

Impact of climate change on the reproductive performance of the corallivorous starfish Acanthaster sp.

Thomas Hue

▶ **To cite this version:**

Thomas Hue. Impact of climate change on the reproductive performance of the corallivorous starfish Acanthaster sp.. Bioclimatologie. Université de la Nouvelle-Calédonie, 2021. Français. NNT : 2021NCAL0008 . tel-03666967

HAL Id: tel-03666967
https://unc.hal.science/tel-03666967

Submitted on 13 May 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE LA NOUVELLE-CALEDONIE

ECOLE DOCTORALE DU PACIFIQUE – 469

IRD - UMR 250 ENTROPIE

THESE DE DOCTORAT

Discipline : Biologie des populations et écologie

Impact du changement climatique sur les performances reproductives de l'étoile de mer corallivore *Acanthaster* sp.

Présentée par

Thomas HUE

Thèse dirigée par

Pascal DUMAS, Mehdi ADJEROUD et Olivier CHATEAU

Soutenue publiquement le 22 Avril 2021

Jury :

Paola FURLA	Professeur, Université de Nice	Rapporteur
Suzanne MILLS	Professeur Associée à l'EPHE, Paris	Rapporteur
Nabila GAERTNER-MAZOUNI	Professeur à l'Université de la Polynésie Française	Examinateur
Yves LETOURNEUR	Professeur, Université de la Nouvelle-Calédonie	Examinateur
Jérémie VIDAL-DUPIOL	Chargé de Recherche, IFREMER Montpellier	Examinateur
Olivier CHATEAU	Chercheur au pôle scientifique, Aquarium de Nouméa	Co-encadrant
Mehdi ADJEROUD	Directeur de Recherche, IRD, Perpignan	Co-directeur
Pascal DUMAS	Chargé de Recherche, IRD, Nouméa	Directeur

à mes parents..

Remerciements

Ma reconnaissance va tout d'abord à Pascal Dumas, mon directeur de thèse. Merci de m'avoir fait confiance dès nos tout premiers échanges, avant même que je puisse vous montrer que j'avais effectivement « bossé mon entretien ». Merci pour votre sens de l'humour, pour votre aide et pour votre patience tout au long de ce travail de thèse. Merci de m'avoir fait découvrir ces superbes animaux que sont les acanthasters.

Merci également à Mehdi Adjeroud, mon co-directeur de thèse, pour m'avoir donné les bons conseils aux bons moments - merci pour ton aide malgré la distance qui nous a séparés tout au long du projet.

Je tiens ensuite à remercier tout particulièrement Olivier Chateau, à qui j'avoue avoir du mal à associer un rôle précis, tant il m'a soutenu tout au long de ce projet de thèse. Merci de ton aide et de ta présence permanente, les dimanches, les noëls, les jours de l'an, les soir à 22h en panique, etc.. Je suis très heureux de t'avoir rencontré et de pouvoir te considérer comme un ami.

Ensuite, je souhaite remercier tout le personnel de l'Aquarium des Lagons de Nouméa. Merci à Richard Farman pour nous avoir permis de faire nos expériences à l'aquarium. Merci à toute l'équipe des polos noirs, à Amandine pour m'avoir conduit aux urgences quand j'apprenais à me servir de la perceuse, merci à Yann pour tes blagues et ta bonne humeur, merci encore à Olivier car ça ne sera jamais trop, et enfin merci à Hugues Gossuin, une autre rencontre exceptionnelle que j'ai pu faire en Calédonie. Merci également à l'équipe des polos bleus, Jeff pour ton aide et ta bonne humeur constante ! Sylvain, Vincent, Marion, Thibs, Fafane, Xavier, vous êtes tous vrraiment bons ! Je remercie également toute l'équipe des polos gris et des polos violets.

Merci également à tout le personnel du programme AMICAL de l'Adecal Technopole. Merci à Noémie, Vanille, Loïc, Thierry et Pierre pour toute votre aide et tous les bons moments que j'ai passé avec vous (et les moins bons dans votre labo le soir de noël à photographier les petites acanthasters).

Enfin, je tiens à remercier tout particulièrement Nono, Claire et Margote ! Merci de m'avoir aidé dans cette folle aventure! Vous avez été toutes les trois remarquables et je vous souhaite le meilleur pour la suite.

Je remercie aussi tout le personnel de l'IRD qui a contribué de près ou de loin à nos travaux. Un merci tout particulier à Véronique Perrin, que j'ai beaucoup sollicité tout au long de ce projet et qui a toujours été là pour me sortir de toutes les galères. Je tiens aussi à remercier très chaleureusement Véronique Berteaux-Lecellier et Gaël Lecellier – merci pour votre soutien constant et pour les nombreux conseils qui m'ont permis de m'améliorer depuis le début de la thèse. J'espère qu'on finira par savoir ce qui les tue, ces bestioles ! Merci à toute l'équipe des plongeurs pour leur aide lors des campagnes de terrain. Merci également à l'équipe du laboratoire analytique de l'IRD, et en particulier à Léocadie pour

m’avoir formé aux mesures d’alcalinité et pour avoir toujours été là pour répondre à mes questions. Enfin, merci à Claude Payri de m’avoir accueilli au sein de l’unité ENTROPIE.

Je tiens aussi à remercie tous les amis doctorants, stagiaires, et tous les gens de l’IRD avec qui j’ai pu passer des bons moments lors de ce séjour. Une attention particulière va à Laure, Julie, Laetitia et Florian, et avant eux Lucas et Germain, du bureau des doctorants ! Mais aussi des autres bureaux, Andreas, Federica, Maxime, Angélique, Solène, Cinzia, Laura & Claire des îles ♥. Merci également à Mahé pour ces supers coups de chasse et pour tous ceux à venir !

Je tiens aussi à remercie mes amis de Nouvelle-Calédonie, avec une attention particulière pour Amandine, Clément et Ludo, vous avez été notre seconde famille depuis plus de trois ans ! Merci également à tous les amis de France, avec qui rien n’a changé malgré la distance. Bertrand, Yohan, Joss, Adrien, Bruno, Romain, j’ai hâte de vous retrouver !

Je remercie aussi de tout mon cœur ma famille, qui m’a toujours soutenu dans mes choix, notamment de toujours choisir le bout du monde comme destination. Mes pensées vont particulièrement à mes parents qui me manquent chaque jour.. Merci à mon père de m’avoir poussé de toutes ses forces depuis tant d’années, merci à ma mère de la légèreté et des sourires qu’elle continue toujours de m’apporter au quotidien.

Nous remercions également le Labex « CORAIL » ainsi que la Province Sud de Nouvelle-Calédonie pour avoir financé ce projet doctoral et avoir permis que ces travaux voient le jour.

Enfin, je viens à remercier tout particulièrement Paola Furla et Suzanne Mills pour avoir accepté d’être rapporteur pour mon manuscrit de thèse. J’en profite pour remercier Nabila Gaertner-Mazouni, Yves Letourneur et Jérémie Vidal-Dupiol pour avoir accepté d’être dans mon jury de thèse.

Liste des communications orales et posters

Communications orales :

- Conférence “Climate Change in the Asia Pacific Region : From Environmental Aspects to Socio-Economic Impact” - Quy Nhon, Vietnam – 11-15/10/2021
- Doctoriales de l’Université de la Nouvelle-Calédonie - Nouméa, Nouvelle-Calédonie - 5-6/10/2019
- Conférences en marge du Conseil Scientifique du Labex Corail - Nouméa, Nouvelle Calédonie - 28/08/2019

Présentations de poster :

- Conférence “International Coral Reefs Symposium” - Brême, Allemagne - 18-23/07/2021
- Doctoriales de l’Université de la Nouvelle-Calédonie - 1-2/08/2018

Liste des valorisations publiques

- Interview pour NC 1ère dans le 19h30 - 05/07/ 2018
- Interview pour France 2 pour l’émission 13h15 - 12/2018
- Interview pour documentaire sur les coraux « L’Homme au chevet des coraux » de Clémence Rabeau diffusé pour la première fois sur Science et Vie le 24/09/2019
- Nocturne sur les coraux à l’Aquarium des Lagons - 2018 & 2019
- Journée de la science à l’Aquarium des Lagons - 2019
- Présentations des travaux expérimentaux en marge du Symposium MANACO - 06/12/2019

Co-encadrements de stagiaires et volontaires au service civique

- Noéline Lanos - Stagiaire UNC L3 – 2018/2019
- Claire Marin - Stagiaire UNC L2 – 2019/2020
- Margo Fargeton - Stagiaire Aquarium des Lagons - 2019/2020
- Romane Boymond-Morales - Stagiaire Intechmer - Aquarium des Lagons - 2019
- Sheyenne Angexetine - VSC Aquarium des lagons - 2019/2020
- Max Collado-Bougeard - VSC Aquarium des lagons - 2019/2020

Table des matières

Chapitre 1 : Introduction générale 1

1. Changement climatique 1

1.1 Constat de la situation climatique et prévisions futures 1

1.2 Description des phénomènes de réchauffement et d'acidification des océans 4

2. Les récifs coralliens 7

2.1 Importance des récifs coralliens 7

2.2 Menaces pesant sur les récifs coralliens 8

3. Les Acanthasters 12

3.1 Biologie 12

3.2 Les infestations d'acanthasters 21

3.3 Facteur(s) naturels et anthropiques à l'origine des infestations 26

3.4 Contrôler les infestations – méthodes de contrôle direct 32

4. Problématique du projet doctoral 36

4.1 Cadre général de l'étude 36

4.2 Etat de l'art 40

4.3 Objectifs de la thèse 42

Chapitre 2 : Protocole de maintien et d'élevage d'acanthasters en conditions contrôlées 47

1. Maintien d'acanthasters adultes en conditions contrôlées 48

1.1 Design expérimental 48

1.2 Dimensionnement de l'étude : volume requis par nombre d'individu 48

1.3 Bacs des adultes 50

1.4 Estimation du débit de renouvellement nécessaire 50

1.5 Mise en eau et filtration 51

1.6 Modifier expérimentalement les paramètres de l'eau 52

1.7 Entretien du système des adultes 55

1.8 Collecte et stockage des animaux 57

1.9 Sexage et répartition des animaux 58

1.10 Nourrir des acanthasters en captivité 60

2. Elevage de larves d'acanthasters en conditions contrôlées 61

2.1 Design expérimental 61

2.2 - Reproduction *in vitro* d'acanthasters 61

2.3 Bac pour l'élevage larvaire, mise en eau et filtration 64

2.4 Entretiens du système des larves et données collectées 65

2.5 Nourrir des larves d'acanthasters 70

3. Autres problèmes rencontrés 74
3.1 Pollution de l'eau des larves par le stress des adultes 74
3.2 Solutions apportées la seconde année expérimentale (2019-2020) 75
Chapitre 3 : Publication 1 81
Temperature affects the reproductive outputs of coral-eating starfish *Acanthaster* spp. after adult exposure to near-future ocean warming and acidification 81
Résumé 81
Abstract 82
1. Introduction 82
2. Material & Methods 85
2.1 Study species, collection sites 85
2.2 Experimental treatments 85
2.3 Adult exposure and spawning 87
2.4 Oocytes metrics, fertilisation success and Gonado-Somatic Index 89
2.5 Statistical analyses 89
3. Results 90
3.1 Oocyte metrics 90
3.2 Fertilisation success 92
3.2 Gonado-Somatic Index (GSI) 94
4. Discussion 95
5. Supplementary Material 100
Chapitre 4 : Publication 2 107
Impact of near-future ocean warming and acidification on the larval development of coral-eating starfish *Acanthaster* cf. *solaris* after parental exposure 107
Résumé 107
Abstract 108
1. Introduction 109
2. Material and methods 111
2.1 Species and collection sites 111
2.2 Experimental treatments and adult exposure 111
2.3 Spawning and larvae rearing 111
2.4 Larvae feeding 112
2.5 Gastrulation and gastrula size 113
2.6 Larvae mortality, development, and morphology 113
2.7 Data analysis 114
3. Results 115

3.1 System performance 115
3.2 Gastrulation and gastrula size 116
3.3 Larval mortality 118
3.4 Larval development 119
3.5 Larvae morphology 122
4. Discussion 125
5. Supplementary material 128
Chapitre 5 : Synthèse et perspectives 139
1. Apport des résultats de la thèse dans la compréhension de l'impact du changement global sur les populations d'acanthasters 139
2. Limites conceptuelles de l'étude 142
3. Perspectives de recherche 144
Chapitre 6 : Bibliographie 151
Chapitre 7 : Annexes 179
Annexes 1.1 – Description des scénarios d'évolution socio-économiques (SSP) 179
Annexes 2.1 – Protocole de titration des carbonates 180
Annexes 2.2 – Protocole de culture de micro-algues de l'Aquarium des Lagons 185
Annexes 2.3 – Protocole de mesure de la chlorophylle par extraction sur acétone (LAMA - IRD) 188
Annexes 2.4 – Protocole de mesure de la chlorophylle par extraction sur acétone de l'Adecal Technopole IFREMER 193
Annexes 2.5 – Protocole d'utilisation des photobioréacteurs de l'Adecal – Technopole 196

Liste des abréviations

AIMS : *Australian Institute of Marine Science*

COTS : *Crown-of-thorns starfish*

CO_2 : Dioxide de carbone

GBR : *Great Barrier Reef*

GIEC : Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat

GSI : Gonado-Somatic Index

IPCC : *Intergovernmental panel on climate change*

PBR : Photo-bioréacteurs

RCP : *Representative Concentration Pathways*

RGS : Rapport Gonado-Somatique

SSP : *Share Socioeconomic Pathways*

TGP : *Transgenerational plasticity*

W/m^2 : Watts par mètre carré

Liste des figures

Figure 1-1. Emissions globales de gaz à effet de serre (en gigatonne de CO_2 par an) suivant les différents scénarios RCP (adapté de Fuss et al., 2014). 3

Figure 1-2. Diagramme explicatif des cinq scénarios d'évolution sociaux-économiques (SSP). 3

Figure 1-3. Changement de la température de surface moyenne basé sur de nombreux modèles de projections pour 2081-2100 par rapport à 1986-2005 suivant le scénario RCP 2.6 (gauche) et le RCP 8.5 (droite). Carte adaptée de (IPCC, 2014). 4

Figure 1-4. Schéma explicatif de l'équilibre du système des carbonates dans l'océan (gauche) et des perturbations engendrées par l'acidification (droite ; Source : ocean-climate.org). 6

Figure 1-5. Représentation schématique du phénomène de blanchissement corallien au niveau de la colonie (haut) et de la communauté (bas ; Issu de Payri, 2018 ; © Great Barrier Reef Marine Park Authority). 9

Figure 1-6. Photographies d'acanthasters issues a) d'une même zone (© T. Hue) et b) c) d) de zones différentes (© P. Dumas ; © K.M. Krister ; © J. H. Flickr ; © Aquaportail.com). 13

Figure 1-7. a) carte montrant la répartition d'*Acanthaster* sp. (issue de Pratchett et al. 2014) et b) carte montrant les différentes espèces d'acanthasters : *A. planci* (jaune), *A. mauritiensis* (bleu), *A. solaris* proposé (vert) et la dernière n'est pas encore nommée (rouge ; issue de Vogler et al., 2008). 14

Figure 1-8. Photographies montrant a) deux acanthasters en train de se nourrir de corail dans le lagon calédonien et b) une acanthaster en face ventrale avec l'estomac en partie visible, en train de manger un morceau de seiche (© T. Hue). 15

Figure 1-9. Photographie de l'intérieur d'une acanthaster après avoir disséqué la peau de la face aborale montrant les gonades (g), l'hépato-pancréas (pc) et enfin l'estomac et le système cardiaque (cs) (issue de Pratchett et al., 2014). 16

Figure 1-10. Photographies d'acanthasters lors de la ponte (© J.-M. Boré, IRD). 17

Figure 1-11. Cycle de vie d'Acanthaster sp. : a) adulte b) œuf fertilisé, c) embryon au stage des quatre divisions d) gastrula e) jeune bipinnaria f) bipinnaria intermédiaire g) bipinnaria avancée h) brachiolaria avancée i) juvénile (Adapté de S. Uthicke, AIMS). 18

Figure 1-12. Photographies montrant la métamorphose d'Acanthaster sp. a) dernier stade larvaire nageant la tête en bas à la recherche d'un substrat adapté pour recruter b) la métamorphose commence par l'absorption du corps de la larve par son primordium c) étoile de mer juvénile à 5 bras 24h après la métamorphose. Echelle = 0,2 mm (Adapté de Caballes et Pratchett, 2014 ; © C. F. Caballes). 19

Figure 1-13. Photographies montrant les différents stages juvéniles d'Acanthaster sp. a) 1 semaine après la métamorphose b) 4 semaines après la métamorphose, commençant à avoir des bras supplémentaires (na) c) 6 semaines après la métamorphose, se nourrissant d'algue coralline et laissant des cicatrices alimentaires (fs) d) juvénile ayant commencé à se nourrir de corail (pp : papilles) (Adapté de Caballes et Pratchett, 2014 ; © C. F. Caballes). 20

Figure 1-14. Photographie d'acanthasters en situation d'infestation près de l'îlot Rédika dans le lagon Sud-Ouest de la Nouvelle-Calédonie en 2018 (© T. Hue). 22
Figure 1-15. Photographies du récif extérieur de Moorea en Polynésie française au cours du temps : a) le corail domine le récif qui est en bonne santé (couverture corallienne > 40%) b) les algues ont colonisé les squelettes de corail mort à la suite de sévère prédation par les acanthasters (couverture corallienne <10%) c) majorité de squelette de corail mort ou affaibli balayés par un cyclone à la fin de l'infestation d'acanthasters – les algues colonisent encore et dominent le récif dévasté (~5% de couverture corallienne ; Kayal et al., 2012). 25
Figure 1-16. Photographie d'un triton géant Charonia tritonis en prédation sur une acanthaster (Issue de Payri et al. 2018 ; © M. Junker). 28
Figure 1-17. Photographie montrant une utilisation du triton géant, aussi appelée la « toutoute » en Nouvelle-Calédonie, où elle est utilisée pour rassembler ou avertir les habitants d'un village (issue de Payri, 2018 ; © ADCK/CCT/P.A. Pantz). 28
Figure 1-18. Photographie d'un effort de contrôle où de nombreuses acanthasters ont été collectées sur le site d'Hulhumalé aux Maldives et ramenées sur terre où elles sont enterrées dans le sable (© A. Bruckner). 33
Figure 1-19. Photographies montrant deux acanthasters 24 h après avoir reçu les deux injections de 10 ml de vinaigre blanc (© T. Hue). 35
Figure 1-20. Photographie d'un plongeur réalisant une injection de vinaigre blanc à une acanthaster lors d'une opération de nettoyage des récifs au Vanuatu (© G. Moutardier). 36
Figure 1-21. La Nouvelle-Calédonie (21°15'S, 165°18'E) située sur une carte du monde. 37
Figure 1-22. La zone économique exclusive de la Nouvelle-Calédonie (Source : ZoNéCo 1998). 37
Figure 1-23. Photographie aérienne de la barrière de corail de Nouvelle-Calédonie (© Y. Cazaban). 38
Figure 1-24. Photographie du récif de l'ilot Redika lors d'une infestation en 2018. Plusieurs acanthasters agrégées y sont visibles ainsi que les traces de leurs passages laissant les coraux morts dans leurs sillages, que l'on voit ici blancs (© T. Hue). 40
Figure 2-1. Vue générale de l'installation réalisée et de la plateforme humide expérimentale de l'Aquarium des Lagons (© T. Hue). 47
Figure 2-2. a) Schéma 3D d'un bac réalisé à l'aide du logiciel Sketchup ; les flèches montrent le mouvement de l'eau et b) photographie d'un bac adulte vu du dessus (© T. Hue). 50
Figure 2-3. Photographies de a) entrée de la zone d'étude et b) zone vue de côté (© T. Hue). 52
Figure 2-4. Photographie du système pour chauffer l'eau : (1) sonde de température reliée au contrôleur électronique (2) contrôleurs électroniques dans un panneau électrique étanche (3) prises contrôlées et (4) résistances chauffantes placées au fond des compartiments techniques (© T. Hue). 53

Figure 2-5. Photographie du système d'acidification : (1) sonde qui mesure le pH en continu (2) ordinateur IKS qui contrôle l'ouverture des vannes en fonction du pH mesuré (3) électrovannes qui envoient du CO_2 pur (4) bouteille de CO_2 (5) bulleurs qui diffusent le CO_2 dans les bacs (© T. Hue). 54
Figure 2-6. Photographies de a) appareil de titration utilisé pour les mesures d'alcalinité et b) appareil utilisé pour les mesures de salinité (© T. Hue). 57
Figure 2-7. Photographies de a) outil pour manipuler des acanthasters (© A. Durbano) ; b) bac de 3 000 l pour stocker les animaux avant le sexage (© T. Hue). 58
Figure 2-8. Photographies macroscopiques de gonades d'Acanthaster sp. : sacs gonadiques a) femelles et b) mâles (© A. Durbano) ; c) sacs gonadiques d'une femelle où l'on aperçoit des œufs relâchés durant la manipulation et d) sacs gonadiques d'un mâle où l'on peut voir le sperme sortir (© T. Hue). 59
Figure 2-9. Photographies microscopiques de gonades et gamètes d'Acanthaster sp. : sacs gonadiques a) femelles et b) mâles (grossissement x100) ; c) œufs (grossissement x100) et d) spermatozoïdes observés sur cellule de Malassez (grossissement x400 ; © T. Hue). 59
Figure 2-10. Photographie d'un bac où l'on voit plusieurs acanthasters en train de manger, face ventrale vers le haut (© T. Hue). 60
Figure 2-11. Photographies de a) et c) gonades femelles après induction du relargage des œufs b) gonades mâles qui ont émis le sperme d) œufs sur lame pour photographie au microscope ; œufs fertilisés observés e) à la loupe binoculaire (x 50) et f) au microscope (x100) pour quantification du taux de fertilisation (© T. Hue). 63
Figure 2-12. Photographies d'un cylindro-conique a) en vue complète avec (1) tuyau 4 mm envoyant l'eau du bac adulte vers le cylindro-conique (2) coupelle de filtration avec filtre de 1 µm (3) bulleur permettant la circulation permanente des larves dans le volume (4) crépine empêchant les œufs/larves de sortir du cylindro-conique (5) passe-coque et coude de surverse ; et b) vue de détail montrant les larves dans la colonne d'eau (© T. Hue). 64
Figure 2-13. Photographies de la méthode de rinçage des larves (© AIMS). 65
Figure 2-14. Photographies prises sous microscope (Leica DM750 ; X100) ; a) gastrula classifiée comme normale b) gastrula classifiée comme anormale. Echelle = 200 µm (© T. Hue). 66
Figure 2-15. Photographies prises sous microscope (Leica DM750 ; X100) ; a) jeune bipinnaria sur laquelle on peut voir l'estomac complètement formé (E) pochettes coelomiques (PC) bras de bipinnaria pas encore bien développés (BA) bouche (B) b) bipinnaria avancée sur laquelle on peut désormais voir que les pochettes coelomiques ont fusionné pour former la cavité coelomique (CC) au-dessus de la bouche. Les bras de bipinnaria sont désormais formés (BB) c) jeune brachiolaria où l'on voit pointer les bras de brachiolaria (BBr) d) brachiolaria intermédiaire - avancée où l'on voit que les bras de brachiolaria se sont allongés (BBr) et le primordium s'est développé (P). Echelle = 200 µm (© T. Hue). 67

Figure 2-16. a) & b) exemples de larves classées comme anormales sur critères morphologiques, suggérant des problèmes de développement. Echelle = 200 µm (© T. Hue). 68
Figure 2-17. Photographie d'une larve montrant les six mesures biométriques réalisées : (1) longueur totale (2) largeur totale (3) ouverture de la bouche (4) ouverture de l'estomac (5) longueur de l'estomac et (6) largeur de l'estomac. Echelle = 200 µm (© T. Hue)..... 69
Figure 2-18. Photographies a) matériel utilisé pour la filtration des micro-algues nécessaire à l'extraction de la chlorophylle sur acétone b) comptage des cellules de micro-algues sur une cellule de Malassez et c) espace dédié aux cultures de Dunaliella sp. et d'Isochrysis sp. (J+5 à J0 de gauche à droite ; © T. Hue). 71
Figure 2-19. Exemples de a) l'arrêt de développement d'une larve durant le premier set de la première année et b) larve issue de la même culture au même jour post-fertilisation la seconde année (© T. Hue). 71
Figure 2-20. Photographie des deux photo-bioréacteurs de 120 l en cours de culture de T-Isochrysis sp. (gauche) et de Dunalliela sp. (droite). Ces appareils ont été mis en place dans les locaux de l'Adecal Technopole (© T. Hue). 74
Figure 2-21. Photographies a) et b) montrant des réactions de stress des animaux (© T. Hue)..... 75
Figure 2-22. Vue générale du système modifié pour la deuxième année d'expérience (© T. Hue)..... 76
Figure 2-23. Photographie d'une acanthaster en face ventrale (© T. Hue). 77
Figure 3-1. Variation of seawater temperatures over the experimental periods for the four treatments. Colour lines represent mean temperature for each treatment (n=3 replicates) through the whole exposure periods: solid line for the first experimental period 2018-2019, n=130 days and dashed lines for the second experimental period 2019-2020, n=145 days). Arrows mark indicate the fertilisation trials.... 88
Figure 3-2. Effects of warming and acidification on maximum diameter, volume and sphericity of COTS eggs. Results of the 2018-2019 and 2019-2020 trials across the four experimental treatments. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers. Bold squares indicate the mean values for each treatment. Sample sizes for 2018-2019 = 269-312. Sample sizes for 2019-2020: 543-565. 91
Figure 3-3. Effects of warming and acidification on COTS fertilisation success. Results of the 2018-2019 and 2019-2020 trials across the four experimental treatments. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers. Bold squares indicate the mean values for each treatment. Sample sizes for 2018-2019 = 30 per treatment except for acidification treatment where n = 20. Sample size for 2019-2020: 30 for all treatments..... 93
Figure 3-4. Effects of warming and acidification on COTS Gonado-Somatic-Index (GSI). Results of the 2018-2019 and 2019-2020 trials across the four experimental treatments. Bold horizontal lines

indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers. Bold squares indicate the mean values for each treatment. Sample sizes for 2018-2019 = 18 animals for control and warming treatments, 17 for acidification and warming and 13 for acidification. Sample size for 2019-2020: 24 animals for al treatments except acidification and warming 23. 94

Figure 4-1. Development stages of Acanthaster cf. solaris; a) normal and b) abnormal gastrula, c) early and d) advanced bipinnaria, e) early and f) mid-late brachiolaria, g) and h) examples of abnormal larvae, i) illustration of the six metric measures: total length (1), total width (2), mouth hood (3), gut hood (4), gut length (5), and gut width (6). All pictures are purposefully the same scale (bar = 200 µm)..... 114

Figure 4-2. Daily averages of temperature and pH in both experimental tanks (Adult) and rearing jars (Larvae) coloured by treatments, from September 2019 to February 2020. The shaded part on the left graphs represent both larvae rearing periods, parameters of which are detailed on the right graphs.. 116

Figure 4-3. Effect of warming and acidification on gastrulation (%) of COTS. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers. 117

Figure 4-4. Proportion of initial larvae remaining from day 5 to day 21. Results of the first experimental run (started mid-December) and of the second (started mid-January) represented across the four treatments. Curves were drawn with mean ± SE (n=3 rearing jars). 119

Figure 4-5. Development of COTS larvae for a) the first experimental run (started mid-December) and b) the second (started mid-January) though time across the four experimental treatments. Colour bars represent mean percentage of each larvae stage across the experimental time, from day 3 to day 21 (n=3 rearing jars)..... 121

Figure 4-6. Evolution of size for a) the first COTS larvae stage (early bipinnaria) and b) the second larvae stage (advanced bipinnaria) across the four experimental treatments. PCA1 represents a proxy of larval size. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers (n=3 rearing jars). 123

Figure 4-7. Evolution of size for a) the first COTS larvae stage (early bipinnaria) and b) the second larvae stage (advanced bipinnaria) across the four experimental treatments. PCA1 represents a proxy of larval size. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers (n=3 rearing jars). 124

Figure 5-1. Récapitulatif des effets du réchauffement et de l'acidification sur les principaux stades de vie des acanthasters étudiés dans ce projet : a) rapport gonado-somatiques (RGS) b) taille et forme des œufs c) fertilisation d) gastrulation e) jeune bipinnaria f) bipinnaria avancée g) jeune brachiolaria h) brachiolaria intermédiaire-avancée. 139

Liste des tableaux

Tableau 1-1. Récapitulatif de différents critères utilisés pour qualifier une population d'acanthasters en infestation (adapté de Pratchett et al., 2014). 22

Tableau 1-2. Relation entre les épisodes de forte pluie et le déclenchement des infestations sur la Grande Barrière de Corail. 30

Tableau 2-1. Synthèse bibliographique d'études à propos de l'estimation du volume d'eau nécessaire pour garder des acanthasters adultes pendant des périodes prolongées. 49

Tableau 2-2. Synthèse des tâches journalières à effectuer sur le système expérimental. Ces tâches étaient réalisées deux fois par jour sauf quand mentionné différemment. 55

Tableau 2-3. Liste des éléments nécessaires à la reproduction in vitro d'acanthasters. 61

Tableau 2-4. Critères utilisés pour déterminer les différents stades larvaires d'acanthasters. 68

Tableau 2-5. Récapitulatif des données collectées au cours du projet (deux années consécutives d'expérience). 69

Tableau 3-1. Seawater physicochemical conditions for the 2019-2020 adult exposure experiment.... 87

Tableau 3-2. Results of PERMANOVA analyses performed on egg metrics (maximum diameter, volume and sphericity) of COTS subjected to different levels of temperature and pH on two experimental years. 92

Tableau 3-3. Results of generalised linear mixed-effect models (GLMMs) on the fertilisation success of COTS subjected to different levels of temperature and pH on two experimental years. 93

Tableau 3-4. Results of the permutational ANOVA (PERMANOVA) performed on the Gonado-Somatic-Index (GSI) of COTS subjected to different levels of temperature and pH on two experimental years. 95

Tableau 4-1. Results of the permutational ANOVA (PERMANOVA) performed on the COTS gastrula rates subjected to different levels of temperature and pH on two experimental runs. 117

Tableau 4-2. Results of the linear mixed effect model performed on COTS larvae survival submitted to different treatment through time, for the two experimental runs. 118

Tableau 4-3. Results of the linear mixed effect model performed on COTS larvae development submitted to different treatment through time for the first experimental run. Only results including the days where effects were highlighted appear in the table. 120

Tableau 4-4. Results of the linear mixed effect model performed on COTS larvae size for the four different stages submitted to different treatment through time for the first experimental run. 122

Structure du manuscrit

Le chapitre 1 est une introduction générale qui présente la notion de changement climatique, les récifs coralliens, le phénomène acanthaster et enfin la problématique du projet doctoral.

Le chapitre 2 est un chapitre méthodologique récapitulant l'ensemble des aspects logistiques et techniques liés à la mise en place du système d'acclimatation des acanthasters, les méthodes de reproduction *in vitro*, d'élevage des larves et enfin de culture de micro-algues pour nourrir ces larves.

Le chapitre 3 est consacré à l'étude des capacités de reproduction des acanthasters après une période d'acclimatation à des conditions environnementales modifiées, ici la température et le pH. Pour estimer les performances de reproduction des animaux, nous avons utilisés des mesures des œufs des femelles, des indices de maturité sexuelle et enfin, des taux de fertilisation. Cette étude est la première à inclure une période d'acclimatation sur des acanthasters adultes avant d'étudier les stades de vie suivants. Ce chapitre a fait l'objet d'une publication dans le journal Marine Environmental Research en Décembre 2020 :
Hue, T., Chateau, O., Lecellier, G., Kayal, M., Lanos, N., Gossuin, H., Adjeroud, M., Dumas, P. (2020). Temperature affects the reproductive outputs of coral-eating starfish *Acanthaster* spp. after adult exposure to near-future ocean warming and acidification. *Marine Environmental Research, 162*, 105164.

Le chapitre 4 est consacré à l'étude de l'impact de conditions modifiées (température et pH) sur la croissance larvaire des acanthasters après une période d'acclimatation des adultes dans ces mêmes conditions. Pour cela, nous avons suivi le processus de développement de l'embryon (+24h) jusqu'au dernier stade larvaire (+24j). En déterminant les stades larvaires, les larves anormales, et en effectuant diverses mesures, nous avons pu montrer quels effets pourraient avoir le changement climatique sur les larves d'acanthasters d'ici la fin du siècle. Ce chapitre fait actuellement l'objet d'une publication :
Hue, T., Chateau, O., Lecellier, G., Uthicke, S., Marin, C., Coulombier, N., Le Dean, L., Gossuin, H., Adjeroud, M., Dumas, P. (xxxx). Impact of near-future warming and acidification on the larval development of coral-eating starfish *Acanthaster* cf. *solaris* after parental exposure. *In prep.*

Le chapitre 5 présente une synthèse des résultats et de leurs implications dans la compréhension de l'impact du changement global sur les populations d'acanthasters. Ce chapitre présente ensuite les limites conceptuelles de l'étude et enfin, des perspectives de recherche pour poursuivre les travaux réalisés dans le projet et tenter de répondre à la problématique posée.



Chapitre 1

Introduction générale

Chapitre 1 : Introduction générale

1. Changement climatique

1.1 Constat de la situation climatique et prévisions futures

1.1.1 Situation passée et description de l'évolution du climat

Depuis les années 1950, la Terre subit des changements environnementaux sans précédent depuis plusieurs siècles, voir millénaires (IPCC, 2014). Les émissions anthropiques de gaz à effet de serre ont augmenté de façon exponentielle depuis l'ère préindustrielle, notamment à cause de la croissance économique et démographique et ont atteint des niveaux jamais vu depuis plus de 800 000 ans (IPCC, 2014). L'augmentation de ces gaz entraine un réchauffement de la planète (Dufresne, 2009). Les bases de la physique du climat ont été posées par Fourier (1827) mais le nom d'effet de serre n'apparaitra que dans les années 1980 avec les premières alertes liées au climat (Seidel et Keyes, 1983). La température d'une planète est définie par l'équilibre entre l'énergie du rayonnement solaire qu'elle absorbe et le rayonnement infra-rouge qu'elle renvoie. Un tiers de l'énergie en provenance du soleil est directement réfléchi par les nuages, l'atmosphère et le sol, et les deux tiers restants sont absorbés par l'atmosphère, le sol et les océans. Ces deux tiers apportent de la chaleur à la Terre qu'elle restitue jour et nuit vers l'atmosphère par convection et rayonnements infrarouges lointains. Les nuages et les gaz à effet de serre sont majoritairement transparents aux rayonnements solaires incidents mais ils sont bien plus opaques aux rayons infra-rouges renvoyés, qu'ils vont piéger : c'est le phénomène d'effet de serre. Sans cet effet de serre naturel, la température moyenne de la planète passerait d'environ 13-15 °C actuellement à environ -18 °C. Quand cet effet de serre est à l'équilibre, le bilan radiatif au sommet de l'atmosphère est égal à zéro (Dufresne, 2009). Sur Terre, il est déséquilibré par les activités humaines, introduisant la notion de forçage radiatif, dernièrement estimé à 2,3 W/m^2 (1,1-3,3 W/m^2 ; IPCC, 2014). Ce surplus d'énergie correspondrait à un excédent de gaz à effet de serre émis par les activités anthropiques, finalement responsable du réchauffement de la planète (Fig. 1.1).

Ces trois dernières décennies ont été successivement plus chaudes que n'importe quelle autre période depuis 1850 (IPCC, 2014), voire depuis 800 à 1400 ans. Cela se traduit par une augmentation globale de température (Terre et Océans) de +0,85 °C (0,65-1,06 °C) entre 1880 et 2012. Une étude récente prévoie que d'ici une cinquantaine d'années, les régions habitées par 1 à 3 milliards de personnes pourraient devenir aussi chaudes que la partie la plus chaude du désert du Sahara si des changements importants ne sont pas opérés à l'échelle mondiale, particulièrement en termes de réduction des émissions de gaz à effet de serre (Xu et al., 2020). Cela aura des effets dramatiques sur la niche climatique : la partie restreinte de la planète caractérisée par des températures annuelles moyennes d'environ 13 °C, dans laquelle la population mondiale a prospéré ces 6000 dernières années. Cette niche climatique a permis le développement de l'agriculture, l'élevage du bétail et la pratique de l'irrigation,

qui sont les fondations pour nourrir la population mondiale. A mesure que le réchauffement global continue, les zones favorables aux humains deviendront plus rares ; en revanche les zones les plus chaudes, qui couvrent actuellement moins de 1% de la planète (ex. le désert du Sahara), pourraient couvrir 1/5 de la planète, ce qui aura des effets dramatiques sur les pays et les populations les plus pauvres (Xu et al., 2020).

1.1.2 Scénarios d'évolution future suivant les stratégies adoptées

Le groupe d'experts intergouvernemental sur l'évolution du climat (GIEC, en anglais *Intergovernmental Panel on Climate Change*) a été créé en 1988 et regroupe actuellement 195 états. Ses missions sont d'évaluer de façon objective et méthodique les fondements scientifiques, techniques et socio-économiques liés au changement climatique, d'estimer les risques et conséquences liés à ces changements et enfin de formuler des scénarios d'évolution future ainsi que de proposer des stratégies d'adaptation pour mitiger ces changements. Les scénarios des années 2000 ont dû être revus et adaptés pour prendre en compte le développement des pays émergents, l'augmentation démographique mondiale moins importante que prévue et enfin les politiques de mitigation mises en place pour réduire les émissions de gaz à effet de serre.

Dans le 5ème rapport de synthèse du GIEC, les scientifiques se sont accordés pour dire que le cumul des émissions de CO_2 déterminera dans une large mesure la moyenne mondiale d'augmentation des températures d'ici la fin du siècle et au-delà. Sur cette base, des scénarios d'évolution future ainsi que des stratégies d'adaptation ont été établis. Quatre scénarios d'évolution des émissions de gaz à effets de serre (appelés RCP pour *Representative Concentration Pathways*) correspondent à des estimations de valeurs du forçage radiatif en Watts par mètre carré (W/m^2) (Fig. 1.1). Ces scénarios de projection, développés à partir d'approches de modélisation statistique, correspondent à une mitigation stricte (RCP 2.6), deux scénarios intermédiaires (RCP 4.5 et RCP 6.0) et un scénario avec de très hautes émissions de gaz à effet de serre (RCP 8.5). La valeur du forçage radiatif en 2011 était estimée à 2,3 W/m^2 (1,1-3,3 W/m^2), ce qui représente un forçage radiatif bien plus important (+43%) que ce qui était prévu par le 4ème rapport mondial du climat (IPCC, 2014, 2005). Les scénarios d'évolution des émissions de gaz à effet de serre correspondent à des efforts plus ou moins importants qui seront nécessaires à l'échelle mondiale pour parvenir à ces niveaux de mitigation des émissions. Ces « efforts » sont divisés en 5 catégories appelés SSP pour *Shared Socioeconomic Pathways*. Ces 5 scénarios sont proposés par des climatologues, sociologues et économistes pour élaborer des stratégies d'adaptation et d'atténuation (Fig 1.2 ; voir détails en annexes 1.2).

En fonction de leurs différents paramètres (démographie, urbanisation, croissance), tous les SSP ne sont pas compatibles avec tous les RCP. Par exemple, les SSP3 et SSP5 ne sont pas compatibles avec des profils de faibles émissions de gaz à effet de serre (RCP 2.6). Cela veut dire que l'adoption des

stratégies des SSP3 ou SSP5 ne serait pas possible en limitant les émissions de gaz à effet de serre à un bas niveau (Fig. 1.2).

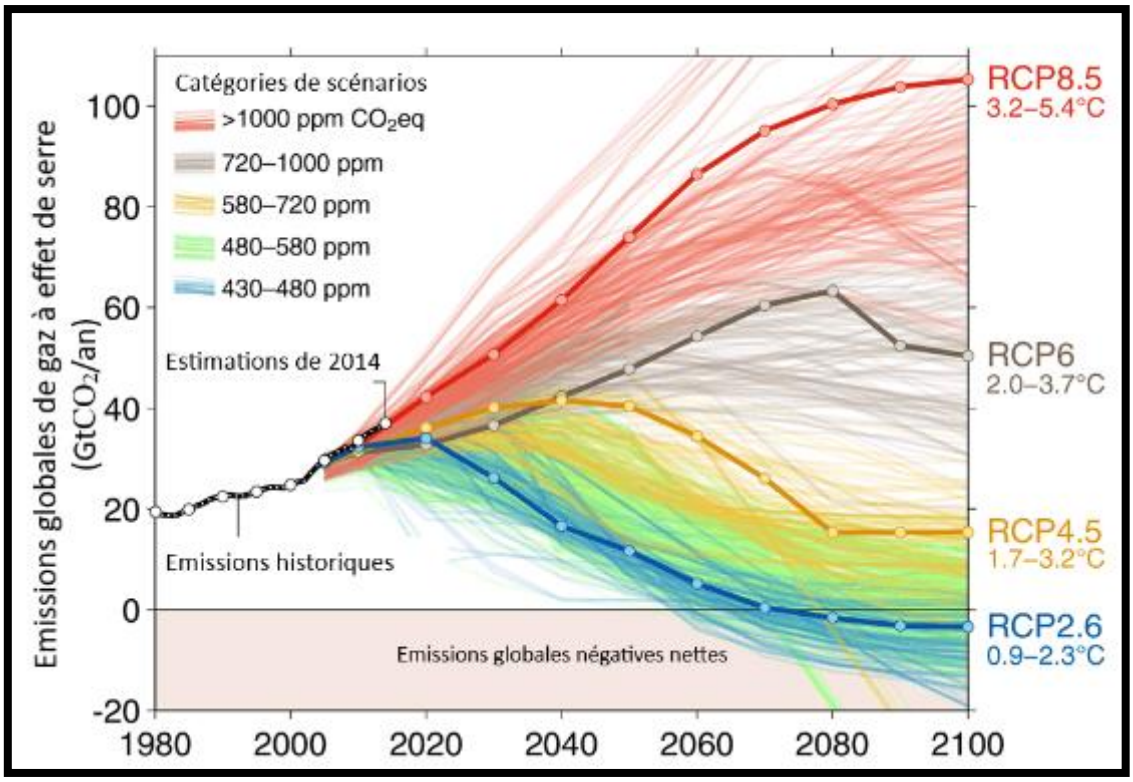


Figure 1-1. Emissions globales de gaz à effet de serre (en gigatonne de CO_2 par an) suivant les différents scénarios RCP (adapté de Fuss et al., 2014).

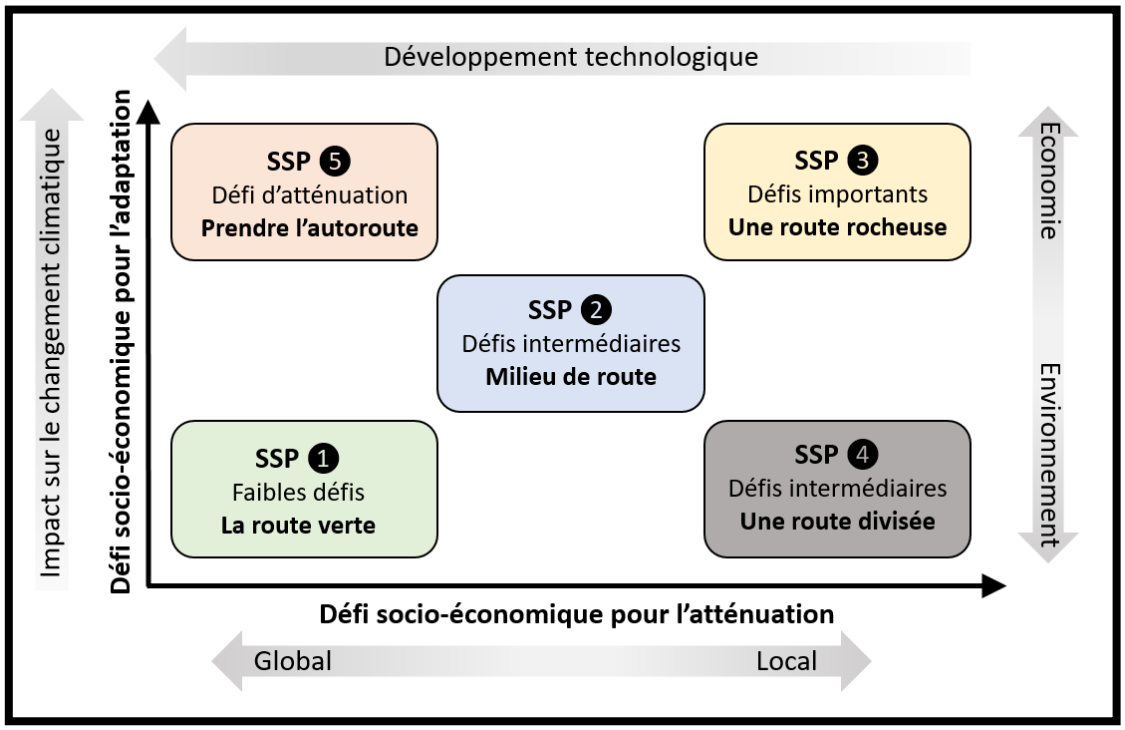


Figure 1-2. Diagramme explicatif des cinq scénarios d'évolution sociaux-économiques (SSP).

1.2 Description des phénomènes de réchauffement et d'acidification des océans

1.2.1 Réchauffement des océans

L'excès de chaleur généré par les activités humaines entre 1971 et 2010 a été absorbé à plus de 90% par les océans, atténuant ainsi l'augmentation de la température de l'atmosphère, qui n'en aurait absorbé qu'environ 1% (IPCC, 2014 ; Gattuso et al., 2015). Les océans fonctionneraient donc comme un thermostat de la Terre, mais cet effet de mitigation entraine en retour un second phénomène, le réchauffement des océans. L'augmentation de température des océans à l'échelle mondiale a été estimée à environ + 0,11 °C par décennie entre 1971 et 2010 (IPCC, 2014). Selon l'ampleur des émissions futures de CO_2 (scénarios RCP et SSP), la température moyenne de surface pourrait augmenter d'environ 1 à 4 °C d'ici 2100, les scénarios médians donnant une fourchette située entre + 1,1 °C (estimation basse du RCP 4.5) et + 3,1 °C (estimation haute du RCP 6.0 ; IPCC, 2014). Une étude récente a montré que 2019 était la seconde année la plus chaude jamais enregistrée (Cheng et al., 2020). Enfin, il est important de prendre en compte l'hétérogénéité spatiale du climat au niveau planétaire, qui se traduira localement par des augmentations de température plus importantes que les augmentations moyennes décrites (Fig. 1.3).

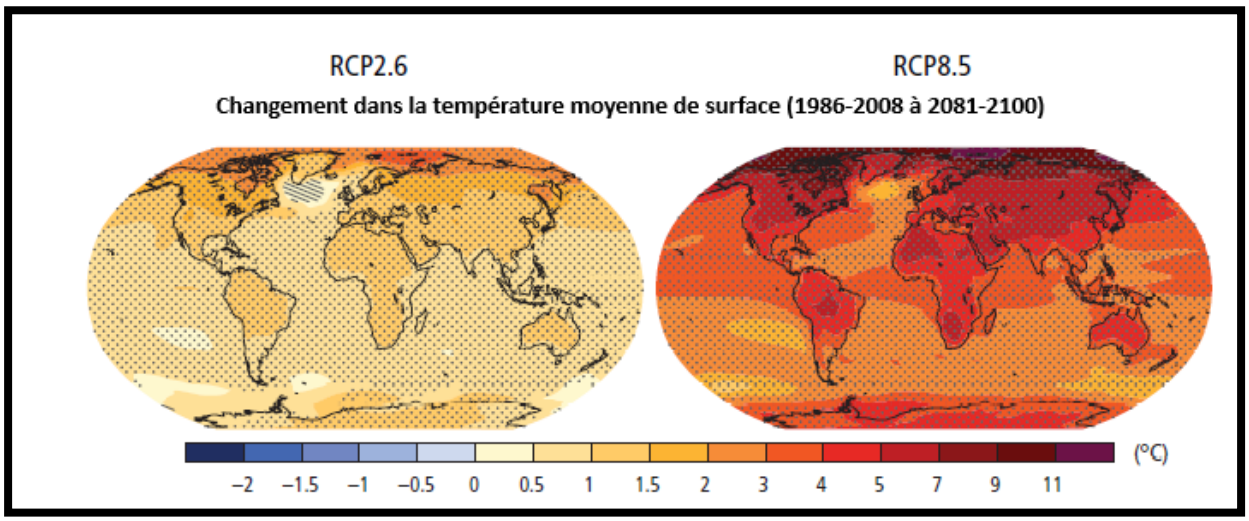


Figure 1-3. Changement de la température de surface moyenne basé sur de nombreux modèles de projections pour 2081-2100 par rapport à 1986-2005 suivant le scénario RCP 2.6 (gauche) et le RCP 8.5 (droite). Carte adaptée de (IPCC, 2014).

1.2.2 Impacts du réchauffement des océans sur les écosystèmes marins

Bien que les augmentations moyennes de température puissent être plus importantes dans les régions tempérées que sous les tropiques, les espèces tropicales pourraient réagir plus fortement au changement climatique. En effet, les espèces tropicales s'étant adapté à des conditions climatiques relativement stables, elles ont des tolérances thermiques plus étroites et vivent donc plus près de leurs optimums

thermiques (Wernberg et al., 2012). Cela se traduit par un faible écart entre la température optimale et la température létale pour les espèces tropicales (Hoegh-Guldberg et al., 2007 ; Peck et al., 2004).

Les animaux marins sont pour la plupart ectothermes, ce qui signifie qu'ils ne produisent pas de chaleur et que leur température corporelle dépend donc directement de la température du milieu. Ce sont les optimums thermiques propres à chacun d'entre eux qui vont déterminer l'efficacité des fonctions physiologiques majeures telles que le métabolisme, la reproduction et la croissance ; cela déterminera aussi leur distribution géographique (Pörtner, 2010 ; Portner et Farrell, 2008). Ces optimums varient en fonction des espèces et des stades de vie (pour revue, voir Byrne et Przeslawski, 2013). Quand la limite haute de ces optimums est atteinte voire dépassée, cela peut diminuer la valeur sélective de l'espèce en question à travers une mortalité plus élevée et un développement moins efficace (Byrne, 2011 ; Farrell, 2009). Par ces mécanismes, le réchauffement climatique devrait entrainer une diminution de la richesse spécifique des régions tropicales et particulièrement près de l'équateur (García Molinos et al., 2016 ; Jones et Cheung, 2015).

A mesure que la température des océans va continuer d'augmenter, les chances de survie des populations vivant aux latitudes basses dépendront de leur potentiel d'adaptation génétique et d'acclimatation (=plasticité phénotypique). Sinon, ces populations devront migrer à des latitudes plus hautes ou feront face à des extinctions (Bates et al., 2014). Cette dernière étude a décrit le phénomène de contraction d'habitat dû à la hausse de la température en trois phases : 1) un déclin des performances au niveau des individus, entrainant 2) le déclin de la population et enfin, au stade ultime, 3) son extinction. Dans le même temps, les hautes latitudes vont devenir plus adaptées pour les populations puisque les températures d'hiver, maintenant plus chaudes, dépasseront la limite basse de l'optimum thermique et limiteront donc la mort des animaux durant l'hiver (Figueira et Booth, 2010). Dans ce contexte, on s'attend à une diminution de la biodiversité des régions tropicales au profit des régions moins chaudes. A mesure que les populations migreront, leurs aires de distribution se décaleront pour correspondre à leur fenêtre d'optimum thermique. Ces modifications physiologiques et ces changements d'aires de distribution des organismes auront certainement d'importantes implications sur la structure et le fonctionnement des écosystèmes, qu'il est difficile de prévoir à ce jour (García Molinos et al., 2016 ; Vergés et al., 2014). A titre d'exemple, une espèce d'oursin présente dans l'est de l'Australie, *Centrostephanus rodgersi*, a migré ces dernières années vers des latitudes plus hautes causant la dévastation de la canopée formée par deux macro-algues, *Ecklonia radiata* et *Phyllospora comosa* (Ling, 2008). Une autre étude a montré qu'une augmentation de 1° C dans les 100 prochaines années entrainerait une réduction de plus de 95% du krill antarctique (*Euphausia superba*), à la base du régime alimentaire des oiseaux et mammifères marins, ce qui affectera leurs succès de reproduction (Murphy et al., 2007).

1.2.3 Acidification des océans

Ces 200 dernières années, le CO_2 atmosphérique a augmenté à un rythme 100 fois plus rapide qu'au cours de ces 800 000 dernières années (IPCC 2014). Les océans ont absorbés environ 25-30% de toutes les émissions anthropiques de CO_2 grâce à leur immense volume et au pouvoir tampon de l'eau de mer sur le CO_2 (Canadell et al., 2007 ; Sabine, 2004). L'absorption du CO_2 par les océans a ainsi permis d'atténuer l'effet de serre, mais en retour a conduit à l'acidification des océans (Doney et al., 2009 ; IPCC, 2014). A l'interface entre l'atmosphère et l'océan, le CO_2 se mélange à l'eau et forme de l'acide carbonique (H_2CO_3), un acide faible qui va rapidement se dissocier en ions carbonate (CO_3^{2-}) et en ions bicarbonates (HCO_3^-) et va entrainer un dégagement d'ions H^+ responsables de la diminution du pH de l'eau. Ces ions H^+ pourront aussi se fixer avec les ions carbonates pour en faire des ions bicarbonates, réduisant ainsi la disponibilité des ions carbonates nécessaires aux organismes calcifiants pour construire leurs squelettes calcaires (Fig. 1.4). Dans une moindre mesure, les océans absorbent également les pluies et les eaux de ruissellement acidifiées par des composés azotés d'origine anthropique, ainsi que par des composés de souffre issus de la combustion d'énergies fossiles (Holtgrieve et al., 2011). Cela a eu pour conséquence une chute du pH de 8,2 à l'ère préindustrielle à 8,1 en 2010. Bien que ce changement puisse paraître peu important, il correspond à 30% d'ions hydrogène en plus, qui conditionnent directement l'acidité de l'eau (Sabine, 2004). D'ici la fin du siècle, le pH global des océans pourrait chuter de 0,07 unités supplémentaires suivant le scénario le plus optimiste (+15-17% d'acidité, RCP 2.6) à 0,32 unités pour le plus pessimiste (+100-109% d'acidité, RCP 8.5 ; IPCC, 2014).

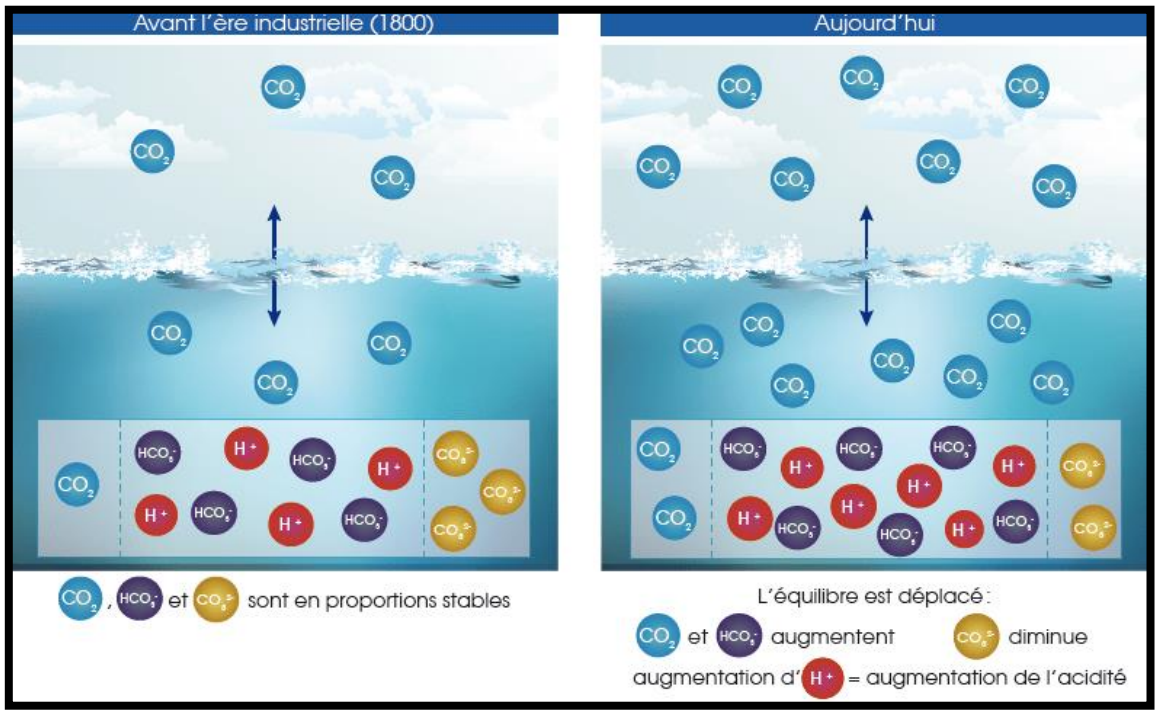


Figure 1-4. Schéma explicatif de l'équilibre du système des carbonates dans l'océan (gauche) et des perturbations engendrées par l'acidification (droite ; Source : ocean-climate.org).

1.2.4 Impacts de l'acidification des océans sur les écosystèmes marins

Des changements si rapides (à l'échelle évolutive) du pH des océans sont susceptibles d'excéder les capacités d'adaptation de beaucoup d'organismes marins (Raven et al., 2005). Cette problématique est étudiée depuis les années 1990 environ, en raison de ses impacts potentiels sur l'ensemble des organismes calcifiants mais aussi non-calcifiants, allant des micro-organismes photosynthétiques aux vertébrés tels que les poissons (Gattuso et Hansson, 2011 ; Hoegh-Guldberg et al., 2007 ; Munday et al., 2012). Une méta-analyse compilant 228 études a récemment montré que l'acidification des océans entrainera une diminution de la survie, de la calcification, de la croissance, du développement et de l'abondance de tous les groupes d'organismes marins (Kroeker et al., 2013).

Bien qu'ils soient globalement moins sensibles aux effets de l'acidification que les organismes calcifiants, l'acidification aura des effets néfastes sur les organismes non-calcifiants notamment à cause de l'hypercapnie (Hoegh-Guldberg, 1999 ; Kroeker et al., 2013). L'hypercapnie, qui correspond à une augmentation du CO_2 dans le sang d'un organisme, est susceptible de compromettre le fonctionnement physiologique de certains organismes, en particulier leur métabolisme, leur croissance mais aussi leurs sens (Munday et al., 2012 ; Pörtner, 2010, 2008). Les effets de l'hypercapnie, comme ceux de la diminution des carbonates de l'eau, impacteront les espèces et les stades de vie différemment (pour revue, voir Byrne, 2011 et Kamya, 2016). De la même façon que pour le réchauffement des océans, les capacités des organismes à s'acclimater et/ou s'adapter à ces nouvelles conditions de pH détermineront les « gagnants » et les « perdants » face à l'acidification (pour revue, voir Somero, 2010).

L'acidification aura des effets particulièrement néfastes sur les organismes calcifiants tels que certains invertébrés marins, qui auront plus de difficulté à construire leurs parties calcaires. C'est en particulier le cas des échinodermes (Byrne, 2011 ; Byrne et al., 2011 ; Uthicke et al., 2013a), des mollusques (Gazeau et al., 2007 ; Parker et al., 2012), et bien sur des coraux (Doney et al., 2009 ; Hoegh-Guldberg et al., 2007 ; Kroeker et al., 2013). Sur les coraux, il a déjà été mis en avant que la diminution des carbonates (CO_3^{2-}) ralentissait la croissance (Albright et al., 2018). Néanmoins, les effets de l'acidification semblent affecter différentes espèces de différentes manières, si bien que le phénomène pourrait favoriser certains groupes de coraux et en défavoriser d'autres (Hall et al., 2015 ; Horwitz et Fine, 2014 ; Renegar et al., 2008 ; Rodolfo-Metalpa et al., 2011 ; Schlegel et al., 2012).

2. Les récifs coralliens

2.1 Importance des récifs coralliens

Les récifs coralliens recouvrent environ 284 000 km^2 des régions tropicales et subtropicales des océans, ce qui représente moins de 0,1% de la surface des océans (Hoegh-Guldberg et al., 2019). Ils sont néanmoins parmi les écosystèmes les plus diversifiés au monde puisqu'ils abriteraient au moins 25%

des espèces marines, soit actuellement 25 à 60 000 espèces (Hoegh-Guldberg et al., 2007 ; Hughes, 2003 ; Payri, 2018). Les écosystèmes qui abritent autant d'espèces sont qualifiés de *hotspot* de biodiversité (Myers, 1988 ; Myers et al., 2000). A l'échelle mondiale, les récifs coralliens fournissent de nombreux services écosystémiques, estimés à environ 29 milliards d'euros par an (Burke et al., 2011). Ces services comprennent entre autres les sources alimentaires, le tourisme mais aussi la protection des côtes contre les aléas climatiques (pour revue, voir Moberg et Folke, 1999). Plus de 500 millions de personnes en dépendraient directement ou indirectement sur les littoraux ou sur les îles (Hoegh-Guldberg et al., 2019).

2.2 Menaces pesant sur les récifs coralliens

Depuis leur apparition il y a 240 millions d'années, les coraux ont résisté à toutes sortes de perturbations naturelles qui ont finalement formé la diversité connue aujourd'hui (Veron, 1995). De nos jours, ils sont également soumis à diverses perturbations d'origine anthropique, dont l'importance relative ne cesse de croître à l'ère contemporaine, l'Anthropocène (Hughes, 2003 ; Pandolfi et al., 2003). L'augmentation de ces stress pourrait entrainer le dépassement des capacités de résistance et de résilience des récifs coralliens et à terme leur disparition. Il a été estimé que 20% des récifs coralliens dans le monde sont détruits sans possibilité de récupération, 24% seraient en déclin imminent et 26% supplémentaires seraient menacés d'ici 2050 (Spalding et al., 2001 ; Van Oppen et Gates, 2006 ; Wilkinson, 2004). En effet, de nombreuses menaces de type anthropique pèsent sur les récifs coralliens, dont notamment l'urbanisation et le développement non maitrisés des zones côtières, la surpêche, la dégradation de la qualité des eaux et bien sûr le changement climatique (Hughes, 1994 ; Pandolfi et al., 2003). Une menace plus spécifique pèse également sur les récifs coralliens de la zone Indopacifique, les infestations d'étoile de mer corallivores du genre *Acanthaster* (Birkeland et Lucas, 1990).

Changement climatique – réchauffement des océans - blanchissement corallien

Le lien entre le changement climatique et le déclin corallien qui était encore débattu il y a 10-20 ans (Glynn, 1993) est désormais indéniable (Hoegh-Guldberg, 1999b ; IPCC, 2001). Le réchauffement climatique est une des perturbations majeures pour les récifs coralliens, puisqu'une augmentation de 1 à 2 °C au-dessus des températures d'été pourra entrainer un blanchissement qui à terme, pourra être létal pour le corail (Baker, 2003 ; Hoegh-Guldberg, 1999b).

Le corail vit en symbiose avec des algues unicellulaires photosynthétiques, les zooxanthelles. Cette association permet un effet mutuellement bénéfique : les polypes du corail hébergent les algues, et celles-ci, par la photosynthèse, libèrent des nutriments qui seront utilisés par le corail. Quand la température de l'eau dépasse un certain seuil, le corail stressé va expulser ses zooxanthelles, et on pourra constater visuellement un phénomène de blanchissement du corail (Spalding et Brown, 2015). En

l'absence des algues symbiotiques, le tissu vivant du corail est transparent et le squelette calcaire apparait alors blanc. Si les conditions environnementales reviennent à la normale assez rapidement, alors le corail peut retrouver ses symbiontes et se rétablir partiellement ou totalement. Si le stress thermique persiste, le corail privé de ses algues symbiotiques et de sa source de nutrition, mourra (Fig. 1.5). Certaines espèces sont plus sensibles au blanchissement, qui est fortement dépendant de la résistance thermique des zooxanthelles (Baird et Marshall, 2002 ; Floros et al., 2004 ; Van Oppen et al., 2015 ; Yee et al., 2008). Ce dérèglement physiologique peut aussi être provoqué par d'autres facteurs de stress tels qu'une baisse de la température, une augmentation de l'acidité, une baisse de la salinité, une pollution de l'eau, etc.

Les capacités de résilience des récifs dépendent de l'ampleur du phénomène de blanchissement, du recrutement post-blanchissement et du taux de mortalité des coraux (Connell et al., 1997). Certains récifs pourront récupérer en partie mais resteront fragilisés en termes de croissance, calcification et reproduction (Baker et al., 2008 ; Hoegh-Guldberg, 1999b ; Hoegh-Guldberg et al., 2007) alors que d'autres récifs ne récupèrent parfois pas des dégâts infligés (Baker et al., 2008 ; Graham et al., 2011 ; Halford et al., 2004). D'après une étude récente, le blanchissement corallien a augmenté d'environ 8% dans les années 1980 à 31% en 2016 (Hughes et al., 2018). Il apparait donc urgent de prendre des mesures à l'échelle mondiale afin de garantir un futur pour les récifs coralliens (Hughes et al., 2017b).

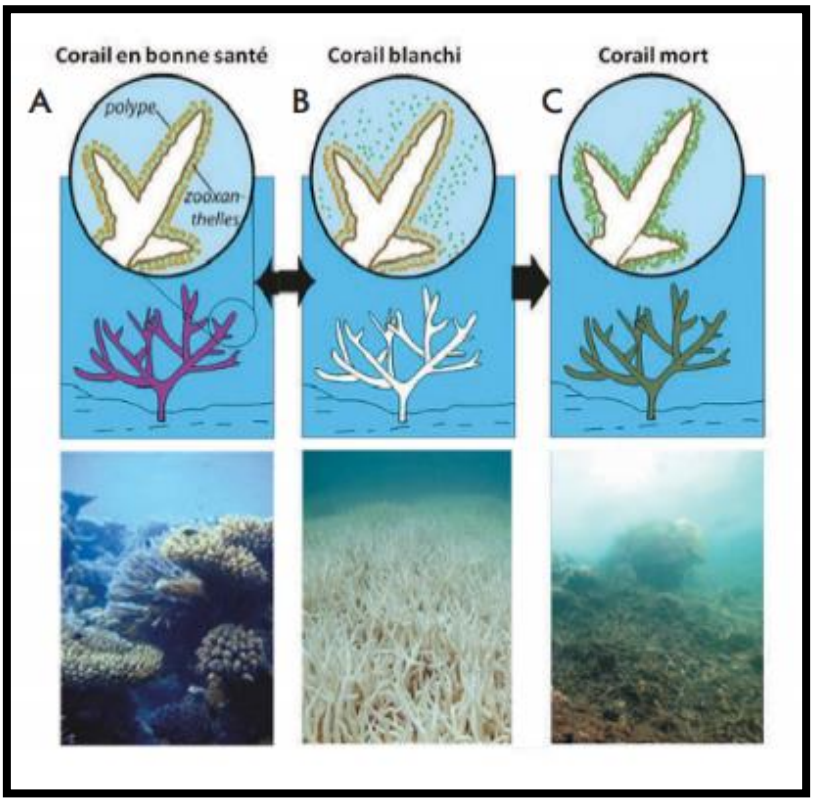


Figure 1-5. Représentation schématique du phénomène de blanchissement corallien au niveau de la colonie (haut) et de la communauté (bas ; Issu de Payri, 2018 ; © Great Barrier Reef Marine Park Authority).

Changement climatique – acidification des océans et perturbations des carbonates océaniques

La diminution des ions carbonates, dont les ions aragonites, va entrainer une diminution du taux de calcification et de croissance des coraux (Kleypas et al., 1999 ; Kroeker et al., 2013) causant un effet domino sur les espèces marines et les écosystèmes qui en dépendent (Hoegh-Guldberg et al., 2007a). Cette diminution de la calcification va entrainer une croissance moins rapide des coraux qui seront aussi plus fragiles, pouvant ainsi compromettre la résistance physique des récifs (Anthony, 2016 ; Gattuso et al., 2015 ; Silverman et al., 2009). Depuis le début de l'ère industrielle, cette diminution de la calcification des coraux a déjà été prouvée et quantifiée, notamment sur la Grande Barrière de Corail (Albright et al., 2018, 2016 ; De'ath et al., 2012, 2009 ; Silverman et al., 2012). Il a ainsi été estimé que suivant le scénario « *business-as-usual* », les récifs souffriraient d'un déclin de la calcification de 15 à 28% d'ici la fin du siècle (Chan et Connolly, 2013 ; Langdon et Atkinson, 2005).

D'autres organismes calcifiants telles que les algues corallines seront affectés par l'acidification des océans (Fabricius et al., 2015 ; Kuffner et al., 2008). Ces algues calcaires encroûtantes sont très importantes pour les récifs car elles font office de ciment et contribuent au maintien de l'intégrité de la structure récifale ; elles facilitent également le recrutement de nombreuses larves d'invertébrés et de coraux (Doropoulos et al., 2012 ; Doropoulos et Diaz-Pulido, 2013 ; Price, 2010). Une étude récente a montré que les capacités d'accrétion de récifs coralliens aux Galápagos étaient réduites face à l'acidification des océans, notamment à cause des effets de l'acidification sur les algues corallines (Manzello et al., 2008).

Surpêche

Les poissons de récif ont un rôle essentiel dans la dynamique des récifs coralliens car ils assurent une variété de fonctions écologiques - prédateurs, herbivores, détritivores, recycleurs de nutriments (Sale, 2013). La surpêche, un phénomène grandissant ces dernières décennies, affecte entre autres les poissons de récif en réduisant leur biomasse et leur diversité (Guillemot et al., 2014 ; Jennings et Polunin, 1997 ; Polunin et Roberts, 1993). C'est par exemple le cas des poissons perroquets, organismes bioérodeurs qui broient les squelettes des coraux pour en extraire les polypes et les algues, et aident ainsi au remodelage du paysage récifal (Bellwood et Choat, 2011 ; Bonaldo et Bellwood, 2011). De plus, la surpêche de ces prédateurs de récif va entrainer un phénomène de cascade trophique, qui correspond à une modification des interactions prédateur-proie qui affecte potentiellement plusieurs niveaux trophiques au sein de l'écosystème récifal. Par exemple, une étude faite sur un réseau de 13 îles aux Fidji a montré que suivant un gradient de pêche, les espèces de poissons prédateurs diminuaient jusqu'à 61% alors que les densités d'étoiles de mer corallivores étaient triplées (Dulvy et al., 2004). Cette augmentation des populations d'étoiles de mer a entrainé sur cette même zone un déclin de 35% des

coraux constructeurs et des algues corallines au profit d'algues filamenteuses. Ce phénomène a aussi été décrit pour différents taxons dans différentes zones : les densités de gastéropodes *Drupella cornus* et *Coralliophila violacea* ainsi que les oursins *Echinometra mathaei* et enfin les étoiles de mer du genre *Acanthaster* étaient plus importantes autour des récifs abondamment péchés que dans les réserves marines protégées où il y avait beaucoup de prédateurs (Clements et Hay, 2017 ; McClanahan, 1994 ; McClanahan et Muthiga, 1989 ; Rice et al., 2019).

Pollution

L'utilisation mondiale d'engrais riches en phosphate et en azote a augmenté de 300% et 800% respectivement depuis 1961, ce qui a entrainé une forte augmentation des concentrations de nutriments dans les eaux côtières proches des récifs coralliens (Fabricius, 2005 ; Rice et al., 2019). Cet enrichissement entraine différents effets sur la physiologie des coraux, notamment le ralentissement voire l'arrêt de la croissance, la perturbation de la reproduction et du recrutement et enfin l'augmentation du risque de blanchissement et de maladies coralliennes (pour revue, voir Fabricius, 2005). Par exemple, l'augmentation de la concentration en phosphate rend le squelette de certains coraux plus poreux, les exposant d'avantage à la prédation et aux dommages mécaniques (Caroselli et al., 2011 ; Chazottes et al., 2017; Dunn et al., 2012 ; Renegar et al., 2008).

Le rejet des eaux usées constitue une source majeure de pollution des eaux côtières (Wear et Thurber, 2015). Ces eaux usées peuvent contenir des métaux toxiques, des hydrocarbures, des pesticides et des polluants chimiques potentiellement toxiques (ex. du cyanure), ou des pathogènes. Leurs conséquences écotoxicologiques vont être de participer au blanchissement corallien mais aussi d'augmenter le taux de mortalité du corail, d'induire des maladies et de réduire leur fécondité (Pantsar-Kallio et al., 1999). A titre d'exemple, une croisière classique (1 semaine, 3 000 passagers) peut générer jusqu'à 800 m^3 d'eaux usées, 3 700 m^3 d'eaux grises (eaux usées liées aux activités domestiques), un demi mètre cube de déchets dangereux, huit tonnes de déchet solide et enfin près de 100 m^3 d'eaux de cale huileuse (Burke et al., 2011). De nombreux travaux ont porté sur les conséquences du rejet d'hydrocarbure et notamment de pétrole lors des marées noires. Plus récemment, l'effet néfaste des herbicides a aussi été montré, sur les coraux et sur les herbiers avec une photosynthèse perturbée (Ramade et Roche, 2006).

Enfin, on peut également observer une dégradation de la qualité des eaux côtières due à la sédimentation. En effet, l'agriculture, le développement des littoraux et le dragage ont augmenté l'accumulation des sédiments sur les récifs (Fabricius, 2005 ; Rogers, 1990). Cela va augmenter la turbidité de l'eau, entrainer une photosynthèse moins efficace et finalement impacter la physiologie des coraux. De plus, il semblerait qu'une turbidité importante empêche le corail de se régénérer correctement de certaines attaques de prédateurs (Cróquer et al., 2002). Dans certains cas, cette sédimentation peut

aussi avoir des effets bénéfiques pour les coraux, induisant un mutualisme qui permettra à des invertébrés de venir les nettoyer de ces sédiments. Par exemple, les crabes trapèzes augmentent la survie et la croissance de *Pocillopora* sp. sur des sites à sédimentation importante (Stewart et al., 2013), et les crevettes du genre *Alpheus* protègent ces coraux d'attaques de prédateurs du genre *Drupella* ou même d'*Acanthaster* (Kayal et al., 2018 ; McKeon et Moore, 2014 ; Pratchett, 2001 ; Samsuri et al., 2018).

Infestations d'acanthasters

Actuellement, une des menaces les plus importantes qui pèse sur les récifs coralliens de la zone Indopacifique est l'acanthaster, une étoile de mer prédatrice de corail (Pratchett et al., 2009). Les populations d'acanthasters peuvent augmenter considérablement et de façon imprévisible au cours d'épisodes d'infestations qui peuvent alors entrainer un déclin majeur des récifs coralliens (Baird et al., 2013 ; Bruno et Selig, 2007 ; Kayal et al., 2012). Des modèles réalisés sur la Grande Barrière de Corail australienne projettent que sans la prédation des acanthasters, la croissance corallienne serait maintenue à 0.89% par an en considérant les dégâts entrainés par les cyclones et par le blanchissement corallien – alors que cette croissance est en déclin de 0.53% par an (De'ath et al., 2012).

3. Les Acanthasters

3.1 Biologie

3.1.1 Description, répartition et régime alimentaire

Les acanthasters, aussi appelées « couronnes d'épines » (de l'anglais *crown-of-thorns starfish* ; COTS) sont de grandes étoiles de mer pouvant mesurer jusqu'à 80 centimètres de diamètre (Moran, 1990). Elles possèdent un disque central large et aplati d'où rayonnent 8 à 23 bras recouverts d'épines calcaires, dont le venin est toxique pour un grand nombre d'espèces, incluant l'homme (Moran, 1990; Moran et al., 1986). Elles sont de couleurs variables selon les zones géographiques mais aussi au sein d'une même zone, allant du rose, rouge au violet profond en passant par le gris et le marron, uni ou chamarré, souvent avec des couleurs différentes entre le corps et les épines (Fig. 1.6). Cette espèce avait d'abord été nommée *Stella marina quindecium radiotorum* (étoile de mer à quinze bras rayonnants) lors de sa première découverte en 1705 par G. E. Rumphius. Elle a ensuite été décrite par Linné en 1758 qui la nomma *Asteria planci* sur la base d'illustrations de Plancus et Gualtieri (1743) puis *Acanthaster planci* par P. Gervais en 1841.

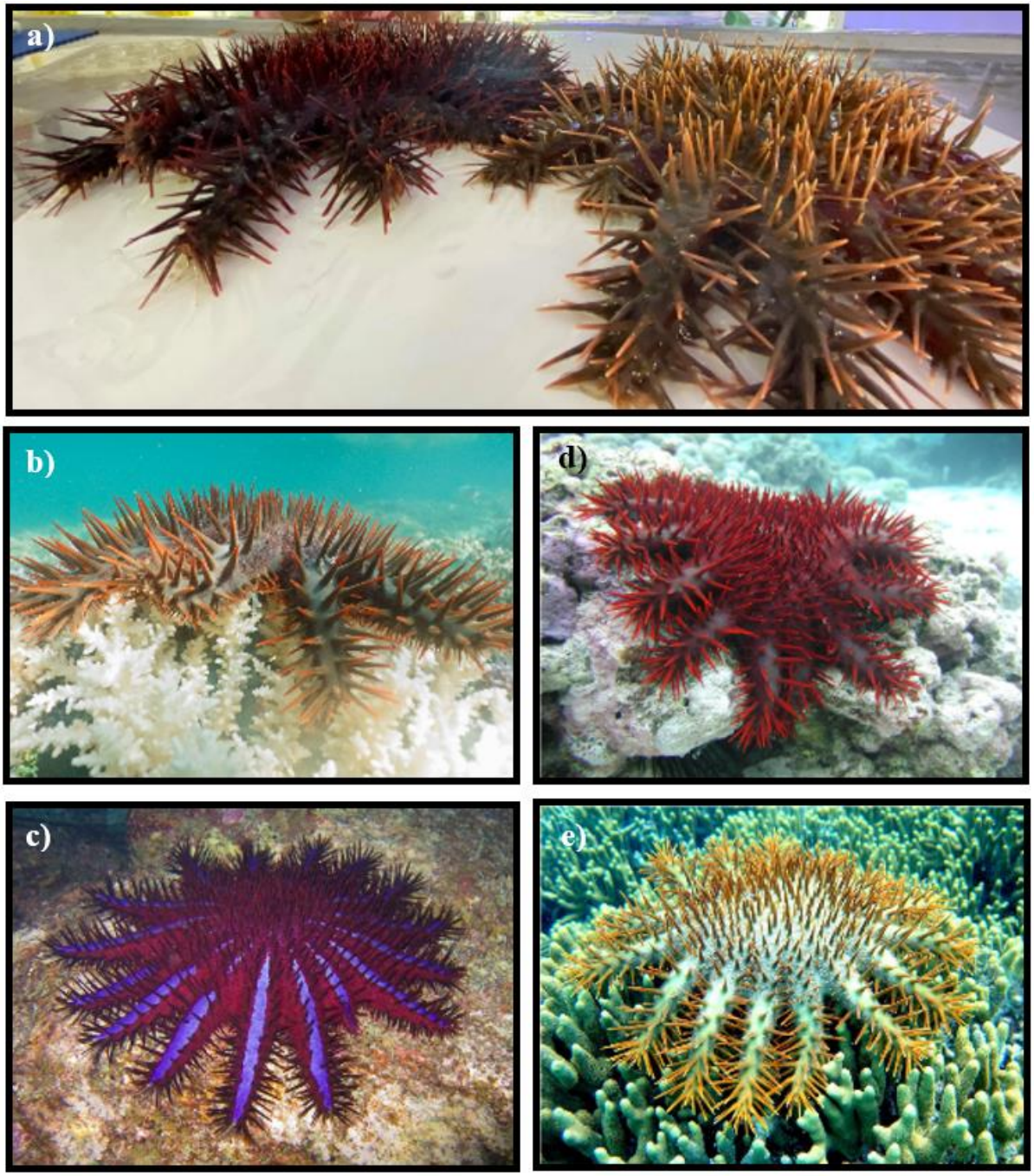


Figure 1-6. Photographies d'acanthasters issues a) d'une même zone (© T. Hue) et b) c) d) de zones différentes (© P. Dumas ; © K.M. Krister ; © J. H. Flickr ; © Aquaportail.com).

Les acanthasters sont naturellement présentes sur les récifs coralliens des régions tropicales, allant de la mer rouge jusqu'à la zone Indopacifique (Fig. 1.7). Un débat perdure au sein de la communauté scientifique quant aux espèces à inclure dans le genre *Acanthaster* - et quelle serait l'espèce apparentée la plus proche d'*Acanthaster planci* : *A. ellisi* ou *A. brevispinus*. Ces deux dernières ont reçu beaucoup moins d'attention qu'*A. planci* car elles causent bien moins de ravages sur les récifs coralliens. De plus, le fait que ces trois espèces puissent s'hybrider entre elles rend la tâche des taxonomistes

difficile. Des études supplémentaires sur *A. planci* ont révélé différentes fréquences alléliques, montrant au moins deux espèces distinctes (Benzie, 1999). Récemment, l'espèce que l'on connaissait jusque-là sous le nom d'*Acanthaster planci* a été subdivisée en quatre espèces, chacune appartenant à une région distincte de leurs zones de répartition (Haszprunar et al., 2017 ; Vogler et al., 2013, 2008). Désormais, le nom d'*Acanthaster planci* est attribué à l'espèce présente dans la partie nord de l'Océan Indien, tandis que l'espèce présente dans la partie sud de l'Océan Indien est *A. mauritiensis* (Fig. 1.7). Les deux autres espèces nécessitent encore du travail de taxonomie mais le nom d'*Acanthaster solaris* a été proposé pour l'espèce du Pacifique alors que l'espèce de la Mer Rouge n'a pas encore été nommée (Haszprunar et al., 2017). Il semblerait que ces quatre espèces n'aient pas toutes les mêmes capacités à créer des infestations (Vogler et al., 2008).

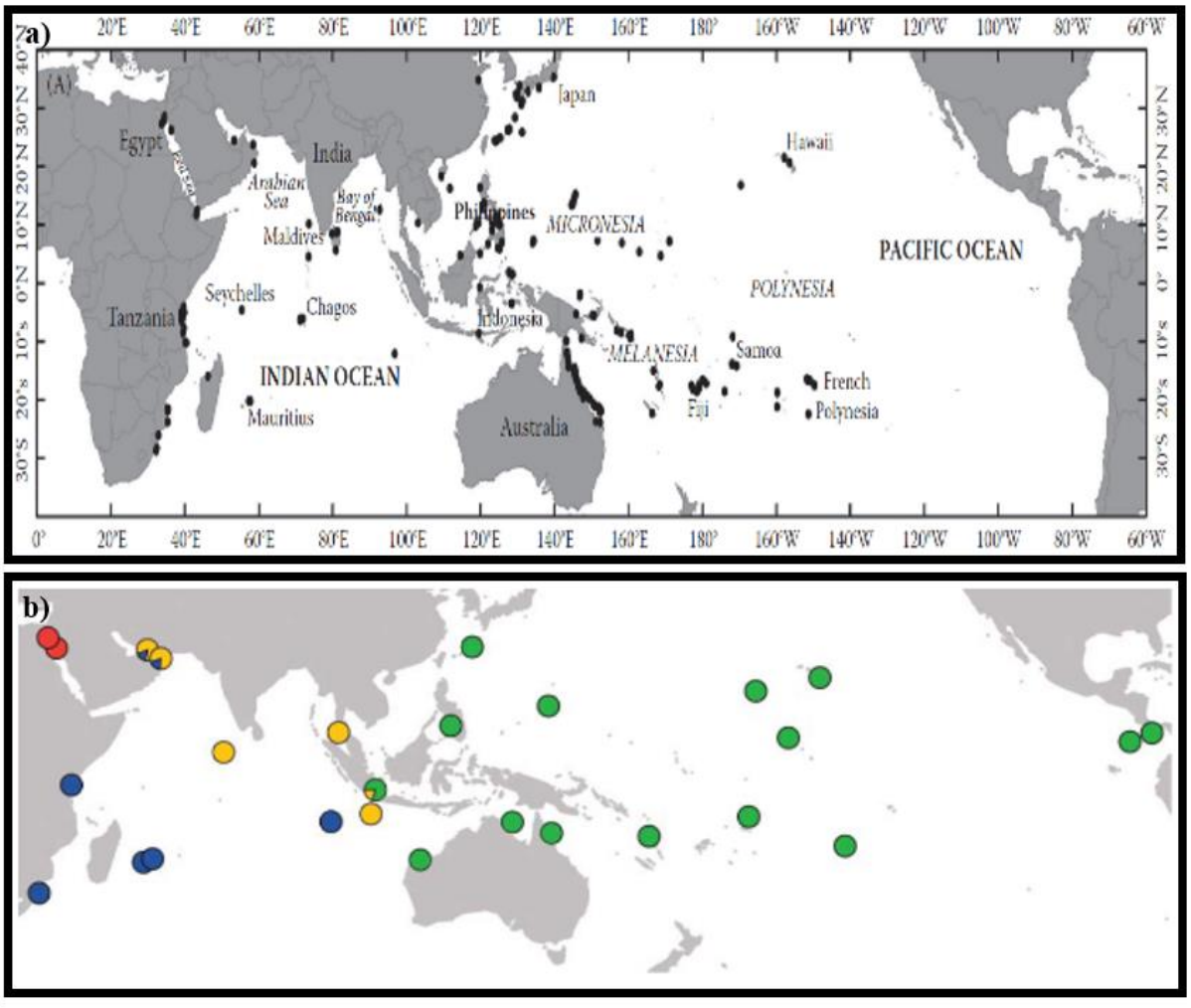


Figure 1-7. a) carte montrant la répartition d'*Acanthaster* sp. (issue de Pratchett et al. 2014) et b) carte montrant les différentes espèces d'acanthasters : *A. planci* (jaune), *A. mauritiensis* (bleu), *A. solaris* proposé (vert) et la dernière n'est pas encore nommée (rouge ; issue de Vogler et al., 2008).

Les acanthasters vivent dans les eaux peu profondes (0-65 m) dans des zones peu agitées, souvent sur ou près des récifs coralliens (Birkeland et Lucas, 1990). Elles sont corallivores au stade

adulte (Moran, 1990). Les acanthasters dévaginent leur estomac sur les coraux et vont ainsi en digérer les polypes, laissant seulement le squelette calcaire (Fig. 1.8). Les acanthasters ne sont pas les seuls organismes qui se nourrissent de coraux, mais ce sont les plus voraces (Glynn, 1988 ; Rotjan et Lewis, 2008). Elles sont en effet très bien adaptées à digérer de grandes quantités de corail car elles ont un estomac bien plus large que d'autres espèces d'étoile de mer de taille comparable (exemple *Culcita novaeguinae*) ce qui leur permet de consommer le corail deux à cinq fois plus rapidement (Fig. 1.8 ; Birkeland, 1989). Ainsi, une acanthaster adulte de taille moyenne (30-35 cm) peut consommer de 155 à 234 cm^2 de corail par jour (Keesing et Lucas, 1992). Elles ont un rôle écologique important puisqu'elles se nourrissent préférentiellement des coraux à croissance rapide tels que les *Acropora* spp. , *Montipora* spp. et *Pocillopora* spp., laissant ainsi une niche écologique pour les coraux à croissance plus lente tels que les *Porites* spp. (De'ath et Moran, 1998 ; Pratchett, 2007). En temps normal, les acanthasters sont cryptiques et se nourrissent la nuit, du moins quand elles sont en faible densité. En revanche, pendant les infestations, elles se nourrissent aussi la journée, probablement poussées par la compétition pour la nourriture (Gigou, 2011). De la même façon, alors que ce sont des animaux normalement solitaires, elles se regroupent durant les infestations en front pouvant atteindre plusieurs milliers d'individus (83 000 observés au Sud de Tutuila dans les Samoa ; Birkeland, 1982). Des observations sur le terrain et en laboratoire ont montré qu'il était possible de maintenir des acanthasters en élevage avec des sources de nourriture alternatives au corail, telles que des mollusques (Ayukai et al., 1996 ; Lucas, 1984), du poisson ou même des végétaux (ex. brocolis, données non publiées; Fig. 1.8).

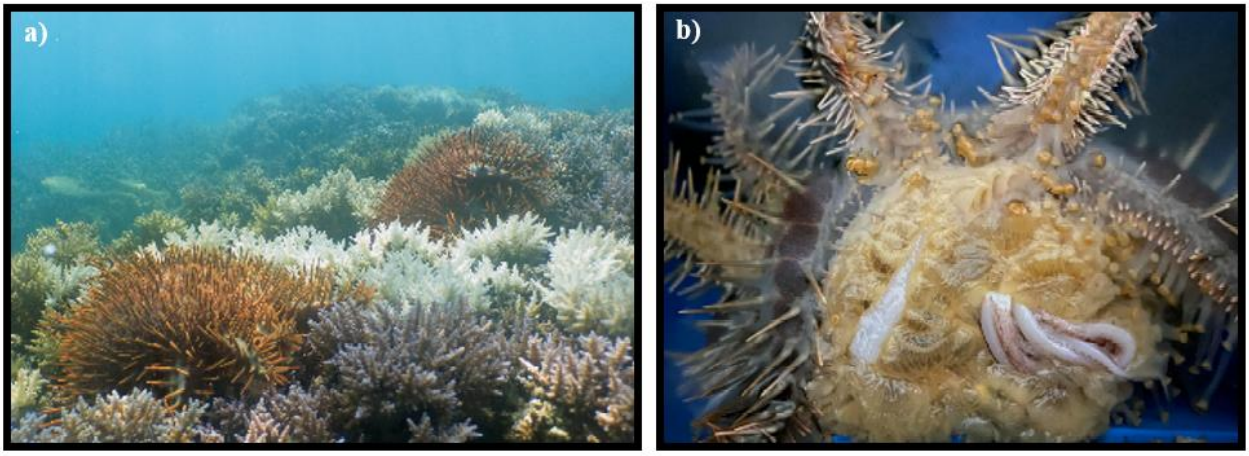


Figure 1-8. Photographies montrant a) deux acanthasters en train de se nourrir de corail dans le lagon calédonien et b) une acanthaster en face ventrale avec l'estomac en partie visible, en train de manger un morceau de seiche (© T. Hue).

3.1.2 Reproduction : fécondité et ponte

Les acanthasters sont des espèces dioïques et gonochoriques, c'est-à-dire que les sexes sont séparés et qu'il n'y a pas de changements au cours de la vie d'un individu (Babcock et al., 1994 ; Yamaguchi,

1973). Il n'est pas possible de déterminer le sexe d'un individu en utilisant des critères morphologiques externes. Pour les sexer, il faut récupérer du matériel gonadique à l'intérieur de l'animal à l'aide d'une seringue hypodermique ou en pratiquant une incision, puis observer les gonades au microscope (Caballes et Pratchett, 2014 ; Fig. 1.9).



Figure 1-9. Photographie de l'intérieur d'une acanthaster après avoir disséqué la peau de la face aborale montrant les gonades (g), l'hépato-pancréas (pc) et enfin l'estomac et le système cardiaque (cs) (issue de Pratchett et al., 2014).

Une des particularités les plus importantes des acanthasters est leur exceptionnelle capacité de reproduction (Endean, 1982). En effet, une femelle adulte pourrait produire de 65 à 200 millions d'œufs par an une fois la maturité sexuelle atteinte, qui est estimée à environ 2 ans (Conand, 1983 ; Kettle et Lucas, 1987). Ces études ont aussi démontré que la fécondité des animaux augmente avec leur taille. Avec de telles quantités de gonades produites, elle est considérée comme l'espèce d'échinoderme avec le plus haut potentiel de reproduction au monde (Babcock et al., 2016). Comme les autres espèces d'étoiles de mer en général, les gamètes d'acanthasters sont produits lors d'un cycle annuel (Mita et al., 2016) organisé en trois stades majeurs : l'accumulation de nutriments, la différenciation des cellules gonadiques et enfin leur différenciation en gamètes ; on observe ensuite une phase de réabsorption des résidus de gamètes (Mercier et Hamel, 2009). La gamétogenèse est régulée par des facteurs intrinsèques (âge, taille, nutrition) ainsi que des facteurs extrinsèques (température, photopériode, disponibilité en nourriture ; pour revue, voir Mercier et Hamel, 2009). Les facteurs de déclenchement de la ponte ont été largement étudiés : la température principalement (Lucas, 1973 ; Pratchett et al., 2014) mais aussi les effets des marées, des phases lunaires, du pH et de la salinité (Babcock et Mundy, 1992). A ce jour, aucun consensus sur les facteurs de déclenchement de la ponte n'existe, bien que la majorité des études

fassent ressortir la prépondérance de la température (Caballes et Pratchett, 2014 ; Pratchett et al., 2014, 2017). Une communication hormonale entre individus prêts à pondre a aussi souvent été proposée comme facteur déclencheur, en combinaison avec la température (Caballes et al., 2017 ; Caballes et Pratchett, 2014). En effet, les acanthasters utilisent une communication hormonale pour s'agréger en groupes de forte densité, et ainsi augmenter les chances de fertilisation (Beach et al., 1975). Lors de la ponte, les acanthasters vont adopter une position particulière où elles vont s'arquer en haut des coraux et relâcher une grande quantité de gamètes dans l'eau (Babcock, 1990; Fig. 1. 10). Il a été montré que les taux de fertilisation augmentent à mesure que la distance entre les animaux diminue (Moran, 1990) mais resteraient néanmoins élevés jusqu'à une distance de huit mètres entre les mâles et femelles (Babcock et Mundy, 1992 ; Moran, 1990). Le taux de fertilisation atteindrait quasiment 6% avec un seul male situé à 100 mètres de distance, ce qui constitue probablement un record chez les organismes marins (Babcock et al., 1994).

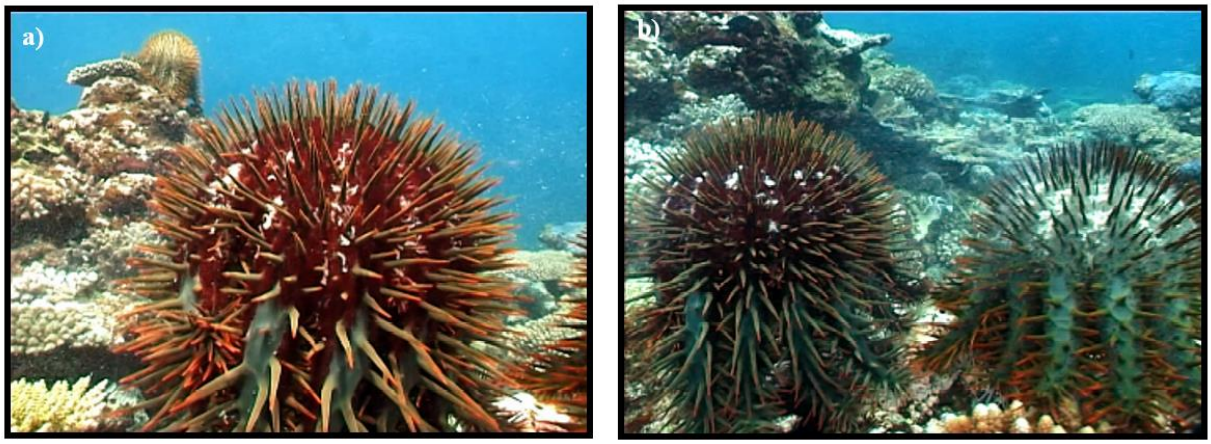


Figure 1-10. Photographies d'acanthasters lors de la ponte (© J.-M. Boré, IRD).

3.1.3 Larves et développement ontogénique

L'ensemble de la phase larvaire des acanthasters est pélagique, c'est-à-dire qu'elle se déroule dans la colonne d'eau. La durée de celle-ci est d'environ 14 jours mais peut durer jusqu'à 2 mois en fonction de la quantité de nourriture disponible pour les larves (Pratchett et al., 2017a).

Une fois que les œufs sont fertilisés, les embryons d'acanthasters vont rapidement subir plusieurs divisions pour se transformer en blastula (8-9 h post-fertilisation) puis en gastrula (+24 h post-fertilisation ; Birkeland et Lucas, 1990 ; Lucas, 1982). Ces embryons vont dériver sur des distances potentiellement longues pendant leur croissance, ce qui facilite la dispersion des individus mais complique l'étude de la dynamique des populations. La gastrula va ensuite éclore et se transformer en bipinnaria, qui va d'abord se développer à partir des ressources issues des réserves vitellines des œufs (Fig. 1.11). Aux environs du 3ème jour après la fertilisation, la jeune larve aura un canal alimentaire

complétement développé et pourra commencer à se nourrir en filtrant des micro-algues ainsi que des particules unicellulaires présentes dans la colonne d'eau (Yamaguchi, 1973). Au stade bipinnaria, les larves possèdent deux paires de bandes ciliées (pré- et post-orales) aussi appelés « bras de bipinnaria » qui leurs permettent de nager et de se nourrir. La larve évolue ensuite en brachiolaria, stade au cours duquel ses « bras de brachiolaria » vont de développer (Fig. 1.11). Une fois ce stade atteint, la larve va nager la tête en bas et se servir de ces bras de brachiolaria pour trouver un substrat favorable auquel elle va se fixer avec son disque d'attachement, avant d'entamer la métamorphose et le passage à un mode de vie benthique (Henderson et Lucas, 1971).

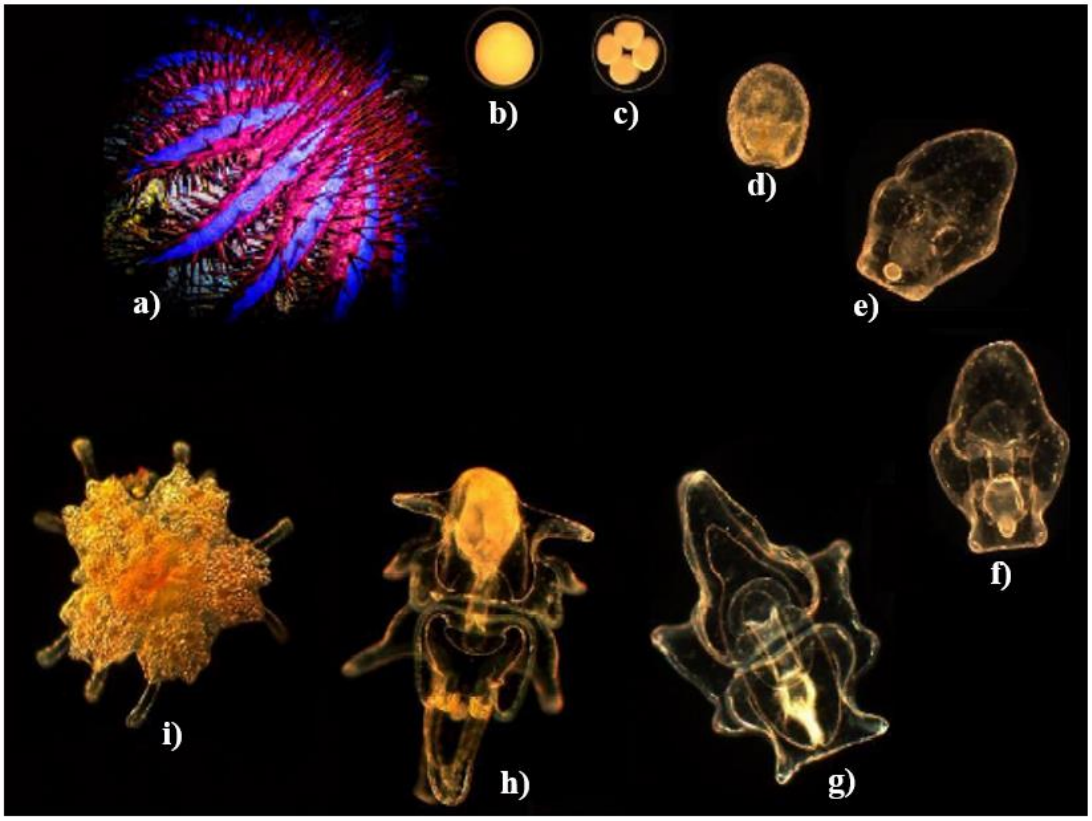


Figure 1-11. Cycle de vie d'*Acanthaster* sp. : a) adulte b) œuf fertilisé, c) embryon au stage des quatre divisions d) gastrula e) jeune bipinnaria f) bipinnaria intermédiaire g) bipinnaria avancée h) brachiolaria avancée i) juvénile (Adapté de S. Uthicke, AIMS).

3.1.4 Recrutement, métamorphose et juvéniles

Les larves compétentes (à partir du 12ème jour) se fixent préférentiellement sur un substrat d'algues calcaires encroûtantes (« *Crustose Coraline Algae* » en anglais, appartenant à l'ordre des corallinales; Lucas, 1984; Zann et al., 1987), fréquemment rencontrées dans les zones d'accumulation de débris de corail mort (Pratchett et al., 2017a). C'est le début de la phase benthique durant laquelle la larve va recruter puis se métamorphoser pour devenir une étoile de mer juvénile (Fig. 1.12). Durant la métamorphose, les derniers stades larvaires compétents (~0,8-1 mm) se transforment et absorbent la

partie antérieure du corps dans le primordium (Fig. 1.12 ; Yamaguchi, 1974). Cette transformation dure environ 2 jours et aboutit à la formation d'une petite étoile de mer juvénile à cinq bras, mesurant entre 0,3 et 0,7 mm (Fig. 1.13). On observe une mortalité très importante lors du passage de la phase pélagique à la phase benthique, dont les raisons ne sont pas encore totalement élucidées. Une prédation importante par l'épifaune a d'abord été suggérée, mais des études ont ensuite montré que jusqu'à 85% des larves compétentes mourraient et ne se transformeraient pas en juvéniles sur des substrats nettoyés de toute épifaune (Keesing et Halford, 1992). A ce stade, les larves sont cryptiques et vont se fixer préférentiellement dans les interstices de coraux morts, où elles seront protégées des prédateurs. Pendant cette période où elles se nourrissent d'algues corallines, leur croissance est lente (1,5-2,6 mm par mois ; Yamaguchi, 1974). Après 3 semaines, des bras supplémentaires vont pousser à 2 semaines d'intervalles et leur corps va acquérir une teinte rose, proche de celle des algues corallines, probablement pour mieux se camoufler (Birkeland et Lucas, 1990).

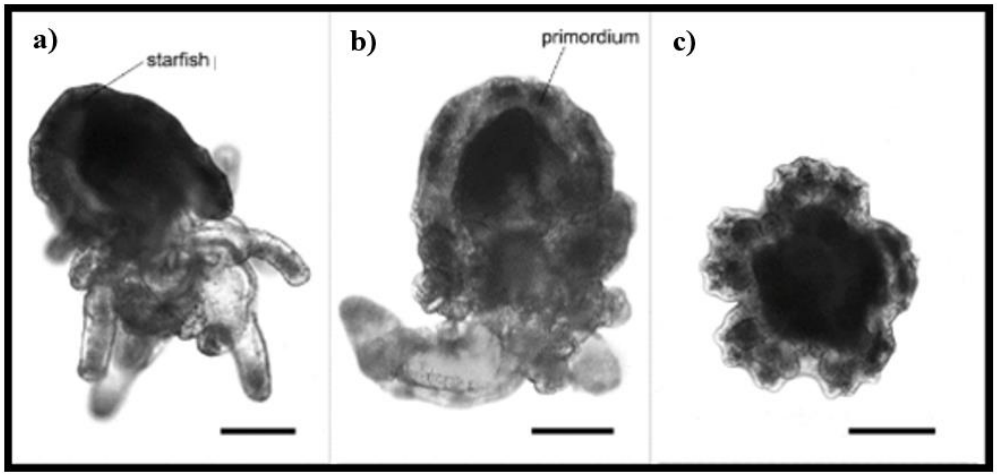


Figure 1-12. Photographies montrant la métamorphose d'*Acanthaster* sp. a) dernier stade larvaire nageant la tête en bas à la recherche d'un substrat adapté pour recruter b) la métamorphose commence par l'absorption du corps de la larve par son primordium c) étoile de mer juvénile à 5 bras 24h après la métamorphose. Echelle = 0,2 mm (Adapté de Caballes et Pratchett, 2014 ; © C. F. Caballes).

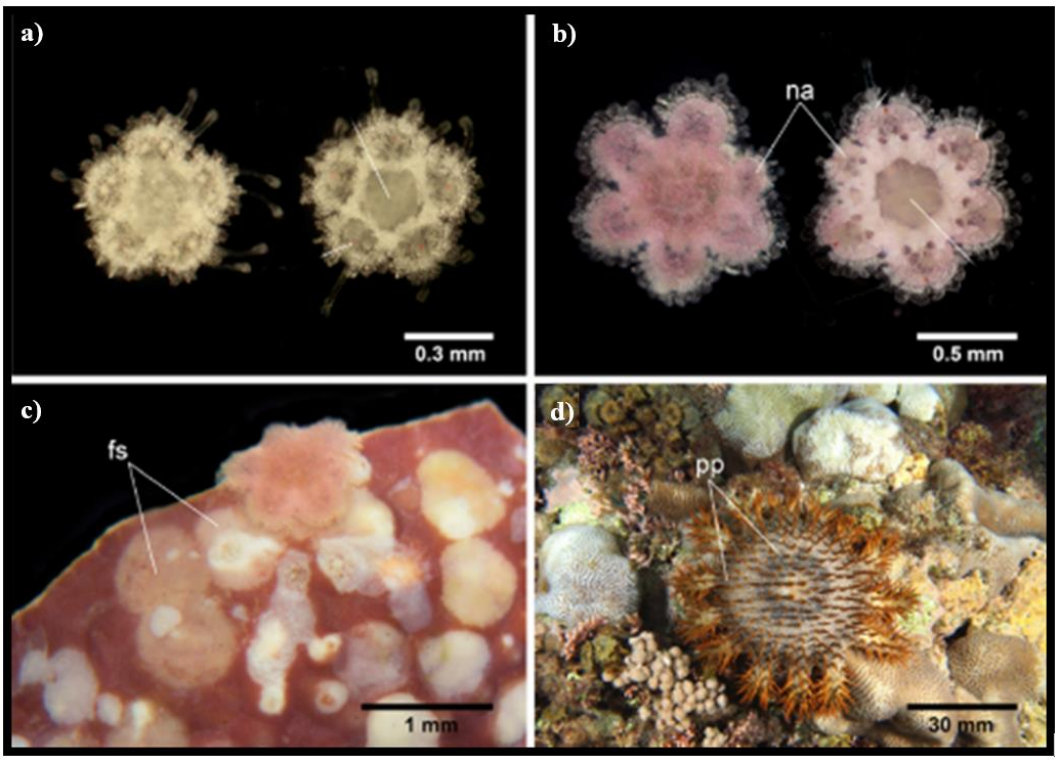


Figure 1-13. Photographies montrant les différents stages juvéniles d'*Acanthaster* sp. a) 1 semaine après la métamorphose b) 4 semaines après la métamorphose, commençant à avoir des bras supplémentaires (na) c) 6 semaines après la métamorphose, se nourrissant d'algue coralline et laissant des cicatrices alimentaires (fs) d) juvénile ayant commencé à se nourrir de corail (pp : papilles) (Adapté de Caballes et Pratchett, 2014 ; © C. F. Caballes).

3.1.5 Croissance et longévité

Les jeunes juvéniles acanthasters vont changer de régime alimentaire aux alentours de 4 à 6 mois pour se nourrir de coraux scléractiniaires (Yamaguchi, 1974 ; Zann et al., 1987). C'est à ce moment-là que leur croissance va devenir plus rapide, atteignant un maximum de 16.7-25.0 mm par mois, 5 à 18 mois après avoir commencé à se nourrir de corail (Birkeland et Lucas, 1990). Les acanthasters commenceraient à devenir mature sexuellement à partir de 24 mois quand elles atteignent entre 15 et 20 cm de diamètre (Zann et al., 1987). La croissance et la longévité des acanthasters sont extrêmement plastiques puisqu'elles dépendent de conditions environnementales locales telles que la disponibilité en nourriture, mais aussi la température et l'exposition aux vagues (Kenchington, 1977; Lucas, 1984). Pour ces raisons, il est encore difficile de trancher entre une croissance déterminée (asymptotique) ou indéterminée (Moran, 1986). Lucas (1984) avait d'abord argumenté que les acanthasters grandissaient jusqu'à environ 340 mm à 3 ans avant d'entrer dans une phase de sénescence, pour une longévité totale n'excédant pas 4-5 ans. Ces estimations ont été réévaluées avec la découverte d'acanthasters mesurant plus de 75 cm, ou de spécimens dont l'âge était estimé à plus de 8 ans (Endean et Cameron, 1990 ; Stump, 1996). Les acanthasters pourraient adopter deux modes de vie différents en fonction des

conditions environnementales. En cas de nourriture abondante et forte densité de populations (voir partie suivante sur les infestations), les animaux ne grandiraient pas au-delà de 25-30 cm mais leur maturité sexuelle arriverait très tôt (autour d'un an), permettant une reproduction rapide (Stump, 1994). Au contraire, les animaux isolés grandiraient plus longtemps jusqu'à atteindre des tailles plus importantes (jusqu'à 80 cm observés ; Stump, 1994), et atteindraient leur maturité sexuelle aux alentours de 3 ans avec une longévité accrue (jusqu'à ~10 ans, parfois plus), augmentant ainsi leur potentiel reproducteur (Pratchett et al., 2017 ; Stump, 1992).

3.2 Les infestations d'acanthasters

3.2.1 Définitions

Les acanthasters sont naturellement présentes à de faibles densités (0,1-10 individus par hectare) sur les récifs tropicaux de la zone Indopacifique allant de la Mer Rouge jusqu'au Panama (Endean, 1974 ; Glynn, 1973 ; Goreau, 1964 ; Keesing, 1990). Pour des raisons qui sont encore débattues, des phénomènes d'infestations se produisent, au cours desquels les densités vont très fortement augmenter, atteignant par exemple plusieurs dizaines de milliers d'individus par hectare (Buttin, 2018 ; Dumas et al., 2020 ; Fig. 1.14). Ces phénomènes d'infestations d'acanthasters, aussi appelés explosions démographiques, pullulations ou *outbreaks* représentent l'une des menaces les plus importantes pour les récifs coralliens de la zone Indopacifique (Baird et al., 2013 ; Bruno et Selig, 2007 ; Kayal et al., 2012 ; Leray et al., 2012). Ce concept d'infestation est apparu après des observations effectuées sur les récifs coralliens des îles Ryukyus situées au sud du Japon (Yamazato 1969 dans Yamaguchi, 1986) et de la Grande Barrière de Corail australienne (Pearson et Endean, 1969). Depuis, près de 330 infestations ont été reportées (Pratchett et al., 2014), soulevant ainsi la question d'une définition claire de ce que représentait une infestation. Une définition simplifiée a été proposée par Potts (1981) : « une agrégation importante de plusieurs centaines ou milliers d'individus qui persistent à forte densité pendant des mois ou des années et causent de fortes mortalités des coraux sur de grandes étendues de récif ». Cette définition englobe à la fois des aspects biologiques et des aspects écologiques mais ne propose pas de déterminants quantitatifs, ce qui pose un problème pour déterminer l'occurrence ou non d'une infestation. De plus, à mesure que le phénomène a été étudié, les définitions se sont multipliées (Fernandes et al., 1999 ; Tableau 1.1).



Figure 1-14. Photographie d'acanthasters en situation d'infestation près de l'îlot Rédika dans le lagon Sud-Ouest de la Nouvelle-Calédonie en 2018 (© T. Hue).

Tableau 1-1. Récapitulatif de différents critères utilisés pour qualifier une population d'acanthasters en infestation (adapté de Pratchett et al., 2014).

Seuil de densité pour passer au stade d'infestation	***Références***
30 à 40 individus par km^2	Clark et Weitzman, 2006
14 individus par 1 000 m^2	Endean et Stablum, 1975
40 individus par 20 min de nage	Pearson et Endean, 1969
100 individus par 20 min de *manta tow*	Chesher, 1969
10 individus par vérification d'un endroit pendant 1 min	Pearson et Garrett, 1976
30 à 50 individus en 20 min	Faure, 1989
1 individu par 24 m^2	Pearson et Endean, 1969
100 individus par hectare	Dana et al., 1972
260 individus par hectare	Glynn, 1973
150 cicatrices de nourrissage sur les coraux par 250 m^2	Lison de Loma et al., 2006
>1 500 individus par km^2 (ou 15 individus par hectare ou 0,22 individus par 2 min de *manta tow*)	Moran et De'ath, 1992
>1 000 individus par km^2	Keesing, 1990

Une telle multiplication de seuils ne résout pas nécessairement la question, ces études utilisant des approches conceptuelles et méthodologiques potentiellement différentes. Moran et De'ath (1992) ont proposé une définition opérationnelle d'une infestation en évaluant la densité d'acanthaster à partir de laquelle la destruction du récif était plus rapide que sa régénération. Cette densité proposée serait de 1 500 individus par km^2, ce qui correspond à 15 individus par hectare ou encore 0,22 individu détecté en 2 min par *manta tow*. D'après les estimations de Moran et De'ath (1992), ces seuils ont été proposés

comme étant le maximum d'acanthasters qu'un récif en bonne santé pourrait supporter. Néanmoins, ces résultats ne sont pas totalement extrapolables en-dehors de la grande barrière australienne, et nécessitent en théorie la réalisation de suivis à long terme, difficiles à réaliser en pratique. Obtenir des estimations précises et fiables des densités d'acanthasters est délicat, puisqu'il faut systématiquement extrapoler les comptages à partir de répartitions spatiales fortement hétérogènes au niveau des récifs, en particulier lors des infestations (Fernandes et al., 1999). Plus récemment, Dumas et al. (2020) ont proposé pour la Nouvelle-Calédonie une classification des infestations en trois niveaux, basée notamment sur un protocole de suivi simplifié (comptages sur parcours aléatoires par temps de nage) et plutôt destinée au renforcement d'actions de gestion. Ces trois niveaux correspondent à (i) une population hors infestation avec des densités <15 individus/hectare (Clark et Weitzman, 2006 ; Endean, 1974 ; Keesing, 1990) soit 0 ou 1 acanthaster repérée en 10 minutes de nage ; (ii) une population qui pourrait potentiellement être en infestation quand les densités sont comprises entre 15 et 100 individus/hectare (Dana et al., 1972 ; Keesing et Lucas, 1992 ; Moran et De'ath, 1992) soit 2-5 individus repérés en 10 minutes ; (iii) une population au stade d'infestation confirmée, quand les densités sont supérieures à 100 individus/hectare (Endean et Stablum, 1975 ; Glynn, 1973 ; Pearson et Endean, 1969) soit >5 individus comptés en 10 minutes de nage.

3.2.2 Infestation primaire vs secondaire et historique pré/post 1990

Les infestations d'acanthasters peuvent se produire de deux façons différentes, qualifiées d'infestation primaire ou secondaire (Potts, 1981). Il est capital de faire la distinction entre les deux pour tenter de comprendre les causes de celles-ci (Fabricius et al., 2010 ; Pratchett, 2005). Une infestation primaire correspond à une accumulation soutenue mais progressive du nombre d'individus qui va à terme atteindre le seuil d'infestation (Endean, 1974; Tableau 1.3). Le réseau de surveillance mis en place pour la Grande Barrière de Corail dans les années 1990 a permis de proposer un exemple très concret d'une infestation « primaire » sur le récif de Lizard Island, où le nombre d'acanthasters observées a augmenté progressivement d'octobre 1994 à décembre 1996 jusqu'à atteindre le seuil qualificatif d'infestation en 1996 (Pratchett, 2005 ; Stump, 1996 ; Sweatman et al., 1998). Au moment du pic de densité, il y avait un écart très important dans les tailles des individus (110-620 mm), un critère associé aux infestations primaires (une structure de taille de population hétérogène). Des signes de recrutement successif avaient été observés de 1992 à 1997, pouvant expliquer l'augmentation de la population avec des descendants grandissant sur place. Ces infestations « primaires » peuvent donner lieu à des phénomènes de ponte massifs engendrant de très grandes quantités de larves, qui établiront des infestations qualifiées de « secondaires » sur les récifs avoisinants (Endean, 1974). Durant celles-ci, la structure de taille de la population sera généralement homogène, puisque tous les individus appartiennent à la même cohorte, à l'exception des individus potentiellement déjà présents sur place (Zann et al., 1987). Ces phénomènes

ont surtout été reportés autour de la Grande Barrière de Corail ainsi qu'au sud du Japon, caractérisé par la présence de nombreux récifs interconnectés (Kenchington, 1977 ; Potts, 1981 ; Yasuda et al., 2009). Avant 1990, 82 infestations ont été reportées, et 246 depuis soit trois fois plus (Birkeland et Lucas, 1990 ; Pratchett et al., 2014). En dépit de ces chiffres, il reste difficile de déterminer s'il y a une réelle augmentation du nombre d'infestations, ou s'il ne s'agit que d'un artefact d'observation lié à l'augmentation des efforts de suivi de ces phénomènes (Baird et al., 2013).

3.2.3 Dégâts causés par les infestations

A des densités « faibles », quand elles ne sont pas en infestation (<15 individus/hectare), les acanthasters ont un impact négligeable sur les récifs coralliens (Zann et al., 1990). A l'inverse, en situation d'infestation, ces populations peuvent décimer un récif corallien entier. Un des exemples les plus frappants à ce jour s'est déroulé à Guam, où des densités supérieures à 1 000 individus par hectare ont été détectées pendant plus de 2 ans et demi, et ont détruit > 90% des coraux scléractiniaires de 1 à 68 mètres de profondeur sur 38 km de côte (Chesher, 1969). Un autre exemple concerne la Polynésie Française, où de fortes densités d'acanthasters (>1 500 individus/hectare) ont détruit plus de 96% de la couverture corallienne autour de l'ile de Moorea (Fig. 1.15 ; Kayal et al., 2012). Enfin, l'exemple le plus célèbre se trouve en Australie avec la Grande Barrière de Corail, le plus grand récif corallien continu du monde (environ 2 300 km de linéaire pour une superficie totale de 344 000 km²). Une synthèse récente suggère que la couverture corallienne aurait été réduite de moitié (50,7%) ces 3 derniers décennies ; les acanthasters à elles seules seraient responsables de quasiment la moitié de ce déclin (21%), avec les cyclones tropicaux (24%) et le blanchissement corallien (5% ; De'Ath et al., 2012).

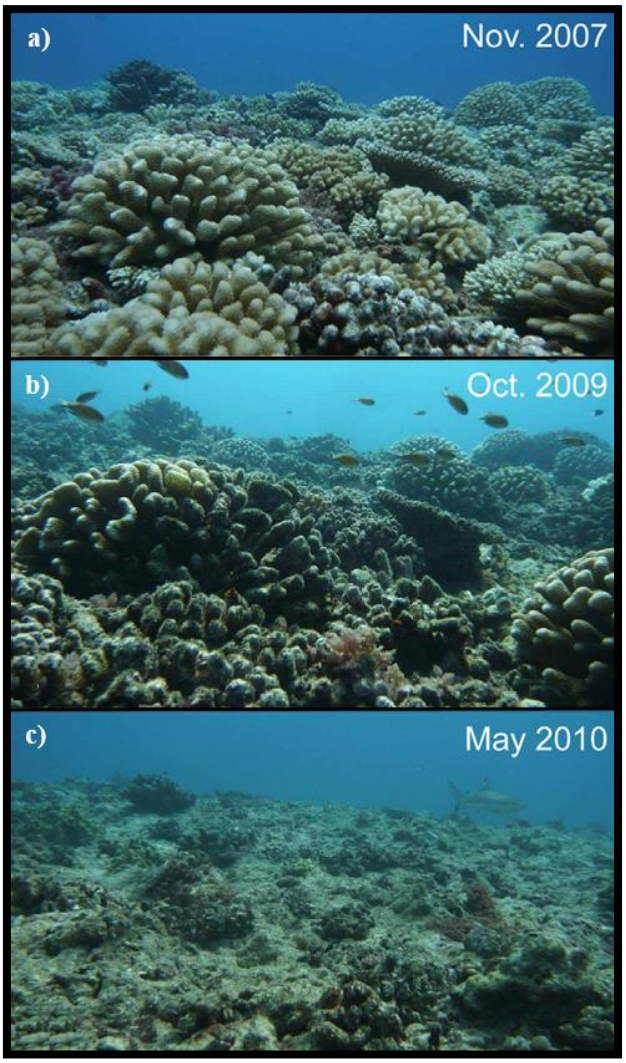


Figure 1-15. Photographies du récif extérieur de Moorea en Polynésie française au cours du temps : a) le corail domine le récif qui est en bonne santé (couverture corallienne > 40%) b) les algues ont colonisé les squelettes de corail mort à la suite de sévère prédation par les acanthasters (couverture corallienne <10%) c) majorité de squelette de corail mort ou affaibli balayés par un cyclone à la fin de l'infestation d'acanthasters – les algues colonisent encore et dominent le récif dévasté (~5% de couverture corallienne ; Kayal et al., 2012).

En plus des effets directs sur les coraux, les infestations ont aussi des effets indirects. Les préférences alimentaires des acanthasters notamment sur les coraux du genre *Acropora* vont entrainer un déclin préférentiel de ce genre, à l'origine de modifications potentiellement significatives de la structure et du fonctionnement des assemblages coralliens (Kayal et al., 2012 ; Leray et al., 2012 ; Pratchett et al., 2014 ; Wilson et al., 2006). Ces modifications vont avoir des effets en cascade sur les espèces dépendantes des coraux, par exemple une augmentation ultérieure de l'abondance des coraux mous (Endean, 1971), des algues (Belk et Belk, 1975 ; Larkum, 1988), des oursins (Keesing, 1992) et des espèces de poissons herbivores (Endean et Stablum, 1973) associée à une diminution de l'abondance des poissons dépendants des coraux et de certains invertébrés mobiles (Garlovsky et Bergquist, 1970 ; Munday et al., 1997). Ces effets sont d'autant plus importants pour les espèces de poissons qui

dépendent directement des coraux, pour se nourrir ou comme habitat (Pratchett et al., 2012 ; Williams, 1986). Au Japon, Sano et al., (1987) ont montré une chute de 65% des espèces de poissons près d'un récif corallien ayant subi une infestation d'acanthasters, en comparaison avec un récif voisin qui n'avait pas subi d'infestation. Il a aussi été montré que certaines espèces phytophages seront favorisées car les algues vont pousser sur le corail mort alors que les espèces corallivores disparaitront (Conand, 1983). C'est notamment le cas des oursins *Echinometra mathaei* qui vont profiter de l'augmentation en disponibilité d'algues pour proliférer (Belk et Belk, 1975 ; Keesing, 1992).

3.3 Facteur(s) naturels et anthropiques à l'origine des infestations

Pour expliquer les infestations d'acanthasters, de nombreuses théories ont été proposées et cette question est toujours largement débattue à ce jour (pour revue, voir Birkeland et Lucas, 1990 ; Moran, 1986 ; Pratchett et al., 2014). Ces théories peuvent généralement être classées en deux grandes familles selon qu'elles postulent que les infestations d'acanthasters sont dues à des phénomènes naturels ou anthropiques (pour revue, voir Engelhardt et Lassig, 1992).

D'un côté, il a été proposé que les infestations soient des phénomènes naturels qui seraient dus aux fluctuations environnementales (température, salinité) qui augmenteraient la survie larvaire de cette espèce aux capacités de reproduction exceptionnelles (Potts, 1981 ; Vine, 1973). Cette hypothèse suggère que les infestations d'acanthasters sont présentes depuis des millénaires, et que l'augmentation des infestations décrites serait en réalité due à une augmentation des plongeurs qui recherchent des acanthasters plus qu'à une augmentation de leur nombre. L'hypothèse s'appuie notamment sur des preuves géologiques d'épines retrouvées dans les carottes de sédiments prés de récifs de la Grande Barrière de Corail (Walbran et al., 1989b, 1989a). Cette hypothèse s'appuie aussi sur des cicatrices alimentaires laissées par les acanthasters sur les coraux pour montrer qu'il y a des preuves historiques d'infestations. Néanmoins, la présence d'épines dans les carottes sédimentaires a été contesté en raison de difficulté expérimentale (Fabricius et Fabricius, 1992 ; Keesing et al., 1992) et la fréquence d'apparition des cicatrices alimentaires a largement augmenté ce dernier demi-siècle par rapport aux décennies passées (DeVantier et Done, 2007). De plus, d'autres données soulèvent des doutes sur les capacités de régénération des récifs coralliens sur de longues périodes face à l'intensité et la fréquence des infestations actuelles. En effet, il semblerait que la récupération complète d'un récif pourrait prendre plusieurs décennies (voir plusieurs siècles pour des grandes colonies coralliennes) ce qui ne semble pas être suffisant pour pallier à une infestation tous les 15 ans, fréquence à laquelle les infestations sont détectées en ce moment sur la Grande Barrière de Corail (Brodie et al., 2005). Toutes ces conclusions amènent à penser que les infestations se produisent plus régulièrement ces dernières décennies et rendent donc impossible l'exclusion des paramètres d'origine anthropique pour expliquer cela.

La seconde grande famille d'hypothèses propose que les causes des infestations soient essentiellement d'origine anthropique à travers des changements de l'environnement des acanthasters. De la découlent plusieurs théories qui concernent soit les processus pré-installation atteints : la théorie du recrutement larvaire et la théorie du lessivage des terres qui postule qu'un enrichissement des eaux en nutriments augmenterait la croissance et la survie des larves (Birkeland, 1982 ; Lucas, 1973) ; soit les processus post-installation à travers des changements de comportement ou de survie des individus post-recrutement (théorie de l'enlèvement des prédateurs et théorie d'agrégation des adultes (Dana et al., 1972 ; Endean, 1977, 1969). A ce jour, aucune de ces théories n'a fait consensus au sein de la communauté scientifique et ce malgré de nombreuses études et revues (Pratchett et al., 2014, 2017a). Il est probable qu'une seule de ces théories ne soit pas suffisante pour expliquer l'apparition des infestations (pour revue, voir Birkeland et Lucas, 1990). Etant données les caractéristiques des acanthasters (fécondité très importante, développement et survie des larves sensibles aux variations environnementales), il serait presque plus difficile d'expliquer les faibles densités d'acanthasters que les infestations (Endean et Cameron, 1990). En effet, sur n'importe quel récif, il serait théoriquement possible qu'une population d'acanthasters atteigne le seuil d'infestation à la suite de conditions favorables pour leurs succès reproductif. Ce n'est pas le cas en réalité, car certains récifs n'ont jamais été sujets à des infestations malgré la présence d'acanthasters. Moore (1990) a suggéré que les caractéristiques clefs de ces récifs étaient une couverture corallienne faible et fragmentée obligeant les animaux à être dispersés, des conditions hydrodynamiques ne favorisant pas la dispersion des larves et enfin une densité de prédateurs élevée.

3.3.1 Hypothèse de la réduction des prédateurs

Cette hypothèse a été une des premières proposées (Endean, 1969) et postule que les populations d'acanthasters sont naturellement régulées par une prédation importante sur les stades post-recrutement, qui limite le nombre d'individus atteignant l'âge reproducteur (McCallum, 1990, 1987). Une pêche accrue des prédateurs des acanthasters (poissons et gros gastéropodes) entrainerait alors une augmentation du nombre d'animaux reproducteurs, favorisant ainsi les infestations. Les acanthasters adultes semblent souffrir d'assez peu de pression de prédation dû à leur taille importante ainsi qu'à leurs épines venimeuses. Le prédateur principal des acanthasters adultes est le triton géant *Charonia tritonis*, un grand mollusque gastéropode pouvant atteindre jusqu'à 50 cm à l'âge adulte (Fig 1.16). Le triton géant a été largement pêché depuis les années 1950/1960, ce qui semble coïncider avec les détections des premières infestations (Pratchett et al., 2017a). Ces animaux sont très recherchés pour leur large coquille utilisée dans diverses cultures du Pacifique, notamment comme instrument de musique au Japon, comme trompe de guerre aux îles Marquises ou encore comme instrument pour rassembler les habitants en Nouvelle-Calédonie (Fig. 1.17 ; Payri, 2018). Néanmoins, une étude a montré que ces

tritons géants, même dans les densités considérées comme « normales », ne seraient nullement efficaces pour contrôler une population d'acanthasters en infestation (Pearson et Endean, 1969). En effet, cette étude a montré qu'un triton géant ne pouvait consommer que 0,7 acanthaster en une semaine, en raison d'une digestion très lente. Enfin, il a aussi été montré que les acanthasters n'étaient pas les proies préférées des tritons géants et qu'elles réussissaient parfois à s'échapper de leurs attaques et à se régénérer (Moran, 1986).



Figure 1-16. Photographie d'un triton géant *Charonia tritonis* en prédation sur une acanthaster (Issue de Payri et al. 2018 ; © M. Junker).



Figure 1-17. Photographie montrant une utilisation du triton géant, aussi appelée la « toutoute » en Nouvelle-Calédonie, où elle est utilisée pour rassembler ou avertir les habitants d'un village (issue de Payri, 2018 ; © ADCK/CCT/P.A. Pantz).

Plus récemment, d'autres prédateurs d'acanthasters ont été proposés, tels que les poissons-ballons *Arothon hispidus*, les napoléons *Cheilinus undulatus*, les balistes *Balistoides viridescens* et les poissons empereurs de la famille des Lethrinidae (liste des poissons observés en prédation sur des

adultes dans Pratchett et al. 2014). Les poissons de la famille des Lethrinidae (exemple : bec de canne) sont de gros poissons benthiques et carnivores se nourrissant sur et autour des récifs coralliens (Mendonça et al., 2010). La pêche intensive de ces poissons pourrait contribuer à la réduction de la prédation sur les acanthasters au stade adulte. Cela a été appuyé par une autre étude menée sur des îles fidjiennes qui a montré que suivant un gradient d'intensité de pêche, un déclin de 61% des poissons prédateurs était associé avec une multiplication de la densité d'acanthasters par trois (Dulvy et al., 2004). Néanmoins, Mendonça et al. (2010) n'ont pas trouvé de présence d'acanthasters dans les restes stomacaux de poissons carnivores susceptibles de s'en nourrir, réfutant ainsi cette hypothèse, du moins pour la région du golfe d'Oman. En revanche, il est possible que des espèces des familles Lethrinidae et Lutjanidae contribuent à la prédation des acanthaster juvéniles (Ormond et al., 1990). Etant donné que la mortalité des jeunes acanthasters atteint >99% un an après le recrutement, d'autres prédateurs pourraient cibler les juvéniles, par exemple certains invertébrés (Keesing et Halford, 1992 ; Zann et al., 1987). Si c'était le cas, il aurait fallu que ces espèces, non identifiées actuellement, soient largement distribuées et aient souffert d'un déclin massif, une hypothèse difficilement compatible avec les données disponibles à ce jour.

Si la diminution de la prédation sur les adultes et les juvéniles benthiques ne semble pas suffisante pour expliquer les infestations d'acanthasters, il a aussi été suggéré qu'une forte pression de prédation pourrait s'exercer sur les stades pélagiques, allant de la ponte au recrutement (Babcock et al., 1986 ; Cowan et al., 2020, 2017, 2016). Une étude récente a montré que deux espèces de poissons demoiselles se nourrissaient préférentiellement de larves d'acanthasters plutôt que de larves de *Linckia laegivata* (Cowan et al., 2016), malgré leurs contenance en saponine qui était suggérée comme répulsive (Lucas et al., 1979). Depuis, une autre étude a renforcé ces résultats en montrant que cinq espèces de la famille des Pomacentridae se nourrissaient préférentiellement de larves d'acanthasters même en présence d'autres larves de formes similaires (Cowan et al., 2020). Ces résultats suggèrent que la prédation des stades larvaires est probablement importante dans la régulation des acanthasters qui atteignent le recrutement et joue certainement un rôle dans la dynamique des populations de cette espèce. Néanmoins, cela reste difficile à quantifier en raison des difficultés logistiques pour identifier les prédateurs des stades précoces. Une liste d'animaux qui se nourrissent d'acanthasters est proposée dans Pratchett et al. (2014), avec une distinction entre les prédateurs capables de tuer une acanthaster adulte et ceux qui se nourrissent plutôt sur les individus morts, les juvéniles ou les larves.

3.3.2 Hypothèse de l'enrichissement en nutriments ou eutrophisation

La théorie qui propose que les infestations soient déclenchées par une augmentation de la survie larvaire dû à l'enrichissement des eaux en nutriments a été proposée plusieurs fois (Birkeland, 1982 ; Brodie et al., 2005 ; Brodie, 1992 ; Fabricius et al., 2010 ; Lucas, 1973 ; Nishihira et Yamazato, 1974 ; Pearson et

Endean, 1969). Cette théorie postule qu'une infestation d'acanthasters se déclarerait environ 3 ans après de très importantes pluies entrainant un lessivage des terres significatif. Les fortes précipitations augmenteraient la quantité de nutriments dans l'eau et donc la quantité de phytoplancton, augmentant la quantité de nourriture disponible pour les larves, et donc leur survie (Birkeland, 1982 ; Lucas, 1973). Le fait que les infestations se déclareraient 3 ans après les fortes pluies correspond au temps que les larves mettent à recruter, se métamorphoser et grandir jusqu'au stade adulte corallivore. Depuis les travaux de Birkeland (1982), cette théorie a été remise plusieurs fois en question, notamment à cause d'incohérences entre les épisodes de pluie majeurs et l'initiation des infestations (Endean et Cameron, 1990). Plus précisément, le délai entre les épisodes de pluie majeurs et l'initiation des infestations varie en réalité de 2 à 5 ans. De plus, certains des épisodes de pluie les plus importants n'ont pas provoqué d'infestation (1968 et 1981 ; McCulloch et al., 2003 ; Tableau 1.2). Une explication plausible serait que le nombre d'acanthasters aurait augmenté au cours des années jusqu'à atteindre le seuil d'infestation primaire et que des années de crues auraient déclenché des infestations secondaires en procurant plus de phytoplancton pour les larves.

Tableau 1-2. Relation entre les épisodes de forte pluie et le déclenchement des infestations sur la Grande Barrière de Corail.

Episode de pluie majeur		***Début de l'infestation correspondante***	***Délai de déclenchement***
McCulloch et al., 2003	Fabricius et al., 2010		
1958	1958	1962	4 ans
1968	—	—	—
1970	—	—	—
—	1974	1979	5 ans
1981	—	—	—
1988	—	1993	5 ans
1991	1991	1993	2 ans
1998	—	—	—
NA	2008	2010	2 ans

Il a été suggéré que les épisodes de fortes pluies devaient avoir lieu à un certain moment de l'année pour correspondre au cycle larvaire (novembre à janvier ; Fabricius et al., 2010), mais qu'un laps de temps trop court entre une infestation passée et un nouvel épisode de crue ne déclencherait pas d'infestation supplémentaire car le corail n'aurait pas le temps de régénérer suffisamment (Fabricius, 2013).

Si cette théorie reçoit le soutien d'une part de la communauté scientifique, d'autres chercheurs mettent en garde contre son application à large échelle (Endean et Cameron, 1990 ; Lane, 2012 ; Olson et Olson, 1989 ; Potts, 1981). Certaines infestations ont eu lieu malgré le déclin de la productivité des

océans, et l'hypothèse s'applique difficilement à l'archipel Australo-Indien ou « triangle de corail » dont les eaux sont régulièrement chargées en nutriments à cause des précipitations et de l'érosion importante (Lane, 2012). Cette théorie se base en majorité sur le fait que les larves soient limitées par leur nourriture (Fabricius et al., 2010 ; Lucas, 1982 ; Okaji et al., 1997). L'hypothèse que les larves d'*A. planci* ne complèteraient que rarement leur cycle larvaire à des concentrations en phytoplancton typiques de la Grande Barrière de Corail a depuis été en partie réfutée par des expériences menées par Olson (1985, 1987). En effet, il a pu montrer que le taux de développement larvaire était quasiment maximal à des concentrations en phytoplancton classiques, proposant ainsi que ces fluctuations en ressources n'avaient qu'un rôle limité dans les variations de recrutement larvaire. Bien que la disponibilité en plancton module certainement la croissance et la survie des larves, des élevages ont été menés à terme avec de faibles concentrations en chlorophylle, questionnant le postulat initial que les larves sont limitées par la nourriture disponible (Johnson et al., 1991 ; Olson, 1987).

Malgré des incohérences spatiales et temporelles entre les épisodes de forte pluie et l'occurrence des infestations (Tableau 1.4 ; pour revue, voir Pratchett et al., 2014), l'eutrophisation est susceptible d'augmenter la probabilité d'infestation d'acanthasters, mais ne peut pas expliquer tout le phénomène.

Cette théorie d'eutrophisation était à l'origine basée sur un phénomène naturel récurent (Birkeland, 1982), ce qui est désormais remis en question. En effet, il a été estimé que l'augmentation de la concentration en nutriments dans les rivières depuis environ 200 ans correspondrait à une augmentation de la fréquence des infestations d'acanthasters sur la Grande Barrière de Corail, passant ainsi de une tous les 50 à 80 ans, à une tous les 15 ans (Fabricius et al., 2010).

3.3.3 Effets du changement climatique sur les acanthasters

Aujourd'hui, la majorité du débat scientifique pour déterminer les causes des infestations est centré sur une des deux hypothèses suivantes : l'eutrophisation du milieu ou l'enlèvement des prédateurs, (Brodie et al., 2017, 2005 ; Fabricius, 2013 ; McClanahan, 1994 ; Mendonça et al., 2010). Des études récentes suggèrent que les phénomènes associés au changement climatique pourraient avoir une influence positive sur le cycle de vie des acanthasters. L'augmentation de la survie larvaire due à l'eutrophisation des eaux pourrait être renforcée par un effet additif du réchauffement des océans (Uthicke et al., 2015). Cette étude a montré qu'une hausse modérée de la température (+2 °C, 30 °C) combinée à une forte disponibilité en microplancton pourrait accélérer la croissance des larves d'acanthasters en réduisant leur temps de développement jusqu'à 30%, ce qui pourrait finalement augmenter leurs chances de survie de 240%. Le stade larvaire pélagique est très touché par la prédation et il a été estimé que moins de 10% des larves arrivaient jusqu'au recrutement (Wilmes et al., 2018). De ce fait, une croissance accélérée permettrait aux larves de quitter ce stade de vie particulièrement vulnérable et d'accéder au recrutement plus rapidement. De plus, l'eutrophisation est aussi exacerbée par le changement climatique à travers

des modifications de précipitations, et sera plus élevée au 21ème siècle (Sinha et al., 2017), ce qui pourrait avoir des effets additifs avec le réchauffement des océans sur les acanthasters. Une autre étude a montré qu'une hausse similaire de la température (30 °C) augmenterait la croissance des juvéniles d'environ 20% (Kamya et al., 2016). D'après ces résultats, le réchauffement des océans seul ou combiné à l'eutrophisation des eaux pourrait être un facteur favorisant l'initiation d'infestations d'acanthasters, via une augmentation de la survie et de la croissance des différents stades de vie. Cela a été démontré chez d'autres espèces d'échinodermes (Brown et al., 2004; Hoegh-Guldgerb et Pearse, 1995; Stanwell-Smith et Peck, 1998).

De plus, il a aussi été suggéré que l'acidification des océans, un autre phénomène associé au changement climatique, pourrait améliorer les performances de certains stades de vie des acanthasters. Kamya et al. (2016) ont montré que les juvéniles acanthasters exposés à des conditions acidifiées (pH 7,8 ; 7,6) se nourrissaient plus et avaient des taux de croissance plus élevés. Cette augmentation de croissance serait attribuée à un effet indirect de l'acidification sur leur nourriture, les algues corallines (Kamya et al., 2017). Une exposition des algues coralines à des conditions acides entrainerait une réduction de leurs défenses ainsi qu'une augmentation de leur valeur nutritive et de leur palatabilité. Il a été proposé d'après des modèles que seulement 1/1000 juvéniles acanthasters survivrait lors des 24 mois après le recrutement (Wilmes et al., 2018). De la même façon que pour les larves, une augmentation de la croissance pourrait potentiellement augmenter leurs chances de survie en réduisant leur temps de développement.

Ces éléments soulèvent la possibilité d'un lien entre le changement climatique et l'initiation des infestations à travers des améliorations des performances physiologiques à divers stades de vie. Néanmoins, différentes réponses des acanthasters au réchauffement et à l'acidification ont été proposées en fonction des stades de vie exposés ainsi que des niveaux de stress utilisés. Il n'existe à ce jour qu'une seule étude ayant testé les effets du réchauffement et de l'acidification sur les larves d'acanthasters (Kamya et al., 2014). Cette étude, réalisée en Australie, présente plusieurs limites méthodologiques (voir partie suivante 4.2). Il semble donc intéressant de refaire ce type d'expérience en adaptant les méthodes pour tenter de mieux comprendre les impacts du changement climatique sur les acanthasters.

3.4 Contrôler les infestations – méthodes de contrôle direct

Dès les premières apparitions des infestations, les réponses immédiates ont été de contrôler les populations d'acanthasters (Barnes, 1966). Plus d'une centaine de campagne de contrôle direct des infestations ont été menées depuis les années 1950-60 résultant en plus de 16 millions d'acanthasters tuées (pour revue, voir Rivera-Posada et Pratchett, 2012). Depuis, de nombreuses techniques ont été mises au point et utilisées pour tenter de limiter les dégâts causés par les infestations d'acanthasters.

La méthode utilisée traditionnellement consiste à collecter les animaux à la main pour les ramener et les détruire/enterrer sur la côte (Yamaguchi, 1986 ; Fig. 1.18). Cette méthode est encore utilisée par les petites communautés du Pacifique. Néanmoins, son efficacité est limitée car elle requiert de nombreux plongeurs, bateaux etc. pour un rendement assez faible. De plus, elle comporte des risques notamment de piqures par les épines qui sont très venimeuses. Enfin, cette technique est souvent combinée à des primes et les plongeurs ont tendance à changer de sites d'action une fois que les densités sont redevenues faibles, laissant la possibilité de redémarrage d'une infestation au vue des capacités de reproduction des acanthasters. Ce fut le cas pendant la campagne la plus importante menée au Japon où plus de 13 millions d'individus ont été éliminés manuellement de 1970 à 1983 pour un cout total avoisinant les 5 millions d'euros, mais où les récifs furent finalement détruits à plus de 90% (Yamaguchi, 1986).



Figure 1-18. Photographie d'un effort de contrôle où de nombreuses acanthasters ont été collectées sur le site d'Hulhumalé aux Maldives et ramenées sur terre où elles sont enterrées dans le sable (© A. Bruckner).

D'autres types de méthodes de contrôle ont été développées plus récemment, notamment les injections de divers produits chimiques visant à tuer les acanthasters sur place (Johnson et al., 1990). Parmi ces produits, le formaldéhyde, le sulfate de cuivre, l'hypochlorite de sodium, l'ammonium ou encore le bisulfate de sodium ont été couramment employés (Birkeland et Lucas, 1990 ; Harriott et al., 2003). Bien que ces injections se soient révélées plus efficaces que le ramassage manuel, certains de ces produits ont des effets potentiellement néfastes pour l'environnement. Par exemple, le formaldéhyde est bien connu pour ses propriétés inflammables, explosives et cancéreuses et pourrait donc être nocif pour

de nombreux animaux marins (Yanong, 2010). Jusque très récemment, le bisulfate de sodium était fréquemment utilisé (Hoey et Chin, 2004 ; Pratchett et al., 2009). Cette technique requiert plusieurs injections de volumes importants (25 ml) à des concentrations importantes (140g/l) dans différentes zones de l'animal. Le bisulfate de sodium est un piégeur d'oxygène et pourrait donc entrainer une diminution du niveau d'oxygène de l'eau, avec des effets potentiellement néfastes sur les communautés marines (Roman et al., 1993). En 2011, les injections de TCBS (thiosulfate-citrate-bile-sucrose agar) ont été proposées pour lutter contre les infestations d'acanthasters (Rivera-Posada et al., 2011). Cette technique est efficace contre les acanthasters mais entraine aussi des syndromes d'infections bactériennes transmissibles à d'autres espèces d'étoiles de mer comme *Linckia* sp., donc problématique pour une utilisation à large échelle (Caballes et al., 2012). Des recherches supplémentaires ont montré l'efficacité d'un autre produit, la bile de bœuf (Rivera-Posada et al., 2012). Cela s'est avéré être plus efficace que les procédures précédentes puisqu'une injection de 10 ml d'*oxbile* (8-10 g/l) mélangée à de l'eau douce induisait une mort rapide de l'animal - environ 24 h en essais expérimentaux, sans contagion démontrée ni effets néfastes pour le milieu (Rivera-Posada et al., 2013).

D'autres méthodes ont été développées mais rapidement abandonnées, comme couper les acanthasters en morceaux, ce qui n'était pas recommandé à cause de leurs exceptionnelles capacités de régénération (Messmer et Pratchett, 2013 ; Sweatman et Butler, 1993). Il a aussi été proposé de construire des barrières physiques autour des individus pour les empêcher d'accéder aux coraux mais cela s'est aussi révélé inefficace à grande échelle (Bell et al., 1986). Une autre méthode avait été suggérée tôt dans l'histoire des infestations (Endean, 1969) qui consistait à élever des tritons géants (*Charonia tritonis*) pour renforcer la population de prédateurs naturels. Malgré la faible pression de prédation des tritons et leur capacité à se nourrir d'autres proies, cette proposition reste toujours d'actualité (Hall et al., 2017).

En 2015, le consortium de chercheurs autour du programme DYNACANTH (projet incitatif financé par le Labex « Corail ») a proposé une nouvelle méthode pour contrôler les populations d'acanthasters : les injections létales de composés acides naturels (jus de citron ou de vinaigre, Moutardier et al., 2015). Cette méthode s'est révélée être à la fois efficace, économique et avant tout écologique. Si certaines approches comme les injections de bile de bœuf semblaient prometteuses (Rivera-Posada et al., 2013), elles n'en restaient pas moins coûteuses. En effet, ces produits restent cher à obtenir - de l'ordre de >900 USD pour importer des doses de 250 g dans certains pays du Pacifique (Moutardier et al., 2015). Les injections de vinaigre avaient déjà été prouvées létales contre les acanthasters, mais rien n'avait été fait de façon répétée et encadrée pour le prouver (Yamamoto et Otsuka, 2013). C'est ce qui a été réalisé dans l'étude de Moutardier et al. (2015), ainsi que tester la possibilité d'une transmission entre les organismes. Les résultats ont été très encourageants puisque 100% de mortalité étaient atteints avec les deux solutions naturelles en 12 à 24h, après deux injections faites dans deux bras opposés. Ces temps de mort sont équivalents voir plus courts que les méthodes

dernièrement utilisées comme la bile de bœuf (Rivera-Posada et al., 2013). De plus, le coût de cette méthode, environ 0,03 USD pour une acanthaster injectée (=deux injections de 10 ml de vinaigre blanc à 8%), est environ 10 fois moins élevé pour des pays du Pacifique que celui de la méthode proposée par Rivera-Posada et al. (2013). Cette méthode est à la fois écologique, économique, et facile à mettre en œuvre en milieu naturel, avec une efficacité aussi élevée qu'en conditions expérimentales (Moutardier et al., 2015 ; Fig. 1.19 et Fig. 1.20). Depuis, cette méthode a été testée ou adoptée en remplacement des autres approches dans plusieurs pays, notamment en Australie, au Vanuatu et en Nouvelle-Calédonie (Boström-Einarsson et al., 2018 ; Boström-Einarsson et Rivera-Posada, 2016 ; Dumas et al., 2020, 2018, 2015).



Figure 1-19. Photographies montrant deux acanthasters 24 h après avoir reçu les deux injections de 10 ml de vinaigre blanc (© T. Hue).



Figure 1-20. Photographie d'un plongeur réalisant une injection de vinaigre blanc à une acanthaster lors d'une opération de nettoyage des récifs au Vanuatu (© G. Moutardier).

Depuis plus d'un demi-siècle, la communauté scientifique corallienne et les gestionnaires ont mis en place des efforts considérables (tant humains, logistiques que financiers ; pour revue, voir Rivera-Posada et Pratchett, 2012) pour lutter contre les infestations d'acanthasters et limiter les dégâts sur les récifs. Il semble donc que la décision de devoir intervenir ait globalement été prise et qu'il est maintenant question de réussir à contrôler les infestations d'acanthasters. Néanmoins, ces méthodes de contrôle ne pourront apporter que des solutions à court terme pour minimiser les impacts des infestations sur des récifs ciblés. Des solutions à plus long terme nécessiteront une meilleure compréhension des facteurs à l'origine de ces infestations.

4. Problématique du projet doctoral

4.1 Cadre général de l'étude

4.1.1 Contexte géographique

Le projet s'est déroulé en Nouvelle-Calédonie, un territoire français du Pacifique sud couvrant une superficie terrestre totale de 18 575 km^2, situé en bordure de la mer de corail au nord du tropique du Capricorne, à environ 1 400 km à l'est-nord-est de l'Australie et 1 500 km au nord-nord-ouest de la Nouvelle-Zélande (Fig. 1.21). L'île principale, la Grande Terre, est entourée d'îles plus petites dont les îles loyautés, les îles Belep, et les îles Chesterfield plus loin à l'ouest. L'ensemble de la zone économique exclusive de la Nouvelle-Calédonie s'étend ainsi sur 1,4 millions de km^2 (Fig. 1.22).



Figure 1-21. La Nouvelle-Calédonie (21°15'S, 165°18'E) située sur une carte du monde.

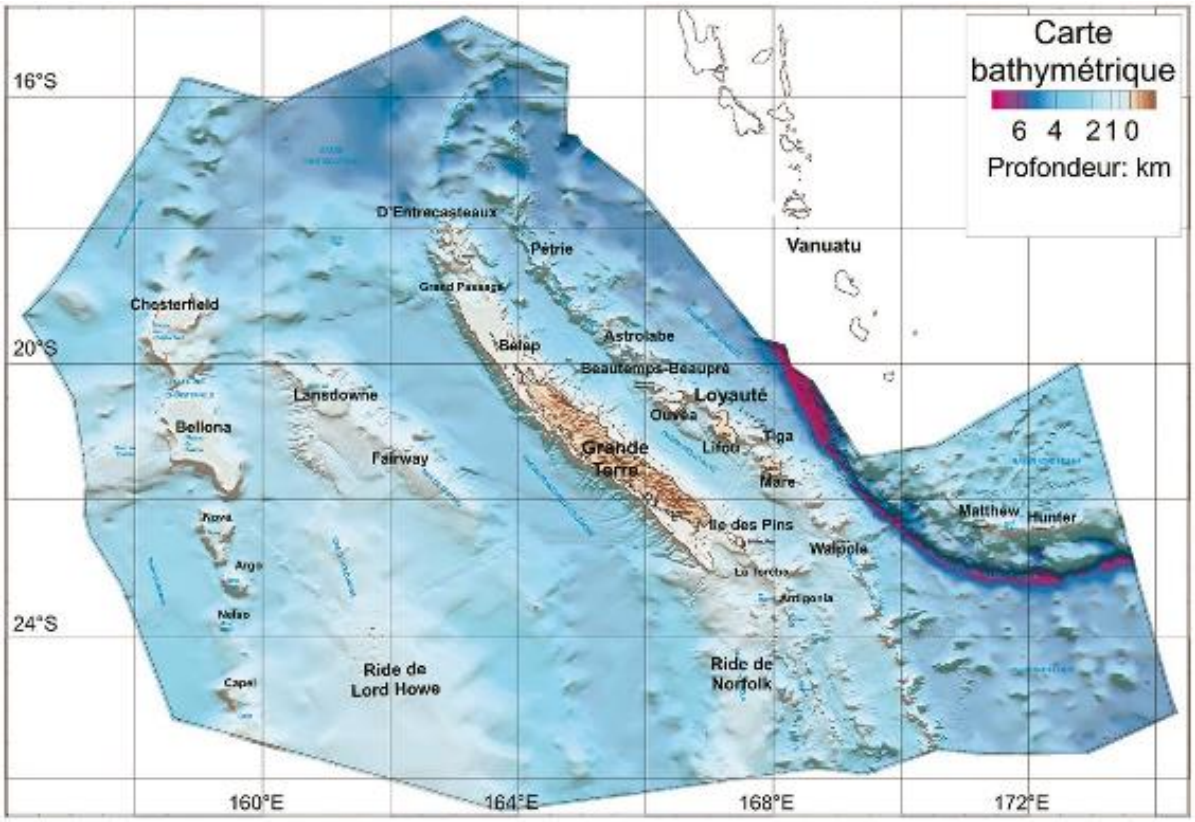


Figure 1-22. La zone économique exclusive de la Nouvelle-Calédonie (Source : ZoNéCo 1998).

La Nouvelle-Calédonie possède un climat tropical tempéré par l'influence océanique. La température y est relativement élevée, avec une moyenne annuelle de 22,4 °C (19,2-25.9 °C de moyenne calculée sur 36 stations réparties sur tout le territoire, suivant les mois de l'année ; Caudmont et Maitrepierre, 2007). Le climat est régulièrement influencé par des phénomènes La Niña et El Niño (Payri et al., 2019). L'année est divisée en deux saisons principales : de mi-novembre à mi-avril, l'été austral chaud et humide ou « saison cyclonique » qui est caractérisé par des températures maximales pouvant atteindre >30 °C et de mi-mai à mi-septembre, l'hiver austral, une saison plus fraiche avec des températures oscillant entre 15 et 25 °C (Caudmont et Maitrepierre, 2007). Deux intersaisons séparent ces deux saisons principales, de mi-avril à mi-mai avec une diminution des précipitations et des températures, et de mi-septembre à mi-novembre, aussi appelée « saison sèche ».

La Nouvelle-Calédonie abrite le second plus grand récif corallien au monde (1 600 km de long) derrière la Grande Barrière de Corail (Fig. 1.23). Ces récifs ont été utilisés par l'homme depuis plus de 3 000 ans comme en témoignent les restes d'os de poissons et coquilles retrouvés sur des sites archéologiques calédoniens (Payri et al. 2018). Ils abritent une biodiversité exceptionnelle, composée de plus de 9 000 espèces marines décrites à ce jour. En 2008, une grande partie du récif calédonien a été inscrit au patrimoine mondial de l'UNESCO.



Figure 1-23. Photographie aérienne de la barrière de corail de Nouvelle-Calédonie (© Y. Cazaban).

4.1.2 Phénomène acanthaster en Nouvelle-Calédonie

Comme la plupart des récifs coralliens de la zone Indopacifique, les récifs de Nouvelle-Calédonie sont eux aussi impactés par les infestations d'acanthasters. Des acanthasters ont été observées en Nouvelle-Calédonie pour la première fois par Catala (1950). Plus de trente ans plus tard, suite aux

densités importantes observées à l'îlot Maitre, une étude a été organisée par l'ORSTOM pour tenter de déterminer la dynamique et le cycle de reproduction de cette population (Conand, 1983). En 2012, une étude faite sur 18 sites a montré des infestations d'acanthasters sporadiques et localisées dans le lagon sud-ouest de la Grande Terre, avec des densités allant jusqu'à 500 individus par hectare (Adjeroud, 2012). Devant cette situation récurrente et préoccupante, le programme OREANET (*Oceania Regional Acanthaster Network*) a été mis en place par l'IRD en 2015, avec pour double objectif 1) de combler les lacunes de connaissance sur la dynamique des populations d'acanthasters en Nouvelle-Calédonie, et 2) de mettre en place un suivi opérationnel des infestations, basé sur une approche participative (Dumas et al., 2020). Les usagers du lagon peuvent entrer et géolocaliser leurs observations d'acanthasters dans une application internet ou mobile dédiée, dont les données compilées permettent la réalisation de cartes d'évaluation du risque acanthaster, à destination des gestionnaires et des acteurs de la société civile. Grâce à ce programme, des densités allant jusqu'à >10 000 individus/hectare ont pu être détectées, ainsi que des dommages allant jusqu'à 92% sur certains assemblages coralliens (Fig. 1.24 ; Adjeroud et al., 2018 ; Buttin, 2018). Basées sur les résultats, des opérations expérimentales de contrôles des densités ont été mises en place par l'IRD sur demande de la Province Sud entre 2017 et 2019, conduisant à l'élimination de près de 10 000 acanthasters réparties sur les récifs des îlots Vua, Montravel, Casy et Redika.

Conand (1983) a fourni la première et la seule étude disponible sur la biologie des acanthasters de Nouvelle-Calédonie. Le cycle de reproduction a été étudié et décrit et la période de reproduction estimée à l'aide d'indices de maturité gonadique (RGS : Rapport Gonado-Somatiques) collectés tout au long de l'année. Les résultats indiquent que la période de reproduction en Nouvelle-Calédonie se situe en période chaude, de Novembre à Février (été austral). Connaitre plus précisément la période optimale de reproduction des acanthasters présente un intérêt important en termes de gestion, puisqu'il est nécessaire d'ajuster les campagnes de contrôle au cycle local de reproduction de l'espèce si l'on souhaite limiter efficacement la prolifération des populations (Dumas et al., 2016).

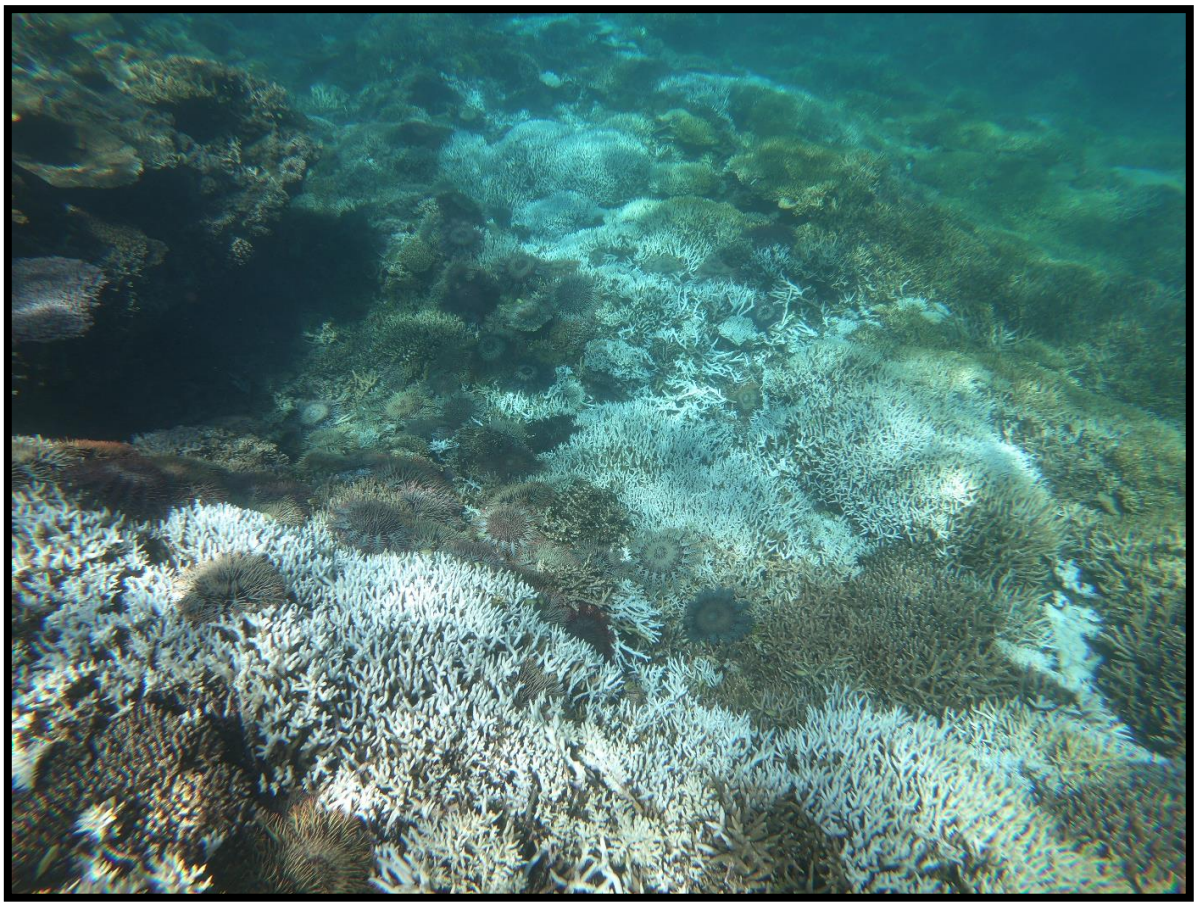


Figure 1-24. Photographie du récif de l'ilot Redika lors d'une infestation en 2018. Plusieurs acanthasters agrégées y sont visibles ainsi que les traces de leurs passages laissant les coraux morts dans leurs sillages, que l'on voit ici blancs (© T. Hue).

4.2 Etat de l'art

Quelle que soit l'efficacité des méthodes de contrôle direct, celles-ci ne pourront apporter que des solutions à court terme en réaction à des infestations (Birkeland et Lucas, 1990). Trouver des solutions efficaces pour lutter contre les infestations d'acanthasters à plus long terme requiert une meilleure compréhension des causes originelles de ces infestations. Si aucun consensus n'a été trouvé à ce jour, les recherches récentes s'orientent vers le rôle des modifications des paramètres physico-chimiques de l'océan causées par le changement climatique dans l'initiation des infestations, à travers la modulation du cycle de vie des acanthasters. Uthicke et al. (2015) ont montré qu'en présence de nourriture abondante, une augmentation modérée de la température de l'eau (+2 °C) accélérait le développement larvaire d'environ 30%, augmentant ainsi les chances de survie de 240%. D'autres études ont suggéré que l'acidification aurait des effets positifs indirects sur les juvéniles d'acanthasters car leurs sources de nourriture, les algues corallines, seraient fragilisées par un pH plus bas et donc plus sensibles à la prédation (Kamya et al., 2017, 2016). D'autres travaux récents se sont intéressés aux réponses physiologiques des acanthasters en conditions modifiées, notamment de pH et de température (Allen et

al., 2017 ; Caballes et al., 2017 ; Kamya et al., 2014, 2016, 2017, 2018 ; Lamare et al., 2014 ; Sparks et al., 2017 ; Uthicke et al., 2013a, 2015).

Il ressort de ces études un certain nombre de résultats contradictoires, qui concernent parfois les mêmes stades de vie. Par exemple, Uthicke et al. (2013a) suggèrent une réduction de 25% du taux de fertilisation dans des conditions de pH de 7,70 alors que Caballes et al. (2017b) ne montrent aucun effet à un pH de 7,60. Ces différents résultats pourraient être dus, au moins en partie, à des différences dans les protocoles expérimentaux - dont on sait qu'elles peuvent entrainer des résultats conflictuels, en particulier concernant les paramètres de fertilisation (Byrne, 2012). C'est notamment le cas du nombre de géniteurs utilisés, du sexe ratio utilisé, et enfin du ratio d'œufs par rapport aux spermatozoïdes utilisé, qui sont tous des paramètres d'importance majeure pour la reproduction *in vitro*. Cela pourrait expliquer les différences de fertilisation entre Caballes et al. (2017b) et Uthicke et al. (2013a) pour qui ces paramètres énumérés étaient systématiquement différents. Une autre différence majeure de la bibliographie concerne l'effet de la température sur le cycle larvaire. La température cible de 30 °C considérée comme co-promotrice de la croissance larvaire (Uthicke et al., 2015) a été prouvée létale pour les larves par d'autres chercheurs (Kamya et al., 2014). Cette fois, ce sont des différences de température basale de l'expérience qui pourraient expliquer ce phénomène. L'équipe d'Uthicke et al. (2015) a collecté les animaux sur la Grande Barrière de Corail dans la région de Cairns en Australie avant d'appliquer un réchauffement de +2 °C à la température basale (28 °C dans la zone), aboutissant à la valeur de 30°C citée dans l'étude. Collectés originellement dans la même zone, les individus étudiés par Kamya et al. (2014) ont en revanche été déplacés à plus de 1 300 km au sud vers le lieu de l'expérimentation, caractérisé par une température basale de 26 °C – d'où un delta de température effectif de +4 °C, létal pour les larves.

Au-delà de ces différences de protocoles, on peut s'interroger sur la capacité des approches expérimentales utilisées à répliquer de façon réaliste les conditions liées au changement climatique. Le changement climatique est une notion complexe et les protocoles expérimentaux s'éloignent toujours des conditions naturelles : dans le cas des acanthasters, toutes les études faites à ce jour sur les divers stades de vie ont abordé le problème d'une manière très simplifiée. En effet, il ne serait pas possible de reproduire de façon expérimentale les échelles spatiales et temporelles impliquées. Néanmoins, il semble possible de se rapprocher de la réalité en étudiant plusieurs stades de vie consécutivement, ce qui permet de ne pas masquer de potentiels effets domino non détectables aux stades précoces. Une autre contrainte concerne la dynamique des changements : la plupart des études se concentrent sur un stade de vie donné et lui appliquent un stress ponctuel, sans exposition préalable des stades précédents. Aujourd'hui, l'intégralité des études faites sur les acanthasters ont collecté des animaux dans la nature, pratiqué la reproduction *in vitro* et finalement exposé les stades d'intérêt à des conditions modifiées de température ou de pH. Une telle situation où les larves ou juvéniles d'échinodermes se retrouveraient dans des conditions de pH ou de températures si différentes de leurs géniteurs pose un problème

biologique et écologique. Par exemple, Kamya et al. (2017) a étudié l'effet du pH sur les juvéniles acanthasters mis en conditions à 14 semaines, ce qui représente déjà plus de la moitié du stade juvénile Cette absence d'exposition des géniteurs s'explique entre autres par les contraintes logistiques et techniques, qui augmentent avec la taille des animaux (Karelitz et al., 2019). Au-delà d'une incohérence biologique, l'absence d'exposition des adultes peut avoir des conséquences importantes sur les résultats, potentiellement biaisés. Il a été démontré sur plusieurs espèces marines dont des échinodermes qu'une exposition des géniteurs à des conditions modifiées pouvait changer radicalement les effets détectés sur les stades de vie suivants (pour revue, voir Byrne, 2012 ; Byrne et Przeslawski, 2013). De fait, les études incluant une période d'exposition des adultes à des conditions modifiées se multiplient (Dupont et al., 2013 ; Hu et al., 2018 ; Karelitz et al., 2020, 2019 ; Kurihara et al., 2013 ; Suckling et al., 2015, 2014 ; Uthicke et al., 2020, 2013b ; Wong et al., 2019 ; Zhao et al., 2018)

Face à des conditions environnementales non-optimales, les animaux peuvent recourir à plusieurs processus physiologiques dont notamment 1) l'adaptation génétique, qui est un processus d'évolution de longue durée qui implique une modification génétique d'un organisme, 2) la plasticité trans-générationnelle, qui est une transmission d'une résilience acquise par la génération parentale à la génération suivante – c'est un héritage non-génétique, ce qui le différencie de l'adaptation (Donelson et al., 2018). Les temps de générations des acanthasters (~2 ans jusqu'à la maturité sexuelle ; Kettle et Lucas, 1987) ne permettent pas d'étudier des phénomènes d'adaptation génétique dans le laps de temps imparti pour ce projet, car ils se produisent sur plusieurs générations. En revanche, inclure une période d'acclimatation des adultes semble particulièrement important pour étudier de façon réaliste les effets du changement climatique sur la reproduction des organismes marins.

4.3 Objectifs de la thèse

Dans ce projet doctoral, l'objectif principal était d'étudier l'effet du changement climatique (réchauffement, acidification) sur la reproduction des acanthasters et les premiers stades de vie. Dans un premier temps, nous avons étudié les capacités de reproduction des acanthasters dans des conditions modifiées à travers des mesures faites sur les œufs, des taux de fertilisation et des indices de maturité sexuelle. Ensuite, nous avons étudié le développement et la croissance des embryons jusqu'aux larves, toujours dans des conditions modifiées. Grâce à des collaborations entre l'Aquarium des Lagons, l'AIMS en Australie et l'Adecal Technopole (Ifremer), nous avons été capables de mener les expériences de reproduction des acanthasters et l'élevage des larves jusqu'au moment du recrutement.

Une des originalités du projet repose sur l'ajout d'une phase d'acclimatation des acanthasters adultes de plusieurs mois, permettant de travailler ensuite sur un pool de larves issues de géniteurs acclimatés aux différentes conditions de température et de pH testées. A travers un design croisé, nous avons étudié les effets d'une augmentation de température, d'une réduction de pH et de leurs effets

combinés sur chaque étape du cycle de vie des acanthasters, commençant avant la fertilisation (qualité et quantité d'œufs) jusqu'au dernier stade larvaire prêt à recruter, les brachiolaria. Ces stades de vie précoces sont particulièrement intéressants puisqu'ils représentent un goulot d'étranglement démographique pour la majorité des invertébrés marins. En effet, il a récemment été estimé à l'aide de modèles que seulement 9,54% des larves arriveraient jusqu'au recrutement et seulement 0,1% des recrues survivraient aux 2 premières années pour devenir une acanthaster sexuellement mature (Wilmes et al., 2018). De nombreux chercheurs soulignent l'importance d'une meilleure connaissance des premiers stades de vie pour élucider les mécanismes impliqués dans le déclenchement des infestations d'acanthasters.

Enfin, nous avons répliqué toute cette expérience deux années de suite, à deux périodes différentes de la saison de reproduction telle qu'elle était documentée jusque-là (Conand 1983). Notre but était de collecter des données temporelles sur la période de reproduction des acanthasters en Nouvelle-Calédonie afin de pouvoir préciser le pic de reproduction naturel de cette zone et de le comparer aux données déjà existantes.



Chapitre 2

Protocole de maintien et d'élevage d'acanthasters en conditions contrôlées

1

Chapitre 2 : Protocole de maintien et d'élevage d'acanthasters en conditions contrôlées

Ce chapitre présente le design expérimental et les méthodes nécessaires pour reproduire et maintenir des acanthasters (adultes et larves) en conditions contrôlées. Le système a été développé et installé à l'Aquarium des Lagons (Nouméa, Nouvelle-Calédonie ; Fig. 2.1).



Figure 2-1. Vue générale de l'installation réalisée et de la plateforme humide expérimentale de l'Aquarium des Lagons (© T. Hue).

1. Maintien d'acanthasters adultes en conditions contrôlées

1.1 Design expérimental

Un design croisé a été mis en place pour étudier les effets du réchauffement et de l'acidification des océans sur les capacités de reproduction des acanthasters. Quatre conditions expérimentales ont été mises en place : une condition contrôle où les paramètres de l'eau ne sont pas modifiés, une où l'eau est chauffée (+2 °C), une où l'eau est acidifiée (-0,35 unités de pH, soit pH 7,75) et enfin une combinaison chauffée et acidifiée (+2 °C ; pH 7,75). Pour améliorer le design, vérifier certaines hypothèses et augmenter la réplication temporelle, l'expérience décrite ci-après a été réalisée deux années de suite. Pour avoir une expérience scientifiquement robuste d'après les standards expérimentaux actuels, un minimum de 3 réplicas était requis, ce qui a porté à 12 le nombre d'unités expérimentales nécessaires. Le nombre d'individu par bac et la taille des bacs ont ensuite été définis en fonction des besoins expérimentaux, des contraintes budgétaires, logistiques et techniques, l'objectif étant de trouver un compromis permettant de garder un maximum d'animaux dans un volume aussi restreint que possible. Lors de la première année expérimentale, un nombre de trois mâles et trois femelles par bac a été choisi afin a) d'éviter les biais expérimentaux liés à l'approche un mâle / une femelle, b) de se rapprocher de la réalité écologique en ne séparant pas les deux sexes, et c) de maximiser le pool génétique tout en évitant une densité d'animaux par bac trop élevée (Ayukai et al., 1996 ; Palumbi, 1999 ; Sparks et al., 2017 ; Uthicke et al., 2015). Ce nombre d'adultes est cohérent avec les études qui ont fait de la reproduction d'acanthasters, où les quantités d'adultes et le sexe ratio utilisés varient de deux à trois mâles et de deux à quatre femelles par reproduction (Kamya et al., 2017, 2016, 2014 ; Lamare et al., 2014 ; Pratchett et al., 2017b ; Uthicke et al., 2013a ; Wolfe et al., 2015).

1.2 Dimensionnement de l'étude : volume requis par nombre d'individu

Seules quelques études ont impliqué de garder des acanthasters adultes pendant des périodes prolongées (Tableau 2.1). Il existe donc peu d'informations concernant le volume d'eau nécessaire par animal pour permettre un maintien en bonne santé à moyen (mois) ou plus long terme (années). Parmi ces études, aucune n'a maintenu des acanthasters dans des conditions de température et de pH modifiées. Les données disponibles sont en majorité extraites d'études des années 1970 à 1990 où les premiers essais d'élevage d'acanthasters étaient menés, et où les questions de changement climatique n'étaient pas d'actualité. Les premières études sur la reproduction et les larves d'acanthasters en conditions contrôlées sont apparues dans les années 2010. Elles commencent toutes au stade d'intérêt et sont donc très limitées dans le temps. Il n'existe donc aucune étude sur le dimensionnement expérimental nécessaire pour maintenir des acanthasters dans des conditions contrôlées pendant des périodes prolongées.

Tableau 2-1. Synthèse bibliographique d'études à propos de l'estimation du volume d'eau nécessaire pour garder des acanthasters adultes pendant des périodes prolongées.

Volume (l)	***Nombre d'individu***	***Taille (cm)***	***Durée***	***But de l'étude***	***Références***
40	1	12	3 semaines	Etude de l'effet de la température élevée sur l'activité métabolique d'*Acanthaster planci* (15 mois) élevées en laboratoire	Yamaguchi, 1974
20 000	~ 20 à 30 auraient atteint 2 ans	voir ref.	7,7 ans	Elevage d'*Acanthaster planci* et d'hybrides *A. planci* x *A. brevispinus* (pendant 7 ans) pour étudier l'effet du régime alimentaire sur la croissance et la maturation sexuelle	Lucas, 1984
4 000	9 à 15	7 à 24 et 29 à 37	3 jours	Etude du comportement des animaux en fonction de l'intensité lumineuse	Keesing, 1990
180	1	12 à 18	3 jours	Etude du comportement des animaux en fonction de la durée du jour	Keesing, 1990
70	3 à 4	30 à 35	plusieurs jours	Elevage de larves et juvéniles d'acanthasters	Ayukai et al., 1996
1 000	jusqu'à 8	/	période prolongée	Elevage de larves et juvéniles d'acanthasters	Ayukai et al., 1996
1 000	6 à 8	30 à 35	3 à 4 mois		Lanos, 2019
68	1	/	3 jours	Rôle du TCBS (Thiosulfate Citrate Bile Saccharose) dans l'induction de maladies aux acanthasters - recherche de méthodes de contrôle	Rivera-Posada et al., 2012

Pour garder six acanthasters pendant plusieurs mois, la plupart des durées et volumes exposés dans le tableau 2.1 ne sont pas adaptés. Les informations qui se rapprochent le plus des besoins expérimentaux sont issues d'Ayukai et al., (1996), donnant un volume de 1 000 l pour garder jusqu'à huit acanthasters adultes pendant une « période prolongée », sans que ne soit précisée la durée. Les essais de reproduction menés par l'équipe scientifique de l'Aquarium des Lagons avant le lancement du projet doctoral ont confirmé qu'il était possible de garder de trois à sept animaux pendant environ 4 mois dans un volume de 1 000 l (Lanos, 2019). Cependant, il n'était pas possible de mettre 12 bacs de 1 000 l dans l'espace qui nous était alloué. Après plusieurs semaines de test, il a été démontré qu'un volume de 500 l était suffisant pour garder six acanthasters en bonne santé. Ce sont donc des bacs carrés de 500 l, plus hauts et permettant une meilleure utilisation de l'espace au sol, qui ont été utilisés.

1.3 Bacs des adultes

Les bacs sont faits de polyéthylène et mesurent 75 × 75 × 100 cm pour un volume utile d'environ 500 l (Fig. 2.2). Un compartiment technique est présent dans l'angle de chaque bac, avec une pompe d'aquarium (Tetra ; 1 000 $l.h^{-1}$) qui traverse ce dernier de sorte à renvoyer en permanence l'eau du compartiment vers le bac. Ce compartiment de 88 cm de hauteur est placé juste en dessous de la surverse des bacs et permet d'homogénéiser l'eau des bacs. A mesure que la pompe vide le compartiment par le bas, il se remplit par écoulement depuis le bac principal. Le compartiment technique est protégé par un morceau de grillage de type netlon, afin que les animaux ne puissent pas y accéder. Cela représente aussi un moyen de chauffer et/ou d'acidifier l'eau dans un espace hors d'atteinte des animaux. Sans cette protection, les résistantes chauffantes auraient pu être au contact des animaux ce qui aurait pu les blesser ou dégrader le matériel (Fig. 2.2).

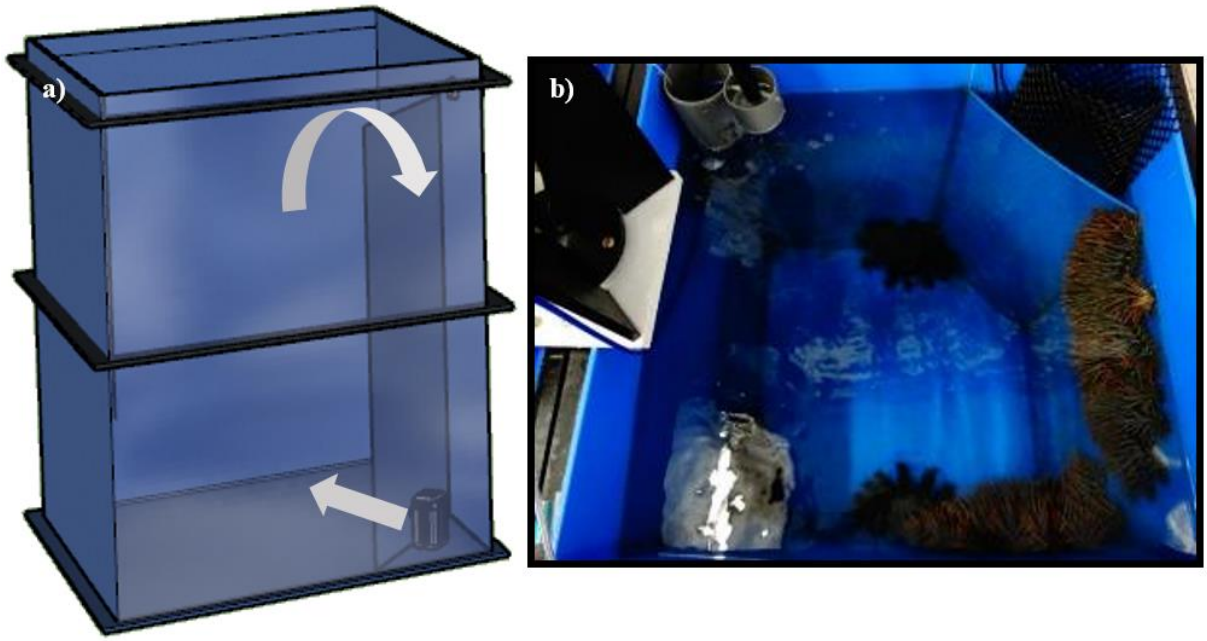


Figure 2-2. a) Schéma 3D d'un bac réalisé à l'aide du logiciel Sketchup ; les flèches montrent le mouvement de l'eau et b) photographie d'un bac adulte vu du dessus (© T. Hue).

1.4 Estimation du débit de renouvellement nécessaire

Pour les besoins expérimentaux, il a fallu trouver un volume de renouvellement d'eau suffisant pour garder six acanthasters en bonne santé (puis huit la seconde année) dans des bacs de 500 l. Dans la littérature, Ayukai et al., (1996) mentionne un renouvellement de 10 à 20 l par min pour garder trois à quatre acanthasters pendant « quelques jours » dans un volume de 1 000 l. Les essais de stabulation d'adultes menés par l'équipe scientifique de l'aquarium en amont du projet doctoral ont confirmé que

ces valeurs étaient suffisantes pour garder trois à sept animaux pendant 3 à 4 mois dans des volumes de 1 000 l (Lanos, 2019). Néanmoins, trois points diffèrent entre ces expériences et l'étude proposée ici : 1) le volume utile des bacs (500 l au lieu de 1 000 l) ; 2) la nécessité de garder les cibles de pH et température les plus stables possible, ce qui serait difficile en utilisant un renouvellement d'eau trop important. Il a donc fallu trouver un compromis permettant de garantir le maintien des animaux (fort renouvellement) et garder des conditions les plus stables possible (faible renouvellement) ; et 3) l'expérience proposée ici consiste à garder des mâles et des femelles ensemble dans chaque bac pour s'éloigner le moins possible de la réalité écologique, ce qui n'était pas le cas dans les essais précédents ni dans la littérature (Ayukai et al., 1996). Afin d'éviter toute contamination du lagon calédonien avec des gamètes d'acanthasters, un filtre de 100 µm a été installé à la sortie du système d'évacuation. Ce filtre représente un facteur limitant pour le renouvellement des bacs puisqu'un débit trop important aurait rapidement colmaté le filtre et fait déborder le bac, rendant la filtration inefficace. Des tests ont été réalisés pendant 2 semaines afin de trouver un débit suffisant pour que les animaux ne soient pas stressés (pas de mucus détecté en surface ni d'épines tombées dans les bacs, comportements normaux), mais compatible avec la stabilité des cibles de pH et de température, et n'entrainant pas le colmatage du filtre de sortie en moins de 24 h. Le débit de renouvellement en eau de mer filtrée a donc été réglé sur 1,2 $l.min^{-1}$ soit ~15% de renouvellement du volume total par heure, ce qui est cohérent avec des valeurs utilisées dans une étude récente étude ayant incorporé une période d'acclimatation prolongée chez des oursins (~16% ; Uthicke et al., 2020).

1.5 Mise en eau et filtration

L'eau de mer de l'Aquarium est pompée directement dans le lagon (Baie des citrons) à 5 m de profondeur. Elle est ensuite filtrée (50 µm) puis amenée dans un bassin de décantation de 400 m^3 situé sur une colline surplombant l'aquarium de 17 m avant d'être acheminée vers l'aquarium par gravité.

Pour les besoins de l'expérience, l'eau est filtrée une première fois à l'entrée du système expérimental à l'aide d'un filtre à sédiments de maille 5 µm. Elle est ensuite distribuée dans chaque bac par un réseau de tuyau PVC terminé par des vannes, ce qui permet de régler les débits individuellement. Afin de pallier une éventuelle défaillance du filtre précédent (lors d'un cyclone, l'eau se charge en sédiment et colmate rapidement le filtre à 5 µm), l'eau est filtrée une dernière fois à l'aide de mailles de 40 µm avant d'arriver dans les bacs. L'évacuation des bacs est faite par des surverses individuelles qui débouchent dans un réseau de gouttière puis dans une poche de filtration de 100 µm, pour éviter le rejet de gamètes femelles en cas de ponte spontanée dans les bacs (Fig. 2.3). Le filtre de sortie de zone est changé quotidiennement avec un autre filtre préalablement stérilisé dans de l'eau de javel (1°

chlorométrique). Pour améliorer l'oxygénation de l'eau, tous les bacs sont équipés de bulleurs formés de tuyaux souples reliés au système d'air de l'aquarium.

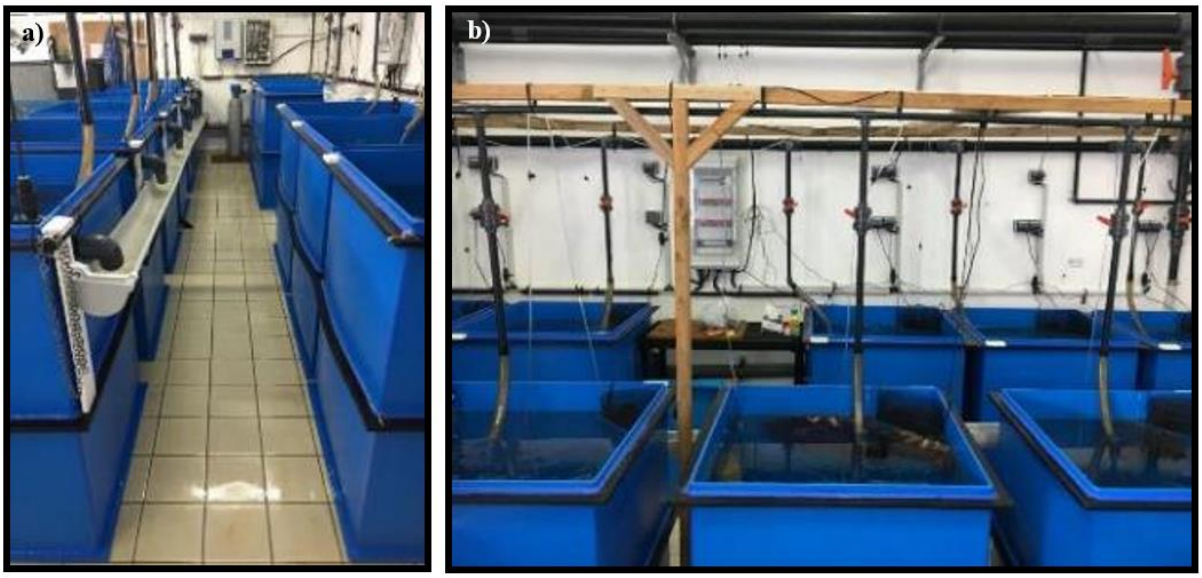


Figure 2-3. Photographies de a) entrée de la zone d'étude et b) zone vue de côté (© T. Hue).

1.6 Modifier expérimentalement les paramètres de l'eau

De récents travaux ont compilé les études faites sur l'acidification afin d'en évaluer les différentes méthodes et leur efficacité (Cornwall et Hurd, 2016). D'autres travaux plus anciens décrivaient déjà les designs appropriés pour faire des expériences en écologie et éviter la pseudo-réplication (Hurlbert, 1984). Chauffer et acidifier des volumes d'eau pour constituer des bacs tampons et ensuite distribuer cette eau aux paramètres modifiés dans différents bacs aurait représenté un gain de matériel considérable. Néanmoins, cette méthode génère un effet de pseudo-réplication qu'il est recommandé d'éviter si l'on souhaite augmenter la puissance des analyses. Pour obtenir de la vraie réplication, il a fallu contrôler la température et le pH de façon indépendante dans chacun des bacs.

1.6.1 Reproduire expérimentalement le réchauffement de l'eau

Pour reproduire expérimentalement le réchauffement des océans projeté d'ici la fin du siècle, une augmentation de 2 °C a été choisie conformément au scénario du *business-as-usual*, basé sur les projections du Groupe d'experts Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat pour la fin du siècle (le GIEC ; IPCC, 2014). Cela correspond aux scénarios médians qui sont les plus utilisés pour les études à propos de réchauffement des océans. Enfin, cette valeur de réchauffement de l'eau est cohérente avec

les études similaires réalisées sur le sujet, ce qui permettra d'avoir des éléments de comparaison (Kamya et al., 2014 ; Uthicke et al., 2015).

La principale nouveauté du projet est l'acclimatation des acanthasters adultes pendant plusieurs mois, ce qui implique de reproduire une certaine saisonnalité pour la température. Pour maintenir l'eau des traitements chauffés à +2 °C par rapport aux traitements non chauffés de la façon la plus constante possible, des résistances chauffantes (Tetra ; 300 Watts) couplées avec des contrôleurs électroniques de température (Eliwell ; EWDR 983) ont été utilisées. Une résistance était placée au fond de chacun des compartiments techniques des bacs à chauffer et réglée sur la température maximale proposée par le constructeur (31 °C). Ces résistances étaient déclenchées par le contrôleur électronique qui mesurait la température du bac principal en permanence, à l'aide d'une sonde placée à l'opposé du compartiment technique et donc de la source de chaleur (Fig. 2.4) pour avoir une mesure plus représentative. Quand la température chutait de 0,1 °C en dessous de la cible programmée, le contrôleur activait la résistance chauffante afin de rétablir la température au plus vite dans le bac. De la même façon, dès que la température du bac atteignait la cible +0,1 °C, le contrôleur éteignait la prise. Cette méthode de rétrocontrôle a permis de chauffer des volumes d'eau importants avec une précision bien supérieure à celle des résistances seules, donnée par le constructeur à ±0,5-1 °C. Enfin, pour suivre les variations de température de l'eau de mer, les cibles de température étaient réajustées une fois par semaine pour maintenir un delta de +2 °C. Dans de rares cas où la température changeait si rapidement que ce delta variait de plus 50% au cours d'une même semaine (±1 °C), les cibles étaient ajustées le jour même pour rétablir le delta de +2 °C.

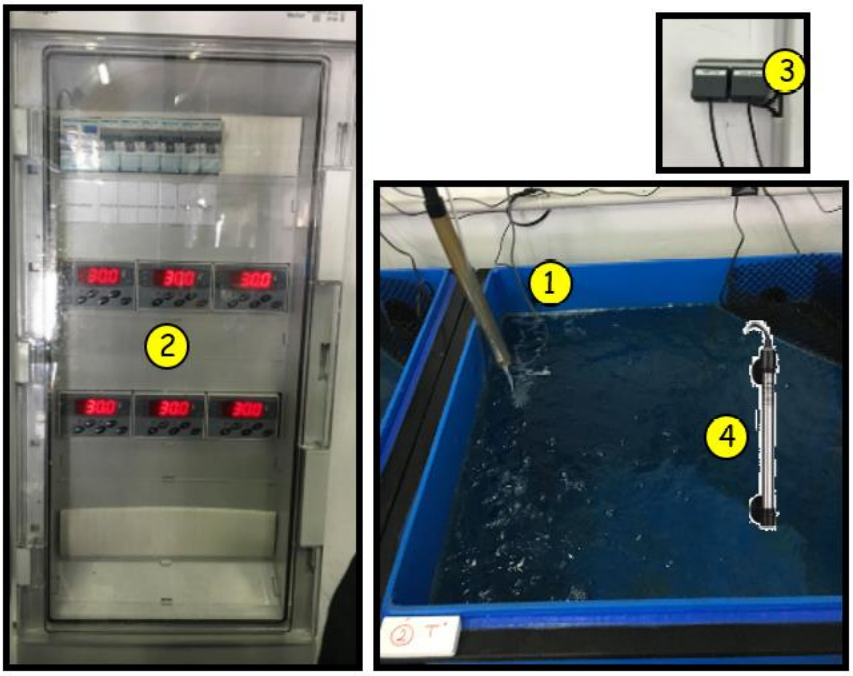


Figure 2-4. Photographie du système pour chauffer l'eau : (1) sonde de température reliée au contrôleur électronique (2) contrôleurs électroniques dans un panneau électrique étanche (3) prises contrôlées et (4) résistances chauffantes placées au fond des compartiments techniques (© T. Hue).

1.6.2 Reproduire expérimentalement l'acidification de l'eau

Pour reproduire expérimentalement l'acidification des océans projetée d'ici la fin du siècle, nous avons choisi une diminution de 0,35 unités de pH, soit une cible fixée à 7,75. Cette valeur correspond à la limite pessimiste du *business-as-usual scenario* (IPCC, 2014), ce qui est cohérent avec les études similaires afin de permettre les comparaisons (Kamya et al., 2014 ; Uthicke et al., 2013a).

Le même principe de rétrocontrôle utilisé pour chauffer l'eau a été mis en place pour l'acidification. Pour réguler le pH, un ordinateur de contrôle relié à six sondes qui mesurent le pH en continu a été utilisé (précision de 0,01 unités pH ; IKS Aquastar, Fig. 2.5). Dès que le pH remontait au-dessus de la cible programmée, l'ordinateur déclenchait l'électrovanne associée au bac, déclenchant un bullage de CO_2 pur dans le bac. Le gaz était envoyé par un système de tuyau souple et de robinet terminé par des diffuseurs, qui sont des systèmes poreux permettant la fracturation des bulles de gaz optimisant ainsi leur dissolution (Fig. 2.5). Acidifier l'eau se fait beaucoup plus rapidement que la chauffer mais il est aussi plus difficile de maintenir la stabilité du pH. L'ordinateur de contrôle était programmé pour envoyer du CO_2 pur dans le bac quand la sonde détectait un pH supérieur à la cible voulue, puis pour se stopper automatiquement après 30 secondes. Après un délai de 5 min, l'ordinateur lançait une nouvelle mesure et réitérait l'injection de CO_2 si nécessaire, jusqu'à que la cible soit atteinte. Ce mode d'acidification a permis d'obtenir des valeurs de pH stables et conformes aux objectifs de l'étude.

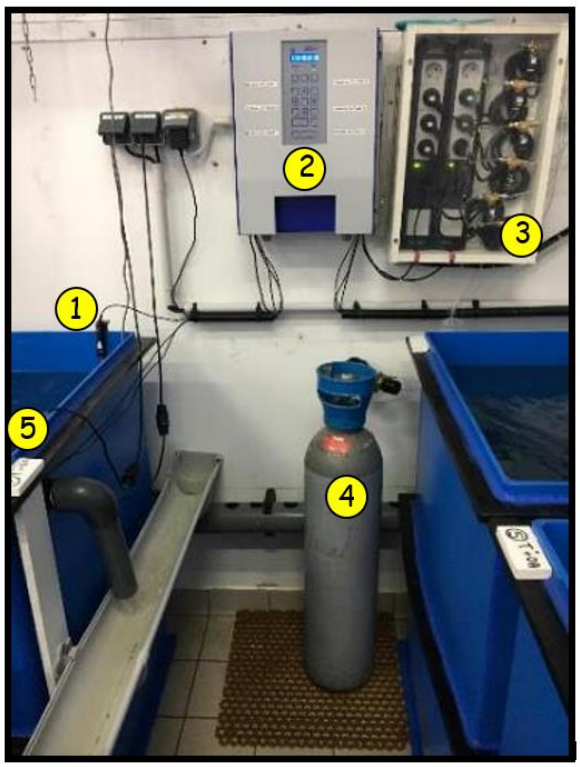


Figure 2-5. Photographie du système d'acidification : (1) sonde qui mesure le pH en continu (2) ordinateur IKS qui contrôle l'ouverture des vannes en fonction du pH mesuré (3) électrovannes qui envoient du CO_2 pur (4) bouteille de CO_2 (5) bulleurs qui diffusent le CO_2 dans les bacs (© T. Hue).

1.7 Entretien du système des adultes

1.7.1 Tâches quotidiennes

Une fois que le système a été réglé et stabilisé, l'acclimatation des animaux a pu commencer. A partir de ce moment et jusqu'à la fin de l'expérience (360 jours d'expérience en 2 ans), une présence quotidienne était impérative, incluant notamment un protocole biquotidien de surveillance, d'entretien et d'acquisition de données spécifiques (cf. Tableau 2.2 ; seules les étapes concernant les adultes apparaissent ici).

Tableau 2-2. Synthèse des tâches journalières à effectuer sur le système expérimental. Ces tâches étaient réalisées deux fois par jour sauf quand mentionné différemment.

DATE : **HEURE :** **RESPONSABLE :**

ITEM	POINTS PRINCIPAUX	Check
Electricité	Tous les disjoncteurs sur *ON* & toutes les prises bien branchées	☐
Bacs et animaux	Pas d'animaux morts ; pas d'odeurs suspectes ni d'eau opaque/marron	☐
Cartouche de filtration	Nettoyer et remplacer la cartouche de filtration par celle déjà stérilisée	☐
Débit dans les bacs	L'eau (re)coule bien dans chaque bac + **vérifier les débits (=1,2 l^{-1}min)**	☐
Mesures T° et pH des bacs	Enlever le bulleur le temps et prendre toutes les mesures	☐
Siphonage des bacs	Siphonner les bacs (1 à 2x par semaine) et remettre les bulleurs	☐
Chaussette de filtration - sortie de zone	Nettoyer la chaussette et la remplacer avec celle stérilisée (1x par jour)	☐
Calibration	Calibrer pH-mètre et sonde ordinateur IKS (1x par semaine)	☐

		pH	T°		pH	T°
BACS	**1**			**7**		
	2			**8**		
	3			**9**		
	4			**10**		
	5			**11**		
	6			**12**		

REMARQUES

1.7.2 Analyses des carbonates de l'eau

Pour réaliser des travaux à propos de l'acidification, la mesure des paramètres physico-chimiques de l'eau (en particulier du système des carbonates) est désormais incontournable - notamment pour assurer la comparabilité des études. Le carbone inorganique total (*DIC : Dissolved Inorganic Carbon*) représente la somme des principales formes de CO_2 inorganiques dans l'eau qui sont le gaz carbonique CO_2, l'acide carbonique H_2CO_3 et enfin les anions carbonates CO_3^{2-} et bicarbonates HCO_3^-. Le système des carbonates, ou système d'équilibre du *DIC* équilibre en temps normal les ions H^+, amenant le pH de l'eau de mer à 8,1-8,2. Depuis le développement industriel, l'augmentation des gaz à effet de serre, dont le CO_2 fait partie, perturbe cet équilibre et entraine l'acidification des océans. Pour étudier le système des carbonates, il est nécessaire de mesurer au moins deux des paramètres du cycle afin de calculer le reste des composantes, après y avoir associé des mesures de température et de salinité. Deux mesures de pH ont été effectuées chaque jour en même temps que la température (cf. partie précédente). Une fois par semaine, des prélèvements d'eau ont été réalisés dans chacun des bacs adultes (ainsi que, plus tard, dans les bacs d'élevage des larves) pour mesurer l'alcalinité. La mesure était effectuée sur la plate-forme analytique de l'IRD par titration à l'acide chlorhydrique, à partir d'un échantillon de 100 ml filtré à 0,2 µm pour éliminer la matière organique ainsi que les particules en suspension (Fig. 2.6 ; cf. protocole en annexe 2.1). La formule suivante est utilisée pour déduire la concentration en carbonates du bac d'origine :

$$HCO_3\ \mu M\ /\ l = \frac{N_A \times V_{eq} \times 10^6}{V_{ech}}$$

Où :
N_A : titre de l'acide chlorhydrique
V_{eq} : volume d'acide chlorhydrique
V_{ech} : volume de l'échantillon

De plus, des mesures de salinité ont été effectuées dans chaque bac une fois par semaine à l'aide d'une sonde multi-paramètre (556 MPS ; Fig. 2.6). Enfin, le logiciel CO2SYS a permis de calculer toutes les composantes du système des carbonates en renseignant la température, la salinité, le pH et l'alcalinité totale (Dickson et Millero, 1987).

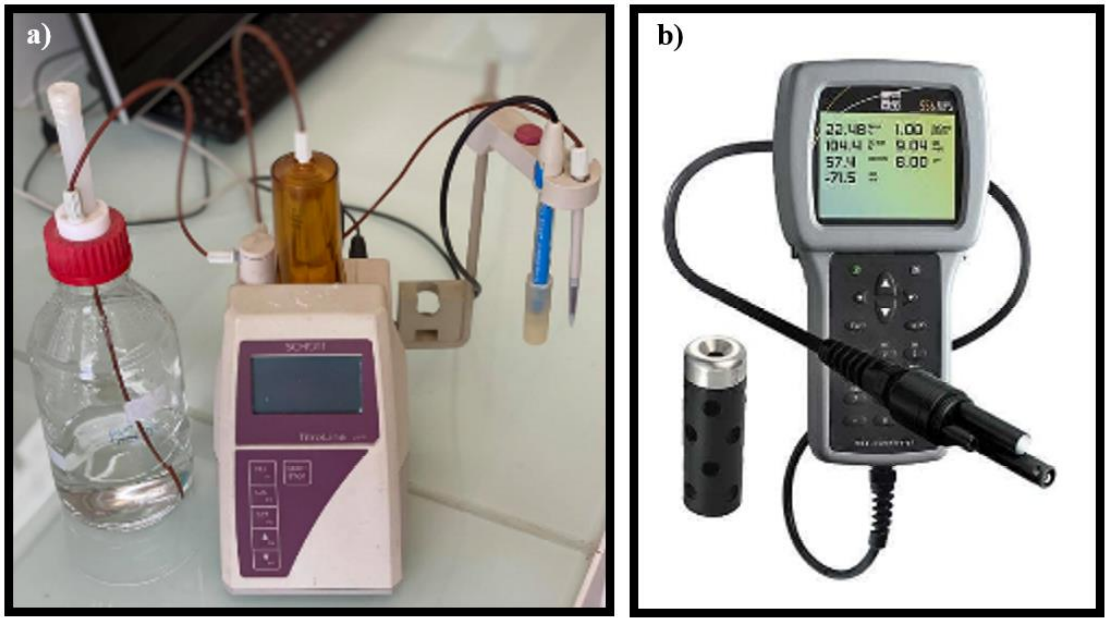


Figure 2-6. Photographies de a) appareil de titration utilisé pour les mesures d'alcalinité et b) appareil utilisé pour les mesures de salinité (© T. Hue).

1.8 Collecte et stockage des animaux

Grâce aux données GPS renseignées par les utilisateurs du lagon sur le réseau d'observation d'acanthasters OREANET, des zones avec des densités importantes d'acanthasters ont pu être identifiées dans le lagon sud-ouest de la Nouvelle-Calédonie. Une centaine d'animaux d'une même classe de taille (30-35 cm) ont été prélevés sur le tombant du récif corallien du récif de l'îlot Redika (22°30'S, 166°36'E). Cette classe de taille était visée pour avoir des animaux d'environ le même âge et ayant potentiellement atteint la maturité sexuelle (Conand, 1983). Les animaux ont été récoltés manuellement en plongée à l'aide d'une griffe et d'une demi-noix de coco fixée sur un manche en bois (Fig. 2.7). Cet outil a été imaginé pour pouvoir manipuler les acanthasters sans risquer de se piquer ou de les endommager en cas de mauvaise manipulation (Ayukai et al., 1996). Les animaux blessés lors de la capture ont systématiquement été laissés sur place, afin de ne conserver que les spécimens les plus susceptibles de tolérer une période de captivité de plusieurs mois. Les animaux ont ensuite été stockés dans des glacières (50-150 l) en évitant au maximum de les empiler. L'eau des glacières était renouvelée toutes les 20-30 min pour favoriser l'oxygénation des animaux et maximiser les chances de survie dans un volume aussi restreint. Une fois à l'aquarium, les animaux étaient transférés dans un bac de 3 000 l soumis à un renouvellement d'eau élevé pendant 24-48 h, afin de leur permettre de récupérer du stress subi lors de la collecte et du trajet (Fig. 2.7).

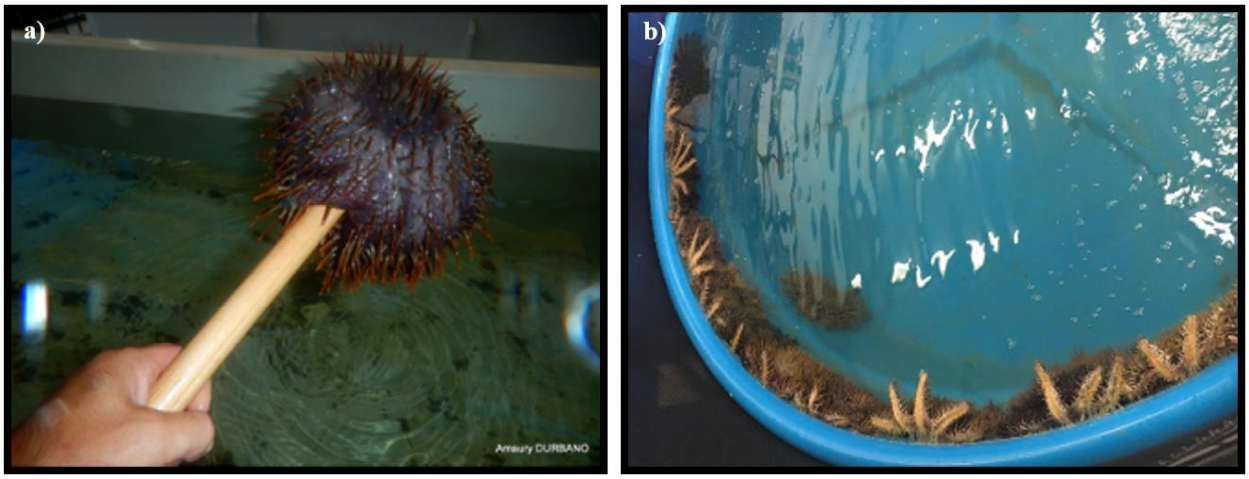


Figure 2-7. Photographies de a) outil pour manipuler des acanthasters (© A. Durbano) ; b) bac de 3 000 l pour stocker les animaux avant le sexage (© T. Hue).

1.9 Sexage et répartition des animaux

Le sexe des animaux a été déterminé dès qu'ils ne présentaient plus de signes de stress (mucus en surface, perte d'épines, comportements anormaux) dans leur espace de stockage provisoire. La détermination du sexe des acanthasters étant impossible de l'extérieur, une petite incision (<1 cm) a été réalisée à la base proximale de chaque bras pour prélever quelques lobes gonadiques et déterminer le sexe de chaque individu. Quand les animaux sont pleinement matures sexuellement, il est alors possible de différencier les sexes en observant les prélèvements à la loupe binoculaire, voire à l'œil nu (Fig. 2.8). Les gonades femelles sont organisées en touffes de couleur plutôt jaune ; il est généralement possible d'apercevoir des œufs sortis des sacs par suite de la manipulation (Fig. 2.8). Les gonades mâles forment des touffes plus allongées et plus blanchâtres d'où l'on peut voir le sperme sortir presque instantanément au contact de l'air quand l'animal est prêt à se reproduire (Fig. 2.8). Si les animaux n'ont pas atteint la maturité sexuelle, il faut alors écraser les gonades entre lame et lamelle et observer directement les œufs ou les spermatozoïdes sortis des sacs gonadiques à l'aide d'un microscope (Fig. 2.9). Après avoir réalisé 3 mesures de diamètre et noter les caractéristiques primaires de l'animal (nombre de bras, couleur, sexe), les animaux ont été répartis à raison de trois mâles et trois femelles par bac (puis quatre et quatre la seconde année).

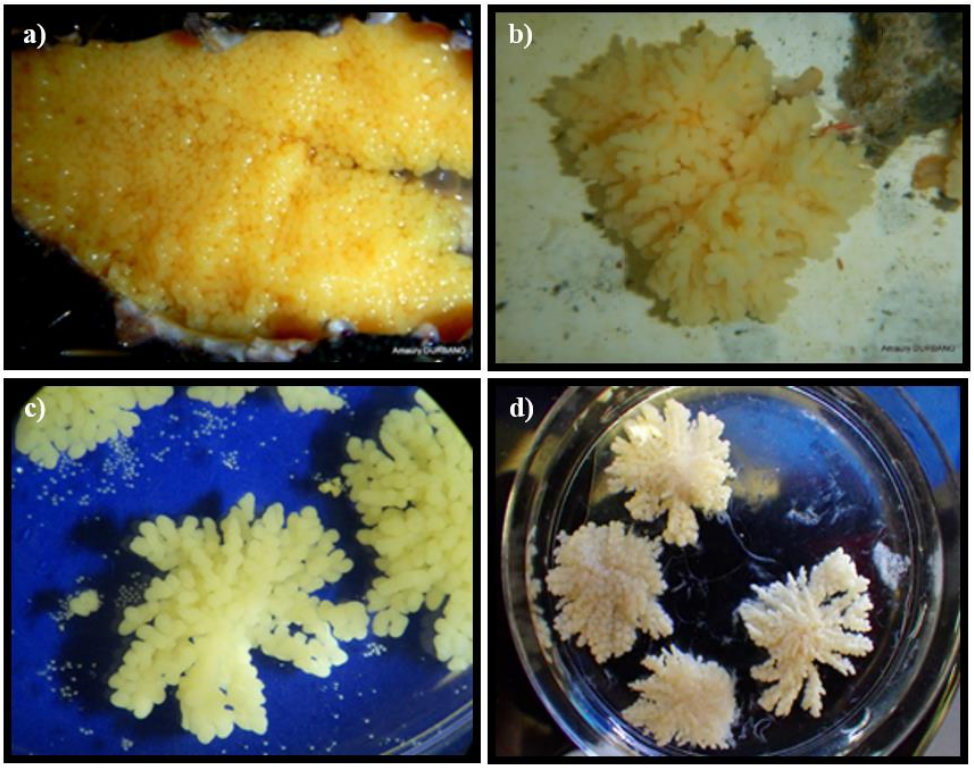


Figure 2-8. Photographies macroscopiques de gonades d'*Acanthaster* sp. : sacs gonadiques a) femelles et b) mâles (© A. Durbano) ; c) sacs gonadiques d'une femelle où l'on aperçoit des œufs relâchés durant la manipulation et d) sacs gonadiques d'un mâle où l'on peut voir le sperme sortir (© T. Hue).

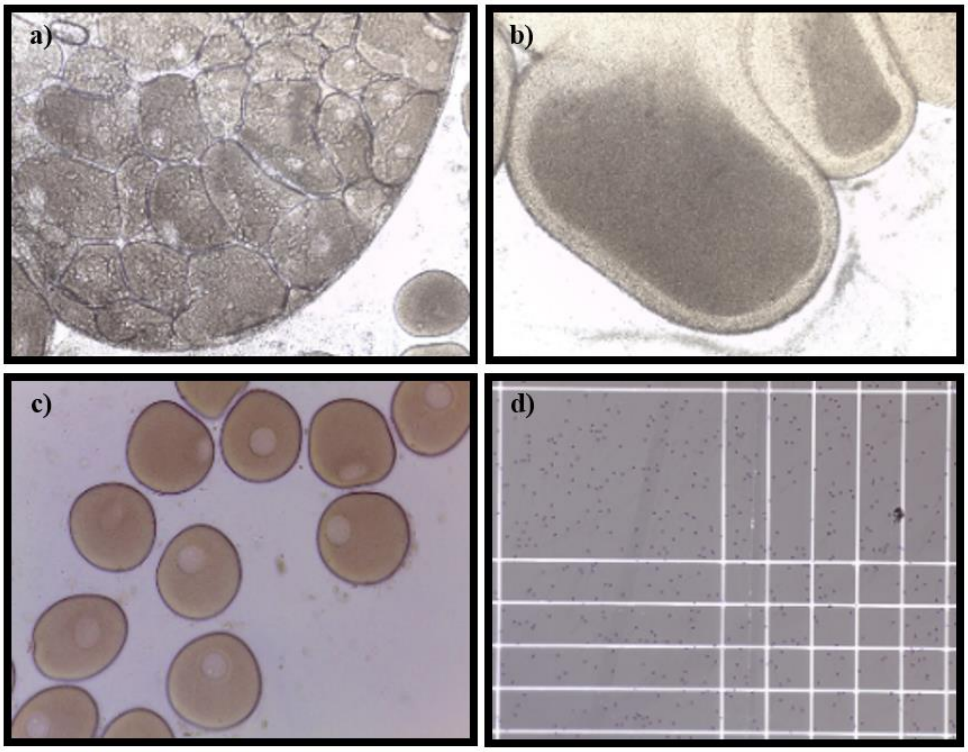


Figure 2-9. Photographies microscopiques de gonades et gamètes d'*Acanthaster* sp. : sacs gonadiques a) femelles et b) mâles (grossissement x100) ; c) œufs (grossissement x100) et d) spermatozoïdes observés sur cellule de Malassez (grossissement x400 ; © T. Hue).

1.10 Nourrir des acanthasters en captivité

Les acanthasters ont longtemps été considérées comme des animaux strictement corallivores (Fabricius, 2013 ; Lamare et al., 2014). Il a été estimé qu'une acanthaster de taille adulte pouvait consommer de 155 à 234 cm^2 de corail par jour (Keesing et Lucas, 1992). Pour nourrir le nombre d'acanthasters en captivité nécessaire au projet (12×6) pendant 3 à 4 mois, il aurait fallu prélever plus de 200 m^2 de corail vivant. Cela représente des quantités bien supérieures à ce que l'aquarium est autorisé à prélever par an dans le cadre de la règlementation en vigueur en Nouvelle-Calédonie. Il aurait été compliqué de convaincre les instances de gestion environnementale locales du besoin de prélever de telles quantités de corail pour étudier un animal qui à l'origine cause d'importants dégâts sur les récifs. De plus, le corail destiné aux acanthasters doit être en bonne santé, sinon cela pourrait s'avérer létal (Ayukai et al., 1996). Des alternatives pour nourrir les acanthasters ont donc été recherchées. En 2017, des essais à l'aquarium en captivité ont montré que les acanthasters pouvaient consommer des morceaux de poisson, des crevettes, ou mêmes des fragments de brocoli (données non publiées). D'autres auteurs ont aussi suggéré de nourrir les acanthasters en captivité avec des moules ou avec des morceaux de calamars, du moins pendant de courtes périodes (Ayukai et al., 1996). Enfin, une étude a même montré la possibilité de garder des acanthasters pendant de longues périodes en les nourrissant avec des noix de Saint-Jacques surgelées (Lucas, 1984). Ici, les acanthasters ont donc été nourries avec un mélange contenant des morceaux de poissons, des calamars et des moules. Les animaux étaient nourris deux fois par semaine à raison de 50 grammes de mélange par bac (Fig. 2.10). Vingt-quatre heures plus tard, les restes étaient siphonnés des bacs afin d'éviter la décomposition qui aurait entrainé une pollution de l'eau.



Figure 2-10. Photographie d'un bac où l'on voit plusieurs acanthasters en train de manger, face ventrale vers le haut (© T. Hue).

2. Elevage de larves d'acanthasters en conditions contrôlées

2.1 Design expérimental

Le but de l'expérience était d'acclimater les adultes à certaines conditions de température et de pH pour les faire se reproduire avant de pouvoir étudier les larves dans ces mêmes conditions. Le design expérimental pour l'élevage des larves s'est largement appuyé sur celui des adultes. L'élevage larvaire a donc été réalisé avec de l'eau filtrée directement issue de chacun des bacs adultes, recréant ainsi les 12 unités expérimentales réparties en quatre conditions. Des bacs coniques ont été utilisés pour l'élevage larvaire car leur forme sans coin ni bords est optimale pour éviter toute sédimentation des larves. Celles-ci ont été élevées pendant une durée de 24 jours après la fertilisation la première année d'expériences (2018-2019), qui a été réduite à 21 jours la seconde année (2019-2020). Pour nourrir les larves, des cultures de micro-algues ont été mises en place la première année, et améliorées (recours à des photo-bioréacteurs) la seconde année.

2.2 - Reproduction *in vitro* d'acanthasters

2.2.1 Matériel nécessaire

La reproduction des acanthasters a été pratiquée *in vitro* à partir des gamètes mâles et femelles fraichement récupérés dans tous les animaux de chaque bac. Pour pratiquer la reproduction d'acanthasters, le matériel suivant est nécessaire (Tableau 2.3).

Tableau 2-3. Liste des éléments nécessaires à la reproduction in vitro d'acanthasters.

Instruments	Matériels	Verrerie	Consommables
2 pinces longues	1 cloison amovible	3 béchers de 500 ml	Eau de javel (1°)
Ciseaux de dissection	1 bac bleu pour inciser animaux	1 bécher de 2 l	Tubes Eppenrdorf 2 ml
Micropipette P1000	1 plaque à 6 puits		3 x 1 ml de 1-methyladénine 10^{-4} M (par reproduction)
Micropipette P10	1 bac de 80 l pour stérilisation		Filtres 1 µm
Micropipette P200	1 tamis 500 µm		
Loupe binoculaire	1 tamis 40 µm		
	15 crépines 80 µm		
	15 crépines 200 µm		
	1 sceau de 15 l		
	12 cylindro-coniques		

2.2.2 Protocole détaillé

Le protocole exige de récupérer les gonades femelles avant les gonades mâles, ce qui nécessite de séparer les sexes pendant les reproductions pour éviter d'inciser deux fois le même animal inutilement.

De l'eau de mer du bac adulte à la température et au pH souhaités est filtrée à 1 µm pour réaliser toutes les étapes suivantes. Un premier animal est récupéré puis légèrement incisé à la base des bras afin de récupérer un lobe gonadique. Les trois femelles sont d'abord nécessaires pour le protocole de reproduction. Si c'est un mâle, il est remis dans le compartiment des mâles désormais délimité dans le bac. Si c'est une femelle, 3-4 lobes gonadiques sont prélevés, mis dans l'eau filtrée puis successivement rincés pour enlever les œufs relâchés des sacs par la manipulation. Une fois que les œufs des trois femelles sont récupérés, l'incubation dans l'hormone de maturation, la méthyladénine, commence pour 60 min.

Après 40 min d'incubation, les mêmes gestes sont reproduits avec les trois mâles. Les gonades mâles sont placées dans des plaques à 6 puits aussitôt fermées et mises au laboratoire climatisé pour éviter la dessiccation (Fig. 2.11). Elles sont prélevées 40 min après celles des femelles car il a été montré qu'une fois émis, le sperme des mâles devient rapidement moins fonctionnel (Benzie et Dixon, 1994). Une fois les 60 min écoulées, les œufs des femelles sont filtrés à l'aide d'un tamis de maille 500 µm qui retient les sacs gonadiques et permet de ne récupérer que les œufs, dans un bécher de 2 l (Fig. 2.11).

Ensuite, 2 µl de sperme de chaque male sont prélevés afin de laisser une chance de fécondation égale à chacun des mâles puis le tout est dilué dans 15 ml d'eau filtrée pour atteindre un ratio de spermatozoïdes/œufs adéquat (Benzie et Dixon, 1994). Ensuite, 1 ml de ce mélange est prélevé puis relâché et homogénéisé dans le mélange d'œufs – c'est le départ de la fertilisation (=temps 0). Immédiatement après, six prélèvements de 20 µl sont réalisés toutes les 5 min pendant 20 min pour estimer la fertilisation (Fig. 2.11). Ce mélange est ensuite filtré pour éviter la polyspermie en le vidant dans le tamis de 40 µm placé au-dessus d'un bac de javel (1°) afin d'éliminer le surplus de spermatozoïdes. Cette étape est délicate car les œufs fertilisés sont fragiles à ce stade et des mouvements brusques entraînent des dégâts sur les membranes de fertilisation, condamnant ainsi les embryons concernés.

Une fois les œufs fertilisés récupérés, le bécher est rempli jusqu'à 1 l précisément pour permettre de calculer le volume contenant la quantité d'embryon désirée. Ensuite, de nouvelles observations de la fertilisation sont faites comme précédemment pendant 20 min après le rinçage. Cette opération permet de connaitre le nombre d'œufs fertilisés qui ont été abimés pendant le rinçage précédent. Une fois les comptages terminés, un simple ratio permet d'introduire le nombre d'œufs fertilisés ciblé dans le cylindro-conique (1 par ml ; Uthicke et al., 2015).

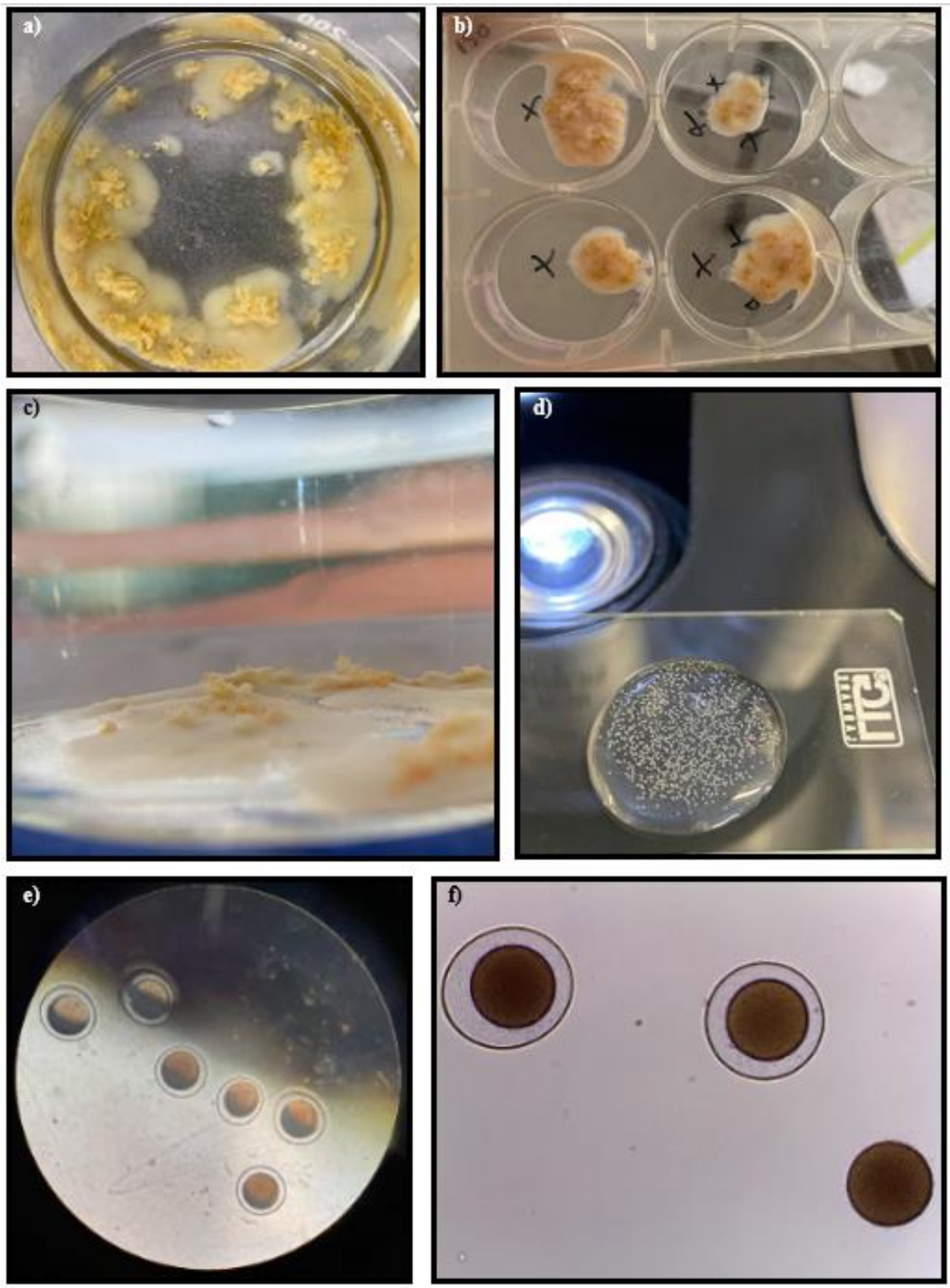


Figure 2-11. Photographies de a) et c) gonades femelles après induction du relargage des œufs b) gonades mâles qui ont émis le sperme d) œufs sur lame pour photographie au microscope ; œufs fertilisés observés e) à la loupe binoculaire (x 50) et f) au microscope (x100) pour quantification du taux de fertilisation (© T. Hue).

2.3 Bac pour l'élevage larvaire, mise en eau et filtration

Des cylindro-coniques en polycarbonate ont été utilisés pour l'élevage des larves. Ces bacs sont utilisés à l'AIMS (*Australian Institute of Marine Science*) depuis de nombreuses années pour l'élevage de larves d'acanthasters. Leur forme sans coin ni bord à l'intérieur permet une circulation permanente des larves empêchant ainsi toute sédimentation. Les cylindro-coniques ont un volume efficace d'environ 15 l et sont fixés au-dessus de chaque bac adulte correspondant (Fig. 2.12). L'eau était acheminée des bacs adultes aux cylindro-coniques avec des pompes immergées (Tetra ; 1 000 $l.h^{-1}$) puis était filtrée plusieurs fois jusqu'à 1 µm avant d'alimenter les larves. Chaque cylindro-conique possède un bullage individuel permettant le mouvement permanent des larves. Enfin, une crépine de filtration était placée à l'intérieur du cylindro-conique afin d'empêcher les larves d'en sortir (Fig. 2.12). Le débit des cylindro-coniques était réglé et vérifié deux fois par jour afin que le volume total soit renouvelé toutes les heures.

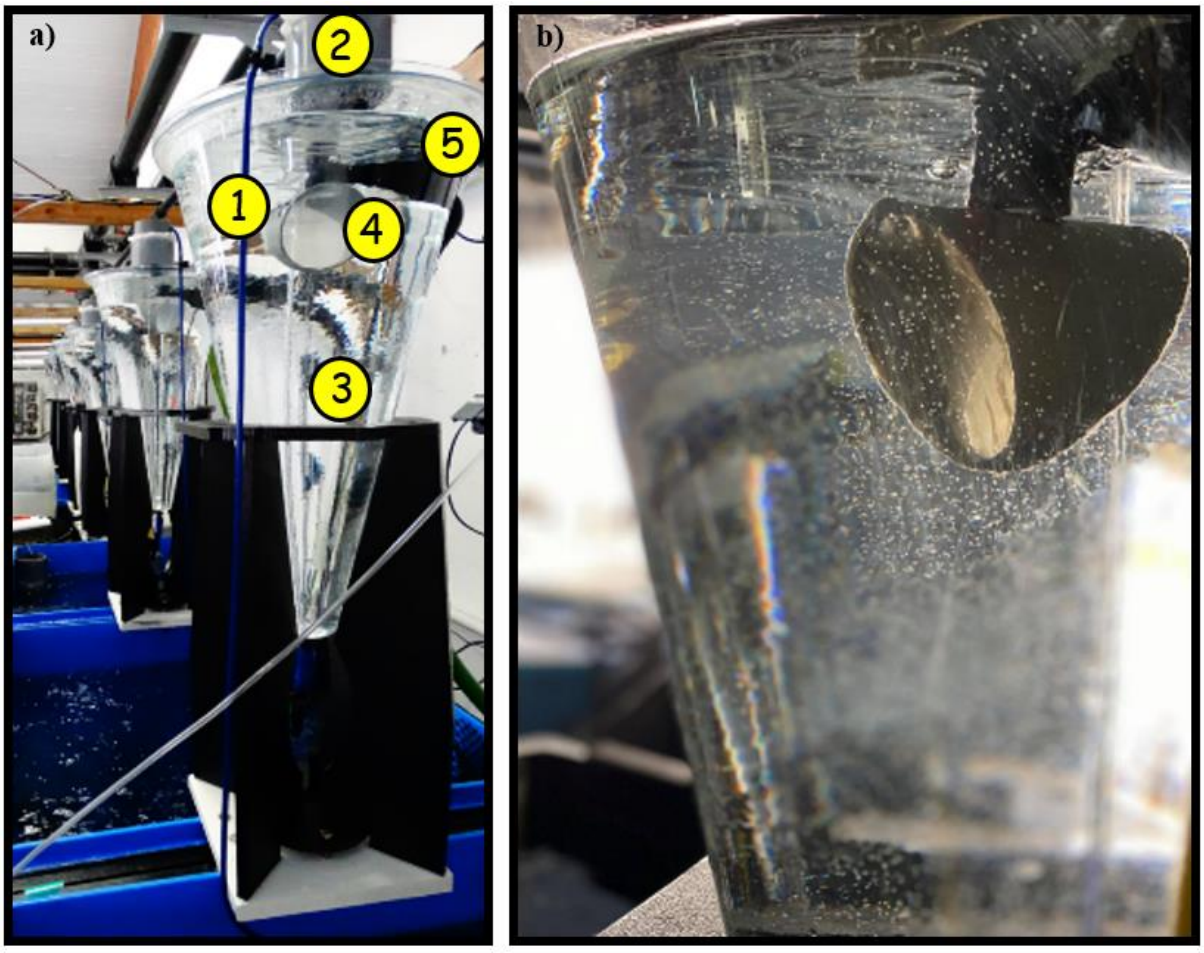


Figure 2-12. Photographies d'un cylindro-conique a) en vue complète avec (1) tuyau 4 mm envoyant l'eau du bac adulte vers le cylindro-conique (2) coupelle de filtration avec filtre de 1 µm (3) bulleur permettant la circulation permanente des larves dans le volume (4) crépine empêchant les œufs/larves de sortir du cylindro-conique (5) passe-coque et coude de surverse ; et b) vue de détail montrant les larves dans la colonne d'eau (© T. Hue).

2.4 Entretiens du système des larves et données collectées

2.4.1 Tâches quotidiennes

Les filtres du système d'alimentation d'eau des cylindro-coniques étaient nettoyés deux fois par jour pour assurer des débits aussi stables que possible, et remplacés toutes les semaines pour garder une filtration optimale et éviter l'encrassage et le colmatage des filtres 1 µm (Fig. 2.13). Des mesures de température et de pH étaient ensuite prises deux fois par jour dans chacun des cylindro-coniques en rinçant l'électrode entre chaque afin d'éviter toute contamination des larves.

2.4.2 Changement d'eau des cylindro-coniques

Tous les trois jours pendant toute la durée de l'élevage larvaire, chaque cylindro-conique était nettoyé et la totalité de l'eau était changée. Tout le matériel nécessaire à cette opération était systématiquement rincé d'abord à l'eau douce puis avec l'eau de mer filtrée à 1 µm dans le bac adulte correspondant au cylindro-conique. Le bullage était déconnecté, le bas du cylindro-conique connecté à un tuyau afin de siphonner le contenu entier du cylindro-conique sur un tamis de 40 µm constamment immergé (Fig. 2.13). Une fois le cylindro-conique vidé, il était nettoyé à l'éponge, rincé à l'eau douce puis rincé et rempli avec l'eau de mer filtrée auparavant. Enfin, les larves y étaient remises ainsi que le bullage et l'alimentation d'eau. Cette étape est certainement la plus délicate de l'expérience car la moindre erreur dans la manipulation des larves peut entrainer une mortalité d'une partie voire de toute la reproduction.

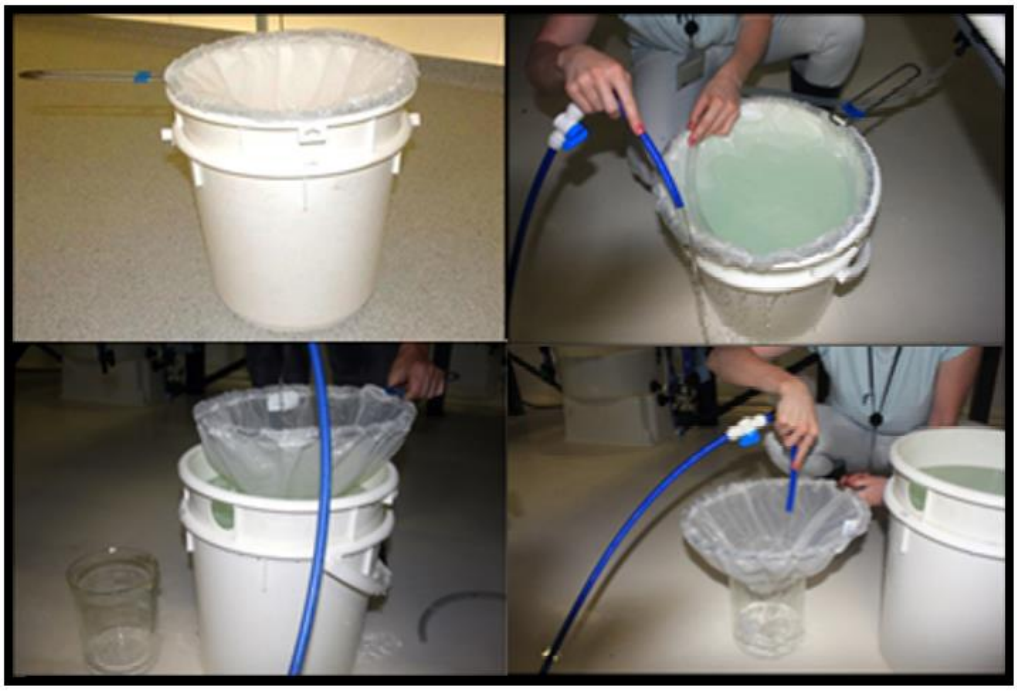


Figure 2-13. Photographies de la méthode de rinçage des larves (© AIMS).

2.4.3 Collecte de données

Vingt-quatre heures après la fertilisation, six échantillons de 5 ml d'eau contenant des larves ont été prélevés dans chaque cylindro-conique avec une seringue graduée et placés dans une plaque à 6 puits afin de quantifier la gastrulation. Un total de cinquante gastrulas choisies aléatoirement a été photographié par reproduction pour les classifier en « normales » vs. « anormales », sur la base de critères détaillés dans Sparks et al., (2017). Une gastrula est qualifiée d'anormale si au moins un des critères suivants n'est pas respecté : archentéron bien développé en forme de « trou de serrure », intégrité cellulaire interne et externe, symétrie longitudinale, taille relativement similaire aux autres (Fig. 2.14). Pour mieux appréhender ce dernier critère, la longueur et largeur de toutes les gastrulas ont été mesurées sur les photographies à l'aide du logiciel ImageJ ; les gastrulas présentant des tailles très différentes des autres ont été classées comme anormales. Enfin, les taux de gastrulation par reproduction étaient estimés en calculant le ratio de gastrulas normales sur le nombre total de gastrulas observé.

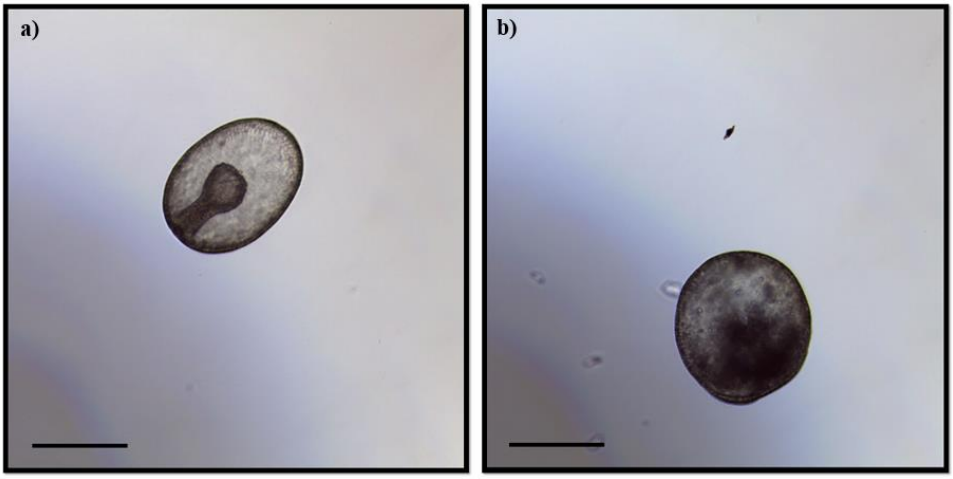


Figure 2-14. Photographies prises sous microscope (Leica DM750 ; X100) ; a) gastrula classifiée comme normale b) gastrula classifiée comme anormale. Echelle = 200 µm (© T. Hue).

Des prélèvements ont ensuite été réalisés tous les jours dans chaque cylindro-conique, du jour 2 au jour 24 après la fertilisation. Le but de ces échantillonnages était de photographier ~30 larves par jour pour ensuite déterminer les stades larvaires et faire des mesures biométriques. Au départ, chaque cylindro-coniques contenait environ 15 000 larves (1 larve par ml, Uthicke et al., 2015) ; 6 échantillons de 5 ml étaient prélevés pour atteindre la cible moyenne de 30 larves par cylindro-conique. L'échantillonnage a été ajusté en augmentant progressivement les volumes prélevés afin de pallier à la mortalité observée les jours suivants. Les volumes collectés couplés avec le nombre de larves photographiées par jour ont permis l'estimation journalière de la densité larvaire au cours du temps.

Après prélèvement, les larves ont été placées dans une solution de chlorure de magnésium ($MgCl_2$) à 7% pour les « détendre » (Caballes et al., 2016 ; Uthicke et al., 2015). Après 5 à 10 min, les larves avaient coulé au fond du puit et il était alors possible de les prélever une par une pour les déposer sur une lame et les prendre en photographie (Leica DM750, grossissement x100). Ces photographies ont permis une meilleure détermination des stades à posteriori et la prise des mesures biométriques à l'aide du logiciel ImageJ (Schneider et al., 2012).

A l'aide de ces photographies, un des quatre stades suivants a été attribué à chaque larve : jeune bipinnaria, bipinnaria avancée, jeune brachiolaria et brachiolaria intermédiaire-avancée (Fig. 2.15). Cette division en quatre stades larvaires a été proposée après avoir compilé les informations présentes dans la littérature existante depuis les années 1980 (Caballes et al., 2016 ; Lucas, 1982 ; Pratchett et al., 2014 ; Uthicke et al., 2015). La détermination a été réalisée avec les critères présentés sur la Fig. 2.16 et dans le Tableau 2.4.

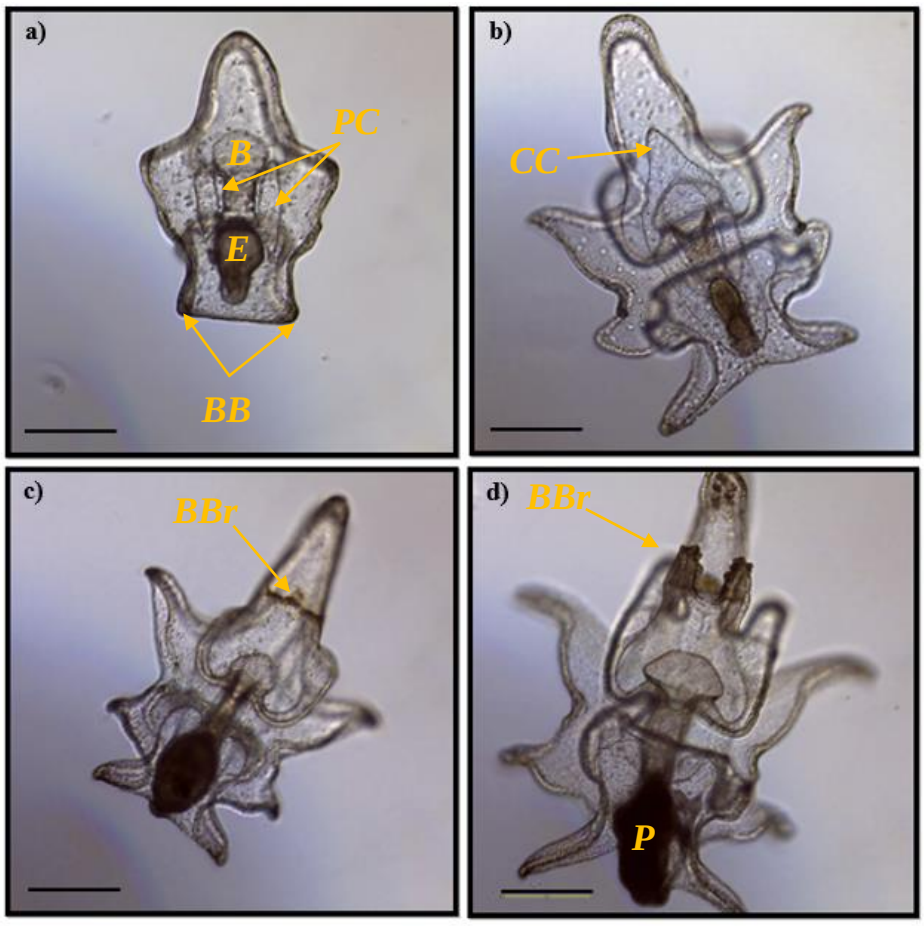


Figure 2-15. Photographies prises sous microscope (Leica DM750 ; X100) ; a) jeune bipinnaria sur laquelle on peut voir l'estomac complètement formé (E) pochettes coelomiques (PC) bras de bipinnaria pas encore bien développés (BA) bouche (B) b) bipinnaria avancée sur laquelle on peut désormais voir que les pochettes coelomiques ont fusionné pour former la cavité coelomique (CC) au-dessus de la bouche. Les bras de bipinnaria sont désormais formés (BB) c) jeune brachiolaria où l'on voit pointer les bras de brachiolaria (BBr) d) brachiolaria intermédiaire - avancée où l'on voit que les bras de brachiolaria se sont allongés (BBr) et le primordium s'est développé (P). Echelle = 200 µm (© T. Hue).

Tableau 2-4. Critères utilisés pour déterminer les différents stades larvaires d'acanthasters.

Jeune bipinnaria	Bipinnaria avancée	Jeune brachiolaria	Brachiolaria intermédiaire-avancée
Canal alimentaire complet et visible	Pochettes cœlomiques ont fusionné pour former la cavité cœlomique au-dessus de la bouche	Bras de brachiolaria commencent à apparaitre	Bras de brachiolaria s'allongent
Pochettes cœlomiques visibles de part et d'autre de la bouche	Bras de bipinnaria développés		Primordium se développe
Bras pas encore bien développés			

L'anormalité des larves a aussi été déterminée pour chacun de ces stades. Une larve était considérée comme anormale si elle était clairement asymétrique, déformée ou rabougrie (Fig. 2.16 ; Kamya et al., 2014 ; Lamare et al., 2014 ; Uthicke et al., 2013).

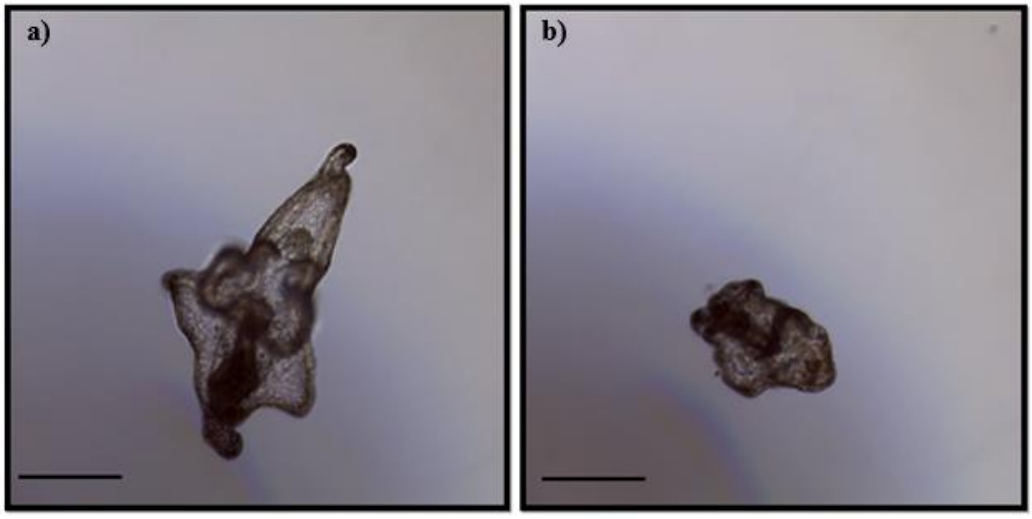


Figure 2-16. a) & b) exemples de larves classées comme anormales sur critères morphologiques, suggérant des problèmes de développement. Echelle = 200 µm (© T. Hue).

Enfin, six mesures ont été réalisées sur chacune de ces larves à l'aide du logiciel ImageJ : la longueur et la largeur totale, l'ouverture de la bouche et de l'estomac et enfin la longueur et la largeur de l'estomac (Fig. 2.17 ; Lamare et al., 2014 ; Uthicke et al., 2015).

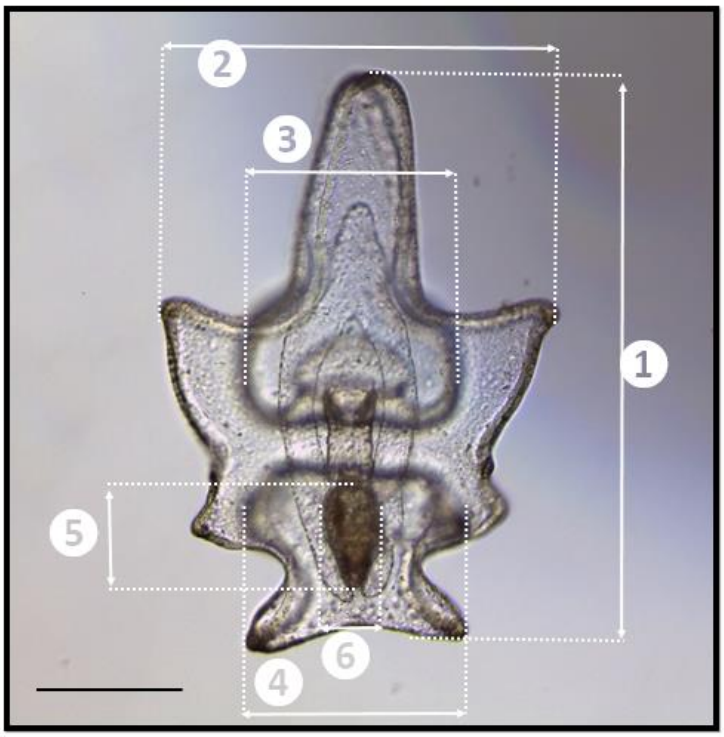


Figure 2-17. Photographie d'une larve montrant les six mesures biométriques réalisées : (1) longueur totale (2) largeur totale (3) ouverture de la bouche (4) ouverture de l'estomac (5) longueur de l'estomac et (6) largeur de l'estomac. Echelle = 200 µm (© T. Hue).

Tableau 2-5. Récapitulatif des données collectées au cours du projet (deux années consécutives d'expérience).

Données collectées	***Fréquence 1ère année***	***Fréquence 2nd année***	***Total collecté***
Température	2x par jour	2x par jour	8 076
pH	2x par jour	2x par jour	8 076
Alcalinité	/	1x par semaine (triplicats)	462
Salinité	/	1x par semaine	154
Mesures œufs	~30 œufs/femelle	~45 œufs /femelle	6 752
Taux de fertilisation	9 mesures par fertilisation	5 mesures par fertilisation	336
Rapport Gonado-Somatique	1/animal = 64	1/animal = 95	159
Taux de gastrulation	/	1 par reproduction (sur 50 embryons)	24
Larves photographiées	>30 par jour par reproduction (→J24)	>30 tous les 2 jours par reproduction (→J21)	17 000
Détermination stades larvaires	/	>30 tous les 2 jours par reproduction (→J21)	6 850
Détermination normalité des larves	/	>30 tous les 2 jours par reproduction (→J21)	6 850
Mesures biométriques des larves	/	>30 tous les 2 jours par reproduction (→J21) x6 mesures	31 236

2.5 Nourrir des larves d'acanthasters

2.5.1 Protocole de nourrissage des larves - première année expérimentale (2018-2019)

Les larves d'acanthasters se nourrissent de phytoplancton. D'après la littérature, plusieurs espèces d'algues ont déjà été utilisées pour de l'élevage de larves d'acanthasters, seule ou mélangées, notamment *Proteomonas sulcata* (Kamya et al., 2014 ; Uthicke et al., 2013a ; Wolfe et al., 2015), *Dunaliella tertiolecta* et *Chaetoceros muelleri* (Caballes et al., 2017a), *Dunaliella* sp. et *Tisochrysis* sp. (Uthicke et al., 2018) ou encore *Chaetoceros* sp., *Dunaliella* sp. et *Phaeodactylum tricornutum* (Uthicke et al., 2015). De nombreuses concentrations ont été testées, allant de niveaux assez faibles, 100 à 1 000 cellules par ml (Pratchett et al., 2017 ; Wolfe et al., 2015), à des niveaux très élevés, jusqu'à 100 000 voire plusieurs millions de cellules par ml (Uthicke et al., 2013a ; Wolfe et al., 2015).

Les souches *Dunaliella* sp. et *Isochrysis* sp. ont été utilisées à une concentration de 10 000 cellules par ml, ce qui correspond à un régime satisfaisant pour les larves d'après Uthicke et al., (2015). Ces souches étaient déjà utilisées à l'aquarium ce qui a facilité la mise en culture, qui a été faite dans un espace aménagé avec des lampes néons étanches et des erlenmeyers de 5 l (cf. protocole en annexe 2.2). Les micro-algues ont été cultivées à partir des cultures mères de l'aquarium dans des milieux stérilisés et enrichis en nutriments équivalent au milieu de Guillard (Guillard et Ryther, 1962). Les courbes de croissance des deux espèces d'algues ont été étudiées pendant 15 jours en les prélevant quotidiennement pour évaluer deux paramètres : 1) le nombre de cellule par ml, compté sous microscope avec une cellule de Malassez (Fig. 2.18) et 2) la concentration en chlorophylle a, estimée par extraction sur acétone au laboratoire de chimie marine de l'IRD (cf. protocole en annexe 2.3 ; Fig. 2.18). Une fois que les courbes de croissance ont été réalisées, le 5ème jour de culture a été choisi comme constituant le meilleur compromis entre une concentration de cellule et de chlorophylle satisfaisante pour nourrir les larves. Après avoir repiqué les deux souches pendant 5 jours consécutifs (Fig. 2.18), 10% de la culture la plus ancienne (J+5) était utilisée chaque jour pour ensemencer une nouvelle et le reste servait à nourrir les larves. Le mélange des 2 x 4.5 l d'algues était placé dans un réservoir de 20 l dans la zone expérimentale. Un système de distribution composé de tuyaux PVC reliés à une pompe d'une part et à des gouttes à gouttes médicaux d'autre part a été utilisé pour nourrir les larves en continu à raison d'un ml par min. Tous les jours à la même heure, le réservoir d'algues était vidé, nettoyé et rempli à nouveau.

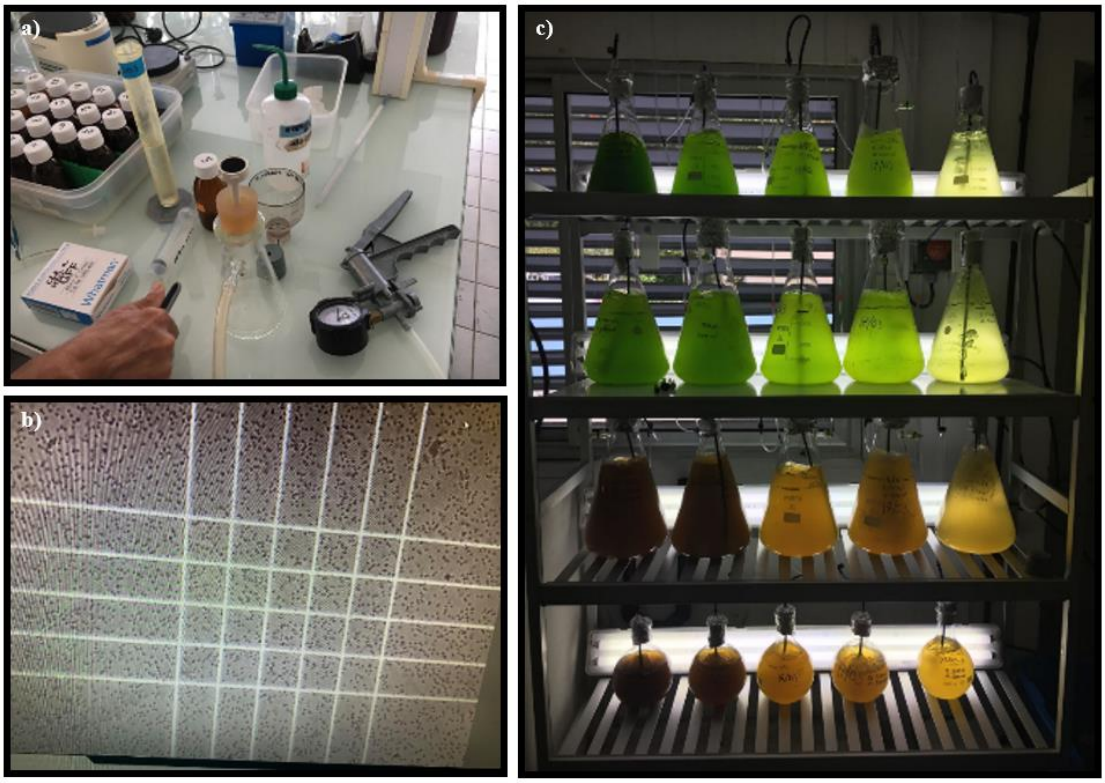


Figure 2-18. Photographies a) matériel utilisé pour la filtration des micro-algues nécessaire à l'extraction de la chlorophylle sur acétone b) comptage des cellules de micro-algues sur une cellule de Malassez et c) espace dédié aux cultures de *Dunaliella* sp. et d'*Isochrysis* sp. (J+5 à J0 de gauche à droite ; © T. Hue).

2.5.2 Problèmes rencontrés

Pendant le premier set de la première année (Février 2019), les larves n'ont pas suivi les étapes du développement larvaire telles que décrites par la littérature (Lucas, 1973 ; Uthicke et al., 2015). Elles ne passaient pas tous les stades, avaient un aspect « rabougri » et n'évoluaient plus (Fig. 2.19).

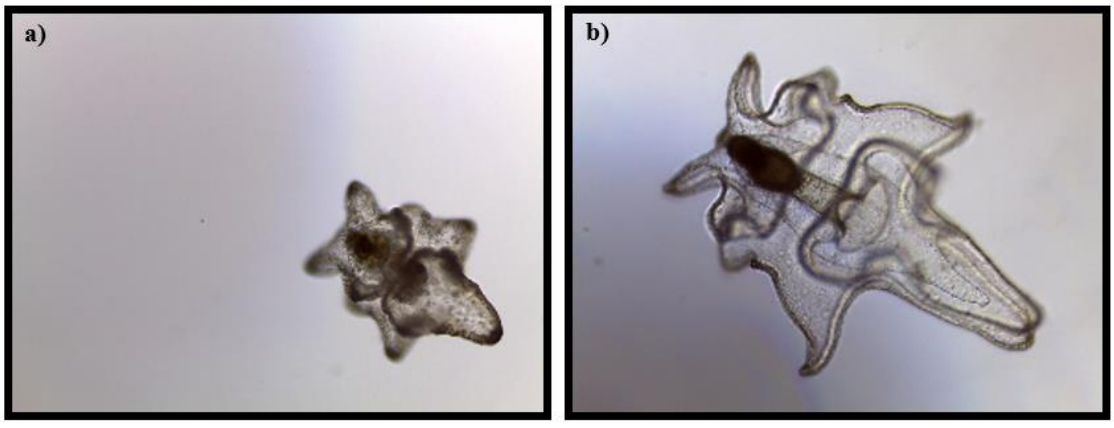


Figure 2-19. Exemples de a) l'arrêt de développement d'une larve durant le premier set de la première année et b) larve issue de la même culture au même jour post-fertilisation la seconde année (© T. Hue).

L'hypothèse d'un sous nourrissage lié aux cultures de micro-algues a été proposée pour expliquer ces arrêts de développement. L'analyse des mélanges de micro-algues a révélé des concentrations en cellule par ml et en chlorophylle insuffisantes. Plusieurs problèmes ont été identifiés, notamment dans le système de distribution. Envoyer des algues sous pression dans les tuyaux a certainement entrainé une sédimentation des micro-algues avant qu'elles ne puissent sortir par les systèmes de goutte à goutte, ce qui explique que les concentrations d'algues soient plus faibles à l'arrivée dans les cylindro-coniques que dans le réservoir original. De plus, l'absence de mouvement continu et de lumière dans le réservoir a certainement engendré une mort accélérée des micro-algues, ce qui explique que les concentrations soient très inférieures à celles des cultures. Enfin, le problème le plus important venait des calculs originaux basés sur des analyses de chlorophylle qui étaient vraisemblablement erronées. Il semblerait que la méthode d'analyse utilisée par le laboratoire de chimie marine de l'IRD ne soit pas adaptée à des cultures de micro-algues. Ce type d'analyse de chlorophylle serait plus adapté pour des échantillons d'eau de mer qui contiennent de très faibles concentrations en chlorophylle. Les échantillons de micro-algues étaient tellement concentrés en chlorophylle qu'ils ont directement colmaté les filtres utilisés, rendant la filtration d'un volume adéquat pour ce type d'analyse impossible. Cela s'est finalement traduit par une surestimation importante des quantités de chlorophylle.

Puisque les larves ne grandissaient plus, la décision d'arrêter le set expérimental a été prise afin de régler les problèmes de micro-algues et de relancer un autre set. Le système de distribution des algues a d'abord été modifié : le réservoir a été remplacé par un aquarium de 20 l muni d'une lampe étanche, ce qui a permis un meilleur maintien des cultures et de réduire la mortalité des algues en 24h. Ensuite, le réseau de distribution des micro-algues a été modifié pour qu'il fasse une boucle qui démarrait et arrivait dans l'aquarium, permettant ainsi une circulation continue des algues. Enfin, pour avoir des valeurs de chlorophylle associées aux souches cultivées, les analyses ont été refaites avec l'aide du personnel technique et scientifique de l'ADECAL Technopole (IFREMER) qui a pu nous conseiller des méthodes adaptées à des cultures de micro-algues (protocole présenté dans l'annexe 2.4). Une fois les valeurs de chlorophylle acquises, la production de micro-algues a été augmentée : puisqu'il serait difficilement possible de faire des cultures plus concentrées avec un risque faible, le double des cultures initiales serait cultivé, toujours sur 5 jours suivant les mêmes méthodes. Néanmoins, lors du second set, les gouttes à gouttes médicaux se sont révélés d'une précision non satisfaisante car ils se déréglaient sans cesse. Le nourrissage des larves a donc posé problème et était à améliorer.

2.5.3 Protocole de nourrissage des larves - seconde année expérimentale (2019-2020)

Pour régler le problème de distribution des micro-algues, la méthode a été changée suivant Kamya et al. (2014). La quantité d'algues ciblée était distribuée dans chaque cylindro-conique et le renouvellement d'eau était stoppé pendant 90 min. Kamya et al. (2014) a montré que ce laps de temps était un bon

compromis pour laisser le temps aux larves de se nourrir sans que les paramètres de l'eau des cylindro-coniques ne varient trop. Les larves étaient nourries une fois par jour à partir de J+3 (vers midi), puis deux fois à partir de J+5 (milieu de matinée et d'après-midi) et enfin 3 fois par jour à partir de J+7 jusqu'à J+21 (après des échanges avec le Dr. Sven Uthicke, il a été décidé d'élever les larves jusqu'à 21 jours après la fertilisation pour la seconde année expérimentale, et non plus 24 comme lors de la première année). Alors que certaines études ont décidé de ne pas nourrir les larves du tout (Caballes et al., 2016), le but ici était d'éliminer le paramètre nourriture comme potentiel facteur limitant. Pour cela, les larves étaient nourries avec des algues à une concentration de 10 000 cellules par ml qui correspond au niveau « complètement rassasié » d'après Uthicke et al. (2015).

Pour améliorer la qualité des algues produites, un partenariat a été établi avec l'équipe en charge du projet AMICAL (IFREMER / ADECAL-Technopole), dont l'objectif est de sélectionner des espèces de micro-algues locales à fort potentiel aquacole. Avec leur aide, deux photo-bioréacteurs de 120 l ont été mis en culture, un pour chacune des souches cultivées (Fig. 2.20 ; protocole présenté dans l'annexe 2.5). Les photo-bioréacteurs possèdent deux modes de production distincts : a) un mode « batch » où la culture croit, atteint un plateau puis chute - de façon similaire au mode de culture employé à l'aquarium lors de la première année expérimentale ; b) un mode « continu », initié lorsque la culture a atteint son plateau. Permettant de cultiver des algues d'une qualité biochimique constante, c'est le mode qui a été employé pour améliorer la nutrition des larves d'acanthaster lors de la seconde année expérimentale. Un photo-bioréacteur en mode continu est une enceinte close éclairée en permanence, où il y a autant de volume entrant (eau de mer filtrée + nutriments) que de volume sortant (algues à une certaines concentration). Une fois que le système est équilibré, l'ajout de CO_2 couplé à un ajout de nutriments permanent permet d'avoir une culture de micro-algues de concentration stable. Les concentrations en cellule d'algues par ml étaient bien plus élevées avec ce système qu'avec les cultures en erlenmeyers utilisées la première année. Avant d'être ensemencés, les photo-bioréacteurs étaient nettoyés et stérilisés à l'acide. Ensuite, une fois que la culture démarrait, il n'y avait plus aucun contact avec l'extérieur et donc plus de risque de contamination. Les cultures étaient faites avec de l'eau de mer filtrée à 0,2 μm et enrichie avec du milieu de Walne (Walne, 1966). La température et le pH étaient régulés à l'aide de sondes et d'injections de CO_2 (voir matériel supplémentaire du Chapitre 4). Pour vérifier la concentration en micro-algues dans chacun des photo-bioréacteurs, deux méthodes étaient utilisées : des mesures de densité optique ont été prises tous les jours au spectrophotomètre (680 et 800 nm) et des comptages sur cellule de Malassez ont été réalisés 3 fois par semaine. Le protocole de mise en route et entretiens des photo-bioréacteurs de l'ADECAL Technopole est joint en annexes (cf. annexe 2.5).



Figure 2-20. Photographie des deux photo-bioréacteurs de 120 l en cours de culture de *T-Isochrysis* sp. (gauche) et de *Dunalliela* sp. (droite). Ces appareils ont été mis en place dans les locaux de l'Adecal Technopole (© T. Hue).

3. Autres problèmes rencontrés

3.1 Pollution de l'eau des larves par le stress des adultes

La première année, nous avons rencontrés des problèmes de pollution de l'eau des cylindro-coniques par l'eau provenant des bacs des adultes (Fig. 2.21). Lors du premier set de la première année (Février 2019), tout a bien fonctionné avec un stress minimal des adultes après les incisions nécessaires pour la reproduction. En revanche, lors du second set de la première année (Mars 2019), les animaux étaient plus stressés après les reproductions et certains d'entre eux ont relâché du mucus dans les bacs. Bien que l'eau des adultes soit filtrée avant d'être envoyée aux larves, cela était surtout efficace pour retenir les particules importantes en suspension, mais pas suffisant pour enlever tout ce que les adultes avaient relâché dans l'eau. Il est probable que le mucus dans l'eau des adultes ait entrainé un développement bactérien ce qui a engendré de la mortalité dans certains des cylindro-coniques. Le même problème s'est présenté lors des rares fois où des animaux sont morts dans les bacs et que l'eau polluée des adultes était envoyée aux larves.

Quand il y avait une proportion importante d'embryons morts dans un cylindro-conique, la reproduction était alors recommencée sans remettre les adultes dans les bacs pour empêcher la pollution de l'eau. Au lieu de cela, les gonades des animaux étaient prélevées pour calculer les rapports gonado-somatiques (RGS : indice qui permet d'estimer la maturité sexuelle d'une acanthaster ; Conand, 1983) puis les animaux étaient sacrifiés. Cette méthode s'est révélée efficace pour éliminer les problèmes de contamination dus au stress des adultes. Néanmoins, sacrifier les adultes acclimatés était aussi risqué car il n'était alors plus possible de refaire des reproductions en cas d'aléas survenus durant les 24 jours suivants.

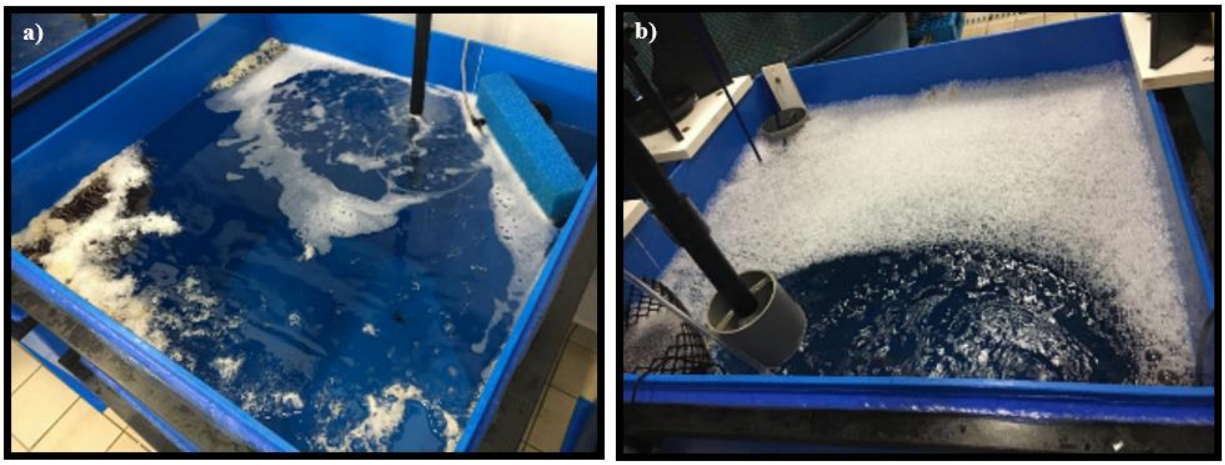


Figure 2-21. Photographies a) et b) montrant des réactions de stress des animaux (© T. Hue).

3.2 Solutions apportées la seconde année expérimentale (2019-2020)

Pour éviter de devoir sacrifier les adultes acclimatés en cas de stress post-opératoire, un bac tampon de 120 l a été rajouté au-dessus des bacs adultes la seconde année (Fig. 2.22). Désormais, les paramètres de l'eau étaient modifiés dans ce bac puis l'eau était distribuée dans le cylindro-conique pour les larves et dans le bac adulte. Afin de maintenir des températures stables au cours du temps, il a été nécessaire d'ajouter une seconde résistance chauffante dans le bac technique (là où elle se trouvait jusqu'à maintenant) couplée à l'aide de connecteur étanche à celle qui se trouvait désormais dans le bac tampon. Ce bac tampon a permis de séparer totalement l'eau des larves et des adultes et d'éliminer ainsi toutes contaminations des larves.



Figure 2-22. Vue générale du système modifié pour la deuxième année d'expérience (© T. Hue).

En conclusion de ce chapitre de méthodologie :

La première année, nous n'avons pas réussi à compléter le cycle larvaire à cause des divers problèmes évoqués dans ce chapitre. Néanmoins, nous avons pu récolter des données relatives aux performances de reproduction des acanthasters, notamment sur les œufs des femelles, la quantité d'œufs de chaque animal et enfin leurs succès de fertilisation. Ces données ont permis une première valorisation, présentée dans le chapitre suivant. Après avoir solutionné les problèmes techniques de la première année, les expérimentations de la seconde année ont pu se dérouler comme prévu, et ont permis de collecter un jeu de données bien plus conséquent (présenté dans le chapitre 4).



Figure 2-23. Photographie d'une acanthaster en face ventrale (© T. Hue).



Chapitre 3

Publication 1

Temperature affects the reproductive outputs of coral-eating starfish *Acanthaster* spp. after adult exposure to near-future ocean warming and acidification

1

Chapitre 3 : Publication 1

Temperature affects the reproductive outputs of coral-eating starfish *Acanthaster* spp. after adult exposure to near-future ocean warming and acidification

Marine Environmental Research 162 (2020) 105164

Contents lists available at ScienceDirect

Marine Environmental Research

journal homepage: http://www.elsevier.com/locate/marenvrev

Temperature affects the reproductive outputs of coral-eating starfish *Acanthaster* spp. after adult exposure to near-future ocean warming and acidification

Thomas Hue [a,b,*], Olivier Chateau [c], Gael Lecellier [a,b,d], Mohsen Kayal [a,b], Noeline Lanos [c], Hugues Gossuin [c], Mehdi Adjeroud [b,e,f], Pascal Dumas [a,b]

[a] IRD, UMR 9220 ENTROPIE, BP A5, Noumea, New Caledonia
[b] Laboratoire d'Excellence "Corail", 58 avenue Paul Alduy, 66860, Perpignan, France
[c] Laboratory of Marine Biology and Ecology, Aquarium des lagons, 98807, Noumea, New Caledonia
[d] Université de Paris-Saclay, UVSQ, 45 avenue des Etats-Unis, Versailles Cedex, France
[e] UMR 9220 ENTROPIE, IRD, Université de la Réunion, CNRS, IFREMER, Université de la Nouvelle-Calédonie, Perpignan, France
[f] PSL Université Paris, USR 3278 CRIOBE, EPHE-UPVD-CNRS, Perpignan, France

Résumé

Les infestations des étoiles de mer corallivores du genre *Acanthaster* menacent significativement les récifs coralliens à l'échelle mondiale. Malgré les efforts de recherche, on ne sait toujours pas comment les populations d'acanthasters vont se comporter face au changement climatique. Comme la reproduction est un processus clef pour la compréhension des infestations, nous avons étudié le succès reproductif d'adultes acclimatées pendant 3-4 mois à différents niveaux de température (ambiante ou +2 °C) et de pH (ambiant ou réduit de 0,35 unités – pH 7,75). Nos résultats suggèrent que la saison de reproduction optimale en Nouvelle-Calédonie se concentre vers la fin de l'année (décembre - janvier), quand la température de l'eau dépasse 26 °C. Nous avons montré des effets négatifs de la température sur les œufs, les taux de fertilisation et les rapports gonado-somatiques (RGS), ce qui va à l'encontre de la littérature. Dans les conditions chauffées, les taux de fertilisation ont été divisés par 3 en fin de la période de reproduction. En revanche, nous n'avons détecté aucun effet de l'acidification sur les taux de fertilisation ni sur les RGS. C'est la première fois que la reproduction des acanthasters est comparée chez des individus acclimatés à différentes conditions de température et de pH. Nos résultats soulignent

l'importance de prendre en compte une période d'exposition des adultes pour mieux comprendre comment la reproduction des acanthasters pourra être affectée face au changement global.

Abstract

Outbreaks of the coral-eating crown-of-thorns starfish *Acanthaster* spp. (COTS) have become to be amongst the most severe threats to coral reefs worldwide. Although most research has focused on COTS early development, it remains unclear how COTS populations will keep pace with changing ocean conditions. Since reproduction is a key process contributing to outbreaks, we investigated the reproductive success of adult COTS acclimated for 3-4 months to different treatment combinations of ambient conditions, ocean warming (+2 °C) and acidification (-0.35 pH). Our results suggest that the optimal breeding season in New Caledonia is concentrated around the end of the calendar year, when water temperature reaches >26 °C. We found negative effects of temperature on egg metrics, fertilisation success, and GSI, conflicting with previously documented effects of temperature on echinoderm reproductive outputs. Fertilisation success dropped drastically (more than threefold) with elevated temperature during the late breeding season. In contrast, we detected no effects of near-future acidification conditions on fertilisation success nor GSI. This is the first time that COTS reproduction is compared among individuals acclimated to different conditions of warming and acidification. Our results highlight the importance of accounting for adult exposure to better understand how COTS reproduction may be impacted in the face of global change.

Keywords: Adult exposure, Ocean warming, Ocean acidification, Crown-of-thorns starfish, Reproductive outputs

1. Introduction

Coral reefs worldwide are severely impacted by large-scale disturbances and local stressors such as thermally induced bleaching events, cyclones, overfishing, water pollution, sedimentation, and increasingly, outbreaks of the coral-eating crown-of-thorns starfish *Acanthaster* spp. (COTS) (Bruno and Selig, 2007; Hoegh-Guldberg et al., 2007b; Hughes et al., 2017c, 2017a, 2010; Kayal et al., 2012; Leray et al., 2012). Most Indo-Pacific reefs have already been impacted by COTS outbreaks, leading to growing concerns that they are becoming more frequent (Bellwood et al., 2004; Brodie et al., 2005; Dumas et al., 2015; Pratchett et al., 2014). For instance, the Great Barrier Reef (GBR) suffered a 21% decline in coral cover over 27 years due to recurrent COTS outbreaks alone (De'ath et al., 2012). These outbreaks are also impacting coral reefs in New Caledonia where local densities of >10,000 ind.ha^{-1}

and significant damages to coral communities have recently been reported, e.g. up to 92% loss in coral cover in some reefs (Adjeroud et al., 2018; Buttin, 2018; Sulu et al., 2002). Despite intensive research effort over the last two decades, triggers for COTS outbreaks remain mostly unresolved, making predictions of future events challenging (Pratchett et al., 2014). However, the most widely accepted hypothesis is currently the eutrophication hypothesis, stating that agricultural land runoff, making more phytoplankton available, would ultimately improve larvae survival (Fabricius et al., 2010). To further confound predictions, the Intergovernmental Panel on Climate Change estimates an ocean warming of 2 °C and a pH decrease to 7.75 by 2100 for the "business-as-usual" scenario (IPCC, 2014). Recent studies suggest that these near-future ocean conditions could benefit COTS early life stages, potentially resulting in increased outbreaks as climate change continues. For example, a 2 °C warming of the sea surface temperature coupled with eutrophication may increase COTS larval survival by 240% (Uthicke et al., 2015), while ocean acidification to a pH_{NIST} of 7.6 could enhance juvenile growth (Kamya et al., 2016).

COTS development has been widely studied in the context of global change, from early embryonic stages to juveniles (Allen et al., 2017; Caballes et al., 2017b; Kamya et al., 2018, 2017, 2016, 2014; Lamare et al., 2014; Sparks et al., 2017; Uthicke et al., 2015, 2013a). For example, research conducted on the Great Barrier Reef on thermal tolerance of COTS fertilisation processes showed that 28 °C was the optimum temperature, with no significant decrease in fertilisation rates up to 31 °C (Rupp, 1973). These results were supported with high fertilisation rates (>80%) observed between 24 °C and 32 °C (Caballes et al., 2017b). In terms of ocean acidification effect on COTS fertilisation success, the results are varied. While some authors predicted negative effects on the fertilisation rates from a pH_{NBS} of 7.70 (Uthicke et al., 2013a), others found no effects of pH_{NIST} down to 7.60 (Caballes et al., 2017b). These discrepancies could be related to differences in experimental protocols, for example in terms of the number of adults used for the fertilisation trials, i.e. 4 versus 3 males and 5 versus 2 females in Uthicke et al. (2013) and Caballes et al. (2017b) respectively. It has been suggested that moderate differences in protocols may lead to conflicting results, especially when parameters that exert a major influence on the outcome of fertilisation assays are considered (review in Byrne, 2012). Similarly, the environmental conditions experienced by adult COTS during gonad development could also affect the experimental outcomes. However, to date, deliberate exposure of broodstock to warming and acidification has not been conducted, which makes it difficult to accurately predict the potential impacts of altered ocean conditions on COTS reproductive processes.

Exposing broodstock to modified environmental conditions during gametogenesis and gonad maturation is an important step towards a more realistic experimental approach to global change studies (Byrne et al., 2020). This approach may allow for transgenerational plasticity, i.e. a phenotypic change in offspring in response to the environmental stress experienced by broodstock prior to fertilisation (reviewed in Ross et al., 2016). While no studies have performed such an approach on COTS yet, there

are some examples of studies that have exposed adults of other echinoderms, to determine plasticity on reproductive outputs such as egg quality, quantity and fertilisation success of sea urchins. For example, female fecundity of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* decreased 4.5-fold after a 4 month exposure to an elevated pCO_2 during the reproductive conditioning period (Dupont et al., 2013). Moreover, this exposure had negative carry-over effects over subsequent life-history stages, with 5 to 9 times less offspring reaching the juvenile stage. Comparatively, Suckling et al. (2015) showed that sea urchins *Sterechius neumayeri* adult exposed to warming (+2 °C) and/or acidification (-0.3 and -0.5 units) for 6 months had higher fertilisation success (+17%) but on average ~12% smaller eggs than animals kept in control conditions. Nevertheless, a 6 week exposure of adult sea urchins *Echinometra mathaei* to either control or different elevated pCO_2 treatments (485-1770 µtam) did not make the progeny more resilient or sensitive to the treatments (Uthicke et al., 2013b). These few examples illustrate the potential importance of parental exposure as it could produce transgenerational plasticity responses and buffer the effects of ocean acidification on echinoderm populations (and different marine taxa, see Ross et al., 2016). Similarly, it appears that exposing broodstock to different temperatures during the reproductive conditioning phase could dramatically shift the thermotolerance of embryos and larvae (Byrne, 2012). This may be a consequence of temperatures in the ovary imprinting on eggs. Indeed, collected sea urchins *Heliocidaris tuberculata* have higher fertilization rates at the experimental temperature that aligns closest to their collection temperature, rather than any "optimal" breeding temperature for the population (O'Connor and Mulley, 1977). However, it has been showed that echinoderm fertilisation, including COTS, seems resilient to moderate temperature increases as expected during the coming century (Rupp, 1973). Nevertheless, considering the combined effects of warming and acidification is critical, as they are expected to simultaneously impact marine organisms. Furthermore, it is currently unknown if transgenerational plasticity responses will be possible with multiple stressors, therefore making predictions difficult in the current context of global change studies.

The present study is the first to acclimate adult COTS to modified environmental conditions for several months prior to assessing potential transgenerational plasticity responses. An increase of maternal provisioning is one adaptive strategy associated with transgenerational plasticity responses: adults exposed to stressful environments would invest more energy per egg to the detriment of fecundity to increase the subsequent life stage fitness in this non-optimal environment (Allen et al., 2008). It has been suggested that egg size is directly linked to fertilisation success, as larger eggs would have more probability to encounter spermatozoids (review in Levitan, 2006). Therefore, we focused on three proxies to evaluate COTS reproductive outputs: a) egg quality, assessed by a set of complementary criteria of size and shape (Ayukai et al., 1996; Caballes et al., 2017a, 2016), b) fertilisation success, and c) egg quantity estimated with the gonado-somatic index (GSI). To test for possible transgenerational plasticity effects, we exposed adult COTS to near-future ocean warming and acidification (2 °C warming, pH 7.75) following the "business-as-usual scenario" for 2100 (IPCC, 2014), prior to

investigate their reproductive outputs. We hypothesize that COTS in the experimental treatments of our study (higher temperature and/or lower pH) might have lower GSI but larger eggs compared to the control treatment, following a possible maternal provisioning effect. Moreover, from the known literature on COTS fertilisation, we predict that fertilisation success would not be affected by +2 °C neither by a pH target of 7.75, and would, if anything, be enhanced if COTS eggs are indeed larger. In the current context where COTS outbreaks constitute a major threat to coral reefs, this study attempts to better understand and forecast the future effects of climate change on COTS biology and dynamics. This study may also provide valuable information for local conservation and management efforts in New Caledonia, where 15,743 km^2 of reefs and lagoons were recently enlisted as a UNESCO World Heritage site.

2. Material & Methods

2.1 Study species, collection sites

About a hundred adult specimens of *Acanthaster* spp. were collected over two consecutive years, respectively in late October 2018 on the shallow fringing reefs near the Redika islet and in late August 2019 on the West benches, two mid-shelf reefs located in the southwestern lagoon of New Caledonia (22°30'S, 166°36'E, and 22°26'S, 166°29'E, respectively; Fig. S3.1). Within one hour of collection, COTS were transported to the Aquarium des Lagons facilities in coolers filled with seawater renewed every 20 minutes (Fig. S3.1). Individuals were then stored in flow-through 3000 l raceways for one week prior to the experiments. Several gonadic lobes were collected per specimen by incising the proximal end of one arm and sex was determined microscopically, depending on the presence of eggs or spermatozoid in the lobes (Conand, 1983). The individuals were distributed into 12 tanks of 500 l (2018: three males and three females per tank, n=72; 2019 four males and four females per tank, n= 96), as a compromise between maximizing genetic pool and avoiding overcrowded tanks (Ayukai et al., 1996; Kamya et al., 2017; Uthicke et al., 2015). A multiple parent approach was chosen to reflect a population of natural spawners and to avoid the potential maternal and paternal effects characteristics of single dam-sire crosses (Caballes et al., 2016; Palumbi, 1999; Sparks et al., 2017).

2.2 Experimental treatments

All tanks were supplied with flow-through seawater pumped from 5 m deep in nearshore waters facing the aquarium facility. Filtered Seawater was obtained by using 5 µm cartridge filters set at a flow rate of 1 $l.min^{-1}$. Tanks were haphazardly allocated to one of four different treatments (three replicates × four treatments; see details below and in Fig. S3.2). Each of the 12 tanks had temperature and pH controlled

independently, in order to avoid pseudo-replication and follow appropriate design guidelines (Cornwall and Hurd, 2016). Depending on the desired treatment, seawater was manipulated to the target condition inside a technical compartment that acted as a header tank: water overflowed into this compartment, where it was warmed and/or acidified, and sent back to the tank by submersible Tetra aquarium pumps (1000 $l.h^{-1}$) to homogenise large quantities of water at the target conditions. COTS were exposed to one of the four following treatments: *Control*: ambient seawater parameters not modified. *Acidification* (elevated CO_2): pH_{NIST} target was a 0.35 decline from ambient to approximately 7.75. This treatment represents the upper values of ocean acidification projected for the end of the century (IPCC, 2014). Water acidification was obtained by bubbling pure CO_2 through solenoid valves. In each tank, pH was monitored and regulated continuously using an IKS Aquastar pH-stat system (accuracy ± 0.05 pH units). Electrodes were calibrated using standardized NBS buffers and adjusted each day to the desired pH_{NIST} using a Mettler Toledo 1140 pH meter with an InLab Expert DIN temperature compensated probe; the probe was calibrated weekly using standardized NIST precision buffers. *Warming* (elevated temperature): temperature was increased by 2 °C compared to control conditions. This treatment represents the ocean warming projected by the "business as usual" scenario for the end of the century (IPCC, 2014). Temperature was adjusted once a week to keep the +2 °C delta constant, while following the natural (seasonal) temperature changes. During the week, if the delta between ambient and elevated temperature treatments varied by >50% (i.e. ± 1 °C), it would be immediately readjusted to keep the +2 °C delta as stable as possible during the experiment. Temperature was controlled using 300 W titanium aquarium heaters (Tetra, HT) plugged with electronic temperature controllers (DR 983 Eliwell). *Acidification and Warming* (elevated CO_2 and elevated temperature): a combination of the two previous treatments, i.e ambient temperature +2 °C and pH 7.75.

Temperature and pH_{NIST} were progressively modified in the corresponding tanks, to reach target conditions over a week. Temperature and pH_{NIST} were measured twice a day in all tanks using a Mettler Toledo 1140 pH meter with an InLab Expert DIN temperature compensated probe. Total alkalinity was measured on water samples collected and filtered through 0.45 µm syringes and immediately analysed by titration. The pH_{NIST} was measured at 0.1 ml increments of 0.01 N HCl at 25 °C using a Schott Titroline Easy® titration system. Three replicates of 20 ml were analysed. Total alkalinity (A_T) was calculated from the Gran function applied to pH variations from 4.2 to 3.0 as mEq l^{-1} from the slope of the curve HCl volume versus pH. Parameters of the CO_2 system were calculated with the free access CO2SYS Systat package using the dissociation constants of Dickson & Millero (Dickson and Millero,

1987) (Table 3.1). It is worth noting that due to logistical constraints, we could not measure alkalinity for the experiment in 2018-2019, but we did it for the second one in 2019-2020 (Table 3.1). However, as the whole system was rigorously the same for both experimental periods, it is not expected to be an issue.

Tableau 3-1. Seawater physicochemical conditions for the 2019-2020 adult exposure experiment.

Treatment	*pH_{NIST}*	*Temperature*	*DIC (µmol kg-1)*	*pCO_2 (µatm)*	*HCO^{3-} (µmol kg-1)*	*CO_3^{2-} (µmol kg-1)*	*A_T (µmol kg-1)*	*Ω Ca*	*Ω Ar*	*Salinity*
Control	8,01 ± 0,01	Ambient	2199,6 ± 7,2	548.4 ± 11.3	1981 ± 7,7	203,5 ± 2,05	2473.4 ± 6.9	4.91 ± 0.07	3.24 ± 0.04	34,83 ± 0,01
Acidification	7,74 ± 0,002	Ambient	2309,5 ± 7,1	989.2 ± 17.3	2149,3 ± 7,2	132,9 ± 1,4	2470.5 ± 6.8	3.20 ± 0.05	2.12 ± 0.03	34,81 ± 0,01
Warming	8,00 ± 0,006	Ambient +2°C	2183,8 ± 7	555.2 ± 6.1	1957,1 ± 7,1	212,1 ± 1,5	2470.2 ± 6.9	5.14 ± 0.03	3.42 ± 0.02	34,82 ± 0,01
Acidification & Warming	7,72 ± 0,01	Ambient +2°C	2298,4 ± 7,1	1022.7 ± 16.6	2133,3 ± 7,5	138,4 ± 1,9	2467.7 ± 6.6	3.35 ± 0.04	2.23 ± 0.03	34,82 ± 0,01

Values for DIC (Dissolved Inorganic Carbon), pCO_2, HCO^{3-}, CO_3^{2-}, Ω calcite and Ω aragonite were calculated from salinity, temperature, pH_{NIST} and total alkalinity using the CO2sys software (means ± SE). Temperature values are presented separately in Fig. 3.1, as they varied seasonally and could not be averaged. (n=30 except for pH where n=435). In 2018-2019, pH values were (mean ± SE): 8.08 ± 0.03 (Control); 7.75 ± 0.001 (Acidification); 8.06 ± 0.02 (Warming), 7.75 ± 0.03 (Acidification & Warming); n=415 for the 4 treatments.

2.3 Adult exposure and spawning

COTS specimens were kept under the four treatment conditions for a 3-4 month exposure period, overlapping with the COTS natural spawning season in New Caledonia (October-November to February-March; Conand, 1983) (Fig. 3.1). To date, the only available data on COTS in New Caledonia gives a reproduction season extending from November to February (Conand, 1983). Therefore, we repeated our experiment two years in a row, to perform reproduction both during the early and late known season period, aiming to provide a more specific time frame for COTS natural peak spawning. However, none of the animals were able to reproduce at the start of exposure showing that all of them spent part of their gametogenesis exposed to the treatments. Two fertilisation trials were performed each year using the same specimen: the first at the end of the exposure period, and the second one month later (Fig. 3.1; ocean temperatures for both experimental periods are provided in Fig. S3.3). During the first 3 months, COTS were fed twice a week with 50 g of seafood mix (squids, fishes, mussels) per tank. Feeding was stopped after the first fertilisation trial to minimize water pollution. Cumulative mortality was very low, i.e. <7% and 1% by the end of each year's experiments, respectively. Nevertheless, as 4 out of 6 animals died in a single tank (acidification treatment) the first year, we chose to exclude this tank from the analyses.

Spawning induction and *in vitro* reproduction were carried out using the methods described by Uthicke et al. (2015). For all steps, we used 1 µm filtered seawater from the corresponding tanks. In each tank, ovaries from each female COTS were collected and rinsed multiple times with sea water to eliminate loose eggs, then placed in maturation-inducing hormone (10^{-4} 1-méthyladenine diluted in ~200 ml of sea water). Testes were then collected from each male, and placed in covered well plates to prevent desiccation. After 60 minutes, eggs were washed through a 500 µm mesh to retrieve eggs without the gonadic envelopes and pooled together resulting in a stock solution of approximatively 350 eggs ml^{-1}. Two µl of sperm were collected from each male and diluted to 15 ml of seawater. One ml of this mix was then added in the egg stock solution achieving a sperm to egg ratio of approximately 50:1 (Kamya et al., 2014). Gametes of the males and the females were pooled to simulate a population of natural spawners.

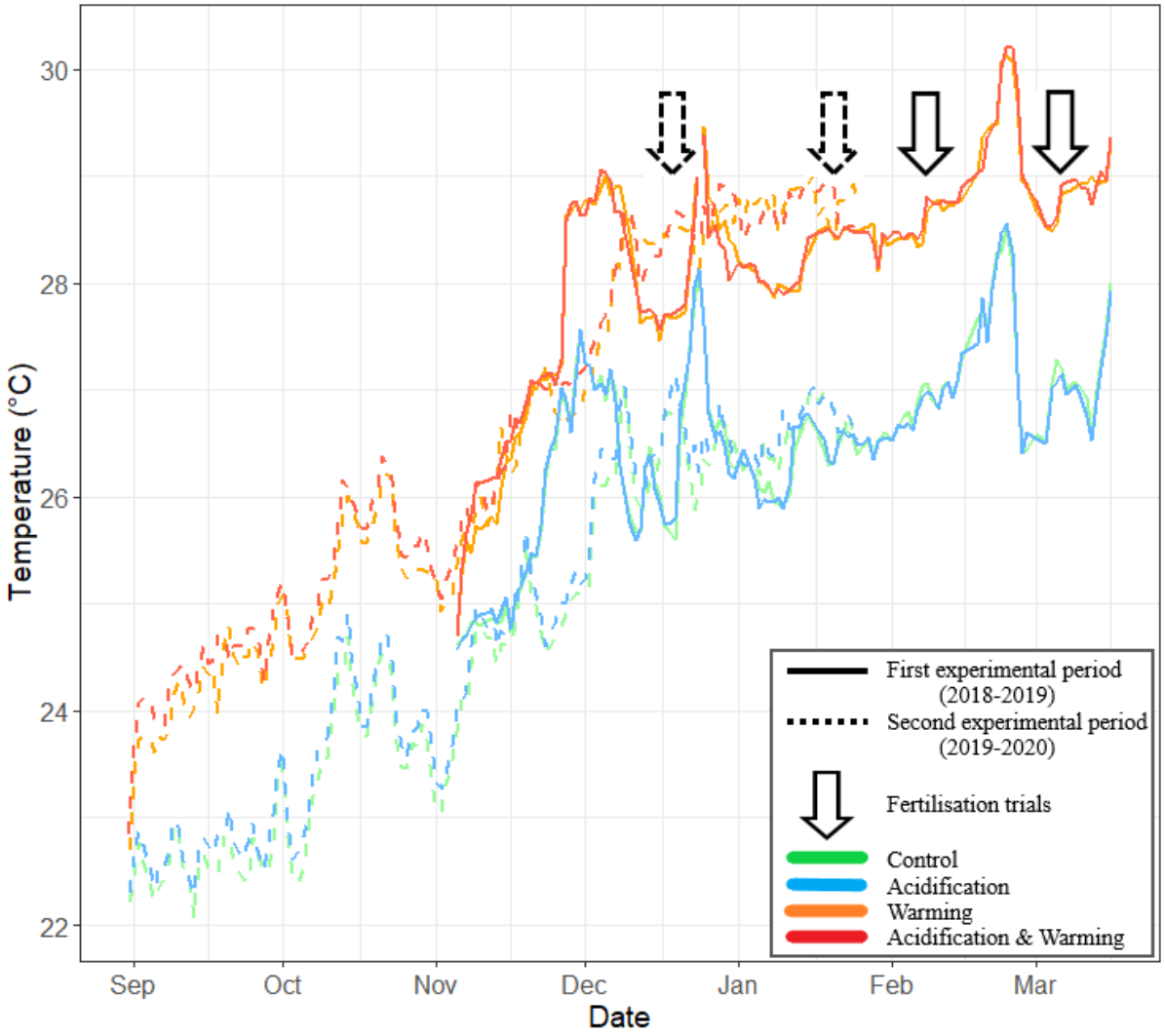


Figure 3-1. Variation of seawater temperatures over the experimental periods for the four treatments. Colour lines represent mean temperature for each treatment (n=3 replicates) through the whole exposure periods: solid line for the first experimental period 2018-2019, n=130 days and dashed lines for the second experimental period 2019-2020, n=145 days). The arrows mark indicate the fertilisation trials.

2.4 Oocytes metrics, fertilisation success and Gonado-Somatic Index

We used oocyte metrics as quality criteria (Ayukai et al., 1996; Caballes et al., 2017a, 2016). After being released by the 1-methyladenine, 30-50 oocytes from each female were chosen haphazardly and photographed at x100 magnification with a camera integrated with a Leica DM750 microscope. Diameters of long and short axes were measured using ImageJ software (Schneider et al., 2012) (Fig. S3.4). Oocyte sphericity was calculated as the ratio of long and short axes and the oocyte volume was estimated using the following formula:

$$Oocyte\ Volume = {}^{4}/_{3}\,\pi\ \times (long\ axis\ radius)^2 \times short\ axis\ radius$$

Oocyte metric data were collected once a year, before mixing the gametes for the first fertilisation trial. After mixing the gametes, egg samples were collected every 5 minutes from t0 to t+20 minutes to account for potential delays in fertilisation (approximatively 200 eggs observed per assay). The eggs were examined under microscope (x100; Leica DM750) to determine their fertilisation status based on the presence or absence of a fertilisation envelope (Fig. S3.5). Fertilisation success was calculated every 5 minutes as the ratio of fertilised eggs out of all the eggs observed, resulting in 5 repeated measures for each fertilisation.

The Gonado-Somatic Index (GSI) was used as a proxy of sexual maturity; for every animal, it was estimated at the end of the second fertilisation trial from each year using the following formula (Dumas et al., 2016):

$$GSI\ (\%) = \left(\frac{\frac{Wg}{3} \times Na}{Wt} \right) \times 100$$

Where:

Wt: total weight of the animal
Wg: cumulated weight of the gonads from three consecutive, randomly chosen arms
Na: total number of arms

2.5 Statistical analyses

Normality and homogeneity of variances of data on oocyte metrics (maximum diameter, sphericity and volume) and GSI did not improve after transformations. Therefore, we used non-parametric 3-ways permutational ANOVA (PERMANOVA) tests to evaluate the effects of Year (two levels, fixed), Temperature (two levels, fixed) and pH (two levels, fixed) on these response variables. Analyses were conducted using the PERMANOVA+ add-on for PRIMER v.7.0.13 (Primer-E 2017) and used the

Euclidean distance, Type III sums of squares, and 999 permutations of the residuals under a reduced model to calculate the significance of the pseudo-F statistics. Pair-wise comparisons were used to further analyse the significant results. Variability in COTS fertilization success across treatments (fixed effects of Year, Temperature, pH and their interactions) was tested using generalized linear mixed-effect models (GLMMs) in which the effects of repeated observations (longitudinal data) on multiple tanks within each experimental set was accounted for using random effects of Tank nested in Set. Data were arcsine transformed and model residuals were checked for normality and homoscedasticity. Autocorrelations in data structure were also tested, and GLMM parameters were corrected for where significant (Pinheiro et al., 2017). GLMMs were computed in R (R Development Core Team) complemented by the NLME package (Pinheiro et al., 2017).

3. Results

3.1 Oocyte metrics

Egg volumes and maximum diameters for the first year were significantly lower than the second (Pseudo-F = 136.74; p = 0.001 and Pseudo-F = 133.79; p = 0.001; respectively), independent of treatments (Fig. 3.2; Table 3.2). We found a significant effect of temperature on both the maximum diameter (Pseudo-F = 71.15; p = 0.001) and the egg volume (Pseudo-F = 77.81; p = 0.001), with smaller eggs for COTS exposed to elevated temperature compared to ambient, independent of the year (Table 3.2). More complex effects were observed with acidification, as pH alone had an overall negative effect on egg maximum diameters and volumes, though effects varied across years and temperature treatments (Table 3.2). Antagonistic effects of temperature and pH were detected for the three parameters studied, differing with the year studied (Table 3.2). For instance, egg volumes were smaller for COTS exposed to pH alone compared to control (mean ± SE: $Volume_{acidification} = 5.28 \pm 0.09 \times 10^{-3}\ mm^3$ *vs* $Volume_{control} = 6.18 \pm 0.15 \times 10^{-3}\ mm^3$) but larger in COTS exposed to pH and temperature combined compared to pH alone (mean ± SE: $Volume_{acidification\ \&\ warming} = 6.03 \pm 0.15 \times 10^{-3}$ *vs* $Volume_{acidification} = 5.28 \pm 0.09 \times 10^{-3}\ mm^3$) and similar effects were detected for maximum diameters (Fig. 3.2; Table 3.2). These antagonistic effects were significant only the first year for the egg maximum diameter and volumes. Finally, egg sphericity was also affected by the combination of warming and acidification in the same way as described above, though the effect was only significant for the second year (Fig. 3.2; Table 3.2).

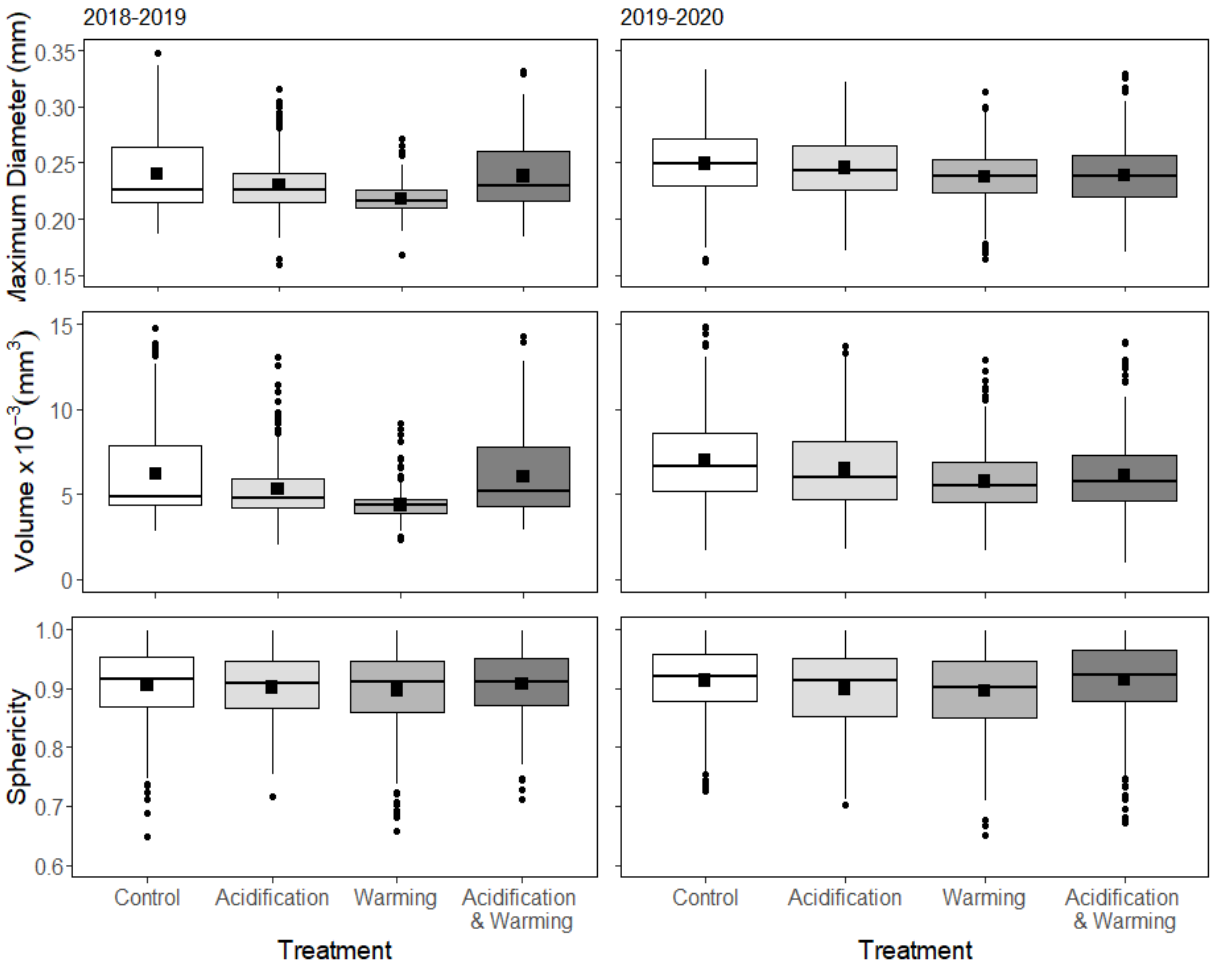


Figure 3-2. Effects of warming and acidification on maximum diameter, volume and sphericity of COTS eggs. Results of the 2018-2019 and 2019-2020 trials across the four experimental treatments. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers. Bold squares indicate the mean values for each treatment. Sample sizes for 2018-2019 = 269-312. Sample sizes for 2019-2020: 543-565.

Tableau 3-2. Results of PERMANOVA analyses performed on egg metrics (maximum diameter, volume and sphericity) of COTS subjected to different levels of temperature and pH on two experimental years.

	Maximum Diameter				***Volume***				***Sphericity***			
Source of variation	df	SS	Pseudo-F	p (perm)	df	SS	Pseudo-F	p (perm)	df	SS	Pseudo-F	p (perm)
Year	1	0.096	136.74	**0.001**	1	590.44	133.79	**0.001**	1	0.005	1.351	0.238
Temperature	1	0.05	71.156	**0.001**	1	343.38	77.81	**0.001**	1	0.001	0.366	0.546
pH	1	0.003	5.002	**0.034**	1	15.911	3.605	0.057	1	0.002	0.498	0.482
Year × Temperature	1	0.001	2.124	0.141	1	16.84	3.816	0.053	1	1.20E-05	0.002	0.963
Year × pH	1	0.007	10.635	**0.002**	1	40.201	9.109	**0.005**	1	2.76E-05	0.006	0.944
Temperature × pH	1	0.058	82.078	**0.001**	1	558.68	126.6	**0.001**	1	0.103	25.058	**0.001**
Temperature × pH × Year	1	0.03	0.03	**0.001**	1	135.1	30.61	**0.001**	1	0.02	4.897	**0.02**
Residuals	3370	2.387			3370				3370	0.004		

3.2 Fertilisation success

We observed lower fertilization success the first year compared to the second ($F = 84.083$; $p < 0.001$) (Table 3.3). Fertilisation success was also lower for COTS exposed to elevated temperatures ($F = 379.514$; $p < 0.001$), with effects that varied across years (interaction Year × Temperature, $F = 23.378$; $p < 0.001$; Table 3.3; Fig. 3.3). A three-fold decrease in fertilization success was found for COTS exposed to elevated temperature treatments (mean ± SE = 20.8 ± 7%) compared to ambient temperature treatments the first year (mean = ± SE 77 ± 8%; Fig. 3.3). Despite also being significant the second year, this effect was much less prevalent (mean ± SE = 93.6 ± 0.5 *vs* 96.5 ± 0.7%). In contrast, no effects of pH on fertilization success were detected, whether alone or in interaction with temperature and/or year (Table 3.3).

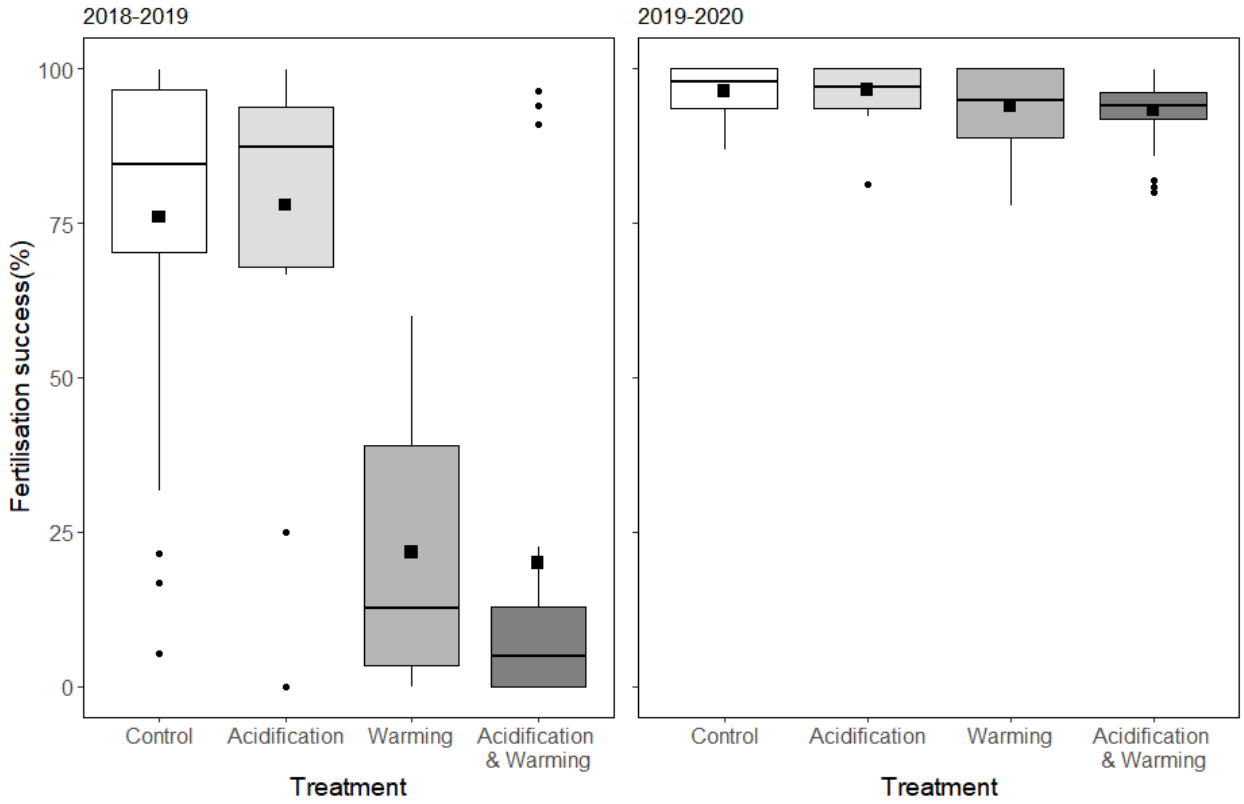


Figure 3-3. Effects of warming and acidification on COTS fertilisation success. Results of the 2018-2019 and 2019-2020 trials across the four experimental treatments. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers. Bold squares indicate the mean values for each treatment. Sample sizes for 2018-2019 = 30 per treatment except for acidification treatment where n = 20. Sample size for 2019-2020: 30 for all treatments.

Tableau 3-3. Results of generalised linear mixed-effect models (GLMMs) on the fertilisation success of COTS subjected to different levels of temperature and pH on two experimental years.

	Fertilisation success			
Source of variation	numdf	denDF	F-value	p-value
Year	1	15	84.083	**<0.001**
Temperature	2	15	379.514	**<0.001**
pH	1	15	0.011	0.915
Year × Temperature	1	15	23.378	**<0.001**
Year × pH	1	15	<0.001	0.850
Temperature × pH	1	15	0.036	0.993
Year × Temperature × pH	1	15	0.005	0.941

3.2 Gonado-Somatic Index (GSI)

We observed significant differences in GSI between years (Pseudo-F = 4.06; p = 0.04), with lower values the first year regardless of the treatments considered (mean ± SE: 2018-2019 = 4.98 ± 0.7%, 2019-2020 = 6.5 ± 0.5; Fig. 3.4). GSI was significantly impacted by temperature (Pseudo-F = 8.69; p = 0.004; Table 3.4), with lower values for COTS exposed to elevated temperature (4.7 ± 0.6%) treatments compared to ambient temperature treatments (7.2 ± 0.6%). There was a non-significant trend that pH was associated with lower GSI values but the overall effect of pH over the two years was above the significance threshold (Pseudo-F = 3.63; p = 0. 06; Table 3.4).

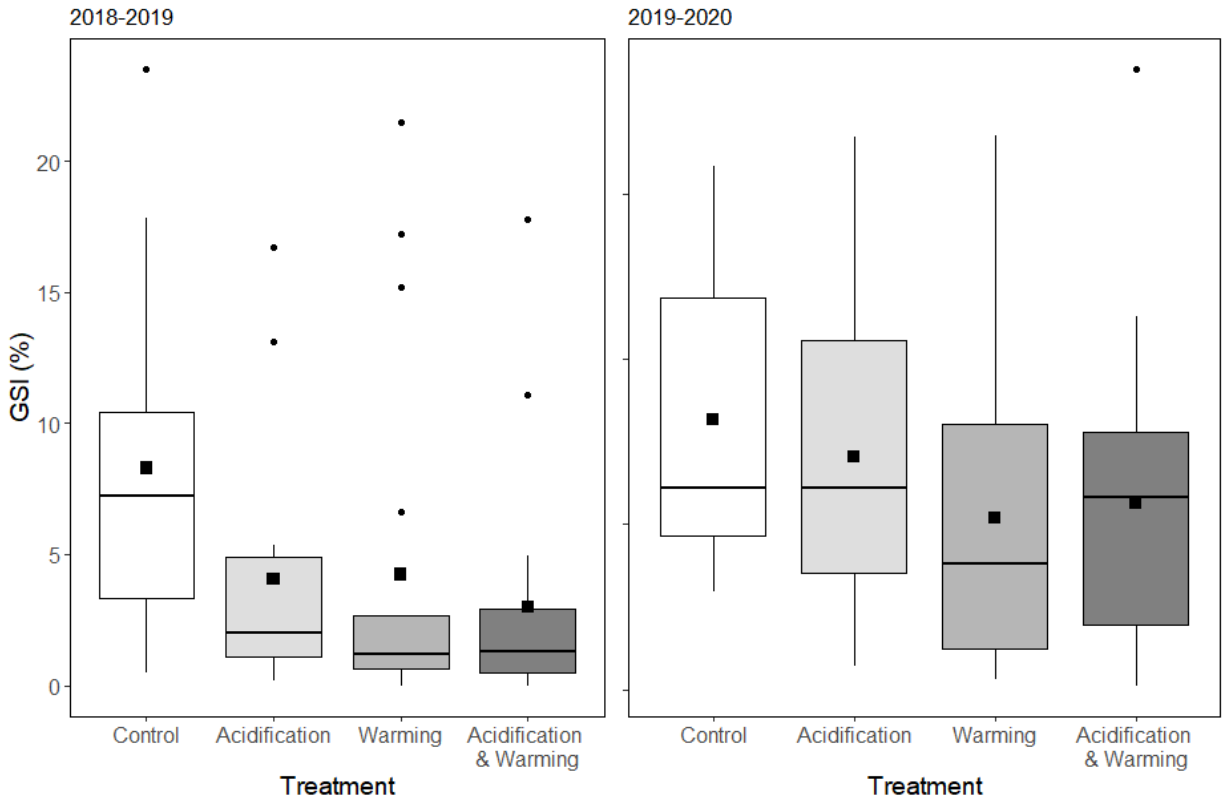


Figure 3-4. Effects of warming and acidification on COTS Gonado-Somatic-Index (GSI). Results of the 2018-2019 and 2019-2020 trials across the four experimental treatments. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers. Bold squares indicate the mean values for each treatment. Sample sizes for 2018-2019 = 18 animals for control and warming treatments, 17 for acidification and warming and 13 for acidification. Sample size for 2019-2020: 24 animals for al treatments except acidification and warming 23.

Tableau 3-4. Results of the permutational ANOVA (PERMANOVA) performed on the Gonado-Somatic-Index (GSI) of COTS subjected to different levels of temperature and pH on two experimental years.

	Gonado-Somatic Index (GSI)			
Source of variation	df	SS	Pseudo-F	p (perm)
Year	1	101.58	4.061	**0.047**
Temperature	1	217.39	8.691	**0.004**
pH	1	90.918	3.635	0.061
Year × Temperature	1	1.254	5.014E-2	0.819
Year × pH	1	55.198	2.207	0.148
Temperature × pH	1	49.958	1.997	0.168
Year × Temperature × pH	1	4.711	0.188	0.646
Residuals	153			

4. Discussion

Our study investigated the reproductive outputs of COTS after a 3-4 month adult exposure period to projected near-future ocean conditions. Following the "business-as-usual" scenario (IPCC, 2014), animals were exposed to ocean warming (+2 °C) and ocean acidification (pH_{NIST} target 7.75) in a fully crossed design in two consecutive years. We used a combination of metrics, including egg size and shape (Ayukai et al., 1996; Caballes et al., 2017a, 2016), fertilisation success (Uthicke et al., 2013a), and GSI index (Dumas et al., 2016), to test for potential effects of adult exposure to modified seawater conditions. To our knowledge, this is the first study to keep COTS in modified conditions for several months prior to investigating reproductive outputs. We found that adult exposure to ocean warming (+2 °C above current) impacts all the reproductive outputs studied here, while ocean acidification (at 0.35 units below current; pH_{NIST} target 7.75) does not have unequivocal effect. We could associate lower GSI with high temperature treatments, but there was no unequivocal effect of pH. However, regarding our hypothesis, we could not demonstrate that eggs were larger nor fertilisation success higher in any experimental treatment. On the contrary, both these parameters were negatively impacted by the +2 °C adult exposure, therefore disagreeing with our main hypothesis. However, a moderate increase of temperature may have detrimental effects on egg quality, fertilisation and gonad index, which would become much prevalent in sub-optimal breeding season. Whether COTS are able to develop transgenerational plasticity responses after a longer period of exposure will require further investigation.

We observed marked differences among years across all parameters measured, though the experimental design did not change. All reproductive outputs of COTS were significantly higher the second year in comparison with the first, regardless of treatments considered. These differences could result from variable ambient temperatures, as we chose to retain the annual and seasonal natural

variability. However, all fertilisation trials were done at similar temperatures in 2018-2019 and 2019-2020 (26.5-27 °C in ambient temperature treatments; 28.5-29 °C in elevated temperature treatments). Moreover, the variation patterns were globally similar during the exposure periods for both years, with the exception of slightly higher peak temperatures (> 29 °C) reached in 2018-2019 (Fig. 3.1). Another parameter that could generate discrepancies among years is the timing of the fertilisation trials within the spawning period. Due to logistical and technical constraints, fertilisation was performed at the end of the natural breeding season the first year (early February and March) but was moved to mid-December/mid-January the second year, closer to the beginning of the COTS natural spawning period (Conand, 1983). Our results showed that animals from the second year trials had better reproductive outputs as fertilisation were conducted early on the breeding season proposed by (Conand, 1983). These results allow us to propose a more specific time frame for the peak spawning of COTS in New Caledonia, which would indeed likely occurs around the end of the calendar year. COTS usually start spawning when temperature reaches a certain temperature threshold, dependent on the latitude (e.g. ~28 °C on the Great Barrier Reef; Lucas, 1973; Pratchett et al., 2014). Our results suggest that this triggering temperature for COTS reproduction would likely be around 26.0-26.5 °C in New Caledonia, a temperature generally reached in early December. It is possible that COTS from the second year experiment had better reproductive success because their exposure period started at the onset of the gametogenesis and therefore the spawning was induced at the natural peak of reproduction when the gonad quality was the highest. Nevertheless, COTS in the late breeding season trial also had high fertilisation success, though it drastically fell under elevated temperature.

It has been documented that COTS grow and mature new gonads each year, following an annual cycle which is highly dependent on latitude, and therefore temperature (Mita et al., 2016; Pratchett et al., 2014). Here, the reproductive outputs of COTS were lower under elevated temperature (28.5-29 °C) compared to ambient conditions (26.5-27 °C). Nevertheless, the detrimental effects of temperature were much more prevalent the first year as compared to the second. For instance, animals exposed to elevated temperature had their fertilisation success reduced by more than threefold the first year (mean 77% in ambient temperature *vs* 20.8% in elevated temperature). The second year, although still significant, the effect was much less prevalent (mean 96.5% *vs* 93.6%, respectively). This suggests that, although fertilisation success was quite resilient at the natural peak spawning period, the negative effects of increased sea surface temperature may predominantly impact COTS fertilisation during other, sub-optimal periods. These results are particularly interesting as they contrast with current literature on COTS and, to a larger extent, on echinoderms (Conand, 1983; Rupp, 1973). Indeed, it is generally accepted that a moderate temperature rise enhances fertilisation, up to a certain physiological limit dependent on the species (Rupp, 1973). This may be attributed to several factors, such as increased motility, velocity and respiratory performances of spermatozoids, a decreased viscosity of warmed water that raises the probability of egg-spermatozoid encounter (Kupriyanova and Havenhand, 2005; Mita et al., 1984), and the loading of protective maternal factors (Hamdoun and Epel, 2007). Our results suggest

an opposite, period-specific effect during the spawning cycle, where even a moderate increase in temperature may significantly alter COTS fertilisation success. This could result from a degraded quality of gonads/gametes in the late breeding season, which is supported by the lower eggs metrics measured the first year. Indeed, as the reproduction trials were later the first year compared to the second, animals spent a longer period of time at temperatures above their spawning trigger threshold (26-26.5°C), an impact that could explain why eggs were smaller and GSI lower the first year independent of treatments.

Another point that supports the thermal stress hypothesis is that all the reproductive outputs we studied here were systematically lower in elevated temperature treatments regardless of the year considered. Additionally, animals in elevated temperatures treatments spent 9-13 weeks in temperatures ranging from 28 to 30.5°C the first year (Fig. 3.1) against only 1-5 weeks in 28-29°C the second year. This reinforces our hypothesis, showing that animals facing higher and longer thermal stress similar to the first year would have less eggs of lower quality, eventually resulting in catastrophically low fertilisation success. Similarly, a recent study on the sea urchin *Evechinus chloroticus* showed that adult exposure to ambient temperature +3 °C for 3 months resulted in negative growth of gonad material entraining a complete loss of reproductive outputs (Delorme and Sewell, 2016). Experiments at elevated seawater temperature in different sea urchins species have shown similar patterns of negative gonad growth (Lawrence et al., 2009; Siikavuopio et al., 2008; Uthicke et al., 2014). For instance, Uthicke et al. (2014) showed that the decrease of gonad development at elevated temperatures is attributed to the high energy demands of increased metabolism at high temperatures for *Echinometra* sp.. There are no previous studies on the effects of future ocean conditions on COTS eggs with or without adult exposure, making these results difficult to compare. Only a few studies so far have tested the effects of parental exposure to both warming and acidification on echinoderm reproductive outputs (Morley et al., 2016; Suckling et al., 2015). Similar to our study, Suckling et al. (2015) found negative impacts of temperature on egg size when adult Antarctic sea urchins *Sterechinus neumayeri* were kept for 6 months in +2 °C treatments. Moreover, Karelitz et al. (2019) also found similar results, with eggs up to 21.8% smaller in female sea urchins *Tripneustes gratilla* reared for 7 weeks in +2 °C treatments. These results highlights the importance of including parental exposure in climate change studies, as the environmental history of broodstock may critically influence the resilience of offspring, i.e. the transgenerational plasticity. Further research on parental exposure of adult COTS to increased temperatures will be needed to confirm these mechanisms.

In contrast with temperature, the effects of acidification on COTS reproductive outputs were less prevalent. Overall, we did not detect marked impacts of a moderate drop in pH on the measured parameters; acidification to a pH_{NIST} target of 7.75 had no significant effect on fertilisation success or GSI. The research on the effects of ocean acidification on COTS fertilisation has not yet reached a consensus, as multiple studies reveal inconsistent results. For instance, Uthicke et al. (2013a) reported a drop of ~25% in fertilisation at pH_{NBS} 7.70, while other research did not show any decrease down to a pH_{NIST} of 7.60 (Caballes et al., 2017b). In experimental conditions, acidification could reduce COTS

spermatozoid performances, such as motility and velocity, in turn reducing fertilisation success at low sperm concentration (Gonzalez-Bernat et al., 2013; Uthicke et al., 2013a) and increasing polyspermy rates (Reuter et al., 2011). In the natural environment, however, COTS reproduction in outbreak densities involve massive synchronous spawning of highly fertile animals for which gametic activity is not likely to limit fertilisation (Pratchett et al., 2014).

We also did not observe univocal effects of pH on egg size or shape, instead demonstrating antagonistic effects of pH and temperature, with various levels of significance depending on the year and parameters considered. While smaller eggs were associated with acidification alone, egg size eventually increased under specific combinations of temperature, pH and periods. Amongst the studies that have investigated the combined effects of pH and temperature on echinoderms, it has been suggested that rising temperatures could buffer the detrimental effects of acidification (review in Byrne and Przeslawski, 2013), though not reverse it. Keeping in mind the intrinsic limitations of this study, e.g. the logistical constraints of a restricted number of replicates and only two years, our results suggest complex interactions of lower pH combined with rising temperature on COTS gametogenesis. Finally, it is important to underline that differences in timing relative to the reproduction period, as suggested by our study, along with differences in exposure period length, could affect study outcomes. Indeed, we show some detrimental effects on animal reproductive outputs after a 3-4 month exposure period which coincide with the exposure period and outcomes from Suckling et al. (2015). Nevertheless, longer periods of exposure could allow animals to acclimate their physiology to stressful conditions, resulting in less prevalent effects (Karelitz et al., 2020; Suckling et al., 2015). Indeed, a recent study from with a comparable design to ours found that future acidification and warming does not affect egg size of the coral reef sea urchin *Echinometra* sp. after 20 months of adult exposure (Karelitz et al., 2020). This underscores the necessity of including parental exposure periods of sufficient length to study the impact of projected near-future ocean conditions on the reproductive outputs of echinoderms and, to a larger extent, marine taxa.

Studies focusing on the impact of global change on echinoderms do not usually include a phase of adult exposure prior to experiments. In most cases, fertilisation is performed under standard (ambient) conditions, with eggs or larvae directly exposed to the target treatments (review in Byrne, 2012). This is partly due to logistical and technical constraints, which tend to increase exponentially with the size and number of species, conditions and replicates. However, it has been previously showed that acclimating echinoderms to ocean acidification with minimum losses is feasible (reviewed in Dupont et al., 2013), including a study focusing on a starfish species (Hernroth et al., 2011). Here, we demonstrated that keeping large adult COTS in warmed/acidified conditions for several months was achievable with minimal mortality, even in the absence of optimal food. We worried that the absence of fresh coral food would have detrimental effects on COTS reproductive outputs, as it is known that quantity and quality of food can substantially alter echinoderm reproduction (George, 1995). A single COTS of similar size than the ones in this study can consume up to 155-234 cm^2 of live coral per day (Keesing and Lucas,

1992). Feeding large numbers of adult COTS for a prolonged duration as in this study would have required collecting tremendous quantities of live corals, which is not allowed under current New Caledonia environmental regulation. Alternatively, COTS in our experiments were fed with a mix of seafood (see Methods section), considered to be the best alternative to keep starfish for prolonged periods in aquaria (Böttger et al., 2004). However, very high reproductive success was eventually reached (e.g. >90%), consistent with reproduction trials on COTS fed with non-preferred corals species or even starved (Caballes et al., 2016). As these authors also emphasized potential carry over effects, from slowdowns to a complete stop in larval development, additional studies should also focus on subsequent biological stages. That being said, it would be interesting to extend the experiments performed in this study to the larval development phase, to test if larvae from COTS fed with sub-optimal food would develop at different rates depending on the treatments.

In conclusion, we suggest that COTS reproduction may be relatively resilient and would not be significantly affected by near-future changes in the ocean conditions (specifically warming and acidification), at least when fertilisation occurs during the natural peak spawning period. However, moving away from this specific time frame towards an increase in temperature, even moderate, entails detrimental impacts on egg quality, quantity, and fertilisation success. In New Caledonia, the breeding season is relatively condensed in the year compared to lower latitudes, like Guam (Conand, 1983). Temperature increases may shift the peak spawning period earlier in the year, as observed in the neighbouring archipelago of Vanuatu (Dumas et al., 2016). Ultimately, it might even extend the whole reproduction window, as is commonly observed at lower latitudes where reproduction extends throughout the year (e.g., Guam, Cheney, 1974 or Palau, Idip, 2003). Nevertheless, exceeding the upper limits of COTS thermal tolerance may counterbalance the process, given the detrimental effects on fertilisation and the subsequent stages of development (Caballes et al., 2017b; Kamya et al., 2014). COTS outbreaks are a rising threat across the Indo-Pacific, the patterns and processes of which are not fully understood. Further research will clarify whether the predicted effects are of sufficient magnitude to significantly alter current trends.

5. Supplementary Material

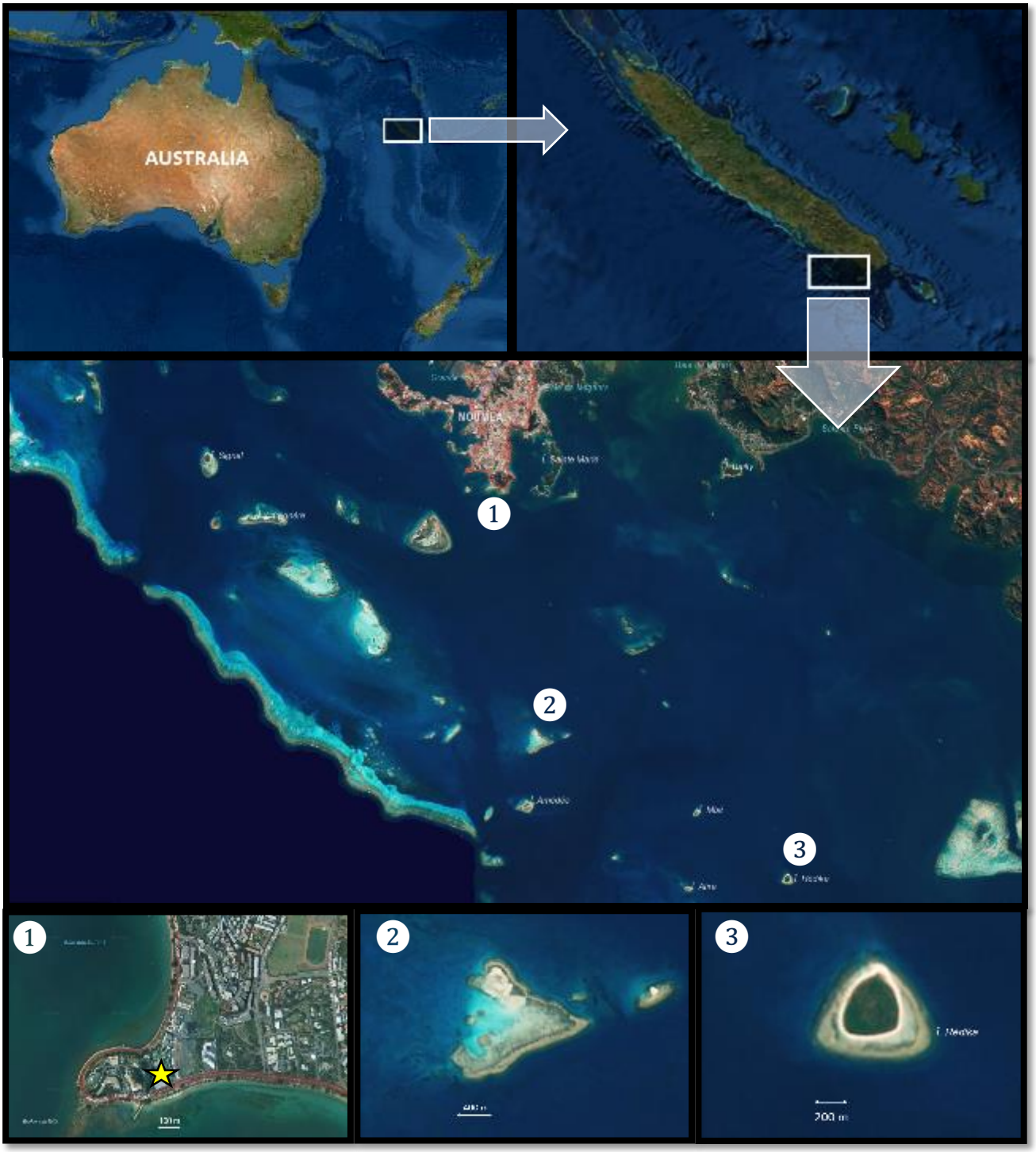


Figure S3-1. Locations of 1) the Aquarium of Noumea where the experiments were hosted 2) the west bench – site of COTS collection in 2019-2020 and 3) Redika islet – site of COTS collection in 2018-2019.

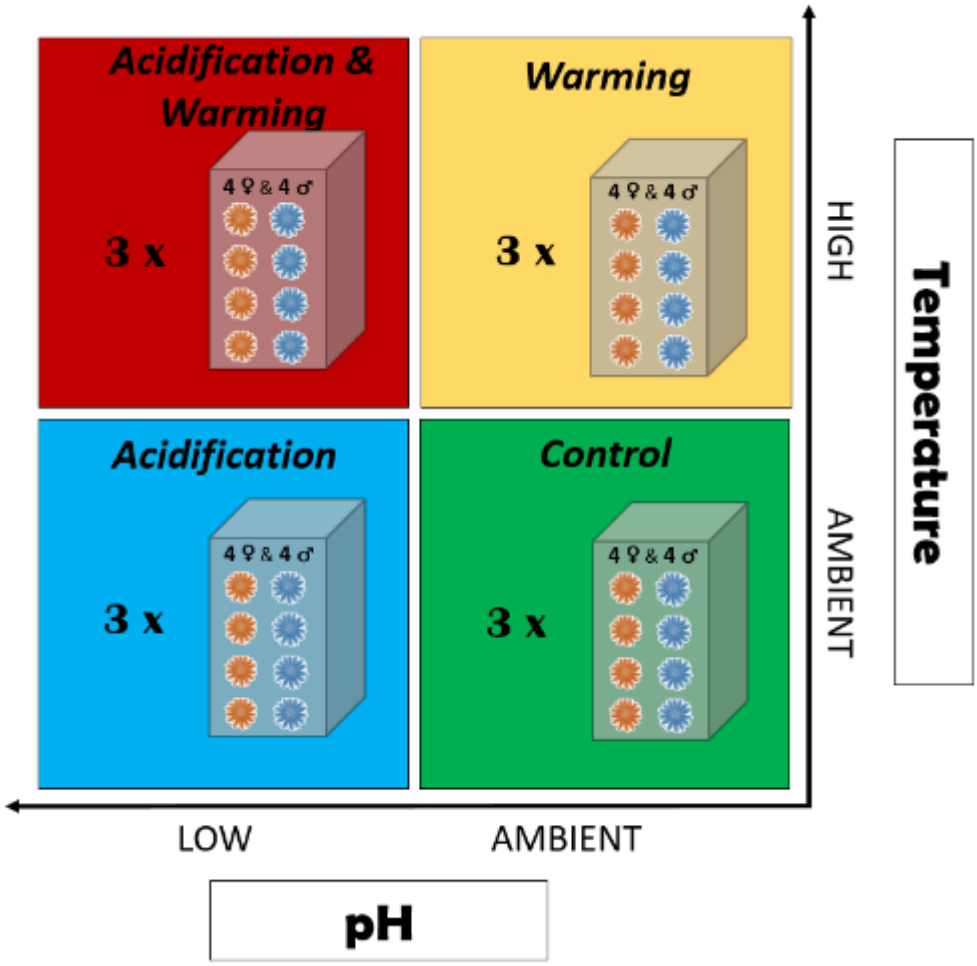


Figure S3-2. Representative diagram of the experimental design, composed of 4 treatments x 3 true replicates. Each tank contained 4 males and 4 females (or 3/3 in the 2018/2019 experimental trial). Oocytes metrics (described in Fig. S3.4 and methods section) were collected on 30-50 eggs from each female **once a year**, at the time the first fertilisation trial occurred. Using the same combination of all 4 males/4 females from each tank (or 3/3 in 2018-2019), **two fertilisation trials** were done each experimental year, **after 3 and 4 months adult exposure**. Fertilisation success were calculated as the ratio of fertilised eggs on the total observed eggs (Fig. S3.5), every 5 minutes from t0 to t+20 min, to obtain 5 fertilisation values per trials, that were later analysed with repeated measure with a correction for auto-correlation in the GLMM. **GSI** were estimated **once a year** on every single animal of the whole experiment, after the second fertilisation trial occurred, as we could not completely incised 3 arms to take all the gonad material as it would have put the animals at risk.

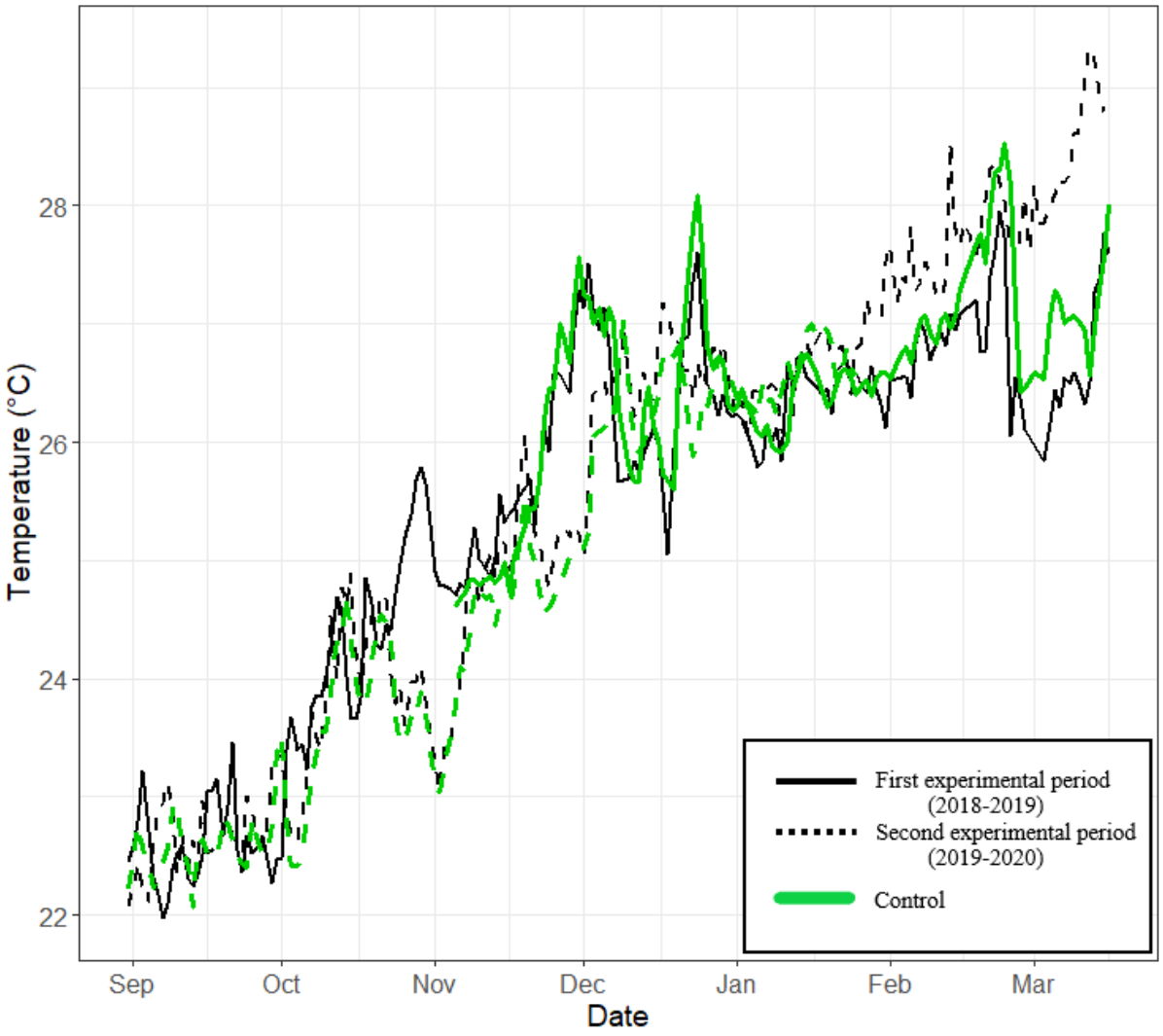


Figure S3-3. Variation of seawater temperatures over the experimental periods for the control treatments and the natural ocean temperature. Green lines represent mean temperature for the control treatment (n=3 replicates) and black lines represent the natural temperature through the whole exposure periods: solid line for the first experimental period 2018-2019, n=130 days and dashed lines for the second experimental period 2019-2020, n=145 days). The natural temperature were obtained from the reeftemps database (Varillon et al., 2018).

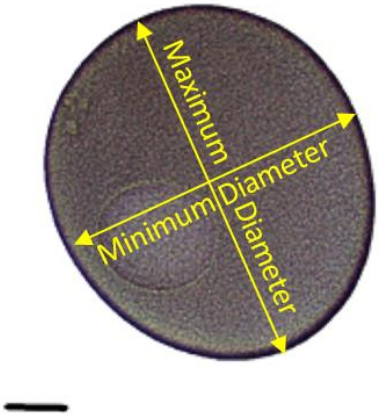


Figure S3-4. Photographs under microscope (x100, Leica DM750) showing the measures taken on *Acanthaster* spp. eggs. Scale bar = 50 µm.

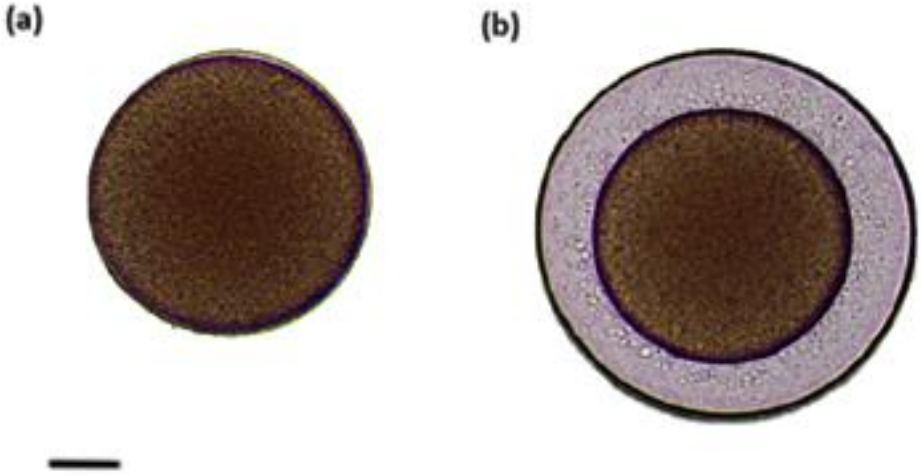


Figure S3-5. Photographs under microscope (x100, Leica DM750) showing different fertilisation scenarios in *Acanthaster* spp.: a) unfertilized egg; b) fertilized egg with surrounding envelope. Scale bar = 50 µm.



Chapitre 4

Publication 2

Impact of near-future ocean warming and acidification on the larval development of coral-eating starfish *Acanthaster* cf. *solaris* after parental exposure

1

Chapitre 4 : Publication 2

Impact of near-future ocean warming and acidification on the larval development of coral-eating starfish *Acanthaster* cf. *solaris* after parental exposure

THOMAS HUE[1,2*], OLIVIER CHATEAU[3], GAEL LECELLIER[1,2,4],CLAIRE MARIN[7], NOEMIE COULOMBIER[8], LOÏC LE DEAN[9], HUGUES GOSSUIN[3], MEHDI ADJEROUD[2,5,6], PASCAL DUMAS[1,2]

[1]IRD, UMR 9220 ENTROPIE, BP A5, Noumea, New Caledonia; [2]Laboratoire d'Excellence "Corail", 58 avenue Paul Alduy, 66860 Perpignan, France; [3]Laboratory of Marine Biology and Ecology, Aquarium des lagons, 98807 Noumea, New Caledonia; [4]Université de Paris-Saclay, UVSQ, 45 avenue des Etats-Unis, Versailles Cedex, France; [5]UMR 9220 ENTROPIE, IRD, Université de la Réunion, CNRS, IFREMER, Université de la Nouvelle-Calédonie, Perpignan, France; [6]PSL Université Paris, USR 3278 CRIOBE, EPHE-UPVD-CNRS, Perpignan, France; [7]Australian Institute of Marine Science, PMB No 3, Townsville, Queensland 4810, Australia; *[7]Université de Nouvelle-Calédonie, 98846 Noumea, New Caledonia; [8]ADECAL Technopole, 1 bis rue Berthelot, 98846 Noumea, New Caledonia; [9]Ifremer, UMR 9220 ENTROPIE, RBE/LEAD, 101 Promenade Roger Laroque, 98897 Noumea, New Caledonia*

* corresponding author: thomas.hue@ird.fr

Soumis au journal Science of The Total Environment

Résumé

Les infestations d'étoiles de mer corallivores du genre *Acanthaster* sp. font partie des menaces les plus importantes qui pèsent actuellement sur les récifs coralliens. Malgré les efforts de recherche intensifs, les facteurs déclenchant ces infestations restent méconnus. De récents travaux ont proposés une augmentation de la valeur adaptative des larves d'acanthasters liée au changement climatique et notamment au réchauffement et à l'acidification des océans. Néanmoins, aucune étude à ce jour n'a exploré l'effet combiné de ces facteurs de stress sur le développement et la survie des larves après une période d'exposition des géniteurs. Dans cette étude, nous avons évalué les effets du réchauffement des océans (+2 °C) et/ou de l'acidification (pH 7,75) sur tous les stades larvaires issus de géniteurs acclimatés pendant 15-20 semaines aux différents traitements. Nos résultats ont montré des effets néfastes de la température sur la gastrulation et sur la taille des bipinnaria avancées. Des températures plus élevées ainsi que des pH plus bas ont produit des retards dans le développement des larves entre le

premier et le second stade, ce qui s'est finalement traduit par des délais pour atteindre les proportions maximales de brachiolaria avancées. Toutes les larves étaient plus grandes dans les traitements acidifiés, indépendamment des stades considérés. Nous avons pu suggérer un lien entre les retards de développement et les larves plus grandes dans les traitements acidifiés, où les larves seraient bloquées dans un certain stade mais poursuivraient leur croissance. Enfin, nous avons montré que la mortalité larvaire n'était pas impactée par les traitements, ce qui était potentiellement dû à l'acclimatation préalable des géniteurs. Si les acanthasters ont été capable de s'acclimater en 15 semaines pour produire des larves résistantes au réchauffement et/ou à l'acidification, les changements très lents du climat ne devraient pas affecter leur survie à ce stade de vie. Néanmoins, les délais de développement montrés dans notre étude pourraient allonger la phase de vie pélagique, qui est la plus fragile, et potentiellement réduire leurs chances d'atteindre le recrutement. Nous avons suivi le cycle naturel de reproduction en Nouvelle-Calédonie et émis des doutes dans l'extrapolation de taux de fertilisation très haut à un succès de la reproduction. Notre étude a permis de renforcer la nécessité d'inclure une exposition des géniteurs quand on explore les effets du changement climatique sur des larves d'échinodermes, car des stress ponctuels appliqués sur des stades de vie isolés pourraient produire des effets erronés.

Mots-clefs : acanthasters, étoile de mer, larve, exposition des géniteurs, réchauffement et acidification des océans

Abstract

Outbreaks of the coral-eating crown-of-thorns starfish *Acanthaster* spp. (COTS) are among the most severe threats to coral reefs worldwide. Despite intensive research, the triggering factors of outbreaks remain unclear, though could involve enhanced COTS larvae fitness due to ocean warming and acidification. Even more unclear is the effect of these combined stressors on larvae development and survivorship after parental generation exposure, which no studies to date have investigated, despite the ecological importance. In this first-of-its-kind study, we investigated the effects of ocean warming (+2 °C above ambient) and/or acidification (pH 7.75) in COTS life-stages, from gastrulation through larvae stages, on offspring of adults exposed for 15-20 weeks to treatments. Our results showed detrimental effects of temperature towards lower gastrulation and smaller advanced bipinnaria. Both elevated temperature and lower pH produced developmental delay from the first larval stage to the second, eventually translating into retarded achievement of the mid-late brachiolaria stage. All larvae were bigger in low pH treatments, independent of stages. We suggest a link between developmental delay and larger larvae due to acidification, where larvae could be blocked at a developmental stage but continue growing. Finally, we found that larvae mortality was not impacted by treatments, potentially due to prior adult exposure. If COTS were able to acclimatize their reproductive physiology in 15 weeks

to produce larvae withstanding warming and/or acidification, slow climatic changes might not affect survival at this life stage. However, the developmental delays displayed might elongate their fragile pelagic phase, potentially decreasing their chances to reach recruitment. We followed the natural spawning peak in New Caledonia, and show caution in directly linking high fertilisation rates with high larval success. Our study reinforces the need to include parental exposure when investigating climate change effects on echinoderm larvae, as punctual stress over single-life stages may produce misleading results.

Keywords: crown-of-thorns starfish, larvae, adult exposure, ocean warming, ocean acidification

1. Introduction

The world's coral reefs are under pressure from large scale disturbances such as ocean warming and acidification, tropical storms, pollution, coastal development and overfishing (Bellwood et al., 2004; Bruno and Selig, 2007; Hoegh-Guldberg et al., 2007a; Hughes et al., 2018). At the same time, coral-eating crown-of-thorns starfish (COTS) outbreaks continue to affect the Indo-Pacific zone, accelerating the degradation of coral reef ecosystems (Baird et al., 2013; Kayal et al., 2012; Leray et al., 2012; Mellin et al., 2019). For example, the world's largest continuous coral reef system, the Great Barrier Reef, suffered a loss of half its coral cover across the three last decades, which COTS outbreaks were responsible for 42% (De'ath et al., 2012). The causes and mechanisms of outbreak initiations are still not fully elucidated, despite increased research efforts the last three decades (Pratchett et al., 2014). Because of the exceptional fecundity of COTS, it is usually accepted that the slightest increase of larval survivorship could translate to a tremendous increase in the abundance of adults. A variety of environmental modifications could enhance larval survival, including the eutrophication of surface waters improving food availability, the alleviation of natural predation, and the modification of ocean parameters due to climate change (Cowan et al., 2020; Fabricius et al., 2010; Uthicke et al., 2015).

There has been growing research interest in COTS development in elevated temperatures and CO_2 conditions (Allen et al., 2017; Caballes et al., 2017b; Hue et al., 2020; Kamya et al., 2018, 2017, 2016, 2014; Lamare et al., 2014; Sparks et al., 2017; Uthicke et al., 2013a, 2015). Conflictual results have emerged from these studies on diverse aspects of the reproductive cycle. For example, some authors predicted negative effects on COTS fertilisation success from a pH of 7.70 (Uthicke et al., 2013a), while others found no significant effects of pH down to 7.60 (Caballes et al., 2017b; Kamya et al., 2014). Similarly, it was suggested that 30°C would either be a lethal threshold for COTS larvae (Kamya et al., 2014), or that it would enhance larval growth and development when combined with high food availability (Uthicke et al., 2015). At first glance, most of these discrepancies may be attributable to differences in experimental protocols, such as the number and physiological status of reproductive

adults, the sex- and sperm to egg ratios used for the fertilisation trials, or potentially different geographical locations and associated temperature baselines resulting in different warming deltas. While these various protocols are sometimes difficult to compare, all studies to date share one common experimental aspect: a lack of parental exposure to the modified pH and/or temperature conditions and the investigation of potential effects on the subsequent biological stages.

Experiments where a punctual stress is directly applied over a particular life stage are unlikely to accurately reflect climate change, which occurs gradually and chronically. Therefore, a number of studies on echinoderms have begun to implement an initial acclimation phase, where reproductive adults are exposed to the target conditions (Dupont et al., 2013; Hu et al., 2018; Karelitz et al., 2020, 2019; Suckling et al., 2015; Uthicke et al., 2020, 2013b; Wong et al., 2019). This parental exposure is a key phase to take into account as it may modify, buffer, or even reverse effects demonstrated without it, or conversely show no change at all (Morley et al., 2016; Parker et al., 2012; Suckling et al., 2015; Uthicke et al., 2013b). Indeed, focusing on isolated life stages in offspring of exposed adults may elude some transmissible resilience, an adaptive process known as the transgenerational plasticity (hereafter TGP, reviewed in Ross et al., 2016). TGP occurs when the environment experienced by the parental generation affects the phenotype of their offspring, theoretically allowing them to cope with rapid environmental changes (review in Byrne et al., 2020). For example, two studies on sea urchins have recently suggested that longer adult exposure to acidification would produce larger larvae, but with a lower survival rate (Karelitz et al., 2020; Suckling et al., 2014). It is now widely acknowledged that short-term experiments lacking parental exposure might end up in biased, possibly misleading results, reinforcing the need to generalize acclimation phases in climate change-related experimental research.

In this context, it seemed important that we reconsider the results obtained by previous studies that investigated climate change effects on COTS, by systematically including a parental exposure phase. In this study, we exposed the COTS parental generation to modified temperature and pH conditions and investigated the larval development and growth. We kept adult COTS in a fully crossed design of ambient, warming (+2 °C) and acidification (pH 7.75 units) conditions for a 15-20 week period. These oceanic conditions reflect the “business-as-usual” scenario projections for the end of the century by climatologists (IPCC, 2014). We then investigated COTS growth and development across all stages of development, from gastrulation (24 hours post-fertilisation) to the final larval (brachiolaria) stage (Keesing et al., 1997; Uthicke et al., 2015).

2. Material and methods

2.1 Species and collection sites

Approximately one hundred adult specimens of *Acanthaster* cf. *solaris* were collected in early August 2019 on the Bancs de l'Ouest reefs (south-western lagoon of New Caledonia, 22°30'S, 166°36'E). Within one hour of collection, COTS were transported to the Aquarium des Lagons facilities in Noumea and stored in flow-through 3,000 l raceways for one week prior to the experiment. Several gonadic lobes were collected per specimen by incising the proximal end of one arm, and sex was determined microscopically (Leica DM750; magnification ×100). The animals were haphazardly distributed into 12 tanks (four males and four females per tank, n=96), as a compromise between conserving a decent genetic pool and avoiding overcrowded tanks (Ayukai et al., 1996; Kamya et al., 2017; Uthicke et al., 2015).

2.2 Experimental treatments and adult exposure

Experimental treatments are described in detail in Hue et al. (2020). To summarize, we used 12 tanks of 500 l and randomly allocated one of four different treatments: Control (ambient water conditions), Acidification (pH target 7.75), Warming (+2 °C above ambient temperature, kept constant through the whole experiment), and Acidification & Warming (pH target 7.75; +2 °C). These targets were chosen following the "business as usual" scenario for the end of the century (IPCC, 2014). All tanks were supplied with 1.2 $l.min^{-1}$ of 5 µm filtered seawater. Water temperature and pH were controlled independently in a 120 l header tank, which was placed above each tank for gravity feeding. Temperature and pH were progressively modified in the corresponding tanks to reach target conditions over the initial week and then measured twice a day throughout the experiment (Fig. 4.2). Alkalinity was measured once a week (Table S4.1) following methods described in Hue et al. (2020).

COTS were exposed to one of the four treatments for a 15-20 week period from September 2019 to January 2020, coinciding with their natural gametogenesis and breeding season (Conand, 1983; Hue et al., 2020). Two fertilisation trials were performed using the same animals, at the 15 and 20 week marks (Fig. 4.2). During the entire duration of experiments, animals were fed twice with 50 g of seafood mix (squids, mussels, fishes) per tank.

2.3 Spawning and larvae rearing

For all steps, we used 1 µm filtered seawater from the corresponding tanks. Ovaries from all 4 females per tank were collected and placed in maturation-inducing hormones (10^{-4} 1-methyladenine). Testes were then collected from each of the four males and placed in covered well plates to prevent desiccation.

After 60 minutes, the egg mix was rinsed through a 500 µm mesh to retrieve eggs without the gonadic envelopes and pooled together. Two µL of sperm per male were collected and diluted to 15 ml of seawater. One ml of this mix was then added in the egg stock solution achieving a sperm to egg ratio of approximately 50:1 that reached fertilization rates >95% (Hue et al., 2020; Kamya et al., 2014). Gametes of the four males and the four females were pooled to simulate a population of natural spawners and avoid potential maternal/paternal effects characteristic of single dam-sire crosses (Palumbi, 1999; Sparks et al., 2017). Details of spawning procedure are also described in Hue et al. (2020).

The adequate volume of the egg solution was then introduced into rearing jars to obtain approximately 1 fertilised egg per mL (Uthicke et al., 2015). One polyethylene rearing jar of ~15 l was allocated to each adult tank to rear larvae in the same condition as the parents. Seawater homogenised at the desired temperature and pH was sent from the 120 l header tanks to the rearing jars using submersible aquarium pumps (1.000 $l.h^{-1}$; Tetra) and filtered through 1 µm before entering the jars. The flow-through was set to fully renew every hour. Rearing jars were cleaned every other day by carefully washing larvae over a 40 µm mesh and replacing 100% of the water after washing the jars. Fig. S4.1 presents the whole system we used to expose adults and rear larvae.

2.4 Larvae feeding

We fed the larvae with two algae species: *Tisochrysis* sp. (CS 177/9) supplied by CSIRO (Hobart) and *Dunaliella* sp. isolated in New Caledonia (Coulombier et al., 2020), as previously done in COTS larvae rearing (Mellin et al., 2017; Uthicke et al., 2018, 2015). To provide algae of constant biochemical quality, algae were cultured in 0.2 µm filtered seawater enriched with Walne's medium (Walne, 1966) under controlled conditions using photobioreactors in continuous mode (Fig. S4.2). Temperature and pH were kept constant during the algae cultures (Tables S4.2 and S4.3). Cell growth was assessed daily by measuring light absorbance (UV-mini, Shimadzu) at 680 nm and 800 nm (Table S4.2 and S4.3) and 2-3 times a week by counting cells under microscope (Leica DM750) using Malassez hemocytometer. Both strains were provided to larvae in equal cell concentration to reach 10,000 $cell.ml^{-1}$, corresponding to a fully satiated diet according to Uthicke et al. (2015), excluding potential food limitations. Larvae were fed once a day beginning on day 3, twice a day from day 5 and finally 3 times a day from day 7 until the end of the experimental period. During feeding, the flow of seawater renewal was stopped for 90 minutes (Kamya et al., 2014).

2.5 Gastrulation and gastrula size

At the 24 hour mark , 50 embryos per jar were sampled, photographed under microscope and scored as normal or abnormal gastrula following criteria established by Sparks et al. (2017). Namely, a gastrula was scored as abnormal if one or more of the following criteria were violated: longitudinal symmetry, internal and external cell wall integrity, clear development of a keyhole-shaped internal blind-ended gut, and finally their size roughly equal to that of the others (Fig. 4.1). Furthermore, to specify accurately which gastrula were too different in size from others, we measured length and width of every gastrula using the ImageJ software (Schneider et al., 2012) and considered that outlier values belonged to abnormal gastrula. Gastrulation percentage were then calculated as the ratio of normal gastrula out of all the gastrula observed.

2.6 Larvae mortality, development, and morphology

Every other day from day 3 to day 21, ~30 larvae were haphazardly sampled from each rearing jar using a graduated syringe. Combining numbers of larvae sampled per day with specific volumes allowed us to calculate larvae density and deduce the mortality.

The ~30 larvae were immediately placed in 6-well plate filled with a 7% $MgCl_2$ solution to relax them. After 5-10 minutes, they were photographed with a camera fixed on a microscope (magnification ×100; Leica DM750). Those pictures allowed a precise determination of larval development into four stages described in the literature (Caballes et al., 2017a; Henderson and Lucas, 1971; Lucas, 1982; Yamaguchi, 1973): (1) **Early bipinnaria** - complete alimentary canal, bipinnaria arms not yet developed, pre-oral and anal lobes, coelomic pouches below or close to the mouth (Fig. 4.1); (2) **Advanced bipinnaria** - distinctly developed bipinnaria arms, coelomic pouches fuse as axohydrocoel above the mouth (Fig. 4.1); (3) **Early brachiolaria** - brachiolaria arms appear as little stumps (Fig. 4.1); (4) **Mid-late brachiolaria** - starfish primordium developing, brachiolaria arms elongate (Fig. 4.1). We used the ImageJ software (Schneider et al., 2012) to evaluate the larval morphology by measuring a series of six metrics following Lamare et al. (2014): total length, total width, mouth hood, gut hood, gut length and gut width (Fig. 4.1). For all stages, we also determined larvae normality. If a larvae showed clear asymmetry, was stunted, or deformed, it was considered abnormal (Kamya et al., 2014; Lamare et al., 2014) (Fig. 4.1).

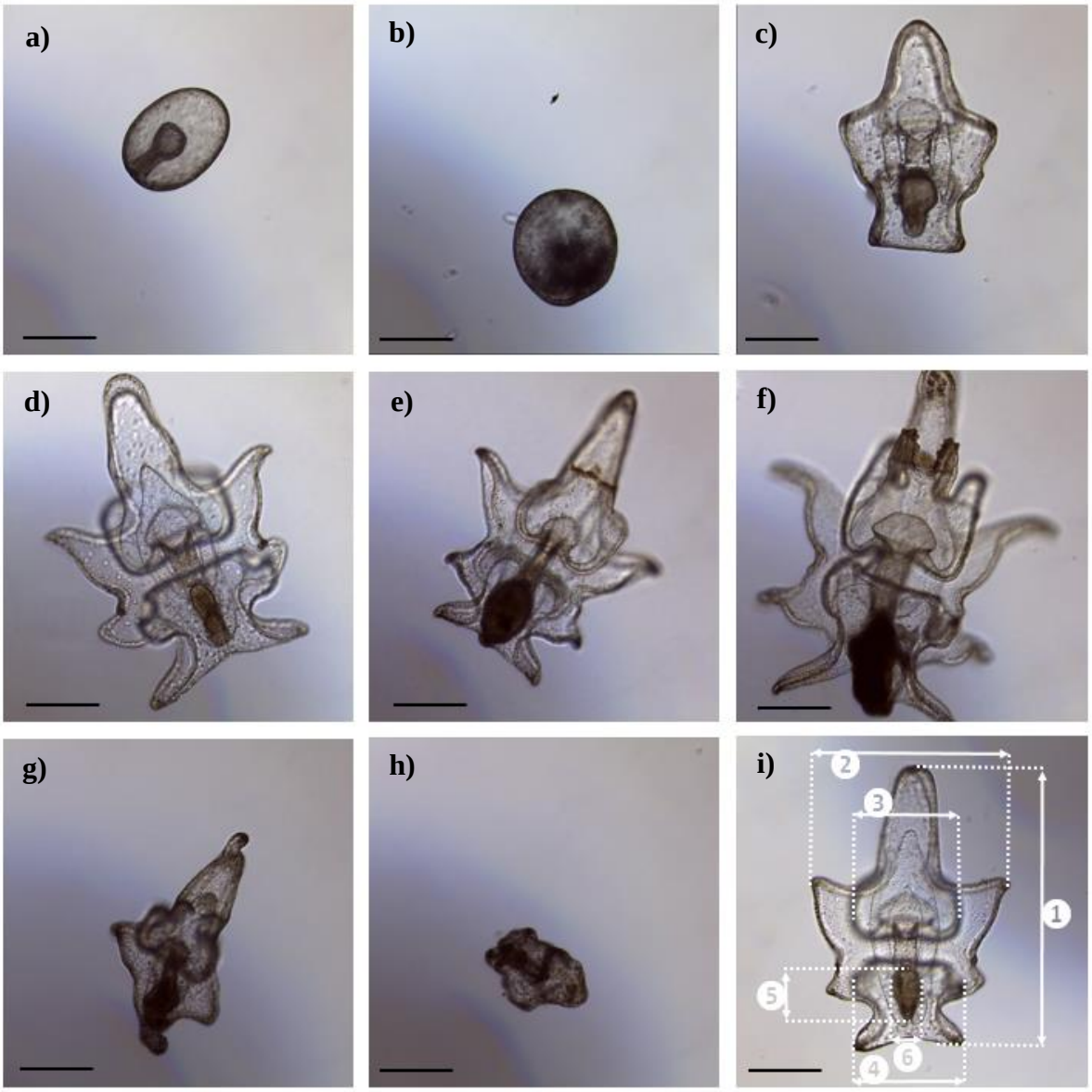


Figure 4-1. Development stages of *Acanthaster* cf. *solaris*; a) normal and b) abnormal gastrula, c) early and d) advanced bipinnaria, e) early and f) mid-late brachiolaria, g) and h) examples of abnormal larvae, i) illustration of the six metric measures: total length (1), total width (2), mouth hood (3), gut hood (4), gut length (5), and gut width (6). All pictures are purposefully the same scale (bar = 200 µm).

2.7 Data analysis

Normality and homogeneity of variance from gastrula length, width, and gastrulation rate data did not improve after transformations. Therefore, we used non-parametric 3-ways permutational ANOVA (PERMANOVA) tests to evaluate the effects of experimental run (two levels, fixed), temperature (two levels, fixed), and pH (two levels, fixed) on these response variables. We chose to use experimental run as a fixed factor because the two runs were started at one month intervals and Hue et al. (2020) showed

effects of temporality on COTS reproductive performances. To analyse all six larvae metrics together, we performed a reduced-centered PCA analysis and recovered data from the first component (71.09% of the total explained variation). The first component, with all variables (metrics) correlated in the same way (Fig. S3), corresponds to the global size of the larvae. Data of each larvae stage were analysed using linear mixed effect models with temperature (two levels, fixed), pH (two levels, fixed), days (ten levels, fixed), tank (three levels, random), and all their interactions. We used the same lme model configuration for analysing the larval mortality data. Data from the proportion of each larvae stage each day were arcsin-root transformed prior to analysing with the same model described above, except we performed it for each stage by day. Normality and homogeneity of variances were checked by inspecting model residual plots and boxplot of data within treatment groups. Post-hoc pairwise contrasts were performed using the R package "lsmeans" (Lenth, 2016), controlling for false discovery using Tukey adjustment. Models were computed in R (R Development Core Team) complemented by the NLME package (Pinheiro et al., 2017).

3. Results

3.1 System performance

Both temperature and pH targets were achieved in adult tanks and larvae rearing jars across the 20 weeks of experiment (Fig. 4.2). Temperatures in adult tanks followed seasonality, with ambient treatments ranging from 22.5 ± 0.1 °C in early September to 26.6 ± 0.1 °C in late January and elevated treatments ranging from 24.1 ± 0.3 °C in early September to 28.7 ± 0.3 °C in late January (mean ± SD; Fig. 4.2). During the whole adult acclimation, the difference between ambient and elevated temperature was kept at 1.82 ± 0.3 °C. In the rearing jars, temperature ranged from 26.7 ± 0.3 °C in the ambient treatments to 28.4 ± 0.3 °C in the elevated treatments during the first experimental run. During the second experimental run the following month, temperatures ranged from 27.5 ± 0.6 °C in the ambient treatments to 29 ± 0.5 °C in the elevated treatments (mean ± SD; Fig. 4.2). During larvae rearing, the delta of temperature between ambient and elevated temperature was 1.60 ± 0.15 °C (mean ± SD). Average carbon chemistry, including pH, varied little among replicates or similar CO_2 (low / high) treatments (Table S4.1).

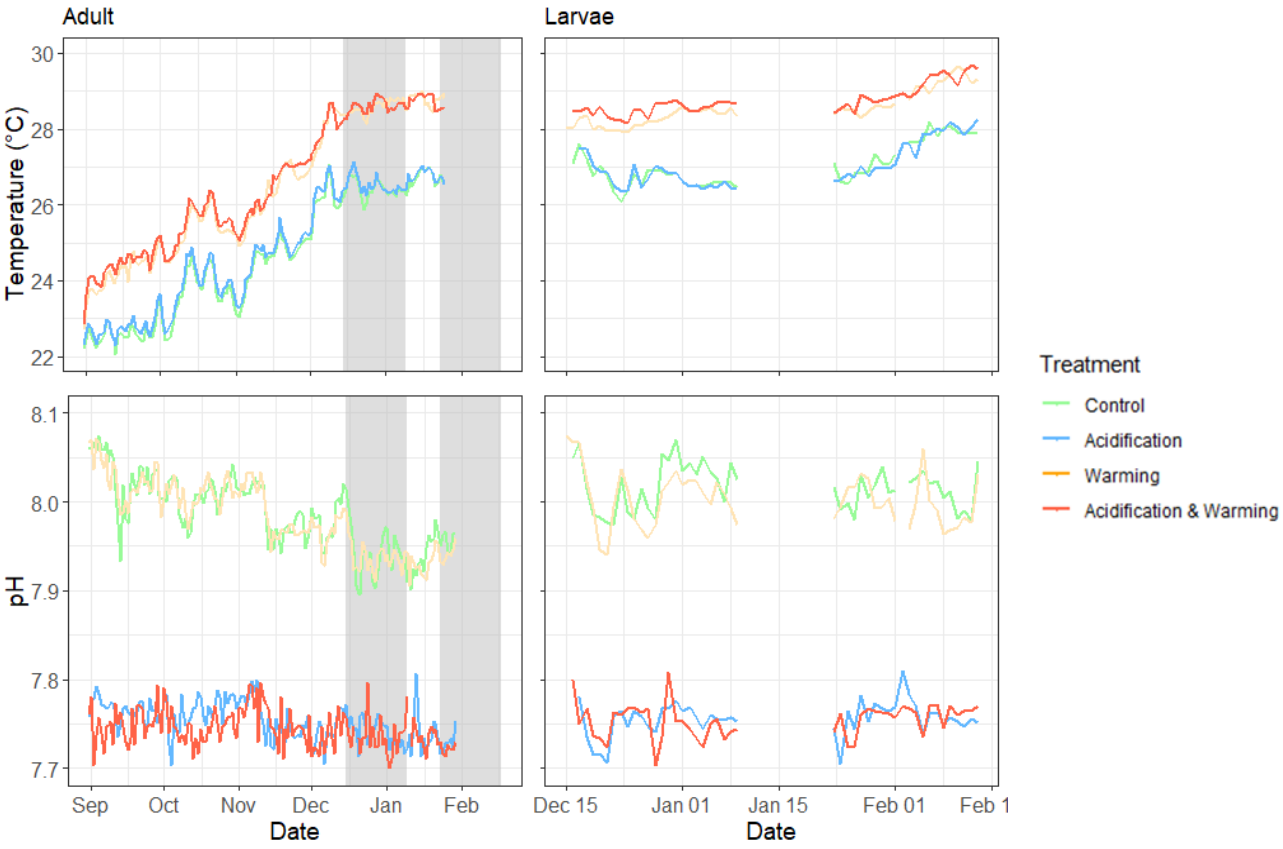


Figure 4-2. Daily averages of temperature and pH in both experimental tanks (Adult) and rearing jars (Larvae) coloured by treatments, from September 2019 to February 2020. The shaded part on the left graphs represent both larvae rearing periods, parameters of which are detailed on the right graphs.

3.2 Gastrulation and gastrula size

Gastrulation was not significantly affected by experimental run (Pseudo-F = 0.123; p(perm) = 0.726), pH (Pseudo-F = 0.073; p(perm) = 0.789), temperature, nor their interactions (Table 4.1). The notable difference was a tendency towards reduced gastrulation in elevated temperature treatments (62.7 ± 8.4%) compared to ambient temperature treatments (70 ± 8.5%), with a p-value close to the significant threshold (temperature; Pseudo-F = 4.000; p(perm) = 0.067; Fig. 4.3).

Concerning the size (Fig. S4.4 & S4.5), gastrulas were both longer (+10% length; Pseudo-F = 160.92; p(perm) = 0.001; Table S4.4) and wider (+8% large; Pseudo-F = 156.58; p(perm) = 0.001) in the first experimental run (340 ± 43 µm long and 253 ± 26 µm wide) compared to the second (309 ± 42 µm long; Fig. S4.4 and 235 ± 25 µm large; Fig. S4.5; mean ± SD). A significant interaction between experimental run, temperature, and pH (Pseudo-F = 18.719; p(perm) = 0.001) was only detected for gastrula lengths. During the second experimental run, gastrula were longer when exposed to either lower pH and ambient temperature or elevated temperature and ambient pH; however no significant differences were found in gastrula exposed to both (Fig. S4.4). Gastrula widths were significantly

dependent on the temperature (Pseudo-F = 20.138; p(perm) = 0.001), interactions with experimental run (Pseudo-F = 10.597; p(perm) = 0.001), or with pH (Pseudo-F = 7.470; p(perm) = 0.005). Elevated temperature globally reduced the width of gastrulas, though reduction was more pronounced in elevated temperature and low pH treatments (Fig. S4.5). Reduction was greater in the second experimental run than the first.

Tableau 4-1. Results of the permutational ANOVA (PERMANOVA) performed on the COTS gastrula rates subjected to different levels of temperature and pH on two experimental runs.

Source of Variation	*df*	*SS*	*Pseudo-F*	*p (perm)*
Experimental Run	1	9.873	0.123	0.726
Temperature	1	320.6	4.000	0.067
pH	1	5.919	0.073	0.789
Experimental Run x Temperature	1	48.199	0.601	0.450
Experimental Run x pH	1	34.573	0.431	0.524
Temperature x pH	1	3.514	0.043	0.833
Experimental Run x Temperature x pH	1	195.96	2.445	0.14
Residuals	1282.4			

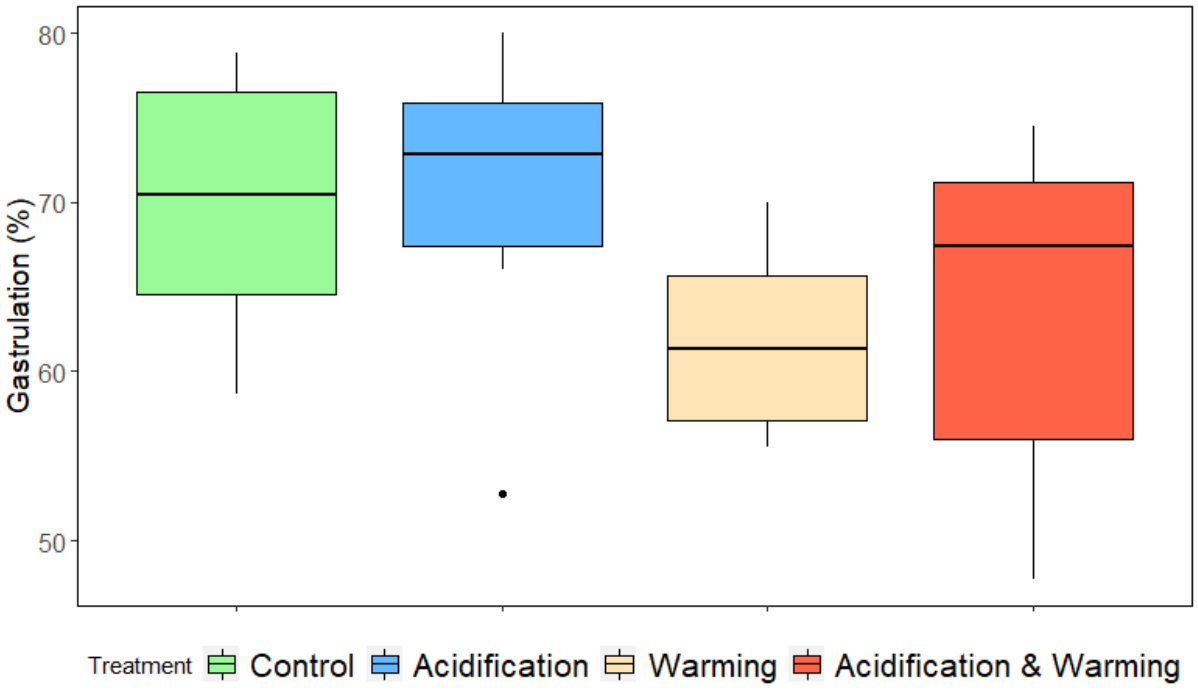


Figure 4-3. Effect of warming and acidification on gastrulation (%) of COTS. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers.

3.3 Larval mortality

Final larval densities were drastically different between the two experimental runs (F= 51.113; p<0.001). Larval density appeared constant across the first experimental run (Factor day; F=0.949; p=0.332; mean ± SE last day, 99.5 ± 11.3 %; Fig. S4.6) with no significant effect of the conditions, temperature and/or pH (Table 4.2). In contrast, an increased mortality was observed throughout the second run, down to densities of 27.5 ± 9.2% on the last day (day; F=149.918; p<0.001, Fig. 4.4). A significant interaction with pH was observed (F=5.661; p=0.019), revealing a higher mortality in low pH conditions (mean ± SE last day, remaining larval density 40.4 ± 7.9 % in ambient vs 14.5 ± 6.1 % in low pH; Fig. 4.4).

Tableau 4-2. Results of the linear mixed effect model performed on COTS larvae survival submitted to different treatment through time, for the two experimental runs.

	First experimental run				***Second experimental run***			
Source of Variation	***numDF***	***denDF***	***F-value***	***p-value***	***numDF***	***denDF***	***F-value***	***p-value***
Temperature	1	8	0.970	0.353	1	8	1.151	0.314
pH	1	8	0.792	0.399	1	8	8.056	**0.021**
Days	1	92	0.949	0.332	1	92	149.918	**<0.001**
Temperature x pH	1	8	1.214	0.302	1	8	0.375	0.557
Temperature x Days	1	92	1.600	0.209	1	92	1.099	0.297
pH x Days	1	92	0.255	0.614	1	92	5.661	**0.019**
Temperature x pH x Days	1	92	0.379	0.539	1	92	1.120	0.292

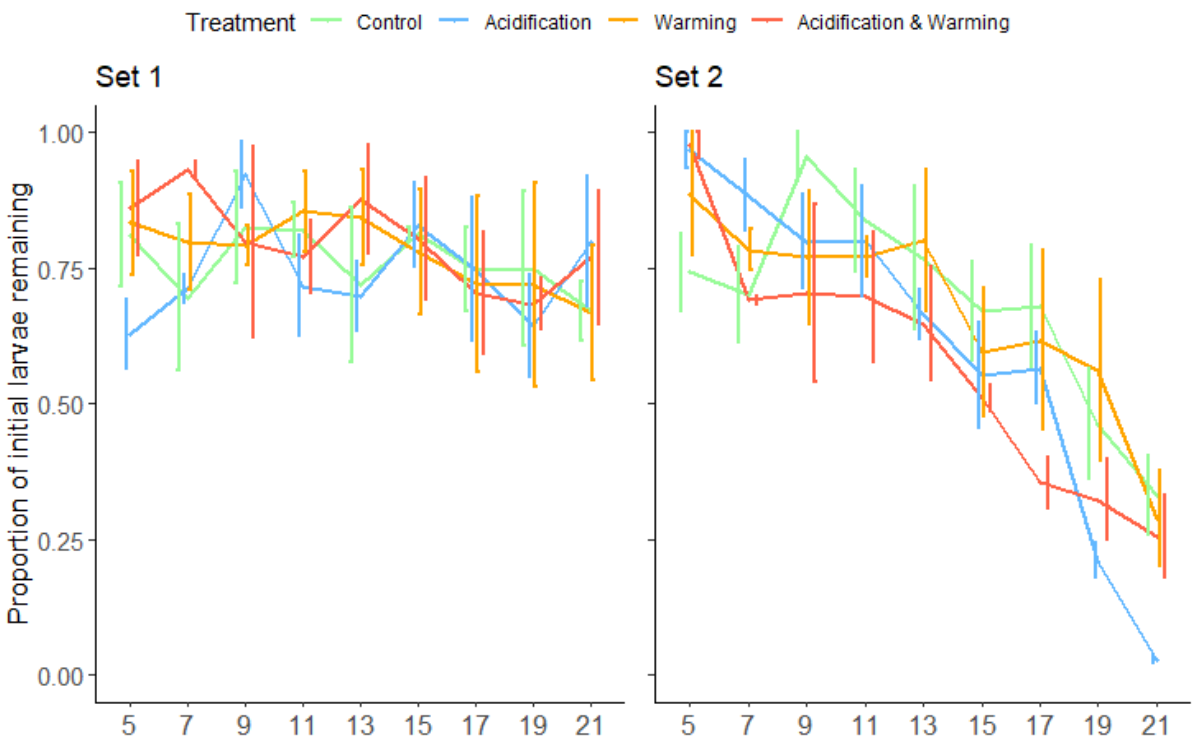


Figure 4-4. Proportion of initial larvae remaining from day 5 to day 21. Results of the first experimental run (started mid-December) and of the second (started mid-January) represented across the four treatments. Curves were drawn with mean ± SE (n=3 rearing jars).

3.4 Larval development

For the first experimental run, the larvae in the control treatments followed the development pattern described in the literature (Keesing et al., 1997; Lucas, 1982) (Fig. 4.5a). Specifically, peak proportion of early bipinnaria were detected at day 3 (88%), followed by advanced bipinnaria 2-4 days later (49-68%). Early brachiolaria were detected 2 days after the first detection of the previous stage (30% on day 9) and finally, mid-late brachiolaria appeared at day 9 with proportions ranging from 15-30% until day 21.

The second experimental run (Fig. 4.5b) was distinct from the first one (χ^2 = 594.93, df=3, p<0.001). All treatments, including control, showed a higher proportion of abnormal larvae, eventually reaching 100% in the low pH treatment. At best, on average only 7.14 % of the larvae reached the last stage (mid-late brachiolaria) in the control treatment, i.e. ~4 times less than during the first run. Therefore, as most larvae exhibited abnormal development patterns associated with marked morphological aberrations, data from the second run were excluded from the subsequent analyses.

Data highlighted notable differences in larval development between treatments. Significant interactions were observed between larval stages and pH and/or stages and temperature at different days

(Table 4.3), suggesting a developmental delay from the first stage (early bipinnaria) to the second (advanced bipinnaria). Specifically, there were higher proportions of early bipinnaria at day 5 in the low pH (61 ±818 %) compared to the ambient pH treatments (34 ±13%), at day 11 (low pH 22 ±15% vs ambient 5 ±4%) and also at day 9 in the elevated temperature treatments (21 ±15%) compared to ambient temperature treatments (5 ±4%; Table 4.3). There were also more advanced bipinnaria at day 13 in low pH (39 ±14%) compared to ambient treatments (21 ±16%). These developmental delays eventually translated into delay in reaching the maximum proportion of mid-late brachiolaria, achieved on day 13 in control treatments but only day 15 or 17 when larvae faced elevated temperature and/or low pH conditions. Finally, there were also more abnormal larvae in the warmed and acidified treatment (23 ± 8%) compared to control (11 ± 8%).

Tableau 4-3. Results of the linear mixed effect model performed on COTS larvae development submitted to different treatment through time for the first experimental run. Only results including the days where effects were highlighted appear in the table.

			Day 3		***Day 5***		***Day 9***	
Sources of variation	**numDF**	**denDF**	**F-value**	**p-value**	**F-value**	**p-value**	**F-value**	**p-value**
Temperature	1	8	0	1	0.003	0.952	0.006	0.935
pH	1	8	0	1	0.144	0.712	0.129	0.728
Stage	4	32	786.05	**<0.001**	101.68	**<0.001**	12.531	**<0.001**
Temperature x pH	1	8	0	1	0.193	0.672	0.12	0.737
Temperature x Stage	4	32	1.975	0.122	3.245	**0.024**	3.97	**0.01**
pH x Stage	4	32	3.126	**0.028**	9.652	**<0.001**	1.145	0.35
Temperature x pH x Stage	4	32	4.819	**0.003**	0.981	0.431	1.027	0.408

			Day 11		***Day 13***	
			F-value	***p-value***	***F-value***	***p-value***
Temperature	1	8	0.003	0.953	0.41	0.539
pH	1	8	<0.001	0.99	0.286	0.607
Stage	4	32	6.324	**<0.001**	12.21	**<0.001**
Temperature x pH	1	8	0.001	0.975	0.009	0.924
Temperature x Stage	4	32	1.914	0.132	2.686	**0.048**
pH x Stage	4	32	2.729	**0.046**	2.812	**0.041**
Temperature x pH x Stage	4	32	1.221	0.321	0.253	0.905

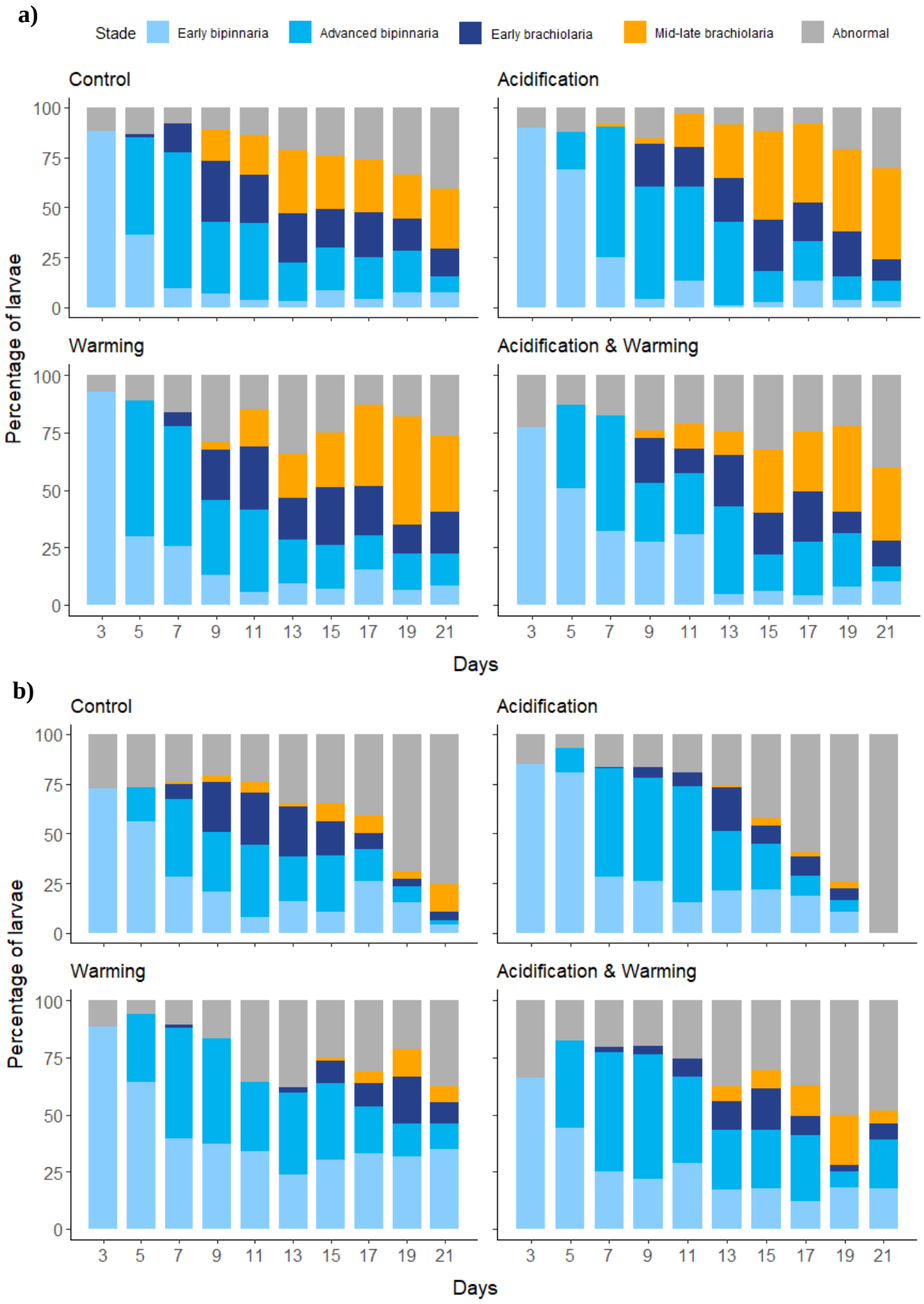


Figure 4-5. Development of COTS larvae for a) the first experimental run (started mid-December) and b) the second (started mid-January) though time across the four experimental treatments. Colour bars represent mean percentage of each larvae stage across the experimental time, from day 3 to day 21 (n=3 rearing jars).

3.5 Larvae morphology

Only the normal larvae were used in the morphology analyses, as obtaining all six measures for abnormal larvae was not always possible. The six metrics were reduced-centered by PCA analysis; the coordinates of the larvae on the first axis (71.09% of total variation explained) were then used as a proxy of the global larvae size.

The **early bipinnaria** appeared larger in low pH and ambient temperature exposures (temperature x pH; F-value = 8.234; p-value = 0.02; Fig. 4.6a). **Advanced bipinnaria** were significantly affected by the interaction of either days and temperature (F-value = 7.753; p-value = 0.005) or days and pH (F-value = 12.356; p-value <0.001). Pairwise revealed that larvae were smaller in elevated temperature from day 5 to 9 (p-values <0.01) and larger in low pH from day 11 to day 21 (p-values <0.02; Fig. 4.6b).

Tableau 4-4. Results of the linear mixed effect model performed on COTS larvae size for the four different stages submitted to different treatment through time for the first experimental run.

	Larvae Stage						
	Early bipinnaria				**Advanced bipinnaria**		
Source of Variation	numDF	denDF	F-value	p-value	denDF	F-value	p-value
Temperature	1	8	6.594	**0.033**	8	7.944	**0.022**
pH	1	8	2.238	0.173	8	3.57	0.09
Days		677	52.632	**<0.001**	800	488.594	**<0.001**
Temperature x pH	1	8	8.234	**0.02**	8	0.484	0.5
Temperature x Days	1	677	0.03	0.862	800	7.753	**0.005**
pH x Days	1	677	2.693	0.100	800	12.356	**<0.001**
Temperature x pH x Days	1	677	0.04	0.833	800	1.792	0.181

	Early brachiolaria				**Mid-Late brachiolaria**		
Source of Variation	numDF	denDF	F-value	p-value	denDF	F-value	p-value
Temperature	1	8	1.56	0.246	8	1.079	0.329
pH	1	8	11.684	**0.009**	8	2.724	0.137
Days	1	423	147.694	**<0.001**	549	10.074	**0.001**
Temperature x pH	1	8	0.353	0.568	8	0.119	0.738
Temperature x Days	1	423	0.074	0.785	549	0.361	0.548
pH x Days	1	423	4.849	**0.028**	549	10.269	**0.001**
Temperature x pH x Days	1	423	0.522	0.47	549	0.007	0.93

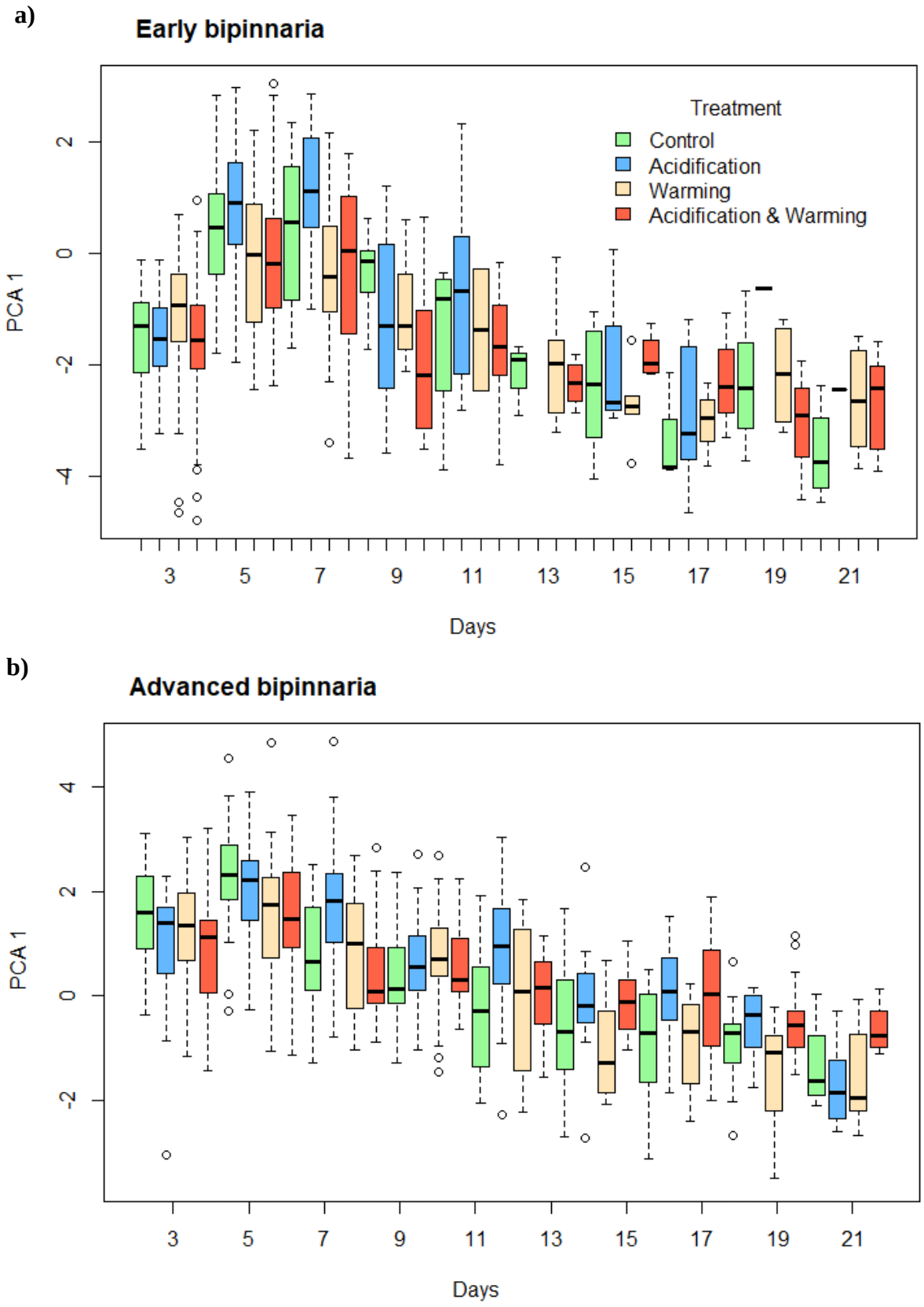


Figure 4-6. Evolution of size for a) the first COTS larvae stage (early bipinnaria) and b) the second larvae stage (advanced bipinnaria) across the four experimental treatments. PCA1 represents a proxy of larval size. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers (n=3 rearing jars).

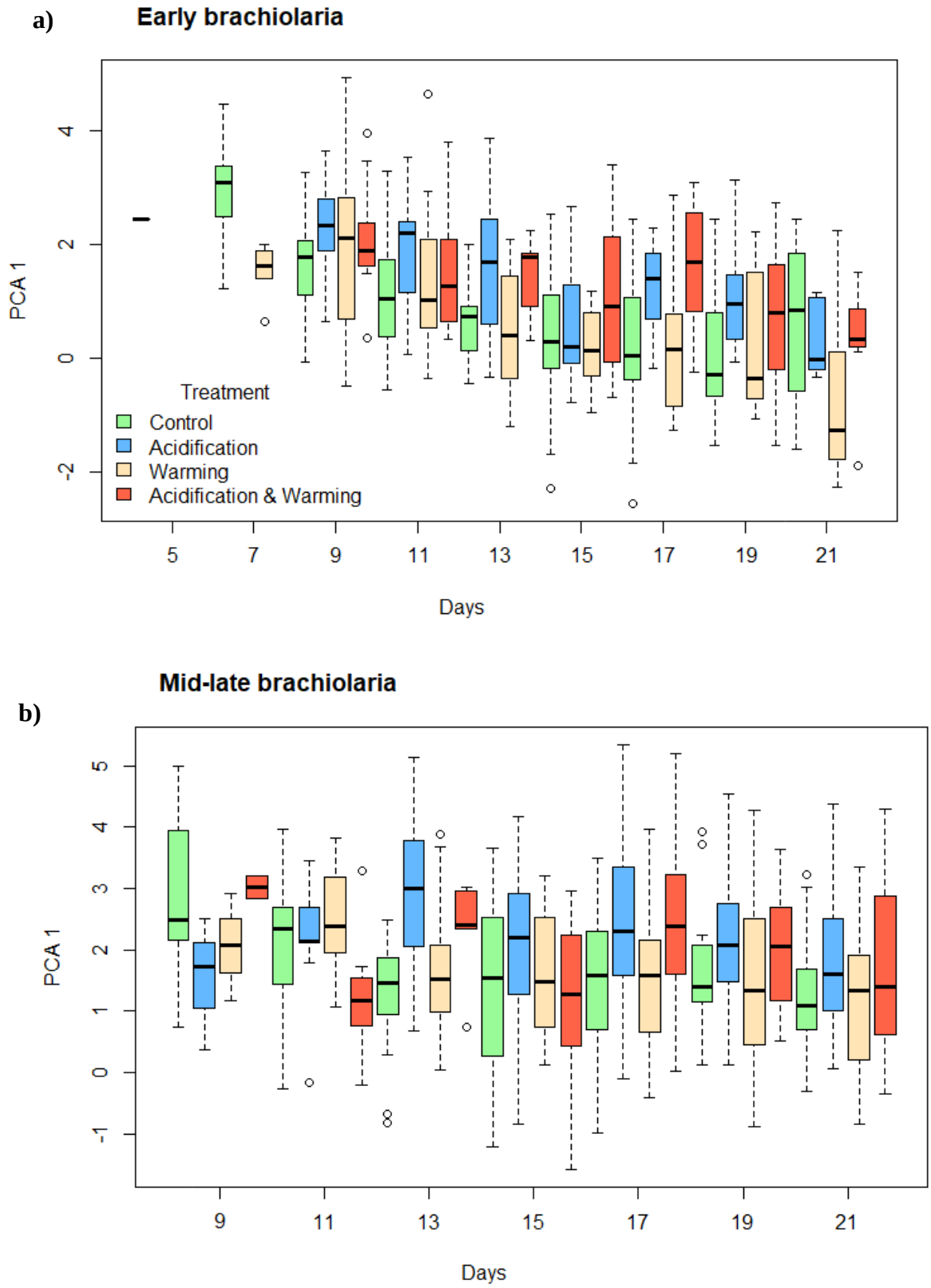


Figure 4-7. Evolution of size for a) the first COTS larvae stage (early bipinnaria) and b) the second larvae stage (advanced bipinnaria) across the four experimental treatments. PCA1 represents a proxy of larval size. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers (n=3 rearing jars).

The size of **Early brachiolaria** was significantly affected by pH (F-value = 11.684; p-value = 0.009) and the interaction of pH and days (F-value = 4.849; p-value = 0.028). Specifically, larvae were larger from day 11 to 21 in low pH treatments (p-values <0.02; Fig. 4.8a). Similarly, the size of **mid-late brachiolaria** was significantly affected by the interaction of pH and days (F-value = 10.269; p-value = 0.001). The larvae were also larger in low pH treatments at day 19 and 21 (p-value <0.03) with a non-significant trend at day 17 (p-value= 0.08; Fig. 4.8b).

4. Discussion

In this experimental study, we investigated the effects of near-future ocean warming and acidification on COTS development from early embryonic to late larval stages, after exposing the parental generation to stressors for 15-20 weeks. Parental exposure and acclimation mirrors the realities of gradual climate change more so than prior experiments that apply punctual stress only on individual subjects. To our knowledge, this is the first study on COTS which implement an adult exposure phase prior to study larvae. We followed the "business-as-usual" scenario projections for the end of this century, with an increase in ocean temperature of 2° C and a decrease in pH to 7.75 (IPCC, 2014). We did not observe any evidence of additive or synergistic effects with the stressors. Results suggest that the future climate might not be as detrimental to larval mortality, as there was no effect of pH or temperature detected. However, some developmental delay due to elevated temperature and/or lower pH were found. It is difficult to conclude if the delay would have repercussions on the following cycle, which would require conducting the same kind of experiments over more consecutive life-stages, for example through recruitment and juvenile stages. We highlighted that studying several life stages subsequently is critical to predict outcomes of similar experiments, as we found that early reproduction processes like fertilisation might not be enough to predict COTS offspring fitness.

Most metrics used to characterize the larval development suggested that the first experimental run was of better quality than the second run. This difference may be attributable to adult COTS gradually accumulating stress, e.g. from repeated gonad sampling. However, the greatest care was taken to keep disturbance to a minimum, and we did not observe any evidence of stress across the entire experiment, mortality being anecdotal (1% of the animals died over the 20 week period). A more plausible explanation for these marked differences is the spawning seasonality, as a recent study highlighted that breeding COTS earlier (December/January) resulted in fertilisation rates about twice as high as those obtained later in the season (February/March) (Hue et al., 2020). Our results are consistent with this seasonality, showing higher larvae performances (development and survival) in December (first experimental run) than in January (second). This also suggests that the impacts of modified conditions should be investigated over as much of the development cycle as possible, as punctual

"success" (such as high fertilisation rates, e.g. >95%, Hue et al., 2020) does not necessarily translate into subsequent biological stages.

We could not see evidence of significant larval mortality in any treatments from the first experimental run. This contrasts with existing studies that systematically showed a marked larval mortality through time (Caballes et al., 2017a, 2016; Pratchett et al., 2017b; Wolfe et al., 2015). Several methodological parameters could explain these differences. First, our larvae feeding procedure provided for a fully satiated diet (10.000 cells.ml-1; Uthicke et al., 2015), with high biochemical quality algae obtained with photo-bioreactor cultures of two different strains, three times a day. While increasing the quality and quantity of food might have improved the overall larval survival, it is unlikely that it could explain the absence of mortality by itself, as some authors showed significant larval mortality even with high nutrition (Caballes et al., 2017a). Another explanation could be that larvae densities were only estimated from fifth day post-fertilisation onwards. Larval densities generally stabilize after most non-viable larvae have died, usually happening around the sixth day (Keesing et al., 1997). This may explain the apparent stability observed from day 5 to day 21. However, previous studies on COTS larval densities still show mortality after 5 days (Caballes et al., 2017a; Pratchett et al., 2017b). The last difference between our study and all previous studies on COTS larvae was the adult exposure phase. In echinoderms, it has already been shown that a sufficient period of adult exposure allows acclimation through reproductive physiology, after which no effect of warming and/or acidification would be detected on larvae performances (Dupont et al., 2013; Suckling et al., 2015). Nevertheless, these alleviated effects have only been shown in sea urchins after acclimation periods >1 year, but not after only 4-6 months. Further examinations of COTS larval survivorship, including longer adult exposure periods, will be necessary to reinforce this and the absence of mortality in larvae exposed to near-future ocean acidification and warming. However, it is necessary to cautiously interpret these results emerging from a specific experiment frame (constant food providing, constant renewal of water, absence of predation, no real hydrologic movements, filtered seawater and regular cleaning of the jars potentially preventing disease). Therefore, ecological impacts cannot be directly inferred and further investigations will be required.

The larvae development was negatively influenced by both elevated temperature and low pH. The two stressors produced passage delay from early bipinnaria to advanced bipinnaria stages, which eventually led to delay in achieving large proportion of mid-late brachiolaria. In the absence of similar studies who included a parental exposure, it is difficult to compare development patterns in different temperature and pH treatments (but see Caballes et al., 2017a, who incorporated nutrition). Nevertheless, studies with no parental exposure showed a delay produced by acidification (Kamya et al., 2014) which reinforce our results, though the delay produced by temperature does not match the literature (Uthicke et al., 2015). This latter study proposed that larvae subjected to elevated temperature combined with high nutrition would grow and evolve faster. The prior exposure of adults could be an explanation for

these discrepancies and underscore the importance of multigenerational studies. If elevated temperature produced thermal stress on eggs and fertilization as previously suggested (Hue et al., 2020), this stress might have been transmitted forward to the larvae. The fact that gastrulation rates tended to be lower in elevated temperature treatments reinforces the suggested effect, though this effect was barely above the significant threshold (p-value = 0.06). At the end of the experiment (21 days), however, all larvae stages were in roughly the same proportion, independent of treatments. We could assume that larvae from elevated temperature/low pH treatments that were lagging at day 13 eventually caught up. Nevertheless, we could also hypothesize that these delays could have repercussions later in the life-cycle, therefore elongating the time to recruitment and decreasing the survival chances, in contrast to the co-promoting effect of higher food and increasing temperature suggested by (Uthicke et al., 2015).

Elevated temperature also had detrimental effect on larval morphology, with smaller advanced bipinnaria in elevated temperature treatments from day 5 to 9. Once again, these findings contradict other studies where a moderate increase of temperature (+2 °C) has shown enhanced larvae growth (Kamya et al., 2014; Uthicke et al., 2015) or no significant impacts (Lamare et al., 2014). Nevertheless, these studies usually target 1 to 3 days post-fertilisation with all larvae pooled together for daily analysis (Kamya et al., 2014; Lamare et al., 2014; Uthicke et al., 2015, 2013a). This is potentially misleading, as analyses very likely encompass larvae from different development stages, with contrasted sizes, growth rates etc. In this study, all growth analyses were performed after larvae were individually attributed to a specific development stage. We collected ten samples from day 3 to day 21 post-fertilisation, reducing uncertainty from studies sampling 1 to 3 days post-fertilisation. The temperature effects on morphology we observed may also result from our initial exposure phase, with the thermal stress experienced by adults being passed on to the first larval stage (bipinnaria). These effects, however, were not observed on the next larval stage (brachiolaria). This raises the issue of stage resilience, as more advanced larvae such as brachiolaria were assumed to be less resilient to warming than early larval stages (Kamya et al., 2014; Lamare et al., 2014). Surprisingly, positive effects of acidification were systematically found on larvae morphology, from early bipinnaria to late brachiolaria, which were larger when reared in low pH (7.75). Again, these findings contrast with current literature, in which lower pH resulted in smaller larvae (Kamya et al., 2014) or increased abnormality (Uthicke et al., 2013a). It is conceivable that the passage from one larval stage to another may be partially blocked by acidification, and larvae could reach abnormal sizes. More likely, these seemingly conflicting results may be attributable to a transgenerational adaptive process from broodstock to the larval stages, triggered by the initial phase of parental exposure. Indeed, an example of transgenerational plasticity has been proposed in a recent study which similarly found that sea urchin larvae of *Strongylocentrotus purpuratus* would grow larger in acidification treatments after 4.5 months of parental generation exposure (Wong et al., 2018). Finding out if there is indeed a link between low pH effects on developmental delay and larger larvae will require further investigations.

Our study also identified information regarding spawning seasonality that is pertinent for both future experiments and COTS management. The strong differences between the two experimental runs for larvae performances allowed us to clarify the spawning seasonality for COTS in New Caledonia. Therefore, we propose a thinner timeframe for future experiments, peaking in December for years without anomalous temperature increases. Understanding this spawning seasonality is also primordial for managers planning controls to limit coral reef damages from COTS outbreaks (Bos et al., 2013; Dumas et al., 2016). Acquiring more knowledge about the peak spawning period could help prevent the formation of primary outbreaks and the initiation of secondary outbreaks (Babcock et al., 2020). These secondary outbreaks are caused by a primary outbreak population that triggers massive spawning, producing large quantities of adults that will have high impacts on coral reefs. Organizing control campaigns before the annual spawning peak is among the best current leads to fight COTS outbreaks (Babcock et al., 2020). The success of these operations depends on early detection of COTS growing densities. Combining spawning season knowledge with efforts of participative science, already proven efficient in detecting and reporting growing COTS densities (Dumas et al., 2020), could be critical in controlling COTS population outbreaks. We hope this contribution to a broader view of COTS early development processes in the context of current global change will help to better understand, anticipate, and ultimately manage future outbreaks (Babcock et al., 2020; Westcott et al., 2020).

5. Supplementary material

Tableau S4-1. Seawater parameters for the four different treatments during the experiment (mean ± SE).

Treatment	*pH_{NIST}*	*Temperature*	*DIC (µmol kg-1)*	*pCO_2 (µatm)*	*HCO^{3-} (µmol kg-1)*	*CO_3^{2-} (µmol kg-1)*	*A_T (µmol kg-1)*	*Ω Ca*	*Ω Ar*	*Salinity*
Control	8.01 ± 0.01	Ambient	2199.6 ± 7.2	548.4 ± 11.3	1981 ± 7.7	203.5 ± 2.05	2473.4 ± 6.9	4.91 ± 0.07	3.24 ± 0.04	34.83 ± 0.01
Acidification	7.74 ± 0.002	Ambient	2309.5 ± 7.1	989.2 ± 17.3	2149.3 ± 7.2	132.9 ± 1.4	2470.5 ± 6.8	3.20 ± 0.05	2.12 ± 0.03	34.81 ± 0.01
Warming	8.00 ± 0.006	Ambient +2°C	2183.8 ± 7	555.2 ± 6.1	1957.1 ± 7.1	212.1 ± 1.5	2470.2 ± 6.9	5.14 ± 0.03	3.42 ± 0.02	34.82 ± 0.01
Acidification & Warming	7.72 ± 0.01	Ambient +2°C	2298.4 ± 7.1	1022.7 ± 16.6	2133.3 ± 7.5	138.4 ± 1.9	2467.7 ± 6.6	3.35 ± 0.04	2.23 ± 0.03	34.82 ± 0.01

Values for DIC (Dissolved Inorganic Carbon), pCO_2, HCO3-, CO32-, Ω calcite and Ω aragonite were calculated from salinity, temperature, pH_{NIST} and total alkalinity using the CO2sys software (means ± SE). Temperature values are presented separately in Fig. 2, as they varied seasonally and could not be averaged (n=30 except for pH where n=435).

Tableau S4-2. Daily monitoring of photobioreactor n° 1 culturing the algae *Tisochrysis* sp. (CS 177/9).

Date	*pH*	*Temperature (°C)*	*DO 680*	*DO 800*	*Cell count (cell/ml)*	*Count observer 1*	*Count observer 2*
09/12/2019	8.15	28.3	1.275	1.14	24500000	24600000	24400000
10/12/2019	8.41	28.8	1.292	1.147	29100000	29400000	28800000
11/12/2019			1.282	1.143	25250000	26800000	23700000
12/12/2019	8.17	28.8	1.316	1.173	23000000	24400000	21600000
13/12/2019	8.2	28.9	1.308	1.181	28600000	24800000	32400000
14/12/2019	8.17	28.7	1.301	1.162	32000000	31000000	33000000
15/12/2019	8.23	28.7	1.332	1.195	29600000	31600000	27600000
16/12/2019	8.24	28.6	1.3	1.161	29500000	29800000	29200000
17/12/2019	8.21	28.6	1.294	1.158	30700000	29200000	32200000
18/12/2019	8.08	28.9	1.272	1.141	29400000	27800000	31000000
19/12/2019	8.13	29	1.288	1.153			
20/12/2019	8.04	29.3	1.223	1.084	26200000	25600000	26800000
21/12/2019	8.14	29.5	1.242	1.108	27000000	26200000	27800000
22/12/2019	8.19	29.6	1.242	1.108			
23/12/2019	8.24	29.4	1.175	1.112	26200000	28800000	23600000
24/12/2019	8.22	29.5	1.229	1.094			
25/12/2019	8.16	29.3	1.229	1.094			
26/12/2019	8.24	28.8	1.229	1.156			
27/12/2019	8.25	29.1	1.229	1.093	23000000	24000000	22000000
28/12/2019	8.19	29.4	1.409	1.245			
29/12/2019	8.26	29.2	1.371	1.212			
30/12/2019	8.12	29	1.393	1.233	21260000	20720000	21800000
31/12/2019	8.2	29.4	1.206	1.065			
01/01/2020			1.438	1.266			
02/01/2020	8.21	29	1.196	1.064	25700000	23600000	27800000
03/01/2020	8.23	29.1	1.196	1.06			
04/01/2020	8.2	29.5	1.38	1.214			
05/01/2020	8.2	29.2	1.184	1.046			
06/01/2020	8.24	29.1	1.262	1.223			
07/01/2020	8.27	28.9	1.127	0.995	21800000	21600000	22000000
08/01/2020	8.27	29.1	1.16	1.023			
09/01/2020	8.23	29.1	1.028	1.161	27400000	24200000	30600000
10/01/2020	8.19	28.9	1.182	1.05			
11/01/2020	8.24	29	1.185	1.056			
12/01/2020	8.25	29.1	1.172	1.046			
13/01/2020	8.23	29.1	1.172	1.043	28300000	28800000	27800000
14/01/2020	8.27	29.1	1.162	1.035			
15/01/2020	8.25	29.2	1.169	1.038			
16/01/2020	8.2	29.4	1.165	1.035			
17/01/2020	8.26	29.2	1.147	1.021			
18/01/2020	8.23	29.2	1.15	1.026			
19/01/2020	8.18	29.3	1.13	1.004			
20/01/2020	8.25	29.2	1.488	1.038			

21/01/2020	8.21	29.2	1.085	0.962	21900000	21600000	22200000
22/01/2020	8.16	29.1	0.969	0.83			
23/01/2020	8.24	29	1.033	0.905			
24/01/2020	8.22	29	0.724	0.632	14400000	14520000	14280000
25/01/2020	8.23	29.1	0.716	0.608			
26/01/2020	8.2	29.2	0.783	0.677			
27/01/2020	8.24	29	0.818	0.706	19760000	17520000	22000000
28/01/2020	8.29	28.9	0.807	0.707			
29/01/2020	8.19	28.7	0.8	0.68			
30/01/2020	8.26	29.1	0.728	0.635	14980000	16600000	13360000
31/01/2020	8.25	28.8	0.659	0.57	11380000	9600000	13160000
01/02/2020	8.23	28.9	0.514	0.494	9320000	9240000	9400000
02/02/2020	8.24	28.6	0.4	0.349	8560000	8480000	8640000
03/02/2020	8.15	28.5	0.235	0.203			
04/02/2020	8.21	28.7	1.414	1.265	26800000	30600000	23000000
05/02/2020	8.24	28.6	1.445	1.291			
06/02/2020	8.23	28.74	1.326	1.192	30100000	28600000	31600000
07/02/2020	8.23	28.8	1.458	1.307	28600000	29200000	28000000
08/02/2020	8.22	28.5	1.5	1.349	25000000	24800000	25200000
09/02/2020	8.24	28.3	1.415	1.292	25900000	27800000	24000000
10/02/2020	8.22	28.9	1.309	1.2			
11/02/2020	8.29	28.3	1.205	1.097	32400000	33200000	31600000
12/02/2020	8.21	29	1.068	0.949	24900000	26600000	23200000
13/02/2020	8.18	28.6	0.885	0.775	23100000	24600000	21600000

Tableau S4-3. Daily monitoring of photobioreactor n° 2 culturing the algae *Dunalliela* sp.

Date	***pH***	***Temperature (°C)***	***DO 680***	***DO 800***	***Cell count (cell/ml)***	***Count observer 1***	***Count observer 2***
09/12/2019	8.16	26.9	0.564	0.604	4680000	4080000	5280000
10/12/2019	8.19	28	1	0.899	10700000	12360000	9040000
11/12/2019	8.17	28	1.153	1.018	8720000	8360000	9080000
12/12/2019	8.19	28	1.247	1.118	13400000	13280000	13520000
13/12/2019	8.18	28	1.158	1.266	12100000	11440000	12760000
14/12/2019	8.2	28	1.288	1.183	10640000	10400000	10880000
15/12/2019	8.2	28	1.288	1.178	10200000	10480000	9920000
16/12/2019	8.19	28	1.292	1.192	15000000	14520000	15480000
17/12/2019	8.2	28	1.298	1.196	11680000	11920000	11440000
18/12/2019	8.18	28	1.255	1.166			
19/12/2019	8.16	28.1	1.263	1.196	12560000	12680000	12440000
20/12/2019	8.17	29.9	1.258	1.164			
21/12/2019	8.2	30.2	1.223	1.144	9440000	10000000	8880000
22/12/2019	8.19	30.5	1.209	1.124			
23/12/2019	8.18	30.5	1.246	1.105	11540000	11120000	11960000
24/12/2019	8.17	30.5	1.144	1.083			
25/12/2019	8.17	30.5	1.145	1.072			
26/12/2019	8.17	30.1	1.091	1.027			

27/12/2019	8.11	30.3	1.07	1.003	9560000	10720000	8400000
28/12/2019	8.2	30.3	1.196	1.107			
29/12/2019	8.17	30.2	1.129	1.068			
30/12/2019	8.17	30.1	1.119	1.064	9580000	9840000	9320000
31/12/2019	8.17	30.3	1.107	1.053			
01/01/2020			1.108	1.116			
02/01/2020	8.18	29.2	1.119	1.02	8540000	8080000	9000000
03/01/2020	8.19	30.4	1.13	1.038			
04/01/2020	8.19	30.3	1.098	1.038			
05/01/2020	8.16	30.1	1.133	1.068			
06/01/2020	8.2	30.2	1.094	1.027			
07/01/2020	8.19	30	1.065	1.008	7800000	8080000	7520000
08/01/2020	8.16	30.1	1.025	0.952			
09/01/2020	8.19	28.2	0.964	0.903	9520000	9440000	9600000
10/01/2020	8.18	28.2	1.058	1.003			
11/01/2020	8.16	28.2	1.018	0.988			
12/01/2020	8.18	28.3	1.007	0.975			
13/01/2020	8.16	28.4	0.998	1.023	8440000	9160000	7720000
14/01/2020	8.2	28.2	1.055	1.004			
15/01/2020	8.2	29.7	0.985	0.971			
16/01/2020	8.18	29.7	1.049	1.015			
17/01/2020	8.2	28.2	0.904	0.897	8480000	8680000	8280000
18/01/2020	8.17	28.2	1.075	1.037			
19/01/2020	8.16	28.2	0.972	0.951			
20/01/2020	8.16	28.2	1.109	1.022			
21/01/2020	8.18	28.2	0.969	0.955	8580000	8000000	9160000
22/01/2020	8.2	28.2	1.066	1.005			
23/01/2020	8.19	28.2	0.991	1.077			
24/01/2020	8.17	28.2	1.109	1.065	8540000	7920000	9160000
25/01/2020	8.18	28.2	1.099	1.057			
26/01/2020	8.18	28.3	1.079	1.07			
27/01/2020	8.16	28.2	1.095	1.092	9200000	8760000	9640000
28/01/2020	8.18	28.1	1.026	1.031			
29/01/2020	8.16	28.1	1.097	1.035			
30/01/2020	8.19	28.2	1.095	1.07			
31/01/2020	8.16	28.2	1.083	1.041	9540000	9280000	9800000
01/02/2020	8.17	28.2	1.037	1.033			
02/02/2020	8.18	28.1	1.062	1.044			
03/02/2020	8.16	28.1	0.976	0.977			
04/02/2020	8.18	28.1	1.077	1.103	5620000	5640000	5600000
05/02/2020	8.16	28.1	1.08	1.093			
06/02/2020	8.17	28.1	1.082	1.03	5940000	6360000	5520000
07/02/2020	8.2	28.2	1.012	0.965	8920000	8960000	8880000
08/02/2020	8.17	28.6	1	0.996	9940000	9680000	10200000
09/02/2020	8.2	28	1.114	1.043	7240000	6440000	8040000
10/02/2020	8.16	28.3	1.106	1.029			
11/02/2020	8.12	27.8	1.13	1.088	9740000	9960000	9520000
12/02/2020	8.18	28.1	1.158	1.111		8000000	

13/02/2020	8.18	28.1	1.201	1.141	11180000	12080000	10280000

Tableau S4-5. Results of the permutational ANOVA (PERMANOVA) performed on the COTS gastrula lengths and widths subjected to different levels of temperature and pH on two experimental runs.

Gastrula

	Length				**Width**			
Source of variation	df	SS	Pseudo-F	p (perm)	df	SS	Pseudo-F	p (perm)
Experimental run	1	2.88E+05	160.92	**0.001**	1	97128	156.58	**0.001**
Temperature	1	1197.5	0.66941	0.415	1	12492	20.138	**0.001**
pH	1	593.82	0.33194	0.575	1	1428.6	2.303	0.124
Experimental run x Temperature	1	1081	0.60426	0.438	1	6573.3	10.597	**0.001**
Experimental run x pH	1	2160.8	1.2079	0.258	1	41.253	0.066504	0.784
Temperature x pH	1	3260.6	1.8226	0.154	1	4634.2	7.4707	**0.005**
Experimental run x Temperature x pH	1	33487	18.719	**0.001**	1	927.83	1.4957	0.244
Residuals	1217				1217			



Figure S4-1. Photography of the system used to expose adult and rear larvae at the same time, based on the scientific and technical platform of the Aquarium des Lagons, Noumea, New Caledonia (© T. Hue).

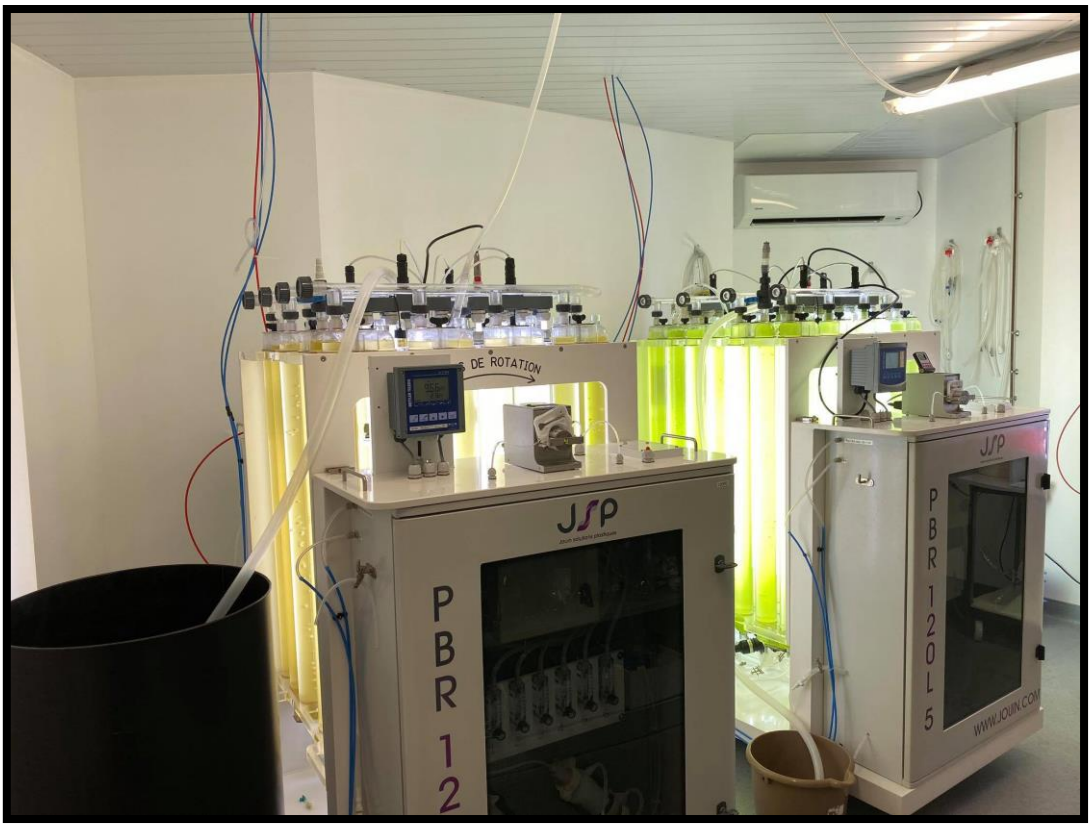


Figure S4-2. Photography of the two photobioreactors used for the algae culture in continuous mode, based at the ADECAL facilities, next to the Aquarium (© T. Hue).

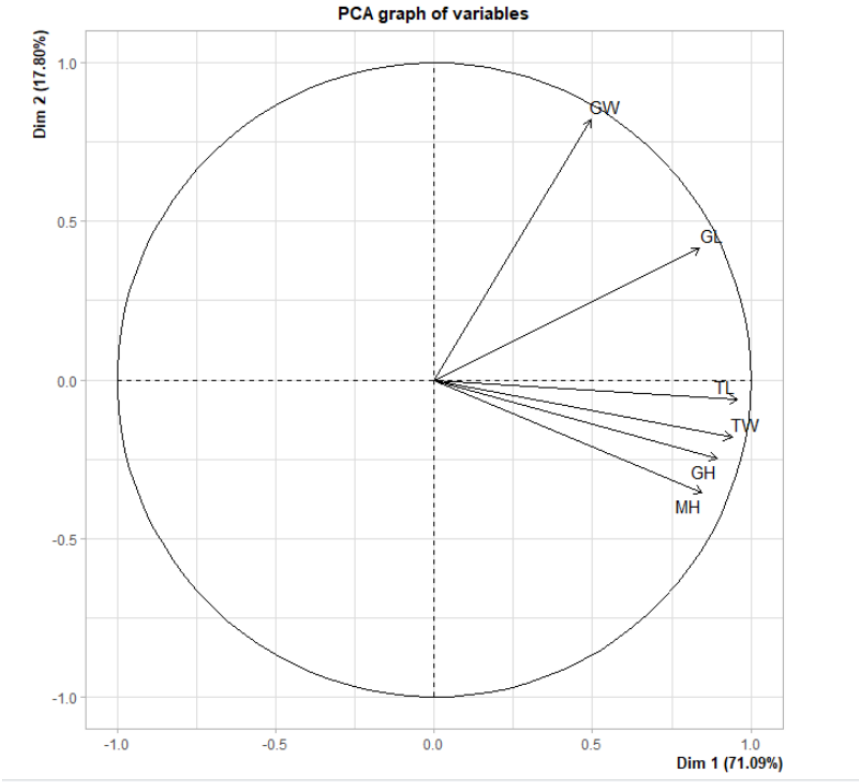


Figure S4-3. Corcircle of the PCA analysis on the six COTS larvae measures: (TL) total length; (TW) total width; (MH) mouth hood; (GH) gut hood; (GL) gut length and (GW) gut width.

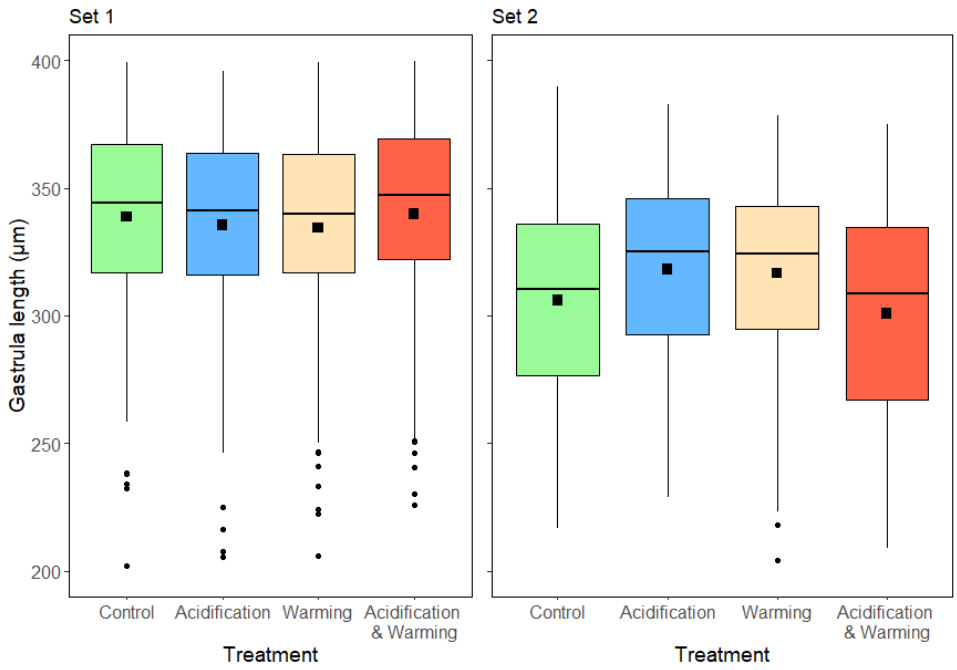


Figure S4-4. Effect of warming and acidification on COTS gastrula length (µm). Results of the two sets (mid-December and mid-January) across the four experimental treatments. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers. Bold squares indicate the mean values for each treatment.

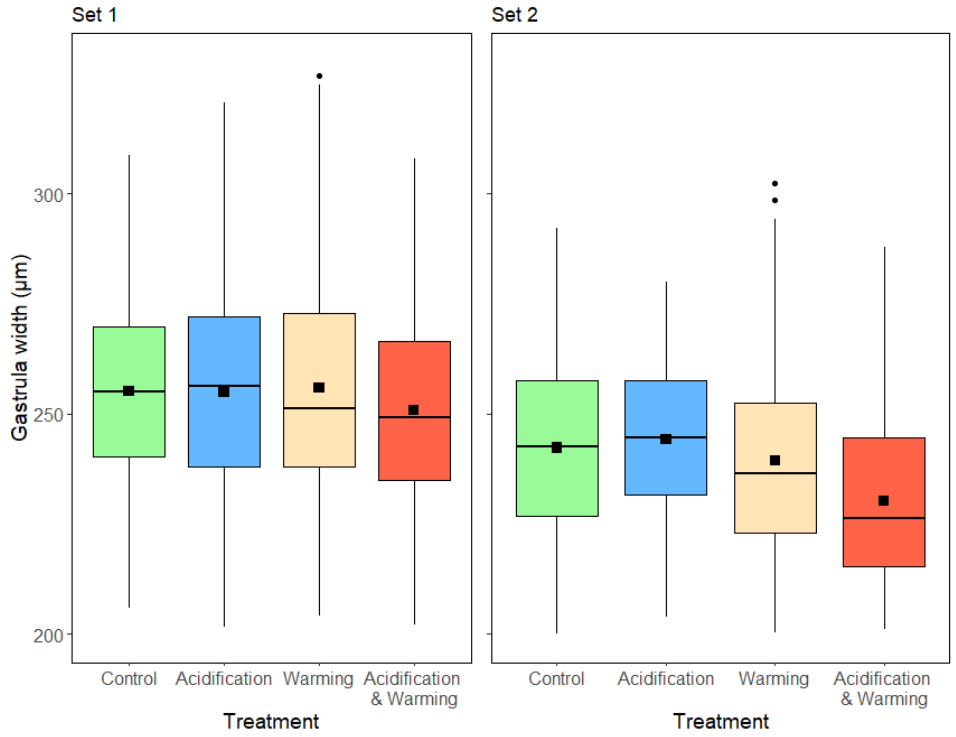


Figure S4-5. Effect of warming and acidification on COTS gastrula widths (µm). Results of the two sets (mid-December and mid-January) across the four experimental treatments. Bold horizontal lines indicate medians, boxes enclose the upper and lower quartiles of the data, whiskers mark the maximum and minimum values excluding outliers, and the dots show outliers. Bold squares indicate the mean values for each treatment.



Chapitre 5

Synthèse & perspectives

1

Chapitre 5 : Synthèse et perspectives

Ce chapitre est articulé en trois parties. La première partie présente une brève synthèse des résultats et de leurs implications dans la compréhension de l'impact du changement global sur les populations d'acanthasters. La seconde partie présente les limites conceptuelles de notre étude et plus largement, des études visant à reproduire expérimentalement le changement climatique. Enfin, la troisième partie présente des perspectives d'amélioration et de développement des expériences menées dans le projet.

1. Apport des résultats de la thèse dans la compréhension de l'impact du changement global sur les populations d'acanthasters

L'objectif des travaux réalisés au cours de ce projet doctoral était de mieux comprendre les effets du changement climatique sur les performances de reproduction des acanthasters. Pour cela, des animaux adultes ont été exposés à différentes conditions de température (ambiante ; +2 °C) et de pH (ambient ; 7,75) pendant 3-4 mois. Les reproductions ont ensuite été faites *in vitro* avant d'étudier les processus biologiques suivants jusqu'au dernier stade larvaire (Fig. 5.1).

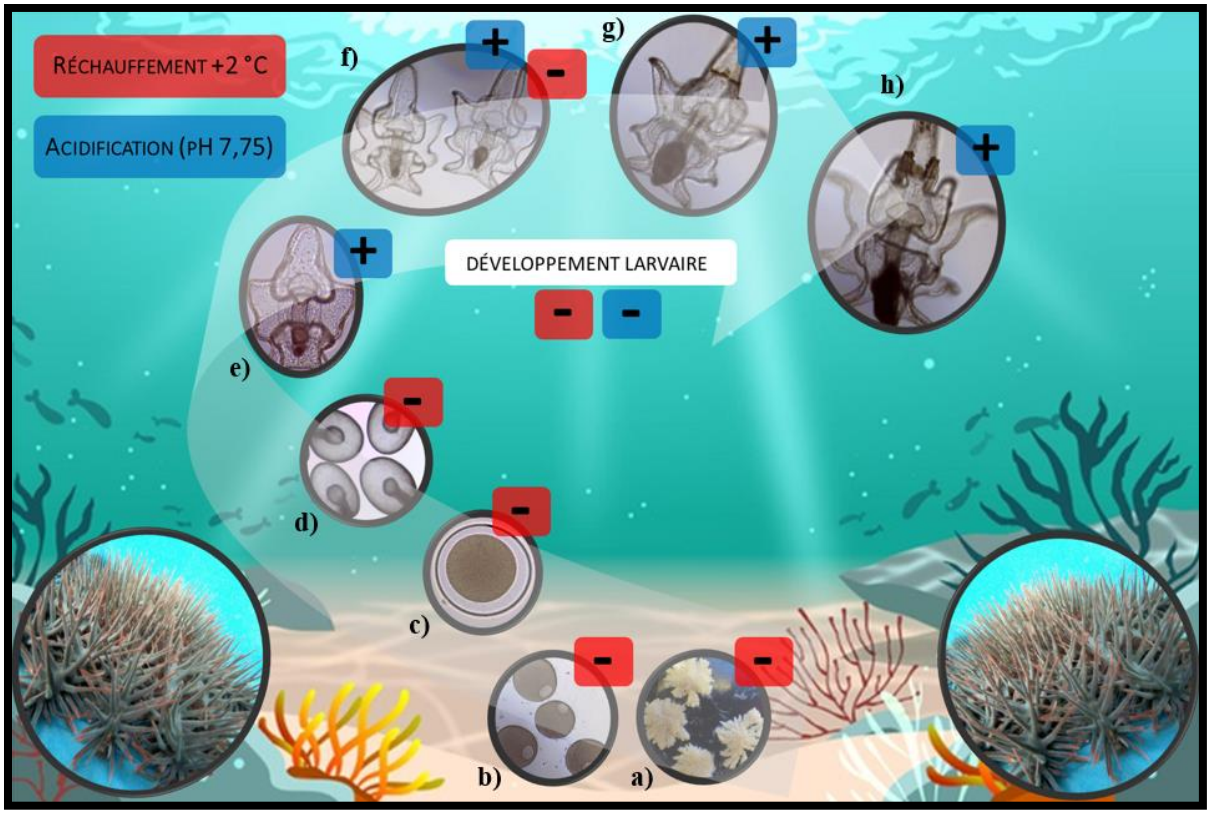


Figure 5-1. Récapitulatif des effets du réchauffement et de l'acidification sur les principaux stades de vie des acanthasters étudiés dans ce projet : a) rapport gonado-somatiques (RGS) b) taille et forme des

œufs c) fertilisation d) gastrulation e) jeune bipinnaria f) bipinnaria avancée g) jeune brachiolaria h) brachiolaria intermédiaire-avancée.

Cette étude a permis de préciser la période de reproduction des acanthasters en Nouvelle-Calédonie. La période de décembre à janvier a d'abord été proposée à l'aide des résultats sur les taux de fertilisation (Hue et al., 2020), puis a été spécifiée à décembre à l'aide du succès de développement larvaire (Hue et al. 2021, *in prep*). Cette période correspond au moment où la température de l'eau dépasse 26 °C. Les expériences du projet n'ont été réalisées que 2 fois consécutives pendant 2 années consécutives (début février & début mars 2019 puis mi-décembre 2019 & mi-janvier 2020). Néanmoins, toutes ces reproductions ont été lancées pendant la période de ponte documentée en Nouvelle-Calédonie par Conand (1983) et n'ont pas été faites lors de périodes anormalement chaudes, la dernière de la décennie datant de 2015-2016 (Varillon et al., 2018). Par conséquent, on peut affirmer que le seuil de température nécessaire au déclenchement de la ponte en Nouvelle-Calédonie est bien 26 °C. Les résultats ont aussi montré qu'à mesure que l'on s'éloigne du mois de décembre pour la reproduction, les effets du réchauffement de l'eau deviennent plus néfastes. Deux mois plus tard, les taux de fertilisation avaient chuté de 50% dans les traitements chauffés. On peut donc émettre l'hypothèse que le réchauffement climatique entrainera une chute du succès reproducteur des animaux qui ne pondront pas à la période optimale décrite, et seront ultimement éliminées par pression de sélection. A mesure que la température de l'océan va augmenter, la période de reproduction des acanthasters pourrait commencer plus tôt dans l'année. Ce phénomène a été montré dans l'archipel des Ryukyu au Japon (Yasuda et al., 2010) ainsi qu'au Vanuatu (Dumas et al., 2016) : les populations aux latitudes plus basses où l'eau est plus chaude, pondent plus tôt. La période de ponte est relativement courte en Nouvelle-Calédonie (Conand, 1983) par rapport à d'autres zones de latitudes plus basses avec des températures plus élevées comme Guam (Cheney, 1974) ou Palau (Idip, 2003), où les acanthasters pondent toute l'année. De ce fait, à mesure que la température augmente, il est possible que la période de reproduction s'allonge, comme aux latitudes plus basses (pour revue, voir Pratchett et al., 2014). En plus du réchauffement global, le changement climatique entraine aussi une augmentation des pics de température, qui correspondent à des déviations par rapport la température moyenne locale (Frölicher et Laufkötter, 2018; IPCC, 2013). Ces pics de température entrainent notamment des phénomènes de blanchissement corallien particulièrement sévères, comme cela a été le cas en 2015-2016 (pour revue, voir Hughes et al., 2018). Lors de ces pics de température, il est possible que les acanthasters subissent des dégâts analogues au blanchissement corallien, par exemple en franchissant la limite létale de leur tolérance thermique. Cette limite en Nouvelle-Calédonie est certainement plus basse que les 31,6 °C proposés pour les animaux de la Grande Barrière de Corail (Lamare et al., 2014), comme l'est aussi la température de déclenchement des pontes (26 °C en Nouvelle-Calédonie, cette étude ; 28 °C sur la GBR, Pratchett et al., 2014).

Lors des reproductions lancées en décembre, les niveaux de réchauffement et d'acidification utilisés dans ce projet ont eu des effets plutôt modérés sur les paramètres étudiés. Tout d'abord, il a été possible de montrer qu'une température élevée avait des impacts sur les œufs (quantité et qualité), les taux de fertilisation et de gastrulation, et enfin la taille des jeunes stades larvaires (bipinnaria avancée). Malgré la signification statistique de ces résultats, cela ne semble produire que des effets faibles quand les reproductions étaient lancées en décembre. Il a aussi été possible de montrer que les acanthasters pourraient subir des retards de développement quand elles sont soumises à des conditions modifiées de température (+2 °C) et de pH (7,75). Suivant les traitements, les larves semblent avoir atteint les proportions maximales de brachiolaria avec un retard de 2 jours (pH), 4 jours (température) ou 6 jours (pH x température). On peut émettre l'hypothèse que les retards subis par les larves des traitements chauffés et/ou acidifiés pourraient réduire leurs chances d'atteindre le recrutement en allongeant le stade pélagique, qui est l'un des plus fragiles car le plus soumis à une pression de prédation (Cowan et al., 2020, 2017, 2016). En effet, il a été estimé par des modèles mathématiques que seulement 9,4% des larves atteindraient le recrutement (Wilmes et al., 2018). Puisque nous n'avons pas étudié le recrutement larvaire, il est impossible de confirmer cette hypothèse. Néanmoins, puisque tous les paramètres étaient fixés dans cette étude (qualité et quantité de nourriture fixés avec horaire de nourrissage régulier, eau filtrée empêchant toute prédation, mouvement continu empêchant toute sédimentation, lavage régulier pour éviter le développement de la pollution et donc les maladies), on peut penser que les retards de développement montrés ici pourraient être exacerbés dans les conditions naturelles futures. Cela pourrait alors diminuer la quantité de recrues et, sachant que seulement 1/1000 de ces recrues survivent durant les 24 premiers mois (Wilmes et al., 2018), cela pourrait à terme diminuer les densités d'acanthasters capables de se reproduire.

En considérant les effets décrits précédemment couplés à la mortalité naturelle (sénilité, maladie, prédation) et la mortalité provoquée par les opérations de contrôle mises en place par les organismes de gestion et de conservation (ramassages manuels, injection de produits létaux, etc.), il serait possible d'amener des populations d'acanthasters sous le seuil de reproduction efficace proposé par Babcock et al. (2020). En dessous de ce seuil théorique propre à chaque espèce, les invertébrés marins atteindraient des densités d'animaux reproducteurs trop faibles pour maintenir une population - aussi appelé effet Allee démographique (Lundquist et Botsford, 2011). Les espèces marines benthiques qui ont des stades larvaires pélagiques et qui relâchent leurs gamètes dans l'eau (comme les acanthasters) peuvent souffrir d'effet Allee pour la reproduction, entrainant une forte diminution du succès de fertilisation à mesure que la densité de population faiblit (Quinn et al., 1993). Le seuil de reproduction efficace pour les acanthasters a été estimé à 3 ind.ha^{-1} d'environ 34,5 cm (Rogers et al., 2017), en dessous duquel leurs capacités de reproduction seraient significativement réduites. L'étude de Babcock et al. (2020) propose qu'en dessous du seuil de 3 ind.ha^{-1}, le déclenchement des infestations serait alors impossible. Maintenir les populations d'acanthasters sous ce seuil de reproduction efficace nécessiterait

de mettre en place des efforts de surveillance dans les périodes « hors-infestation » et d'organiser des campagnes de contrôle pour réduire les densités qui dépassent ce seuil. Néanmoins, il faut garder en tête que ce seuil proposé pour empêcher les infestations (<3 ind.ha^{-1}) est très faible. Il est similaire au seuil réévalué de capacité de charge d'un récif à partir duquel les acanthasters consomment le corail plus vite qu'il ne se régénère (>4 ind.ha^{-1}; Fletcher et al., 2020). Jusqu'à récemment, ce seuil était estimé à 10 voire 15 ind.ha^{-1} par Keesing et Lucas (1992) et Moran et De'ath (1992), respectivement. D'après une étude récente, une densité équivalente à ~15 ind.ha^{-1} pourrait être associée avec la détection de 0-1 acanthasters en 10 minutes de nage (Dumas et al., 2020). De ce fait, maintenir des populations d'acanthasters en dessous du seuil de reproduction efficace (<3 ind.ha^{-1}) reviendrait à pouvoir détecter des densités aussi faibles que 3-5 ind.ha^{-1} ce qui, d'après les estimations faites par Dumas et al. (2020), correspondrait à 0-1 acanthasters détectées en 30-50 minutes de nage. Cette dernière étude suggère que la science participative pourrait être un outil prometteur pour augmenter les capacités de détection des acanthasters sur les récifs afin de proposer des actions de contrôle quand les densités d'acanthasters dépassent le seuil d'infestation déclarée (>5 en 10 minutes de nage, voir Chapitre 1). Néanmoins, la détection de densités beaucoup plus faibles, comme celles qui correspondent au seuil de reproduction efficace, semble difficile en ayant recours aux signalements participatifs. Pour faciliter cette détection, il pourrait être intéressant d'utiliser des drones, comme sur la Grande Barrière de Corail (Dayoub et al., 2015).

2. Limites conceptuelles de l'étude

Cette partie présente les limites de notre protocole expérimental, puis plus généralement les limites inhérentes aux expériences visant à reproduire expérimentalement le changement climatique.

Tout d'abord, notre étude a été réalisée sur un nombre d'animaux assez restreint par les contraintes logistiques (6 animaux par bac la 1ère année, augmenté à 8 la 2nd année), prélevés sur des zones géographiques identiques et restreintes intra-année. Sur un faible échantillon, les caractéristiques individuelles ont un impact important, ce qui a pu influencer les résultats. Reproduire notre étude sur des quantités d'acanthasters bien plus importantes semble difficile à cause de leurs tailles et de leurs besoins en termes de qualité et de renouvellement d'eau, mais aussi de nourriture et de surveillance. Enfin, les nombres d'animaux utilisés dans notre étude correspondent aux études similaires sur les acanthasters, qui ont systématiquement collecté les animaux dans une même zone (Kamya et al., 2014; Lamare et al., 2014; Uthicke et al., 2015, 2013a).

Lors de notre étude, les acanthasters n'ont pas été nourries avec du corail. Des études comparatives ont pu montrer que des acanthasters nourries avec leur proie favorite, les coraux du genre *Acropora* sp., auraient un succès reproducteur plus élevé que celles nourries avec le genre *Pocillopora*,

lui-même supérieur aux animaux affamés (Caballes et al., 2017a, 2016). Néanmoins, nous avons obtenu des valeurs de performances reproductives comparables à celles obtenues au cours de ces dernières études, malgré l'absence de corail. Les nourritures alternatives telles qu'utilisées dans le projet (voir Chapitre 2) semblent donc convenir aux acanthasters, remettant en cause leur régime exclusivement corallivore (Fabricius, 2013; Lamare et al., 2014).

Les expériences visant à reproduire le changement climatique souffrent actuellement de plusieurs limites conceptuelles, ce qui peut produire des résultats biaisés voir erronés. D'abord, la majorité des études utilisent des valeurs de température et de pH correspondantes aux valeurs du *business-as-usual* scénario (IPCC, 2014). Or, ces valeurs sont basées sur 1 des 4 scénarios existants (RCP, voir Chapitre 1), eux-mêmes basés sur des analyses multifactorielles complexes (IPCC, 2014). Les scénarios d'évolution future du climat (RCP et SSP) sont régulièrement revus et adaptés pour ajuster certaines composantes du système climatique, notamment le développement des pays émergents, l'augmentation démographique ou encore les politiques de mitigation du climat. De ce fait, il semble difficile d'appréhender aujourd'hui les niveaux de changement de température et de pH qui auront lieu d'ici la fin du siècle, puisque ceux-ci dépendent d'action mise en place à l'échelle mondiale (voir chapitre 1 et annexes 1.1).

Ensuite, la difficulté principale dans les études visant à reproduire expérimentalement le changement climatique est le décalage de dynamique des phénomènes. La chronologie des stress appliqués expérimentalement est loin de reproduire celle du changement climatique, qui se produit sur des décennies voir des siècles (IPCC, 2014, 2005, 2001). En effet, les changements des paramètres physico-chimiques classiquement opérés en quelque jours dans ce type d'étude (+2 °C ; pH 7,75) correspondent à des estimations de valeurs prévues d'ici la fin du siècle par le GIEC (IPCC, 2014). Par conséquent, les animaux pourront certainement s'acclimater et/ou s'adapter à ces changements environnementaux. Pour reproduire le changement climatique plus fidèlement, il faudrait pratiquer ce même type d'expériences pendant plusieurs décennies. Une autre solution serait d'utiliser des animaux avec des temps de génération très court, comme des bactéries, qui pourraient s'adapter sur des temps d'expérience réalistes. Ces options ne semblent pas du tout réalistes pour répondre à notre problématique sur les acanthasters. Néanmoins, il existe des processus permettant d'améliorer les méthodes employées, comme par exemple l'exposition préalable des animaux adultes aux conditions modifiées. De plus en plus d'études tentent de se rapprocher d'une situation naturelle en acclimatant les géniteurs (pour revue, voir Byrne, 2012; Byrne et al., 2020; Ross et al., 2016). Jusqu'à ce jour, les études sur les acanthasters se sont contentées de faire la reproduction *in vitro* avec des animaux fraichement récupérés, avant d'exposer les stades d'intérêt directement en conditions modifiées. Mettre des embryons ou des larves dans un milieu modifié sans avoir acclimaté les adultes avant revient à créer un choc ponctuel, alors que le changement climatique est graduel. Pour tenter de réduire ce choc, nous avons introduit une phase d'acclimatation des géniteurs. Cette phase s'est révélée importante puisque la majorité de nos résultats

contredit la littérature. Spécifiquement, un des résultats importants du projet est l'absence de mortalité des larves issues des reproductions de décembre, quel que soit les traitements. Il est possible que les acanthasters se soient acclimaté aux conditions modifiées en 3 mois et qu'elles aient produit des larves assez résistantes pour ne pas mourir dans les conditions de stress utilisées (malgré quelques effets délétères décrits auparavant). Une autre explication serait que les niveaux de stress utilisés ne soient pas suffisants pour provoquer la mortalité des larves. Cela semble assez peu probable puisque d'autres études ayant omis l'acclimatation ont déjà montré de la mortalité avec des niveaux similaires. Les conditions d'élevage larvaire de l'étude étaient optimisées pour tenter d'exclure un maximum de paramètres limitants, afin de permettre la focalisation sur les effets de la température et du pH. Ce ne sera pas le cas dans la nature où les acanthasters et les larves feront aussi face à d'autres stress. Néanmoins, si les acanthasters ont pu s'acclimater aux conditions projetées d'ici la fin du siècle en 3-4 mois (1% de mortalité des adultes, pas de mortalité détectée chez les larves), il en sera très certainement de même en ~80 ans.

3. Perspectives de recherche

Pour poursuivre l'étude des effets du changement climatique sur les performances de reproduction des acanthasters, des modifications du protocole expérimental utilisé dans ce projet permettraient d'obtenir des résultats supplémentaires :

- Augmenter la précision des échantillonnages des larves, notamment pour résoudre les problèmes des valeurs de survie larvaire >100 %. De plus, il serait intéressant de commencer les estimations de densité plus tôt. En calculant précisément le volume d'œufs fertilisés introduit, il serait possible de déterminer la survie dès la fertilisation. Il serait aussi intéressant d'échantillonner à +14h, +16h et +18h pour étudier les stades de développement précoce tels que le clivage et la blastulation (Allen et al., 2017).

- Proposer différents niveaux de nutrition pour les larves. Les résultats de notre étude ont montré que l'exposition des adultes à des températures plus élevées pourrait inverser les effets positifs proposés par Uthicke et al. (2015), qui prévoyait un co-effet promoteur de la température combinée à une disponibilité en nourriture importante. Faire varier les concentrations en micro-algues pourrait permettre de mettre en évidence de potentiels effets additifs du changement climatique combiné à un régime plus limité en chlorophylle a, qui se rapprocherait plus d'une situation naturelle. De plus, il serait aussi possible de tester des niveaux de nutrition bas reflétant des eaux oligotrophes afin d'étudier les effets du changement climatique sur les capacités de

résilience larvaire, qui font partie d'une autre hypothèse pour expliquer les infestations, s'opposant à l'hypothèse de l'eutrophisation (Wolfe et al., 2015)

- Utiliser des approches de génétique quantitative pour mieux appréhender le potentiel d'adaptation au changement climatique des espèces (Gienapp et al., 2008 ; Hoffmann et Sgrò, 2011). Pour proposer une telle approche pour les acanthasters, il conviendrait de réaliser quelques ajustements sur le système et les méthodes suivant Sparks et al. (2017). Cela permettrait d'avoir des larves de génotype connu pour chaque condition afin de quantifier les potentiels effets maternels et/ou paternels (Sparks et al., 2017).

- Faire recruter les larves d'acanthasters permettrait d'estimer le temps au recrutement, ainsi que la croissance des juvéniles. Le temps au recrutement est une donnée importante puisque c'est le laps de temps qu'une larve mets pour quitter sa forme pélagique, qui est la plus fragile (Cowan et al., 2016). Cela permettrait ensuite d'étudier les effets de la température et du pH sur la croissance des juvéniles dès leurs recrutement. Il serait aussi possible d'exposer les algues corallines aux conditions de réchauffement et d'acidification pour étudier les effets potentiels d'une préexposition sur le recrutement larvaire et la croissance des jeunes juvéniles pour les comparer avec les études existantes (Kamya et al., 2017, 2016; Uthicke et al., 2013a).

- Ajouter des niveaux de stress intermédiaires et extrêmes pour mettre en évidence les cibles à partir desquelles les effets deviennent délétères, voir létaux. Les niveaux intermédiaires correspondraient à ce que certains auteurs proposent comme les modifications probables d'ici 2050 (+1 °C ; Uthicke et al., 2020) alors que les niveaux extrêmes pourraient correspondre aux projections faites d'ici 2300 (pH 7,6 ; Kurihara et al., 2008 ; Uthicke et al., 2013a).

- Augmenter la durée d'acclimatation des adultes. Il a été montré que la durée de l'acclimatation des adultes pouvait avoir un effet sur les stades de vie suivants. Une durée d'acclimatation plus importante permettrait de savoir si les acanthasters peuvent aussi acclimater leur métabolisme et leur physiologie aux facteurs de stress combinés (température et pH) après une certaine durée (Suckling et al., 2015).

- Cultiver du corail pour reproduire les mêmes expériences en nourrissant les acanthasters avec du corail vivant serait une amélioration intéressante. Il existe de nombreuses méthodes pour cultiver du corail à bas coût telles que la micro-fragmentation, le clonage, etc (pour revue, voir McLeod et al., 2020). Une autre alternative serait de pouvoir reproduire ces expériences dans des centres de recherche qui disposent déjà de coraux (ex : AIMS). Disposer de corail vivant

permettrait aussi de les soumettre aux mêmes conditions que les acanthasters (réchauffement et acidification) pour de se rapprocher encore de la réalité naturelle.

- Réaliser une approche multigénérationnelle. Cette approche consisterait en une phase d'acclimatation des adultes dans plusieurs conditions, les reproductions et élevages larvaires jusqu'au recrutement puis l'élevage des juvéniles jusqu'à atteindre la maturité sexuelle, puis reconduire à nouveau ce cycle complet, en effectuant les observations et mesures sur les différents stades de ces générations successives.

- Reproduire les mêmes expériences dans des endroits différents et/ou sur des espèces différentes. La majorité des études sur les acanthasters ont été faites sur *Acanthaster* cf. *solaris* dans l'ouest de l'Océan Pacifique. Or, il est désormais reconnu qu'il existe au moins 4 espèces différentes d'acanthasters, avec des répartitions géographiques différentes. Il serait donc possible que les réponses physiologiques soient différentes suivant les espèces et les zones géographiques. Par exemple, il a récemment été démontré des différences significatives de comportement entre *A.* cf. *solaris* sur la Grande Barrière (GBR) *et A. planci* aux Maldives (Burn et al., 2020). Il pourrait être intéressant de proposer le même type d'expérience dans d'autres zones de l'aire de répartition des acanthasters, ainsi que sur d'autres espèces d'acanthasters. Aussi, au sein d'une même espèce (*A.* cf. *solaris*), il serait possible de reproduire la présente étude sur la GBR, dans un premier temps aux mêmes latitudes qu'en Calédonie afin d'avoir les mêmes températures basales.



Chapitre 6

Bibliographie

1

Chapitre 6 : Bibliographie

Adjeroud, M., 2012. Prolifération de l ' étoile de mer corallivore Acanthaster planci dans le lagon sud-ouest de Nouvelle-Calédonie : état de lieux en juin 2012 et impacts sur les communautés coralliennes. Nouméa.

Adjeroud, M., Kayal, M., Peignon, C., Juncker, M., Mills, S.C., Beldade, R., Dumas, P., 2018. Ephemeral and localized outbreaks of the coral predator Acanthaster cf. solaris in the southwestern lagoon of new caledonia. Zool. Stud. 57, 1–11. https://doi.org/10.6620/ZS.2018.57-04

Albright, R., Caldeira, L., Hosfelt, J., Kwiatkowski, L., Maclaren, J.K., Mason, B.M., Nebuchina, Y., Ninokawa, A., Pongratz, J., Ricke, K.L., Rivlin, T., Schneider, K., Sesboüé, M., Shamberger, K., Silverman, J., Wolfe, K., Zhu, K., Caldeira, K., 2016. Reversal of ocean acidification enhances net coral reef calcification. Nature 531, 362–365. https://doi.org/10.1038/nature17155

Albright, R., Takeshita, Y., Koweek, D.A., Ninokawa, A., Wolfe, K., Rivlin, T., Nebuchina, Y., Young, J., Caldeira, K., 2018. Carbon dioxide addition to coral reef waters suppresses net community calcification. Nature 555, 516–519. https://doi.org/10.1038/nature25968

Allen, J.D., Schrage, K.R., Foo, S.A., Watson, S.A., Byrne, M., 2017. The effects of salinity and pH on fertilization, early development, and hatching in the crown-of-thorns seastar. Diversity 9, 13. https://doi.org/10.3390/d9010013

Allen, R.M., Buckley, Y.M., Marshall, D.J., 2008. Offspring Size Plasticity in Response to Intraspecific Competition: An Adaptive Maternal Effect across Life-History Stages. Am. Nat. 171, 225–237. https://doi.org/10.1086/524952

Anthony, K.R.N., 2016. Coral Reefs under Climate Change and Ocean Acidification: Challenges and Opportunities for Management and Policy. Annu. Rev. Environ. Resour. 41, 59–81. https://doi.org/10.1146/annurev-environ-110615-085610

Ayukai, T., Keesing, J.K., Cartwright, C.M., Halford, A.R., Hocking, D., Okaji, K., 1996. Practical handbook for large scale rearing of the larvae and juveniles of crown-of-thorns starfish. AIMS Rep. 22, 1–29.

Babcock, R., Mundy, C., 1992. Reproductive biology, spawning and field fertilization rates of Acanthatser planci. Mar. Freshw. Res. 43, 525. https://doi.org/10.1071/MF9920525

Babcock, R.C., 1990. Spawing behaviour of Acanthaster planci. Coral Reefs 9, 124. https://doi.org/10.1007/BF00258223

Babcock, R.C., Bull, G.D., Harrison, P.L., Heyward, A.J., Oliver, J.K., Wallace, C.C., Willis, B.L., 1986. Synchronous spawnings of 105 scleractinian coral species on the Great Barrier Reef. Mar. Biol. 90, 379–394. https://doi.org/10.1007/BF00428562

Babcock, R.C., Milton, D.A., Pratchett, M.S., 2016. Relationships between size and reproductive output in the crown-of-thorns starfish. Mar. Biol. 163, 3–9. https://doi.org/10.1007/s00227-016-3009-5

Babcock, R.C., Mundy, C.N., Whitehead, D., 1994. Sperm Diffusion Models and In Situ Confirmation of Long-Distance Fertilization in the Free-Spawning Asteroid Acanthaster planci. Biol. Bull. 186, 17–28. https://doi.org/10.2307/1542033

Babcock, R.C., Plagányi, É.E., Condie, S.A., Westcott, D.A., Fletcher, C.S., Bonin, M.C., Cameron, D., 2020. Suppressing the next crown-of-thorns outbreak on the Great Barrier Reef. Coral Reefs.

https://doi.org/10.1007/s00338-020-01978-8

Baird, A.H., Marshall, P.A., 2002. Mortality, growth and reproduction in scleractinian corals following bleaching on the Great Barrier Reef. Mar. Ecol. Prog. Ser. 237, 133–141.

Baird, A.H., Pratchett, M.S., Hoey, A.S., Herdiana, Y., Campbell, S.J., 2013. Acanthaster planci is a major cause of coral mortality in Indonesia. Coral Reefs 32, 803–812. https://doi.org/10.1007/s00338-013-1025-1

Baker, A.C., 2003. Flexibility and Specificity in Coral-Algal Symbiosis: Diversity, Ecology, and Biogeography of Symbiodinium. Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst. 34, 661–689. https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132417

Baker, A.C., Glynn, P.W., Riegl, B., 2008. Climate change and coral reef bleaching: An ecological assessment of long-term impacts, recovery trends and future outlook. Estuar. Coast. Shelf Sci. 80, 435–471. https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.09.003

Barnes, J.H., 1966. The crown-of-thorns starfish as a destroyer of coral. Aust. Nat. Hist. 257–261.

Bates, A.E., Pecl, G.T., Frusher, S., Hobday, A.J., Wernberg, T., Smale, D.A., Sunday, J.M., Hill, N.A., Dulvy, N.K., Colwell, R.K., Holbrook, N.J., Fulton, E.A., Slawinski, D., Feng, M., Edgar, G.J., Radford, B.T., Thompson, P.A., Watson, R.A., 2014. Defining and observing stages of climate-mediated range shifts in marine systems. Glob. Environ. Chang. 26, 27–38. https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2014.03.009

Beach, D.H., Hanscomb, N.J., Ormond, R.F.G., 1975. Spawning pheromone in crown-of-thorns starfish. Nature 254, 135–136. https://doi.org/10.1038/254135a0

Belk, M.S., Belk, D., 1975. Observation of algal colonization on Acropora aspera killed by Acanthaster planci. Hydrobiologia 46, 29–32. https://doi.org/10.1007/BF00038724

Bell, R., Kettle, B., Stump, R., 1986. An evaluation of the effectiveness of artificiel barriers in meso-scale crown-of-thorns management at John Brewer reef. James Cook University of North Queensland PlIni-.

Bellwood, D.R., Choat, J.H., 2011. Dangerous demographics: The lack of juvenile humphead parrotfishes Bolbometopon muricatum on the Great Barrier Reef. Coral Reefs 30, 549–554. https://doi.org/10.1007/s00338-011-0738-2

Bellwood, D.R., Hughes, T.P., Folke, C., Nyström, M., 2004. Confronting the coral reef crisis. Nature 429, 827–833. https://doi.org/10.1038/nature02691

Benzie, J.A.H., 1999. MAJOR GENETIC DIFFERENCES BETWEEN CROWN-OF-THORNS STARFISH (ACANTHASTER PLANCI) POPULATIONS IN THE INDIAN AND PACIFIC OCEANS. Evolution (N. Y). 53, 1782–1795. https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1999.tb04562.x

Benzie, J.A.H., Dixon, P., 1994. The Effects of Sperm Concentration, Sperm:Egg Ratio, and Gamete Age on Fertilization Success in Crown-of-Thorns Starfish (Acanthaster planci) in the Laboratory. Biol. Bull. 186, 139–152. https://doi.org/10.2307/1542048

Birkeland, C., 1989. The influence of echinoderms on coral-reef communities. Echinoderm Stud. 1–79.

Birkeland, C., 1982. Terrestrial runoff as a cause of outbreaks of Acanthaster planci (Echinodermata: Asteroidea). Mar. Biol. 69, 175–185. https://doi.org/10.1007/BF00396897

Birkeland, C., Lucas, J.S., 1990. Acanthaster planci: major management problem of coral reefs. CRC Press, Boca Raton LA.

Bonaldo, R.M., Bellwood, D.R., 2011. Parrotfish predation on massive Porites on the Great Barrier Reef. Coral Reefs 30, 259–269. https://doi.org/10.1007/s00338-010-0669-3

Bos, A.R., Gumanao, G.S., Mueller, B., Saceda-Cardoza, M.M.E., 2013. Management of crown-of-thorns sea star (Acanthaster planci L.) outbreaks: Removal success depends on reef topography and timing within the reproduction cycle. Ocean Coast. Manag. 71, 116–122. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2012.09.011

Boström-Einarsson, L., Bonin, M.C., Moon, S., Firth, S., 2018. Environmental impact monitoring of household vinegar-injections to cull crown-of-thorns starfish, Acanthaster spp. Ocean Coast. Manag. 155, 83–89. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2018.01.023

Boström-Einarsson, L., Rivera-Posada, J., 2016. Controlling outbreaks of the coral-eating crown-of-thorns starfish using a single injection of common household vinegar. Coral Reefs 35, 223–228. https://doi.org/10.1007/s00338-015-1351-6

Böttger, S.A., Walker, C.W., Unuma, T., 2004. Care and Maintenance of Adult Echinoderms, in: Methods in Cell Biology. pp. 17–38. https://doi.org/10.1016/S0091-679X(04)74002-9

Brodie, J., Devlin, M., Lewis, S., 2017. Potential Enhanced Survivorship of Crown of Thorns Starfish Larvae due to Near-Annual Nutrient Enrichment during Secondary Outbreaks on the Central Mid-Shelf of the Great Barrier Reef, Australia. Diversity 9, 17. https://doi.org/10.3390/d9010017

Brodie, J., Fabricius, K., De'ath, G., Okaji, K., 2005. Are increased nutrient inputs responsible for more outbreaks of crown-of-thorns starfish? An appraisal of the evidence. Mar. Pollut. Bull. 51, 266–278. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.10.035

Brodie, J.E., 1992. Enhancement of larval and juvenile survival and recruitment in acanthaster planci from the effects of terrestrial runoff: A review. Mar. Freshw. Res. 43, 539–553. https://doi.org/10.1071/MF9920539

Brown, J.H., Gillooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M., West, G.B., 2004. TOWARD A METABOLIC THEORY OF ECOLOGY. Ecology 85, 1771–1789. https://doi.org/10.1890/03-9000

Bruno, J.F., Selig, E.R., 2007. Regional decline of coral cover in the Indo-Pacific: Timing, extent, and subregional comparisons. PLoS One 2. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000711

Burke, L., Reytar, K., Spalding, M., Perry, A., 2011. Reefs at Risk: Revisted, World Resources Institute.

Burn, D., Matthews, S., Caballes, C.F., Chandler, J.F., Pratchett, M.S., 2020. Biogeographical variation in diurnal behaviour of Acanthaster planci versus Acanthaster cf. solaris. PLoS One 15, e0228796. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228796

Buttin, J., 2018. Caractérisation, suivi et impacts écologiques de population d'Acanthaster cf. solaris en explosion démographique, au sein du lagon Sud-Ouest de la Nouvelle-Calédonie. Nouméa, Nouvelle Calédonie.

Byrne, M., 2012. Global change ecotoxicology: Identification of early life history bottlenecks in marine invertebrates, variable species responses and variable experimental approaches. Mar. Environ. Res. 76, 3–15. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2011.10.004

Byrne, M., 2011. Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: Vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. Oceanogr. Mar. Biol. An Annu. Rev. 49, 1–42.

Byrne, M., Foo, S.A., Ross, P.M., Putnam, H.M., 2020. Limitations of cross- and multigenerational plasticity for marine invertebrates faced with global climate change. Glob. Chang. Biol. 26, 80–

102. https://doi.org/10.1111/gcb.14882

Byrne, M., Przeslawski, R., 2013. Multistressor impacts of warming and acidification of the ocean on marine invertebrates' life histories. Integr. Comp. Biol. 53, 582–596. https://doi.org/10.1093/icb/ict049

Byrne, M., Selvakumaraswamy, P., Ho, M.A., Woolsey, E., Nguyen, H.D., 2011. Sea urchin development in a global change hotspot, potential for southerly migration of thermotolerant propagules. Deep. Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 58, 712–719. https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2010.06.010

Caballes, C.F., Pratchett, M.S., 2014. Reproductive biology and early life history of the crown-of-thorns starfish Pacific Climate Change Report Card View project Predation on the early life stages of the crown-of-thorns starfish, Echinoderms: Ecology, Habitats and Reproductive Biology. https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3719.5129

Caballes, C.F., Pratchett, M.S., Buck, A.C.E., 2017a. Interactive effects of endogenous and exogenous nutrition on larval development for crown-of-thorns starfish. Diversity 9, 15. https://doi.org/10.3390/d9010015

Caballes, C.F., Pratchett, M.S., Kerr, A.M., Rivera-Posada, J.A., 2016. The role of maternal nutrition on oocyte size and quality, with respect to early larval development in the coral-eating starfish, acanthaster planci. PLoS One 11, e0158007. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158007

Caballes, C.F., Pratchett, M.S., Raymundo, M.L., Rivera-Posada, J.A., 2017b. Environmental tipping points for sperm motility, fertilization, and embryonic development in the crown-of-thorns starfish. Diversity 9, 10. https://doi.org/10.3390/d9010010

Caballes, C.F., Schupp, P.J., Pratchett, M.S., Rivera-Posada, J.A., 2012. Interspecific transmission and recovery of TCBS-induced disease between Acanthaster planci and Linckia guildingi. Dis. Aquat. Organ. 100, 263–267. https://doi.org/10.3354/dao02480

Calvin, K., Bond-Lamberty, B., Clarke, L., Edmonds, J., Eom, J., Hartin, C., Kim, S., Kyle, P., Link, R., Moss, R., McJeon, H., Patel, P., Smith, S., Waldhoff, S., Wise, M., 2017. The SSP4: A world of deepening inequality. Glob. Environ. Chang. 42, 284–296. https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2016.06.010

Canadell, J.G., Le Quere, C., Raupach, M.R., Field, C.B., Buitenhuis, E.T., Ciais, P., Conway, T.J., Gillett, N.P., Houghton, R.A., Marland, G., 2007. Contributions to accelerating atmospheric CO2 growth from economic activity, carbon intensity, and efficiency of natural sinks. Proc. Natl. Acad. Sci. 104, 18866–18870. https://doi.org/10.1073/pnas.0702737104

Caroselli, E., Prada, F., Pasquini, L., Marzano, F.N., Zaccanti, F., Falini, G., Levy, O., Dubinsky, Z., Goffredo, S., 2011. Environmental implications of skeletal micro-density and porosity variation in two scleractinian corals. Zoology 114, 255–264. https://doi.org/10.1016/j.zool.2011.04.003

Catala, R., 1950. Contribution à l'etude écologique des îlots coralliens du Pacifique Sud. Premiers éléments d'écologie terrestre et marine des îlots voisins du littoral de la Nouvelle-Calédonie. Bull. Biol. Fr. Belg. 84, 234–310.

Caudmont, S., Maitrepierre, L., 2007. Atlas climatique de la Nouvelle-Calédonie. Meteo France.

Chan, N.C.S., Connolly, S.R., 2013. Sensitivity of coral calcification to ocean acidification: a meta-analysis. Glob. Chang. Biol. 19, 282–290. https://doi.org/10.1111/gcb.12011

Chazottes, V., Hutchings, P., Osorno, A., 2017. Impact of an experimental eutrophication on the processes of bioerosion on the reef: One Tree Island, Great Barrier Reef, Australia. Mar. Pollut.

Bull. 118, 125–130. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.02.047

Cheney, D.P., 1974. Spawning and aggregation of Acanthaster planci in Micronesia, in: Proceedings of the Second International Coral Reef Symposium. pp. 1, 591–594.

Cheng, L., Abraham, J., Zhu, J., Trenberth, K.E., Fasullo, J., Boyer, T., Locarnini, R., Zhang, B., Yu, F., Wan, L., Chen, X., Song, X., Liu, Y., Mann, M.E., 2020. Record-Setting Ocean Warmth Continued in 2019. Adv. Atmos. Sci. 37, 137–142. https://doi.org/10.1007/s00376-020-9283-7

Chesher, R.H., 1969. Destruction of pacific corals by the sea star Acanthaster planci. Science (80-.). 165, 280–283. https://doi.org/10.1126/science.165.3890.280

Clark, C., Weitzman, B., 2006. Population Study Survey of Acanthaster planci , the Crown-of-Thorns starfish on the Northwest Coast Moorea , French Polynesia.

Clements, C.S., Hay, M.E., 2017. Size matters: Predator outbreaks threaten foundation species in small Marine Protected Areas. PLoS One 12, 1–14. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171569

Conand, C., 1983. Abondance, cycle sexuel et relations biometriques de l'etoile de mer Acanthaster planci en Nouvelle-Caledonie 43.

Connell, J.H., Hughes, T.P., Wallace, C.C., 1997. A 30-year study of coral abundance, recruitment, and disturbance at several scales in space and time. Ecol. Monogr. 67, 461–488. https://doi.org/10.1890/0012-9615(1997)067[0461:AYSOCA]2.0.CO;2

Cornwall, C.E., Hurd, C.L., 2016. Original article experimental design in ocean acidification research: Problems and solutions. ICES J. Mar. Sci. 73, 572–581. https://doi.org/10.1093/icesjms/fsv118

Coulombier, N., Nicolau, E., Le Déan, L., Antheaume, C., Jauffrais, T., Lebouvier, N., 2020. Impact of Light Intensity on Antioxidant Activity of Tropical Microalgae. Mar. Drugs 18, 122. https://doi.org/10.3390/md18020122

Cowan, Z.-L., Ling, S.D., Caballes, C.F., Dworjanyn, S.A., Pratchett, M.S., 2020. Crown-of-thorns starfish larvae are vulnerable to predation even in the presence of alternative prey. Coral Reefs 39, 293–303. https://doi.org/10.1007/s00338-019-01890-w

Cowan, Z.L., Dworjanyn, S.A., Caballes, C.F., Pratchett, M.S., 2016. Predation on crown-of-thorns starfish larvae by damselfishes. Coral Reefs 35, 1253–1262. https://doi.org/10.1007/s00338-016-1491-3

Cowan, Z.L., Pratchett, M., Messmer, V., Ling, S., 2017. Known predators of crown-of-thorns starfish (Acanthaster spp.) and their role in mitigating, if not preventing, population outbreaks. Diversity. https://doi.org/10.3390/d9010007

Cróquer, A., Villamizar, E., Noriega, N., 2002. Environmental factors affecting tissue regeneration of the reef--building coral Montastraea annularis (Faviidae) at Los Roques National Park, Venezuela. Rev. Biol. Trop. 50, 1055–65.

Dana, T.F., Newman, W.A., Fager, E.W., 1972. Acanthaster aggregations: interpreted as primarily responses to natural phenomena. Pacific Sci. 26, 1–18.

Dayoub, F., Dunbabin, M., Corke, P., 2015. Robotic detection and tracking of Crown-of-Thorns starfish. IEEE Int. Conf. Intell. Robot. Syst. 2015-Decem, 1921–1928. https://doi.org/10.1109/IROS.2015.7353629

De'ath, G., Fabricius, K.E., Sweatman, H., Puotinen, M., 2012. The 27-year decline of coral cover on the Great Barrier Reef and its causes. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 109, 17995–17999.

https://doi.org/10.1073/pnas.1208909109

De'ath, G., Lough, J.M., Fabricius, K.E., 2009. Declining coral calcification on the great barrier reef. Science (80-.). 323, 116–119. https://doi.org/10.1126/science.1165283

De'ath, G., Moran, P.J., 1998. Factors affecting the behaviour of crown-of-thorns starfish (Acanthaster planci L.) on the Great Barrier Reef: 1: Patterns of activity. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 220, 83–106. https://doi.org/10.1016/S0022-0981(97)00085-3

Delorme, N.J., Sewell, M.A., 2016. Effects of warm acclimation on physiology and gonad development in the sea urchin Evechinus chloroticus. Comp. Biochem. Physiol. Part A Mol. Integr. Physiol. 198, 33–40. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.03.020

DeVantier, L.M., Done, T.J., 2007. Inferring Past Outbreaks of the Crown-of-Thorns Seastar from Scar Patterns on Coral Heads. Geol. Approaches to Coral Reef Ecol. 85–125. https://doi.org/10.1007/978-0-387-33537-7_4

Dickson, A.G., Millero, F.J., 1987. A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media. Deep Sea Res. Part A. Oceanogr. Res. Pap. 34, 1733–1743. https://doi.org/10.1016/0198-0149(87)90021-5

Donelson, J.M., Salinas, S., Munday, P.L., Shama, L.N.S., 2018. Transgenerational plasticity and climate change experiments: Where do we go from here? Glob. Chang. Biol. 24, 13–34. https://doi.org/10.1111/gcb.13903

Doney, S.C., Fabry, V.J., Feely, R.A., Kleypas, J.A., 2009. Ocean Acidification: The Other CO 2 Problem. Ann. Rev. Mar. Sci. 1, 169–192. https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163834

Doropoulos, C., Diaz-Pulido, G., 2013. High CO2 reduces the settlement of a spawning coral on three common species of crustose coralline algae. Mar. Ecol. Prog. Ser. 475, 93–99. https://doi.org/10.3354/meps10096

Doropoulos, C., Ward, S., Diaz-Pulido, G., Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P.J., 2012. Ocean acidification reduces coral recruitment by disrupting intimate larval-algal settlement interactions. Ecol. Lett. 15, 338–346. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01743.x

Dufresne, J.-L., 2009. L'effet de serre: sa découverte, son analyse par la méthode des puissances nettes échangées et les effets de ses variations récentes et futures sur le climat terrestre.

Dulvy, N.K., Freckleton, R.P., Polunin, N.V.C., 2004. Coral reef cascades and the indirect effects of predator removal by exploitation. Ecol. Lett. 7, 410–416. https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00593.x

Dumas, P., Fiat, S., Durbano, A., Peignon, C., Mou-Tham, G., Ham, J., Gereva, S., Kaku, R., Chateau, O., Wantiez, L., De Ramon N'Yeurt, A., Adjeroud, M., 2020. Citizen Science, a promising tool for detecting and monitoring outbreaks of the crown-of-thorns starfish Acanthaster spp. Sci. Rep. 10, 291. https://doi.org/10.1038/s41598-019-57251-8

Dumas, P., Gereva, S., Moutardier, G., Ham, J., Kaku, R., 2015. Collective action and lime juice fight crown-of-thorns starfish outbreaks in Vanuatu. SPC Fish. Newsl. 47–52.

Dumas, P., Mills, S.C., Moutardier, G., Gereva, S., Beldade, R., Ham, J., Kaku, R., Adjeroud, M., 2018. The chaotic history of using vinegar injections to control Acanthaster spp. populations. A comment to Boström-Einarsson L., Bonin M. C., Moon S. and Firth S. (2018). Environmental impact monitoring of household vinegar-injections to cull crown-of-thorns s. Ocean Coast. Manag. 165, 434–435. https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2018.05.017

Dumas, P., Moutardier, G., Ham, J., Kaku, R., Gereva, S., Lefèvre, J., Adjeroud, M., 2016. Timing within

the reproduction cycle modulates the efficiency of village-based crown-of-thorns starfish removal. Biol. Conserv. 204, 237–246. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.10.027

Dunn, J.G., Sammarco, P.W., LaFleur, G., 2012. Effects of phosphate on growth and skeletal density in the scleractinian coral Acropora muricata: A controlled experimental approach. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 411, 34–44. https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.10.013

Dupont, S., Dorey, N., Stumpp, M., Melzner, F., Thorndyke, M., 2013. Long-term and trans-life-cycle effects of exposure to ocean acidification in the green sea urchin Strongylocentrotus droebachiensis. Mar. Biol. 160, 1835–1843. https://doi.org/10.1007/s00227-012-1921-x

Endean, R., 1982. Crown-of-thorns starfish on the great barrier reef. Endeavour 6, 10–14. https://doi.org/10.1016/0160-9327(82)90004-7

Endean, R., 1977. Acanthaster planci infestations of reefs of the Great Barrier Reef, in: Proceedings of the Third International Coral Reef Symposium. Miami, pp. 185–191.

Endean, R., 1974. Acanthaster planci on the Great Barrier Reef, in: Proceedings of the Second International Coral Reef Symposium. pp. 563–576.

Endean, R., 1971. The recovery of coral reefs devastated by catastrophic events with particular reference to currentAcanthaster planci plagues in the tropical Indo-West Pacific region. J. mar. biol. Ass. India 13, 1971.

Endean, R., 1969. Report on investigations made into aspects of the current Acanthaster planci (crown of thorns) infestations of certain reefs of the Great Barrier Reef. Brisbane, Australia.

Endean, R., Cameron, A.M., 1990. Acanthaster planci population outbreaks. Ecosyst. world 25, 419–437.

Endean, R., Stablum, W., 1975. Population Explosions of Acanthaster planci and Associated Destruction of the Hard-coral Cover of Reefs of the Great Barrier Reef, Australia. Environ. Conserv. 2, 247–256. https://doi.org/10.1017/S0376892900001715

Endean, R., Stablum, W., 1973. A study of some aspects of the crown-of-thorns starfish (Acanthaster planci) infestations of reefs of Australia's Great Barrier Reef. Atoll Res. Bull. 167, 1–62. https://doi.org/10.5479/si.00775630.167.1

Engelhardt, U., Lassig, B., 1992. The Possible Causes and Consequences of Outbreaks of the Crown-of-Thorns Starfish, in: Engelhardt, U., Lassig, B. (Eds.), Proceedings of a Workshop Held in Townsville,. Queensland, Australia, p. 159.

Fabricius, K., 2013. Acanthaster planci, in: Lawrence, J.M. (Ed.), Starfish: Biology and Ecology of the Asteroidea. John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, pp. 132–141.

Fabricius, K.E., 2005. Effects of terrestrial runoff on the ecology of corals and coral reefs: Review and synthesis. Mar. Pollut. Bull. 50, 125–146. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.11.028

Fabricius, K.E., Fabricius, F.H., 1992. Re-assessment of ossicle frequency patterns in sediment cores: rate of sedimentation related to Acanthaster planci. Coral Reefs 11, 109–114. https://doi.org/10.1007/BF00357431

Fabricius, K.E., Kluibenschedl, A., Harrington, L., Noonan, S., De'Ath, G., 2015. In situ changes of tropical crustose coralline algae along carbon dioxide gradients. Sci. Rep. 5, 1–7. https://doi.org/10.1038/srep09537

Fabricius, K.E., Okaji, K., De'ath, G., 2010. Three lines of evidence to link outbreaks of the crown-of-thorns seastar Acanthaster planci to the release of larval food limitation. Coral Reefs 29, 593–

605. https://doi.org/10.1007/s00338-010-0628-z

Farrell, A.P., 2009. Environment, antecedents and climate change: lessons from the study of temperature physiology and river migration of salmonids. J. Exp. Biol. 212, 3771–3780. https://doi.org/10.1242/jeb.023671

Faurea, G., 1989. Degradation of coral reefs at Moorea Island (French Polynesia) by Acanthaster planci. J. Coast. Res. 5, 295–305.

Fernandes, L., Moran, P.J., Marsh, H., 1999. What do you mean " There ' s an outbreak of crown-of-thorns starfish on the Great Barrier Reef ."? Aust. Park. Wildl. 1, 12–16.

Figueira, W.F., Booth, D.J., 2010. Increasing ocean temperatures allow tropical fishes to survive overwinter in temperate waters. Glob. Chang. Biol. 16, 506–516. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01934.x

Fletcher, Bonin, M.C., Westcott, D.A., 2020. An ecologically-based operational strategy for COTS Control - Integrated decision making from the site to the regional scale, Report to the National Environmental Science Programme.

Floros, C.D., Samways, M.J., Armstrong, B., 2004. Taxonomic patterns of bleaching within a South African coral assemblage. Biodivers. Conserv. 13, 1175–1194. https://doi.org/10.1023/B:BIOC.0000018151.67412.c7

Fourier, J.B., 1827. Mémoire sur les températures du globe terreste et des espaces planétaires., Mémoires d. ed.

Fricko, O., Havlik, P., Rogelj, J., Klimont, Z., Gusti, M., Johnson, N., Kolp, P., Strubegger, M., Valin, H., Amann, M., Ermolieva, T., Forsell, N., Herrero, M., Heyes, C., Kindermann, G., Krey, V., McCollum, D.L., Obersteiner, M., Pachauri, S., Rao, S., Schmid, E., Schoepp, W., Riahi, K., 2017. The marker quantification of the Shared Socioeconomic Pathway 2: A middle-of-the-road scenario for the 21st century. Glob. Environ. Chang. 42, 251–267. https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2016.06.004

Frölicher, T.L., Laufkötter, C., 2018. Emerging risks from marine heat waves. Nat. Commun. 9, 650. https://doi.org/10.1038/s41467-018-03163-6

Fujimori, S., Hasegawa, T., Masui, T., Takahashi, K., Herran, D.S., Dai, H., Hijioka, Y., Kainuma, M., 2017. SSP3: AIM implementation of Shared Socioeconomic Pathways. Glob. Environ. Chang. 42, 268–283. https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2016.06.009

Fuss, S., Canadell, J.G., Peters, G.P., Tavoni, M., Andrew, R.M., Ciais, P., Jackson, R.B., Jones, C.D., Kraxner, F., Nakicenovic, N., Le Quéré, C., Raupach, M.R., Sharifi, A., Smith, P., Yamagata, Y., 2014. Betting on negative emissions. Nat. Clim. Chang. 4, 850–853. https://doi.org/10.1038/nclimate2392

García Molinos, J., Halpern, B.S., Schoeman, D.S., Brown, C.J., Kiessling, W., Moore, P.J., Pandolfi, J.M., Poloczanska, E.S., Richardson, A.J., Burrows, M.T., 2016. Climate velocity and the future global redistribution of marine biodiversity. Nat. Clim. Chang. 6, 83–88. https://doi.org/10.1038/nclimate2769

Garlovsky, D.F., Bergquist, A., 1970. Crown-of-thorns starfish in Western Samoa. South Pacific Bull 47–49.

Gattuso, J.P., Hansson, L., 2011. Ocean Acidification. Oxford University Press, Oxford.

Gattuso, J.P., Magnan, A., Billé, R., Cheung, W.W.L., Howes, E.L., Joos, F., Allemand, D., Bopp, L., Cooley, S.R., Eakin, C.M., Hoegh-Guldberg, O., Kelly, R.P., Pörtner, H.O., Rogers, A.D., Baxter,

J.M., Laffoley, D., Osborn, D., Rankovic, A., Rochette, J., Sumaila, U.R., Treyer, S., Turley, C., 2015. Contrasting futures for ocean and society from different anthropogenic CO2 emissions scenarios. Science (80-.). 349. https://doi.org/10.1126/science.aac4722

Gazeau, F., Quiblier, C., Jansen, J.M., Gattuso, J.-P., Middelburg, J.J., Heip, C.H.R., 2007. Impact of elevated CO 2 on shellfish calcification. Geophys. Res. Lett. 34, L07603. https://doi.org/10.1029/2006GL028554

George, S.B., 1995. Echinoderm egg and larval quality as a function of adult nutritional state. Oceanol. Acta 19.

Gienapp, P., Teplitsky, C., Alho, J.S., Mills, J.A., Merilä, J., 2008. Climate change and evolution: disentangling environmental and genetic responses. Mol. Ecol. 17, 167–178. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03413.x

Gigou, A., 2011. Les étoiles de mer épineuses Acanthaster planci du lagon de Mayotte : des explosions démographiques de plus en plus fréquentes 31.

Glynn, P., 1988. Predation on coral reefs: some key processes, concepts, and research directions. Proceedings of the 6th International Coral Reef Symposium, pp. 51–62.

Glynn, P.W., 1993. Coral reef bleaching: ecological perspectives. Coral Reefs 12, 1–17. https://doi.org/10.1007/BF00303779

Glynn, P.W., 1973. Effect on Coral Reef Growth in Panama 180, 504–506.

Gonzalez-Bernat, M.J., Lamare, M., Barker, M., 2013. Effects of reduced seawater pH on fertilisation, embryogenesis and larval development in the Antarctic seastar Odontaster validus. Polar Biol. 36, 235–247. https://doi.org/10.1007/s00300-012-1255-7

Goreau, T.F., 1964. On the predation of coral by the spiny starfish Acanthaster planci (L.) in the southern Red Sea. Bull. Sea Fish. Res. Stn. Haifa 35, 23–26.

Graham, N.A.J., Nash, K.L., Kool, J.T., 2011. Coral reef recovery dynamics in a changing world. Coral Reefs 30, 283–294. https://doi.org/10.1007/s00338-010-0717-z

Guillard, R.R.L., Ryther, J.H., 1962. STUDIES OF MARINE PLANKTONIC DIATOMS: I. CYCLOTELLA NANA HUSTEDT, AND DETONULA CONFERVACEA (CLEVE) GRAN. Can. J. Microbiol. 8, 229–239. https://doi.org/10.1139/m62-029

Guillemot, N., Chabanet, P., Kulbicki, M., Vigliola, L., Léopold, M., Jollit, I., Le Pape, O., 2014. Effects of fishing on fish assemblages in a coral reef ecosystem: From functional response to potential indicators. Ecol. Indic. 43, 227–235. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.02.015

Halford, A., Cheal, A.J., Ryan, D., Williams, D.M.B., 2004. Resilience to large-scale disturbance in coral and fish assemblages on the great barrier reef. Ecology 85, 1892–1905. https://doi.org/10.1890/03-4017

Hall, E.R., DeGroot, B.C., Fine, M., 2015. Lesion recovery of two scleractinian corals under low pH conditions: Implications for restoration efforts. Mar. Pollut. Bull. 100, 321–326. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.08.030

Hall, M., Motti, C.A., Kroon, F., 2017. The potential role of the giant triton snail, Charonia tritonis (Gastropoda: Ranellidae) in mitigating populations of the crown-of-thorns starfish, National Environmental Science Programme. Townsville, Australia.

Hamdoun, A., Epel, D., 2007. Embryo stability and vulnerability in an always changing world. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 104, 1745–1750. https://doi.org/10.1073/pnas.0610108104

Harriott, V., Goggin, L., Sweatman, H., 2003. Crown-of-thorns starfish Biology of crown-of- thorns starfish 2003.

Haszprunar, G., Vogler, C., Wörheide, G., 2017. Persistent gaps of knowledge for naming and distinguishing multiple species of crown-of-thorns-seastar in the Acanthaster planci species complex. Diversity 9, 22. https://doi.org/10.3390/d9020022

Henderson, J.A., Lucas, J.S., 1971. Larval development and metamorphosis of Acanthaster planci (Asteroida).

Hernroth, B., Baden, S., Thorndyke, M., Dupont, S., 2011. Immune suppression of the echinoderm Asterias rubens (L.) following long-term ocean acidification. Aquat. Toxicol. 103, 222–224. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2011.03.001

Hoegh-Guldberg, O., 1999a. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. Mar. Freshw. Res. 50, 839–66.

Hoegh-Guldberg, O., 1999b. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. Mar. Freshw. Res. 50, 839–866. https://doi.org/10.1071/MF99078

Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P.J., Hooten, A.J., Steneck, R.S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C.D., Sale, P.F., Edwards, A.J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C.M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R.H., Dubi, A., Hatziolos, M.E., 2007a. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. Science 318, 1737–1742. https://doi.org/10.1126/science.1152509

Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P.J., Hooten, A.J., Steneck, R.S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C.D., Sale, P.F., Edwards, A.J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C.M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R.H., Dubi, A., Hatziolos, M.E., 2007b. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. Science 318, 1737–1742. https://doi.org/10.1126/science.1152509

Hoegh-Guldberg, O., Pendleton, L., Kaup, A., 2019. People and the changing nature of coral reefs. Reg. Stud. Mar. Sci. 30, 100699. https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100699

Hoegh-Guldgerb, O., Pearse, J.S., 1995. Temperature, Food Availability, and the Development of Marine Invertebrate Larvae. Am. Zool. 35, 415–425. https://doi.org/10.1093/icb/35.4.415

Hoey, J., Chin, A., 2004. Environmental Status: Crown-of-thorns starfish. Townsville, Australia.

Hoffmann, A.A., Sgrò, C.M., 2011. Climate change and evolutionary adaptation. Nature 470, 479–485. https://doi.org/10.1038/nature09670

Holtgrieve, G.W., Schindler, D.E., Hobbs, W.O., Leavitt, P.R., Ward, E.J., Bunting, L., Chen, G., Finney, B.P., Gregory-Eaves, I., Holmgren, S., Lisac, M.J., Lisi, P.J., Nydick, K., Rogers, L.A., Saros, J.E., Selbie, D.T., Shapley, M.D., Walsh, P.B., Wolfe, A.P., 2011. A Coherent Signature of Anthropogenic Nitrogen Deposition to Remote Watersheds of the Northern Hemisphere. Science (80-.). 334, 1545–1548. https://doi.org/10.1126/science.1212267

Horwitz, R., Fine, M., 2014. High CO2 detrimentally affects tissue regeneration of Red Sea corals. Coral Reefs 33, 819–829. https://doi.org/10.1007/s00338-014-1150-5

Hu, M.Y., Lein, E., Bleich, M., Melzner, F., Stumpp, M., 2018. Trans-life cycle acclimation to experimental ocean acidification affects gastric pH homeostasis and larval recruitment in the sea star Asterias rubens. Acta Physiol. 224, e13075. https://doi.org/10.1111/apha.13075

Hue, T., Chateau, O., Lecellier, G., Kayal, M., Lanos, N., Gossuin, H., Adjeroud, M., Dumas, P., 2020. Temperature affects the reproductive outputs of coral-eating starfish Acanthaster spp. after adult exposure to near-future ocean warming and acidification. Mar. Environ. Res. 162, 105164. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.105164

Hughes, T.P., 2003. Climate Change, Human Impacts, and the Resilience of Coral Reefs. Science (80-.). 301, 929–933. https://doi.org/10.1126/science.1085046

Hughes, T.P., 1994. Catastrophes, Phase Shifts, and Large-Scale Degradation of a Caribbean Coral Reef. Science (80-.). 265, 1547–1551. https://doi.org/10.1126/science.265.5178.1547

Hughes, T.P., Anderson, K.D., Connolly, S.R., Heron, S.F., Kerry, J.T., Lough, J.M., Baird, A.H., Baum, J.K., Berumen, M.L., Bridge, T.C., Claar, D.C., Eakin, C.M., Gilmour, J.P., Graham, N.A.J., Harrison, H., Hobbs, J.A., Hoey, A.S., Hoogenboom, M., Lowe, R.J., McCulloch, M.T., Pandolfi, J.M., Pratchett, M., Schoepf, V., Torda, G., Wilson, S.K., 2018. Spatial and temporal patterns of mass bleaching of corals in the Anthropocene. Science (80-.). 359, 80–83. https://doi.org/10.1126/science.aan8048

Hughes, T.P., Barnes, M.L., Bellwood, D.R., Cinner, J.E., Cumming, G.S., Jackson, J.B.C., Kleypas, J., Van De Leemput, I.A., Lough, J.M., Morrison, T.H., Palumbi, S.R., Van Nes, E.H., Scheffer, M., 2017a. Coral reefs in the Anthropocene. Nature 546, 82–90. https://doi.org/10.1038/nature22901

Hughes, T.P., Graham, N.A.J., Jackson, J.B.C., Mumby, P.J., Steneck, R.S., 2010. Rising to the challenge of sustaining coral reef resilience. Trends Ecol. Evol. 25, 633–642. https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.07.011

Hughes, T.P., Kerry, J.T., Álvarez-Noriega, M., Álvarez-Romero, J.G., Anderson, K.D., Baird, A.H., Babcock, R.C., Beger, M., Bellwood, D.R., Berkelmans, R., Bridge, T.C., Butler, I.R., Byrne, M., Cantin, N.E., Comeau, S., Connolly, S.R., Cumming, G.S., Dalton, S.J., Diaz-Pulido, G., Eakin, C.M., Figueira, W.F., Gilmour, J.P., Harrison, H.B., Heron, S.F., Hoey, A.S., Hobbs, J.P.A., Hoogenboom, M.O., Kennedy, E. V., Kuo, C.Y., Lough, J.M., Lowe, R.J., Liu, G., McCulloch, M.T., Malcolm, H.A., McWilliam, M.J., Pandolfi, J.M., Pears, R.J., Pratchett, M.S., Schoepf, V., Simpson, T., Skirving, W.J., Sommer, B., Torda, G., Wachenfeld, D.R., Willis, B.L., Wilson, S.K., 2017b. Global warming and recurrent mass bleaching of corals. Nature 543, 373–377. https://doi.org/10.1038/nature21707

Hughes, T.P., Kerry, J.T., Álvarez-Noriega, M., Álvarez-Romero, J.G., Anderson, K.D., Baird, A.H., Babcock, R.C., Beger, M., Bellwood, D.R., Berkelmans, R., Bridge, T.C., Butler, I.R., Byrne, M., Cantin, N.E., Comeau, S., Connolly, S.R., Cumming, G.S., Dalton, S.J., Diaz-Pulido, G., Eakin, C.M., Figueira, W.F., Gilmour, J.P., Harrison, H.B., Heron, S.F., Hoey, A.S., Hobbs, J.P.A., Hoogenboom, M.O., Kennedy, E. V., Kuo, C.Y., Lough, J.M., Lowe, R.J., Liu, G., McCulloch, M.T., Malcolm, H.A., McWilliam, M.J., Pandolfi, J.M., Pears, R.J., Pratchett, M.S., Schoepf, V., Simpson, T., Skirving, W.J., Sommer, B., Torda, G., Wachenfeld, D.R., Willis, B.L., Wilson, S.K., 2017c. Global warming and recurrent mass bleaching of corals. Nature 543, 373–377. https://doi.org/10.1038/nature21707

Hurlbert, S.H., 1984. Pseudoreplication and the Design of Ecological Field Experiments. Ecol. Monogr. 54, 187–211. https://doi.org/10.2307/1942661

Idip, D.J., 2003. Annual reproduction cycle of Acanthaster planci (L.) in Palau, in: Proceedings of the First Coral Reef Conference, Palau International Coral Reef Center Publication. pp. 04–001, 87–91.

IPCC, 2014. Climate change 2014 impacts, adaptation, and vulnerability, Climate Change 2014: Impacts, Adaptation and Vulnerability: Part B: Regional Aspects: Working Group II Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge. https://doi.org/10.1017/CBO9781107415386

IPCC, 2013. IPCC Climate Change 2013: the physical science basis-findings and lessons learned. Cambridge University Press.

IPCC, 2005. The IPCC special report on carbon dioxide capture and storage.

IPCC, 2001. Climate Change 2001, The scientific basis.

Jennings, S., Polunin, N.V.C., 1997. Impacts of predator depletion by fishing on the biomass and diversity of non-target reef fish communities. Coral Reefs 16, 71–82. https://doi.org/10.1007/s003380050061

Johnson, C.R., Sutton, D.C., Olson, R.R., Giddins, R., 1991. Settlement of crown-of-thorns starfish: role of bacteria on surfaces of coralline algae and a hypothesis for deepwater recruitment. Mar. Ecol. Prog. Ser. 71, 143–162. https://doi.org/10.3354/meps071143

Johnson, D.B., Moran, P.J., Driml, S., 1990. Evaluation of a crown-of-thorns starfish (Acanthaster planci) control program at Grub Reef (central Great Barrier Reef). Coral Reefs 9, 167–171. https://doi.org/10.1007/BF00258231

Jones, M.C., Cheung, W.W.L., 2015. on Global Marine Biodiversity 72, 741–752.

Kamya, P., 2016. The thorny problem in a changing ocean: Responses of the coral-eating crown of thorns starfish (COTS) to ocean warming and acidification, and the implications for coral reefs.

Kamya, P.Z., Byrne, M., Graba-Landry, A., Dworjanyn, S.A., 2016. Near-future ocean acidification enhances the feeding rate and development of the herbivorous juveniles of the crown-of-thorns starfish, Acanthaster planci. Coral Reefs 35, 1241–1251. https://doi.org/10.1007/s00338-016-1480-6

Kamya, P.Z., Byrne, M., Mos, B., Dworjanyn, S.A., 2018. Enhanced performance of juvenile crown of thorns starfish in a warm-high CO 2 ocean exacerbates poor growth and survival of their coral prey. Coral Reefs 37, 751–762. https://doi.org/10.1007/s00338-018-1699-5

Kamya, P.Z., Byrne, M., Mos, B., Hall, L., Dworjanyn, S.A., 2017. Indirect effects of ocean acidification drive feeding and growth of juvenile crown of- thorns starfish, Acanthaster planci. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 284, 20170778. https://doi.org/10.1098/rspb.2017.0778

Kamya, P.Z., Dworjanyn, S.A., Hardy, N., Mos, B., Uthicke, S., Byrne, M., 2014. Larvae of the coral eating crown-of-thorns starfish, Acanthaster planci in a warmer-high CO 2 ocean. Glob. Chang. Biol. 20, 3365–3376. https://doi.org/10.1111/gcb.12530

Karelitz, S., Lamare, M., Patel, F., Gemmell, N., Uthicke, S., 2020. Parental acclimation to future ocean conditions increases development rates but decreases survival in sea urchin larvae. Mar. Biol. 167, 2. https://doi.org/10.1007/s00227-019-3610-5

Karelitz, S., Lamare, M.D., Mos, B., De Bari, H., Dworjanyn, S.A., Byrne, M., 2019. Impact of growing up in a warmer, lower pH future on offspring performance: transgenerational plasticity in a pan-tropical sea urchin. Coral Reefs 38, 1085–1095. https://doi.org/10.1007/s00338-019-01855-z

Kayal, M., Ballard, J., Adjeroud, M., 2018. Multi-species consumer jams and the fall of guarded corals to crown-of-thorns seastar outbreaks. F1000Research 6, 1–8. https://doi.org/10.12688/f1000research.13118.1

Kayal, M., Vercelloni, J., Lison de Loma, T., Bosserelle, P., Chancerelle, Y., Geoffroy, S., Stievenart, C., Michonneau, F., Penin, L., Planes, S., Adjeroud, M., 2012. Predator Crown-of-Thorns Starfish (Acanthaster planci) Outbreak, Mass Mortality of Corals, and Cascading Effects on Reef Fish and Benthic Communities. PLoS One 7. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047363

Keesing, J.K., 1992. Influence of Persistent Sub-infestation Density Acanthaster planci (L.) and High Density Echinometra mathaei (de Blainville) Populations on Coral Reef Community Structure in Okinawa, Japan, in: Proceedings of the Seventh International Coral Reef Symposium. Guam.

Keesing, J.K., 1990. Feeding biology of the crown-of-thorns starfish, Acanthaster planci (Linnaeus). 225.

Keesing, J.K., Bradbury, R.H., DeVantier, L.M., Riddle, M.J., De'ath, G., 1992. Geological evidence for recurring outbreaks of the crown-of-thorns starfish: a reassessment from an ecological perspective. Coral Reefs 11, 79–85. https://doi.org/10.1007/BF00357425

Keesing, J.K., Halford, A.R., 1992. Field measurement of survival rates of juvenile Acanthaster planci: techniques and preliminary results. Mar. Ecol. Prog. Ser. 85, 107–114. https://doi.org/10.3354/meps085107

Keesing, J.K., Halford, A.R., Hall, K.C., Cartwright, C.M., 1997. Large-scale laboratory culture of the crown-of-thorns starfish Acanthaster planci (L.) (Echinodermata: Asteroidea). Aquaculture 157, 215–226. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00062-8

Keesing, J.K., Lucas, J.S., 1992. Field measurement of feeding and movement rates of the crown-of-thorns starfish Acanthaster planci (L.). J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 156, 89–104. https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90018-6

Kenchington, R.A., 1977. Growth and recruitment of Acanthaster planci (L.) on the great barrier reef. Biol. Conserv. 11, 103–118. https://doi.org/10.1016/0006-3207(77)90032-5

Kettle, B.T., Lucas, J.S., 1987. Biometric relationships between organ indices, fecundity, oxygen consumption and body size in Acanthaster planci. Bull. Mar. Sci. 41, 541–551.

Kleypas, J.A., McManu, J.W., Mene, L.A.B., 1999. Environmental limits to coral reef development: Where do we draw the line? Am. Zool. 39, 146–159. https://doi.org/10.1093/icb/39.1.146

Kriegler, E., Bauer, N., Popp, A., Humpenöder, F., Leimbach, M., Strefler, J., Baumstark, L., Bodirsky, B.L., Hilaire, J., Klein, D., Mouratiadou, I., Weindl, I., Bertram, C., Dietrich, J.-P., Luderer, G., Pehl, M., Pietzcker, R., Piontek, F., Lotze-Campen, H., Biewald, A., Bonsch, M., Giannousakis, A., Kreidenweis, U., Müller, C., Rolinski, S., Schultes, A., Schwanitz, J., Stevanovic, M., Calvin, K., Emmerling, J., Fujimori, S., Edenhofer, O., 2017. Fossil-fueled development (SSP5): An energy and resource intensive scenario for the 21st century. Glob. Environ. Chang. 42, 297–315. https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2016.05.015

Kroeker, K.J., Kordas, R.L., Crim, R., Hendriks, I.E., Ramajo, L., Singh, G.S., Duarte, C.M., Gattuso, J., 2013. Impacts of ocean acidification on marine organisms: quantifying sensitivities and interaction with warming. Glob. Chang. Biol. 19, 1884–1896. https://doi.org/10.1111/gcb.12179

Kuffner, I.B., Andersson, A.J., Jokiel, P.L., Rodgers, K.S., Mackenzie, F.T., 2008. Decreased abundance of crustose coralline algae due to ocean acidification. Nat. Geosci. 1, 114–117. https://doi.org/10.1038/ngeo100

Kupriyanova, E. k., Havenhand, J. n., 2005. Effects of temperature on sperm swimming behaviour, respiration and fertilization success in the serpulid polychaete, galeolaria caespitosa (annelida: Serpulidae). Invertebr. Reprod. Dev. 48, 7–17. https://doi.org/10.1080/07924259.2005.9652166

Kurihara, H., Matsui, M., Furukawa, H., Hayashi, M., Ishimatsu, A., 2008. Long-term effects of predicted future seawater CO2 conditions on the survival and growth of the marine shrimp Palaemon pacificus. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 367, 41–46. https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.08.016

Kurihara, H., Yin, R., Nishihara, G., Soyano, K., Ishimatsu, A., 2013. Effect of ocean acidification on growth, gonad development and physiology of the sea urchin Hemicentrotus pulcherrimus. Aquat. Biol. 18, 281–292. https://doi.org/10.3354/ab00510

Lamare, M., Pecorino, D., Hardy, N., Liddy, M., Byrne, M., Uthicke, S., 2014. The thermal tolerance of crown-of-thorns (Acanthaster planci) embryos and bipinnaria larvae: Implications for spatial and temporal variation in adult populations. Coral Reefs 33, 207–219. https://doi.org/10.1007/s00338-013-1112-3

Lane, D.J.W., 2012. Acanthaster planci impact on coral communities at permanent transect sites on Bruneian reefs, with a regional overview and a critique on outbreak causes. J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom. https://doi.org/10.1017/S0025315411000890

Langdon, C., Atkinson, M.J., 2005. Effect of elevated pCO 2 on photosynthesis and calcification of corals and interactions with seasonal change in temperature/irradiance and nutrient enrichment. J. Geophys. Res. 110, C09S07. https://doi.org/10.1029/2004JC002576

Lanos, N., 2019. Mise en place d'un protocole d'élevage larvaire d'Acanthaster cf. solaris.

Larkum, A.W.D., 1988. High rates of nitrogen fixation on coral skeletons after predation by the crown of thorns starfish Acanthaster planci. Mar. Biol. 97, 503–506. https://doi.org/10.1007/BF00391046

Lawrence, J.M., Cao, X., Chang, Y., Wang, P., Yu, Y., Lawrence, A.L., Watts, S.A., 2009. Temperature Effect on Feed Consumption, Absorption, and Assimilation Efficiencies and Production of the Sea Urchin Strongylocentrotus intermedius. J. Shellfish Res. 28, 389–395. https://doi.org/10.2983/035.028.0223

Lenth, R. V., 2016. Least-squares means: The R package lsmeans. J. Stat. Softw. 69. https://doi.org/10.18637/jss.v069.i01

Leray, M., Béraud, M., Anker, A., Chancerelle, Y., Mills, S.C., 2012. Acanthaster planci outbreak: Decline in coral health, coral size structure modification and consequences for obligate decapod assemblages. PLoS One 7, e35456. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035456

Levitan, D.R., 2006. The relationship between egg size and fertilization success in broadcast-spawning marine invertebrates. Integr. Comp. Biol. 46, 298–311. https://doi.org/10.1093/icb/icj025

Ling, S.D., 2008. Range expansion of a habitat-modifying species leads to loss of taxonomic diversity: a new and impoverished reef state. Oecologia 156, 883–894. https://doi.org/10.1007/s00442-008-1043-9

Lison de Loma, T., Chancerelle, Y., Lerouvreur, F., 2006. Evaluation des densités d'Acanthaster planci sur l'ile de Moorea (Rapport CRIOBE UMS 2978 CNRS-EPHE, RA149) 41.

Lucas, J.S., 1984. Growth, maturation and effects of diet in Acanthaster planci (L.) (Asteroidea) and hybrids reared in the laboratory. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 79, 129–147. https://doi.org/10.1016/0022-0981(84)90214-4

Lucas, J.S., 1982. Quantitative studies of feeding and nutrition during larval development of the coral reef asteroid Acanthaster planci (L.). J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 65, 173–193. https://doi.org/10.1016/0022-0981(82)90043-0

Lucas, J.S., 1973. Reproductive and larval biology of *Acanthaster planci* (L.) in Great Barrier Reef Waters. Micronesica 9, 197–203.

Lucas, J.S., Hart, R.J., Howden, M.E., Salathe, R., 1979. Saponins in eggs and larvae of A canthaster planci (L.) (Asteroidea) as chemical defences against planktivorous fish. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 40, 155–165. https://doi.org/10.1016/0022-0981(79)90042-X

Lundquist, C.J., Botsford, L.W., 2011. Estimating larval production of a broadcast spawner: the influence of density, aggregation, and the fertilization Allee effect. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 68,

30–42. https://doi.org/10.1139/F10-125

Manzello, D.P., Kleypas, J.A., Budd, D.A., Eakin, C.M., Glynn, P.W., Langdon, C., 2008. Poorly cemented coral reefs of the eastern tropical Pacific: Possible insights into reef development in a high-CO2 world. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 105, 10450–10455. https://doi.org/10.1073/pnas.0712167105

McCallum, H.I., 1990. Effects of predation on Acanthaster: age-structured metapopulation models, in: Bradbury, R.. (Ed.), Acanthaster and the Coral Reef: A Theoretical Perspective. Berlin, pp. 208–219.

McCallum, H.I., 1987. Predator regulation of Acanthaster planci. J. Theor. Biol. 127, 207–220. https://doi.org/10.1016/S0022-5193(87)80131-5

Mcclanahan, T.R., 1994. Coral-eating snail Drup increases in Kenyan c 115, 131–137.

McClanahan, T.R., Muthiga, N.A., 1989. Patterns of preedation on a sea urchin, Echinometra mathaei (de Blainville), on Kenyan coral reefs. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 126, 77–94. https://doi.org/10.1016/0022-0981(89)90125-1

McCulloch, M., Fallon, S., Wyndham, T., Hendy, E., Lough, J., Barnes, D., 2003. Coral record of increased sediment flux to the inner Great Barrier Reef since European settlement. Nature 421, 727–730. https://doi.org/10.1038/nature01361

McKeon, C.S., Moore, J.M., 2014. Species and size diversity in protective services offered by coral guard-crabs. PeerJ 2, e574. https://doi.org/10.7717/peerj.574

McLeod, I.M., Bourne, D., Ceccarelli, D.M., Boström-Einarsson, L., Cook, N., Hancock, B., Fulton, S., Harrison, P., Hein, M., Le Port, A., Smith, H.A., Smith, A., 2020. Best practice coral restoration for the Great Barrier Reef: Synthesis of results. Report to the National Environmental Science Program. https://doi.org/10.13140/RG.2.2.20607.12963

Mellin, C., Lugrin, C., Okaji, K., Francis, D.S., Uthicke, S., 2017. Selective feeding andmicroalgal consumption rates by crown-of-thorns seastar (Acanthaster cf. solaris) larvae. Diversity 9, 1–16. https://doi.org/10.3390/d9010008

Mellin, C., Matthews, S., Anthony, K.R.N., Brown, S.C., Caley, M.J., Johns, K.A., Osborne, K., Puotinen, M., Thompson, A., Wolff, N.H., Fordham, D.A., MacNeil, M.A., 2019. Spatial resilience of the Great Barrier Reef under cumulative disturbance impacts. Glob. Chang. Biol. 25, gcb.14625. https://doi.org/10.1111/gcb.14625

Mendonça, V.M., Al Jabri, M.M., Al Ajmi, I., Al Muharrami, M., Al Areimi, M., Al Aghbari, H.A., 2010. Persistent and expanding population outbreaks of the corallivorous starfish Acanthaster planci in the Northwestern Indian Ocean: Are They really a consequence of unsustainable starfish predator removal through overfishing in coral reefs, or a response to . Zool. Stud. 49, 108–123.

Mercier, A., Hamel, J.F., 2009. Chapter 1 Introduction. Adv. Mar. Biol. 55, 1–6. https://doi.org/10.1016/S0065-2881(09)55001-8

Messmer, V., Pratchett, M.S., 2013. <Messmer et al (2013)_COTs ReefSite.pdf>. Coral Reefs. https://doi.org/10.1073/pnas.1208909109\r10.1007/s00338-013-1017-1

Mita, M., Hino, A., Yasumasu, I., 1984. Effect of Temperature on Interaction Between Eggs and Spermatozoa of Sea Urchin. Biol. Bull. 166, 68–77. https://doi.org/10.2307/1541431

Mita, M., Murata, R., Nakamura, M., 2016. Seasonal Changes in Gonads of Crown-of-thorns Starfish , Acanthaster planci. Bull. Tokyo Gakugei Univ. Div. Nat. Sci. 68, 65〜72.

Moberg, F., Folke, C., 1999. Ecological goods and services of coral reef ecosystems. Ecol. Econ. 29, 215–233. https://doi.org/10.1016/S0921-8009(99)00009-9

Moore, R.J., 1990. Persistent and transient populations of the crown-of-thorns starfish, Acanthaster planci, in: Bradbury, R.H. (Ed.), Acanthaster and the Coral Reef: A Theoretical Perspective. Berlin, pp. 236–277.

Moran, P.J., 1990. Acanthaster planci (L.): biographical data. Coral Reefs 9, 95–96. https://doi.org/10.1007/BF00258218

Moran, P.J., 1986. The *Acanthaster* phenomenon. Oceanogr. Mar. Biol. 24, 379–480.

Moran, P.J., De'ath, G., 1992. Estimates of the abundance of the crown-of-thorns starfish Acanthaster planci in outbreaking and non-outbreaking populations on reefs within the Great Barrier Reef. Mar. Biol. 113, 509–515.

Moran, P.J., Reichelt, R.E., Bradbury, R.H., 1986. An assessment of the geological evidence for previous Acanthaster outbreaks. Coral Reefs 4, 235–238. https://doi.org/10.1007/BF00298082

Morley, S.A., Suckling, C.C., Clark, M.S., Cross, E.L., Peck, L.S., 2016. Long-term effects of altered pH and temperature on the feeding energetics of the Antarctic sea urchin, Sterechinus neumayeri. Biodiversity 17, 34–45. https://doi.org/10.1080/14888386.2016.1174956

Moutardier, G., Gereva, S., Mills, S.C., Adjeroud, M., Beldade, R., Ham, J., Kaku, R., Dumas, P., 2015. Lime juice and vinegar injections as a cheap and natural alternative to control COTS outbreaks. PLoS One 10, 1–16. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137605

Munday, P.L., Jones, G.P., Caley, M.J., 1997. Habitat specialisation and the distribution and abundance of coral-dwelling gobies 152, 227–239.

Munday, P.L., McCormick, M.I., Nilsson, G.E., 2012. Impact of global warming and rising CO2 levels on coral reef fishes: what hope for the future? J. Exp. Biol. 215, 3865–3873. https://doi.org/10.1242/jeb.074765

Murphy, E.J., Trathan, P.N., Watkins, J.L., Reid, K., Meredith, M.P., Forcada, J., Thorpe, S.E., Johnston, N.M., Rothery, P., 2007. Climatically driven fluctuations in Southern Ocean ecosystems. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 274, 3057–3067. https://doi.org/10.1098/rspb.2007.1180

Myers, N., 1988. Threatened Biotas: "Hot Spots" in Tropical Forests. Environmentalist 8, 187–208.

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., da Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403, 853–858. https://doi.org/10.1038/35002501

Nishihira, M., Yamazato, K., 1974. Human interference with the coral community and Acanthaster infestation of Okinawa, in: Cameron, A.M. (Ed.), Proceedings of the Second International Symposium on Coral Reefs. Brisbane, pp. 577–590.

O'Connor, C., Mulley, J.C., 1977. Temperature effects on periodicity and embryology, with observations on the population genetics, of the aquacultural echinoid Heliocidaris tuberculata. Aquaculture 12, 99–114. https://doi.org/10.1016/0044-8486(77)90176-4

Okaji, K., Ayukai, T., Lucas, J.S., 1997. Selective feeding by larvae of the crown-of-thorns starfish, Acanthaster planci (L.). Coral Reefs 16, 47–50. https://doi.org/10.1007/s003380050058

Olson, R., 1985. In situ culturing of larvae of the crown-of-thorns starfish Acanthaster planci. Mar. Ecol. Prog. Ser. 25, 207–210. https://doi.org/10.3354/meps025207

Olson, R.R., 1987. In situ culturing as a test of the larval starvation hypothesis for the crown-of-thoms starfish, Acanthaster planci. Limnol. Oceanogr. 32, 895–904.

https://doi.org/10.4319/lo.1987.32.4.0895

Olson, R.R., Olson, M.H., 1989. Food limitation of planktotrophic marine invertebrate larvae: does it control recruitment success? Annu. Rev. Ecol. Syst. Vol. 20 225–247. https://doi.org/10.1146/annurev.es.20.110189.001301

Ormond, R., Bradbury, R., Bainbridge, S., Fabricius, K., Keesing, J., De Vantier, L., Medlay, P., Steven, A., 1990. Test of a model of regulation of crown-of-thorns starfish by fish predators, in: Acanthaster and the Coral Reef: A Theoretical Perspective. Berlin, pp. 189–207.

Palumbi, S.R., 1999. All males are not created equal: Fertility differences depend on gamete recognition polymorphisms in sea urchins. Proc. Natl. Acad. Sci. 96, 12632–12637. https://doi.org/10.1073/pnas.96.22.12632

Pandolfi, J.M., Bradbury, R.H., Sala, E., Hughes, T.P., Bjorndal, K.A., Cooke, R.G., McArdle, D., McClenachan, L., Newman, M.J.H., Paredes, G., Warner, R.R., Jackson, J.B.C., 2003. Global trajectories of the long-term decline of coral reef ecosystems. Science (80-.). 301, 955–958. https://doi.org/10.1126/science.1085706

Pantsar-Kallio, M., Mujunen, S.-P., Hatzimihalis, G., Koutoufides, P., Minkkinen, P., Wilkie, P.J., Connor, M.A., 1999. Multivariate data analysis of key pollutants in sewage samples: a case study. Anal. Chim. Acta 393, 181–191. https://doi.org/10.1016/S0003-2670(99)00287-1

Parker, L.M., Ross, P.M., O'Connor, W.A., Borysko, L., Raftos, D.A., Pörtner, H.O., 2012. Adult exposure influences offspring response to ocean acidification in oysters. Glob. Chang. Biol. 18, 82–92. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02520.x

Payri, C., 2018. Nouvelle-Calédonie, Archipel de Corail. IRD.

Payri, C.E., Allain, V., Aucan, J., David, C., David, V., Dutheil, C., Loubersac, L., Menkes, C., Pelletier, B., Pestana, G., Samadi, S., 2019. New Caledonia, in: World Seas: An Environmental Evaluation. Elsevier, pp. 593–618. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100853-9.00035-X

Pearson, R.G., Endean, R.G., 1969. A preliminary study of the coral predator *Acanthaster planci* (L.) (Asteroidea) on the Great Barrier Reef. Fish. Notes, Queensl. Dep. Harbours Mar. 3, 27–55.

Pearson, R.G., Garrett, R.N., 1976. Acanthaster planci on the great barrier reef: General surveys 1972-1975. Biol. Conserv. 9, 157–164. https://doi.org/10.1016/0006-3207(76)90006-9

Peck, L.S., Webb, K.E., Bailey, D.M., 2004. Extreme sensitivity of biological function to temperature in Antarctic marine species. Funct. Ecol. 18, 625–630. https://doi.org/10.1111/j.0269-8463.2004.00903.x

Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., Heisterkamp, S., Van Willigen, B., Maintainer, R., 2017. Package 'nlme.' Linear nonlinear Mix. Eff. Model. version 3.

Polunin, N., Roberts, C., 1993. Greater biomass and value of target coral-reef fishes in two small Caribbean marine reserves. Mar. Ecol. Prog. Ser. 100, 167–176. https://doi.org/10.3354/meps100167

Pörtner, H.O., 2010. Oxygen- And capacity-limitation of thermal tolerance: A matrix for integrating climate-related stressor effects in marine ecosystems. J. Exp. Biol. 213, 881–893. https://doi.org/10.1242/jeb.037523

Pörtner, H.O., 2008. Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: A physiologist's view. Mar. Ecol. Prog. Ser. 373, 203–217. https://doi.org/10.3354/meps07768

Portner, H.O., Farrell, A.P., 2008. Physiology and Climate Change. Science (80-.). 322, 690–692.

https://doi.org/10.1126/science.1163156

Potts, D.C., 1981. Crown-of-thorns starfish—man-induced pest or natural phenomenon?, in: Kitching, R.E., Jones, R.E. (Eds.), The Ecology of Pests: Some Australian Case Histories. CSIRO, Melbourne, Australia, pp. 55–86.

Pratchett, M., 2001. Influence of coral symbionts on feeding preferences of crown-of-thorns starfish Acanthaster planci in the western Pacific. Mar. Ecol. Prog. Ser. 214, 111–119. https://doi.org/10.3354/meps214111

Pratchett, M., Caballes, C., Rivera-Posada, J., Sweatman, H., 2014. Limits to Understanding and Managing Outbreaks of Crown--of--Thorns Starfish (Acanthaster spp.), in: Oceanography and Marine Biology: An Annual Review. pp. 133–200. https://doi.org/10.1201/b17143-4

Pratchett, M.S., 2007. Feeding Preferences of Acanthaster planci (Echinodermata: Asteroidea) under Controlled Conditions of Food Availability. Pacific Sci. 61, 113–120. https://doi.org/10.1353/psc.2007.0011

Pratchett, M.S., 2005. Dynamics of an outbreak population of Acanthaster planci at Lizard Island, northern Great Barrier Reef (1995-1999). Coral Reefs 24, 453–462. https://doi.org/10.1007/s00338-005-0006-4

Pratchett, M.S., Caballes, C.F., Wilmes, J.C., Matthews, S., Mellin, C., Sweatman, H.P.A., Nadler, L.E., Brodie, J., Thompson, C.A., Hoey, J., Bos, A.R., Byrne, M., Messmer, V., Fortunato, S.A.V., Chen, C.C.M., Buck, A.C.E., Babcock, R.C., Uthicke, S., 2017a. Thirty years of research on crown-of-thorns starfish (1986-2016): Scientific advances and emerging opportunities. Diversity 9, 41. https://doi.org/10.3390/d9040041

Pratchett, M.S., Coker, D.J., Jones, G.P., Munday, P.L., 2012. Specialization in habitat use by coral reef damselfishes and their susceptibility to habitat loss. Ecol. Evol. 2, 2168–2180. https://doi.org/10.1002/ece3.321

Pratchett, M.S., Dworjanyn, S., Mos, B., Caballes, C.F., Thompson, C.A., Blowes, S., 2017b. Larval survivorship and settlement of crown-of-thorns starfish (Acanthaster cf. solaris) at varying algal cell densities. Diversity 9. https://doi.org/10.3390/d9010002

Pratchett, M.S., Schenk, T.J., Baine, M., Syms, C., Baird, A.H., 2009. Selective coral mortality associated with outbreaks of Acanthaster planci L. in Bootless Bay, Papua New Guinea. Mar. Environ. Res. 67, 230–236. https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2009.03.001

Price, N., 2010. Habitat selection, facilitation, and biotic settlement cues affect distribution and performance of coral recruits in French Polynesia. Oecologia 163, 747–758. https://doi.org/10.1007/s00442-010-1578-4

Quinn, J., Wing, S.R., Botsford, L.W., 1993. Harvest Refugia in Marine Invertebrate Fisheries : Am. Zool. 33, 537–550.

Ramade, F., Roche, H., 2006. Effets des polluants sur les écosystèmes récifaux. Rev. Ecol. 61, 3–34.

Raven, J., Caldeira, K., Elderfield, H., Hoegh-Guldberg, O., Liss, P., Riebesell, U., Shepherd, J., Turley, C., Watson, A., 2005. Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide, The Royal Society.

Renegar, D., Blackwelder, P., Moulding, A., 2008. Coral ultrastructural response to elevated pCO2 and nutrients during tissue repair and regeneration, in: Proc. 11th Int. Coral Reef Symposium. pp. 1314–1318.

Reuter, K.E., Lotterhos, K.E., Crim, R.N., Thompson, C.A., Harley, C.D.G., 2011. Elevated pCO2

increases sperm limitation and risk of polyspermy in the red sea urchin Strongylocentrotus franciscanus. Glob. Chang. Biol. 17, 163–171. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2010.02216.x

Riahi, K., van Vuuren, D.P., Kriegler, E., Edmonds, J., O'Neill, B.C., Fujimori, S., Bauer, N., Calvin, K., Dellink, R., Fricko, O., Lutz, W., Popp, A., Cuaresma, J.C., KC, S., Leimbach, M., Jiang, L., Kram, T., Rao, S., Emmerling, J., Ebi, K., Hasegawa, T., Havlik, P., Humpenöder, F., Da Silva, L.A., Smith, S., Stehfest, E., Bosetti, V., Eom, J., Gernaat, D., Masui, T., Rogelj, J., Strefler, J., Drouet, L., Krey, V., Luderer, G., Harmsen, M., Takahashi, K., Baumstark, L., Doelman, J.C., Kainuma, M., Klimont, Z., Marangoni, G., Lotze-Campen, H., Obersteiner, M., Tabeau, A., Tavoni, M., 2017. The Shared Socioeconomic Pathways and their energy, land use, and greenhouse gas emissions implications: An overview. Glob. Environ. Chang. 42, 153–168. https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2016.05.009

Rice, M.M., Ezzat, L., Burkepile, D.E., 2019. Corallivory in the Anthropocene: Interactive Effects of Anthropogenic Stressors and Corallivory on Coral Reefs. Front. Mar. Sci. 5, 1–14. https://doi.org/10.3389/fmars.2018.00525

Rivera-Posada, J., Caballes, C.F., Pratchett, M.S., 2013. Lethal doses of oxbile, peptones and thiosulfate-citrate-bile-sucrose agar (TCBS) for Acanthaster planci; exploring alternative population control options. Mar. Pollut. Bull. 75, 133–139. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.07.053

Rivera-Posada, J., Owens, L., Caballes, C.F., Pratchett, M.S., 2012. The role of protein extracts in the induction of disease in Acanthaster planci. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 429, 1–6. https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.06.008

Rivera-Posada, J.A., Pratchett, M., Owens, L., 2011. Injection of Acanthaster planci with thiosulfate-citrate-bile-sucrose agar (TCBS). II. Histopathological changes. Dis. Aquat. Organ. 97, 95–102. https://doi.org/10.3354/dao02400

Rivera-Posada, J.A., Pratchett, M.S., 2012. A review of existing control efforts for Acanthaster planci ; limitations to successes. Rep. to Dep. Sustain. Environ. Water, Popul. Communities.

Rodolfo-Metalpa, R., Houlbrèque, F., Tambutté, É., Boisson, F., Baggini, C., Patti, F.P., Jeffree, R., Fine, M., Foggo, A., Gattuso, J.P., Hall-Spencer, J.M., 2011. Coral and mollusc resistance to ocean acidification adversely affected by warming. Nat. Clim. Chang. 1, 308–312. https://doi.org/10.1038/nclimate1200

Rogers, C., 1990. Responses of coral reefs and reef organisms to sedimentation. Mar. Ecol. Prog. Ser. 62, 185–202. https://doi.org/10.3354/meps062185

Rogers, J., Pláganyi, É., Babcock, R., 2017. Aggregation, Allee effects and critical thresholds for the management of the crown-of-thorns starfish Acanthaster planci. Mar. Ecol. Prog. Ser. 578, 99–114. https://doi.org/10.3354/meps12252

Roman, M.R., Gauzens, A.L., Rhinehart, W.K., White, J.R., 1993. Effects of low oxygen waters on Chesapeake Bay zooplankton. Limnol. Oceanogr. 38, 1603–1614. https://doi.org/10.4319/lo.1993.38.8.1603

Ross, P.M., Parker, L., Byrne, M., 2016. Transgenerational responses of molluscs and echinoderms to changing ocean conditions. ICES J. Mar. Sci. 73, 537–549. https://doi.org/10.1093/icesjms/fsv254

Rotjan, R., Lewis, S., 2008. Impact of coral predators on tropical reefs. Mar. Ecol. Prog. Ser. 367, 73–91. https://doi.org/10.3354/meps07531

Rupp, J.H., 1973. Effects of temperature on fertilization and early cleavage of some tropical echinoderms, with emphasis on Echinometra mathaei. Mar. Biol. 23, 183–189. https://doi.org/10.1007/BF00389483

Sabine, C.L., 2004. The Oceanic Sink for Anthropogenic CO2. Science (80-.). 305, 367–371. https://doi.org/10.1126/science.1097403

Sale, P.F., 2013. The ecology of fishes on coral reefs. Elsevier.

Samsuri, A.N., Kikuzawa, Y.P., Taira, D., Sam, S.Q., Sim, W.T., Ng, C.S.L., Afiq-Rosli, L., Wee, T.W.D., Ng, N.K., Toh, T.C., Chou, L.M., 2018. The effectiveness of Trapezia cymodoce in defending its host coral Pocillopora acuta against corallivorous Drupella. Mar. Biol. 165, 70. https://doi.org/10.1007/s00227-018-3330-2

Sano, M., Shimizu, M., Nose, Y., 1987. Long-term effects of destruction of hermatypic corals by Acanthaster plana infestation on reef fish communities at Iriomote Island, Japan. Mar. Ecol. Prog. Ser. 37, 191–199. https://doi.org/10.3354/meps037191

Schlegel, P., Havenhand, J.N., Gillings, M.R., Williamson, J.E., 2012. Individual Variability in Reproductive Success Determines Winners and Losers under Ocean Acidification: A Case Study with Sea Urchins. PLoS One 7, 1–8. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053118

Schneider, C.A., Rasband, W.S., Eliceiri, K.W., 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. Nat. Methods 9, 671–675. https://doi.org/10.1038/nmeth.2089

Seidel, S., Keyes, D., 1983. Can we delay a greenhouse warming? the effectiveness and feasibility of options to slow a build-up of carbon dioxide in the atmosphere. Office of Policy and Resource Management, Washington.

Siikavuopio, S.I., Mortensen, A., Christiansen, J.S., 2008. Effects of body weight and temperature on feed intake, gonad growth and oxygen consumption in green sea urchin, Strongylocentrotus droebachiensis. Aquaculture 281, 77–82. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.05.033

Silverman, J., Kline, D.I., Johnson, L., Rivlin, T., Schneider, K., Erez, J., Lazar, B., Caldeira, K., 2012. Carbon turnover rates in the One Tree Island reef: A 40-year perspective. J. Geophys. Res. Biogeosciences 117, n/a-n/a. https://doi.org/10.1029/2012JG001974

Silverman, J., Lazar, B., Cao, L., Caldeira, K., Erez, J., 2009. Coral reefs may start dissolving when atmospheric CO2 doubles. Geophys. Res. Lett. 36, 1–5. https://doi.org/10.1029/2008GL036282

Sinha, E., Michalak, A.M., Balaji, V., 2017. Eutrophication will increase during the 21st century as a result of precipitation changes. Science (80-.). 357, 405–408. https://doi.org/10.1126/science.aan2409

Somero, G.N., 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine “winners” and “losers.” J. Exp. Biol. 213, 912–920. https://doi.org/10.1242/jeb.037473

Spalding, M., Spalding, M.D., Ravilious, C., Gree, E.P., 2001. World atlas of coral reefs. Univ of California Press.

Spalding, M.D., Brown, B.E., 2015. Warm-water coral reefs and climate change. Science (80-.). 350, 769–771. https://doi.org/10.1126/science.aad0349

Sparks, K.M., Foo, S.A., Uthicke, S., Byrne, M., Lamare, M., 2017. Paternal identity influences response of Acanthaster planci embryos to ocean acidification and warming. Coral Reefs 36, 325–338. https://doi.org/10.1007/s00338-016-1505-1

Stanwell-Smith, D., Peck, L.S., 1998. Temperature and Embryonic Development in Relation to Spawning and Field Occurrence of Larvae of Three Antarctic Echinoderms. Biol. Bull. 194, 44–52. https://doi.org/10.2307/1542512

Stewart, H., Price, N., Holbrook, S., Schmitt, R., Brooks, A., 2013. Determinants of the onset and strength of mutualistic interactions between branching corals and associate crabs. Mar. Ecol. Prog. Ser. 493, 155–163. https://doi.org/10.3354/meps10525

Stump, R., 1996. An investigation to describe the population dynamics of Acanthaster planci (L.) around Lizard Island, Cairns section, Great Barrier Reef Marine Park. CRC Reef Res. Cent. Tech. Rep. No. 10 56pp.

Stump, R., 1994. Age determination and life-history characteristics of Acanthaster planci(L.)(Echinodermata:Asteroidea). James Cook University.

Stump, R., 1992. Life history characteristics of Acanthaster planci (L.) populations, potential clues to causes of outbreaks. Possible Causes Consequences Outbreaks Crown-of-thorns Starfish.(Eds U. Engelhardt B. Lassig.) GBRMPA Work. Ser. 18, 105.

Suckling, C.C., Clark, M.S., Beveridge, C., Brunner, L., Hughes, A.D., Harper, E.M., Cook, E.J., Davies, A.J., Peck, L.S., 2014. Experimental influence of pH on the early life-stages of sea urchins II: increasing parental exposure times gives rise to different responses. Invertebr. Reprod. Dev. 58, 161–175. https://doi.org/10.1080/07924259.2013.875951

Suckling, C.C., Clark, M.S., Richard, J., Morley, S.A., Thorne, M.A.S., Harper, E.M., Peck, L.S., 2015. Adult acclimation to combined temperature and pH stressors significantly enhances reproductive outcomes compared to short-term exposures. J. Anim. Ecol. 84, 773–784. https://doi.org/10.1111/1365-2656.12316

Sulu, R., Cumming, R., Wantiez, L., Kumar, L., Mulipola, A., Lober, M., Sauni, S., Poulasi, T., Pakoa, K., 2002. Status of coral reefs in Southwest Pacific to 2002: Fiji, Nauru, New Caledonia, Samoa, Solomon Islands, Tuvalu, Vanuatu. Status of Coral Reefs of the World 1–22.

Sweatman, H., Bass, D.K., Cheal, A.J., Coleman, G., Miller, I., Ninio, R., Osborne, K., Oxley, W.G., Ryan, D.A.J., Thompson, A.A., Tomkins, P., 1998. Long-term monitoring of the Great Barrier Reef. Townsville, Australia.

Sweatman, H., Butler, I., 1993. An experimental investigation of the ability of adult crown-of-thorns starfish to survive physical damage, in: Engelhardt, U., Lassig, B. (Eds.), The Possible Causes and Consequences of Outbreaks of the Crown-of-Thorns Starfish. Townsville, Australia, pp. 71–82.

Uthicke, S., Liddy, M., Nguyen, H.D., Byrne, M., 2014. Interactive effects of near-future temperature increase and ocean acidification on physiology and gonad development in adult Pacific sea urchin, Echinometra sp. A. Coral Reefs 33, 831–845. https://doi.org/10.1007/s00338-014-1165-y

Uthicke, S., Liddy, M., Patel, F., Logan, M., Johansson, C., Lamare, M., 2018. Effects of larvae density and food concentration on Crown-of-Thorns seastar (Acanthaster cf. Solaris) development in an automated flow-through system. Sci. Rep. 8, 642. https://doi.org/10.1038/s41598-017-19132-w

Uthicke, S., Logan, M., Liddy, M., Francis, D., Hardy, N., Lamare, M., 2015. Climate change as an unexpected co-factor promoting coral eating seastar (Acanthaster planci) outbreaks. Sci. Rep. 5, 8402. https://doi.org/10.1038/srep08402

Uthicke, S., Patel, F., Karelitz, S., Luter, H., Webster, N., Lamare, M., 2020. Key biological responses over two generations of the sea urchin Echinometra sp. A under future ocean conditions. Mar. Ecol. Prog. Ser. 637, 87–101. https://doi.org/10.3354/meps13236

Uthicke, S., Pecorino, D., Albright, R., Negri, A.P., Cantin, N., Liddy, M., Dworjanyn, S., Kamya, P., Byrne, M., Lamare, M., 2013a. Impacts of Ocean Acidification on Early Life-History Stages and Settlement of the Coral-Eating Sea Star Acanthaster planci. PLoS One 8, e82938. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082938

Uthicke, S., Soars, N., Foo, S., Byrne, M., 2013b. Effects of elevated pCO2 and the effect of parent acclimation on development in the tropical Pacific sea urchin Echinometra mathaei. Mar. Biol. 160, 1913–1926. https://doi.org/10.1007/s00227-012-2023-5

Van Oppen, M.J.H., Gates, R.D., 2006. Conservation genetics and the resilience of reef-building corals. Mol. Ecol. 15, 3863–3883. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2006.03026.x

Van Oppen, M.J.H., Oliver, J.K., Putnam, H.M., Gates, R.D., 2015. Building coral reef resilience through assisted evolution. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 112, 2307–2313. https://doi.org/10.1073/pnas.1422301112

van Vuuren, D.P., Stehfest, E., Gernaat, D.E.H.J., Doelman, J.C., van den Berg, M., Harmsen, M., de Boer, H.S., Bouwman, L.F., Daioglou, V., Edelenbosch, O.Y., Girod, B., Kram, T., Lassaletta, L., Lucas, P.L., van Meijl, H., Müller, C., van Ruijven, B.J., van der Sluis, S., Tabeau, A., 2017. Energy, land-use and greenhouse gas emissions trajectories under a green growth paradigm. Glob. Environ. Chang. 42, 237–250. https://doi.org/10.1016/j.gloenvcha.2016.05.008

Varillon, D., Fiat, S., Magron, F., Allenbach, M., Hoibian, T., De Ramon N'Yeurt, Antoine Ganachaud, A., Aucan, J., Pelletier, B., Hocdé, R., 2018. ReefTEMPS : The Pacific Island coastal ocean observation network. SEANOE. 55128.

Vergés, A., Steinberg, P.D., Hay, M.E., Poore, A.G.B., Campbell, A.H., Ballesteros, E., Heck, K.L., Booth, D.J., Coleman, M.A., Feary, D.A., Figueira, W., Langlois, T., Marzinelli, E.M., Mizerek, T., Mumby, P.J., Nakamura, Y., Roughan, M., van Sebille, E., Gupta, A. Sen, Smale, D.A., Tomas, F., Wernberg, T., Wilson, S.K., 2014. The tropicalization of temperate marine ecosystems: Climate-mediated changes in herbivory and community phase shifts. Proc. R. Soc. B Biol. Sci. 281. https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0846

Veron, J., 1995. Corals in Space and Time: The Biogeography and Evolution of the Scleractinia. Sydney, Australia.

Vine, P.J., 1973. Crown of thorns (Acanthaster planci) plagues: the natural causes theory. Atoll Res. Bull. 166, 1–10. https://doi.org/10.5479/si.00775630.166.1

Vogler, C., Benzie, J., Lessios, H., Barber, P., Wörheide, G., 2008. A threat to coral reefs multiplied? Four species of crown-of-thorns starfish. Biol. Lett. 4, 696–699. https://doi.org/10.1098/rsbl.2008.0454

Vogler, C., Benzie, J.A.H., Tenggardjaja, K., Ambariyanto, Barber, P.H., Wörheide, G., 2013. Phylogeography of the crown-of-thorns starfish: Genetic structure within the Pacific species. Coral Reefs 32, 515–525. https://doi.org/10.1007/s00338-012-1003-z

Walbran, P.D., Henderson, R.A., Faithful, J.W., Polach, H.A., Sparks, R.J., Wallace, G., Lowe, D.C., 1989a. Crown-of-thorns starfish outbreaks on the Great Barrier Reef." a geological perspective based upon the sediment record. Coral Reefs 8, 67–78. https://doi.org/10.1007/BF00357425

Walbran, P.D., Henderson, R.A., Timothy Jull, A.J., John Head, M., 1989b. Evidence from sediments of long-term Acanthaster planci predation on corals of the great barrier reef. Science (80-.). 245, 847–850. https://doi.org/10.1126/science.245.4920.847

Walne, P.R., 1966. Experiments in the Large-Scale Culture of the Larvae of Ostrea Edulis L. H.M.S.O. London, UK 1966.

Wear, S.L., Thurber, R.V., 2015. Sewage pollution: mitigation is key for coral reef stewardship. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1355, 15–30. https://doi.org/10.1111/nyas.12785

Wernberg, T., Smale, D.A., Thomsen, M.S., 2012. A decade of climate change experiments on marine organisms: Procedures, patterns and problems. Glob. Chang. Biol. 18, 1491–1498. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2012.02656.x

Westcott, D.A., Fletcher, C.S., Kroon, F.J., Babcock, R.C., Plagányi, E.E., Pratchett, M.S., Bonin, M.C., 2020. Relative efficacy of three approaches to mitigate Crown-of-Thorns Starfish outbreaks on Australia's Great Barrier Reef. Sci. Rep. 10, 12594. https://doi.org/10.1038/s41598-020-69466-1

Wilkinson, C., 2004. Status of Coral Reefs of the World. Australian Institute of Marine Science, Townsville, Australia.

Williams, Dm., 1986. Temporal variation in the structure of reef slope fish communities (central Great Barrier Reef): short-term effects of Acanthaster planci infestation. Mar. Ecol. Prog. Ser. 28, 157–164. https://doi.org/10.3354/meps028157

Wilmes, J.C., Caballes, C.F., Cowan, Z.L., Hoey, A.S., Lang, B.J., Messmer, V., Pratchett, M.S., 2018. Contributions of pre- versus post-settlement processes to fluctuating abundance of crown-of-thorns starfishes (Acanthaster spp.). Mar. Pollut. Bull. 135, 332–345. https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.07.006

Wilson, S.K., Graham, N.A.J., Pratchett, M.S., Jones, G.P., Polunin, N.V.C., 2006. Multiple disturbances and the global degradation of coral reefs: Are reef fishes at risk or resilient? Glob. Chang. Biol. 12, 2220–2234. https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01252.x

Wolfe, K., Graba-Landry, A., Dworjanyn, S.A., Byrne, M., 2015. Larval starvation to satiation: Influence of nutrient regime on the success of Acanthaster planci. PLoS One 10. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122010

Wong, J.M., Johnson, K.M., Kelly, M.W., Hofmann, G.E., 2018. Transcriptomics reveal transgenerational effects in purple sea urchin embryos: Adult acclimation to upwelling conditions alters the response of their progeny to differential p CO 2 levels. Mol. Ecol. 27, 1120–1137. https://doi.org/10.1111/mec.14503

Wong, J.M., Kozal, L.C., Leach, T.S., Hoshijima, U., Hofmann, G.E., 2019. Transgenerational effects in an ecological context: Conditioning of adult sea urchins to upwelling conditions alters maternal provisioning and progeny phenotype. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 517, 65–77. https://doi.org/10.1016/j.jembe.2019.04.006

Xu, C., Kohler, T.A., Lenton, T.M., Svenning, J.-C., Scheffer, M., 2020. Future of the human climate niche. Proc. Natl. Acad. Sci. 117, 11350–11355. https://doi.org/10.1073/pnas.1910114117

Yamaguchi, M., 1986. Acanthaster planci infestations of reefs and coral assemblages in Japan: a retrospective analysis of control efforts. Coral Reefs 5, 23–30. https://doi.org/10.1007/BF00302168

Yamaguchi, M., 1974. Growth of Juvenile Acanthaster planci (L.) in the Laboratory. Pacific Sci. 28, 123–138.

Yamaguchi, M., 1973. Early life histories of coral reef asteroids, with special reference to Acanthaster planci (L.). In Biology and Geology of Coral Reefs (Vol. 2: Biology) , O.A. Jones & R. Endean (eds). New York: Academic Press, 369 – 387. Biol. Geol. Coral Reefs 2, 1973.

Yamamoto, T., Otsuka, T., 2013. Experimental validation of dilute acetic acid solution injection Acanthaster planci). Naturalistae 17, 63–65.

Yanong, R.P.E., 2010. Use of Copper in Marine Aquaculture and Aquarium Copper Toxicity to Non-Targeted Copper Toxicity to Target Organisms.

Yasuda, N., Nagai, S., Hamaguchi, M., Okaji, K., GÉrard, K., Nadaoka, K., 2009. Gene flow of Acanthaster planci (L.) in relation to ocean currents revealed by microsatellite analysis. Mol. Ecol. 18, 1574–1590. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04133.x

Yasuda, N., Ogasawara, K., Kajiwara, K., Ueno, M., Oki, K., Taniguchi, H., Kakuma, S., Okaji, K., Nadaoka, K., 2010. Latitudinal differentiation in the reproduction patterns of the crown-of-thorns starfish Acanthaster planci through the Ryukyu Island Archipelago. Plankt. Benthos Res. 5, 156–164. https://doi.org/10.3800/pbr.5.156

Yee, S.H., Santavy, D.L., Barron, M.G., 2008. Comparing environmental influences on coral bleaching across and within species using clustered binomial regression. Ecol. Modell. 218, 162–174. https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2008.06.037

Zann, L., Brodie, J., Berryman, C., Naqasima, M., 1987. Recruitment, ecology, growth and behavior of juvenile Acanthaster planci (L.) (Echinodermata: Asteroidea). Bull. Mar. Sci. 41, 561–575.

Zann, L., Brodie, J., Vuki, V., 1990. History and dynamics of the crown-of-thorns starfish Acanthaster planci (L.) in the Suva area, Fiji. Coral Reefs 9, 135–144. https://doi.org/10.1007/BF00258225

Zhao, C., Zhang, Lisheng, Shi, D., Ding, J., Yin, D., Sun, J., Zhang, B., Zhang, Lingling, Chang, Y., 2018. Transgenerational effects of ocean warming on the sea urchin Strongylocentrotus intermedius. Ecotoxicol. Environ. Saf. 151, 212–219. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.014



Chapitre 7

Annexes

1

Chapitre 7 : Annexes

Annexes 1.1 – Description des scénarios d'évolution socio-économiques (SSP)

Tableau 1.2. Description synthétique des 5 scénarios d'évolution sociaux-économiques (SSP)

Shared Socioeconomic Pathways		Descriptif	Références
SSP1	*Green road*	Forte coopération internationale, plus de respect de l'environnement. L'importance de la croissance économique est transférée peu à peu dans l'importance du bien-être des gens. Les investissements en matière de santé et d'éducation accélèrent la transition démographique. Les inégalités inter- et intra- pays sont réduites.	(Riahi et al., 2017 ; van Vuuren et al., 2017)
SSP2	*Middle of the road*	Caractérisé par la poursuite des tendances actuelles. Pas de bouleversement sociaux, économiques ni technologiques. L'inégalité de revenu et de croissance entre les pays perdure. Le progrès pour le développement durable est lent et laborieux tant à l'échelle mondiale que nationale. L'environnement continue de se dégrader malgré quelques améliorations, dues notamment moins d'utilisation d'énergie et de ressources. La croissance mondiale est modérée et se stabilise en 2nd moitié de siècle.	(Fricko et al., 2017 ; Riahi et al., 2017)
SSP3	*Rocky road*	Renaissance du nationalisme, monde fragmenté par la compétition entre pays, qui se concentrent sur leurs problèmes (domestiques, politiques, énergie, nourriture) - régionaux et nationaux au dépends du global. Moins d'investissement dans l'éducation et le développement des technologies. Les inégalités persistent voire s'empirent, le développement économique est faible. La croissance démographique est faible dans les pays industrialisés et forte dans les pays en développement. Le peu d'engament international pour l'environnement conduit à d'importantes dégradations dans certaines régions.	(Fujimori et al., 2017 ; Riahi et al., 2017)
SSP4	*Divided road*	Un monde marqué par de grandes inégalités inter- et intra- pays. Une minorité de la population responsable de la majorité des émissions de GES tandis que la majorité de la population reste pauvre et vulnérable au changement climatique. Un fossé se creuse entre une société connectée à l'international qui contribue fortement aux secteurs de l'économie globale à travers les secteurs de connaissance et de capitaux intensifs; alors qu'en face on retrouve une collection fragmentée de sociétés à faibles revenus avec peu d'éducation, qui travaille beaucoup dans une société avec un faible niveau de technologie. La cohésion sociale se dégrade. Les politiques environnementales se concentrent surtout autour des problèmes des zones à moyen-haut revenus.	(Calvin et al., 2017 ; Riahi et al., 2017)
SSP5	*Highway*	Marchés compétitifs, innovations et sociétés participatives produisent un progrès technologique important et rapide. Beaucoup d'investissement dans la santé, l'éducation et les institutions. Développement rapide des pays pauvres et de l'économie mondiale qui se traduit aussi par de fortes consommations d'énergie et émissions de GES. La population augmente puis décline durant le 21eme siècle. La hausse du niveau de vie permet d'augmenter la capacité d'adaptation en faisant reculer l'extrême pauvreté. Les problèmes environnementaux tel quel la pollution de l'air sont réglés localement alors que des efforts sont mis en place pour gérer les problèmes sociaux et écologiques par l'utilisation de geo-ingénieurie si nécessaire.	(Kriegler et al., 2017 ; Riahi et al., 2017)

Annexes 2.1 – Protocole de titration des carbonates

Analyse Du Carbonate et Bicarbonate dans les Eaux

(titroprocesseur SCHOTT)

1) Objectif et domaine d'application

Ce document décrit l'analyse par titration (titrateur SCHOTT) de l'alcalinité dans un échantillon d'eau. On détermine le volume d'HCl nécessaire pour neutraliser le volume d'eau à analyser aux niveaux pH 8.3 ($CO_3^{2-} \rightarrow HCO_3^-$) et 4.3 ($HCO_3^- \rightarrow H_2CO_3$).

2) Références

- Norme ISO 9963-1 :1994(F), Qualité de l'eau Tome 2 6e édition – AFNOR – 2001 – p160
- Mode d'emploi Titrateur Titrolin easy – SCHOTT

3) Principe de l'activité

L'échantillon est titré à l'aide d'une solution acide étalonnée à des valeurs fixes, de points de virages de 8.3 et 4.3. Les points de virage, qui sont déterminés potentiométriquement, sont les points d'équivalence sélectionnés pour les déterminations des trois composants principaux : hydrogénocarbonate, carbonate, et hydroxyde. Le point de virage pH 8.3 s'approche des concentrations équivalentes de carbonate et de dioxyde de carbone et représente le titrage d'environ tout l'hydroxyde et de la moitié du carbonate présent. Le point de virage pH 4.3 s'approche du point d'équivalence pour les ions hydrogène et l'hydrogénocarbonate et permet la détermination de l'alcalinité totale de l'échantillon.

4) Matériel

- Titroline easy (schott)
- Electrode pH conservée dans du KCl 3M
- Porte électrode
- Béchers 25 ml, 50ml et 100 ml
- Fioles de 100ml et 1000ml
- Barreaux magnétiques
- Pipettes en verre de 10ml et 50mL et poire en caoutchouc ou pipettes automatique

5) Produits chimiques de base

-  Na_2CO_3 Pour Analyses (P.A.) *(irritant)* (séché à l'étuve)
-  HCl
- Eau milli Q
- Solutions pH 6.87 et 4.01

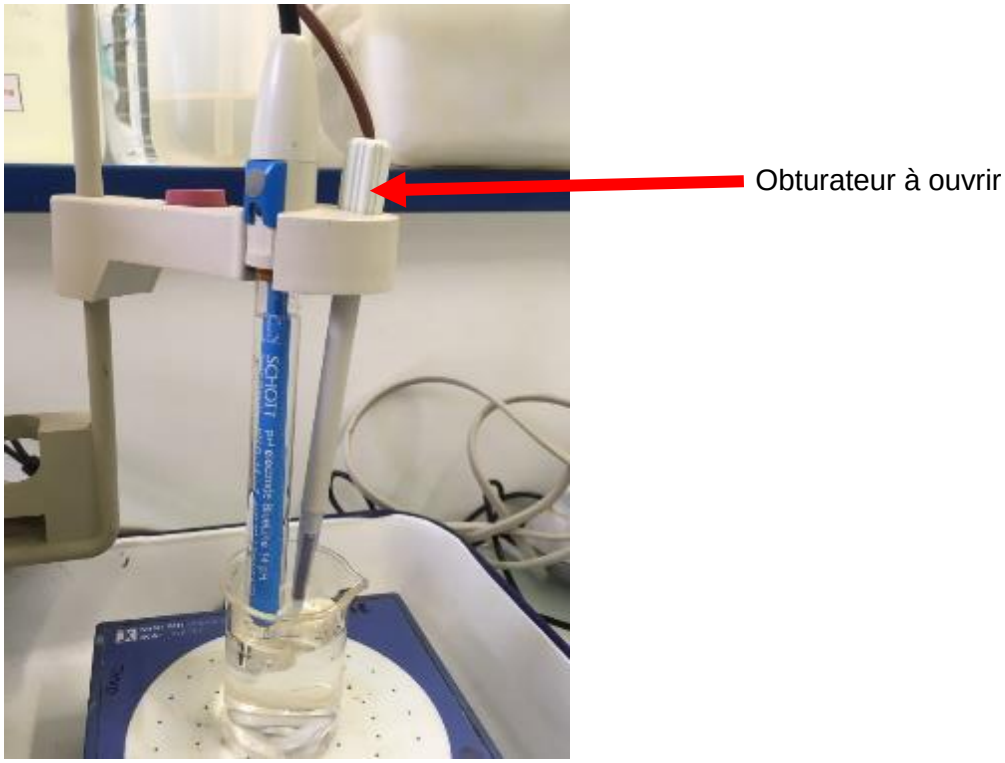
6) Réactifs

- Na_2CO_3 0.01M : Peser précisément 0.106g de Na_2CO_3 préalablement séché à l'étuve (105°) et refroidi au dessicateur dans 100ml d'eau milliQ
- HCl 0.02 M : A l'aide d'une pipette en verre, prélever environ 1.67 ml de HCl concentré (12N), ajuster à 1l avec de l'eau milli Q.

7) Protocole

Veiller à ce que les échantillons et solutions standards soient à température ambiante au moment de l'analyse.

- **Allumer** le titroprocesseur
- Retirer l'obturateur de l'électrode (voir photo); vérifier la présence de KCl 3M à l'intérieur



- **Remplir** le flacon du titroprocesseur de HCl 0.02M **(Pour nos mesures : 0.01 M)**

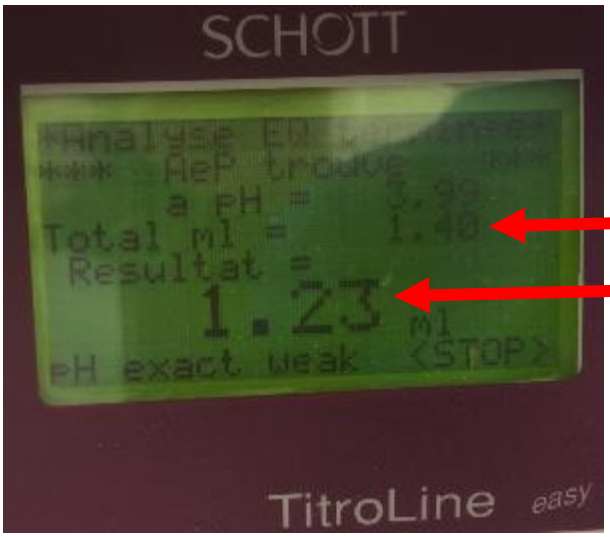
- Appuyer sur **F1** pour effectuer un rinçage de la burette (mettre un récipient sous la pointe) et vérifier qu'aucune bulle n'est piégée lors de l'aspiration. Si des bulles sont présentes, rincer jusqu'à disparition des bulles.
- **Rincer** et essuyer l'électrode et la pointe de burette à l'eau milli Q
- Les mettre en place sur le porte-électrodes.

8) Étalonnage de l'électrode (peut être fait qu'une fois par série)

- Plonger l'électrode dans la solution **pH 6.87** (voir le manuel pour modifier les valeurs des tampons utilisés)
- Appuyer sur **CAL** puis **START**
- L'appareil affiche « Attendre SVP » puis, une fois la valeur stabilisée, demande le tampon suivant (4.01)
- **Rincer**, essuyer, et placer la solution **pH 4.01**
- Appuyer sur **START**
- Quand il a terminé, le message « Etalonnage OK » apparaît suivi des paramètres de l'électrode (attention, ça passe vite)
- **Rincer** l'électrode
- ***Titrateur prêt*** est affiché ; appuyer sur SET pendant 3 secondes. Dans le menu qui est apparu (réglages), sélectionner « Blocs Param. » en appuyant sur F3. Chercher dans la liste « pH exact weak » et le sélectionner en pressant F1. Appuyer sur STOP.
- Si « Auto Find (EQ) » n'est pas affiché sur la page, appuyer sur SET jusqu'à afficher Auto Find (EQ).

9) Titration du HCl 0.01M avec le Na_2CO_3 0.01M à faire chaque jour

- Prélever **2.5ml** de **Na_2CO_3** dans un bécher de 25ml muni d'un barreau aimanté
- **Compléter** à l'eau milli Q de façon à immerger totalement la pointe de la burette et le diaphragme de l'électrode
- Mettre en route l'agitation
- Appuyer sur **START**
- Une fois le premier point d'équivalence automatiquement trouvé (pH ≈ 8.3), et une fois les résultats affichés, **noter** les 2 volumes distribués (résultat et total).



- Appuyer sur **STOP** puis à nouveau **START** pour déterminer le 2nd point d'équivalence
- Une fois le 2nd point d'équivalence trouvé et le résultat affiché (pH ≈ 4.3), **noter** les 2 volumes distribués (résultat et total).
- Appuyer sur **STOP**
- **Rincer** l'électrode
- **Additionner** les valeurs (« totale » pour la première détermination et « résultat » pour la seconde)
- Effectuer **4** autres titrations
- Vérifier que les 5 résultats sont proches
- Effectuer d'autres titrations si nécessaire

Remarque : il arrive que d'autres points intermédiaires soient détectés. Noter les valeurs et poursuivre la détermination.

10) Titration des échantillons

Le volume à prélever dépendra de l'échantillon et pourra varier entre 10ml et 100ml par prise (faire 3 répétitions par échantillon). On peut par exemple tester l'échantillon sur 20ml puis ajuster le repliquat suivant selon le résultat. Il est préférable que la lecture minimale soit de 1ml de HCl versé.

- Prélever entre 10 et 100ml d'échantillon dans un bécher de 100ml muni d'un barreau aimanté et y plonger l'électrode (ajuster le prélèvement à l'échantillon)
- Mettre en route l'agitation
- Appuyer sur **START**
- Une fois le point d'équivalence trouvé, **noter** les 2 volumes distribués (résultat et total)

- Appuyer sur **STOP**
- Si la valeur est plus élevée que 4.5, poursuivre la détermination en pressant **START** .
  Calculer le volume dispensé (total du/des premier(s) et résultat du dernier ou si on a qu'une seule mesure, garder uniquement la valeur de « résultat ») et **noter** cette valeur dans la feuille Excel dans la colonne pH 4.3. Noter si applicable la valeur à pH 8.3 également
- **Rincer** l'électrode
- Procéder de même pour les échantillons **suivants.**
- A la fin de la journée ou de la série, rincer la pointe de la burette et l'électrode, fermer l'obturateur, éteindre l'appareil.

Pour tout problème, consulter le « Mode d'emploi Titrateur Titrolin easy – SCHOTT ».

Annexes 2.2 – Protocole de culture de micro-algues de l'Aquarium des Lagons

PROTOCOLE SALLE D'ALGUES

Pour limiter les contaminations croisées :

Toujours faire les algues **avant** les proies vivantes (artémias, rotifères, copépodes)

Toujours scinder les repiquages Aquarium vs projet Acanthaster (chacun son tour)

A/ Protocole algues :

❶- **Sortir** et **rincer** le matériel dans la cuve de javellisation puis mettre à égoutter

❷- **Désinfecter** les mains en les passant à l'alcool ou la flamme

❸- **Repiquer** à la flamme les algues correspondant au jour : voir le tableau derrière la porte.
Pour limiter les contaminations, toujours aller du plus sensible au moins sensible, soit :

en 1er- tubes de souchothèque 3 sem. : 1 mL/tube/3 semaines
en 2e- tubes de souchothèque 1 sem. : ½ tube/sem
en 3e- erlenmeyer de 5 litres : 500 mL/sem
en dernier- bidons de 12 litres

/!\ Le lundi, 2 souches d'algues différentes sont à repiquer : commencer par la série entière de Chaeto, puis une fois terminée, après s'être de nouveau désinfecté les mains, faire la Tetra.

Pour les repiquages de tubes, prendre les tubes stérilisés dans l'ordre correspondant au planning permet de vérifier qu'il n'y a pas eu d'oublis ou d'erreurs, de gauche à droite, rangée par rangée. (Chaeto □ Duna □ Iso □ Tetra □ Nanno).

Une fois terminé, fermer la bouteille de gaz.

❹- **Nettoyer** et **rincer** le matériel et mettre à javelliser

❺- Anticiper la préparation des milieux

❻- En conditions estivales, faire une purge **progressive** des conduites d'air. Attention une purge 'violente' peut créer une aspiration des liquides en cultures et ainsi tout contaminer…

B/ Milieux de culture :

❶- Erlenmeyers :

-Faire couler l'eau de mer pour rincer la poche 1µm.

-Récupérer les Erlenmeyers et les rincer à l'eau de mer filtrée

-Remplir les Erlens à 4.5 L d'eau de mer filtrée à 1µm

-Ajouter l'engrais : Proline algae feed : **par litre : 140µL part A + 140 µL part B**
Soit pour les Erlens de 5 litres : 700 µL A + 700 µL B

-Mettre les bouchons adaptés + cane de bullage et enrouler le tout de papier alu de façon 'hermétique'

➔ **Utiliser 2 embouts différents pour chaque pot de proline.**
Finir par pipetter de l'eau douce pour rincer pipette + embouts

➔ **Il y a déjà 3 pipettes préréglées à 700 µL, 1700 µL et 5 mL**

❷- Tubes à essais :

Toutes les 3 semaines, préparer les tubes par série de 4 / souche d'algue soit : 1 tube souchothèque 3 semaines rempli jusqu'à 2 cm du col + 3 tubes à essai remplis à $^1/_2$ tube.

Le plus simple est de préparer un Erlen de 5L plein, avec la QTT d'engrais correspondant, et à partir de celui-ci, prélever un bécher de 500mL pour remplir les tubes.

Pour la **Chaeto**, procéder de même en remplissant l'Erlen à 4.7L et prélever 200 mL dans un bécher pour remplir les 4 tubes. La série de tubes concernés est **identifiée à l'aide du même système de câble électrique de couleur, enroulant la rangée de tubes Chaeto..**.

Pour les tubes, boucher à l'aide de coton cardé. Une fois tous les tubes bouchés, les recouvrir de papier aluminium avant de les stériliser.

Ainsi, chaque préparation de tubes correspond exactement à 3 semaines de repiquages.

❸- Bidons :

Pour la marche à suivre concernant les bidons de 12L, voir C/ Stérilisation - 2 Bidons

C/ Stérilisation :

2 méthodes différentes peuvent être utilisées. Par gain de temps, on privilégie la vapeur pour les milieux en verre (erlen, ballons, tubes) et les bidons, mais la Javel peut également être utilisée.

❶- **Verrerie** (Erlen & tubes) :

-Casserole vapeur -dans la cuisine- :
Ouvrir la fenêtre
Mettre un fond d'eau (environ 5cm) et faire chauffer
Quand l'eau bout, 20 minutes / Erlen

❷- **Bidons** :

Protocole vapeur :

-Après nettoyage minutieux, remplir le bidon à moitié d'eau du robinet (très !) chaude. Remettre le bidon sur l'étagère avec couvercle et cane de bullage (sans bullage !)

-Attendre au moins une heure avant de rincer le bidon à l'eau de mer filtrée à 1µ puis relancer la culture :

-Remplir le bidon à 10 (ou 11) Litres d'eau de mer filtrée à 1µm

-Ajouter l'engrais : Proline algae feed : **par litre : 140µL part A + 140 µL part B**
Soit pour les bidons 12 L : 1700 µL A + 1700 µL B

-Ajouter 2 (ou 1) Litres d'algues à relancer à partir d'une culture en cours concentrée.
Il est **impératif que l'ensemble des bidons soient constamment en production** afin d'assurer la survie & la production des rotifères.

Ou Protocole Javel :

Parfois, il peut sembler utile de javelliser le bidon :

-Après nettoyage minutieux, remplir le bidon à l'eau de mer filtrée à 1µm puis
-Ajouter 0.15 mL de **Javel à 2.6%** / L à stériliser (soit 2 mL/bidon) pendant 20 minutes
-Ensuite, ajouter 1mL de Sol mère thiosulfate / L à neutraliser (soit 12mL/bidon) pendant 10 minutes
-Puis repiquer les algues et
-Ajouter l'engrais

Annexes 2.3 – Protocole de mesure de la chlorophylle par extraction sur acétone (LAMA - IRD)

1) Objectif et domaine d'application

La chlorophylle est un pigment indispensable à la photosynthèse des algues. Le dosage de ce composé sert donc à estimer la biomasse phytoplanctonique du milieu marin. Un des principaux problèmes de cette analyse réside dans la spéciation du pigment. En effet la chlorophylle (Fig. 1) est une molécule complexe qui génère de nombreux sous produits dont les spectres d'absorption sont presque tous similaires les uns aux autres. La dégradation de la chlorophylle se schématise de la façon suivante :

Chlorophylle *a* —*- chaîne phytol*→ Chlorophyllide *a* —*- Mg*→ Phéophorbide *a*

Chlorophylle *a* —*- Mg*→ Phéophytine *a* —*- chaîne phytol*→ Phéophorbide *a*

Bien que certains auteurs aient reporté la présence de chlorophyllide en milieu marin (Barret et Jeffrey, 1964 ; Jeffrey, 1974), il semble que les principaux produits de dégradation soient la phéophytine et la phéophorbide. Ces composés sont regroupés sous le nom de phéopigments.

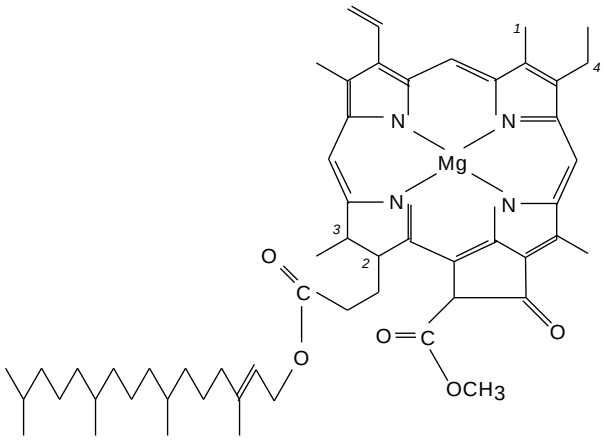


Fig. 1 : Formule semi développée plane de la chlorophylle a (Neveux, 1973)

- *Chlorophylle b : comme la chlorophylle a mais en position 1, une fonction aldéhyde (-CHO) à la place du radical méthyle (-CH_3),*
- *Chlorophylle c_1 : comme la chlorophylle a mais un groupe acide acrylique (-CH=CH-COOH) au lieu du propionate estérifié en position 2, disparition du radical méthyle en position 3 remplacée par une double liaison entre 2 et 3,*
- *Chlorophylle c_2 : comme la chlorophylle c_1 mais en position 4 un radical vinyle (-$CH=CH_2$) au lieu du radical éthyle (-CH_2-CH_3).*

Etant donné les interférences dues aux chlorophylles *b* et *c*, la précision des échantillons dépend de la nature même des communautés benthiques. Pour la chlorophylle *a*, Yentsch et Menzel (1963) considèrent généralement que la méthode est précise à ± 15%. Cette précision

ne tient pas compte de la présence éventuelle de la chlorophyllide *a* qui est dosée avec la chlorophylle *a*.

La limite de détection avec le Trilogy Turner Designs est de 20ng/l.

2) Références

Chifflet, S., Gerard, P., Fichez, R., (2004) *Manuel d'analyses chimiques dans l'eau de mer*. Notes Techniques : Sciences de la mer Biologie Marine n°6, Nouméa : IRD

3) Principe de l'activité

Deux méthodes sont généralement utilisées pour le dosage de la chlorophylle : la spectrophotométrie et la fluorométrie. Le principal intérêt de la méthode fluorométrique (Yentsch et *al*., 1963 ; Holm-Hansen et *al*., 1965 ; Lorenzen, 1966) par rapport à la spectrophotométrie est sa plus grande sensibilité. Elle permet de traiter également des échantillons de volume plus réduit pour la filtration (0,1 à 1l contre 5 à 10l pour la méthode spectrophotométrique), ce qui représente un gain de temps appréciable. De plus, la mesure se fait par lecture directe à une seule longueur d'onde.

Après filtration d'un certain volume d'eau de mer pour concentrer le phytoplancton, le filtre est immergé dans un solvant qui assure l'extraction des pigments chlorophylliens. Ils sont ensuite excités par un faisceau lumineux à 450nm et la fluorescence émise est mesurée à 670nm. Sur chaque extrait, la mesure de fluorescence est effectuée deux fois, avant et après acidification. La diminution de fluorescence observée entre ces deux lectures est en relation avec le pourcentage relatif de chlorophylle *a* par rapport à la somme chlorophylle *a* + phéophytine *a*.

4) Matériel

- Fluorimètre TRILOGY Turner Designs avec lumière LED et détecteur photodiode, équipé d'un kit optique Chl a Acidification (modèle N°040 CHL A ACID, ref. 7200-040) avec filtre d'excitation à 485nm et filtre d'émission à 685/50nm.
- Spectrophotomètre THERMO Scientific Modèle Evolution 201.
- Tubes à essai en verre rincés à l'eau milli Q et séchés à 60° C (pour l'extraction)
- Bouchons en silicone pour tubes à essai.
- Tubes à essai en verre de 2 ml avec bouchons (pour la lecture)
- 6 Fioles de 100 ml
- 1 fiole de 500 ml
- 1 éprouvette de 1 litre en verre
- 1 éprouvette de 100 ml en verre
- 1 baguette agitateur
- Rouleau d'aluminium

N.B : toute la verrerie doit être lavée avec de l'eau milli Q et séchée à l'étuve à 60° C.

5) Produits chimiques de base

Tous les produits chimiques sont de qualité analytique

- Chlorophylle a commerciale (Sigma ; réf : C5753)
- HCl 36%
- Méthanol pur P.A.
- Acétone pur P.A.

Produits dangereux
Manipuler sous hotte avec gants, lunettes et blouse

6) Réactifs

- HCl 0.3 mol/l

Ajouter 2.5 ml de HCl 36% à environ 50ml d'eau milliQ. Compléter à 100ml.

- Méthanol 93%

Dans une éprouvette de 1l, verser 70ml d'eau milliQ avec une éprouvette de 100ml et compléter à 1l avec du méthanol pur. Stocker dans un flacon en verre ambré muni d'une dispensette.

- Méthanol 95%

Dans une éprouvette de 1l, verser 50ml d'eau milliQ avec une éprouvette de 100ml et compléter à 1l avec du méthanol pur. Stocker dans un flacon en verre ambré muni d'une dispensette.

- Solution mère

Mettre 1mg de Chlorophylle a dans une fiole jaugée de 500ml. Mettre au volume avec 500ml d'acétone pur P.A. Envelopper la fiole de papier aluminium pour la protéger de la lumière, faire dissoudre avec un barreau magnétique. La dissolution des paillettes doit être complète. La fiole peut se conserver un mois à 4°C, dans un réfrigérateur. La concentration de la solution doit être mesurée au spectrophotomètre à chaque étalonnage.

7) Etalonnage

- Déterminer la concentration de la solution mère
    - Faire un blanc en mettant 1 cuve en quartz de 1 cm de trajet optique remplies avec de l'acétone pur.
    - Rincer la cuve « échantillon » avec la solution mère 3 fois puis remplir.
    - Mesurer la densité optique à 663nm et à 750nm.

- Ajouter 30 µl d'HCl 0.3 mol/l, puis mesurer à nouveau la densité optique à 663nm et à 750nm.
- Calculer en utilisant la formule $[\text{Chla}]\ (\text{g/l}) = \frac{DO_{663} - DO_{750}}{K}$ où K = 88 $lg^{-1}cm^{-1}$

  K = valeur du coefficient spécifique d'absorption dans l'acétone.

  Dans le cas d'une solution mère diluée dans le méthanol à 93%, K = *76*

  Le rapport d'acidification Fo/Fa doit être proche de 1.7

- Préparer les standards avec du méthanol 93% selon le tableau ci-dessous :

$[\text{Chl a}]_{finale}$ (µg/l)	5	10	20	30	50	100	200
Vol pipeté de SM	.µl	.µl	.µl	.µl	.µl	.µl	.µl
Volume fiole (ml)	100	100	100	100	100	100	100

- Mesurer chacun des standards selon la procédure décrite ci-dessus.
- Effectuer des mesures de blancs sur le méthanol 93%.

8) Procédure

- Placer le filtre au fond du tube à essai.
- Ajouter 7ml de
  - méthanol 95% si les filtres sont en fibre de verre.
  - méthanol 93% si les filtres sont en polycarbonate (Nuclepore).
- Fermer le tube et agiter doucement.
- Placer le tube dans un portoir et laisser l'extraction se faire durant 30mn à température ambiante dans l'obscurité.
- Agiter de nouveau une dizaine de fois, remplir une fiole en verre de 2 ml et fermer avec un bouchon.
- Essuyer la fiole et placer la dans le fluorimètre.
- Faire une 1^{e} lecture : appuyer sur la touche verte « measure fluorescence raw ».
- Acidifier avec 20 µl d'HCl 0.3 mol/l, boucher et agiter pendant une minute.
- Placer à nouveau le tube dans le fluorimètre et refaire une lecture.

Attention : Respecter les mêmes temps de traitement entre chaque mesure.

9) Calculs

L'étalonnage du fluorimètre selon cette méthode donne deux relations linéaires :

$F_{Chl} = K_0.[\text{Chl } a]$ (1)

$F_{Pheo} = K_a.[\text{Pheo } a]$ (2)

Pour un échantillon λ :

$F_0^{\lambda} = F_{Chl}^{\lambda} + F_{Pheo}^{\lambda}$ (3)

$F_a^{\lambda} = F_{Chl}^{\lambda} \rightarrow F_{Pheo}^{\lambda} + F_{Pheo}^{\lambda}$

D'après (1) et (2) :

$F_{Chl}^{\lambda} \rightarrow F_{Pheo}^{\lambda} = K_a.[\text{Pheo } a]^{\lambda} = K_a.[\text{Chl } a]^{\lambda}$

$F_{Chl}^{\lambda} = K_0.[\text{Chl } a]^{\lambda}$

$$F_{Pheo}^{\lambda} = \frac{K_a}{K_0} \cdot F_{Chl}^{\lambda}$$

D'où $$F_a^{\lambda} = \frac{K_a}{K_0} \cdot F_{Chl}^{\lambda} + F_{Pheo}^{\lambda}$$ (4)

Par différence entre les équations (3) et (4) :

$$F_a^{\lambda} - F_0^{\lambda} = \frac{K_a}{K_0} \cdot F_{Chl}^{\lambda} - F_{Chl}^{\lambda}$$

$$[Chl]^{\lambda} = \frac{\left(F_a^{\lambda} - F_0^{\lambda}\right)}{\left(K_a - K_0\right)} \quad \text{et} \quad [Pheo]^{\lambda} = \frac{\left(K_0 \cdot F_a^{\lambda} - Ka \cdot F_0^{\lambda}\right)}{Ka \cdot \left(K_a - K_0\right)}$$

Annexes 2.4 – Protocole de mesure de la chlorophylle par extraction sur acétone de l'Adecal Technopole IFREMER

Dosage de la chlorophylle a et des phéopigments a par spectrophotométrie d'après la méthode de Lorenzen (1967)*:

*Aminot A. & Chaussepied M. Manuel des analyses chimiques en milieu marin.

Réactifs

-Acétone à 90%

Diluer de l'Acétone de qualité « pure » ou « haute qualité analytique » par 10% d'eau mQ.

-HCl 0,3 M

Diluer de l'HCl (d =1,18, 35%) dans de l'eau distillée, soit 2.5 mL d'acide qsp 100 mL.

Matériel

-Système de filtration à vide (trompe à vide-tulipe-pince de serrage), réglage :0.5 bar

-Centrifugeuse

-Spectrophotomètre

Mode opératoire

Filtration :

-Placer un filtre GF/C 47 mm sur le support de la trompe à vide puis la tulipe et la pince de serrage

-Homogénéiser le prélèvement à doser en l'agitant de façon aléatoire et pipeter immédiatement (selon la concentration cellulaire, filtrer entre 100.10^6 et 200.10^6 ç)

-Appliquer le vide pour filtrer le volume puis laisser fluer l'air quelques instants après la filtration

-Rincer les parois de la tulipe avec une pissette contenant de l'eau de mer fraîchement filtrée à 0.2µ, afin de rassembler toutes les particules sur le filtre.

Extraction :

-Récupérer délicatement le filtre et le plier dans le tube à centrifuger. (A cette étape le tube peut être stocké pendant 3 semaines à –20°C, en évitant toute évaporation et lumière)

-Pipeter 10 mL d'acétone à 90% et refouler dans le tube

-Dans la pénombre, déchiqueter le filtre à l'aide d'un pilon

-Boucher et agiter le tube pour disperser les fibres

-Laisser l'extraction se poursuivre au moins 20h heure au réfrigérateur à 4°C

-Laisser revenir à température ambiante

-Centrifuger à 3000 G pendant 1 mn à 20°C, déboucher le tube et ramener les fibres collées à la paroi vers le fond du tube

-Centrifuger à 3000 G pendant 10 mn

-Dans la pénombre, transférer avec précaution, directement dans la cuve du spectrophotomètre, environ 1 mL du surnageant en aspirant lentement l'extrait ou dans un récipient entouré de papier aluminium

Mesures de l'absorbance

Chlorophylle *a*

-Effectuer la mesure du blanc de cuve (acétone à 90%) à 665 nm et 750 nm, soit $\mathbf{bc_{665}}$ et $\mathbf{bc_{750}}$ les blancs obtenus

-Effectuer la mesure du blanc d'échantillon ($\mathbf{Ab^{na}_{750}}$) en mesurant l'absorption à 750nm de d'échantillon (la valeur doit être inférieure à 0.005/cm de trajet optique)

-Effectuer la mesure l'absorbance brute de l'échantillon à 665 nm, soit $\mathbf{Ab^{na}_{665}}$ la valeur obtenue.

Phéopigments *a*

-Acidifier par addition de 10 µL de HCl 0,3 M directement dans la cuve et attendre 3 minutes

-Effectuer la mesure l'absorbance brute de l'échantillon à 665 et 750 nm, soit $\mathbf{Ab^{a}_{665}}$ et $\mathbf{Ab^{a}_{750}}$.

Calculs, expression des résultats

Absorbances nettes :

Avant acidification : $\mathbf{A^{na}_{665}} = (Ab^{na}_{665} - bc_{665}) - (Ab^{na}_{750} - bc_{750})$

Après acidification : $\mathbf{A^{a}_{665}} = (Ab^{a}_{665} - bc_{665}) - (Ab^{a}_{750} - bc_{750})$

Calculs des concentrations :

$$[\text{Chlorophylle } a] \text{ (µg. L}^{-1}) = \frac{26,7 \times (A^{na}_{665} - A^{a}_{665}) \times v}{V \times l}$$

$$[\text{Phéopigments } a] \text{ (µg. L}^{-1}) = \frac{26,7 \times (1,7\, A^{a}_{665} - A^{na}_{665}) \times v}{V \times l}$$

v : volume de la solution d'acétone en mL

V : volume de l'échantillon filtré en L

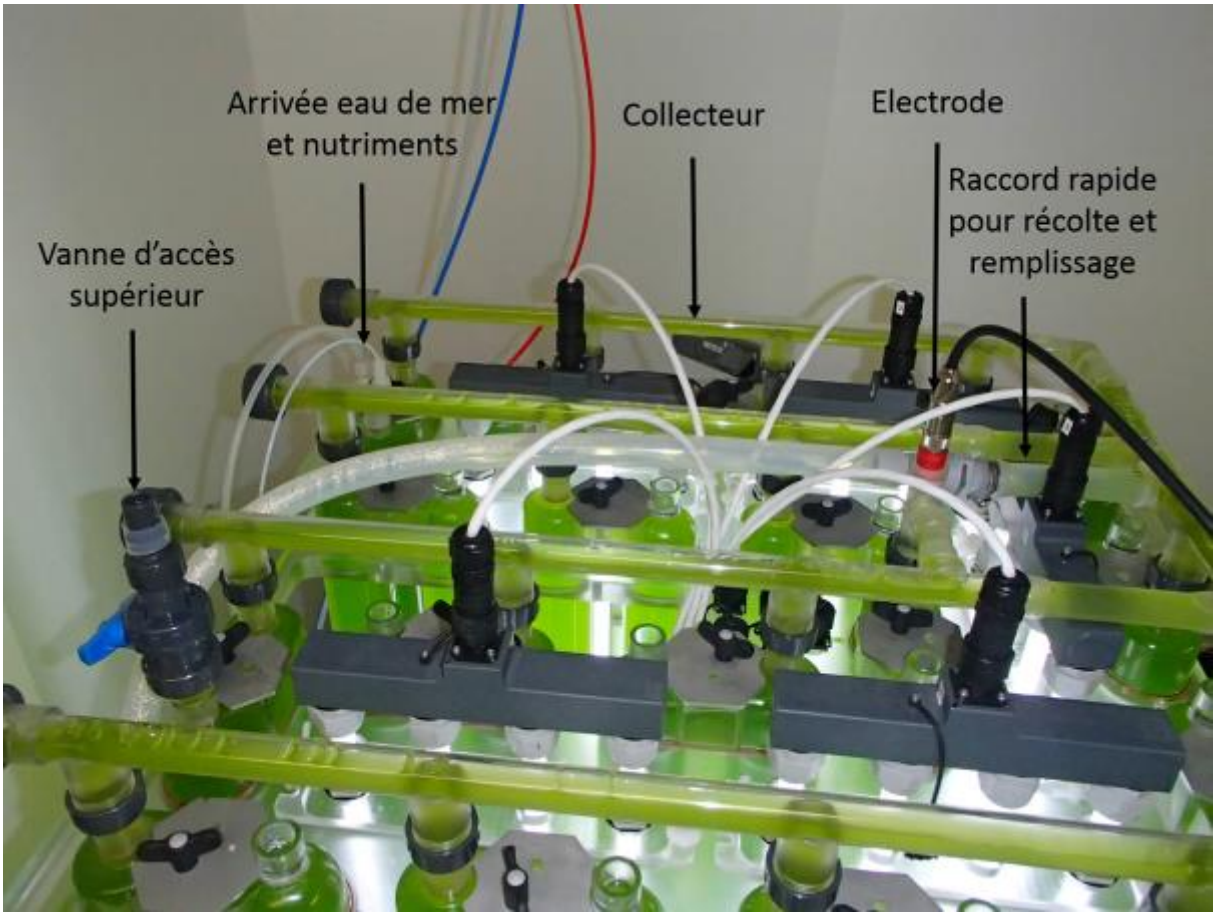
l : longueur du trajet optique de la cuve de mesure en cm.

Annexes 2.5 – Protocole d'utilisation des photobioréacteurs de l'Adecal – Technopole

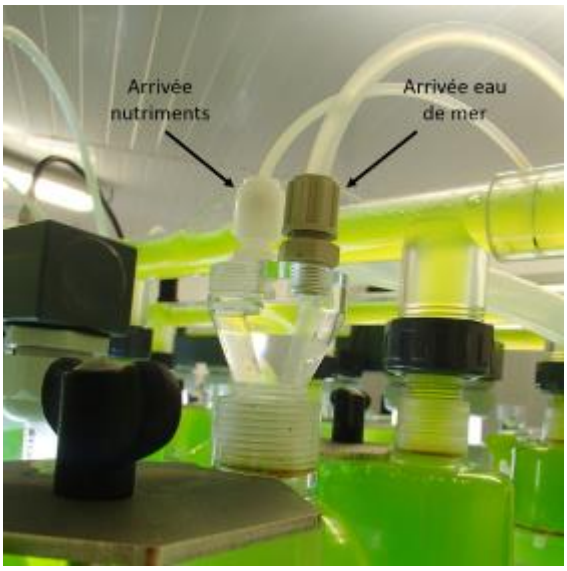
Protocole d'utilisation des photobioréacteurs de 120 Litres

Ce protocole est utilisé au LEMA, il a pour but de décrire le montage et les précautions à prendre avant l'utilisation du photobioréacteur (PBR) de 120 Litres. Il explique la mise en service du PBR pour une culture en batch, la mise en place du continu, ainsi que la procédure d'arrêt et de nettoyage.

A – Préparation



Vue supérieure du PBR





1- Mise en place des arrivées d'air et de fluides

- Dans la partie inférieure du PBR, positionner les capots d'injection d'air et de CO2, et dans la partie supérieure le capot prévu pour l'électrode et le capot avec les arrivées nutriment et eau de mer.

- Placer le reste des capots : le côté bombé reçoit le courant.

- Positionner et fixer le collecteur supérieur.

- Connecter les tuyaux d'injection des nutriments (pompe Ismatec) et d'injection d'eau de mer (pompe Iwaki) sur le capot prévu à cette effet. Veiller à la présence d'un clapet anti-retour au niveau de ces 2 arrivées.

- Mettre les filtres sur les entrées d'air et de CO2 du PBR, mais ne pas connecter aux tuyaux d'injection.

- Connecter l'aspiration de la pompe eau de mer à la cuve 150L noire d'eau de mer dans la coursive.

2- pHmètre

- Calibrer le pHmètre avec les tampons 7.00 et 10.01 Rincer l'électrode avec de l'eau distillée et l'essuyer avec du papier absorbant avant la calibration et entre chaque tampon.

-Appuyer sur cal pour démarrer la calibration



-Entrer le code 1100 à l'aide des flèches pour déverrouiller le mode calibration puis appuyer sur enter

-Suivre les instructions affichées

Ne jamais laisser tremper une électrode dans l'eau distillée.

- Placer l'électrode pH dans le PBR.

3- Préparation de l'acide

Préparer 150 Litres d'eau acidifiée dans la cuve noire placée dans la coursive : concentration en acide péracétique [0,5% de produit liquide dans de l'eau douce (eau du réseau)], soit 750 mL d'acide dans 150 Litres d'eau. Attention il ne faut pas préparer l'eau acidifiée en avance, car il y a un risque de développement bactérien.

B – Stérilisation

- Remplir le PBR avec l'eau acidifiée :

  - Connecter l'arrivée de la cuve contenant l'eau acidifiée au circuit pompe péristaltique - filtre 0,2µm, et tourner la vanne 3 voies au niveau de la cuve pour laisser passer l'eau acidifiée dans le circuit de remplissage ainsi que vers la pompe eau de mer (pompe Iwaki).



- Connecter la sortie du filtre 0,2µm au raccord rapide situé sur le collecteur supérieur du PBR.

- Ouvrir la vanne d'accès supérieur du PBR pour permettre aux gaz de s'échapper pendant le remplissage.

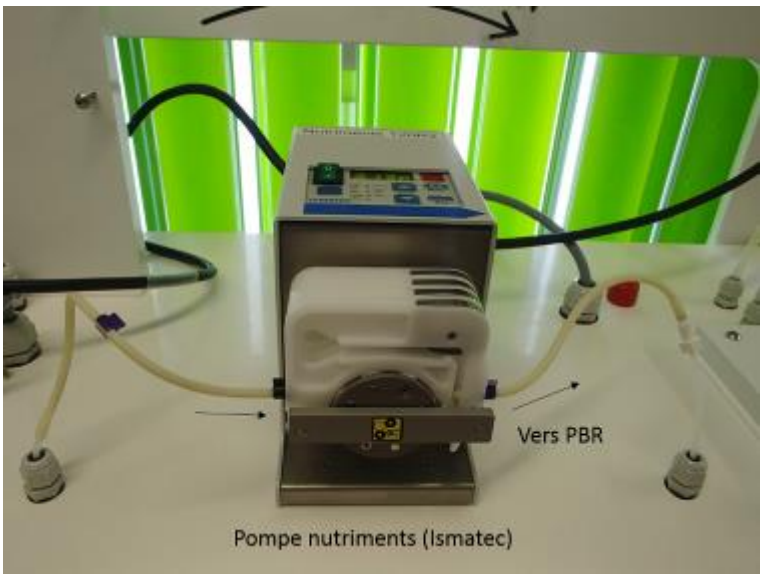
- Allumer la pompe péristaltique, et purger le filtre 0,2µm pour éliminer l'air

- Rincer le circuit de remplissage, en tournant la vanne 3 voies placée juste avant le réacteur sur la sortie purge, puis tourner à nouveau la vanne de façon à remplir le réacteur avec l'eau acidifiée.

- Pendant le remplissage :

- Mettre en fonctionnement la pompe d'injection d'eau de mer située dans la coursive (pompe Iwaki) jusqu'à ce que l'eau acidifiée remplisse les filtres et les tuyaux (ne pas oublier de purger les filtres dans l'armoire du PBR).

- Prélever un bécher d'eau acidifiée dans la cuve, mettre l'aspiration de la pompe nutriment (pompe Ismatec) dans le bécher, puis mettre en fonctionnement jusqu'à ce que l'eau acidifiée remplisse tout le circuit.



Pompe nutriments (Ismatec)

- Surveiller attentivement le PBR en fin de remplissage (éventuellement ralentir la pompe de remplissage). Lorsque le PBR est plein, l'eau acidifiée remplie le collecteur supérieur, et ressort par la vanne d'accès supérieur.

- Le pHmètre doit indiquer une valeur entre 3 et 4. Si le pH est plus élevé, c'est l'indication d'un sous dosage de l'acide.

- Fermer la vanne d'accès supérieur, déconnecter le circuit de remplissage, retourner le PBR et le vider dans la coursive par un tuyau connecté au raccord rapide situé sur le collecteur.

- Une fois vide redresser le PBR, et déconnecter le tuyau de vidange

C – Rinçage

- Rincer la cuve noire dans la coursive avec de l'eau de mer filtrée à 0,45µm, puis remplir la cuve.

- Rincer le circuit de remplissage de l'acide, en tournant la vanne 3 voies placée juste avant le réacteur sur la sortie purge.

- Ouvrir la vanne d'accès supérieur, puis remplir le PBR avec l'eau de rinçage jusqu'à ce que l'eau ressorte par la vanne d'accès supérieure.

- Pendant le remplissage :

- Mettre en fonctionnement la pompe d'injection d'eau de mer (pompe Iwaki) jusqu'à ce que l'eau de rinçage remplisse les filtres et les tuyaux (ne pas oublier de purger les filtres dans l'armoire du PBR).

- Brancher l'aspiration de la pompe nutriment (pompe Ismatec) à un erlen contenant de l'eau de mer filtrée 0,2µm autoclavée puis mettre en fonctionnement jusqu'à ce que l'eau de rinçage remplisse tout le circuit.

- Fermer la vanne d'accès supérieur, déconnecter le circuit de remplissage, retourner le PBR et le vider dans la coursive par un tuyau connecté au raccord rapide situé sur le collecteur.

- Une fois vide redresser le PBR, et déconnecter le tuyau de vidange

D - Inoculation – Remplissage

- Le remplissage du réacteur se déroule de la même façon que pour le rinçage

- A mi-remplissage, procéder à l'inoculation : l'inoculum est poussé dans le réacteur avec de l'air sans avoir à ouvrir le ballon de culture.

- Connecter l'entrée de remplissage du PBR au ballon contenant l'inoculum au niveau de la canne plongeant dans la culture.

- Injecter de l'air par une des 2 entrées du ballon sans canne contenant un filtre à air 0,2µm (attention ne pas brancher directement l'arrivée d'air au filtre, il y a un risque de surpression pouvant causer l'ouverture du ballon contenant l'inoculum). La pression dans le ballon augmente provoquant une remontée de la culture par la canne reliée au PBR.

- Lorsque le niveau de la culture passe sous la canne déconnecter le ballon, puis reprendre le remplissage du réacteur avec l'eau de mer.

- Prélever sous hotte, les nutriments. Il ne faut pas introduire de pipette dans les bouteilles de nutriments, pour éviter la contamination des solutions mères. Verser un volume approximatif légèrement supérieur dans un récipient, puis prélever le volume nécessaire dans ce flacon. Ne pas oublier de mettre de la silice si l'algue cultivée est une diatomée. Remettre les solutions au réfrigérateur, le plus rapidement possible.

- Ajouter le volume de nutriments nécessaires pour le volume de culture (120mL pour 120L de culture) dans un erlen stérile.

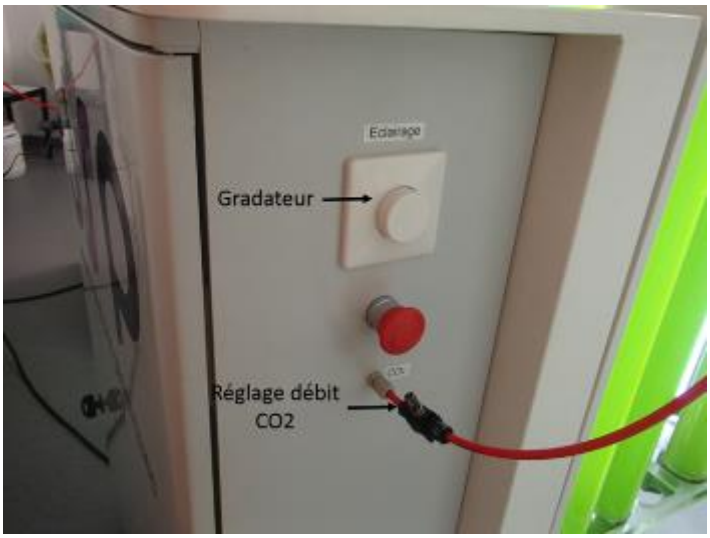
- Brancher l'aspiration de la pompe nutriment à l'erlen, puis mettre la pompe en route pour injecter les nutriments dans le PBR.

- S'il reste du milieu de culture dans l'erlen, remplir l'erlen sous hotte avec de l'eau de mer autoclavée et injecter de la même façon dans le réacteur. Laisser l'erlen connecté à la pompe jusqu'à la mise en place du continu. A ce moment, le raccord sera utilisé pour la connexion à la poche de nutriments.

- Arrêter le remplissage du réacteur lorsque les capots supérieurs sont remplis aux ¾.

E - Mise en service

- Connecter les tuyaux d'arrivée d'air et de CO2 aux filtres à air. Régler les débitmètres pour l'air et ouvrir le robinet pour l'arrivée de CO2.



- La vanne d'accès supérieur doit être ouverte pour permettre aux gaz de s'échapper.

- L'éclairage est allumé et réglé grâce au gradateur. Faire une mesure d'intensité lumineuse avec le Li-Cor LI-250A. Calibrer si nécessaire en fonction du capteur en indiquant le facteur de multiplication indiqué sur l'étiquette (-261.82 pour le capteur sphérique à privilégier). Faire une mesure en plaçant le capteur à mi-hauteur des tubes, aux 4 coins du PBR et au centre.

- Ajuster la valeur de consigne de pH retenue :

Réglage consigne pH

- Lorsque la culture est homogène dans le PBR, un prélèvement peut être fait pour comptage et mesure d'absorption (voir protocole d'évaluation de la biomasse). Lorsque le PBR est en batch, le prélèvement est réalisé en augmentant le débit d'air dans le réacteur, provoquant une surpression et l'éjection d'un peu de culture. Lorsque le PBR est en continu, le prélèvement se fait au niveau de la sortie de récolte.

- Noter toutes les valeurs des paramètres fixés sur un nouveau formulaire "suivi de culture en photobioréacteur 120L" en incrémentant le numéro de la culture (année/BMxx). Noter dans le cahier de laboratoire les faits marquants.

- L'ensemble des tuyaux, pompes et filtres ayant servis au remplissage du PBR doivent être rincés à l'eau douce.

F – Mise en place du continu

Les apports de nutriments et d'eau de mer dans le PBR se font de manière indépendante. L'injection de nutriments se fait à partir d'une poche stérile, via une pompe péristaltique (pompe Ismatec). L'eau de mer filtrée à 0.45µm est stockée dans la cuve de 150L dans la coursive. L'eau est injectée dans le PBR par une pompe doseuse (pompe Iwaki) située dans la coursive et est filtrée à 0,2µm par les filtres situés dans l'armoire du PBR.

1- Mise en place de la récolte

- Pour évacuer la culture, un tuyau est fixé sur le raccord rapide situé au niveau du collecteur supérieur du PBR. La vanne d'accès supérieur est maintenue ouverte pour laisser les gaz s'échapper.

- Le trop plein est déversé dans une autre cuve de 150L située à proximité du PBR.

- Lorsque la cuve est pleine, javelliser la culture, et jeter à l'égout par un tuyau dans la coursive.

2- Préparation et mise en service de la poche de nutriments

Des poches stériles Sartorius de 10L sont utilisées. Le débit minimal de la pompe nutriment étant trop élevé pour injecter du milieu pur, le milieu de Conway, et la silice si nécessaire doivent être dilués par 20 avec de l'eau douce. Le conway n'est pas dilué avec de l'eau de mer pour éviter l'obstruction par du sel du tuyau d'arrivée des nutriments dans le PBR

Pour 10L de milieu dilué à un dosage de 1mL/L d'eau de mer :

- Sous hotte, sortir la poche de son emballage stérile, et fermer une des 2 entrées avec le clip de fermeture.

- Verser un peu plus de 500mL de milieu de Conway dans un bécher préalablement autoclavé.

- A l'aide d'une seringue de 50mL, injecter dans la poche en 10 fois 500mL de conway par la 2ème entrée. Si nécessaire, ajouter 500mL de silice de la même façon.

- Fermer la 2ème entrée avec le clip de fermeture.

-.Placer un embout équipé d'un raccord rapide sur chacune des 2 entrées (un embout mâle sur une entrée, et un embout femelle sur l'autre). Eventuellement consolider le montage avec des serres-tube.

- Envelopper les 2 embouts avec du papier aluminium préalablement vaporisé à l'éthanol.

- Le milieu de culture est ensuite dilué avec de l'eau douce. Pour 10L de milieu, 9.5L d'eau douce filtrée à 0,2µm sont ajoutés à la poche (ou 9L si de la silice a été ajoutée).

- Placer la poche sur la balance dans une caisse.

- Remplir un bidon d'eau douce et plonger le tuyau d'aspiration de la pompe peristaltique dans le bidon

- Relier la pompe péristaltique (grosse péristaltique Heidolph) au filtre 0,2µm, et le filtre à l'embout prévu pour le remplissage des poches.

- Ouvrir la vanne 3 voies entre le filtre et la purge. L'entrée vers la poche doit être fermée.

Si nécessité de stériliser le circuit :

- Préparer 3 Litres d'eau acidifiée : concentration en acide péracétique [0,5% de produit liquide dans de l'eau douce (eau du réseau)], soit 15 mL d'acide dans 3 Litres d'eau douce. (Attention ne pas préparer l'eau acidifiée en avance, risque de développement bactérien)

- Faire passer dans le circuit (péristaltique – filtre 0,2µm – purge) l'eau acidifiée pour stériliser l'ensemble.

- Fermer l'extrémité de tuyaux de purge avec une pince de mohr, arrêter la pompe et laisser l'eau acidifiée en contact pendant 20 minutes.

- Retirer la pince de mohr de l'extrémité de la purge et rincer l'ensemble du circuit avec de l'eau douce

- Arrêter la pompe péristaltique

- Enlever le clip de fermeture qui maintient la poche fermée.

- Tarer la balance

- Tourner la vanne 3 voies pour ouvrir l'entrée de la poche et fermer la purge puis relancer la pompe

- Quand le volume voulu dans la poche est atteint tourner la vanne 3 voies pour ouvrir la purge et fermer l'entrée de la poche. Arrêter la péristaltique, et fermer la poche avec le clip de fermeture. Cette entrée ne sera utilisée que pour le remplissage de la poche.

- Déconnecter les raccords rapides de la poche, vaporiser les 2 parties à l'éthanol et protéger avec du papier aluminium.

- Rincer l'unité de filtration.

- Relier la poche à la pompe par un raccord rapide au niveau de la sortie prévue sur le PBR après avoir vaporisé le raccord avec de l'éthanol. Protéger avec du papier aluminium.



- Ouvrir le clip de fermeture de la poche

- Faire fonctionner la pompe au maximum en appuyant sur « Cal/Max » jusqu'à éliminer tout l'air des tuyaux et envoyer les nutriments dans le PBR

- Régler la pompe sur le débit souhaité (voir graph de correspondance pour déterminer le débit souhaité en fin de protocole) : choisir le mode « Pump/flow rate » en appuyant sur « Mode », régler le débit voulu en appuyant sur les flèches haut et bas, puis appuyer sur Run pour lancer la pompe.

➔ Lorsque la poche est vide (ou presque vide) en cours d'expérience, elle peut être remplie à nouveau, il n'est pas nécessaire de prendre une poche neuve :

-Arrêter la pompe nutriment

-Fermer la poche avec le clip de fermeture

-Déconnecter la poche de la pompe, vaporiser les 2 embouts avec de l'éthanol et protéger avec du papier aluminium, puis remplir la poche comme lors du 1er remplissage

3- Mise en place de l'injection d'eau de mer

- Remplir la cuve de 150L dans la coursive avec de l'eau de mer filtrée à 0,45µm.

- Ouvrir la vanne de la cuve, puis tourner la vanne 3 voies pour ouvrir l'entrée vers la pompe eau de mer (pompe Iwaki).

- Ouvrir les purges de la pompe eau de mer, et des filtres dans l'armoire du PBR

- Faire fonctionner la pompe à son maximum en appuyant sur les 2 flèches en même temps, jusqu'à éliminer tous l'air des tuyaux, et envoyer l'eau de mer dans le PBR.

- Fermer toutes les purges.

- Régler la pompe sur le débit souhaité : le réglage se fait sur la fréquence en appuyant sur les flèches. Ne pas changer le réglage de la longueur de course (voir graph de correspondance pour déterminer le débit souhaité en fin de protocole).

- Appuyer sur pour démarrer la pompe.



- Il faut vérifier tous les jours le débit de la pompe eau de mer :

- tarer un bidon de récolte.

- mettre en route le chronomètre dès que de la culture arrive dans le bidon de récolte.

- faire une pesée au minimum 1h après et noter la valeur sur la feuille de suivi

-Il faut également vérifier tous les jours le débit de la pompe nutriment :

- arrêter la pompe nutriment.

- déclipser le raccord rapide reliant la poche au PBR.

- peser la poche et noter la valeur sur la feuille de suivi.

- vaporiser de l'éthanol sur les 2 parties du raccord rapide puis reconnecter la poche au PBR et remettre en route la pompe.

G – Arrêt des PBR

Lorsque l'on décide d'arrêter une culture en PBR, il faut :

- Arrêter la pompe nutriments et la pompe eau de mer et débrancher les arrivées au niveau du PBR.

- Retirer l'électrode pH et la remettre dans sa boîte après nettoyage et remise du capuchon rempli de KCl.

- Retourner le PBR.

- Vidanger le PBR en utilisant la sortie prévue pour la récolte. Injecter de l'air dans le PBR pour appliquer une contre pression. Les algues sont rejetées dans la cuve de récolte et javellisées avant d'être évacuées dans la coursive.

- Démonter le collecteur et l'ensemble des capots puis laver l'ensemble à l'eau douce en frottant avec de l'essuie tout si nécessaire.

- Sortir le PBR sur le perron pour laver à l'eau douce au jet, et en utilisant un écouvillon.

- Laver les tuyaux, les remplacer si ce n'est pas possible de les nettoyer.

- Rincer les pompes nutriment et eau de mer avec de l'eau douce puis de l'éthanol.

- Ne pas utiliser de solvant, de détergeant, d'eau de javel, d'eau chaude, de tampon abrasif.

- Laisser sécher avant de remettre les capots et le collecteur

- Clore la fiche de suivi de culture et la ranger. Fin de protocole

Abstract

Outbreaks of the coral-eating starfish *Acanthaster* sp. represent one of the most severe threats to coral reefs in the Indo-Pacific zone. Despite significant research efforts over the last three decades, the factors behind the initiation of these outbreaks remain poorly understood. Recent work proposes that processes related to climate change, notably ocean warming and acidification, could favour certain life stages in particular the pelagic larval phase, which is considered a bottleneck for population dynamics. In this context, we studied the effects of ocean warming and acidification predicted by the end of the century according to the classical IPCC business-as-usual scenario (+2°C; pH 7.75) on the reproductive performances of acanthasters after exposing the adults to different conditions. The reproductions were carried out *in vitro* before studying the following biological processes from fertilization to the final larval stages. Replicating the experiments two years in a row made it possible to specify the optimal reproduction period in New Caledonia, which seems to be in December when the water temperature exceeds 26°C. Our results showed that future modifications of the physico-chemical parameters of the water could have contrasting effects according to the life stages and especially according to the seasonality of reproduction. As one moves away from the optimal reproduction period, the effects become particularly deleterious, with a fertilization success divided by three under heated conditions, associated with an increase in mortality (+25%) as well as in the abnormality rate (up to 100%) of the larvae under acidified conditions. Our results suggest that global warming could lead to an advancement of the breeding period of acanthasters, then a lengthening to approach the period observed at lower latitudes. On the other hand, during the optimal breeding period, we observed weak to moderate effects of temperature on eggs, RGS, fertilization rates, and size of early larval stages. We also showed that all larvae were consistently larger in acidified treatments, regardless of larval stage. In addition, we detected delays in larval development caused by temperature and pH, which could result in a lengthening of the larval cycle in nature, associated with a decrease in the number of recruits. Nevertheless, no significant mortality was shown on larvae resulting from breeding during the optimal period, suggesting possible acclimation of adults to future conditions. Adding an acclimation phase to modified temperature and pH conditions had never been done on acanthasters, and the differences in results between the doctoral project and previous studies that omitted this phase underline its importance for future work. Although our work was carried out over a specific period of time under controlled conditions, which are different from natural conditions, it seems that the acanthasters acclimatized to the modified conditions and produced resistant larvae. Since climate change is a slow phenomenon, it is very likely that acanthasters will acclimatize to future conditions and that population dynamics will not be affected. Our work has increased knowledge of the effects of climate change on acanthasters and clarified the optimal breeding period in New Caledonia.

Keywords: acanthaster, climate change, reproduction, larvae, development, coral reefs, outbreaks

Résumé

Les infestations des étoiles de mer corallivores du genre *Acanthaster* représentent une des menaces les plus importantes qui pèsent actuellement sur les récifs coralliens de la zone Indopacifique. En dépit d'efforts de recherche conséquents ces trois dernières décennies, les facteurs d'initiation de ces infestations restent méconnus. Des travaux récents proposent que les processus liés au changement climatique, notamment le réchauffement et l'acidification des océans, pourraient favoriser certains stades de vie des acanthasters, en particulier la phase larvaire pélagique qui est considérée comme un goulot d'étranglement pour la dynamique des populations. Dans ce contexte, nous avons étudié les effets du réchauffement et de l'acidification des océans prévus d'ici la fin du siècle suivant le scénario classique *business-as-usual* du GIEC (+2 °C ; pH 7,75) sur les performances de reproduction des acanthasters après les avoir acclimaté aux différentes conditions. Les reproductions *in vitro* ont été effectuées avant d'étudier les processus biologiques suivants, de la fertilisation aux derniers stades larvaires. Répliquer les expériences deux années consécutives a permis de préciser la période optimale de reproduction en Nouvelle-Calédonie, qui semble se situer en décembre quand la température de l'eau dépasse 26 °C. Nos résultats ont montré que les futures modifications des paramètres physico-chimiques de l'eau pourraient avoir des effets contrastés suivant les stades de vie et surtout suivant la saisonnalité de reproduction. A mesure que l'on s'éloigne de la période de reproduction optimale, les effets deviennent particulièrement néfastes, avec un succès de fertilisation divisé par trois dans les conditions chauffées, associé à une augmentation de la mortalité (+25%) ainsi que du taux d'anormalité (jusqu'à 100%) des larves dans les conditions acidifiées. Nos résultats suggèrent que le réchauffement climatique pourrait entrainer un avancement de la période de reproduction des acanthasters, puis un allongement pour se rapprocher de la période observée aux latitudes plus basses. En revanche, lors de la période optimale de reproduction, nous avons observé des effets faibles à modérés de la température sur les œufs, les RGS, les taux de fertilisation, et la taille des premiers stades larvaires. Nous avons aussi montré que toutes les larves étaient systématiquement plus grandes dans les traitements acidifiés, quel que soit le stade larvaire. De plus, nous avons détecté des retards de développement larvaire provoqués par la température et par le pH, qui pourraient se traduire par un allongement du cycle larvaire dans la nature, associé avec une diminution du nombre de recrues. Néanmoins, aucune mortalité significative n'a été montrée sur les larves issues des reproductions faites en période optimale, suggérant une possible acclimatation des adultes aux conditions futures. Ajouter une phase d'acclimatation à des conditions modifiées de température et de pH n'avait jamais été fait sur les acanthasters, et les différences de résultats entre le projet doctoral et les études précédentes ayant omis cette phase d'acclimatation soulignent l'importance de cette phase pour de futurs travaux. Bien que nos travaux aient été réalisés sur une période spécifique dans des conditions contrôlées, qui sont différentes des conditions naturelles, il semble que les acanthasters se soient acclimaté aux conditions modifiées et ont produit des larves résistantes. Le changement climatique étant un phénomène lent, il est très probable que les acanthasters s'acclimatent aux conditions futures et que la dynamique des populations ne soit pas affectée. Nos travaux ont permis d'augmenter les connaissances des effets du changement climatique sur les acanthasters et de préciser la période optimale de reproduction en Nouvelle-Calédonie.

Mots-clefs : acanthaster, changement climatique, reproduction, larves, développement, récifs coralliens, infestations