement, il s'agit de la partie où l'on va retrouver le plus de zooxanthelles qui effectue le relâchement d'oxygène.

## - Temps de prise de mesure réaction

La microélectrode est constituée à son extrémité d'une fibre qui permet de capter l'oxygène. Cette fibre n'étant pas infinie (sa durée de vie dépend de son utilisation), il était important de trouver le temps de mesure le moins long possible tout en ayant assez de prises de données à chaque manipulation. Pour cela, chaque manipulation déjà faite était raccourcie le plus possible. A chaque raccourcissement, l'analyse des données afin de voir la fiabilité des mesures étais enregistrées.

#### Distances

A partir d'une distance trop éloignée du coénosarc, la prise de mesure n'est plus utile. Cela s'explique par le fait que le corail n'influence plus le milieu, la production d'oxygène n'est alors pas détectable. Pour cette raison, lors de la 1<sup>ere</sup> expérience de chaque manipulation cette distance a été définie.

### Angle de prise de mesure

Afin de rendre la prise de mesure la plus précise possible et après divers essais, il a été décidé de réaliser cette prise de mesure de manière perpendiculaire au tissu du corail. Cette position permettait de pouvoir travailler à l'échelle du micromètre plutôt que du millimètre comme c'est le cas pour les mesures prises obliquement.

#### - Mouvement d'eau

Le mouvement de l'eau influence les données prélevées par la microélectrode. Pour cela, différentes manipulations ont été effectuées avec et sans mouvement d'eau.

#### - Intensité lumineuse

La lumière classique ne s'éteignant pas de manière instantanée, cela provoquait des erreurs de mesures. Pour cette raison, dans la suite des manipulations, le travail a été réalisé avec des LED. Celles-ci s'éteignaient de manière instantanée. La réaction pouvait donc être représentative de l'extinction lumineuse.

Tableau 01 : synthèse des mises en œuvre pratiques des principales modalités qui ont été investiguées afin de définir le protocole final.

Test	Essaie
Angle de prise de mesure	Position verticale
	<ul> <li>Position oblique</li> </ul>
	<ul> <li>Inclinaison à 40°</li> </ul>
Temps de prise de mesure	• 150 secondes
	<ul> <li>100 secondes</li> </ul>
	• 50 secondes
	• 15 secondes
Distances	Millimètre
	<ul> <li>Nanomètre</li> </ul>
	• Micron
Mouvement de l'eau	• Avec
	• Sans
Intensité lumineuse	Lumière classique 100 PAR
	Led 100 PAR
	Led 0 PAR
Zone de prise de mesure	• Polype
	<ul> <li>Coénosarc</li> </ul>

## 3. Etude de la respiration :

Celle-ci se réalise grâce à un respiromètre. Il s'agit d'un réacteur dans lequel l'holobionte étudié est placé. Ce réacteur est clos et est constitué d'un senseur d'oxygène. La variation d'oxygène au cours du temps par rapport à l'activité respiratoire ou photosynthétique y est étudiée. La mesure par respiromètre a été effectué par Mr. Batignie lors de mon stage. Il s'agit de la personne dans le laboratoire qui connais le Protocole et qui peut donc mettre en place ce matériel.

Un bac sert de bain-marie afin de stabiliser la température du réacteur. Un éclairage est situé sur les deux côtés du afin d'avoir une bac luminosité constante. Les bacs sont remplis d'eau du mésosome provenant organismes à étudier sont placés dans le réacteur. La température peut être modifiée grâce à une résistance chauffante muni d'un thermostat. Dans chaque réacteur, un litre d'eau, une puce magnétique et l'organisme à étudier est placé. L'agitation par la puce magnétique est essentielle afin que le corail soit dans des paramètres naturels.

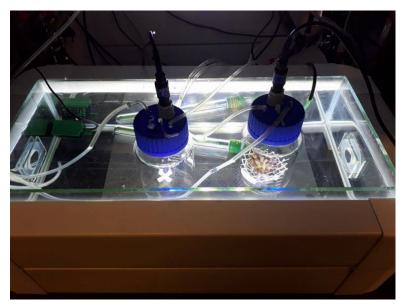


Figure 21: respiromètre

Sur le couvercle, se situe une arrivée et une sortie d'eau avec un débit déterminé. Cette arrivée d'eau peut être coupée à tout moment. En plus de ces deux ouvertures, une zone d'insertion pour la sonde à oxygène est présente. Celle-ci est reliée à l'oxymètre enregistreur. Grâce à cela, il est possible de visualiser graphiquement le mesure prise au cours de la journée.

Il s'agit d'un Respiromètre intermittent c'est-à-dire que le circuit d'ouverture et de fermeture est changé à toute les intervalles d'une heure grâce à un programme informatique.

Dans le cadre de cette expérience, le but principal est d'évaluer la variation d'oxygéné au cours du temps en fonction d'un changement de milieu.

L'objectif principal est de pouvoir comparer les données par respiromètre qui prend en compte la respiration globale de tout l'organisme avec les données par microélectrode qui prennent en compte la respiration à un point donné sur l'organisme.

# 3.1 Schéma dispositif expérimentale

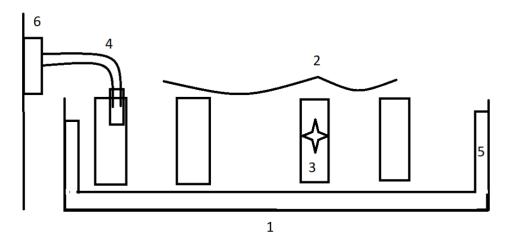


Figure 22: dispositif expérimental respiromètre

Au sein de ce schéma, il est possible d'observer le matériel suivant :

- 1) Bain marie
- 2) Respiromètre
- 3) Corail
- 4) Sonde a oxygène
- 5) Régulateur de température
- 6) Récupération de donnée

Le protocole est détaillé en annexe au point, 1.1

# D) Résultats

## 1. Bilan photosynthèse – respiration

Dans le cadre du stage, une comparaison entre les prises de mesure par microélectrode et par respiromètre devait permettre de produire un bilan photosynthèse- respiration. Cela aurait permis par calcul de trouver la photosynthèse nette.

Un problème s'est présenté pendant la réalisation de ce bilan, lors de la manipulation par respiromètre, les données récupérées n'étaient pas utilisables. Cela s'explique par un dysfonctionnement des pH métrés lors d'une coupure de courant au sein de l'université.

Afin de refaire la manipulation, les boutures devaient être remises sous respiromètre durant une semaine. Du fait que les boutures devaient être réutilisées dans les manipulations par microélectrode, la manipulation de respiromètre a été reportée. La prise de données par microélectrode paraissait plus importante à ce moment. La raison pour laquelle le test de respiromètre n'a pas pu être effectuée à la fin du stage est que les boutures de Galaxea ont toutes péris dans les dernières semaines.

De ce fait, le bilan n'a pas pu être effectué.

#### 2. Etude de la croissance des boutures de corail Galaxea

Au départ, lors des 1<sup>ères</sup> manipulations, des boutures de *Galaxea f.* ont été produites. Cellesci ont servis durant les 4 mois de stage au sein du département d'écologie numérique des milieux aquatiques de l'université de Mons.

Le suivi des boutures s'est fait visuellement en grande partie. Au plus les manipulations venaient à avancer, au plus les boutures de *G. fasicularis*. rentraient dans un stade de blanchissement.

L'application répétitive de la microélectrode sur le coénosarc des boutures provoquait donc un stress. Ce stress a fini par provoquer au bout des 4 mois de stage la mort de toutes les boutures de *Galaxea f*.

Il est donc important de prendre en compte ce paramètre. Pour les manipulations à venir, il sera important de positionner la microélectrode à oxygène sur le coénosarc mais de ne pas l'introduire plus profondément afin de préserver les boutures.

Croissance moyenne = 
$$\left[ \left( \frac{pF - pI}{pI} \right) \div nombre \ de \ jours \right] X \ 100$$

Individu	Différence de	x	σ	
	croissance			
1	-0,136			
2	-0,014			
3	-0,014	-0,76	1,63	
4	-3,685			
5	0,018			



Figure 24: Bouture de Galaxea avant manipulation



Figure 23 : Bouture de Galaxea f. après 4 mois de manipulation

La mort des boutures à la fin du stage a provoqué un arrêt de manipulation. La mise en place du protocole était effectuée à ce moment. Cependant, il aurait été intéressant d'avoir plus de données par respiromètre afin de pouvoir faire une comparaison avec la microélectrode.

Cette comparaison n'a donc pas été effectuée du fait qu'à ce moment, seule une manipulation de respiromètre avait été mise en place. Statistiquement cela n'est pas valable.

## 3. Élaboration du protocole de la microélectrode

#### La calibration:

Afin que les mesures prises lors des manipulations soient correctes, il est important de calibrer la microélectrode à  $O_2$ . Pour cela, une calibration dans une aire saturée en eau est faite. Une « éponge » est placée à l'extrémité d'un tube où se situe la microélectrode. Il suffit ensuite d'appuyer sur le bouton « calibrer » dans le programme informatique. Après cela, nous attendons une stabilisation de la mesure. Une fois la calibration terminée, la manipulation peut enfin commencer.

#### Position de la sonde :

La sonde est placée au départ à une certaine distance du corail. Grâce au micromanipulateur, l'extrémité de l'aiguille, c'est-à-dire la fibre optique, est placée sur le coénosarc. Afin d'être bien positionné, le micro manipulateur peut être bougé de bas en haut, de gauche à droite, ainsi que d'une amplitude différente.

#### Prise de mesure :

Une fois la sonde positionnée, la prise de mesure est pratiquée. Pour cela, il suffit d'appuyer sur le bouton « START » du programme informatique. Les mesures sont prises toutes les 1,30 secondes. Sur l'axe des abscisses, la concentration en oxygène et sur l'axe des ordonnées, le temps.

#### Analyse des résultats :

Une fois les manipulations terminées (chaque manipulation est faite de manière répétée afin d'être sûr que les résultats soient concordant), les données sont analysées grâce au programme R. Ce programme permet de créer des graphiques et de calculer plusieurs paramètres. Grâce à ce programme le calcul de l'écart type, la variance se fait automatiquement.

Le protocole complet se situe en annexe, point 1.4.

## 4. Analyse des résultats de la microélectrode

## A) Variation d'oxygène sur une alternance de 0 à 0,1 millimètre

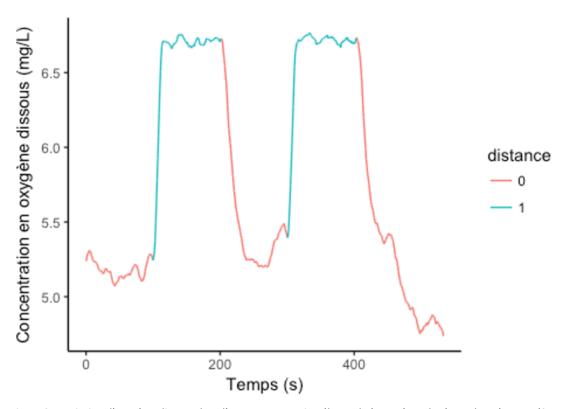


Figure 25 Variation d'oxygène dissous dans l'eau avec une microélectrode à oxygène placée sur le coénosarc (0mm) et distant de ce dernier (0,1mm) dans l'obscurité.

Sur cette figure 25, la variation d'oxygène par un déplacement d'un millimètre de la microélectrode toutes les 100 secondes sont observées (manipulation réalisée dans l'obscurité : OPAR). Il s'agit ici de l'un des graphiques les plus représentatifs par rapport à cette manipulation.

Lors de cette expérience, la microélectrode est positionnée sur le coénosarc de la bouture de *Galaxea f.* Le positionnement initial de la sonde s'est effectué à la lumière afin d'être le plus précis possible.

L'expérience débute par une acclimatation de 5 minutes dans le noir avant d'effectuer les mesures d'oxygène. La microélectrode enregistre la teneur en oxygène toutes les 1 seconde 30

#### A.1) Analyse

Placé à 0 PAR sur le coénosarc, La concentration d'oxygène émis par les zooxanthelles est d'environ 5 à 5,5 mg/L. Lorsqu'un déplacement de 1mm est effectué en direction de l'eau de mer, une augmentation de la concentration en oxygène dissout dans l'eau est observée.

#### B) Variation d'oxygène sur une distance de 0 à 5 millimètre

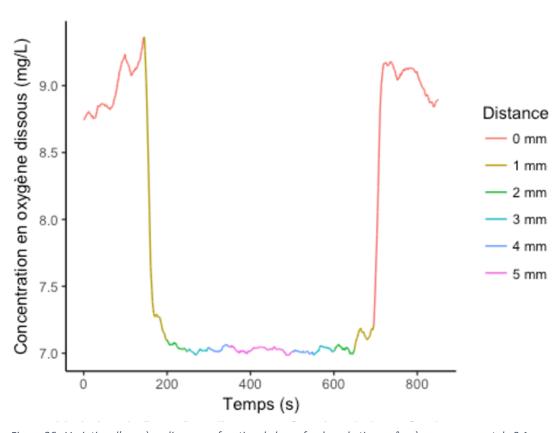


Figure 26 : Variation d'oxygène dissous en fonction de la profondeur du tissu grâce à un mouvement de 0,1mm toutes les 50 secondes. (Analyse sur Galaxea fascicularis L.)

Cette manipulation avait pour but de déterminer la variation d'oxygène en fonction de la profondeur du tissu sur une période plus longue que l'expérience précédente. Les prises de mesures se sont effectuées sous une luminosité de 100PAR ce qui correspond à la luminosité à laquelle sont confronté les boutures dans le mésocosme.

Pour cette manipulation, la microélectrode est placée au départ du coénosarc. Un mouvement de 1mm toutes les 50 secondes en moyenne est effectué en direction de l'eau de mer synthétique.

#### B.1) Analyse

A partir d'une distance de 2 millimètre du coénosarc, la valeur en oxygène dissout ne varie plus et reste constante. La valeur obtenue est d'environ 7- 7,5 mg/L Ce qui correspond à l'oxygène dissout dans l'eau de mer synthétique.

## C) Zone d'influence du a la couche stagnante

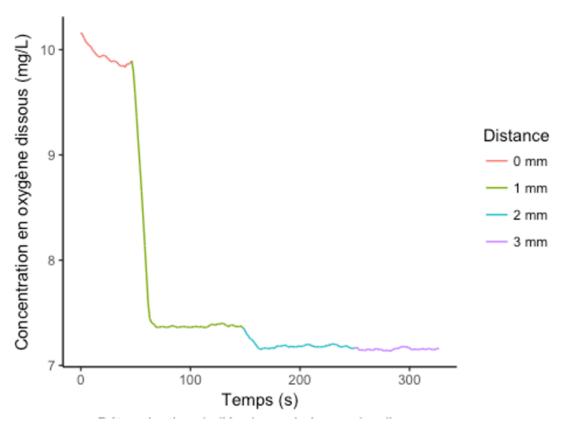


Figure 27 détermination de l'épaisseur de la couche d'eau stagnante sur Galaxea fascicularis L.

Cette Manipulation a pour but de déterminer le delta temps de stabilisation de la production d'oxygène ainsi que l'épaisseur de la couche d'eau stagnante. Sur tout organisme situé dans l'eau, une couche stagnante de quelques millimètres est présente. Ici, il s'agit de la détermination de l'épaisseur du tissu qui est mis en avant. De plus, la zone d'influence du corail par rapport au milieu est aussi étudiée.

### C.1 Analyse:

Ce graphique permet d'affirmer le fait qu'une couche d'eau stagnante est belle et bien présente sur la bouture de corail.

## D) Détermination de la couche d'eau stagnante

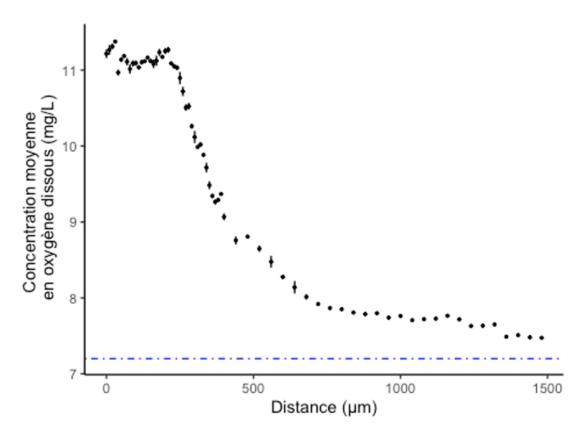


Figure 28: Profil de la teneur en oxygène dissous en fonction de la distance par rapport à l'épiderme sur Galaxea fascicularis L. La teneur en oxygène dissous dans l'eau est représentée par la ligne bleu

Grâce à la manipulation T40 (figure 28) où l'on se positionne sur le coénosarc afin de reculer vers l'eau artificielle de la mer par pas de 10 microns, il est possible d'interpréter une couche d'eau stagnante sur un temps d'environ 350 secondes.

## E) Suite de la détermination de la couche d'eau stagnante

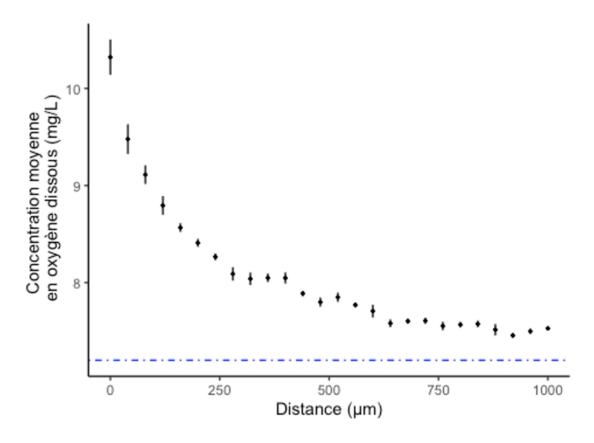


Figure 29:Profil de la teneur en oxygène dissous en fonction de la distance par rapport a l'épiderme. La teneur en oxygène dissous dans l'eau est représentée par la ligne bleu

La manipulation T42 (figure29) consiste à déterminer les mêmes paramètres que pour T40 en changeant la distance d'avancement.

#### F) Alternance de lumière

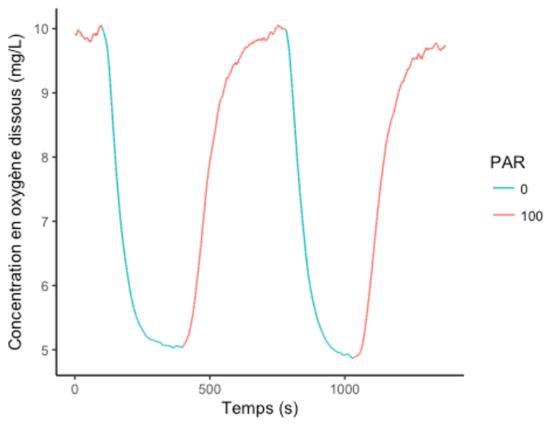


Figure 30 : Variation d'oxygène dissout lors d'une alternance de OPAR/100PAR SUR Galaxea fascicularis.

Pour cette manipulation, la microélectrode était placée sur le coénosarc du corail. Sans mouvement de celle-ci, l'intensité lumineuse était changée de 0 à 100 PAR instantanément. Le temps de changement était défini grâce au programme Rligth.

## F.1: Analyse

Le temps de réaction des Zooxanthelles lors du changement de 0 à 100 par et inversement est rapide. Les zooxanthelles ont donc une réaction instantanée à un changement de milieu. Cette manipulation a pour but de déterminer le coefficient de pente.

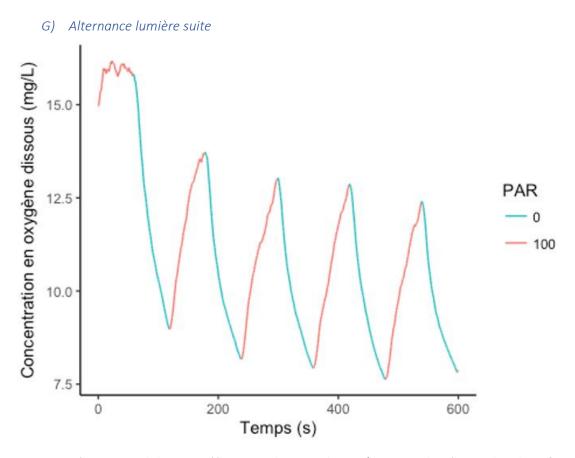


Figure 31: Détermination de la pente créée par une alternance de OPAR/100PAR sur le coénosarc de Galaxea fascicularis

Cette manipulation revient à pratiquer la même expérience que la précédente mais avec plus de précision.

### G.1) Analyse

Le temps de réaction des zooxanthelles par rapport à la manipulation précédente est ici instantané. Il se passe ici sur une microseconde, il s'agit donc de résultats précis dans ce cas.

## 5. Les coefficients de pentes

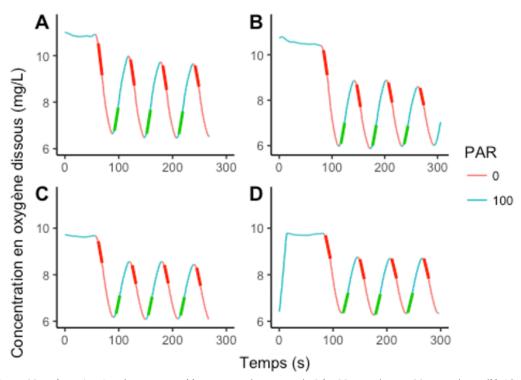


Figure 32 : Détermination des pentes créée par une alternance de 0 à 100 PAR chaque 30 seconde sur l'épiderme (A), à 110 μm (B), à 20 μm (C), à 30 μm (D) de l'épiderme.

Position	Epiderme	10 µm	20 µm	30 µm	70 µm
1	-0.195	-0.156	-0.133	-0.111	-0.091
2	0.141	0.131	0.112	0.096	0.081
3	-0.159	-0.14	-0.114	-0.107	-0.077
4	0.145	0.129	0.112	0.098	0.083
5	-0.149	-0.125	-0.112	-0.095	-0.08
6	0.141	0.114	0.111	0.095	0.086
7	-0.129	-0.108	-0.11	-0.096	-0.076

Figure 33 : coefficient de pente des régressions linéaires réalisées à distance croissante de l'épiderme lors de l'alternance de 0 à 100 PAR chaque 30 secondes.

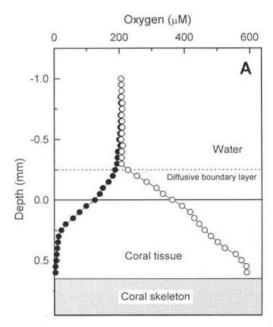
Les quatre graphiques de la figure 32 permettent une comparaison des pentes en fonction de la distance par rapport au coénosarc. Les coefficients sont pris à distance régulière sur les 4 graphiques. Pour chacun d'eux, une élimination des 3 premières données est effectué.

L'élimination des trois premières données permet de réduire l'erreur que la microélectrode est successible de faire.

# E) Discussions des résultats:

Au départ, le but était de créer un profil similaire à la figure 34. Sur celle-ci, il est possible d'observer deux phases, une dans le noir (point noir) et une en lumière (point blanc). Lors de la mise en place de la technique de mesure de diffusion de concentration d'oxygène, plusieurs difficultés de mesure ont été rencontrées. Les différentes analyses lancées se basaient sur l'étude de S.Rink, M.Kuhl

Il est possible d'y constater qu'en phase de lumière, au plus nous pénétrons dans les tissus du corail, au plus la concertation en oxygène est élevée. Cela est dû, comme dit plus haut, au fait qu'au plus nous pénétrons dans les tissus, au plus il y a de zooxanthelles. Au contraire, on remarque que dans la phase sombre, les zooxanthelles qui sont toujours bien présents n'influencent pas dans la



concentration en oxygène du fait que la photosynthèse est à l'arrêt.

Figure 34: Profils de concentration en oxygène

Idéalement, la microélectrode avec laquelle ce travail s'est

effectué aurait dû être replacée au même endroit exactement sur chaque bouture aux cours des expériences. De manière plus pratique, cela n'a pas été strictement réalisable. Pour les mêmes, boutures, des résultats qui allaient du simple au double d'une mesure à l'autre se présentaient. Sur la figure 35, il est possible de voir que le positionnement influence énormément sur la mesure d'oxygène.

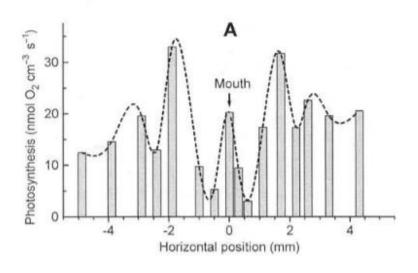


Figure 35: Variation d'oxygène en fonction du positionnement, Source : Miroenvironment and photosynthesis of zooxanthellae in scleractinian corals studied whit microsensors for  $o_2$ , pH, and light.

Les premières manipulations lancées au sein du laboratoire s'effectuaient sur le polype du corail. Après réflexion au vu des grandes variabilités des valeurs obtenues, une constatation quant aux prises de mesures a été faite. Un changement de position de la sonde sur le corail a été décidé. Il s'avère que la position sur le coénosarc est la meilleure solution. Il s'agit effectivement de l'endroit où l'on retrouve le plus de zooxanthelles. De plus, lors d'un stress, ce sont ces tissus qui viennent à mourir en 1<sup>er</sup> lieu.

Ces premiers résultats nous ont permis de mieux positionner la sonde à un endroit plus stable à savoir sur l'épiderme (coénosarc) ainsi que dans le tissu de l'holobionte. À partir de ce moment, on constate qu'au plus on pénètre dans le tissu, au plus la concentration émis en oxygène est importante. Cela démontre bien que les zooxanthelles se trouvent dans l'endoderme.

Nos résultats permettent de déduire que qu'il est préférable qu'un travail sur des unités moins grandes que le millimètre soit mis en place afin d'être plus précis au niveau du mouvement et de la stabilité des données.

#### 5.1) Mouvement de la microélectrode

L'augmentation de la concentration en oxygéné dissous dans l'eau de mer (figure 25) s'explique par le fait que la concentration en oxygène dissout dans l'eau de mer synthétique est situé aux alentours de 6,5 à 7,5 mg/L.

Effectivement, mis sous obscurité (OPAR) les zooxanthelles qui sont des organismes photosynthétiques ne pratiquent pas la photosynthèse. Il serait intéressant de savoir si la réaction quant à un changement de 0 à 100 PAR s'effectue de manière instantanée ou non.

Par la figure 26, une interprétation quant à l'influence du corail sur le milieu peut être défini. A partir d'une distance de 2 millimètres, nous sortons de la zone d'influence du corail sur la microélectrode.

A partir d'une distance aussi importante, la concentration en O2 représente donc la concentration de l'eau de mer synthétique. Sur le graphique, nous observons que la concentration en oxygène à 0 millimètre sur la pente montante correspond à la concentration d'oxygène sur la pente descendante à 1 millimètre. Un travail sur des unités moins grandes que le millimètre est donc à mette en place afin d'être plus précis au niveau du mouvement et des données.

#### 5.2) Zone d'influence du a la couche stagnante

Les coraux sont constitués d'une couche d'eau stagnante située sur une épaisseur non déterminée au-dessus du coénosarc. Cela s'explique du fait que le tissu du corail a une épaisseur différente en fonction de l'individu étudié. De plus, sa forme varie en fonction de la colonie. Étant donné que la probabilité de venir se positionner au même endroit lors des analyses est quasi nulle, la détermination d'une zone tampon est primordiale. Grâce à cette

zone, les résultats ne seraient pas influencés, il serait plus facile de pouvoir émettre des hypothèses et de comparer des résultats sur différentes manipulations.

Par rapport à la figure 25, une manipulation s'est effectuée afin d'être plus précis. Pour celleci, en se positionnant sur le corail un mouvement était effectué vers l'eau de mer synthétique jusqu'à un arrêt de fluctuation des données. La figure 26, démontre qu'après 2 millimètres, la microélectrode sort de toute zone d'influence. Une analyse sur le millimètre est donc bel et bien imprécis. Des manipulations sur l'ordre du micron doivent donc être entrepris afin de pouvoir déterminer exactement la zone d'eau stagnante. Une fois cette zone trouvée, elle serait avantageuse dans de nombreuses analyses futures.

La figure 28 et 29 sont effectuées sur l'ordre du micron. Une précision est bien remarquée par rapport à la couche d'eau stagnante si l'on travaille sur cet ordre de grandeur.

Par mouvement trop important, la microélectrode ne parvient pas à stabiliser et à former un plateau (figure29). Il faut donc lors de la prise de mesure être attentif au « pas » sur lequel on travaille et définir une avancée précise afin d'avoir une analyse concrète.

Le plateau de 200 microns ne revient pas forcément lorsqu'une comparaison est faite entre T40 et T42. D'après notre théorie, les mesures d'épaisseur de celle-ci, varie suivant plusieurs paramètres :

- Position de la sonde
- Épaisseur du tissu
- Forme de la bouture

Il faut cependant un matériel plus précis afin de réussir à en déterminer l'épaisseur.

#### 5.3) Alternance de lumière

Sur la figure 30, la première pente a réaction rapide peut être observée. Une répétition de cette manipulation de manière plus précise est donc à entreprendre. Une pente importante fournirait les données quant à la réalisation du bilan respiration-photosynthèse.

Sur la figure 31, la 1<sup>ère</sup> pente instantanée est observée. Au plus le temps de manipulation passe, au plus les zooxanthelles n'arrivent pas à la concentration d'oxygène émis au point 0. Le temps de réadaptation à la montée est donc plus important que le temps de chute.

Il serait essentiel de revenir à une concentration d'oxygène égale au temps 0. Pour cela, le temps de réadaptation pour la remontée doit être augmentée. Si une concentration exacte est retrouvée sur toutes les pentes, cela permettrait d'effectuer des statistiques à un même niveau d'oxygène sur la courbe des abscisses.

### 5.4) Analyse du coefficient de pente

Le coefficient de pente permet de définir la production d'O<sub>2</sub> ainsi que sa consommation. Une fois ses données acquises, l'étude de similarité entre production/consommation peut être étudiée. Il s'agit d'une information globale de photosynthèse/respiration. Afin d'aller plus loin,

une précision peut se faire afin de déterminer la photosynthèse nette qui permettrait de trouver le bilan photosynthèse-respiration.

Cependant, comme dit plus haut, ce bilan n'as pas pu être réalisé car la réalisation du calcul s'est avérée plus compliquée que ce qui était expliqué dans la littérature.

La comparaison des pentes en fonction des distances, permet de constater une légère variation des coefficients. Au plus la distance par rapport au coénosarc est importante, au plus les données viennent a diminuer.

Deux interprétations par rapport à ce coefficient peuvent être émises :

- Au plus le coefficient vient à être élevé, au moins les zooxanthelles mettent du temps à réagir au changement de PAR.
- Au plus on s'éloigne du coénosarc, au plus le coefficient diminue du fait que nous nous éloignons de l'organisme et donc de la production d'oxygène.

#### 5.5) Mouvement d'eau

Lors de toutes ces manipulations, le mouvement d'eau arrivant sur l'individu étudié avait une importance par rapport à la réaction des algues symbiotiques. Plusieurs expériences ont donc été effectuées afin de pouvoir dire si oui ou non, une influence est à prendre en compte. Très vite une observation a été faite.

Quelle que soit le débit, la réaction des zooxanthelles reste dans une tranche de variation assez faible les uns par rapport aux autres. L'hypothèse quant à une influence par rapport à une variation de mouvement d'eau peut donc être exclut. Il s'agit bien d'une exclusion de mouvement d'eau par le débit et non par le mouvement des polypes.

Afin d'aller plus loin, le courant d'eau fût complètement coupé. A ce moment, nous constatons que le temps de réaction afin de revenir à l'état initial d'oxygène dissout est lent. Sans mouvement d'eau, la concentration en oxygène dans la cellule de mesure diminue et les zooxanthelles ont donc du mal à revenir à leur capacité optimum.

# F) Conclusion:

En conclusion, la technique de mesure de photosynthèse par mesure de la concentration en oxygène dissous émise par les coraux a pu être mise en place lors de ce travail de fin d'études au sein du département d'écologie numérique des milieu aquatiques.

Les différentes manipulations effectuées lors de ce travail de fin d'études avaient un objectif de mise au point technique afin d'obtenir des mesures par microélectrode les plus stables et les plus fiables sur les coraux étudiés.

L'utilisation de la microélectrode sur *Galaxea f.* a provoqué une grande quantité de mortalité. En effet, le percement du tissu du corail par l'électrode a induit la mort du corail, 90% des boutures ont blanchi et dépéri en 4 mois durant les manipulations. Cela s'explique par le fait qu'en état de stress, le corail expulse ses zooxanthelles et provoque sa propre mort. Nous sommes amenés à suggérer que lors de mesure avec ce type de micro électrode sur des boutures de corail de *Galaxea f.*, il est primordial de diminuer l'effet intrusif des mesures et de limiter le stress des boutures. Le fait de percer jusqu'à l'endoderme à répétition et sans temps de réadaptation pour la bouture provoque sa mortalité.

Une alternative serait de venir piquer les boutures à des intervalles de jours plus espacés. Cela leur laisserait le temps de régénérer leurs tissus afin de ne pas périr.

Nos résultats ont également démontré qu'Une couche d'eau stagnante est effectivement bien présente sur le pourtour du corail en état de turgescence, celle-ci permet d'effectuer des mesures sans influence par rapport au milieu. La détermination de l'épaisseur de cette couche doit se faire avec un matériel plus précis afin de déterminer une position exacte pour la microélectrode.

Plusieurs perspectives sont encore à envisager afin de mesurer précisément la photosynthèse nette de l'holobionte. De nombreux paramètres sont à prendre en compte avant de pouvoir effectuer le calcul de photosynthèse. L'étape indispensable est de déterminer l'épaisseur du tissu de l'espèce étudiée. Il serait envisageable de faire une coupe dans le corail afin d'observer une tranche au microscope, d'en déterminer précisément l'épaisseur et puis en faire des photographies de haute précision. Une autre alternative serait de passer les coraux sous rayons X, cela permettrait de savoir l'épaisseur du tissu corallien. Cela reste des propositions dont la faisabilité doit également être étudiée d'un point de vue financier.

Enfin, la dernière amélioration technique que nous avons pu déterminer concernait la saturation en oxygène qui été observée et qui faussait les données.

La microélectrode ne serait pas assez développée afin de prendre une mesure à une concentration trop importante en oxygène. Il est donc conseillé de pas enfoncer trop profondément le tissu du corail pour ne pas induire des erreurs dans la prise de mesure

Pour conclure, bien que ce TFE a permis de dégager des pistes d'amélioration technique de la prise des mesures de concentration en oxygène dissous sur les coraux étudiés, de nombreuses

questions restent encore en suspens du fait que nous avons disposé de 4 mois pour cette manipulation.

Le corail étant un être vivant, nous sommes soumis à des fluctuations qui devront être maitrisées en élargissant davantage les zones d'étude notamment en terme de calcul de la photosynthèse nette sous la direction de Mr Engels Guylian, assistant au laboratoire d'ecologie numerique des milieux aquatiques .

# G) Bibliographie

**A. Aminot & R. Kérouel, 2007**. Dosage automatique des nutriments ans les eaux marines, éd Quae, consult le 16 décembre 2017.

**Aquaportail, 2017**. Holobionte: Définition et explication, <a href="https://www.aquaportail.com/definition-13933-holobionte.html">https://www.aquaportail.com/definition-13933-holobionte.html</a>, consulté le 05 octobre 2017.

**A.Ferry & F.Trentin,(sans date)**. Aspect de la biologie des coraux, <a href="http://vieoceane.free.fr/paf/ficheb32.html">http://vieoceane.free.fr/paf/ficheb32.html</a>

**Botarela, 2012**. Le mécanisme de la photosynthèse, consultée le 15 octobre 2017. http://botarela.fr/Poaceae/Famille/Photosynthese-2.html

**Coral Guardian, 2010**. Les récifs coralliens, consultée le 21 février 2017. https://www.coralguardian.org/les-recifs-coralliens/

**C.Bonnet, G.Dietrich, D.Marechal,2003**. Découverte de la photosynthèse, <a href="http://tpesolaire.bonnet-ribeau.net/hist.phot.htm">http://tpesolaire.bonnet-ribeau.net/hist.phot.htm</a>

**Cristal Ammonite, 2014.** Club de minéralogie et paléontologie, Les coraux, embranchement des cnidaires, consultée le 22 juin 2018.

**D.Allemand**, (sans date). Les coraux et le changement climatique, consultée le 22 juin 2018.

D. Nancy & D. Julie. La photosynthèse, consultée le 21 février 2018
<a href="http://www.mss.qc.ca/intranet/Cours/Chimie/expo-sciences/recherches/photosynthese.html">http://www.mss.qc.ca/intranet/Cours/Chimie/expo-sciences/recherches/photosynthese.html</a>

**E. Houliez, 2012.** Contrôle de l'activité photosynthétique du phytoplancton en milieu côtier Utilisation de la fluorescence spectrale et de la fluorimétrie modulée. <a href="https://ori-nuxeo.univ-lille1.fr/nuxeo/site/esupversions/3e9bfdb8-d876-4825-ae6b-27397d237035">https://ori-nuxeo.univ-lille1.fr/nuxeo/site/esupversions/3e9bfdb8-d876-4825-ae6b-27397d237035</a> Consultée le 27 novembre 2017.

**IFRECOR 2013-2014,** Récifs coralliens & écosystèmes associés, <a href="http://www.ifrecor.com/recifs-coralliens.html">http://www.ifrecor.com/recifs-coralliens.html</a>, consulté le 27 septembre 2017

**J. Veron, 2000**. Corals of the word, volume 2, éd Australian Institute of Marine Science and CRR Qld Pry Ltd, pp 106-116 consulté le 27 novembre 2017.

**J.Jensen & N-P.Revsbech, 1998.** Photosynthesis and respiration of a diatom biofilm cultured in a new gradient growth chamber. Éd Microbiology Ecology, Consulté le 27 novembre 2017

**J.M.Durako & J.I.Kunzelman, 2002.** Photosynthetic charachteristics of Thalassia testudinum measured in situ by pulse-amplitude modulated (PAM) fluorometry: methodological and scale-based considerations. Éd Aquatic Botany, consulté le 22 novembre 2017.

**J.Farineau & J-F. Morot-Gaudry,2006**. La photosynthèse. Processus physique, moléculaire et physiologique. Paris, éd Inra, consulté le 22 novembre 2017

- J. Jaubert, 2013. Les récifs coralliens, consultée le 26 juin 2018.
- **J.Vidal-Dupiol, 2011.** Stresse environnementaux chez le corail scléractiniaire Pocillopora damicornis : du modèle expérimental a l'identification de marqueur fonctionnels du stress.
- **J. Vidal-Dupiol, 2011**. Hétérotophie chez les coraux scléractiniaires, <a href="http://www.cap-recifal.com/page/articles.html/">http://www.cap-recifal.com/page/articles.html/</a> /actubiorecif/h%C3%A9t%C3%A9rotrophie-chez-les-coraux-scl%C3%A9ractiniaires-r49
- **Lecointre, G et Le Guyader, H.** Classification phylogénétique du vivant, ed. Belin,2006, Consultée le 01 Mai 2018. <a href="http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/evolution/relations-de-parente/comprendre/les-grandes-lignes-de-la-classification-phylogenetique-des-metazoaires">http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/evolution/relations-de-parente/comprendre/les-grandes-lignes-de-la-classification-phylogenetique-des-metazoaires</a>
- **S.Rink, M.Kuhl, J.Bijma, H.J.Spero,** 1998. Microsensor studies of photosynthesis and respiration in the symbiotic forminifer Orbulina universa.
- **T. Wijgerde, 2013**. Heterotrophic of the sceractinian coral Galaxea fascicularis: role in nutrient budget, growth and modulation by (a) biotic factors
- **T.Wijgerde, 2013**. Heterotrophic feeding, growth and nutriment budget in the scleractinian coral Galaxea fascicularis. Sous la direction de Prof. DR J.A.J.Verreth, Wageningen University, 176p.
- **V.Lemare,2016**. Galaxea fascicularis (Linnaeus,1767), <a href="http://doris.ffessm.fr/Especes/Galaxea-fascicularis-Corail-piquant-2141/(rOffset)/20">http://doris.ffessm.fr/Especes/Galaxea-fascicularis-Corail-piquant-2141/(rOffset)/20</a>
- R.Tavernier, C.Lizeaux, 1993. Sciences de la Vie et de la Terre 2<sup>nd</sup>. Bordas
- **S.Beer & S. Saroussi 2007.** Measuring rates of photosynthesis of two tropical seagrasses by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry. Ed Aquatic botany, volume 66. Consulté le 12 décembre 2017
- Schoefsh. B, 2017. La photosynthèse, http://ressources.unisciel.fr/photosynthese/co/grain 42.html
- **Sprung.J,2000.** Coraux guide pratique d'identification et de maintenance, éd Ricordea PUBLISHING, pp 13-20 consulté le 8 février 2018.
- **Stoukov.A**, s.d. Composition de l'eau de mer [en ligne : <a href="http://hmf.enseeiht.fr/travaux/bei/beiere/content/composition-de-leau-de-mer">http://hmf.enseeiht.fr/travaux/bei/beiere/content/composition-de-leau-de-mer</a>, consulté le 21 février 2018.

# **Annexe**

## 1.1) Protocole de la mise en place du respiromètre :

- 1) Noter la date et l'heure exacte.
- 2) Préparer 6 pots de prélèvement d'eau, les peser avant la manipulation.
- 3) Prélever l'eau qui circule dans les respiromètre à un moment bien précis. C'est-à-dire lorsque la vanne s'ouvre où se referme.
- 4) Peser les pots avec la masse d'eau.
- 5) Calculer la différence de masse.
- 6) Mettre les pots dans un frigo jusqu'à analyser dans l'autoanalyseur.
- 7) Pratiquer la manipulation 3 fois par jour.

## 1.2) Protocol de calibration

- 1) Ouvrir le programme pyro oxygene
- 2) Cliquer sur calibrer
- 3) En fonction du milieu dans lequel on se trouve, choisir l'une des 4 options de calibrage. Pour les manipulations sur le corail en milieu liquide, nous prenons la calibration 2 dans l'air ou dans l'humidité.
- 4) La calibration doit se faire dans de l'air saturée en eau. Pour cela, positionner à l'extrémité de la sonde, un morceau d'éponge avec de l'eau distillée.
- 5) Appuyer sur calibration et attendre que le signal sur la droite se stabilise.
- 6) Une fois le signal stable, cliqué sur Finish en bas à droite.

## 1.3) Protocol du temps de mesure lumière on / off

- 1) Démarrer le programme R
- 2) Se rendre sur la dernière ligne afin d'écrire le code
- 3) Afin d'allumer la lumière : > on
- 4) Afin d'éteindre la lumière : >off
- 5) Afin de régler un intervalle de temps défini : > (« tes », on =, off =, times =)
  - On =: temps voulu en lumière
  - Off = : temps voulu en obscurité
  - Times = : nombre de répétition

## 1.4) Protocol complet de la mise en place de la microélectrode

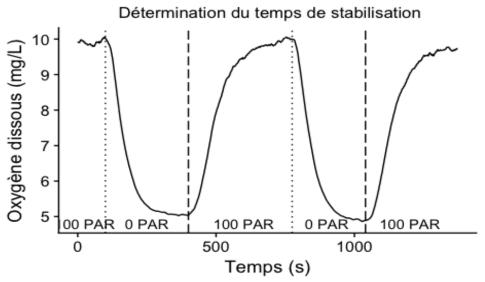
Les premiers tests ont été réalisés sur le polype du corail sous une influence lumineuse de 100 PAR. La cellule de mesure était remplie d'eau qui venait de l'aquarium dans lequel les boutures sont prélevées. Une mise en place d'un système de renouvellement d'eau automatique afin que l'eau ne doive pas être changé à chaque manipulation.

## A) Préparer le dispositif

- Prise d'eau dans les aquariums
- Mise en place de la bouture dans un bécher
- Relier le seau à la cuve en verre
- Ouvrir l'arrivée et la sortie d'eau
- Placer la sonde température et le bulleur
- Laisser le système se stabiliser
- Allumer le PC ainsi que les différents programmes (pyro oxygène, Rligth)
  - B) Calibrer la micro électrode
- Ouvrir le programme pyro oxygène
- Cliquer sur calibrer
- En fonction du milieu dans lequel on se trouve, choisir l'une des 4 options de calibrage. Ici, prendre la calibration 2 dans l'air/humidité
- La calibration doit se faire dans l'air saturé en vapeur d'eau. Pour cela, positionner à l'extrémité de la sonde, un morceau d'éponge avec de l'eau distillée.
- Appuyer sur calibration et attendre que le signal se stabilise
- Une fois le signal stable, cliquer sur en bas à droit.
  - C) Positionner le corail dans la cuve
- Vérifier que le corail est mis de manière stable
  - D) Positioner la sonde
- Placer le micromanipulateur sur le côté de la cuve
- Disposer la microélectrode horizontalement par rapport à la cuve de manière à ce que la cellule de mesure soit dirigé vers le bas et la protection vers le haut.
- Afin d'être le plus précis possible, utiliser la molette pour tout mouvement. +Placer la cellule de mesure sur le coénosarc, le plus délicatement possible, sans appuyer dessus.
  - E) Faire une première mesure dans l'eau artificielle avant chaque manipulation 6 Définir un temps de mesure sous lumière et sous obscurité grâce au programme R
- Démarrer le programme Rligt +Se rendre sur la dernière ligne afin d'écrire le code
- Afin d'allumer la lumière : entrer >on ()
- Afin d'éteindre la lumière : entrer >off ()
- Afin de régler un intervalle de temps défini : entrer > ("test", on = X, off = Y, times = Z)
  - X = temps voulu en lumière en seconde
  - Y = temps voulu en obscurité en seconde
  - Z = nombre de répétition
  - F) Créer un fichier d'enregistrement de la sonde avant de commencer la mesure.

- G) Lancer la mesure durant 25 secondes. A 25 secondes, lancer le programme Rligth en cliquant à partir de la dernière ligne sur la touche « enter » du clavier.
- H) Une fois la manipulation terminée. Stopper le fichier d'enregistrement puis la mesure.
- I) Faire au minimum trois manipulations pour chaque expérience.
- J) Ranger le matériel, sortir la bouture de la cuve afin de le disposer à nouveau dans le bécher et le mettre aux aquariums
- K) Rincer le matériel à l'eau distillée avant de tout ranger.

## Profil en oxygène dissous mesuré sur le coenosar à différentes intensités lumineuses



Le temps de stabilisation est d'environ 300 secondes

Figure 36 : profils d'oxygène dissous sur le coénosarc sous différentes intensité lumineuse

	Α	В	С	D	Е	F	G
1	Bouture de Galaxea	Respiromètre	Valeur IKS	Vaeur WTW	Heure	Date	Masse
2	0	1	7,22	8,79	14:52	20-11-17	0
3	1	2	7,31	8,81	14:54	20-11-17	10,341
4	2	3	6,96	8,53	14:57	20-11-17	8,021
5	3	4	6,89	8,79	15:00	20-11-17	21,113
6	4	5	7,54	8,88	15:02	20-11-17	10,972
7	5	6	7,92	8,7	15:03	20-11-17	15,269
8	0	1	6,37	8,2	13:30	24-11-17	10,277
9	1	2	7,2	8,36	13:33	24-11-17	10,277
10	2	3	6,76	8,35	13:36	24-11-17	7,918
11	3	4	6,45	8,47	13:38	24-11-17	21,408
12	4	5	7,44	8,41	13:40	24-11-17	6,89
13	5	6	6,75	8,54	13:42	24-11-17	15,271

Figure 37; Donnée relative aux analyses de respiromètre

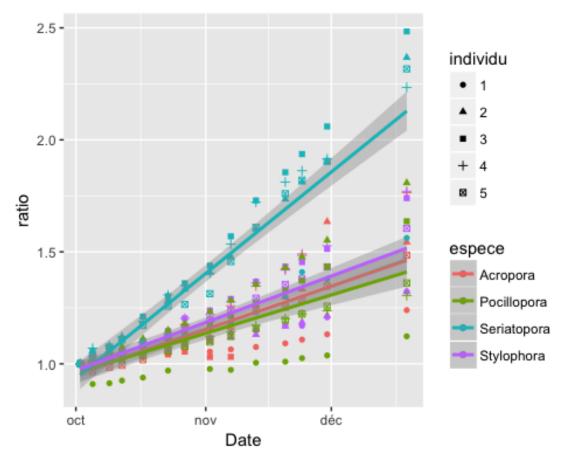


Figure 38 : Croissance de différentes espèces de bouture

Sur la figure 36 ci-dessus, nous pouvons observer la croissance de Cinq boutures différentes :

- Acropora
- Stylophora
- Pocilopora
- Seritopora

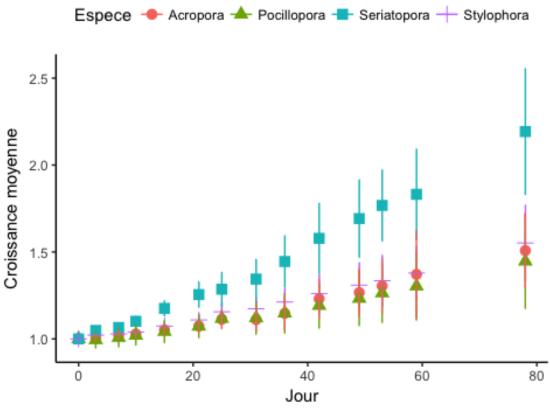
Grâce à ce suivit, l'observation de la vitesse de croissance en fonction de l'espèce est analysée. Parmi ses cinq boutures, *S. Hystrix* a une croissance beaucoup plus rapide que les autres.

Il est donc possible de déduire que dans un milieu optimal, en présence des quatre autres espèces on aura tendance à voir *S. Hystrix* prendre un léger avantage sur la zone de développement.

L'analyse du graphique espèce par espèce, l'observation d'une croissance différente en fonction des individus est bien présente. Cela s'explique non seulement du fait que le corail est un animal et que chaque individu aura donc un comportement diffèrent même si dans l'ensemble il reste assez similaire d'un point de vue morphologique.

Une autre explication à cette différence est due à la position de la bouture dans les aquariums. Les boutures sont placées sur un fil suspendu à un support, ils sont alors mis sous la lumière afin qu'ils puissent se développer de manière optimale. Les fils de nylons que l'on

accroché afin de faire tenir les boutures ne sont pas de même longueur, ce qui provoque une certaine différence d'intensité lumineuse qui arrive sur le corail en fonction d'un fil plus ou moins long.



Croissance moyenne (n=5) de quatre espèces de coraux durant 80 jours.

Figure 39: Croissance moyenne

```
<u>t</u>43 <-micro02_import2(file = "../data/T43/T430311.txt")
t43$num <-as.numeric(t43$Date)
T430311_light <- read_csv("../data/T43/T430311_light.csv")
## Parsed with column specification:
## cols(
## time = col_datetime(format = ""),
##
    light = col_integer()
## )
T430311_light%>%rename(Date = time)->T430311_light
T430311_light$num <-as.numeric(T430311_light$Date)
#objectif faire coller le document sur le temps et le document sur l'éclair
aae
t43_test <- left_join(t43, T430311_light, by = "num")
#View(T430311 light)
library(lubridate)
## Attaching package: 'lubridate'
## The following object is masked from 'package:base':
##
##
       date
T430311_light %>% separate(col = Date,into = c("year", "hour"), sep = " ",
remove = FALSE) -> T430311_light
t43 %>% separate(col = Date,into = c("year", "hour"), sep = " ", remove = F
ALSE) -> t43
t43_test <- left_join(t43, T430311_light, by = "hour")
t43_test %>% fill(light , .direction = "down")->t43_test
t43_test$light[is.na(t43_test$light)] <- 1
t43_test$light <- as.factor(t43_test$light)
t43_test$light <-factor(t43_test$light, levels = c("1", "0"), ordered = TRU
ggplot(data = t43\_test, mapping = ges(x = temps, y = 02, color = light))+
 geom line(aes(group = 1)) +
 theme_classic()+
 scale color discrete( name = "PAR", breaks = c("0", "1"), labels = c( "0"
  "100"))+
labs( y = "Concentration en oxygène dissous", x = "Temps", caption = "Dét
ermination de la pente \n crée par une alternance de OPAR/100PAR sur le coe
nosars") +
 theme(plot.caption = element_text(hjust = 0.5))
```

Figure 40: Scripte manipulation T43