

**UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE II**  
**École Doctorale des Sciences de l'Environnement**

**THÈSE**

présentée par

**Aurélie MOYA**

pour obtenir le titre de

**DOCTEUR EN SCIENCES**  
**DE L'UNIVERSITÉ D'AIX-MARSEILLE II**

Spécialité : Sciences de l'Environnement Marin

**Approches physiologique et moléculaire**  
**de la calcification et de la “light-enhanced calcification”**  
**chez le corail Scléactiniaire *Stylophora pistillata* (Esper, 1797)**

**Soutenance prévue le lundi 22 octobre 2007 dans la salle de conférences**  
**du Musée océanographique de Monaco**

Thèse dirigée par le Pr. Denis ALLEMAND et le Dr. Sylvie TAMBUTTÉ

**Composition du jury :**

Rapporteurs	Pr Gilles BOEUF	Université Pierre et Marie Curie, Banyuls
	Pr François LALLIER	Université Pierre et Marie Curie, Roscoff
Examineurs	Pr Charles-François BOUDOURESQUE	Université d'Aix-Marseille II, COM
	Pr Angela DOUGLAS	Université de York (Angleterre)
Directeur de thèse	Dr Sylvie TAMBUTTÉ	Centre Scientifique de Monaco

# RÉSUMÉ

Les récifs coralliens, majoritairement édifiés par les coraux Scléactiniaires, constituent la plus importante construction biologique à l'échelle mondiale. De nombreux coraux Scléactiniaires établissent une symbiose avec un Dinobionte photosynthétique. Cette symbiose est responsable, entre autres, d'une stimulation de la calcification des coraux en présence de lumière, phénomène décrit sous le terme anglais de "light-enhanced calcification" (LEC). Malgré de nombreuses recherches, les mécanismes responsables de la LEC restent méconnus. Ma thèse a consisté en l'étude de la calcification et du phénomène de LEC chez le corail *Stylophora pistillata* (Esper, 1797) en utilisant une double approche physiologique et moléculaire.

Par une approche physiologique, nous avons caractérisé le phénomène de LEC chez cette espèce, montré qu'il est exclusivement dépendant du paramètre lumineux, et qu'une trentaine de minutes est nécessaire pour passer graduellement d'un taux de calcification à l'autre. Des informations ont également été apportées sur la chronologie de réponse du paramètre LEC au blanchissement des coraux.

Par une approche moléculaire, nous avons caractérisé une anhydrase carbonique chez *S. pistillata* et montré que cette enzyme était sécrétée par l'épithélium responsable de la précipitation du squelette. Nous suggérons que cette enzyme est impliquée dans l'apport de bicarbonate pour la calcification. Une étude de l'expression de ce gène ainsi que d'autres gènes impliqués dans les transports ioniques a été réalisée entre le jour et la nuit afin de déterminer leur éventuel rôle dans la LEC. Le gène codant pour l'anhydrase carbonique présente la nuit une expression supérieure d'un facteur 2 par rapport au jour. Nous proposons que cette surexpression la nuit permet d'optimiser l'apport de bicarbonate au niveau du site de calcification dans un milieu devenu acide. Cette étude a nécessité une mise au point de la technique de PCR quantitative qui est actuellement utilisée pour une étude à plus grande échelle de l'expression des gènes entre le jour et la nuit. Celle-ci permettra d'isoler des gènes impliqués dans la calcification et dont l'expression varie entre le jour et la nuit.

**Mots clés :** Scléactiniaires, *Stylophora pistillata*, calcification, symbiose, "light-enhanced calcification" (LEC), anhydrase carbonique, expression différentielle de gènes, PCR quantitative.

# ABSTRACT

Scleractinian corals are the main calcifying organisms of coral reefs. Most scleractinian corals establish a symbiotic relationship with phototrophic Dinoflagellates. This symbiosis is responsible for the stimulation of coral calcification by light, a phenomenon called "light enhanced calcification" (LEC). Despite numerous studies performed on this subject, the mechanisms linking photosynthesis of the symbionts to coral calcification remain largely unknown. The aim of the present work is to gain a better understanding of the calcification process and of the "light-enhanced calcification" phenomenon in the scleractinian coral *Stylophora pistillata* (Esper, 1797), using both physiological and molecular approaches.

Using the physiological approach, we characterized the LEC phenomenon in *S. pistillata* and we showed that it is not regulated by an endogenous circadian rhythm but is only due to light changes. We determined that 25 to 30 minutes are necessary to change the calcification rate between light and dark conditions. We also brought some information on the chronological response of the LEC parameter to a stress episode that occurred in our aquaria, and which leads to a severe bleaching event.

Using a molecular approach, we cloned a carbonic anhydrase in *S. pistillata*, and have found that this enzyme is secreted by the calcifying ectoderm. We therefore suggested that this enzyme is involved in bicarbonate supply for calcification needs. Differential expressions of carbonic anhydrase gene and other genes involved in ions transport were performed by real-time PCR. Results showed that the carbonic anhydrase gene was two-fold expressed in the dark compared to the light. We suggested that the carbonic anhydrase gene was up-regulated during the dark in order to optimize bicarbonate supply in a dark-induced acidic medium. The adaptation of the real-time PCR technique to corals is presently used for differential gene expression between day and night in order to isolate genes involved in the coral calcification process and whose expression vary between light and dark.

**Key words:** Scleractinian, *Stylophora pistillata*, calcification, symbiosis, light-enhanced calcification (LEC), carbonic anhydrase, differential expression of genes, real-time PCR.