



HAL
open science

Étude de la ressource en éponge *Dactylospongia metachromia* pour une production durable

Mathilde Maslin

► **To cite this version:**

Mathilde Maslin. Étude de la ressource en éponge *Dactylospongia metachromia* pour une production durable. Chimie thérapeutique. Université de la Polynésie française, 2022. Français. NNT: . tel-03762280

HAL Id: tel-03762280

<https://hal.science/tel-03762280v1>

Submitted on 26 Aug 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.



UNIVERSITÉ DE LA POLYNÉSIE FRANÇAISE
ÉCOLE DOCTORALE DU PACIFIQUE
ED 469

UMR 241 EIO

THÈSE

présentée et soutenue publiquement par

Mathilde MASLIN

le 29 avril 2022

en vue de l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de Polynésie française en

Département : **Sciences, technologies et santé**

Discipline : **Chimie organique, minérale et industrielle (Domaine CNU N° 32)**

Spécialité : **Chimie des substances naturelles**

**ÉTUDE DE LA RESSOURCE EN ÉPONGE DACTYLOSPONGIA
METACHROMIA POUR UNE PRODUCTION DURABLE**

Sous la direction de : Raimana HO et Nicole J. DE VOOGD

JURY

Thierry BENVENU , Professeur des Universités École Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, CNRS UMR 6226	Rapporteur
Pierre LABROSSE , Directeur de Recherche Centre IFREMER Atlantique, Nantes	Rapporteur
Phila RAHARIVELOMANANA , Professeur des Universités Université de la Polynésie française, UMR 241 EIO	Examineur
Nicole J. DE VOOGD , Professeur des Universités Naturalis Biodiversity Center, CML, Leiden University	Co-directrice de thèse
Raimana HO , Maître de conférences, HDR Université de la Polynésie française, UMR 241 EIO	Directeur de thèse

Résumé

L'éponge marine *Dactylospongia metachromia* est l'objet d'études chimiques visant la valorisation pharmaceutique des métabolites secondaires qu'elle produit, notamment l'ilimaquinone et la 5-épiilimaquinone. Elle a été cultivée pendant 18 mois sur des structures immergées, à la fois en milieu récifal où elle est naturellement présente et également dans le lagon de Rangiroa, le plus vaste atoll de l'archipel des Tuamotu en Polynésie française. Les résultats obtenus montrent que le système de production aquacole retenu est à la fois durable, rapide d'installation et d'entretien de même qu'économiquement compétitif. Le suivi des nouvelles générations d'explants issus de spécimens sauvages a démontré une très forte variabilité intraspécifique au regard des performances de culture (i.e. croissance et survie) pour cette éponge, de même que certaines disparités temporelles et spatiales. Les analyses spatio-temporelles de plusieurs paramètres environnementaux ont fait ressortir leur implication, parfois conjointe, à des échelles locales, régionales et internationales. Les deux molécules ciblées pour l'extraction se sont révélés être présentes en ratios très hétérogènes selon les explants, mais en quantités non dissemblables en fonction du temps de mise en culture. Enfin, une forte activité bactéricide a pu être démontrée pour ces deux composés contre une espèce de pathogène marin néfaste au développement de la pisciculture en Polynésie française.

Mots-clés : aquaculture, éponge marine, métabolites secondaires, Polynésie française

Abstract

The marine sponge *Dactylospongia metachromia* produces several secondary metabolites aimed to be exploited in the pharmaceutical industry, in particular ilimaquinone and 5-epi-ilimaquinone. The species was cultivated for 18 months on submerged structures, both in the barrier reef where it is naturally found and within the lagoon of Rangiroa, the largest atoll of the Tuamotu archipelago in French Polynesia. The results revealed that the aquaculture production system employed is both sustained, rapid to install and maintain as well as economically relevant. The monitoring of new sponge generations from wild specimens demonstrated a very high intraspecific variability with regard to farming performances (i.e. growth and survival) for this sponge, along with some temporal and spatial divergences. Spatial and temporal analyses of several environmental parameters highlighted their involvement, sometimes interrelated, at local, regional and international scales. The two molecules targeted occurred in very heterogeneous ratios within crude extracts depending on the explants, but in similar quantities over the farming process. Lastly, a strong bactericidal activity was evidenced for these two compounds against a species of harmful marine pathogen strongly limiting the development of fish farming in French Polynesia.

Keywords : aquaculture, marine sponge, secondary metabolites, French Polynesia

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES.....	7
GLOSSAIRE.....	13
REMERCIEMENTS.....	14
PUBLICATIONS ET TRAVAUX SCIENTIFIQUES.....	17
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	19
CHAPITRE I : ÉTAT DE L'ART.....	21
Introduction du chapitre	22
L'aquaculture des éponges marines pour le développement de traitements médicamenteux : considérations et défis techniques, écologiques et chimiques.....	23
Conclusion du chapitre	43
CHAPITRE II : BIOLOGIE ET ÉCOLOGIE	45
Introduction du chapitre	46
I. Distribution et morphologie de l'espèce.....	46
I. 1. Distribution.....	46
I. 2. Aspect macroscopique.....	47
I. 3. Composition du squelette	49
II. Phylogénie.....	50
II. 1. Matériels et Méthodes	51
II. 2. Résultats et Discussion.....	51
III. Système de filtration	54
III. 1. Généralités	54
III. 2. Capacité de filtration <i>in situ</i>	55
III. 2. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	55
III. 2. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	55
IV. Alimentation phytoplanctonique.....	56
IV. 1. Matériels et Méthodes.....	57
IV. 2. Résultats et Discussion	59
V. Relations trophiques	62

V. 1. Observations macroscopiques	62
V. 2. Étude du microbiote procaryote	64
V. 2. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	64
V. 2. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	65
VI. Acquisition de données biométriques	70
VI. 1. Matériels et Méthodes	70
VI. 2. Résultats et Discussion	71
Conclusion du chapitre	73
1. Répartition et adaptation	73
2. Morpho-anatomie et relations biotiques	74
3. Écophysiologie	75
4. Biomasse	76
CHAPITRE III : MISE EN CULTURE	78
Introduction du chapitre	79
I. Localisation géographique de l'étude	80
I. 1. Atoll de Rangiroa	80
I. 2. Sites de culture	81
I. 3. Représentations sociales partielles	81
II. Méthodes de suivi : survie et croissance	84
III. Tests préliminaires <i>in situ</i>	85
III. 1. Profondeur	85
III. 1. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	85
III. 1. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	86
III. 2. Matériaux de support	88
III. 2. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	88
III. 2. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	89
IV. Infrastructures aquacoles permanentes	90
IV. 1. Plan d'échantillonnage des éponges-mères	91
IV. 2. Plan d'échantillonnage des explants	92
IV. 3. Résultats et Discussion : survie	93
IV. 3. 1. <i>Éponges-mères</i>	93
IV. 3. 2. <i>Explants</i>	94

IV. 4. Résultats et Discussion : croissance	96
Conclusion du chapitre	97
1. Pertinence du système aquacole.....	97
2. Performances de culture de l'espèce	98
3. Vulnérabilité et leviers d'action face aux risques	99
4. Perspectives d'amélioration	100
 CHAPITRE IV : ÉTUDE DU BIOTOPE.....	 101
Introduction du chapitre	102
I. Analyse du contenu des prélèvements d'eau	102
I. 1. Phytoplancton et bactéries	103
I. 1. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	103
I. 1. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	103
I. 2. Sels nutritifs.....	106
I. 2. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	106
I. 2. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	106
I. 3. Chlorophylle a	111
I. 3. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	111
I. 3. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	112
II. Suivi des données abiotiques <i>in situ</i>.....	116
II. 1. Courant	116
II. 1. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	116
II. 1. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	116
II. 2. Lumière	118
II. 2. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	118
II. 2. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	119
II. 3. Température.....	120
II. 3. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	120
II. 3. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	120
II. 4. Mesures complémentaires : oxygène, salinité, solides dissous, pH.....	121
II. 4. 1. <i>Matériels et Méthodes</i>	122
II. 4. 2. <i>Résultats et Discussion</i>	122
III. Corrélations avec la survie et la croissance	127

III. 1. Survie	127
III. 2. Croissance	129
III. 3. Visualisation par analyse multivariée	132
Conclusion du chapitre	134
CHAPITRE V : ÉTUDE DU POTENTIEL CHIMIQUE.....	136
Introduction du chapitre	1027
I. Extraction des métabolites secondaires	1028
II. Détermination des rapports diastéréoisomères.....	10240
II. 1. Matériels et Méthodes	140
II. 2. Résultats et Discussion.....	141
III. Teneurs en métabolites dans les extraits.....	142
III. 1. Matériels et Méthodes.....	142
III. 2. Résultats et Discussion	144
IV. Corrélations aquacoles et environnementales	145
IV. 1. Concordance des profils de bioactivité avec la survie et la croissance	145
IV. 2. Concordance des profils de bioactivité avec l'environnement	148
V. Inhibition du quorum sensing de pathogènes marins.....	150
V. 1. Matériels et Méthodes	151
V. 1. Résultats et Discussion.....	153
V. 1. 1. <i>Tests en milieu solide</i>	153
V. 1. 1. <i>Tests en milieu liquide</i>	154
Conclusion du chapitre	158
CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES.....	161
RÉFÉRENCES.....	170
ANNEXES.....	200

LISTE DES FIGURES

PHOTOS

Photo 1. Un spécimen sauvage de <i>Dactylosporgia metachromia</i> sur la barrière externe de Rangiroa (Polynésie française).	46
Photo 2. Tapis de <i>Dactylosporgia metachromia</i> découverts dans la passe de Tiputa (intervalle de profondeur estimé entre 15 et 25 m de fond).	48
Photo 3. Variation de couleur du pinacoderme retrouvé jaune chez des individus cultivés à Rangiroa et présentant un aspect encrassé ou dégradé.	49
Photo 4. Détail du pinacoderme de <i>Dactylosporgia metachromia</i> figurant les oscules sommitaux et de nombreuses conules.	49
Photo 5. Détails du réseau de fibres de spongine de spécimens de <i>Dactylosporgia metachromia</i> collectés à Rangiroa. Observation au microscope optique (A, modèle Leica DM5500 B équipé avec un appareil photo Leica DFC320) et au microscope électronique à balayage (B, modèle JEOL JSM-6480LV). ..	50
Photo 6. Spécimens d'éponges possiblement identifiés comme <i>Smenospongia</i> sp. et photographiés aux Bahamas (île de San Salvador). La très forte ressemblance morphologique avec <i>Dactylosporgia metachromia</i> vient conforter les résultats barcoding obtenus de genres étroitement apparentés.	52
Photo 7. Détails des oscules sur les crêtes sommitales de <i>Dactylosporgia metachromia</i>	54
Photo 8. <i>Dactylosporgia metachromia</i> en association avec l'éponge noire <i>Haliclona</i> sp. et l'algue calcaire <i>Halimeda</i> sp.	63
Photo 9. Ophiure (A) et crustacé (B) commensaux collectés dans le choanosome de <i>Dactylosporgia metachromia</i>	64
Photo 10. Dégradation apparente de l'une des structures (gauche) et aspect d'un explant mal régénéré (droite) au site de Gauguin Sud.	88
Photo 11. Suivi des explants lors des tests d'adhésion aux matériaux après 3 mois (A, B) et 27 mois (C, D) d'installation. Les aspects diffèrent fortement entre le serrage au collier Colson (A, C) et l'emploi du nylon (B, D).	90
Photo 12. Un individu sauvage excisé de <i>Dactylosporgia metachromia</i> (gauche) et l'installation des explants découpés sur une table de culture de la barrière récifale (droite).	92
Photo 13. Préparation des extraits bruts d'échantillons de <i>Dactylosporgia metachromia</i> collectés à Rangiroa.	139
Photo 14. Plaque CCM figurant l'analyse qualitative de trois extraits (notés 18, 11 et 5) par comparaison avec les standards de l'ilimaquinone (notée I) et de la 5-épiilimaquinone (notée E) à la fois seuls et combinés.	140
Photo 15. Résultats des tests en milieu solide 72 h après étalement sur boîte de Pétri du produit P1 à 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (gauche) et 5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (droite) en présence de la souche TFA4 (sérotipe O3) du pathogène <i>Tenacibaculum maritimum</i>	154

FIGURES

- Figure 1.** Cartographie de la distribution de l'éponge *Dactylospongia metachromia*. Établie d'après les données et références disponibles sur les bases de données WoRMS et World Porifera Database et étoffée par de la littérature scientifique. 47
- Figure 2.** Arbre phylogénétique figurant plusieurs Thorectidae et reconstruit d'après les résultats du marqueur moléculaire COI. Les quatre échantillons provenant de Polynésie française sont indiqués en gras selon la nomenclature suivante : MAK (Makemo, Tuamotu), MAN (Mangareva, Gambier), RAR (Raroia, Tuamotu) et TI (Rangiroa, Tuamotu). Les probabilités renvoyées par les programmes MrBayes (échelle de 0 à 1) et PhyML (échelle de 0 à 100) sont indiquées à chaque embranchement. 52
- Figure 3.** Arbre phylogénétique de l'espèce *Dactylospongia metachromia* reconstruit d'après les résultats du marqueur ADNr 28S. Les quinze échantillons provenant de Polynésie française sont indiqués selon la nomenclature suivante : MAK (Makemo, Tuamotu), MAN (Mangareva, Gambier), RAR (Raroia, Tuamotu), AV/TI (Rangiroa, Tuamotu), TEM (Tematangi, Tuamotu) et TET (Tetiaroa, Société). Les valeurs de probabilités renvoyées par le programme MrBayes (échelle de 0 à 1) sont indiquées à chaque embranchement. 53
- Figure 4.** Mesure de la vitesse d'exhalation de *Dactylospongia metachromia* effectuée grâce au logiciel Tracker. 55
- Figure 5.** Localisation des six sites de prélèvement dans les archipels de la Société, des Tuamotu et des Gambier. 57
- Figure 6.** Exemples de cytogrammes pour l'atoll de Raroia (Tuamotu) avec le détail des populations picoplanctoniques de *Synechococcus* et de *Prochlorococcus* aux siphons inhalant (gauche) et exhalant (droite). 58
- Figure 7.** Comparaison des valeurs moyennes de l'abondance totale en organismes planctoniques picoeucaryotes (A) et picoprocaryotes (B) dans les eaux inhalées et exhalées de spécimens de *Dactylospongia metachromia* pour six îles différentes de Polynésie française. 59
- Figure 8.** Taux de rétention R (%) en picoeucaryotes et picoprocaryotes dans les six îles étudiées (TET = Tetiaroa, RAN = Rangiroa, RAR = Raroia, HER = Hereheretue, TEM = Tematangi, MAN = Mangareva). Chaque unité constituée de deux barres consécutives (grise et noire) représente un individu échantillonné. 61
- Figure 9.** Composition de la communauté procaryotique (à l'échelle du genre) des échantillons de *Dactylospongia metachromia* associés à l'étude biogéographique de l'holobionte. « Other » correspond au regroupement de toutes les familles comptant pour moins de 2 % du total des ASVs. Les sites de culture de l'atoll de Rangiroa sont mis en évidence à l'aide d'un rectangle rouge par rapport au reste de la Polynésie française. 66
- Figure 10.** Indices d' α -diversité de Shannon et de Chao1 relatifs à la communauté procaryotique des échantillons de *Dactylospongia metachromia* associés à l'étude biogéographique de l'holobionte. Les sites de culture de l'atoll de Rangiroa sont mis en évidence à l'aide d'un rectangle rouge par rapport au reste de la Polynésie française. 68
- Figure 11.** Matrice de β -diversité de la communauté procaryotique des échantillons de *Dactylospongia metachromia* associés à l'étude biogéographique de l'holobionte. Les couleurs et les formes correspondent respectivement aux sites d'échantillonnage et aux régions géographiques. L'atoll de Rangiroa est mis en évidence à l'aide d'un polygone par rapport au reste de la Polynésie française. ..69
- Figure 12.** Indices d' α -diversité de la communauté procaryotique des échantillons de *Dactylospongia metachromia* associées aux temps de mise en culture des explants sur le récif de l'atoll de Rangiroa. Un témoin sauvage (« noté Wild ») est représenté en bleu, tandis que les échantillons allant de T1 à T4 correspondent aux périodes d'échantillonnage de septembre 2020, décembre 2020, mars 2021 et mai 2021, respectivement. 70

Figure 13. Corrélations des métriques de la biomasse pour les échantillons de <i>Dactylospongia metachromia</i> . Les lignes de régression et leurs équations sont affichées.	72
Figure 14. Changements saisonniers dans la teneur moyenne en eau, exprimée en pourcentage du poids frais, d'échantillons de <i>Dactylospongia metachromia</i> récoltés à différentes périodes de l'année.	73
Figure 15. Carte de l'atoll de Rangiroa figurant les deux passes d'Avatoru et de Tiputa.	80
Figure 16. Exemples de commentaires issus des entretiens.	833
Figure 17. Carte bathymétrique de la position des sites Gauguin Nord et Gauguin Sud (versant Nord de Rangiroa).	85
Figure 18. Schéma des installations temporaires des sites Gauguin Sud (gauche et milieu) et Gauguin Nord (droite).	86
Figure 19. Schéma de l'un des transects utilisés pour les tests d'adhérence au site de Tiputa.	89
Figure 20. Schéma de l'une des installation aquacoles mises en place sur la barrière externe.	91
Figure 21. Taux de survie moyens (%) des explants pour chaque site de culture par rapport à leur installation initiale.	94
Figure 22. Effectifs cumulés (%) des explants vivants et morts à chaque site de culture à la fin des 18 mois de la période de suivi.	95
Figure 23. Effectifs cumulés (%) des explants vivants et morts à chaque période du suivi temporel pour l'ensemble des quatre sites de culture retenus.	96
Figure 24. Volumes moyens (cm ³) des explants pour chaque site de culture par rapport à leur installation initiale.	97
Figure 25. Différences significatives entre les sites de l'étude pour les concentrations (cellules·mL ⁻¹) en organismes phytoplanctoniques picoprocaryotes. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.	104
Figure 26. Évolution temporelle des teneurs en phytoplancton eucaryote pour les milieux récifal (A) et lagunaire (B) (cellules·mL ⁻¹) sur l'atoll de Rangiroa de février 2019 à mars 2021.	105
Figure 27. Différences significatives entre les sites de l'étude pour les teneurs (µM) de phosphates (A) et d'oxydes d'azote (B) dans l'eau échantillonnée. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.	107
Figure 28. Différences significatives entre les différents mois de suivi des teneurs (µM) de phosphates (A) et d'oxydes d'azote (B) dans l'eau échantillonnée. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.	108
Figure 29. Différences significatives entre les différentes années de suivi des teneurs (µM) d'oxydes d'azote (A) et d'acide orthosilicique (B) dans l'eau échantillonnée. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.	109
Figure 30. Interaction entre les concentrations en phytoplancton (cellules·mL ⁻¹) et les teneurs en phosphates (A) et oxydes d'azote (B) (µM) pour chaque année de mise en culture des éponges.	111
Figure 31. Différences significatives entre les sites de l'étude pour les concentrations en chlorophylle a (µg·L ⁻¹) dans l'eau échantillonnée. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.	113
Figure 32. Évolution temporelle des teneurs en chlorophylle a (µg·L ⁻¹) pour les milieux récifal et lagunaire de l'atoll de Rangiroa de février 2019 à mai 2021.	114
Figure 33. Interaction entre les concentrations en chlorophylle a (µg·L ⁻¹) et en phytoplancton (cellules·mL ⁻¹) pour chaque année de mise en culture des éponges.	97
Figure 34. Vitesse et direction du courant aux quatre sites de culture. Les valeurs sont rassemblées selon les axes de direction NS et WE et des arcs de fréquence (%). Une cartographie satellites des abords du site est représentée sur chaque graphique de même que les échelles de vitesse des flux (m·s ⁻¹).	117
Figure 35. Différences significatives entre les sites de l'étude pour l'intensité lumineuse journalière (lux). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.	119

Figure 36. Températures (°C) enregistrées aux quatre sites de culture entre les mois de septembre 2019 et mai 2021.	121
Figure 37. Évolution de l'oxygène dissous (histogramme, mg·L ⁻¹) et de la salinité (courbes, PSU) dans l'eau de mer du récif barrière et du lagon de Rangiroa entre septembre 2019 et mai 2021.	123
Figure 38. Différences significatives entre les différentes années de suivi de la salinité (PSU). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.	124
Figure 39. Évolution des solides dissous totaux (mg·L ⁻¹) dans l'eau de mer du récif barrière et du lagon de Rangiroa entre septembre 2019 et mai 2021.	125
Figure 40. Différences significatives entre les différentes années de suivi des solides dissous totaux (mg·L ⁻¹). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.	125
Figure 41. Différences significatives entre les différents sites de l'étude pour les valeurs du pH. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.	127
Figure 42. Pourcentages relatifs aux effectifs cumulés des explants vivants et morts pour chaque année de culture pour l'ensemble des 4 sites de culture retenus.	128
Figure 43. Interaction entre la vitesse du courant (m·s ⁻¹) et la survie (% d'explants vivants) pour chaque année de mise en culture des éponges.	129
Figure 44. Volumes moyens (cm ³) des explants pendant la période d'aquaculture (septembre 2019 - mai 2021).	130
Figure 45. Différences significatives entre les volumes des explants pour l'ensemble des sites en 2019 (A) et 2020 (B). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.	131
Figure 46. Cercle des corrélations obtenu suite à une analyse en composante principale effectuée sur les variables ayant précédemment renvoyé des disparités spatio-temporelles significatives.	133
Figure 47. Corrélations positives (échelle de bleu) ou négatives (échelle de rouge) des variables de l'analyse en composante principale entre elles.	133
Figure 48. Structures moléculaires de l'ilimaquinone (gauche) et de la 5-épiilimaquinone (droite)...	137
Figure 49. Spectre RMN ¹ H d'un échantillon d'éponge-mère collecté à Rangiroa (site du Lagon 1) en mars 2019. Le ratio ilimaquinone / 5-épiilimaquinone de cet extrait est de 0.75.	141
Figure 50. Rapports ilimaquinone / 5-épiilimaquinone des extraits au stade de 6 mois de culture faisant figurer une différence significative entre les sites de Tiputa et d'Avatoru.	142
Figure 51. Chromatogramme obtenu par analyse HPLC d'un extrait AcOEt d'éponge dont le ratio ilimaquinone / 5-épiilimaquinone s'élève à 79 %.	143
Figure 52. Courbes de dosage de l'ilimaquinone (bleu) et de la 5-épiilimaquinone (orange) obtenues après régression linéaire.	143
Figure 53. Concentrations moyennes (mg·g ⁻¹) des teneurs en métabolites d'intérêt (ilimaquinone et 5-épiilimaquinone) dans les extraits d'éponge pour les 4 sites d'étude au cours du processus de mise en culture.	144
Figure 54. Corrélation entre les moyennes des taux de survie (%) et de la teneur en métabolites secondaires (mg·g ⁻¹) des explants aux différents stades de culture.	146
Figure 55. Corrélation entre les moyennes des volumes (cm ³) et de la teneur en métabolites secondaires (mg·g ⁻¹) des explants aux différents stades de culture..	147
Figure 56. Différences significatives entre les différents mois (A) et années (B) de suivi quant à la somme des deux métabolites secondaires d'intérêt (mg·g ⁻¹) dans les extraits d'éponge. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.	149
Figure 57. évolution temporelle de la teneur en composés bioactifs (somme de l'ilimaquinone et de la 5-épiilimaquinone) dans les extraits (mg·g ⁻¹) en fonction des concentrations en chlorophylle a (µg·L ⁻¹) dans le milieu.	150
Figure 58. Effets des standards ilimaquinone (S1) et 5-épiilimaquinone (S2) sur la luminescence de la bactérie <i>Vibrio harveyi</i> (souche BB120). R1 = réplica 1 et R2 = réplica 2.....	155

Figure 59. Effets antibiotiques de deux produits (extraits 3 et 5) sur l'absorbance de quatre pathogènes distincts à $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (A = *Tenacibaculum maritimum* souche-type NCIMB 2158 ; B = *Tenacibaculum mesophyllum* souche Aq9-67 ; C = *Tenacibaculum* sp. souche non décrite (New_T_3) ; D = *Vibrio harveyi* souche BB120). R1 = réplica 1 et R2 = réplica 2. 156

Figure 60. Effets antibiotiques de quatre produits (standards 1 et 2 et extraits 2 et 3) sur l'absorbance de la souche TFA4 (sérotipe O3) de *Tenacibaculum maritimum* à 2.5 et 1.25 ppm. 157

Figure 61. Différence significative entre les intercepts à l'origine de l'absorbance à 340 nm pour la souche TFA4 additionnée du produit P3 à 1.25 ppm (gauche) comparé à la même souche bactérienne seule (droite). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.. 158

TABLEAUX

Tableau I. Caractéristiques des six îles où l'échantillonnage a été effectué. 57

Tableau II. Bilan des analyses statistiques significatives effectuées sur les populations picoprocaryotes pour la comparaison des sites d'échantillonnage. Les *p-values* sont issues de la correction post-hoc de Dunn-Bonferroni suite au test de Kruskal-Wallis. 60

Tableau III. Microbiote « core » de la communauté procaryotique de *Dactylosporgia metachromia*. Les « NA » signifient une absence d'identification aux rangs concernés. 67

Tableau IV. Description des quatre sites d'étude choisis pour les essais de spongiculture sur l'atoll de Rangiroa. 81

Tableau V. Résultats de l'enquête sociologique réalisée sur un échantillon de la population de Rangiroa en février 2021. 82

Tableau VI. Résultats des tests de profondeur effectués dans le lagon de Rangiroa de novembre 2018 à mai 2019. Les taux de survie et les volumes (moyenne \pm SD) sont donnés après 3 et 6 mois d'aquaculture. Le nombre d'explants restants est indiqué en italique. Le volume moyen initial à l'installation a été estimé à 32 cm^3 ($4 * 4 * 2 \text{ cm}$) pour tous les explants. 86

Tableau VII. Évolution des effectifs relatifs aux explants toujours en place (ligne du haut) et disparus (ligne du bas) après 3, 6, 12 et 18 mois d'aquaculture aux quatre sites d'étude retenus. 94

Tableau VIII. Concentrations moyennes (cellules $\cdot\text{mL}^{-1}$) en organismes picoeucaryotes et picoprocaryotes dans les eaux échantillonnées à chacun des 4 sites de l'étude de février 2019 à février 2021 (moyennes \pm SD). 103

Tableau IX. Concentrations moyennes (μM) en phosphates, oxydes d'azote et silicates dans les eaux échantillonnées pour chaque type de biotope de septembre 2019 à mai 2021 (moyennes \pm SD). 106

Tableau X. Concentrations moyennes ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) en chlorophylle a dans les eaux échantillonnées à chacun des quatre sites de l'étude de février 2019 à mai 2021 (moyennes \pm SD). 113

Tableau XI. Moyenne du pH pour les quatre sites d'étude aux deux périodes de suivi du premier semestre 2021. 126

Tableau XII. Bilan comparatif des performances de survie au regard des divergences temporelles et spatiales des paramètres environnementaux d'après les résultats de l'étude. 128

Tableau XIII. Bilan comparatif des performances de croissance au regard des divergences temporelles et spatiales des paramètres environnementaux d'après les résultats de l'étude. La ligne en italique indique une forte tendance observée mais non significative. 132

Tableau XIV. Rapports diastéréoisomères entre l'ilimaquinone et la 5-épiilimaquinone, exprimés en % d'ilimaquinone (moyenne \pm écart-type), établis sur des extraits de *Dactylosporgia metachromia* issus des quatre sites de culture de Rangiroa par RMN ^1H pour chacun des deux composés. Les données manquantes font références à des résultats relatifs à un seul explant survivant et n'ont donc pas été compatibles dans l'analyse. 141

Tableau XV. Liste des produits testés avec leurs concentrations en métabolites secondaires. 151

Tableau XVI. Liste des espèces et souches bactériennes testées (T = souche-type). Les souches surlignées en jaune sont des souches virulentes (pour *Tenacibaculum maritimum*) ou associées aux épisodes de ténacibaculose (pour *Vibrio harveyi*) ayant été isolées en Polynésie française chez le *Platax orbicularis*. Les souches grisées non pathogènes du genre *Tenacibaculum* ont également été isolées en Polynésie française chez ce même poisson d'élevage. Toutes les autres souches non surlignées sont des souches de référence. 152

ANNEXES

Annexe 1. Diamètre des fibres de spongine d'échantillons de <i>Dactylospongia metachromia</i> selon différentes localités en Polynésie française.	200
Annexe 2. Liste des échantillons employés pour l'étude barcoding (marqueur COI) de l'espèce <i>Dactylospongia metachromia</i> . DM = <i>Dactylospongia metachromia</i> , DE = <i>Dactylospongia elegans</i> , Dsp. = <i>Dactylospongia</i> sp.	200
Annexe 3. Relation entre le nombre d'oscules visibles et la surface du pinacoderme correspondante (n = 25).	20197
Annexe 4. Mise en évidence du pompage actif de l'éponge <i>Dactylospongia metachromia</i> à l'aide d'un colorant à la fluorescéine (A) et prélèvement d'eau exhalée à la sortie d'un oscule (B).	201
Annexe 5. Trame de l'enquête sociologique menée à Rangiroa.	202
Annexe 6. Relation entre le volume calculé d'après des photos à l'échelle (cm ³) et le volume mesuré à l'éprouvette graduée.	203
Annexe 7. Gemmules de croissance indiquées par des cercles blancs) sur des explants en dégénérescence au site du Lagon 2 (mars 2021).	203
Annexe 8. Températures journalières (°C) au site d'Avatoru entre mars et mai 2021.	204
Annexe 9. Températures journalières (°C) au site du Lagon 1 entre mars et mai 2021.	205
Annexe 10. Voie de biosynthèse proposée pour l'ilimaquinone et la 5-épiilimaquinone (d'après Boufridi <i>et al.</i> , 2017).	206

GLOSSAIRE

α -diversité : aussi appelée richesse spécifique locale ou « diversité intrazone », la diversité alpha indique le nombre d'espèces présentes à un temps et dans un milieu uniforme donnés.

β -diversité : également connue comme « diversité interzone », la diversité bêta représente la différenciation des espèces entre plusieurs habitats d'une zone géographique donnée. Elle permet de comparer deux sites en évaluant le rapport entre les espèces s'y retrouvant communément et celles propres à chacun.

Bioremédiation : méthode d'assainissement biologique *in situ* de milieux pollués, également citée comme procédé de « décontamination par le vivant ».

« **El Niño Southern Oscillation** » (ENSO) : phénomène saisonnier global d'oscillation australe des courants océaniques, provoqué par le renversement de la circulation des vents dans le Pacifique sud. Il entraîne des anomalies positives (phase El Niño) ou négatives (phase La Niña) des températures de surface des océans, engendrant des répercussions climatiques et environnementales à l'échelle planétaire.

Encrassement biologique : connu en anglais sous le terme de « biofouling », le bio-encrassement définit la formation indésirable d'êtres vivants sur une surface partiellement ou totalement immergée. Lorsqu'il s'agit d'infrastructures artificielles, cet envahissement est susceptible d'engendrer des dégâts matériels considérables sur le long terme.

Explant : fragment extrait d'un animal vivant et susceptible de donner à son tour naissance à un nouvel organisme.

Holobionte : entité regroupant à la fois un organisme-hôte et l'ensemble des communautés microbiennes (ou « microbiote ») qui lui sont associées et avec lesquelles il entretient de multiples interactions (nutrition, immunité, etc).

Métabolites secondaires : composés chimiques non indispensables au métabolisme de base (croissance, reproduction, respiration) de l'organisme qui les génère. Leurs rôles sont variés et peuvent concerner des mécanismes de défense, d'attraction ou encore de communication.

Microbiote « core » : noyau phylogénétique de micro-organismes communs chez différents individus, ciblant généralement les bactéries présentes dans au moins 50 % des échantillons.

Organisme commensal : être vivant colonisant un organisme-hôte qui lui bénéficie sans pour autant que sa présence ne cause de dommages à ce dernier.

Quorum sensing : détection de molécules-signal (ou « autoinducteurs ») par des bactéries, leur permettant d'appréhender leur abondance au sein d'un hôte et d'ajuster ainsi leur virulence.

Variants de séquences d'amplicons (ASVs) : séquences d'ADN uniques récupérées suite à l'analyse de marqueurs génétiques et après l'élimination des erreurs de séquençage.

REMERCIEMENTS

Une thèse, 3 ans (et quelques) ... et tant de monde à remercier !

En premier lieu, je tiens à exprimer mes vifs remerciements aux rapporteurs, le Dr. **Pierre LABROSSE** et le Prof. **Thierry BENVENU**, pour leurs précieuses relectures et les enrichissements qu'ils m'ont permis d'apporter au manuscrit. Une profonde reconnaissance également au Prof. **Phila RAHARIVELOMANANA** qui m'a fait l'honneur d'assister et de présider ma soutenance de thèse. Merci également au Prof. **Nabila GAERTNER-MAZOUNI** pour les commentaires apportés au manuscrit en vue de son amélioration et pour son appui durant la réalisation des différentes étapes de mon doctorat.

Ensuite, merci à l'**Université de la Polynésie française** pour cette formidable opportunité qu'elle m'a offerte. Merci au **Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche**, à la **Délégation à la Recherche de Polynésie française** et à la **Direction des Ressources Marines** pour avoir également supporté financièrement ce projet et, à travers lui, ma bourse de thèse. Un grand merci à toute l'**Unité Mixte de Recherche 241 EIO** pour m'avoir accueillie et fait une place dans ses locaux ces trois dernières années. Je veux exprimer ma gratitude aux tutelles, l'**Institut Louis Malardé** et l'**Ifremer**, et leurs responsables respectifs pour m'avoir dépanné en plusieurs occasions face à des imprévus techniques ou m'avoir permis de concrétiser de nouvelles expérimentations à leurs côtés. Merci notamment à **Mireille CHINAIN** pour la mise à disposition des lyophilisateurs, labos et autres aimables techniciens de l'ILM dans les premiers mois de la thèse.

Merci à l'École Doctorale du Pacifique et particulièrement à **Franck LUCAS** et **Tanoa URAEVA** pour les aides financières obtenues mais, surtout, pour votre dynamisme et votre capacité de remise en question qui vous honore. Cela a été un grand bonheur pour moi d'échanger avec vous et de pouvoir représenter les doctorants à diverses instances, notamment lors des conseils de l'ED en 2020 et 2021. J'en profite pour dire bravo aux autres membres de l'association PHD Fa'atoro, **Marotea**, **Vate** et **Lei**. Merci pour s'être épaulés dans cette aventure qui nous tenait tant à cœur et d'en avoir fait bénéficier les fruits à tous les doctorants du fenua. Et merci à **Christophe**, **Rodica**, **Vaea**, **Claire**, **Marie-Laure** pour ces belles formations et ces belles amitiés qui en ont découlé !

Merci à **Denis SAULNIER** pour les tests d'activité, un petit désidérata « microbiologique » par rapport au plan initial de la thèse que, grâce à toi, j'ai pu mener à bien ! Je te remercie également avec **Mélanie DROUÉ** pour vos conseils avisés, votre temps et votre compréhension lors des différents comités de suivi de thèse. Merci au personnel de l'IRD, notamment **Cécile DEBITUS** et **Sylvain PETEK**, pour m'avoir mise sur les rails, m'avoir impliquée d'entrée de jeu via une campagne océanographique mémorable et m'avoir invitée pour d'un séjour de recherche à Plouzané à la découverte de la RMN ! Dans un autre registre d'expérience à l'étranger, je tiens à remercier le Dr. **Novriyandi HANIF** et ses collègues du Bogor Agricultural University (Indonésie) pour leur aimable invitation lors de l'édition 2019 de l'*International Summer Course on Marine Natural Products*.

Merci à toute l'équipe de la DRM pour m'avoir tour à tour éclairé ou prêté main forte, **Georges REMOISSENET**, **Matangi MOEROA**, **Vetea LIAO** (pour tes supers courantomètres quand j'attendais d'avoir les miens), **Alain LO-YAT** (à qui je dois une fière chandelle pour le four et le fluorimètre), **Joseph CAMPANOZZI-TARAHU** (celui avec qui tout a commencé, au milieu des fers à bétons et en bleu de travail trois fois trop large).

Merci à **Raimana HO**, mon directeur pendant ces 3 ans. Je n'oublierai jamais ton expression quand, la fois où tu es venu à Rangî voir les travaux de terrain, nous sommes remontés à la surface en fin de plongée en t'annonçant qu'un énorme requin tigre nous avait salué là où à peine 3 minutes avant tu nageais tranquillement à la surface en PMT, tentant de nous apercevoir sous l'eau. Merci de m'avoir poussé à l'autonomie et de m'avoir laissé réellement porter et faire évoluer ce projet en me faisant confiance. Merci pour m'avoir soutenu dans mes différentes candidatures et responsabilités, que ce soit auprès de l'ED, dans les instances de l'UMR ou même pour de simples bourses de recherche. Merci également à ma co-directrice **Nicole DE VOOGD** pour cet excellent séjour au **Naturalis Biodiversity Center** et pour son encadrement, certes géographiquement éloigné, mais qui savait trouver sa place dans l'avancée des travaux.

À ceux qui ont eu la patience de supporter mes déconvenues, mes frustrations, mes hauts comme mes bas, ceux qui m'ont prêté une oreille attentive même quand les propos sortaient dans un ordre pas toujours cohérent du fait de l'émotivité. Bref, tous mes collègues de travail, doctorants bien sûr, mais aussi enseignants, et enfin de compte amis que je ne peux pas citer de manière exhaustive ici mais qui me pardonneront car ils savent la place essentielle qui leur est due. **Chloé**, **Nico**, **Tamatoa**, **Théo**, **André**, merci à vous pour votre amitié et votre ingéniosité face à d'épineuses interrogations techniques. La première team sous-sol du D052, **Kristelle**, **Hirohiti**, **Tohei**, **Raihei**, ceux arrivés par la suite, **Émilie**, **Tiare**, **Margot**, **Irène**, **Fanny**, **Jeremy**, **Charlotte**, **Pauline** et tous les autres bien sûr car il s'en est succédé, du monde ! Mais aussi ceux des autres laboratoires ou instances du campus. **Franco**, **Vate**, merci pour ces séances tea time sur le deck quand le cerveau menaçait d'entrer en ébullition. **Tohei**, merci pour les moments réconfortants, même quand c'est la nuit sur un parking dans une voiture (on mettra ça sur le compte de la beauté de la voûte céleste).

Je ne saurais bien entendu oublier mes plongeurs de choc, **Jonas**, **Nico**, **Tera**, **Julius**, **Marc-André**, **Marguerite** et **Fabien** ! Petit coucou à **Adeline** au passage (REDAME c'est le pied, hein ma belle ?). Bien sûr, dédicace à tous les excellents amis de Rangî qui sont à la longue devenus comme une famille, **Joseph**, **Vaea**, **Erena**, **Alda**, **Hiti**, **Loyna**, **Raita**... et la petite smala Jeandel, **Virginie**, **Jean-Marie** et **Moana**, que je suis tellement heureuse d'avoir rencontrée (le bob en jean de Djibout' est là pour en témoigner) au bout du monde. Merci à **Philippe CABRAL** de Gauguin's Pearl pour avoir accepté de nous laisser travailler sur ses concessions durant les premières missions de terrain concernant les essais préliminaires de culture. Merci aussi aux plongeurs **Jean-Marie GAYARD** et **Etienne GUITTON** d'avoir aidé au suivi des installations en période de pandémie.

Merci à toi **Jean-Yves**, il Padrinho, pour tes relectures et ton aide sur la rédaction mais également pour ta patience et ton écoute, surtout quand il s'agit de m'aérer l'esprit à coups de

randonnées escarpées sous la pluie ! Merci ma belle **Mahana** quand ces petites « aérations » deviennent aquatiques.

Merci infiniment **Victor LABRUNE** pour ton aide dans cette étape si cruciale des analyses statistiques ! Merci également à **Niels VAN DER WINDT** et à **Benoît PAIX** de Naturalis pour leurs coups de main respectifs (sur place et à distance) sur les données barcoding/métabarcoding.

Merci aux fameux amis de Polynésie, l'équipe de la **Bonne Nouvelle** au grand complet, **Julien, Jérôme, Charles, Joël, Lucie, Audrey, Heifara** et **Rachel, Raina, Ura, Fabien**, et tant d'autres ! Mes petits loustics de la presqu'île, **Maelenn, Maeva** et **Amélie. Pierre**, comment ne pas te citer, mon compagnon de galères, mon jumeau Robinson, toi avec qui tant de souvenirs se sont construits depuis notre arrivée au fenua. Ton amitié est pour toujours si précieuse, quel que soit le chemin qui nous attend à présent... Je n'oublie pas ceux repartis en cours de route mais qui ont énormément compté, **Claire, Seb, Bethsabée**. Ni ceux qui de par le monde m'encourageaient sans relâche, **Jacques, Lauralie, Anthony, Astrid**.

Dans le fond, à tous ceux qui, à l'UPF comme en-dehors, à un moment ou à un autre, m'ont simplement souri ou gentiment salué. Cela peut paraître anodin et vous ne le remarquez sans doute pas, mais pour moi vos sourires amicaux signifiaient beaucoup, en particulier quand la journée promettait d'être plutôt sombre.

À ma petite éponge, oui, parce que si je ne l'avais pas aimé dès notre première rencontre cela aurait été très compliqué pour les 9 missions et les journées/soirées/week-ends/vacances au labo qui m'attendaient ensuite !

Grosse pensée très tendre pour mon partenaire au squash comme dans la vie depuis maintenant plusieurs mois (tu vois mon cœur, je préserve ton absence de temporalité, héhéhé).

Enfin, une attention toute particulière pour la tribu **Maslin** à laquelle je suis fière d'appartenir et qui, même si elle ne saisissait pas forcément tout dans ces délires « spongiques », a une fois encore démontré tout son soutien et toute son affection. Une mention spéciale à la petite étoile rouge que je salue parfois le soir (en dépit des voisins qui me regardent bizarrement), mon Antares, celle qui m'a quitté en route et à qui je dédie ce travail, une grand-mère débordante d'amour qui me manque au quotidien. Je pensais m'arrêter là, mais la perte de mon autre grand-mère deux mois avant la soutenance me fait ici rajouter cette petite attention. Je vous aimais, je vous aime et je vous aimerai.

“L'avenir est entre les mains de ceux qui explorent... et de toute la beauté qu'ils découvrent en traversant des frontières toujours plus reculées, ils développent pour la nature et pour l'homme un amour infini.”

Jacques-Yves Cousteau (1910 - 1997)

PUBLICATIONS ET TRAVAUX SCIENTIFIQUES

ARTICLES PUBLIÉS OU SOUMIS DANS DES REVUES SCIENTIFIQUES

Maslin, M., Gaertner-Mazouni, N., Debitus, C., de Voogd, N. J., & Ho, R. (2021). Marine sponge aquaculture towards drug development: An ongoing history of technical, ecological, chemical considerations and challenges. *Aquaculture Reports*, 21, 100813.

COMMUNICATIONS ORALES

Maslin, M. (2019). La collaboration pluridisciplinaire comme outil d'aide à la réalisation de projets. Fête de la Science 2019. Université de la Polynésie française, Faa'a, Tahiti, 4 octobre 2019.

Maslin, M. (2020). Étude de la ressource en éponge marine *Dactylospongia metachromia* pour une production durable. Prix Europcar 2019 pour la Recherche. Consortium de Recherche RESIPOL. Université de la Polynésie française, Faa'a, Tahiti, janvier 2020.

Maslin, M. (2020). Aquaculture durable de l'éponge marine *Dactylospongia metachromia*. Concours national « Ma Thèse en 180 secondes ». Université de la Polynésie française, Faa'a, Tahiti, 11 mars 2020.

Maslin, M. Gaertner-Mazouni, N., Petek, S., Remoissenet, G., de Voogd, N. J., & Ho, R. (2021). Étude de la ressource, aquaculture durable et valorisation des stocks de l'éponge marine *Dactylospongia metachromia*. Doctoriales 2021 de l'Université de la Polynésie française. Faa'a, Tahiti, 2-3 juin 2021.

Maslin, M. (2021). Sustainable aquaculture and valorization of marine sponges in French Polynesia. 14th International Coral Reef Symposium (ICRS). Virtual edition, July 19-23, 2021.

Maslin, M. (2021). Un trésor sous la mer : ces molécules qui nous remplissent d'espoir. World Art Day - Exposition « Les peuples de l'eau ». Université de la Polynésie française, Faa'a, Tahiti, 2-3 juin 2021.

COMMUNICATION SOUS FORME D'AFFICHES (POSTERS)

Maslin, M., Gaertner-Mazouni, N., Debitus, C., Remoissenet, G., de Voogd, N. J., & Ho, R. (2019). « Étude de la ressource, aquaculture durable et valorisation des stocks de l'éponge marine *Dactylospongia metachromia* ». Doctoriales 2019 de l'Université de la Polynésie française. Faa'a, Tahiti, 13-15 mai 2019.

Maslin, M., Gaertner-Mazouni, N., Debitus, C., Remoissenet, G., de Voogd, N. J., & Ho, R. (2019). Resource study, sustainable aquaculture and valorization of the marine sponge *Dactylospongia metachromia*. 2nd International Summer Course On Marine Natural Products (ISCMPN). Bogor, Indonesia, August 7-14, 2019.

RAPPORTS DE MISSIONS

Debitus, C., Dumas, M., Bouvot, V., Butscher, J., Le Bec, T., **Maslin, M.** & Petek, S. (2019). « Rapport de la mission TUAM'2018 Polynésie française, archipel des Tuamotu-Gambiers N/O ALIS, 19/10/18 - 23/11/2018 ». Rapport pour l'Institut de Recherche pour le Développement, UMR LEMAR, Plouzané, France (70 pp.).

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La Polynésie française, en tant qu'État insulaire, dépend fortement des ressources de son environnement marin ainsi que des **services écosystémiques** qui lui sont associés. La gestion raisonnée du patrimoine océanique polynésien trouve toute sa place dans une perspective d'**exploitation durable** desdites ressources, obéissant aux principes du concept d'« **Économie Bleue** ».

Des projets de recherche menés en Polynésie française par l'UMR 241 EIO et l'IRD ont permis d'améliorer la connaissance du patrimoine naturel des archipels et d'identifier de **nouvelles ressources valorisables**. Des missions océanographiques de recensement et de prospection menées entre 2010 et 2018 (Debitus, 2011 ; Debitus *et al.*, 2019) ont ainsi révélé la forte abondance d'une **éponge marine**, *Dactylopongia metachromia* (de Laubenfels, 1954), sur les pentes externes et à l'intérieur des lagons de certains atolls des archipels des Tuamotu, de la Société et des Gambier. Des travaux de chimie analytique visant la valorisation de substances naturelles d'origine marine ont montré la présence de deux terpènes majoritaires, l'**ilimaquinone** (Capon & MacLeod, 1987) et son épimère **5-épilimaquinone** (Carte *et al.*, 1985), chez cette espèce. Ces molécules aux rendements remarquables ont fait l'objet d'hémisynthèses visant à développer des substances actives rentrant par exemple dans la composition de certains traitements médicamenteux. Elles ont ainsi démontré certaines **activités pharmacologiques** intéressantes, de même qu'une action notable sur la production d'insuline (Pearce & Kerr, 2013 ; Wang *et al.*, 2017). Afin d'envisager un potentiel développement pharmaceutique de ces composés incluant notamment une possibilité d'intervention dans le traitement du **diabète de type 2**, pathologie très prévalente en Polynésie française, l'étude de la ressource naturelle existante et de sa production durable sont nécessaires.

REDAME (Étude de la Ressource en éponge *Dactylopongia metachromia* pour une production durable) est un projet de recherche qui vise à développer durablement cette éponge marine à travers l'étude de faisabilité d'une **nouvelle filière** halieutique. La pérennisation des **stocks naturels** est de fait indispensable afin de pouvoir valoriser les molécules suite à leur extraction sans provoquer une diminution drastique de l'abondance de l'espèce dans son habitat. Le présent projet mené à l'interface de l'aquaculture, de l'écologie marine et de la chimie analytique a donc pour objectif de tester la viabilité d'une **production maîtrisée *in situ*** de *Dactylopongia metachromia* en utilisant des dispositifs immergés implantés sur le plus grand atoll des Tuamotu, nommé Rangiroa.

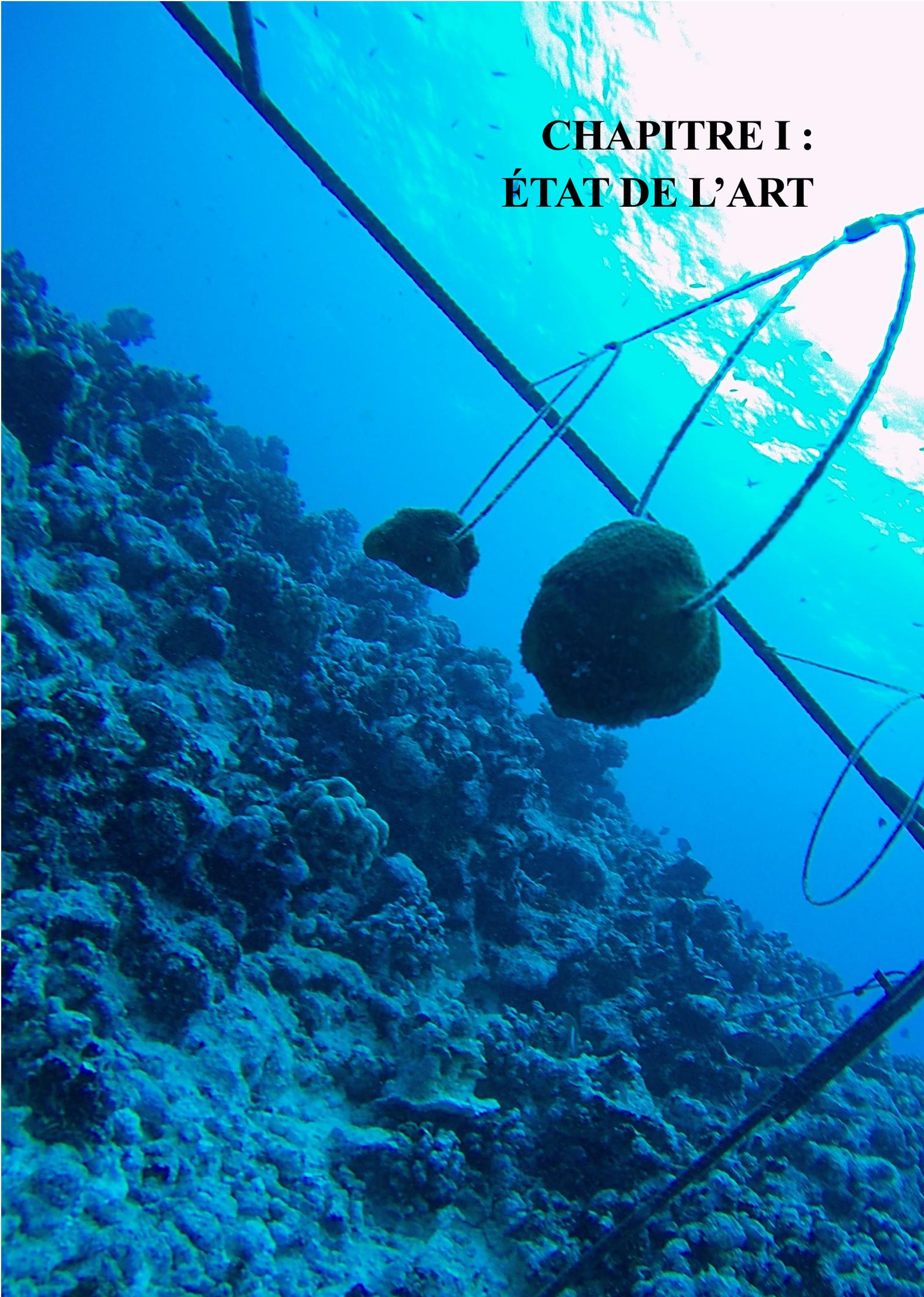
Il s'agit donc de mettre cette éponge en culture pendant 2 ans tout en suivant sa **croissance** et sa **survie** et en s'intéressant à sa physiologie. Les performances aquacoles seront confrontées à différents **paramètres environnementaux**, également mesurés tout au long du processus de culture des nouvelles générations d'éponges (température, courant, sels nutritifs etc.). Les suivis trimestriels sont réalisés en scaphandre autonome en milieu naturel aux 4 sites de culture mis en place sur l'atoll pilote de Rangiroa. En parallèle, la **composition chimique** en molécules actives des spécimens récoltés tous les trois mois sur le terrain sera analysée, afin de voir si elle

bénéficie ou non du procédé d'aquaculture afin d'éviter de puiser directement dans les stocks naturels.

Cette thèse est également l'occasion d'approfondir des connaissances relativement minces sur l'organisme ciblé. Ainsi, une caractérisation du **microbiote procaryote** de l'espèce sera effectuée. De même, le potentiel d'action des substances extraites de l'éponge, ou **activité antibactérienne**, sera évalué sur des pathogènes marins responsables de très forts taux de mortalité dans les élevages piscicoles polynésiens.

Les résultats de ces observations et analyses sont fournis dans le but de mieux comprendre les besoins écologiques de cet organisme et de tenter d'expliquer ses réactions biologiques et chimiques en vue d'un potentiel futur lancement de son aquaculture pour des perspectives de valorisation pharmaceutique. À l'issue de cette thèse, le potentiel d'apport d'une nouvelle ressource économique et, à travers elle, la diversification des activités aquacoles déjà présentes en Polynésie française, pourra être évalué. La création d'emplois techniques et de formations scientifiques au niveau local sont des exemples de retombées sociales positives envisageables à long terme.

CHAPITRE I : ÉTAT DE L'ART



INTRODUCTION DU CHAPITRE

Différentes méthodes relatives à la culture d'éponges marines, ou « spongiculture », se sont progressivement développées à l'échelle mondiale aussi bien en bassin que directement en milieu naturel. Certaines espèces, comme les démosponges *Spongia officinalis* et *Coscinoderma matthewsi*, se sont révélées des candidates très pertinentes pour le commerce d'éponges de toilette du fait de leurs aires de répartition étendues, de leur taux de reproduction élevés et de leurs remarquables propriétés mécaniques (Verdenal & Verdenal, 1987 ; Loudon *et al.*, 2007 ; Wahab *et al.*, 2012). Avec d'autres, elles continuent aujourd'hui d'être étudiées pour davantage de perspectives de valorisation intéressantes telles que la bioremédiation via une filtration et une accumulation efficaces de polluants ou encore le recyclage de la matière organique récifale grâce aux cortèges microbiens qui leur sont associés (Bauvais, 2015 ; Robbins *et al.*, 2021).

L'aquaculture de spongiaires peut également cibler l'exploitation chimique de molécules d'intérêt que ces organismes produisent, seuls ou en association avec leur holobionte (Becerro *et al.*, 2003 ; Webster & Taylor, 2012). Ces « métabolites secondaires » peuvent en effet conduire à de multiples applications, notamment dans la santé humaine et la cosmétologie (Piel *et al.*, 2004 ; Ruiz *et al.*, 2013 ; Bechmann *et al.*, 2018). De multiples adaptations techniques et logistiques ont ainsi vu le jour afin d'optimiser les matériaux, les supports, les protocoles de récolte ou d'installation des éponges mais également en vue de cerner les paramètres écologiques susceptibles de maximiser les rendements finaux en composés valorisables. Il est effectivement notoire que les nombreux tests exigés dans l'industrie pharmaceutique afin de valider l'efficacité d'un traitement nécessitent des quantités très élevées en molécules pures (Sipkema *et al.*, 2005 ; Carballo *et al.*, 2010).

Un état des lieux bibliographique approfondi de la spongiculture a été entrepris durant ce doctorat, afin d'obtenir des renseignements quant à l'évolution des techniques, leurs avantages et leurs inconvénients au regard de la valorisation économique des éponges marines. Une attention particulière a été portée au potentiel d'exploitation chimique des composés bioactifs issus de ces organismes et/ou de leurs cortèges bactériens associés. Cette veille littéraire a conduit à la rédaction et la publication en juin 2021 dans le journal *Aquaculture Reports* de l'article « *Marine sponge aquaculture towards drug development : An ongoing history of technical, ecological, chemical considerations and challenges* » par Maslin *et al.* qui constitue le corps de texte du présent état de l'art.

L'AQUACULTURE DES ÉPONGES MARINES POUR LE DÉVELOPPEMENT DE TRAITEMENTS MÉDICAMENTEUX : CONSIDÉRATIONS ET DÉFIS TECHNIQUES, ÉCOLOGIQUES ET CHIMIQUES

Aquaculture Reports 21 (2021) 100813



Contents lists available at ScienceDirect

Aquaculture Reports

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aqrep



Marine sponge aquaculture towards drug development: An ongoing history of technical, ecological, chemical considerations and challenges

Mathilde Maslin^a, Nabila Gaertner-Mazouni^a, Cécile Debitus^b, Nicole Joy^{c,d}, Raimana Ho^{a,*}

^a Univ. Polynésie Française, Ifremer, ILM, IRD, EIO UMR 241, Tahiti, French Polynesia

^b IRD, Univ Brest, CNRS, Ifremer, LEMAR, 29280, Plouzané, France

^c Marine Biodiversity, Naturalis Biodiversity Center, PO Box 9517, 2300 RA, Leiden, the Netherlands

^d Institute of Environmental Sciences (CML), Leiden University, PO Box 9518, 2300 RA, Leiden, the Netherlands

ARTICLE INFO

Keywords

Sponge farming
Secondary metabolites
Environmental interactions
Ecophysiology
Endosymbionts

ABSTRACT

Marine sponges have a long history of farming, starting with bath sponges over 5000 years ago in the Mediterranean. Many species have since been found appropriate for distinct types of commercial assessment. Drug development relies on the isolation of sponge-derived secondary metabolites as natural compounds having a wide range of ecological functions, from deterring predation to preventing microbial infection/proliferation on the sponge body. For human society, they feature a broad array of pharmacological properties with some applications still being discovered. Their limited supply has however been faced as a major obstacle to the conduct of clinical trials. Marine aquaculture has to prove more integrated and sustainable to remain an interesting way to ensure sufficient amounts of biological substances for the early processing and production of drugs. This review presents sponge farming methods that were tested, the undergoing challenges they faced and the interest they raised on environmental and metabolic factors to explain contrasting spatiotemporal performances. Through global experiments, sometimes involving other marine organisms, technicality of sponge aquaculture has long been evolving to ensure efficient and cost-effective strategies. Further ways to make sponge farming more attractive and diversify its commercial applications are investigated, such as recent studies in collagen or chitin production for bone tissue engineering or bioremediation as an alternative to existing wastewater management. Overall, marine sponges exhibit astonishing intra and interspecific variation, which is why they should be considered with respect to the purpose of their economic valuation, their environmental context and all the symbiotic interactions they rely on.

1. Introduction

Marine sponges (phylum Porifera) represent an important part of the benthic biomass and diversity in many areas and provide several important ecosystem functions such as shelter, food or regulating substrate settlement (Ayling, 1981; Costello and Myers, 1987; Dayton et al., 1974; de Goeij et al., 2013; Maldonado et al., 2012, 2015; Pawlik and McMurray, 2019). Like many other sessile invertebrates, they have developed an efficient chemical system based on the production of bioactive secondary metabolites for defense and communication purposes (Becerro et al., 2003; Green, 1977; Hay, 1996; Helber et al., 2018; Hogg et al., 2010; Jones et al., 2005; Kovalchuk et al., 2019; Mehbub et al., 2016; Muzychka et al., 2021; Sim and Bakus, 1986). The

synthesized molecules generated by these macrofilter feeders and their associated microsymbionts are particularly useful to fight diseases and to repel their surface colonization by harmful biofouling (Aguila-Ramirez et al., 2014; Fang et al., 2017; Thompson et al., 1985). Such chemical defenses avoid the detrimental repercussions that colonizing organisms may generate on sponge metabolism, like obstruction of the excurrent openings called "oscula" (Fig. 1) or degradation of the superficial regions referred to as "ectosome" (Borges and Simoes, 2019; Britstein et al., 2018; Corra and Sanchez, 1996; Kelly et al., 2003; Littler and Littler, 1995). These facts explain for instance that healthy wild sponges are indeed rarely covered by epiphytic fauna or flora (Abarzua and Jakubowski, 1995).

Since Greek antiquity, marine sponges have always had a wide range

* Corresponding author at: B.P.6570, c/o Université de la Polynésie française, 98702, Faa'a, Tahiti, French Polynesia.

E-mail addresses: mathilde.maslin@doctorant.upf.pf (M. Maslin), nabila.gaertner-mazouni@upf.pf (N. Gaertner-Mazouni), cecile.debitus@ird.fr (C. Debitus), nicole.devoogd@naturalis.nl (N. Joy), raimana.ho@upf.pf (R. Ho).

<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100813>

Received 9 April 2021; Received in revised form 16 July 2021; Accepted 31 July 2021

Available online 4 August 2021

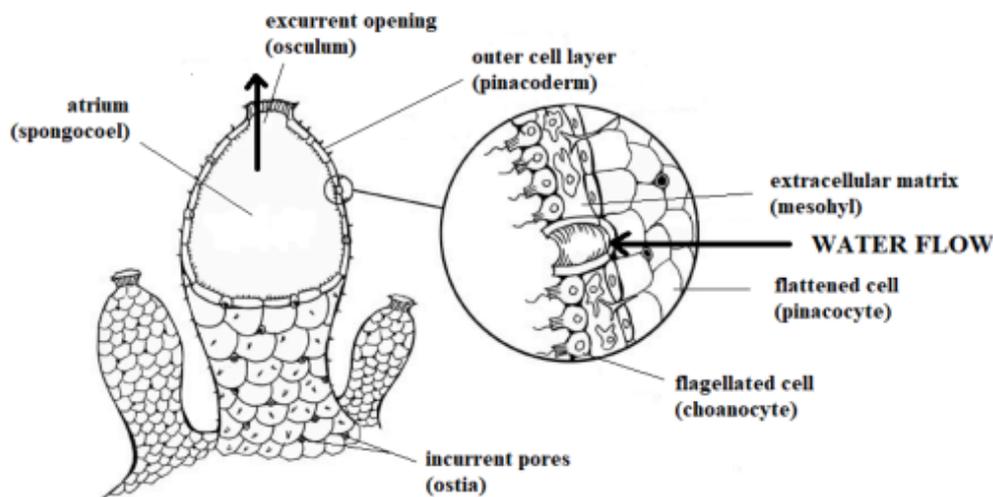
2352-5134/© 2021 The Authors. Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

of uses, ranging from hygienic and artistic tools to their medical employment against infections or inflammations (Starkey et al., 2008; Voultsiadou, 2007). The harvesting and preparation of some sponge species being used as “bath sponges” for the absorptive properties of their fibrous skeleton dates back to the Roman Empire in some Mediterranean countries such as Egypt, Greece and Phoenicia (Ehrlich et al., 2018; Jesionowski et al., 2018; Pronzato and Manconi, 2008). First literary data can be found in the 13th edition of *Systema Naturae*, written by Linné in 1789. In Florida, Moore produced an early report in 1910 to inform about the existence of natural sponge beds and describe the methodology and prospects of sponge aquaculture starting from eggs or cuttings. Bath sponges then gradually began to be farmed on a small scale in the Mediterranean, on the off-coast of Florida and in several regions of the Pacific (Cahn, 1948; Croft, 1989; Handley et al., 2003; Storr, 1957, 1964). As demand grew, so did imports and domestic productions worldwide. Yet, episodic disease outbreaks such as in the Mediterranean and the “blight” infection in Florida also combined with the overfishing of bath sponges in the late 1980s gradually contributed to threatening wild populations and depleted entire sponge habitats (Bertolino et al., 2017; Croft, 1990; Pronzato, 2003). Local and international directories are now protecting several species of Mediterranean sponges, which show a high level of endemism compared to Pacific taxa, with different levels of regulation depending on their potential use as commercial products or by-products (Dallianis et al., 2011). Bath sponge production, either raw or processed, has progressively entered the international trade over the past two decades and is currently well-established in some countries as mainly dedicated to the local tourism industry (Fourt et al., 2018; Hawes et al., 2010). Still, despite many research efforts worldwide, no industry specifically targeting sponge or sponge symbionts towards metabolites production has already reached the market scale (Belarbi et al., 2003a; de Voogd, 2007a; Page et al., 2005; Osinga et al., 2010).

Investigations on population dynamics of Porifera have progressively been undertaken and widespread since their beginning in the early 1970s (Hartman and Reiswig, 1973; Stone, 1970). New roles and potentials of these organisms, along with their associated symbionts, were revealed such as their ability to act as bioremediators (Gökcalp et al., 2020; Milanese et al., 2003; Stabill et al., 2006) capturing heavy metals (Berthet et al., 2005; Cebrian et al., 2007; Patel et al., 1985) or reducing

pathogenic bacterial densities and organic particles excess from the environment (Alexander et al., 2014; Ledda et al., 2014; Reiswig, 1971; Yabel et al., 2003). Most metabolic mechanisms of sponges and sponge microbiome still remain unaddressed, yet their reported importance in nutrient cycling is making some of the existing food web models incomplete when they do not consider such taxa as essential drivers and modulators of marine consumer resources (de Goeij et al., 2017; Engelberts et al., 2020). A lack of accomplishment still clearly exists in this regard. Last but not least, the most diverse class of sponges called Demospongiae accounts with species with a fibrous skeleton made of spongin, a collagen-derived protein which has extreme properties in terms of thermic and mechanical resistance (Petrenko et al., 2019; Szatkowski et al., 2017). This biopolymer, along with many other that can be found incorporated into sponge skeletons (i.e. collagen chitin, silica), is thus under recent considerations towards bioengineering and extreme biomimetics applications (Khrunyk et al., 2020; Szatkowski et al., 2018).

Fortunately, sponge ability to colonize adjacent similar biotopes in optimal specific conditions can be presumed (Padiglia et al., 2018). Their elevated dispersion rate, exceptional abundance in benthic communities and impact on the cycling rates of nutritive compounds, while ensuring natural stocks preservation and expenditure, are making them highly favorable for aquaculture process. Farming sponges for chemical extraction is a consideration that experienced great advances in the last century (Duckworth, 2001). For some sponge-related compounds, aquaculture was even reckoned as the only viable medium-term option to start pre-clinical tests towards drug development (Koopmans et al., 2009). Many metabolites have already been described in the literature; indeed, marine sponges and sponge microbiome are considered as the most prolific oceanic source of new bioactive substances (Blunt et al., 2004; Laport et al., 2009; Carroll et al., 2019; Pawlik and McMurray, 2019; Zhang et al., 2005). In the past 50 years, more than 9700 novel molecules were discovered and isolated from sponge extracts, including their associated microbial communities, which nearly represents 30 % of all marine molecules discovered to date (Database: MarinLit 2020). Recent large-scale biological screening experiments have highlighted the potential of bioactive metabolites present in such extracts for applications in biotechnologies and the pharmaceutical industry (Kumar and Pal, 2016; Lowe et al., 2016; Pomponi, 2001). Antifouling,



modified from www.exploringnature.org (©Sheri Amsel)

Fig. 1. Simplified morphological organization of a marine sponge. The surrounding water enters the spongocoel through small openings called ostia, is waded by monoflagellated choanocytes within the atrium and is finally ejected through large oscula.

anti-inflammatory, antibiotic, antioxidant, antitumor and antiviral properties were progressively revealed (Abarzua and Jakubowski, 1995; Bechmann et al., 2018; Drechsel et al., 2020; Duckworth, 2001; Ruiz et al., 2013).

Bergmann and Feeney (1951) were the first scientists to characterize two bioactive natural products, the nucleosides spongothymidine and spongosine, from the Caribbean marine sponge *Tectithya crypta* (as *Tethya crypta*). Since, some sponge-derived compounds now synthesized *in vitro* such as Cytarabine (trademarks: Cytosar-U®; Depocyt®), Vidarabine (trademark : Vira-A®) and Eribulin mesylate (trademark : Halaven®) are available in the pharmacological market after being approved as drugs by the Food and Drug Administration or the European Medicines Agency (Martins et al., 2014; Dyshlovoy and Honecker, 2020). Therapeutic effects of cytarabine encompass the treatment of myeloid and meningeal leukaemia and lymphoma, while vidarabine is prescribed against various herpes and RNA tumour viruses (Lichtman, 2013; Shen et al., 2009). They both have been in the lead of antiviral and anticancer therapy for many years (Lloyd-Evans, 2005). Eribulin mesylate has shown high potential in the cure of metastatic breast cancer (Hirata and Uemura, 1986; Towle et al., 2001). Speaking of costs, 50 mg of Vira-A® as an adenosine analog can be purchased for 100–145 \$ US (Abcam Inc 2015) while 1 mg of Halaven® is generally ordered for more than 1000 \$ US (Eisai Inc 2020). Not unexpectedly, many individual compounds still not approved as drugs are yet available to purchase and their prices reveal a very strong potential with significant economic benefits for the culture of sponges towards pharmaceutical exploitation (Binneweg et al., 2020).

Due to their many commercial and technological applications, the exploitation of marine sponges must be rational in order to protect wild stocks from an excessive harvesting pressure. To ensure sustainable production and successful operations, it is essential to collect information on the biological needs of the selected taxa, as well as their population dynamics (Gifford et al., 2006). Nevertheless, despite their importance in all aquatic ecosystems in terms of abundance and diversity, spatial and temporal trends for the understanding of marine sponge assemblages and bioactivity are still poorly studied in many regions (Gökalp et al., 2020; Pawlik and McMurray, 2019; Sacristán-Sortano et al., 2012). Global scientific effort on those organisms for the development of new physicochemical perspectives now encompass the Mediterranean Sea, the Caribbean Sea and the Great Barrier Reef as hotspots of Porifera diversity (Bell et al., 2015; Gerovasilieou and Voultsiadou, 2012; Longo et al., 2018; Padiglia et al., 2018). Such geographical areas where sponge species producing metabolites, already either commercialized or still subject to approval, can be encountered are indeed firstly concerned when developing a perennial production system due to the proximity and conceivable direct availability of raw material (Dyshlovoy and Honecker, 2020).

This statement is particularly true for the Pacific region, where the pharmaceutical industry, along with live seafood markets, clearly represents the best opportunity for aquaculture development (Adams et al., 2001; Pedrosa et al., 2020). Experiments began with the Micronesian wool sponge *Coscinoderma matthewsi* in the early 1940s in Japan. The Japanese started sponge mariculture using vertical lines through with sponges hanged in the water column, either directly from the main line or using a loop, with bottles as floats (Croft, 1990; Kelly et al., 2004). It eventually became an important commercial activity in the Federated States of Micronesia, where the sponges were coming from (Adams et al., 1995). Requiring rather low capital and labor investment, the business generated great interest among local populations who had found an additional and a rapid source of income (Croft, 1990; MacMillan, 1996). They had to stop with the outbreak of the Second World War and the consequent lack of technical support from participating companies (Lee and Awaysa, 2003). The activity experienced a resurgence in the 1980s and from there sponge farming was increasingly seen as an opportunity to attract new rural businesses to the Pacific region, where sponge species suitable for aquaculture are widespread and most of the time

abundant such as the reported demosponges *Crambe crambe*, *Pseudosuberites andrewsi*, *Rhopaloeides odorabile*, *Coscinoderma* sp. and *Neopetrosia* sp. (Duckworth, 2009; Loudon et al., 2007; Osinga et al., 1999a; Schiefelhövel and Kunzmann, 2012). For instance, in Fiji, small-scale sponge aquaculture is currently mainly dedicated to the tourism industry through the trade of dried bath sponges offered as souvenirs to visitors (Hawes et al., 2010). From a conservation perspective, marine sponges from the Western Pacific are not considered endangered although there may be local threats such as overexploitation, microbial infections, introduction of non-native species (e.g. the epilithic green seaweed *Caulerpa scalpelliformis*) and habitat fragmentation (Bell et al., 2015).

The invention of the synthetic sponge, much cheaper than natural bath sponges, and the increasing development of reliable synthesis of bioactive metabolites have led to a decrease of sponge farming activities (Butler, 2008; Hogg et al., 2010). Considerable efforts have been put on developing alternative production methods than *in situ* exploitation such as *in vitro* cell culture by fermentation process (Mendola, 2003; Carballo et al., 2009). Still, this technique has not been very successful so far, as nutritional requirements and culture media for establishing continuous primmorph cell lines and clones are still poorly understood (Custodio et al., 1998; Schippers et al., 2011; Yang et al., 2018). Specific gene clusters isolation of marine sponge microbiomes is another strategy for driving the production of bioactive compounds, as some genes of the microbial metagenome can be cloned and later artificially expressed (Brinkmann et al., 2017; Carballo et al., 2009; Piel et al., 2004; Rutledge and Challis, 2015; Sipkema et al., 2005b). Efforts were also made toward promoting reproduction of sponges, aiming at producing larvae that could be grown in tanks (de Caralt et al., 2007). The method led to high growth and survival rates, yet it requires essential knowledge of the factors promoting settlement, survival and development of sponge juveniles and thus still require more investigation (de Caralt et al., 2010). Indeed, those considerations are highly species-dependent, especially regarding nutritional needs and cannot be generalized for protocol optimization towards metabolites production at the market scale. That is why aquaculture trials, promoting the growth of the organism in its natural or artificially replicated habitat, have been and still are extensively tested until chemistry issues can be overcome (Gomes et al., 2016; Martins et al., 2014).

Sponges are known as huge reservoirs of bacterial chemosymbionts, the majority of which actually being the ultimate source of marine bioactive metabolites (Faulkner et al., 1993; Indrainingrat et al., 2016; Mori et al., 2018; Pawlik and McMurray, 2019; Piel, 2004). Some sponges coat themselves with a specific mucus into which selective bacteria can broadly spread (Jackson and Buss, 1975; Müller et al., 2013; Simpson, 1984; Thompson et al., 1985). Marine chemical symbiosis is driving many ecological processes such as structuring populations, establishing defense, escape and competitive strategies or defining suitable habitats and feeding solutions (Alves et al., 2018; Hay, 2009). Chemotaxis has therefore been facing troubles in assigning compounds either to the sponge itself or to its microbiome, mostly due to metabolites resemblance with bacterial chemicals architecture (Erpenbeck and van Soest, 2007; Mori et al., 2018). However, some experiments done on bacteria isolated from marine sponge revealed a proven microbial origin of compounds (Piel et al., 2004; Schirmer et al., 2005). Research efforts are thoroughly made towards finding interactions with bacterial abundance and activity on sponges and biological or environmental factors, including sponges being exploited through aquaculture.

In this review, the literature was searched to debate the farming methods that were first developed at an early stage for bath sponges trade and later marine natural products exploitation. Environmental and physiological studies that are still showing today major effects on sponge culturing performances (i.e. growth, survival, metabolites production) are explored. We discuss as well the key roles of sponge endosymbionts in ecological processes and bioactive compounds production. Finally,

we deal with the new perspectives recently brought in addition to the aquaculture of marine sponges towards drug development which call for their many other ecological functions and roles.

2. The continuous evolution of marine aquaculture techniques and structures

Sponge aquaculture requires simple techniques, minor specialized equipment and little investment in community infrastructure (Duckworth, 2009). From relatively dense and heavy organisms, it generates a product that is both light in weight and soft, making transportation, processing and storage requirements less worrisome (Duckworth, 2001; Hawes et al., 2010; MacMillan, 1996). Those facts justified the increased in efforts over time to multiply the designs and tests in every oceanic region of the world, using many different sponge species.

2.1. Reasoning aquaculture set-up

At first, sponges were considered difficult animals to study due to a lack of *in vitro* maintenance and *in situ* monitoring methods. Also, marine sponges were thought to be extremely difficult to cultivate, unlike freshwater sponges (Fell, 1967; Kinne, 1977) and it was only in 1983 that Langenbruch found the production of sponges in land-based tanks for biological studies to be successful with the breadcrumb demosponge *Halichondria panicea*, most probably due to a demonstrated strong ability in adapting its filtration rates and oscula dynamics towards changing flow and feeding conditions (Kealy et al., 2019; Kumala et al., 2017; Langenbruch, 1983). Sponge samples transferred to semi-enclosed aquariums with monitored conditions (temperature, salinity and feeding period) were used to assess growth and survival parameters and compared them to natural populations (Barthel, 1986). Those two measures were and are still today major requirements to assess the effectiveness of the farming devices, either in land or sea-based systems, as species requirements may vary depending on where they occur in the wild (Duckworth, 2009; Mohite et al., 2020; Ou et al., 2020; Santiago et al., 2019). Growth assessments can be performed through the measurement of volumetric gain using graded cylinder, the acquisition of biomass metrics (wet, freeze-dried or ash-free dried weights) or even by taking scaled pictures underwater at regular time intervals during the experiment (Barthel, 1986; de Voogd, 2007a; van Treeck et al., 2003; Ledda et al., 2014).

Land-based aquaculture allows controlled conditions in terms of temperature, salinity and nutrient inputs, although the optimal values of those parameters can be subject to large variations between species (Duckworth, 2001; Osinga et al., 1999b). The cultivation of marine species on land indeed facilitates observation, sampling and harvesting (Bergman et al., 2011). Moreover, it is easier to test the influence of a single parameter while limiting the variability of the others, as in Duckworth et al. (1997) where only the impact of temperature was tested on sponge healing. However, the use of such a system implies a continuous monitoring of the water flow and aeration, as well as an adequate sponge density that must be reasoned according to spatial restrictions (Gunda and Janapala, 2009). Indeed, the risk of bacterial infections increases if the number of organisms exceeds a maximum, especially since diseases and parasitic infestations can spread rapidly (Bergman et al., 2011). As probably species-dependent, this value can for instance be adjusted by testing different concentrations of sponges within tanks and assessing microbial loads. New farmed individuals, referred to as "explants", of Indo-Pacific species *Neopetrosia* sp. and *Stylissa massa* growing in tanks showed lower rates in terms of survival, growth and attachment than the ones developing *in situ* (Schiefelhövel and Kunzmann, 2012). Similarly, in the Mexican Pacific Ocean, the growth of *Mycale cecilia* during *in situ* mariculture trials of 60 days was three times higher than in closed systems (Carballo et al., 2009). Ensuring sufficient food supply and a suitable aeration of tanks, through frequent seawater change providing both new particles loads and

oxygen, is a major barrier towards the success of land-based cultivation (Schippers et al., 2012). Costs for food supply and good water quality when regular seawater refill is difficult can be really high, to the point that land-based aquaculture of some species having higher feeding requirements are not considered economically viable because of being too costly (Duckworth, 2009; Duckworth and Pomponi, 2005; Mendola, 2003; Osinga et al., 1999b).

Sea-based farming structures rely on existing and unlimited water resources. The open space available reduces the risk of eutrophication and local depletions. Production costs including farm set-up are not exceeding few thousand dollars especially for locally managed, small-scale aquaculture activities (Adams et al., 1995; MacMillan, 1996). This scheme is therefore cheaper than land-based systems, sometimes significantly enough for the costs to be halved (Sipkema et al., 2005b). The hazards of rough weather losses and heavy predation (e.g. herbivory fishes, nudibranchs and sea turtles) must be kept to a minimum through good infrastructure designs (i.e. correct attachment of the explants) and suitable management techniques such as reasoning sponge density and ensuring a mortality vigilance (Duckworth, 2009; Page et al., 2011; Smith, 1941).

2.2. Sponge sampling techniques

Sampling is based on taking a fragment from a parental sponge to obtain an independent, self-growing organism. Indeed, sponges are known since the early 20th century for their ability to regenerate after damage and face mutilation (de Laubenfels, 1949; Galtsoff, 1925; Huxley, 1921). They can reproduce sexually, being mostly hermaphrodites, but may also spread by releasing propagules or through fragmentation, leading to resistant "gemmules", when some of their parts are removed by strong currents (Leong and Pawlik, 2010; Pawlik, 2011). Once allowed to settle nearby on the seabed, those fragments can create new explants. All an explant needs to naturally regenerate and form a complete sponge is a proper cutting technique and time (Balakrishnan, 2017; Nickel and Brümmer, 2003; Pozzolini et al., 2019; Sánchez, 1984). Sectioning clean pieces of healthy-looking sponges collected throughout the year remains the easiest, most economical and fastest way to proceed while minimizing harvesting and environmental impact (Duckworth, 2001). Thanks to a high-performance metabolic pathway identified for many species, such as in oxygen transfer and healing rates (i.e. through elevated telomerase activity), the same explant can be harvested many times to obtain several generations from a single individual (Belarbi et al., 2003a; Duckworth, 2001; Loudon et al., 2007; Osinga et al., 1999b). The number of farmed sponges required is therefore decreasing over time and so are the costs and potential harvesting impacts on natural populations (Duckworth, 2009).

To improve culture protocols and approaches such as proper sampling procedure, factors regulating sponge survival have been identified. Among them, ensuring that the knife used to excise the sponge is always sharp is crucial, so that a dull blade does not lead the diver to press the animal to cut it (Oronti et al., 2012). A minimal damage is expected during both harvest and transport. Squeezing the organism for instance could lead to its death or the dysfunction of its metabolic activities, especially for species known as highly vulnerable to mutilation due to their specific growth form or internal structuration such as the basket-shaped *Geodia* sp. or the vase-shaped *Mycale laxissima* (Freese, 2001; Oakland, 2013; Reisinger, 1973). Leaving healthy pinacoderm parts intact with pre-existing oscula during the explant harvesting stage can be important, as a correlation was found between the presence of intact pinacoderm showing remaining oscula and a better tolerance to oxidative stress for the demosponge *Haliclona pigmentifera* (Gunda and Janapala, 2009; Kelly-Borges, 1994, 1995; Mergner, 1964). The development of new oscula recreating a complete functional surface and an actively pumping system lasts between a few days to several months, depending on the species (Osinga et al., 2010). During this time, oxygen and nutrient supplies are hampered by surface layers regeneration

(Hoffmann et al., 2005). That is mainly why the excised sponge must remain permanently immersed in oxygenated seawater during transportation, in order to avoid the inexorable anoxia that occurs barely a few moments after removing the organism from the water. Survival can be greatly influenced by the shape of the fragments or the proportion of sponge body size to the extent of the wounded parts of the pinacoderm (Duckworth et al., 1997). It is now commonly accepted that a minimum volume of about one-third of the sponge should be left behind for the animal to survive and grow back (Duckworth and Wolff, 2007).

Despite taking all precautions during sponge sampling, damaged sponges take a long time to recover and, in some part of the world, they have undergone local extinctions (Gaino and Pronzato, 1989; Rizzello et al., 1997). Indeed, the regeneration process requires significant increase in energy supply for excised individuals (Barthel and Theede, 1986). If recovery takes too long, mesohyl suspended cells abandon the sponge matrix and leave the skeleton exposed (Duckworth et al., 1997). The evaluation of surface development or subsurface cellular reorganization of the sponge pinacoderm once it has been damaged is possible using a scanning electron microscope or light and transmission microscopy (Witte et al., 1994). Even though damaging and potentially stressing the sponge in the process, such techniques only require very small amounts of biological material (i.e. less than 2 mm³) and inform about ultrastructural rearrangements for both sponge cells and associated bacteria (de Caralt et al., 2003). Indeed, it is important to ensure that the process of internal healing, through the consolidation of collagen, occurs quickly. Both collagen content and growth were reduced when transplanting the sponge *Chondrosia reniformis* (Cebrian et al., 2007). Yet collagen yield appeared to be influenced by depth and could be optimized for this same species through genotype and environmental investigations (Gökalp et al., 2020a). For the tropical sponges *Rhopileides odorabile* and *Coscinoderma* sp., the restoration of sponge collagen production starts within only 24 h after either damage or cut

(Louden et al., 2007). We can suggest from these results that collagen production is playing a role in pinacoderm restructuring and biomass gain once the sponge has been under stress. Several sponge species may also rely on the incorporation of foreign elements into their layers or on the development of specific melanin cells (Bergquist et al., 1980). Monitoring these metabolic operations could help diagnose the progress of explants healing and their overall health once the cut has been made.

2.3. Contrasting effects of aquaculture designs

Because sponges are known to constantly adapt their morphology to the space allocated to them while growing, sponge aquaculture can hardly be based on the visual recognition of individuals as progenitors for future generations (Barthel, 1986). Nevertheless, interesting prospects of culturing species with pharmaceutical potential is that, unlike bath sponges that must reach high quality standards, no specific aspect of the sponge body is required for them to be commercialized. Sponge species with a great diversity of shapes are promising candidates for successful marine aquaculture towards chemical valorization (Fig. 2). Given those facts, a wide range of cultivation methods that we aim to discuss here can be applied to satisfy industrial demand and secure production over time (Duckworth et al., 1997; Duckworth and Wolff, 2007).

Vertical and horizontal lines where the sponge hangs in the water column using ropes or fishing nets are two suspension structures that have been extensively tested (Barthel, 1986; Croft, 1990; de Voogd, 2007a; Handley et al., 2003; Kelly-Borges, 1995; Schiefenhövel and Kunzmann, 2012). Both systems were experimented for the aquaculture of the common bath sponge, the Mediterranean *Spongia officinalis* (Corriero et al., 2004). No differences were found in terms of efficiency (i.e. through the average weight and volume of the explants over time) between the two cultivation designs. Lines are usually threaded through

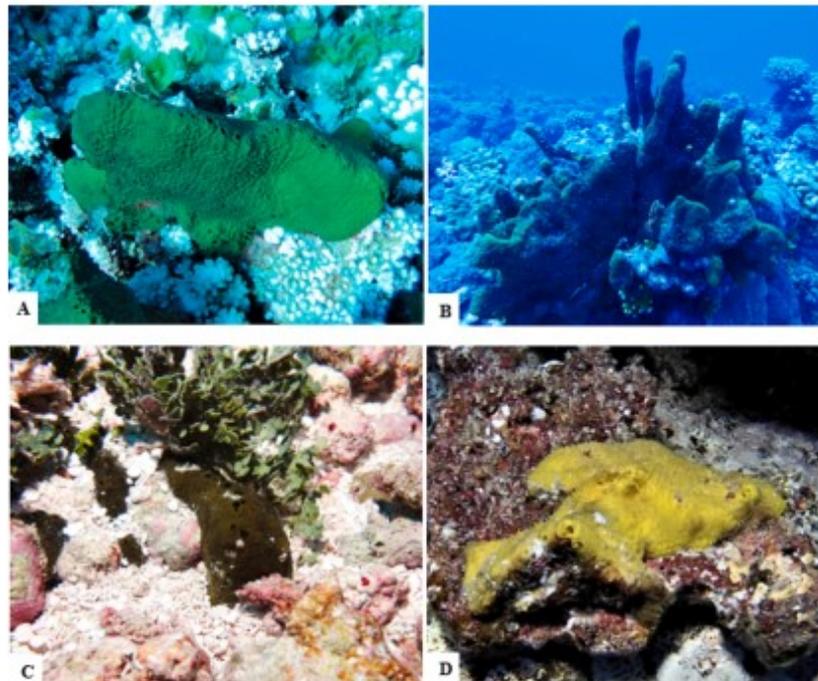


Fig. 2. The sponge *Dactylospongia metachromia* (de Laubenfels, 1954). Whether if growing exposed on the coral reef (A, B) or hidden inside crevices (C, D) in the South Pacific region, this marine sponge presents an incredible diversity of shapes and appearances.

©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO).

sponge explants either straight by hand if the material is soft enough or using a needle and loop, such as the “hanging rope” method described by Croft (1990) and Ellis et al. (2008) in Micronesia. Due to the lack of a natural substrate as support, explants are mainly growing round-shaped and without many irregularities of the pinacoderm such as in wild populations (Corriero et al., 2004). Sponges grown with this type of construction are directly exposed to the environment. However, lines should be placed deeper than the wave breaking area to avoid injuries caused by severe water movement.

Suspended structures featuring lines sometimes consist of cages (Barthel, 1986) or frames (Pronzato et al., 1999) where explants are attached to vertical or horizontal grids. They can be either fixed by stakes directly anchored in the substrate or simply held at a certain depth using dead weights and floats to ensure good buoyancy (Duckworth et al., 1997; Hadas et al., 2005; Thomassen and Røisgård, 1995). Horizontal lines and frames ensure a certain morphological homogeneity of the explants besides being highly adaptable and cost-effective (Fig. 3).

Mesh bags, between which explants are sandwiched, have also been gradually deployed as a less-damaging alternative to the threading of sponges (Duckworth and Battershill, 2003a; Kelly et al., 2004). Bags are suspended above the sea bottom by subsurface buoys and explants can even sometimes be grouped into the same nets called “lanterns” (Duckworth et al., 1997; Ruiz et al., 2013). Those systems are anchored to the sea bottom by a benthic rope (Duckworth and Battershill, 2003b; Duckworth and Wolff, 2007) or buckets filled with cement into which vertical poles are placed (Ruiz et al., 2013). Threaded lines and mesh panels were tested and compared for the bath sponge *Coscinoderma* sp. aquaculture, with better results for mesh treatments (Duckworth and Wolff, 2007). Nevertheless, both studies faced serious problems of biofouling on the lanterns, in addition to the fact that constructs were cumbersome and difficult to handle. Experimental conclusions stated that this design was finally rather unsuitable for commercial farming. Actually, the major disadvantage of this system is that explants are not

directly exposed to the seawater column, but hindered by the mesh strands. Limiting the volume available for filtration thus sponge food accessibility, it also increases growing competition with unwanted fouling life forms (Duckworth and Wolff, 2007). After more than a year of testing the lantern method in New Zealand, the average volume of explants was either only slightly larger or even smaller than at the beginning of the experiment for most stations (Kelly et al., 2004). The anchoring system was inadequate, resulting in the loss of structures under storm surge conditions. High levels of biofouling and mesh entanglement when marking the explants were deployed. Similarly, in the Caribbean region of Colombia, high survival rate was reached but overall biomass growth was only quite moderated (Ruiz et al., 2013). The hanging mesh bags method is not repeatedly suitable to reach admissible aquaculture performance.

Threaded lines seem in many cases the best compromise between easy installation and satisfactory performance (Schiefenhövel and Kunzmann, 2012). Used in Micronesia for *Coscinoderma mathewsi*, in New Zealand for *Spongia (Heterofibria) manipulatus* and in the Mediterranean for *Spongia (Spongia) agaricina*, it was indeed proved quite successful in distinct geographical locations with high survival and good adherence of sponges to the ropes (Croft, 1990; Handley et al., 2003; Kelly-Borges, 1995; Verdenal and Vacelet, 1990). Yet, exceptions may occur as mortality during aquaculture trials on the pink sponge *Dysidea avara* in the Mediterranean was the highest for explants hanged on horizontal ropes, while survival into cages offered more promising results (de Caralt et al., 2010). In the same study, authors found growth was also very low for ropes in the first six months, but a rapid increase of growth rates occurred after the tenth month until reaching similar results than cages method.

Therefore, we cannot firmly conclude on the better efficiency of this particular method, as it obviously depends of the species and location. Still, lines system remains the most commonly used technique, having proven its worth on many occasions.

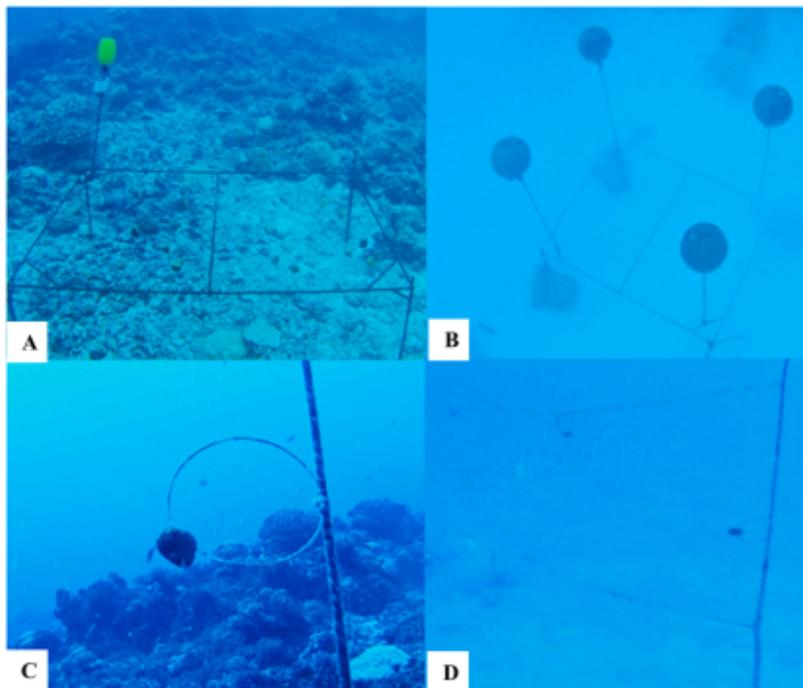


Fig. 3. Different aquaculture designs built according to the environmental context. (A) Horizontal culture frame anchored in a barrier reef, (B) Horizontal culture frame maintained by buoys in a lagoon area, (C) Vertical polypropylene ropes with nylon buckles anchored in a barrier reef, (D) Vertical polypropylene ropes with nylon buckles weighted with concrete blocks in a lagoon area.

©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO).

2.4. Material performances on growth and survival

The continuous optimization of methods has always aimed to increase production yields while reducing harvesting effort (MacMillan, 1996). The materials that make up the structures are mainly selected for their strong resistance to unstable environmental conditions, their affordability and the ease with which they can be handled and transported. Thread lines that were firstly used were raffia or vegetable ropes (Hawes et al., 2010). Still, natural fiber ropes did not seem suitable for farming activities because they degrade quickly in seawater through rotting and disintegration (Duckworth and Battershill, 2003a). Modern components have then gradually replaced the first materials, showing better performances such as nylon (Barthel, 1986), polyvinyl alcohol (PVA) with its bristly composition that promotes explants fastening and survival (Duckworth and Battershill, 2003a), polypropylene or High-Density Poly Ethylene (HDPE) rot-proof fishing ropes (de Voogd, 2007a; Loudon et al., 2007), Poly Vinyl Chloride (PVC) pipes or sheets (Hadas et al., 2005) and galvanized iron or polyethylene cable frames (Bergman et al., 2011; Verdenal and Vacelet, 1990). A new construction called "Shish Kebab Method" for the aquaculture of *D. avara*, aimed at rapidly promoting sponge growth and reducing both costs and labor (Osinga et al., 2010). PVC pins carrying *D. avara* explants and framed between parallel-pounded drilled steel bars surpassed the results obtained with nylon lines as enhancing growth, achieving 100 % survival after 4 months of culture and coming with a rapid and effective recovery of the explants. Yet, construction did not last more than a year and explants eventually detached from the frames that were found disrupted by the authors and lying on the seabed at the end. Low-carbon steel has indeed high flexibility and bending capacity that reduces construction time of the structures and better resists to dynamic loading. However, it is not resistant to seawater corrosion and outdoor exposure conditions such as galvanized iron (Safuddin, 2005; Thangavel et al., 1995). HDPE is far less affected by saline environments, but is also very expensive. Nylon nets or yarns are economical, lightweight and fairly resistant to seawater; they offered significantly higher growth performances compared to PVC nets for the cultivation of the magnificent fire sponge *Negombata magnifica* in the Red Sea (Hadas et al., 2005). Nylon twines also performed well for the mariculture trials of the grass sponge *Spongia tubulifera* and the hardhead sponge *Spongia pertusa* in the Bahamas as well as for the encrusting *Raspailia agminata* in New Zealand (Duckworth et al., 1997; Oronti et al., 2012).

In vitro survival rate has long seemed to be higher when the sponge pieces are suspended and can hang freely from their support in the water column (Barthel and Theede, 1986). Nylon threads led to more satisfactory results than when tying the explants to glass slides, another technique rarely employed but which was proved successful in some cases (Osinga et al., 1999a; Xue et al., 2009). Nevertheless, the use of nylon yarn thicker than 0.5 mm might damage sponge pinacoderm without repair for some species, leading to their impending death (MacMillan, 1996). On the contrary, a rope too thin can easily disintegrate in seawater, which may distort the results obtained for explants mortality. If choosing mesh bags, the choice of net should likewise be well considered as different and complementary criteria can directly influence the survival of sponge explants, such as the thickness of the strands and the mesh size (Duckworth and Battershill, 2003a). Yet, rather than the material itself, sponge survival could mainly depend on the species, the culture method chosen for farming trials and the total duration of the experiment, with highest mortality rates expected within the days following the excision of parental sponges (Loudon et al., 2007).

2.5. Making choices to face unsolved issues

An adequately structured sponge farming system must ensure the sustainable production of individuals for commercial success. However, there is no miracle material and choices must be balanced in the light of

the species studied and the technical or economic constraints that arise. Mariculture was considered in the past decades as the unique sustainable, well-understood and relatively cheap method to produce sponges for bioactive compounds having pharmaceutical applications (Belarbi et al., 2003b; Duckworth, 2009; Gomes et al., 2016; Koopmans et al., 2009; Murray et al., 2013; Pronzato and Manconi, 2008; Schippers et al., 2012). For the next chapter of this review, we will only consider infrastructures that have been tested in the marine environment for *in situ* mariculture.

The technique of hanging sponge to ropes has many advantages. Attaching sponges to any type of surface needs more time than simply inserting a yarn through pinacoderm, if loose enough, not to mention that it is sometimes more stressful for the animal (Barthel and Theede, 1986). Given the very encouraging results obtained with nylon yarn, in addition to its low cost and reusability, it has gradually been adopted as a key material in aquaculture constructions (de Caralt et al., 2010; Handley et al., 2003; Pérez-López et al., 2017; Sankar et al., 2016). Factors strengthening the effectiveness of the methods using lines were thus deeper investigated and the principles that follow were proved valid regardless of the mariculture design.

Ropes placed perpendicularly to the water flow should maximize its effect while attracting fewer fouling organisms (McDonald et al., 2003; Ruiz et al., 2013). Size of the explants during the initial cutting is another consideration that does seem to have an effect on aquaculture performances. Smaller explants exhibited lower growth rates than larger ones in sheltered locations from the Caribbean (Moore, 1990) and Indonesia (de Voogd, 2007b). This observation could be explained by a different ratio between damaged surface and body volume, being smaller for the largest explants which reduces stress, facilitates feeding along with promoting waste expulsion and inhalation/exhalation processes. Similarly, in New Zealand, the smallest explants experienced higher death rates and biomass loss due to a weaker ability to redirect energy into regeneration (Duckworth et al., 1997). In the same country, initial explant size did influence growth, but the effect differed depending on the location with clearly opposite trends (Kelly et al., 2004). In Australia, different survival and growth rates were registered according to the explants size at the end of a 6-months experiment using threaded lines, with larger explants (>300 cm³) better tolerating the cultivation process than the smaller ones (± 40 cm³) (Duckworth and Wolff, 2007).

Explants of *S. officinalis* featured higher growth rates when they attached completely to their fastening rope compared to unsteady ones (Verdenal and Vacelet, 1990). Releases of explants forming large holes and becoming very poorly attached (Fig. 4) have later been reported against threaded lines (Duckworth and Wolff, 2007; Osinga et al., 2010). The chemical nature of the farming supports, especially those directly in contact with the explants, should be investigated according to the species, as it could explain the adhesion or rejection of the material by the sponge (Duckworth and Battershill, 2003a).

Lastly, installations shall be kept clean and regularly removed from biological infestation. Fouling had no influence on the growth rate of *N. magnifica* explants that were suspended horizontally on cleansed nylon yarns, yet it had a significant negative impact on the development of explants in soiled net structures (Hadas et al., 2005). On a continuous basis, biofouling can be a serious problem in aquaculture systems because it increases weight and drag, reduces buoyancy of the installations and hampers seawater exchanges (Fitridge et al., 2012).

3. The environment as a major factor driving aquaculture efficiency and sponge ecophysiology

In situ growth rates can reach very high thresholds, such as 960 % within 6 months in New Zealand for *Latrunculia brevis* (Duckworth, 2001). In the same country, *Mycale hentscheli* presented an impressive annual growth of 3365 ± 812 % (Page et al., 2005). In the Eastern Mediterranean, a yearly increase of 1100 % was estimated for the pink

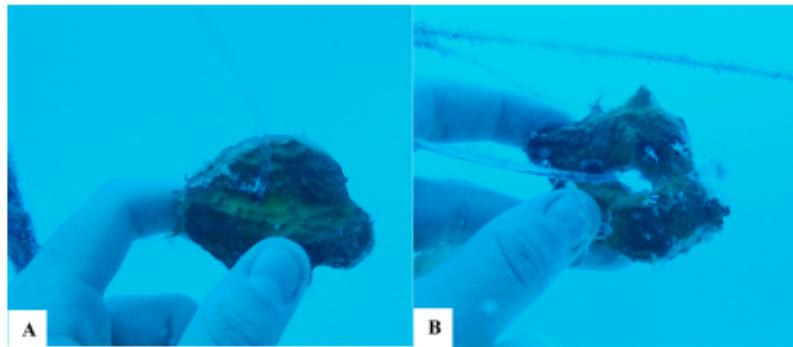


Fig. 4. Examples of different success in the attachment of sponge explants to their fastening nylon rope. (A) The explant has completely merged with its support, (B) The explant grew forming a huge hole where the yarn is passed through.
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO).

Dysidea avara (Osinga et al., 2010). Still, some results obtained for the same species are quite contrasted. Hence the importance of continuously monitoring environmental parameters (e.g. light intensity, water turbidity, current strength, temperature) applicable in the concerned regions that can be intrinsically linked to each other. As an example, exposure to seasonal ambient current is affecting respectively the planktonic concentration of the seawater column and the supply of this primary food source for the farmed sponges (Duckworth, 2001; Duckworth et al., 2004). Optimal conditions regarding these parameters, i.e. those that promote sponge growth, explants survival and the production of bioactive compounds, have been explored and will be discussed in this chapter (de Caralt et al., 2010; Duckworth et al., 1997; Duckworth, 2009; Hadas et al., 2005).

3.1. Environmental considerations for growth and survival optimization

Among localities, sponge growth and food accumulation in the environment are not following a linear relationship. Sponges are indeed sensitive to the concentration of suspended particles which, if too high, decreases their filtration rate, i.e. the volume of water expelled by the osculum per time unit (Osinga et al., 2001). Tipping points for effective sponge pumping regarding particle density are driven by abiotic factors such as depth and turbidity. Suspension of large particles is indeed favored in shallow environments, where a correlation was found between depth and oscula diameter for *Chondrosia reniformis* (Gökulp et al., 2020a). Sponges of deeper water zones featured smaller oscula but in greater numbers than those from subsurface habitats, making the last ones more efficient regarding specific pumping rates. Nevertheless, depth did not impact the metabolism, pumping capacity and growth rate of *C. reniformis*. To a lesser extent, turbidity can also affect sponge pumping rates in a negative way and filtering activity can even cease when inorganic or organic loads are high enough to obstruct the outflow and make the sponge suffocate (Gökulp et al., 2020b; Reischwig, 1971).

Sponge respiration is a process that involves a cutaneous transfer of oxygen through the skeleton. There is clear linearity between respiration rates and growth for *Halichondria panacea* (Thomassen and Riisgård, 1995) or wet weight for the Red Sea sponge *Negombata magnifica* (Hadas et al., 2008). Sponges do not compensate well the long-lasting decrease in partial oxygen pressure, especially when exposed to high suspended particles rates (Barthel and Theede, 1986; Kutti et al., 2015). Dissolved oxygen (DO) concentration in seawater thus seems an important survival parameter that could significantly affect sponge metabolism and energetics.

Light can be responsible of affecting the microbial communities associated with the sponge, especially through photosynthesis activity, and consequently the host metabolism (Wilkinson and Vacelet, 1979).

Yet, sponge cells can also directly be impacted through their inner polar compounds composition such as glucose content (de Rosa et al., 2001). Light intensity instead of temperature prevented the growth of *D. avara* in shallow water, as the species rather develops in deep locations or hide into caves when occurring close to the surface (Osinga et al., 2010). Light stimuli and current conditions appear to control demersal sponge larval settlement or post-colonization survival. Shallow-water sponge larvae display a preferential photonegative behavior to colonize dark crevices where they would face fewer predators and substrate competitors (Maldonado and Young, 1996). The negative effect of elevated UV radiation on sponge growth and survival rates, with exposition ranging from darkness to full sunlight, was early evidenced for Hawaiian specimens by Jokiel (1980) with mass mortality experienced within two days of exposure. Symptoms described by the author were broad, such as discoloration and necrosis or pinacoderm loss for the encrusting *Mycale cecilia* and the branching *Zygomycala parishii*, yet the cryptic *Chondrosia chucalla* appeared to withstand light conditions even when maximized. Similarly, Mediterranean species reacted very differently depending on their preference in natural conditions, such as a fourfold increase in growth and uniform coloration for *Verongia aerophoba* after 47 weeks of light exposure whereas *Petrosia ficiformis* specimens appeared healthier and cleaner (i.e. without sediment or filamentous covers) under opaque shields (Wilkinson and Vacelet, 1979). In New Zealand, higher survival rates were reached for *Psammocinia hawera* and *Raspailia agminata* in sheltered area compared to more exposed locations (Duckworth et al., 1997). Variation in water movement intensity between both environmental configurations could also explain this trend. In unsuitable areas with low current activity and murky waters, explants covered with sediment would most probably be unable to efficiently perform their filtering activity, thus affecting their overall growth which result hindered (Kelly et al., 2004). Yet, subtle effects of sedimentation and predation could attenuate potential detrimental UV impact on sponges, even in deep environments (Jokiel, 1980).

Combining sponge mariculture with other kind of farmed organisms can also have an impact on growth rates depending of the interaction (i.e. commensalism, competition) that they develop (de Voogd, 2007a). Indeed, a good influence of cultured mussels vicinity on growth rate of *M. hentschellii* was demonstrated when the mollusks were placed adjacent to the sponge farming system (Page et al., 2011). Sponges might benefit from the elevated nutrient release linked to the high density of macrofilters and biofoulers in a reduced area. However, biotic interaction must be cautiously favored as biofouling pressure can have a significant impact on sponge death. In fact, sessile marine animals are the most threatened by pro- or eukaryotic colonization and research on sponges has been investigating the antifouling properties of certain associated bacteria (Bovio et al., 2019; Müller et al., 2013). Placing mesh

panels at greater depths could reduce the proliferation of macroalgae or ascidians, thus reducing the frequency of monitoring and cleaning tasks (Duckworth and Wolff, 2007). In the Solomon Islands, epiphyte growth was reduced when the structures were placed near the reef slope at about 20 m deep compared to 10 m and above (Hawes et al., 2010). Evidences thus exist that biofouling is not only due to the type of designs but can also be heterogeneous depending on the environmental conditions.

3.2. Energetics budget

Sponges exhibit an impressive retention rate of small particles (<0.5 µm in size), reflecting the high performance of their filtration system and post-capture selection of preys (Beate and Hentschel, 2017; McMurray et al., 2016; Yahel et al., 2006, 2007). They can adapt their clearance rate of suspended picoplanktonic cells according to the particles size and concentration as well as seasonal factors (Gökalp et al., 2020a; Maldonado et al., 2010; Ramoino et al., 2011). Distinct energetics investments are thus required for sponge feeding activity, depending on the kind of available food uptakes. Assimilation of dissolved organic matter (DOM) by *Hallsarca caerulea* was processed within 1 h, meanwhile particulate organic matter (POM) and glucose required much more time in order to preserve the energy invested in nutrition to ensure other metabolic functions (de Goeij et al., 2008). Sponge-associated bacteria are also actively involved in DOM consumption, therefore reducing the energy investment of their host regarding this purpose (Ribes et al., 1999; Yahel et al., 2003).

Oxygen consumption is evaluated according to the respiratory rate of aerobic organisms and believed to having a crucial role in total energy expenditure dedicated to metabolic activities, i.e. digestion or growth (Barthel and Theede, 1986; Hadas et al., 2008; Hoffmann et al., 2008; Kutti et al., 2015). Cultured sponges were found to perform respiration activity at higher rates than other macrobenthos organisms sharing the same living areas (Dries, 1975; Hadas et al., 2008). Oxygen depletion by sponges increases together with the temperature, but may vary depending of the metabolic activity of the species, its morphological integrity (i.e. presence of damages or biofoulers), lifetime and size (Morganti et al., 2019; Pfannkuchen et al., 2009; Pile et al., 1997). *Haliclona pigmentifera* specimens which pinacoderm was damaged or infested by foreign biomaterial died within two days when facing anoxia (<0.3 ppm DO) and exhibited very low survival rates under hypoxic conditions (1.5–2 ppm DO) in culture flasks (Gunda and Janapala, 2009). Interestingly enough, intact sponges of the same study demonstrated the highest *in vitro* survival and adhesion to substrate under hypoxic conditions, rates being 8-fold superior than for normoxic (>4 ppm DO) settings.

The intrinsic morphology of the species also plays a role in its energetic budget dedicated to biomass gain. Dense sponges with compact spongin networks grow slower than species lacking a collagen skeleton (Kelly et al., 2004). Siliceous and calcareous sponges indeed invest less energy and resources into the spongin skeleton production, allowing higher growth rates (Duckworth and Wolff, 2007). Morphological differences are also believed to be related to the microbial abundance hold by a sponge. Sponges are indeed frequently classified into two distinct groups, being either high or low microbial abundance (HMA and LMA sponges, respectively) (Gloeckner et al., 2014; Kamke et al., 2010). HMA species usually feature a denser mesohyl and exhibit lower filtration activity (i.e. 50–90 % reduced pumping rates) than LMA sponges (Weisz et al., 2008). Differences in the aquiferous system composition are actually suggesting an evolutionary divergence between both groups, partly related to their respective symbionts. Recorded oscular outflows for video analysis revealed a positive yet site-dependent correlation between pumping rate velocity and osculum diameter (Gökalp et al., 2020b). Featuring larger oscula might help the sponge towards low food availability, but the energy required to generate a strong exhalant current matching the higher internal pressure is much greater. Hypothesis

towards the origin of sponge ability to adjust the width of the outflow system (e.g. phenotypical or genotypic adaptation) were raised and should be deeper examined. The aquiferous structure of sponges, through their oscula morphology, seems anyway to be adjustable when needed, confirming sponge metabolism as highly adaptable and commercially exploitable.

3.3. Seasonality in growth and survival rates

Seasonal variation in growth and survival have indeed been evidenced in some populations, with very different trends depending on the locations (Duckworth et al., 1997; Koopmans and Wijffels, 2008; Storr, 1964; Turon et al., 1998). Temperature was early cited as one of the factors limiting sponge biomass gain, showing ranges beyond which individuals fail to develop even if they managed to fix the structure and survive (Barthel and Theede, 1986). In temperate areas, sponge growth is generally higher at the beginning of summer with a corresponding peak in estimated energy demand (Handley et al., 2003; Kelly et al., 2004; Page et al., 2005). In tropical Australia, growth rate of *Coscino-derma* sp. was highest with increasing water temperature for cultivated explants at the end of winter (Duckworth and Wolff, 2007). This trend could be supported by the resumption of primary production and nutrient release in the euphotic zone during warmest months (Barthel, 1986; Morganti et al., 2019; van Treeck et al., 2003). Tropical changes of food abundance are poorly known and their effect on marine sponge growth, although being extensively studied, still needs deeper investigation (Duckworth, 2009; Pawlik et al., 2018; Wooster et al., 2019).

Depth impact throughout the year was proved highly contrasting in sponge farming studies. No influence of depth on growth was observed for the demosponges *M. hentschellii* in New Zealand (Page et al., 2011) or *C. reniformis* in the Eastern Mediterranean (Gökalp et al., 2020a). Depth neither affected biomass, size decrease, weight loss, size reduction and body aspect modification (i.e. from compact to stringy) of the breadcrumb sponge *H. panicea* in the Baltic Sea (Barthel, 1988). Yet, sponges placed in shallow water during the winter season in the Mediterranean Sea and Gulf of Mexico experienced a reduction in volume (Storr, 1964; Verdenal and Vacelet, 1990). In temperate waters of New Zealand and Florida, growth rates of sponges varied between depth and season as driving changes in water flow (Butler et al., 1995; Duckworth and Battershill, 2003; Duckworth et al., 2004). We infer from those results that rather investigating depth alone, it should actually be considered in association with the year period, as combined effect can prevail regarding abiotic parameters. Depth and light are for instance tightly connected and together can negatively affect phototrophic bacterial (including cyanobacteria) communities among sponge symbionts, which in turn may impact the host metabolism to an extend level (Wilkinson and Evans, 1989).

Like growth, survival might easily be driven by seasonal context such as water temperature cycles and food availability as well as bio-interactions between sponges and other life forms (Ayling, 1981, 1983; Verdenal and Vacelet, 1990). In temperate regions, such as New Zealand, survival appears to be lower in summer (from February to April) due to high water temperatures related to greater stress for sponges during transfer process (Duckworth et al., 2004). Cooler temperatures were also found to enhance survival by reducing respiration rates and stress during transportation as well as promoting pinacoderm healing while reducing microbial growth both *in vitro* and *in situ* (Butler et al., 1995; Duckworth et al., 1997, 2004; Hummel et al., 1988). Duckworth et al. (1997) monitored pinacoderm healing for temperate sponges under two different temperature conditions, respectively low (14 °C) and high (19 °C). Results in survival rates were similar to those obtained *in situ*, with better healing of cut sides occurring in cold conditions while less mortality was recorded during winter (August), independently from depth. However, in a tropical context such as Australia and despite temperature changes, no effect of seasonality on survival rates was observed (Duckworth and Wolff, 2007).

Periodic trends in survival could be positively related to the degree to which sponges are invested in reproduction (Duckworth and Battershill, 2003b; Verdenal and Vacelet, 1990). First of all, some sponges are reproducing all year around, while recruitment of new individuals for other species is highly seasonal (Duckworth and Battershill, 2001). In New Zealand, only some individuals from the local populations of sponges were active in reproduction at any given time (Ayling, 1981). Reproduction of the bath sponge *Spongia officinalis* was found higher in winter in the Mediterranean as explants shelter more larvae inside their mesohyl during this period (Corriero et al., 2004). In West Mediterranean, spring rains might reduce salinity enough to compromise the survival of farmed sponge (Ledda et al., 2014). However, in the Baltic Sea, changes in salinity had no influence on reproductive rate (Witte et al., 1994). Secondly, the reproduction investment of sponges coming from tropical ecosystems is probably more impacted under changing environmental conditions (i.e. temperature, salinity, redox potential) than for species coming from marine habitats of regular seasonal variation such as temperate, subpolar and polar oceans (Duckworth et al., 2003). Finally, biotic interactions like predation can affect reproduction and might definitely have a significant influence on survival. As an example, the short breeding period of *H. panicea* in the temperate Atlantic region was linked with a corresponding increase in abundance of a sponge predator, the nudibranch *Lamellodoris muricata* (Barthel, 1986, 1988).

Seasons thus appear as major drivers of culture performances to a broad extent of parameter likely to change during throughout the year. However, some sponge species do not show any significant annual pattern for either growth or survival, sometimes even for both (Ayling, 1983; Costa et al., 2015; Hoppe, 1988). The numerous contradictory results, depending of the organisms that were studied, highlight the existence of inter and intraspecific variation according to the environmental context (Duckworth et al., 1997; Ferretti et al., 2009; Morganti et al., 2019; Padiglia et al., 2018). Volumetric expansion and viability are highly variable between explants coming from the same individual and different hypothesis were raised to explain such trends like chemically undefended parts of the skeleton or distinct rates in cell reaggregation (Lavrov et al., 2020; Loudon et al., 2007; Pawlik et al., 1995). In a particular ecosystem, it is therefore imperative to be able to distinguish taxa and individuals that will acclimatize well from those that will not resist cultivation process. Even though this work appears difficult and risky, initiatives concerning the monitoring of parental sponges must be further developed in order to judge their performances and to select the most satisfactory.

3.4. Towards the selection of best sponge donors in a given area

Brood stock selection appeared to be an essential option since field experiments have revealed considerable variations between the annual growths of explants coming from different donors (Hawes et al., 2010; Kelly-Borges, 1995; Stevely et al., 1978; Verdenal and Vacelet, 1990). After 2 years of harvesting, it is possible to identify fast-growing individuals in the sponge population and to keep them as brood stock for the next generations (Duckworth, 2009; MacMillan, 1996). They usually consist of wild sponges growing near the farm to minimize transport time and effort (Ellis et al., 2008).

To optimize the aquaculture performance of the explants once they are cut, factors which could have a direct effect on growth or survival were sought through the rise of selective breeding. Initial size of the sponge donor does not seem to influence neither the survival nor the growth rates of its explants (Duckworth and Battershill, 2001). On the contrary, the abundance of choanocytes constitutes an important parameter regarding filtration efficiency between brood stock sponges. These monoflagellated cells contribute to the active pumping and filtering of seawater through the animal (Maldonado et al., 2010; Ramoño et al., 2011). Their number can greatly vary between two individuals coming from the same population (Duckworth, 2009).

Volumetric growth of the explants could also be concomitant with the organic content of the sponge, i.e. protein, lipid and carbohydrates concentrations, such as for the species *Haliciona cinerea* and *Halichondria panicea* from the Baltic Sea or *Negombata magnifica* from the Red Sea (Barthel, 1986; Elvin, 1979; Hadas et al., 2005). Finally, studies have revealed that explants growth can directly depends on the skeletal structure of the parental sponge (de Voogd, 2007b; Page et al., 2005). If featuring dense and compact spongin fibers network, such as for sponges belonging to the Thorectidae family (Fig. 5), explants would better bear the threading process contrarily to siliceous encrusting individuals with softer bodies (Duckworth et al., 1997; Duckworth and Battershill, 2003b; van Treeck et al., 2003).

It was observed that growth does not systematically start where the cutting was performed on the explant, leading to raising evidences of variability depending on the initial donor shape (e.g. branch-forming or compact). Shape and skeletal characteristics of sponges indeed seem to have an impact on their post-injury recovery process, such as evidenced by Loudon et al. (2007) with the two demosponges *Rhopaloeides odorabile* and *Coscinoderma* sp. coming from the same Spongiidae family yet featuring distinct morphological traits. As an example, encrusting siliceous sponges respond better to environmental damage than fibrous and massive ones (Ayling, 1983). Some parts of the sponge skeleton could perform better than others. Indeed, it was sometimes noticed that sponge growth only occurs in the tips of branches and the attachment point to substrate or shows correlation with water movement exposure (Bell and Barnes, 2000; Kaandorp and de Kluijver, 1992). On the contrary, the expansion of other species can be unpredictable and very irregular (de Voogd, 2007a; Diaz et al., 2019; Hope, 1988).

Overall, given the contrasting and unpredictable results obtained regarding the influence of key environmental factors on different sponge species culturing, no measure should systematically be excluded from experiments based on previous outcomes. Favorable conditions such as adequate water movement, correct illumination and non-detrimental temperature ranges can even differ on small geographical scales (Duckworth et al., 1997). Along with the environment, it is clear that a regular monitoring of sponge physiological traits and metabolism is essential to assess the effectiveness of the devices over time. Besides the control of the explants, surrounding populations are studied to assess the differences in their performance as brood stock, answering important biological and ecological questions. Still, for sponges dedicated to drug development, the purpose of launching an aquaculture system remains the production of secondary metabolites in sufficient amounts for the activity to be viable. That is why, for those species, chemical properties are very important to understand both from sponges and from their associated organisms such as symbiotic bacteria. In the last part of this review, we will consider the sponges directed towards chemical valorization and the essential parameters likely to change their production and concentration of bioactive compounds.

4. Considerations regarding sponge or sponge-derived chemical bioproducts exploitation

4.1. Sponge metabolites in the marine natural products industry

It is acknowledged that sponges, along with their microbial communities, have the highest bioactivity spectrum from all marine invertebrates (Rangel and Falkenberg, 2015). Marine sponges and sponge-associated microorganisms enzymes that can generate multiple compounds due their metabolic plasticity and ability to synthesize many synthase enzymes (Caroll et al., 2019; Debbab et al., 2010; Yong et al., 2008). Secondary metabolites are indeed sometimes present in astonishing diversity and quantities (Ogunola and Onada, 2016; Sim and Bakus, 1986). Regardless of their proper origin, such substances are useful as protection against diseases or infections (Indraningrat et al., 2016; Sipkema et al., 2005a), biofouling (Proksch, 1994) predation (Bakus and Green, 1974; Becerro et al., 1997; Pawlik et al., 1995;

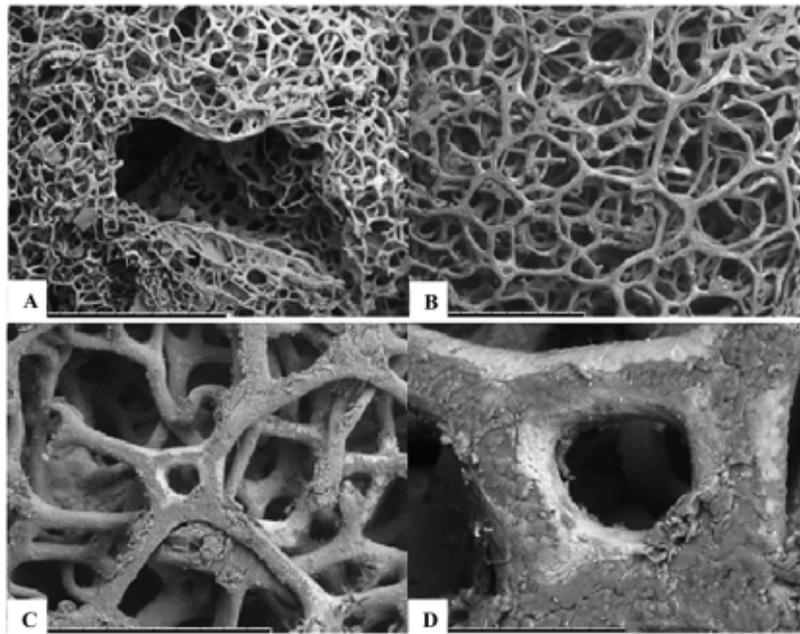


Fig. 5. Details of spongin fibers from a tropical demosponge species. Pictures were taken under scanning electron microscope. Scale bars: (A) 2 mm, (B) 1 mm, (C) 500 μm , (D) 100 μm .

©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO).

Thomas et al., 2010) or towards competition for an increase of the living space available (de Voogd et al., 2003; Pawlik et al., 2007; Suchanek et al., 1983).

Genes sequencing following DNA/RNA extractions of sponge or bacterial isolates provide information on potential analogous species with similar bioactivity patterns in a common geographical area (Wilson et al., 2014). Phylogenetic analyses of gene fragments, such as conducted with *Ancorina alata*, *Polymastia* sp. and *Diacarnus erythraeus*, provided insights to microbial activity revealing sponge-specific lineages and evidenced possible vertical transmission of bacterial communities, as many were also present in the sponge larvae (Bergman et al., 2011). Glycogen, lipid and protein contents can also be good indicators of both metabolic activity and symbiotic characterization. The lipid composition of sponge yolk may either favor or restraint larval survival, settlement and development, as well as the subsequent expression of metabolites against sympatric predators as it was early evidenced for *Mycale laxissima* (Lindquist and Hay, 1996). In Antarctica, *Mycale acerata* lipid-enriched yolk provided a clear energetic adaptation of the sponge larvae towards low food availability compared to a species of the same genus coming from the Caribbean, *Mycale laevis*, whose yolk lipid content was only 30 % (Riesgo Gil et al., 2015). Some proteins were found potentially involved into the membrane crossing of biological substances, including metabolites of interest with pharmacological properties such as aerophobin-2 binding proteins found in cell membranes of the Mediterranean sponge *Aplysina aerophoba* (Proksch et al., 2010). Similar components can also induce the expression of key genes mediating the appropriate colonization of the sponge pinacoderm by bacterial communities (Pita et al., 2013). As many microorganisms were proved actively involved in metabolites production, proper genetic grounds can ensure correct biosynthesis of natural compounds.

Generally, secondary metabolites are directly searched within the sponge or sponge-associated organic extracts (Hertiani et al., 2010; Höller et al., 2000; Unson et al., 1994; Yong et al., 2008). For sponges dedicated to drug development, bioactivity tests are numerous. As an

example, a possible test for anti-cancer applications is to assess the concentration of metabolites required to reduce the growth of mouse tumour cell lines by 50 % compared to control (Duckworth and Battershill, 2001; Frank et al., 2019; Pettit et al., 1994; Zhang et al., 2017). In addition, antimicrobial activity of the compounds can be tested against marine benthic bacteria, including pathogenic strains for humans or aquaculture organisms (Liu et al., 2017; Mohan et al., 2016; Wright et al., 1987).

Still, when considering chemical exploitation, many constraints are faced. The time required to obtain sufficient biomass to perform meaningful extraction processes and clinical trials can take decades, requiring numerous expensive steps (Carballo et al., 2009). As an example, antitumoral halichondrin B that can be isolated from the New Zealand sponge *Lissodendoryx* sp. requires more than 100 steps towards its complete synthesis and, being optimistic, 7000 tons of the sponge would be required to treat only a quarter of diagnosed melanoma patients in the world while barely few hundreds of tons are known to exist in nature (Sipkema et al., 2005b). Same authors calculated that 75 tons of the Mediterranean *Dysidea avara* would be needed on a yearly basis to cure 10 % of psoriasis patients in Europe and North America only, through the 20-steps synthesis of avarol. Delivery issues can arise, such as if the sponge has to be exported frozen. Ensuring the cold chain continuity between remote locations remains a major challenge. Lyophilization can be a solution for transportability needs, but might also be expensive and damaging to the molecules. Bioreactors can be employed as *in vivo* culture systems and successful operations were already reported with *Pseudosuberites andrewsi* (Osinga et al., 2003). Nevertheless, authors warned about the need of a continuous monitoring of ambient food concentrations, as filtration activity of sponges was found enhanced when placed into the system. Because pharmaceutical companies require continuous significant quantities, the need to maintain a regular production of natural compounds throughout the year made scientists wonder about the factors that can balance the sponge production of metabolites *in situ*.

4.2. Culturing parameters, ecophysiological factors and seasonality driving bioactive compounds concentration

Production of various metabolites is known to increase compared to wild populations when sponges are enduring mariculture operations (Duckworth, 2001; Duckworth and Battershill, 2003a; Hadas et al., 2005; Osinga et al., 2010). Indeed, the use of artificial material and initial damages probably generate a defensive response of the organism towards chemical aggression, sometimes including higher rates of metabolites synthesis.

In the study of Ruiz et al. (2013), the hanging mesh bags method had a positive influence on the concentration of bioactive metabolite discodermolide from *Discodermia dissoluta* explants, which increased of about one-third during the 6-month experiment. Yet, compared to donor sponges with initially high concentrations, farmed explants exhibited lower yields of discodermolide. Differences may be due to the aquaculture treatment. The demosponge *Dysidea avara* was farmed for 10 months using the horizontal ropes method, which was found to enhance the bioactivity of the explants compared to cages or attachment to artificial substrates placed at a similar depth of 8 m (de Caralt et al., 2010). Yet, no effect of farming structures on the bioactivity of the explants was found for *Latrunculia wellingtonensis* and *Polymastia crocea* (Duckworth and Battershill, 2003b). Both mesh arrays and hanging ropes seemed suitable methods and choices should therefore be made regarding the nature of the sponge itself (i.e. composition of the skeleton). Similarly, the culturing depth did not limit the bioactivity of *Mycale hentschellii* explants for the production of peloruside A (Page et al., 2011).

Bioactivity can also be affected by sponge size, although literature remains very scarce regarding this matter. Explants taken from the red encrusting sponge *Crambe crambe* exhibited more biologically active profile in the case of medium-sized parental individuals (Becerro et al., 1995). Actually, sponges of dimensions <1000 mm² or >10,000 mm² reached notably lower toxicity rates although no qualitative differences were assessed in terms of compounds structure. A given explanation is that smallest specimens might invest more energy into growth than defense purposes and biggest ones should promote reproduction activity over metabolites production (Uriz et al., 1995). More studies shall indeed be needed to strengthen this interesting pattern. Yet, one must ensure to establish limited explants volumes so as to allow various replicates from the same donor sponge without being lethal, especially if the adult form of the species do not reach large dimensions or the sponge is considered endangered.

Bioactivity of farmed explants was found species-dependent, being sometimes similar over time (Duckworth, 2001). Yet, seasonal and temporal variations in biochemical composition of marine sponges have long been demonstrated (Barthel, 1986; Elvin, 1976; Storr, 1976; Thompson et al., 1985). In temperate regions, concentrations of metabolites are mostly lower in winter and they increase in late spring/early summer (Ivanisevic et al., 2011; Sacristán-Soriano et al., 2012). A peak, which period varies depending of the species concerned, is usually reached as temperature increases (Sacristán-Soriano et al., 2012). This is in agreement with Elvin (1979) who validated the relation between the biochemical composition of the purple encrusting sponge *Haliclona permollis* and its reproductive cycle. In tropical regions, highest concentrations were recorded during spring for *Latrunculia* sp. (Duckworth and Battershill, 2001) and *M. hentschellii* (Page et al., 2005, 2011) but toxicity was enhanced in summer for *Haliclona* sp. (Abdo et al., 2007).

Yet, results of metabolites concentration vary considerably from one species to another (Turon et al., 2009). If seasonal bioactivity patterns to prevent biofouling or predation have been identified for some sponges, biosynthesis of compounds in others showed no variation due to environmental conditions (Duckworth and Battershill, 2001; Duckworth et al., 2004). Those results have led to a recent interest in the study of "sponge chemotypes" to find the more suitable donors and select them towards the optimization of natural product yields (Page et al., 2011).

4.3. The role of marine sponge symbionts in metabolites production

Sponges are known as great reservoirs of marine microbes of up to 63 different phyla, undoubtedly allowing their exceptional diversity worldwide (Molinho-Silva et al., 2017; Thomas et al., 2016; Webster et al., 2010). Most abundant groups that can be found include Proteobacteria, Actinobacteria and Cyanobacteria, the latter being perhaps one of the oldest forms of microbial interactions with multicellular animals (Beate and Hentschel, 2017; Webster and Thomas, 2016). Research aimed at studying the microbiome of marine sponges from very different distribution areas is increasing to assess its role on growth and survival parameters. Examples of universal sponge microbiota studies are numerous, such as for the Indo-Pacific *Dactylospongia metachromia*, the Great Barrier Reef *Rhopaloides odorabile*, the Mediterranean *Aplysina aerophoba*, the breadcrumb sponge *Halichondria panicea* from the North Sea and the tubular dome sponge *Theonella swinhoei* from Israel in the Red Sea (Hentschel et al., 2001; In-Hye and Jin-Sook, 2013; Mori et al., 2018; Webster and Hill, 2001; Wichels et al., 2006).

Symbionts are acquired through horizontal and vertical transmissions within the sponge body (Tout et al., 2017). They mostly live either closed to the choanocyte chambers located inside the sponge mesohyl or directly beneath the pinacoderm, where they can perform their phototrophic activity as being exposed to the sunlight (Webster and Thomas, 2016). Sponge symbionts are believed to feed on discarded cells and other elements coming from the mesohyl of their host (Slaby et al., 2017). In exchange, they might play a key role in pinacoderm cleaning and healing as well as ensuring global health functions (Liu et al., 2017). Seemingly defenseless sponges that are lacking protective crystalline spikes or "spicules" mostly rely on the symbiotic interactions they develop with their specific microbiome for chemical protection, as the bioactive metabolites it releases often show antibacterial activities against marine or even human pathogens (Bewley and Faulkner, 1998; Faulkner et al., 1993; Piel, 2004; Proksch, 1994). This way, they could limit the formation of harmful biofilms through the activation of bacterial chemoreceptors (Amsler and Iken, 2001; Kelly et al., 2003). Some of the bioactive compounds generated by cyanobacterial symbionts can account for over an impressive 10 % of the sponge dry weight (Schorn et al., 2019).

Interestingly enough, studies have highlighted that some marine natural products of chemical interest found in sponges have outstanding analogies to those produced by their symbiotic microorganisms, indicating metabolic synergy between the organisms (Fan et al., 2012; Liu et al., 2012; Piel et al., 2004; Proksch et al., 2002; Thiel and Imhoff, 2003; Reiter et al., 2020). Investigations aimed at assessing whether the microbiome itself is partly responsible for maintaining the symbiosis process revealed an effective role of symbionts towards the sponge-microbial chemotaxis (Tout et al., 2017). Some of the bioactive natural compounds found in marine sponges are actually imported into or synthesized by their endosymbiotic communities and have a wide range of applications like anticancer or antibiotic activities (Agarwal et al., 2017; Hentschel et al., 2012; Indraningrat et al., 2016; Thomas et al., 2010; Webster and Thomas, 2016). Hundreds of bioactive metabolites have been isolated so far from sponge-associated marine fungi or bacteria (Blunt et al., 2018; Frank et al., 2019). Those discoveries are of great importance when considering pharmaceutical valorization or reasoning sponge aquaculture. Indeed, given the recent advances of microbiological biosynthesis and efforts deployed to overcome difficulties in culturing some symbionts (Erpenbeck and van Soest, 2007; Karthik and Li, 2019; Schorn et al., 2019), we accredit that isolating and producing marine bacteria should be preferred when possible as a long-term solution over trials to obtain sponge material from the sea.

Great challenges are facing the attribution of marine natural products in a symbiotic interaction to a particular organism, as the origin of a same compound can be of multiple sources (Mori et al., 2018). The great variability of natural compounds production among sponges is making their biochemical activity difficult to study because stability is often

required for the chemotaxonomy to be accurate (Cárdenas, 2016). Multiple factors can be apprehended as potential causes of contrasted bioactivity patterns among sponges, including the possible shifting of symbionts between hosts that was cited as "sponge-sponge contamination" (Erpenbeck and van Soest, 2007). Biotic or abiotic signals can either initiate or stop the production of natural compounds for defensive purposes. The abundance and diversity of microsymbionts are also either favoring or lessening the output of metabolites precursors. Several sponge species rather depend on one symbiont in particular for biochemical defense than a whole community of bacterial strains (Schom et al., 2019). Indeed, symbiont richness and activity are highly heterogeneous depending on the sponge species and its environment (Kamke et al., 2010). Moreover, it can be related to existing farming activities. During some sponge farming trials, bacterial populations varied significantly between aquaculture and wild specimens. Microbial diversity of the loggerhead sponge *Ircinia strobilina* and the vase sponge *Mycale laxissima* increased when individuals were moved into cultivation process (Mohamed et al., 2008a, 2008b). The need to look for possible functional redundancy and equivalence among sponge-associated microorganisms was early suggested and, as it was evidenced for the intertidal *Hymeniacidon heliophila*, appears of major importance today to apprehend sponge holobionte vulnerability and resilience towards changing environmental conditions (Fan et al., 2013; Weigel and Erwin, 2017; Webster and Thomas, 2016).

5. Conclusions and recommendations

5.1. Technicity and performance

To meet commercial production requirements, farming systems must therefore be inexpensive, easy to install and maintain within a minimum surface area to reduce the risk of instability and biofouling. Because mesh grids did not meet these later requirements, they were gradually abandoned in favor of nylon ropes simply threaded through explants (de Voogd, 2007b; Duckworth, 2001). Regular net changes, delicate scrubbing of harmful biofilms on sponges or structures, the moderate use of non-toxic surface coatings and an increase in the accessibility of farming facilities to herbivorous organisms could help reduce the spread of biofouling among cultured stocks (Fitzridge et al., 2012). There is also the absolute need of permanently maintaining sponges underwater during each farming operation. Sponges need well-aerated marine habitats without frequent oxygen depletion leading to hypoxic conditions they do not always recover from (Barthel and Theede, 1986; Chu et al., 2018). This fact justifies the design of suspended ropes or loops, where the explants are directly exposed to the perpendicular water flow.

Even if authors sometimes concur on better technical performances, results of the literature are highly dependent on species and geographical context. Studies rightly emphasize that different species require different aquaculture design to maximize growth and survival rates (de Voogd, 2007b; Osinga et al., 2010). Responses to a particular treatment also differ according to the region along with the species diversity it hosts. Intra and interannual variations in marine sponge diversity can be highly contrasting depending on the studied area, with local events of massive mortality reported (Bell and Smith, 2004; Carballo et al., 2009; Cebrian et al., 2011; Ereskovsky et al., 2019). Threatened and endangered species should therefore be avoided, or considered very sparingly and treated carefully to ensure that their population density is not overused later, as possibility of extinction shall never be completely withdrawn (Müller, 1998). Those facts emphasize the need to monitor trends in wild populations, especially those with strong aquaculture potential, in relation to their environmental context.

Growth rates should increase over time, survival should be high and associated with a stable bacterial community, and metabolites production should be constant during the farming process (Bergman et al., 2011). Final survival rate shall exceed 90 % and the size of farmed sponges must at least double each year to guarantee commercial success

(Duckworth and Wolff, 2007). However, no general rule can be applied for all cultivable species, as growth is not linear but generally subject to wide variations over time (Verdenal and Vacelet, 1990). The differences in individual growth rates might be partially explained by the fact that some sponges may invest more energy in reproduction than in biomass expansion (Duckworth and Battershill, 2001).

It is our belief that commercial sponge farming must be carried out in compliance with essential points. The optimal model of sponge rearing is always context-specific, including both the design of mariculture and the selection of breeding individuals. Therefore, it requires specific investigation and research programs, established in a preliminarily manner to ensure a minimum of negative influence on the local economy and ecology.

The aquaculture industry shall contribute to the economic development and social well-being of the local people. Ongoing dialogue with local populations is essential to establish and must be conducted carefully to ensure sustainability. Economic return has to be sufficient for the harvesting and farming to be viable over time (Hawes et al., 2010). In addition, all legislative perspectives should be taken into account including access, ownership, operating rights and safety issues. Finally, the activity must be environmentally sustainable, balancing economic and social gains against environmental costs within an explicit regulatory framework. Environmental impacts on targeted and adjacent habitats should be addressed. An effective management includes monitoring ambient parameters and maintaining the performance of technical facilities.

5.2. Environmental and physiological investigation

General observations of environmental parameters could be useful in predicting zootechnical trends (Turon et al., 1996). Salinity, temperature, oxygen and water exchange (sometimes referred as habitat "openness") are among the essential parameters to evaluate in order to estimate the probability of sponge species growth and survival (Ledda et al., 2014; Longo et al., 2016; Osinga et al., 1999b). Their continuous monitoring, such as through the use of wireless sensor networks or remotely operated vehicles equipped with modules linked to an online monitoring program, is thus helpful when selecting a species for farming in a particular environment (Simbeye et al., 2014; Parra et al., 2018). Furthermore, they have an impact on sponge microbiota, which are actively involved in both the production/release of metabolites and the general health of sponges (Borchert et al., 2016; Erwin et al., 2012; Pita et al., 2018; Unson et al., 1994; Webster et al., 2008).

For site selection towards farming trials, other criteria shall be assessed such as light exposure, weather conditions and seabed substrate. In contrasting biotopes, sponges are facing different challenges towards acclimation (e.g. reduced light intensity, sedimentation rate, sanding cover proportion). Rather than depth, which effect was proven highly circumstantial, the stability of surrounding environmental factors seems essential for sponge distribution and species richness (Hawes et al., 2010; Longo et al., 2016; Padiglia et al., 2018). The environmental context is undoubtedly responsible for the partition and discontinuities in Porifera community composition, depending on the species metabolic requirements (e.g. photophilous taxa that grow better when exposed to strong light) and ability to disperse once settled. Sponge energetics dedicated to metabolism is highly context-dependent and, although directly affecting vital requirements, difficult to estimate with accuracy (Duckworth et al., 2003; Gatti et al., 2002). In the context of highly variable interspecific responses of sponges to a broad spectrum of environmental factors, our belief is that starting an aquaculture design close or directly within the habitat of natural sponge populations should be prioritized whenever possible.

Sponge feeding requirements such as food types and concentrations are subject to a major research effort aimed at understanding their role in growth (Osinga et al., 1999). The concentration of chlorophyll-a was selected as a good indicator of food accessibility, attributed to

phytoplankton on which many marine sponges feed (Duckworth and Pomponi, 2005; Ribes et al., 1999). Bacteria and microalgae represent another important food source for those organisms (Barthel and Theede, 1986; de Caralt et al., 2003; Lesser, 2006; Osinga et al., 2001) but so are particulate and dissolved organic matter to a lesser extent (de Goeij et al., 2008; Ramoimo et al., 2011). Sponge ability to retain DOM, also known as “sponge loop” in the food chain, modulates nutrient fluxes and emphasizes the importance of sponges in benthic-pelagic coupling (de Goeij et al., 2017; Maldonado et al., 2012). Sponges have access to these microparticles by the prevalent ocean currents, which actively contribute to the availability of the planktonic food otherwise remaining away from the pinacoderm (Leichter and Witman, 1997; Palumbi, 1984). Accessibility of seawater column components, their size and digestibility are key limiting factors regarding sponge feeding activity (Ledda et al., 2014; Maldonado et al., 2010; Yahel et al., 2006). We assume those are important parameters to assess prior to large-scale aquaculture launching. Radiometric measurements or bio-optical imagery, through the acquisition of reflectance spectra from satellites or multi spectral imagers, have already given very promising results in the monitoring of phytoplanktonic biomass applied to suspension feeders farming, including when facing turbid waters (Gernez et al., 2017; Soriano-González et al., 2019).

5.3. Metabolites production

Artificial synthesis of metabolites or related analogues can be a secure source of natural compounds supply, independently from natural and geopolitical hazards. Still, synthetic chemistry comes with elevated costs and long proceedings, thus securing a strong potential for natural substances in the pharmacological market. *In situ* metabolites production yet comes with prior performances that need to be satisfied regarding consecutive aquaculture exploitation. Sponges must feature high growth and survival rates in order to be commercially exploitable for marine natural products industry (Duckworth et al., 1997). Then, concentration of targeted compounds within the explants shall be either stable or increasing through the aquaculture process for the valorization of natural populations. To perform efficient chemistry lab work in establishing the origin of the compounds or investigating their applications, the presence of secondary metabolites in sponge extracts must be ensured in the largest possible quantity. Hence the importance of an adequate brood stock selection, with donors featuring both fast growth and high production rates for the secondary metabolites of interest. Continuous monitoring of sponge biochemical activity should thus be recommended when trying to understand the changes in metabolites production of the explants throughout the year and between different habitats. It can also help to observe whether if the initial location of the explant on the donor has an influence on the subsequent concentration of natural compounds or not. Nevertheless, in some cases a viable prospect of sponges for drug development is probably only achievable if the expected quantities of chemicals are small enough to be reachable (de Voogd, 2007a).

Growth and sponge chemotype are two intraspecific parameters that were proved highly variable (Becerro et al., 1995; Page et al., 2011). This variability among individuals is believed to be mostly due to inherent metabolism (i.e. energetic reserves), choanocyte chambers number and organization within the sponge body as well as external variables from the surrounding environment (Becerro et al., 1995; de Voogd, 2007a; Verdenal and Vacelet, 1990). Farmed explants and wild organisms can differ in bioactivity due to individual responses to damage and defense strategies (Duckworth, 2001). Variations in food abundance that might be occurring throughout the year with more or less perceivable patterns also play a role in sponge natural products biosynthesis (Duckworth et al., 2003). Not to be forgotten, the design of the installations itself can influence the release of chemical substances by the organism. The fact that some farmed species have revealed a higher synthesis of biologically active metabolites than uncut ones is very encouraging for the future development of sponge mariculture

towards drug development (Duckworth and Battershill, 2003a).

5.4. Microbial associations

Relationships between sponges and the symbionts they host are driven by numerous factors, including biometric (i.e. microbiome density and composition) and environmental considerations (Ramsey et al., 2011). Most of the sponge endosymbionts are either generalists or specialists showing amensal and/or commensal interactions, compared to a lower proportion of opportunists (Thomas et al., 2016). Yet, although microbial associations within sponges exist worldwide, the biomolecular processes driving those interactions remain insufficiently identified (Bart et al., 2020; Bewley and Faulkner, 1998; Lurgi et al., 2019; Taylor et al., 2007). Genes involved in microbial defense against free alien DNA or sponge matrix colonization and utilization were found highly abundant in many endosymbiotic genomes (Slaby et al., 2017). Deeper investigation into both microbial community and sponge amplicon sequencing are required to improve our understanding of the inter-specific interactions and genomic considerations leading to metabolites biosynthesis (Webster and Thomas, 2016).

Today, genomic tools such as PCR combined with metabolomics are allowing deeper research in finding the biosynthetic abilities of these microbes (Harvey et al., 2015; Wilson et al., 2014). Techniques like bacterial co-cultivation, NMR spectroscopy, microbiome sequencing and cell sorting allow to express silent genetic assemblages and sometimes to discriminate natural bioactive compounds to either the sponge itself or its numerous symbionts (Agarwal et al., 2017; Brakhage and Schroeckh, 2011; Crawford and Clardy, 2011). Still, assessing the real origin of the metabolites isolated from sponge extracts remains challenging as the chemical range of products they harbor is extremely broad while the amounts produced are often scarce (Mori et al., 2018; Reiter et al., 2020; Schorn et al., 2019). Complex and analogous genes are indeed hard to identify without doubts. Moreover, symbionts are difficult to remove safely from the sponge without deteriorating it, making the hypothesis of obligate symbiosis interactions largely acknowledged nowadays. Regarding endosymbionts cultivation, some of them were actually found difficult to grow *in vitro*, suggesting that they can be incapable of living outside their sponge host (Hinde et al., 1994; Webster and Thomas, 2016). For the past decade, extensive research has been done to overcome cultivation issues of bacteria isolated from sponges, such as testing different growth conditions (i.e. temperature, light and oxygen gradients for storage and incubation) and oligotrophic media sometimes supplied with antibiotics for many species such as *Haliclona* (Gellius) sp., *Aplysina aerophoba*, *Corticium candelabrum* and *Petrosia ficiformis* (Gutleben et al., 2020; Sipkema et al., 2011; Versluis et al., 2017). Still, today entire Phyla are exclusively constituted by uncultivated bacteria (Reiter et al., 2020). In fact, the sponge matrix remains a unique, highly specific environment that is problematic to recreate without imperfections and uncertainty regarding the future synthesis of metabolites by isolated symbionts (Unson et al., 1994). Finally, genes that are not implicated in metabolic pathways such as those dedicated to growth or cell specialization might not be expressed under artificial conditions (Hertweck, 2009).

5.5. Other prospects of sponge mariculture valorization

Aquaculture of sponges is currently still a great opportunity to provide sustainable sources of marine organisms and secondary metabolites until structure elucidation has been completed (Martins et al., 2014; Page et al., 2011). Yet, the trace amounts of natural compounds present in sponge extracts as well as the ecological and economic constraints that were addressed for the most part in this study are making natural drugs development highly challenging. Current leads still need to be encouraged and supported by the establishment of more sustainable and efficient supply methods (de Voogd, 2007a). Species featuring high yields of the needed compounds are to be prioritized into research

investigation and selection as they do not need to be massively collected to fulfill biomass requirements (Binnewerg et al., 2020). A realistic bioeconomical study of active molecules production based on the sponge model retained should systematically be addressed for each compound in compliance, if available, with its current market price. Also, various prospects to enhance the attraction for sponge mariculture towards drug development shall be more investigated in the future, as it is facing major concurrency with *in vitro* alternative techniques.

Different aspects of sponge valorization through *in situ* farming activities are being raised, such as collagen or chitin production, nutrient cycling and nutrient loading reduction in polluted areas compared to pristine sites (Binnewerg et al., 2020; Fassini et al., 2020; Ledda et al., 2014). Firstly, as the many contributions of organic collagen to human society were assessed (Silva et al., 2014), it would be of interest to explore more deeply the link between sponge mariculture process (i.e. installations design and experiment time) and the synthesis of these ubiquitously abundant proteins. As for chitinous scaffolds, they also have an extremely wide range of applications such as biocompatible cellular matrices for tissue engineering and regenerative medicine, adsorbents to intercept pollutants or suitable framework for metal deposition (Binnewerg et al., 2020; Khrunyk et al., 2020; Klinger et al., 2019; Petrenko et al., 2017; Tsurkan et al., 2020; Wysokowski et al., 2015). Multiple chitin representatives from those sponges often come with specific compounds, named bromotyrosines, which are recognized bioactive metabolites and antibacterial agents with cytotoxic properties (Drechsel et al., 2020; Kovalchuk et al., 2019; Kunze et al., 2013; Muzychka et al., 2021). Last but not least, spongin scaffolds were recently found useful in extreme biomimetics when creating 3D composites that proved thermally stable and are preserving the structural features of natural biopolymers (Petrenko et al., 2019; Szatkowski et al., 2017; Tsurkan et al., 2020).

In addition, exploiting the renewal of nutrients fluxes by sponge is believed to be a suitable strategy, especially in reef habitats where sponges covering areas in the exposed or cryptic surfaces can be broad (de Goeij et al., 2008). Moreover, sponge renowned filtering capacity and ability to adjust it depending on specific metabolic requirements is of major interest regarding the decay of microparticles loads from polluted waters (Gökulp et al., 2020c; Stabili et al., 2006). Sponge bioremediation was tested close to contaminated sources and proved effective, as growth rates were enhanced compared to pristine sites (Gökulp et al., 2020a; Osinga et al., 2010). Sponges are indeed counting among the most efficient marine macrofilter feeders, being able to accumulate and chemically transform many substances including organic particles from wastewater (Gifford et al., 2006; Ledda et al., 2014; Pawlik and McMurray, 2019). As sponges select their food through complex and multifactorial processes, insurance of sponge feeding on the targeted microbes must be firstly established to avoid unwanted proliferation of opportunistic pathogens (Gökulp et al., 2020c; Maldonado et al., 2010). Focusing on sponge inherent skeletal frameworks might provide a promising new lead, as some sponge-derived chitin scaffolds have already shown absorbing properties against heavy metals such as uranium (Khrunyk et al., 2020; Schleuter et al., 2013). Exploiting sponges as bioremediators through mariculture systems thus appears as a great way to mitigate urban or agricultural pollution and should be discussed when reasoning the development of aquaculture infrastructures. Efforts still need to be addressed to apprehend sponge removal efficiency towards more contextual microorganisms, such as specific marine pathogens including those which develop as a result of locally intensive aquaculture.

Lastly, integrated aquaculture should also be seen as a way to obtain sponge-associated natural products while avoiding common monoculture outbreaks (i.e. diseases or pest infestation) and reasoned adequately for the sponges to benefit from the co-culture releases (Milanese et al., 2003; Page et al., 2011). Because sponges modify their diet according to the food types available, they can well compete with marine metazoans and especially other filter-feeding invertebrates for

food accessibility (Perea-Blázquez et al., 2013; Ribes et al., 1999; Thomassen and Riisgård, 1995). This singular capacity can favor the farming process of marine sponge species in combination with other aquaculture productions, depending on the local availability of the food source.

CRedit authorship contribution statement

Mathilde Maslin: Writing - Original draft, Writing - Review & Editing, Visualization. Nabila Gaertner-Mazouni, Cécile Debitus: Writing - Original draft, Project administration, Funding acquisition. Nicole De Voogd, Raimana Ho: Writing - Original draft, Supervision.

Data Availability Statement

Data sharing not applicable
No new data were created or analyzed in this study. Data sharing is not applicable to this article.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

This work was supported by the "Direction des Ressources Marines", French Polynesia (grant number 08858/VP/DRMM) and the Government of French Polynesia (grant number no 3299/MTF). Mathilde Maslin was supported by a PhD fellowship from the French "Ministère de l'Enseignement Supérieur, de la Recherche et de l'Innovation" at the University of French Polynesia. We want to state that funding sources were not involved in study design, data analysis and interpretation or in the writing of this review.

References

- Abarzua, S., Jakubowski, S., 1995. Biotechnological investigation for the prevention of biofouling. I. Biological and biochemical principles for the prevention of biofouling. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 123, 301–312. <https://doi.org/10.3354/meps123301>.
- Abdo, D.A., Motti, C.A., Battershill, C.N., Harvey, E.S., 2007. Temperature and spatiotemporal variability of salkylalhamide A in the sponge *Haliclona* sp. *J. Chem. Ecol.* 33, 1635–1645. <https://doi.org/10.1007/s10886-007-9326-x>.
- Adams, C., Stevely, J.M., Sweat, D., 1995. Economic feasibility of small-scale sponge farming in Pohnpei, Federated States of Micronesia. *J. World Aquacult. Soc.* 26, 132–142. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1995.tb00236.x>.
- Adams, T., Bell, J., Labrosse, P., 2001. Current status of aquaculture in the Pacific Islands. In: Subasinghe, R.P., Bueno, P., Phillips, M.J., Hough, C., McGladdery, S.E., Arthur, S.R. (Eds.), *Aquaculture in the Third Millennium*, Technical Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium. Bangkok, Thailand.
- Agarwal, V., Blanton, J.M., Podell, S., Taton, A., Schorn, M.A., Busch, J., et al., 2017. Metagenomic discovery of polybrominated diphenyl ether biosynthesis by marine sponges. *Nat. Chem. Biol.* 13, 537–543. <https://doi.org/10.1038/nchembio.2330>.
- Aguila-Ramirez, R.N., Hernandez-Guerrero, C.J., Gonzalez-Acosta, B., Id-Daoud, G., Hewitt, S., Pope, J., et al., 2014. Antifouling activity of symbiotic bacteria from sponge *Aplysina Gerardus*. *Int. Biodeterior. Biodegradation* 90, 64–70. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2014.02.003>.
- Alexander, B.E., Liebrand, K., Osinga, R., van der Geest, H.G., Admiraal, W., Cleutjens, J. P.M., et al., 2014. Cell turnover and detritus production in marine sponges from tropical and temperate benthic ecosystems. *PLoS One* 9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109486>.
- Alves, C., Silva, J., Pinteus, S., Gaspar, H., Alpoim, M.C., Botana, L.M., et al., 2018. From marine origin to therapeutics: the antitumor potential of marine algae-derived compounds. *Front. Pharmacol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00777>.
- Amsler, C.D., Iken, K.B., 2001. Chemokinesis and chemotaxis in marine bacteria and algae. In: McClintock, J.B., Baker, B.J. (Eds.), *Marine Chemical Ecology*. CRC Press, Washington, DC.
- Ayling, A.M., 1981. The role of biological disturbance in temperate subtidal encrusting communities. *Ecology* 62, 830–847. <https://doi.org/10.2307/1937749>.
- Ayling, A.L., 1983. Growth and regeneration rates in thinly encrusting Demospongiae from temperate waters. *Biol. Bull.* 165, 343–352. <https://doi.org/10.2307/1541200>.
- Bakus, G.J., Green, G., 1974. Toxicity in sponges and holothurians: a geographic pattern. *Science* 185, 951–953. <https://doi.org/10.1126/science.185.4155.951>.

- Balakrishnan, S., 2017. Culturing of epidermal cells by manipulating the mechanism of regeneration in sponges and extraction of antibiotics from marine sponges of Bay of Bengal. *World J. Pharm. Pharm. Sci.* 6, 2358–2388. <https://doi.org/10.20959/wjpps20178-9480>.
- Bart, M.C., de Kluijver, A., Hoetjes, S., Absalah, S., Mueller, B., Kenchington, E., et al., 2020. Differential processing of dissolved and particulate organic matter by deep-sea sponges and their microbial symbionts. *Sci. Rep.* 10, 1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74670-0>.
- Barthel, D., 1986. On the ecophysiology of the sponge *Halichondria panicea* in Kiel Bight: I. Substrate specificity, growth and reproduction. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 32, 291–298.
- Barthel, D., 1988. On the ecophysiology of the sponge *Halichondria panicea* in Kiel Bight. II. Biomass, production, energy budget and integration in environmental processes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 43, 87–93.
- Barthel, D., Theede, H., 1986. A new method for the culture of marine sponges and its application for experimental studies. *Ophelia* 25, 75–82. <https://doi.org/10.1080/00785326.1986.10429715>.
- Beate, M.S., Hentschel, U., 2017. Draft genome sequences of “*Candidatus* *Synechococcus spongiorum*,” cyanobacterial symbionts of the Mediterranean sponge *Aplysina aerophoba*. *Genome Announc.* 5. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00268-17>.
- Becerro, M.A., Turon, X., Uriz, M.J., 1995. Natural variation of toxicity in encrusting sponge *Crambe crambe* (Schmidt) in relation to size and environment. *J. Chem. Ecol.* 21, 1931–1946. <https://doi.org/10.1007/BF02033853>.
- Becerro, M.A., Turon, X., Uriz, M.J., 1997. Multiple functions for secondary metabolites in encrusting marine invertebrates. *J. Chem. Ecol.* 23, 1527–1547. <https://doi.org/10.1023/B:JOEC.0000006420.04002.2e>.
- Becerro, M.A., Thacker, R.W., Turon, X., Uriz, M.J., Paul, V.J., 2003. Biogeography of sponge chemical ecology: comparisons of tropical and temperate defenses. *Oecologia* 135, 91–101.
- Bechmann, N., Ehrlich, H., Eisenhofer, G., Ehrlich, A., Meschke, S., Ziegler, C.G., et al., 2018. Anti-tumorigenic and anti-metastatic activity of the sponge-derived marine drugs aeropyrrolin-1 and isofistularin-3 against pheochromocytoma in vitro. *Mar. Drugs* 16, 172. <https://doi.org/10.3390/md16050172>.
- Belarbi, E.H., Dominguez, M.R., García, M.C., Gómez, A.C., Camacho, F.G., Grima, E.M., 2003a. Cultivation of explants of the marine sponge *Crambe crambe* in closed systems. *Biomol. Eng.* 20, 333–337. [https://doi.org/10.1016/S1389-0344\(03\)00043-1](https://doi.org/10.1016/S1389-0344(03)00043-1).
- Belarbi, E.H., Gomez, A.C., Chisti, Y., Camacho, F.G., Grima, E.M., 2003b. Producing drugs from marine sponges. *Biotechnol. Adv.* 21, 585–598. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(03\)00100-9](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(03)00100-9).
- Bell, J.J., Bames, D.K., 2000. The influences of bathymetry and flow regime upon the morphology of sublittoral sponge communities. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 80, 707–718. <https://doi.org/10.1017/S0025315400002538>.
- Bell, J.J., Smith, D., 2004. Ecology of sponge assemblages (Porifera) in the Wakatobi region, south-east Sulawesi, Indonesia: richness and abundance. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 84, 581–591. <https://doi.org/10.1017/S0025315404009580b>.
- Bell, J.J., McGrath, E., Biggerstaff, A., Bates, T., Cárdenas, C.A., Bennett, H., 2015. Global conservation status of sponges. *Conserv. Biol.* 29, 42–53. <https://doi.org/10.1111/cobi.12447>.
- Bergman, O., Haber, M., Mayzel, B., Anderson, M.A., Shpigel, M., Hill, R.T., et al., 2011. Marine-based cultivation of *Diacarum* sponges and the bacterial community composition of wild and maricultured sponges and their larvae. *Mar. Biotechnol.* 13, 1169–1182. <https://doi.org/10.1007/s10126-011-9391-6>.
- Bergmann, W., Feeney, R.J., 1951. Contributions to the study of marine products. XXXII. The nucleosides of sponges. *J. Org. Chem.* 16, 981–987. <https://doi.org/10.1021/jo01146a023>.
- Bergquist, P.R., Hofheinz, W., Oesterheld, G., 1980. Sterol composition and the classification of the Demospongiae. *Biochem. Syst. Ecol.* 8, 423–435. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(80\)90045-9](https://doi.org/10.1016/0305-1978(80)90045-9).
- Berthet, B., Mouneyrac, C., Pérez, T., Amlard-Triquet, C., 2005. Metallothionein concentration in sponges (*Spongia officinalis*) as a biomarker of metal contamination. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 141, 306–313. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2005.07.008>.
- Bertolino, M., Costa, G., Carella, M., Cattaneo-Vietti, R., Cerrano, C., Pansini, M., et al., 2017. The dynamics of a Mediterranean coralligenous sponge assemblage at decennial and millennial temporal scales. *PLoS One* 12, 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177945>.
- Bewley, C.A., Faulkner, D.J., 1998. Lithistid sponges: star performers or hosts to the stars. *Angew Chem Int Ed* 37, 2162–2178.
- Binneweg, B., Schubert, M., Voronkina, A., Muzychka, L., Wysokowski, M., Petrenko, I., et al., 2020. Marine biomaterials: biomimetic and pharmacological potential of cultivated *Aplysina aerophoba* marine demosponge. *Mater Sci Eng C* 109, 110566. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110566>.
- Blunt, J.W., Copp, B.R., Munro, M.H.G., Northcote, P.T., Prinsep, M.R., 2004. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 21, 1–49. <https://doi.org/10.1039/b305250b>.
- Blunt, J.W., Carroll, A.R., Copp, B.R., Davis, R.A., Keyzers, R.A., Prinsep, M.R., 2018. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 35, 8–53. <https://doi.org/10.1039/c7np00052a>.
- Boechert, E., Jackson, S.A., O’Gara, F., Dobson, A.D.W., 2016. Diversity of natural product biosynthetic genes in the microbiome of the deep sea sponges *Inflataella pellicula*, *Poecillasra compressa*, and *Stelletta normant*. *Front. Microbiol.* 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01027>.
- Borges, A., Simoes, M., 2019. Quorum sensing inhibition by marine Bacteria. *Mar. Drugs* 17. <https://doi.org/10.3390/md17070427>.
- Bovio, E., Fauchon, M., Toueix, Y., Mehiri, M., Varese, G.C., Hellio, C., 2019. The sponge-associated fungus *Eurotium chevalieri* MUT 2316 and its bioactive molecules: potential applications in the field of antifouling. *Mar. Biotechnol.* 21, 743–752. <https://doi.org/10.1007/s10126-019-09920-y>.
- Brakhage, A.A., Schroeck, V., 2011. Fungal secondary metabolites - strategies to activate silent gene clusters. *Fungal Genet. Biol.* 48, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2010.04.004>.
- Brinkmann, C.M., Marker, A., Kurtbûke, D.L., 2017. An overview on marine sponge-symbiotic bacteria as unexploited sources for natural product discovery. *Diversity* 9. <https://doi.org/10.3390/d9040040>.
- Britstein, M., Saurav, K., Teta, R., Sala, G.D., Bar-Shalom, R., Stoppelli, N., et al., 2018. Identification and chemical characterization of N-acyl-homoserine lactone quorum sensing signals across sponge species and time. *FEMS Microbiol. Ecol.* 94. <https://doi.org/10.1093/femsec/fx182>.
- Butler, M.S., 2008. Natural product to drugs: natural product-derived compounds in clinical trials. *Nat. Prod. Rep.* 25, 475–516. <https://doi.org/10.1039/b514294f>.
- Butler, A., Cheshire, A., Westphalen, G., 1995. Freezing in the dark? Phototrophic sponges in temperate waters. *Proc 1995 Open Forum Symp Conf Ecol Soc Australia* 30.
- Cahn, A.R., 1948. Japanese Sponge Culture Experiments in the South Pacific Islands. Fisheries Leaflet. General Headquarters, Supreme Commander for the Allied Powers, National Resources Section. US Fish and Wildlife Service, US Dept of the Interior, Washington DC.
- Carballo, J.L., Yáñez, B., Zubía, E., Ortega, M.J., 2009. Culture of explants from the sponge *Mycale cecilia* to obtain bioactive mycalalaz-type metabolites. *Mar. Biotechnol.* 12, 516–525. <https://doi.org/10.1007/s10126-009-9235-9>.
- Cárdenas, P., 2016. Who produces lanthelline? The Arctic sponge *Stryphnus fortis* or its sponge epibiont *Hexadella deditifera*: a probable case of sponge-sponge contamination. *J. Chem. Ecol.* 42, 339–347. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0693-z>.
- Caroli, A.R., Copp, B.R., Davis, R.A., Keyzers, R.A., Prinsep, M.R., 2019. Marine natural products. *Nat. Prod. Rep.* 36, 122–173. <https://doi.org/10.1039/C8NP00922A>.
- Cebrian, E., Uriz, M.J., Turon, X., 2007. Sponges as biomonitors of heavy metals in spatial and temporal surveys in northwestern Mediterranean: multispecies comparison. *Environ. Toxicol. Chem.* 26, 2430–2439. <https://doi.org/10.1897/07-292.1>.
- Cebrian, E., Uriz, M.J., Garrabou, J., Ballesteros, E., 2011. Sponge mass mortalities in a warming Mediterranean Sea: are cyanobacteria-harboring species worse off? *PLoS One* 6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020211>.
- Chu, J.W., Curkan, C., Tunnicliffe, V., 2018. Drivers of temporal beta diversity of a benthic community in a seasonally hypoxic fjord. *R. Soc. Open Sci.* 5. <https://doi.org/10.1098/rsos.172284>.
- Correa, J.A., Sanchez, P.A., 1996. Ecological aspects of algal infectious diseases. *Hydrobiologia* 326, 326–327.
- Corriero, G., Longo, C., Mercurio, M., Marzano, C.N., Lembo, G., Spedicato, M.T., 2004. Rearing performance of *Spongia officinalis* on suspended ropes off the southern Italian coast (Central Mediterranean Sea). *Aquaculture* 238, 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.04.030>.
- Costa, M.F., de, B., Mansur, K.F.R., Leite, F.P.P., 2015. Temporal variation of the gammaridean fauna (Crustacea, Amphipoda) associated with the sponge *Mycale angulosa* (Porifera, Demospongiae) in southeastern Brazil. *Nauplius* 23, 79–87. <https://doi.org/10.1590/S0104-64972015002312>.
- Costello, M.J., Myers, A.A., 1987. Amphipod fauna of the sponges *Halichondria panicea* and *Hymeniacidon perlewe* in Lough Hine, Ireland. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 41, 115–121.
- Crawford, J.M., Clardy, J., 2011. Bacterial symbionts and natural products. *Chem Commun* 47, 7559–7566. <https://doi.org/10.1039/c1cc11574j>.
- Croft, R.A., 1989. Pohnpei Commercial Sponge Survey. Department of Marine Resources. FAO South Pacific Aquaculture Development Project, Suva, Fiji.
- Croft, R.A., 1990. Recommendations for Establishing a Commercial Sponge Industry Within the Pohnpei Region. US Department of Agriculture, Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, Waimanalo, Hawaii.
- Custodio, M.R., Prokic, I., Steffen, R., Kozioł, C., Borojevic, R., Brümmer, F., et al., 1998. Primmorphs generated from dissociated cells of the sponge *Suberites domuncula*: a model system for studies of cell proliferation and cell death. *Mech. Ageing Dev.* 105, 45–59. [https://doi.org/10.1016/S0047-6374\(98\)00078-5](https://doi.org/10.1016/S0047-6374(98)00078-5).
- Dailianis, T., Tsigonopoulos, C.S., Dounas, C., Voultziadou, E., 2011. Genetic diversity of the imperilled bath sponge *Spongia officinalis* Linnaeus, 1759 across the Mediterranean Sea: patterns of population differentiation and implications for taxonomy and conservation. *Mol. Ecol.* 20, 3757–3772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05222.x>.
- Dayton, P.K., Robilliard, G.A., Paine, R.T., Dayton, L.B., 1974. Biological accommodation in the benthic community at McMurdo Sound, Antarctica. *Ecol. Monogr.* 44, 105–128. <https://doi.org/10.2307/1942321>.
- de Caralt, S., Agell, G., Uriz, M.J., 2003. Long-term culture of sponge explants: conditions enhancing survival and growth, and assessment of bioactivity. *Biomol. Eng.* 20, 339–347. [https://doi.org/10.1016/S1389-0344\(03\)00045-5](https://doi.org/10.1016/S1389-0344(03)00045-5).
- de Caralt, S., Ojens, H., Uriz, M.J., Wijffels, R.H., 2007. Cultivation of sponge larvae: settlement, survival, and growth of juveniles. *Mar. Biotechnol.* 9, 592–605. <https://doi.org/10.1007/s10126-007-9013-5>.
- de Caralt, S., Sánchez-Fontenla, J., Uriz, M.J., Wijffels, R.H., 2010. In situ aquaculture methods for *Dysidea avara* (Demospongiae, Porifera) in the Northwestern Mediterranean. *Mar. Drugs* 8, 1731–1742. <https://doi.org/10.3390/md8061731>.
- de Goeij, J.M., Moodley, L., Houdekamer, M., Carballo, N.M., van Duyl, F.C., 2008. Tracing ¹³C-enriched dissolved and particulate organic carbon in the bacteria-containing coral reef sponge *Halisarca carulea*: evidence for DOM-feeding. *Limnol. Oceanogr.* 53, 1376–1386. <https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.4.1376>.
- de Goeij, J.M., van Oevelen, D., Vermeij, M.J., Osinga, R., Middelburg, J.J., de Goeij, A.F., et al., 2013. Surviving in a marine desert: the sponge loop retains resources

- within coral reefs. *Science* 342, 108–110. <https://doi.org/10.1126/science.1241981>.
- de Goeij, J.M., Lesser, M.P., Pawlik, J.R., 2017. Nutrient fluxes and ecological functions of coral reef sponges in a changing ocean. In: Carballo, J.L., Bell, J.J. (Eds.), *Climate Change, Ocean Acidification and Sponges*. Springer International Publishing, Cham, Switzerland.
- de Laubenfels, M.W., 1949. Sponges of the Western Bahamas. *Am. Mus. Novit.* 1431, 1–25.
- de Rosa, S., de Caro, S., Tommonaro, G., Slantchev, K., Stefanov, K., Popov, S., 2001. Development in a primary cell culture of the marine sponge *Ircinia muscaram* and analysis of the polar compounds. *Mar. Biotechnol.* 3, 281–286. <https://doi.org/10.1007/s10126-001-0001-x>.
- de Voogd, N.J., 2007a. The mariculture potential of the Indonesian reef-dwelling sponge *Gallyspongia (aplusia) hinc*: growth, survival and bioactive compounds. *Aquaculture* 262, 54–64. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.09.028>.
- de Voogd, N.J., 2007b. An assessment of sponge mariculture potential in the Spermonde Archipelago. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 87, 1777–1784. <https://doi.org/10.1017/S0025315407057335>.
- de Voogd, N.J., Becking, L.E., Hoeksema, B.W., Noor, A., Van Soest, R.W.M., 2003. Sponge interactions with spatial competitors in the Spermonde Archipelago. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova* 68, 253–261.
- Debbab, A., Aly, A.H., Lin, W.H., Proksch, P., 2010. Bioactive compounds from marine bacteria and fungi. *Microb. Biotechnol.* 3, 544–563. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2010.00179.x>.
- Diaz, J.A., Movilla, J., Ferriol, P., 2019. Individualistic patterns in the budding morphology of the Mediterranean demersal sponge *Aplysina aerophoba*. *Mediterr. Mar. Sci.* 20, 282–286. <https://doi.org/10.12681/mms.19332>.
- Drechsel, A., Helm, J., Ehrlich, H., Pantovic, S., Bornstein, S.R., Bechmann, N., 2020. Anti-tumor activity vs. Normal cell toxicity: therapeutic potential of the bromotyrosines aerolithin and homoaerolithin in vitro. *Mar. Drugs* 18, 236. <https://doi.org/10.3390/md18050236>.
- Dries, R.-R., 1975. Der Einfluß der Sauerstoffspannung auf die Stoffwechselgröße einiger Makro-benthosarten der Westlichen Ostsee und des Kattegat. *Kiel Meeresforsch* 31, 49–57.
- Duckworth, A., 2001. Farming sponges for chemicals with pharmaceutical potential. *J. World Aquac. Soc.* 32, 16–18.
- Duckworth, A.R., 2009. Farming sponges to supply bioactive metabolites and bath sponges: a review. *Mar. Biotechnol.* 11, 669–679. <https://doi.org/10.1007/s10126-009-9213-2>.
- Duckworth, A.R., Battershill, C.N., 2001. Population dynamics and chemical ecology of New Zealand demersal sponges *Latruncula* sp. Nov. and *Polymastix croceus* (Poecilosclerida: latrunculidae: polymastixidae). *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.* 35, 935–949. <https://doi.org/10.1080/00288330.2001.9517055>.
- Duckworth, A.R., Battershill, C.N., 2003a. Developing farming structures for production of biologically active sponge metabolites. *Aquaculture* 217, 139–156. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00038-8](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00038-8).
- Duckworth, A.R., Battershill, C.N., 2003b. Sponge aquaculture for the production of biologically active metabolites: the influence of farming protocols and environment. *Aquaculture* 221, 311–329. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00070-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00070-X).
- Duckworth, A.R., Pomponi, S.A., 2005. Relative importance of bacteria, microalgae and yeast for growth of the sponge *Halichondria melanodicta* (de Laubenfels, 1936): a laboratory study. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 323, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.03.007>.
- Duckworth, A., Wolff, C., 2007. Bath sponge aquaculture in Torres Strait, Australia: effect of explant size, farming method and the environment on culture success. *Aquaculture* 271, 188–195. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.06.037>.
- Duckworth, A.R., Battershill, C.N., Bergquist, P.R., 1997. Influence of explant procedures and environmental factors on culture success of three sponges. *Aquaculture* 156, 251–267. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00131-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00131-2).
- Duckworth, A.R., Samples, G.A., Wright, A.E., Pomponi, S.A., 2003. In vitro culture of the tropical sponge *Axiella corrugata* (Demospongiae): effect of food cell concentration on growth, clearance rate, and biosynthesis of Stevensine. *Mar. Biotechnol.* 5, 519–527. <https://doi.org/10.1007/s10126-002-0111-0>.
- Duckworth, A.R., Battershill, C.N., Schiel, D.R., 2004. Effects of depth and water flow on growth, survival and bioactivity of two temperate sponges cultured in different seasons. *Aquaculture* 242, 237–250. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.08.046>.
- Dyshlovoy, S.A., Honecker, F., 2020. Marine compounds and Cancer: the first two decades of XXI century. *Mar. Drugs* 18. <https://doi.org/10.3390/md18010020>.
- Ehrlich, H., Wysokowski, M., Żółtowska-Aksamitowska, S., Petrenko, I., Jesionowski, T., 2018. Collagens of poriferan origin. *Mar. Drugs* 16, 79. <https://doi.org/10.3390/md16030079>.
- Ellis, S., Ellis, E., Loh, W., Haws, M., Fong, Q., 2008. Farming the Micronesian Wool Sponge (*Cascinosidera Manihawa*). SIT Graduate Institute, SIT Study Abroad. MERIP, Pohnpei, Micronesia.
- Elvin, D.W., 1976. Seasonal growth and reproduction of an intertidal sponge, *Haliciona permolis* (Bowerbank). *Biol. Bull.* 151, 108–125.
- Elvin, D.W., 1979. The relationship of seasonal changes in the biochemical components to the reproductive behaviour of the intertidal sponge, *Haliciona permolis*. *Biol. Bull.* 156, 47–61.
- Engelberts, J.P., Robbins, S.J., de Goeij, J.M., Aranda, M., Bell, S.C., Webster, N.S., 2020. Characterization of a sponge microbiome using an integrative genome-centric approach. *ISME J.* 14, 1100–1110. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0591-9>.
- Ereskovsky, A., Ozerov, D.A., Pantulin, A.N., Tzetlin, A.B., 2019. Mass mortality event of White Sea sponges as the result of high temperature in summer 2018. *Polar Biol.* 42, 2313–2318. <https://doi.org/10.1007/s00300-019-02606-0>.
- Erpenbeck, D., van Soest, R.W., 2007. Status and perspective of sponge chemosystematics. *Mar. Biotechnol.* 9, 2–19. <https://doi.org/10.1007/s10126-005-6109-7>.
- Erwin, P.M., Pita, L., López-Legentil, S., Taron, X., 2012. Stability of sponge-associated bacteria over large seasonal shifts in temperature and irradiance. *Appl. Environ. Microbiol.* 78, 7358–7368. <https://doi.org/10.1128/AEM.02035-12>.
- Fan, L., Reynolds, D., Liu, M., Stark, M., Kjelleberg, S., Webster, N.S., Thomas, T., 2012. Functional equivalence and evolutionary convergence in complex communities of microbial sponge symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 1878–1887. <https://doi.org/10.1073/pnas.1203287109>.
- Fan, L., Liu, M., Simister, R., Webster, N.S., Thomas, T., 2013. Marine microbial symbiosis heats up: the phylogenetic and functional response of a sponge holobiont to thermal stress. *ISME J.* 7, 991–1002. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.165>.
- Fang, S.T., Yan, B.F., Yang, C.Y., Miao, F.P., Ji, N.Y., 2017. *Hymenhabdrin A*, a novel diterpenoid with antifouling activity from the intertidal sponge *Hymenhabdrin* sp. *J. Antibiot.* 70, 1043–1046. <https://doi.org/10.1038/ja.2017.109>.
- Fassini, D., Oliveira, S.M., Silva, T.H., Reis, R.L., 2020. Biotechnological valorization of marine collagens: biomaterials for health applications. *Encyclopedia of Mar. Biotechnol.* 2, 855–883. <https://doi.org/10.1002/9781119143802.ch35>.
- Faulkner, D., He, H., Unson, M., Bewley, C., Garson, M., 1993. New metabolites from marine sponges: are symbionts important. *Gazz. Chim. Ital.* 123, 301–307.
- Fell, P.E., 1967. Sponges. In: Wilt, F.H., Wessels, N.K. (Eds.), *Methods in Developmental Biology*. Crowell-Collier, New York, pp. 265–276.
- Ferretti, C., Vacca, S., de Clucis, C., Marengo, B., Duckworth, A.R., Manconi, R., et al., 2009. Growth dynamics and bioactivity variation of the Mediterranean demersal sponges *Agelusa oroides* (Agelasida, Agelasidae) and *Petrosia ficiformis* (Haplosclerida, Petrosiidae). *Mar. Ecol.* 30, 1–10. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2008.00278.x>.
- Fitridge, I., Dempster, T., Guenther, J., de Nys, R., 2012. The impact and control of biofouling in marine aquaculture: a review. *Biofouling* 28, 649–669. <https://doi.org/10.1080/08927014.2012.700478>.
- Fouat, M., Faget, D., Perez, T., 2018. Towards a history of sponge harvesting in the Mediterranean: a focus on the kalymnos fishery between the two wars. In: Emery (Ed.), *SOAS Sponges Conference*. Island of Hydra, Greece, pp. 85–96.
- Frank, M., Özkaya, F.C., Müller, W.E., Hamacher, A., Kassack, M.U., Lin, W., et al., 2019. Cryptic secondary metabolites from the sponge-associated fungus *Aspergillus ochraceus*. *Mar. Drugs* 17. <https://doi.org/10.3390/md17020099>.
- Freese, J.L., 2001. Trawl-induced damage to sponges observed from a research submersible. *Mar. Fish Res.* 63, 7–13.
- Galino, E., Pronzato, R., 1989. Ultrastructural evidence of bacterial damage to *Spongia officinalis* fibres (Porifera, Demospongiae). *Dis. Aquat. Org.* 6, 67–74. <https://doi.org/10.3354/dao06067>.
- Galtsoff, P.S., 1925. Regeneration after dissociation (an experimental study on sponges). I. Behavior of dissociated cells of *Microciona prolifera* under normal and altered conditions. *J. Exp. Zool.* 42, 183–221.
- Gatti, S., Brey, T., Müller, W., Hellmayer, O., Holst, G., 2002. Oxygen microprobes: a new tool for oxygen measurements in aquatic animal ecology. *Mar. Biol.* 140, 1075–1085. <https://doi.org/10.1007/s00227-002-0786-9>.
- Gernez, P., Doxaran, D., Barillé, L., 2017. Shellfish aquaculture from space: potential of Sentinel2 to monitor tide-driven changes in turbidity, chlorophyll concentration and other physiological response at the scale of an oyster farm. *Front. Mar. Sci.* 4, 137. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00137>.
- Gerovasilou, V., Voultsiadou, E., 2012. Marine caves of the Mediterranean Sea: a sponge biodiversity reservoir within a biodiversity hotspot. *PLoS One* 7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039873>.
- Gifford, S., Dunstan, R.H., O'Connor, W., Koller, C.E., MacFarlane, G.R., 2006. Aquatic zooremediation: deploying animals to remediate contaminated aquatic environments. *Trends Biotechnol.* 25, 60–65. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2006.12.002>.
- Gloekner, V., Wehrl, M., Moitinho-Silva, L., Gernert, C., Schupp, P., Pawlik, J.R., et al., 2014. The HMA-LMA dichotomy revisited: an electron microscopic survey of 56 sponge species. *Biol. Bull.* 227, 78–88. <https://doi.org/10.1086/BBLv227n1p78>.
- Gökalp, M., Koolstra, T., Rocha, M.S., Silva, T.H., Osinga, R., Murk, A.J., et al., 2020a. The effect of depth on the morphology, bacterial clearance, and respiration of the Mediterranean sponge *Chondrosia reniformis* (Nardo, 1847). *Mar. Drugs* 18. <https://doi.org/10.3390/md18070358>.
- Gökalp, M.M., Kuehnhold, H., de Goeij, J.M., Osinga, R., 2020b. Depth and turbidity affect in situ pumping activity of the Mediterranean sponge *Chondrosia reniformis* (Nardo, 1847). *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.009290>.
- Gökalp, M., Mes, D., Nederlof, M., Zhao, H., de Goeij, J.M., et al., 2020c. The potential roles of sponges in integrated mariculture. *Rev. Aquac.* <https://doi.org/10.1111/raq.12516>.
- Gomes, N.G., Dasari, R., Chandra, S., Kiss, R., Komljenko, A., 2016. Marine invertebrate metabolites with anticancer activities: Solutions to the “supply problem”. *Mar. Drugs* 14. <https://doi.org/10.3390/md14050098>.
- Green, G., 1977. Ecology of toxicity in marine sponges. *Mar. Biol.* 40, 207–215.
- Gunda, V.G., Janapala, V.R., 2009. Effects of dissolved oxygen levels on survival and growth in vitro of *Haliciona pigmentifera* (Demospongiae). *Cell Tissue Res.* 337, 527–535. <https://doi.org/10.1007/s00441-009-0843-5>.
- Gutleben, J., Loureiro, C., Ramírez Romero, L.A., Shetty, S., Wijffels, R.H., Smidt, H., et al., 2020. Cultivation of Bacteria from *Aplysina aerophoba*: effects of oxygen and nutrient gradients. *Front. Microbiol.* 11, 175. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00175>.
- Hadas, E., Shpigiel, M., Ilan, M., 2005. Sea ranching of the marine sponge *Negombata magnifica* (Demospongiae, Latrunculiidae) as a first step for latrunculin B mass

- production. *Aquaculture* 244, 159–169. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.052>.
- Hadas, E., Ilan, M., Shpigiel, M., 2008. Oxygen consumption by a coral reef sponge. *J. Exp. Biol.* 211, 2185–2190. <https://doi.org/10.1242/jeb.015420>.
- Handley, S., Kelly, S., Kelly, M., 2003. Non-destructive video image analysis method for measuring growth in sponge farming: preliminary results from the New Zealand bath-sponge *Spongia (heteroflora) manipulus*. *N Z J Mar Freshw Res* 37, 613–621. <https://doi.org/10.1080/00288330.2003.9517192>.
- Hartman, W.D., Reilswig, H.M., 1973. The individuality of sponges. In: Boardman, R.S., Cheetham, A.H., Oliver, W.A. (Eds.), *Animal Colonies*, Hutchinson and Ross, Stroudsburg, PA, pp. 567–584.
- Harvey, A.L., Edrada-Ebel, R., Quinn, R.J., 2015. The re-emergence of natural products for drug discovery in the genomics era. *Nat. Rev. Drug Discov.* 14, 111–129. <https://doi.org/10.1038/nrd4510>.
- Hawes, I., Oenggepa, C.P., Center, W., 2010. Village Scale Sponge Aquaculture in the Solomon Islands. Final Report for Mini-project M50506. Western Pacific Research Centre, Solomon Islands.
- Hay, M.E., 1996. Marine chemical ecology: what's known and what's next? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 200, 103–134. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(96\)02659-7](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(96)02659-7).
- Hay, M.E., 2009. Marine chemical ecology: chemical signals and cues structure marine populations, communities, and ecosystems. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 1, 193–212. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163708>.
- Helber, S.B., Hoeljmakers, D.J., Muhando, C.A., Rohde, S., Schupp, P.J., 2018. Sponge chemical defenses are a possible mechanism for increasing sponge abundance on reefs in Zanzibar. *PLoS One* 13, e0197617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197617>.
- Hentschel, U., Schmid, M., Wagner, M., Fieseler, L., Gernert, C., Hacker, J., 2001. Isolation and phylogenetic analysis of bacteria with antimicrobial activities from the Mediterranean sponges *Aplysina aerophoba* and *Aplysina cavernicola*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 35, 305–312. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00816.x>.
- Hentschel, U., Piel, J., Degnan, S.M., Taylor, M.W., 2012. Genomic insights into the marine sponge microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* 10, 641–654. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2839>.
- Hertiani, T., Edrada-Ebel, R., Ortlepp, S., van Soest, R.W., de Voogd, N.J., Wray, V., et al., 2010. From anti-fouling to biofilm inhibition: new cytotoxic secondary metabolites from two Indonesian *Agelas* sponges. *Bioorg. Med. Chem.* 18, 1297–1311. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2009.12.028>.
- Hertweck, C., 2009. Hidden biosynthetic treasures brought to light. *Nat. Chem. Biol.* 5, 450–452. <https://doi.org/10.1038/nchembio0709-450>.
- Hinde, R., Fironet, F., Borowitzka, M.A., 1994. Isolation of *Oscillatoria spongeliae*, the filamentous cyanobacterial symbiont of the marine sponge *Dysidea herbacea*. *Mar. Biol.* 119, 99–104. <https://doi.org/10.1007/BF00350111>.
- Hirata, Y., Uemura, D., 1986. Halichondrin: antitumor polyether macrolides from a marine sponge. *Pure Appl. Chem.* 58, 701–710. <https://doi.org/10.1351/pac198658050701>.
- Hoffmann, F., Larsen, O., Tore Rapp, H., Osinga, R., 2005. Oxygen dynamics in choanosomal sponge explants. *Mar. Biol. Res.* 1, 160–163. <https://doi.org/10.1080/17451000510019006>.
- Hoffmann, F., Roy, H., Bayer, K., Hentschel, U., Pfannkuchen, M., Brümmer, F., et al., 2008. Oxygen dynamics and transport in the Mediterranean sponge *Aplysina aerophoba*. *Mar. Biol.* 153, 1257–1264. <https://doi.org/10.1007/s00227-008-0905-3>.
- Hogg, M.M., Tendal, O.S., Conway, K.W., Pomponi, S.A., van Soest, R.W.M., Gutt, J., et al., 2010. Deep-sea Sponge Grounds: Reservoirs of Biodiversity. UNEP-WCMC Biodiversity Series, No. 32. UNEP-WCMC, Cambridge, UK, pp. 1–88.
- Höller, U., Wright, A.D., Mathee, G.F., König, G.M., Draeger, S., Hans-Jürgen, A., et al., 2000. Fungi from marine sponges: diversity, biological activity and secondary metabolites. *Mycol. Res.* 104, 1354–1365. <https://doi.org/10.1017/S0953756200003117>.
- Hoppe, W.F., 1988. Growth, regeneration and predation in three species of large coral reef sponges. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 50, 117–125.
- Hummel, H., Sepers, A.B., De Wolf, L., Melissen, F.W., 1988. Bacterial growth on the marine sponge *Halichondria panicea* induced by reduced waterflow rate. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 42, 195–198.
- Huxley, J.S., 1921. Differences in viability in different types of regenerates from dissociated sponges, with a note on the entry of somatic cells by spermatozoa. *Biol. Bull.* 40, 127–129.
- Indraningrat, A.A.G., Smidt, H., Sipkema, D., 2016. Bioprospecting sponge-associated microbes for antimicrobial compounds. *Mar. Drugs* 14, 87. <https://doi.org/10.3390/md14050087>.
- In-Hye, J., Jin-Sook, P., 2013. Bacterial diversity of the South Pacific sponge, *Dactylospongia menchromia* based on DGGE fingerprinting. *Korean J Microbiol* 49, 377–382. <https://doi.org/10.7845/kjm.2013.3090>.
- Ivanisevic, J., Pérez, T., Ereskovsky, A.V., Barnathan, G., Thomas, O.P., 2011. Lysophospholipids in the Mediterranean sponge *Oscarella tuberculata*: seasonal variability and putative biological role. *J. Chem. Ecol.* 37 <https://doi.org/10.1007/s10886-011-9943-2>.
- Jackson, J.B.C., Buss, L., 1975. Allelopathy and spatial competition among coral reef invertebrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72, 5160–5163. <https://doi.org/10.1073/pnas.72.12.5160>.
- Jesionowski, T., Norman, M., Żółtowska-Aksamitowska, S., Petrenko, I., Joseph, Y., Ehrlich, H., 2018. Marine spongin: naturally prefabricated 3D scaffold-based biomaterial. *Mar. Drugs* 16. <https://doi.org/10.3390/md16030088>.
- Jokiel, P.L., 1980. Solar ultraviolet radiation and coral reef epifauna. *Science* 207, 1069–1071.
- Jones, A.C., Blum, J.E., Pawlik, J.R., 2005. Testing for defensive synergy in Caribbean sponges: Bad taste or glass spicules? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 322, 67–81. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.02.009>.
- Kaandorp, J.A., de Kluijver, M.J., 1992. Verification of fractal growth models of the sponge *Haliclona oculata* (Porifera) with transplantation experiments. *Mar. Biol.* 113, 133–143. <https://doi.org/10.1007/BF00367647>.
- Kamke, J., Taylor, M.W., Schmitt, S., 2010. Activity profiles for marine sponge-associated bacteria obtained by 16S rRNA vs 16S rDNA gene comparisons. *ISME J.* 4, 498–508. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.143>.
- Karthik, L., Li, Z., 2019. Biosynthesis of antibiotics from microbial symbionts of sponges and corals. In: Li, Z. (Ed.), *Symbiotic Microbiomes of Coral Reefs Sponges and Corals*. Springer, Dordrecht, pp. 249–261.
- Kealy, R.A., Busk, T., Goldstein, J., Larsen, P.S., Riißgård, H.U., 2019. Hydrodynamic characteristics of aquiferous modules in the demosponge *Halichondria panicea*. *Mar. Biol. Res.* 15, 531–540. <https://doi.org/10.1080/17451000.2019.1694691>.
- Kelly, S.R., Jensen, P.R., Henkel, T.P., Fenical, W., Pawlik, J.R., 2003. Effects of Caribbean sponge extracts on bacterial attachment. *Aquat. Microb. Ecol.* 31, 175–182. <https://doi.org/10.3354/amej031175>.
- Kelly, M., Handley, S., Page, M., Butterfield, P., Hartill, B., Kelly, S., 2004. Aquaculture trials of the New Zealand bath-sponge *Spongia (heteroflora) manipulus* using lanterns. *N Z J Mar Freshw Res.* 38, 231–241. <https://doi.org/10.1080/00288330.2004.9517233>.
- Kelly-Borges, M., 1994. Taxonomy and Ecology of the Cultured Bath-sponge *Coccinoderma matthewsi* (Dictyoceratida: Spongidae) in the Pohnpei Lagoon, Micronesia. Consultants report to Centre for Tropical and Subtropical Aquaculture, Hawaii, The Natural History Museum, London.
- Kelly-Borges, M., 1995. Cultivation of natural bath sponges: a green alternative to wild harvest. *CTSA Notes* 6, 3–4.
- Khrunyk, Y., Laeh, S., Petrenko, I., Ehrlich, H., 2020. Progress in modern marine biomaterials research. *Mar. Drugs* 18, 589. <https://doi.org/10.3390/md18120589>.
- Kinne, O., 1977. Cultivation of animals: research cultivation. In: Kinne, O. (Ed.), *Marine Ecology*, vol. III. Wiley Interscience, Chichester.
- Klinger, C., Żółtowska-Aksamitowska, S., Wysokowski, M., Tsurkan, M.V., Galli, R., Petrenko, I., et al., 2019. Express method for isolation of ready-to-use 3D chitin scaffolds from *Aplysina archeri* (Aplysineida: verongida) Demosponge. *Mar. Drugs* 17, 131. <https://doi.org/10.3390/md17020131>.
- Koopmans, M., Wijffels, R.H., 2008. Seasonal growth rate of the sponge *Haliclona oculata* (Demospongiae: haplosclerida). *Mar. Biotechnol.* 10, 502–510. <https://doi.org/10.1007/s10126-008-9086-9>.
- Koopmans, M., Martens, D., Wijffels, R.H., 2009. Towards commercial production of sponge medicines. *Mar. Drugs* 7, 787–802. <https://doi.org/10.3390/md7040787>.
- Kovachuk, V., Voronkina, A., Binneweg, B., Schubert, M., Muzychka, L., Wysokowski, M., et al., 2019. Naturally drug-loaded chitin: isolation and applications. *Mar. Drugs* 17, 574. <https://doi.org/10.3390/md17100574>.
- Kumala, L., Riißgård, H.U., Canfield, D.E., 2017. Osculum dynamics and filtration activity in small single-osculum explants of the demosponge *Halichondria panicea*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 572, 117–128. <https://doi.org/10.3354/meps12155>.
- Kumar, M.S., Pal, A.K., 2016. A review of bioactive compounds from marine organisms with special mention on the potential of marine sponges in pharmacological applications. *J. Mar. Biol. Assoc. India* 58. <https://doi.org/10.6024/jmbai.2016.58.1.1862-11>.
- Kunze, K., Niemann, H., Ueberlein, S., Schulze, R., Ehrlich, H., Brunner, E., et al., 2013. Brominated skeletal components of the marine demosponges, *Aplysina cavernicola* and *Ianthella basta*: analytical and biochemical investigations. *Mar. Drugs* 11, 1271–1287. <https://doi.org/10.3390/md111041271>.
- Kutti, T., Bannister, R.J., Fosså, J.H., Krogness, C.M., Tjensvoll, I., Søvik, G., 2015. Metabolic responses of the deep-water sponge *Geodia barretti* to suspended bottom sediment, simulated mine tailings and drill cuttings. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 473, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2015.07.017>.
- Langenbruch, P.-F., 1983. Untersuchungen zum Körperbau von Meeresschwämmen, II: das wasserleitungssystem von *Halichondria panicea*. *Helgoländer Meeresunters* 36, 337–346.
- Laport, M.S., Santos, O.C.S., Muricy, G., 2009. Marine sponges: potential sources of new antimicrobial drugs. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 10, 86–105. <https://doi.org/10.2174/138920109787048625>.
- Lavrov, A.I., Saidov, D.M., Bolshakov, F.V., Kosevich, L.A., 2020. Intraspecific variability of cell reaggregation during reproduction cycle in sponges. *Zoology* 140, 125795. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2020.125795>.
- Ledda, F.D., Pronzato, R., Manconi, R., 2014. Mariculture for bacterial and organic waste removal: a field study of sponge filtering activity in experimental farming. *Aquac. Res.* 45, 1389–1401. <https://doi.org/10.1111/are.12084>.
- Lee, C.-S., Awaya, K., 2003. Viable aquaculture development in the US-affiliated islands – lessons from giant clam and sponge farming. *Aquac. Econ Manag* 6, 125–135. <https://doi.org/10.1080/13657300309980335>.
- Leichter, J.J., Witman, J.D., 1997. Water flow over subtidal rock walls: relation to distributions and growth rates of sessile suspension feeders in the Gulf of Maine. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 209, 293–307. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(96\)02702-5](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(96)02702-5).
- Leong, W., Pawlik, J.R., 2010. Fragments or propagules? Reproductive tradeoffs among *Gallyspongia* spp. from Florida coral reefs. *Oikos* 119, 1417–1422. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2010.18092.x>.
- Lesser, M.P., 2006. Benthic-pelagic coupling on coral reefs: feeding and growth of Caribbean sponges. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 382, 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.07.010>.
- Lichtman, M.A., 2013. A historical perspective on the development of the cytarabine (7 days) and daunorubicin (3 days) treatment regimen for acute myelogenous

- leukemia: 2013 the 40th anniversary of 7 + 3. *Blood Cells Mol. Dis.* 50, 119–130. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2012.10.005>.
- Lindquist, N., Hay, M.E., 1996. Palatability and chemical defense of marine invertebrate larvae. *Ecol. Monogr.* 66, 431–450. <https://doi.org/10.2307/2963489>.
- Littler, M.M., Littler, D.S., 1995. Impact of CLOD pathogen on Pacific coral reefs. *Science* 267, 1356–1360.
- Liu, M., Fan, L., Zhon, L., Kjelleberg, S., Thomas, T., 2012. Metaproteomic analysis of a community of sponge symbionts. *ISME J.* 6, 1515–1525. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.1>.
- Liu, S., Wang, H., Su, M., Hwang, G.J., Hong, J., Jung, J.H., 2017. New metabolites from the sponge-derived fungus *Aspergillus zydwonii* J05B-7F-4. *Nat. Prod. Res.* 31, 1682–1686. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1289205>.
- Lloyd-Evans, L.P.M., 2005. A Study into the Prospects for Marine Biotechnology Development in the United Kingdom. Foresight Marine Panel. Marine Biotechnology Group.
- Longo, C., Cardone, F., Mercurio, M., Marzano, C.N., Pierri, C., Corriero, G., 2016. Spatial and temporal distributions of the sponge fauna in southern Italian lagoon systems. *Mediterr. Mar. Sci.* 17, 174–189. <https://doi.org/10.12681/mms.1426>.
- Longo, C., Cardone, F., Pierri, C., Mercurio, M., Mucciolo, S., Marzano, C.N., et al., 2018. Sponges associated with coralligenous formations along the Apulian coasts. *Mar. Biodivers.* 48, 2151–2163. <https://doi.org/10.1007/s12526-017-4744-x>.
- Louden, D., Whalan, S., Evans-Illidge, E., Wolff, C., de Nys, R., 2007. An assessment of the aquaculture potential of the tropical sponges *Rhopileoides odorabile* and *Coscinoderma* sp. *Aquaculture* 270, 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.038>.
- Lowe, B., Venkatesan, J., Ehrlich, H., Kim, S.K., 2016. Global constraints, prospects, and perspectives of marine sponge research. In: Pallela, R., Ehrlich, H. (Eds.), *Marine Sponges: Chemobiological and Biomedical Applications*. Springer, New Delhi.
- Largi, M., Thomas, T., Wemheuer, B., Webster, N.S., Montoya, J.M., 2019. Modularity and predicted functions of the global sponge-microbiome network. *Nat. Commun.* 10, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08925-4>.
- MacMillan, S.M., 1996. Starting a Successful Commercial Sponge Aquaculture Farm. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, University of Hawaii, Waimanalo, Hawaii.
- Maldonado, M., Young, C.M., 1996. Effects of physical factors on larval behavior, settlement and recruitment of four tropical demosponges. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 138, 169–180. <https://doi.org/10.3354/meps138169>.
- Maldonado, M., Zhang, X., Cao, X., Xue, L., Cao, H., Zhang, W., 2010. Selective feeding by sponges on pathogenic microbes: a reassessment of potential for abatement of microbial pollution. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 403, 75–89. <https://doi.org/10.3354/meps08411>.
- Maldonado, M., Ribes, M., van Duyl, F.C., 2012. Nutrient fluxes through sponges: biology, budgets, and ecological implications. *Adv. Mar. Biol.* 62, 113–182. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394283-8.00003-5>.
- Maldonado, M., Aguilar, R., Bannister, R.J., Bell, J.J., Conway, K.W., Dayton, P.K., et al., 2015. Sponge grounds as key marine habitats: a synthetic review of types, structure, functional roles, and conservation concerns. In: Rossi, S., Bramanti, L., Gori, A., Orejas Saco del Valle, C. (Eds.), *Marine Animal Forests: The Ecology of Benthic Biodiversity Hotspots*. Springer International Publishing.
- Martins, A., Vieira, H., Gaspar, H., Santos, S., 2014. Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmetic industries: tips for success. *Mar. Drugs* 12, 1066–1101. <https://doi.org/10.3390/md12021066>.
- McDonald, J.I., McGuinness, K.A., Hooper, J.N., 2003. Influence of re-orientation on alignment to flow and tissue production in a *Spongia* sp. (Porifera: demospongiae: dictyoceratida). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 296, 13–22. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(03\)00302-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(03)00302-2).
- McMurray, S.E., Johnson, Z.I., Hunt, D.E., Pawlik, J.R., Finelli, C.M., 2016. Selective feeding by the giant barrel sponge enhances foraging efficiency. *Limnol. Oceanogr.* 61, 1271–1286. <https://doi.org/10.1002/lno.10287>.
- Mehrbub, M.F., Perkins, M.V., Zhang, W., Franco, C., 2016. New marine natural products from sponges (Porifera) of the order Dictyoceratida (2001 to 2012) a promising source for drug discovery, exploration and future prospects. *Biotechnol. Adv.* 34, 473–491. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.008>.
- Mendola, D., 2003. Aquaculture of three phyla of marine invertebrates to yield bioactive metabolites: process developments and economics. *Biomol. Eng.* 20, 441–458. [https://doi.org/10.1016/S1389-0344\(03\)00075-3](https://doi.org/10.1016/S1389-0344(03)00075-3).
- Mergner, H., 1964. Über Die Induktion Neuer Ocularrohre Bei *Ephydatia flavicularis*. *Wilhelm Roux' Arch. Entwickl. Mech. Organismen*, 155, pp. 9–128.
- Milanesi, M., Chelossi, E., Manconi, R., Sarà, A., Sidri, M., Pronzato, R., 2003. The marine sponge *Chondrilla nucula* as an elective candidate for bioremediation in integrated aquaculture. *Biomol. Eng.* 20, 363–368. [https://doi.org/10.1016/S1389-0344\(03\)00052-2](https://doi.org/10.1016/S1389-0344(03)00052-2).
- Mohamed, N.M., Enticknap, J.J., Lohr, J.E., McIntosh, S.M., Hill, R.T., 2008a. Changes in bacterial communities of the marine sponge *Mycale laxissima* on transfer into aquaculture. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 1209–1222. <https://doi.org/10.1128/AEM.02047-07>.
- Mohamed, N.M., Rao, V., Hamann, M.T., Kelly, M., Hill, R.T., 2008b. Monitoring bacterial diversity of the marine sponge *Frénia strobilina* upon transfer into aquaculture. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 4133–4143. <https://doi.org/10.1128/AEM.00454-08>.
- Mohan, G., Thangappanpillai, A.K.T., Ramasamy, B., 2016. Antimicrobial activities of secondary metabolites and phylogenetic study of sponge endosymbiotic bacteria, *Bacillus* sp. At Agatti Island, Lakshadweep Archipelago. *Biotechnol Rep* 11, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.06.001>.
- Mohite, S.A., Mahakal, B.V., Bhatkar, H.R., Patil, S.S., 2020. Culture of marine sponges under controlled conditions. *J. Exp. Zool.* India 23, 753–757.
- Molinheiro-Silva, L., Nielsen, S., Amir, A., Gonzalez, A., Ackermann, G.L., Cerrano, C., et al., 2017. The sponge microbiome project. *Gigascience* 6. <https://doi.org/10.1093/gigascience/gix077>.
- Moore, H.F., 1990. A practical method of sponge culture. *Fish Bull.* 28, 545–585.
- Morganti, T.M., Ribes, M., Yabel, G., Coma, R., 2019. Size is the major determinant of pumping rates in marine sponges. *Front. Physiol.* 10. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.01474>.
- Mori, T., Cahn, J.K., Wilson, M.C., Meoded, R.A., Wiebach, V., Martinez, A.F.C., et al., 2018. Single-bacterial genomics validates rich and varied specialized metabolism of uncultivated *Entheonella* sponge symbionts. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 115, 1718–1723. <https://doi.org/10.1073/pnas.1715496115>.
- Müller, W.E.G., 1998. Molecular phylogeny of Eumetazoa: experimental evidence for monophyly of animals based on genes in sponges (Porifera). *Proc. Mol. Subcell. Biol.* 19, 98–132. https://doi.org/10.1007/978-3-642-48745-3_4.
- Müller, W.E., Wang, X., Proksch, P., Perry, C.C., Osinga, R., Gardères, J., et al., 2013. Principles of biofouling protection in marine sponges: a model for the design of novel biomimetic and bio-inspired coatings in the marine environment? *Mar. Biotechnol.* 15, 375–398. <https://doi.org/10.1007/s10126-013-9497-0>.
- Murray, P.M., Moane, S., Collins, C., Beletskaya, T., Thomas, O.P., Duarte, A.W., et al., 2013. Sustainable production of biologically active molecules of marine based origin. *New Biotech.* 30, 839–850. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2013.03.006>.
- Muzychka, L., Voronkina, A., Kovachuk, V., Smolil, O.B., Wysokowski, M., Petrenko, L., et al., 2021. Marine biomimetics: bromotyrosines loaded chitinous skeleton as source of antibacterial agents. *Appl Phys A* 127, 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00339-020-04167-0>.
- Nickel, M., Brümmer, F., 2003. In vitro sponge fragment culture of *Chondrosia reniformis* (Nardo, 1847). *J. Biotechnol.* 100, 147–159. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(02\)00256-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(02)00256-0).
- Oakland, H., 2013. Bioremediation Mariculture in Zanzibar, Tanzania: a Viability Assessment of Using Bath Sponge and Pearl Oyster Farms to Filter Highly Polluted Waters in the Zanzibar Channel. Independent Study Project (ISP) Collection. SIT Graduate Institute, SIT Study Abroad. No. 1526.
- Ogunola, O.S., Onada, O.A., 2016. Anti-biofouling defence mechanism of basibionts (a chemical warfare) - a critical review. *J. Environ. Anal. Toxicol.* 6. <https://doi.org/10.4172/2161-0525.1000380>.
- Oronti, A., Danylchuk, A.J., Elmore, C.E., Auriemma, R., Pesle, G., 2012. Assessing the feasibility of sponge aquaculture as a sustainable industry in the Bahamas. *Aquac. Int.* 20, 295–303. <https://doi.org/10.1007/s10499-011-9457-5>.
- Osinga, R., de Beukelaer, P.B., Meijer, E.M., Trammer, J., Wijffels, R.H., 1999a. Growth of the sponge *Pseudosuberites* (aff.) *andrewsi* in a closed system. *J. Biotechnol.* 70, 155–161. [https://doi.org/10.1016/S0079-6352\(99\)80108-8](https://doi.org/10.1016/S0079-6352(99)80108-8).
- Osinga, R., Trammer, J., Wijffels, R.H., 1999b. Cultivation of marine sponges. *Mar. Biotechnol.* 1, 509–532.
- Osinga, R., Kleijn, R., Groenendijk, E., Neelink, P., Trammer, J., Wijffels, R.H., 2001. Development of in vivo sponge cultures: particle feeding by the tropical sponge *Pseudosuberites* aff. *Andrews*. *Mar. Biotechnol.* 3, 544–554. <https://doi.org/10.1007/s1012601-0078-2>.
- Osinga, R., Belarbi, E.H., Grima, E.M., Trammer, J., Wijffels, R.H., 2003. Progress towards a controlled culture of the marine sponge *Pseudosuberites andrewsi* in a bioreactor. *J. Biotechnol.* 100, 141–146. [https://doi.org/10.1016/S0168-1656\(02\)00257-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1656(02)00257-2).
- Osinga, R., Sidri, M., Certig, E., Gokalp, S.Z., Gokalp, M., 2010. Sponge aquaculture trials in the East-Mediterranean Sea: new approaches to earlier ideas. *Open Mar. Biol. J.* 4, 74–81.
- Ou, H., Zhai, J., Wang, D., Zhao, J., Chen, M., Ding, S., et al., 2020. Cultivation of sponge *Haliclona simulans* juveniles in a floating sea raft. *Aquaculture* 529. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735660>.
- Padiglia, A., Ledda, F.D., Padedda, B.M., Pronzato, R., Manconi, R., 2018. Long-term experimental in situ farming of *Crambe crambe* (Demospongiae: poecilosclerida). *PeerJ* 6. <https://doi.org/10.7717/peerj.4964>.
- Page, M.J., Northcote, P.T., Webb, V.L., Mackey, S., Handley, S.J., 2005. Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale henscheli* (Demospongiae: poecilosclerida). *Aquaculture* 250, 256–269. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.04.069>.
- Page, M.J., Handley, S.J., Northcote, P.T., Cairney, D., Willian, R.C., 2011. Successes and pitfalls of the aquaculture of the sponge *Mycale henscheli*. *Aquaculture* 312, 52–61. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.12.006>.
- Palumbi, S.R., 1984. Tactics of acclimation: morphological changes of sponges in an unpredictable environment. *Science* 295, 685–687. <https://doi.org/10.1126/science.225.4669.1478>.
- Parra, L., Lloret, G., Lloret, J., Rodilla, M., 2018. Physical sensors for precision aquaculture: a Review. *IEEE Sens. J.* 18, 3915–3923. <https://doi.org/10.1109/JSEN.2018.2817158>.
- Patel, B., Balani, M.C., Patel, S., 1985. Sponge 'sentinel' of heavy metals. *Sci. Total Environ.* 41, 143–152. [https://doi.org/10.1016/0048-9697\(85\)90184-6](https://doi.org/10.1016/0048-9697(85)90184-6).
- Pawlik, J.R., 2011. The chemical ecology of sponges on Caribbean reefs: natural products shape natural systems. *BioScience* 61, 888–898. <https://doi.org/10.1525/bio.2011.61.11.8>.
- Pawlik, J.R., McMurray, S.E., 2019. The emerging ecological and biogeochemical importance of sponges on coral reefs. *Annu Rev Mar Sci* 12, 315–337. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010419-010807>.
- Pawlik, J.R., Chanas, B., Toonen, J.R., Fenical, W., 1995. Defenses of Caribbean sponges against predatory reef fish. I. Chemical deterrence. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 127, 183–194.
- Pawlik, J.R., Steindler, L., Henkel, T.P., Beer, S., Ilan, M., 2007. Chemical warfare on coral reefs: sponge metabolites differentially affect coral symbiosis in situ. *Limnol. Oceanogr.* 52, 907–911. <https://doi.org/10.4319/lno.2007.52.2.0907>.

- Stabili, L., Licciano, M., Giangrande, A., Longo, C., Mercurio, M., Marzano, C.N., et al., 2006. Filtering activity of *Spongia officinalis* var. *Adriatica* (Schmidt) (Porifera, Demospongiae) on bacterioplankton: implications for bioremediation of polluted seawater. *Water Res.* 40, 3083–3090. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.012>.
- Starkey, D.J., Holm, P., Barnard, M., 2008. In: Earthscan Research Editions (Ed.), *Oceans Past: Management Insights from the History of Marine Animal Populations*. London, Stevely, J.M., Thompson, J., Warner, R.E., 1978. *The Biology and Utilization of Florida's commercial Sponges, No.8 Florida sea Grant Program Technical Report*. University of Florida, Gainesville, Florida, p. 45.
- Stone, A.R., 1970. Growth and reproduction of *Hymeniacidon perlevis* (Montagu) (Porifera) in Langstone Harbour Hampshire. *J. Zool.* 161, 443–459. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1970.tb02048.x>.
- Storr, J.F., 1957. *The Sponge Industry of Florida*. State of Florida, board of Conservation, Educational Series No. 9. Marine Laboratory, University of Miami.
- Storr, J.F., 1964. Ecology of the Gulf of Mexico commercial Sponges and Its Relation to the Fishery, No. 192. Special Scientific Report – Fisheries, No. 466. US Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington DC.
- Storr, J.F., 1976. Field observations of sponge reactions as related to their ecology. In: Harrison, F.W., Cowden, R.R. (Eds.), *Aspects of Sponge Biology*. Academic Press, New York, pp. 277–282.
- Suchanek, T.H., Carpenter, R.C., Witman, J.D., Harvell, C.D., 1983. Sponges as important space competitors in deep Caribbean coral reef communities. In: Reaka, M.L. (Ed.), *The Ecology of Deep and Shallow Coral Reefs*. Symposia Series for Undersea Research. NOAA/NURP, Rockville, pp. 55–59.
- Szatkowski, T., Siwińska-Stefańska, K., Wysokowski, M., Stelling, A.L., Joseph, Y., Ehrlich, H., et al., 2017. Immobilization of titanium (IV) oxide onto 3D spongin scaffolds of marine sponge origin according to extreme biomimetics principles for removal of CI Basic Blue 9. *Biomimetics* 2, 4. <https://doi.org/10.3390/biomimetics2020004>.
- Szatkowski, T., Koczyński, K., Motylenko, M., Borrmann, H., Mania, B., Graś, M., et al., 2018. Extreme biomimetics: a carbonized 3D spongin scaffold as a novel support for nanostructured manganese oxide (IV) and its electrochemical applications. *Nano Res.* 11, 4199–4214. <https://doi.org/10.1007/s12274-018-2008-x>.
- Taylor, M.W., Radax, R., Steger, D., Wagner, M., 2007. Sponge-associated microorganisms: evolution, ecology, and biotechnological potential. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 71, 295–347. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00040-06>.
- Thangavel, K., Rengaswamy, N.S., Balakrishnan, K., 1995. Corrosion resistance of galvanized steel in concrete. *Mater. Perform.* 34, 59–63.
- Thiel, V., Imhoff, J.F., 2003. Phylogenetic identification of bacteria with antimicrobial activities isolated from Mediterranean sponges. *Biomol. Eng.* 20, 421–423. [https://doi.org/10.1016/s1389-0344\(03\)00069-8](https://doi.org/10.1016/s1389-0344(03)00069-8).
- Thomas, T.R.A., Kavlekar, D.P., Lokabharathi, P.A., 2010. Marine drugs from sponge-microbe association - A review. *Mar. Drugs* 8, 1417–1468. <https://doi.org/10.3390/md8041417>.
- Thomas, T., Moitinho-Silva, L., Lurgi, M., Björk, J.R., Easson, C., Astudillo-García, C., et al., 2016. Diversity, structure and convergent evolution of the global sponge microbiome. *Nat. Commun.* 7, 1–12. <https://doi.org/10.1038/ncomms11870>.
- Thomassen, S., Rislund, H.U., 1995. Growth and energetics of the sponge *Halichondria panicea*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 128, 239–246. <https://doi.org/10.3354/meps128239>.
- Thompson, J.E., Walker, R.P., Faulkner, D.J., 1985. Screening and bioassays for biologically-active substances from forty marine sponge species from San Diego, California, USA. *Mar. Biol.* 88, 11–21. <https://doi.org/10.1007/BF00393038>.
- Tout, J., Astudillo-García, C., Taylor, M.W., Tyson, G.W., Stocker, R., Ralph, P.J., et al., 2017. Redefining the sponge-symbiont acquisition paradigm: sponge microbes exhibit chemotaxis towards host-derived compounds. *Environ. Microbiol. Rep.* 9, 750–755. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12591>.
- Towle, M.J., Salvato, K.A., Budrow, J., Weis, B.F., Kuznetsov, G., Aalfs, K.K., et al., 2001. In vitro and in vivo anticancer activities of synthetic macrocyclic ketone analogues of halichondrin B. *Cancer Res.* 61, 1013–1021.
- Tsurkan, D., Wysokowski, M., Petrenko, L., Voronkina, A., Khruzyk, Y., Fursov, A., et al., 2020. Modern scaffolding strategies based on naturally pre-fabricated 3D biomaterials of poriferan origin. *Appl Phys A* 126, 1–9. <https://doi.org/10.1007/s00339-020-03564-9>.
- Turon, X., Becerro, M.A., Uriz, M., 1996. Seasonal patterns of toxicity in benthic invertebrates: the encrusting sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida). *Oikos* 75, 33–40. <https://doi.org/10.2307/3546318>.
- Turon, X., Tarjuelo, I., Uriz, M.J., 1998. Growth dynamics and mortality of the encrusting sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida) in contrasting habitats: correlation with population structure and investment in defence. *Funct. Ecol.* 12, 631–639. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2435.1998.00225.x>.
- Turon, X., Martí, R., Uriz, M.J., 2009. Chemical bioactivity of sponges along an environmental gradient in a Mediterranean cave. *Sci. Mar.* 73, 387–397. <https://doi.org/10.3989/scimar.2009.73n2387>.
- Unson, M.D., Holland, N.D., Faulkner, D.J., 1994. A brominated secondary metabolite synthesized by the cyanobacterial symbiont of a marine sponge and accumulation of the crystalline metabolite in the sponge tissue. *Mar. Biol.* 119, 1–11. <https://doi.org/10.1007/BF00350100>.
- Uriz, M.J., Turon, X., Becerro, M.A., Galera, J., Lozano, J., 1995. Patterns of resource allocation to somatic, defensive, and reproductive functions in the Mediterranean encrusting sponge *Crambe crambe* (Demospongiae, Poecilosclerida). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 124, 159–170. <https://doi.org/10.3354/meps124159>.
- Van Treeck, P., Eisinger, M., Müller, J., Paster, M., Schuhmacher, H., 2003. Mariculture trials with Mediterranean sponge species: the exploitation of an old natural resource with sustainable and novel methods. *Aquaculture* 218, 439–455. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00010-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00010-3).
- Verdenal, B., Vacelet, J., 1990. *Sponge culture on vertical ropes in the northwestern Mediterranean Sea*. In: Rützler, K. (Ed.), *New Perspectives in Sponge Biology*. Smithsonian Institution Press, Washington DC.
- Vershuis, D., McPherson, K., van Passel, M.W., Smidt, H., Siplkema, D., 2017. Recovery of previously uncultured bacterial genera from three Mediterranean sponges. *Mar. Biotechnol.* 19, 454–468. <https://doi.org/10.1007/s10126-017-9766-4>.
- Voultsiadou, E., 2007. Sponges: an historical survey of their knowledge in Greek antiquity. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 87, 1757–1763. <https://doi.org/10.1017/S0025315407057773>.
- Webster, N.S., Hill, R.T., 2001. The culturable microbial community of the Great Barrier Reef sponge *Rhopileides odorabile* is dominated by an α -Proteobacterium. *Mar. Biol.* 138, 843–851. <https://doi.org/10.1007/s002270000503>.
- Webster, N.S., Thomas, T., 2016. The sponge hologenome. *mBio* 7. <https://doi.org/10.1128/mBio.00135-16>.
- Webster, N., Cobb, R.E., Andrew, P.N., 2008. Temperature thresholds for bacterial symbiosis with a sponge. *ISME J.* 2, 830–842.
- Webster, N.S., Taylor, M.W., Behnam, F., Lückler, S., Rattel, T., Whalan, S., et al., 2010. Deep sequencing reveals exceptional diversity and modes of transmission for bacterial sponge symbionts. *Environ. Microbiol.* 12, 2070–2082. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.02065.x>.
- Weigel, B.L., Erwin, P.M., 2017. Effects of reciprocal transplantation on the microbiome and putative nitrogen cycling functions of the intertidal sponge, *Hymeniacidon heliopfila*. *Sci. Rep.* 7, 1–12. <https://doi.org/10.1038/srep43247>.
- Weisz, J.B., Lindquist, N., Martens, C.S., 2008. Do associated microbial abundances impact marine demosponge pumping rates and tissue densities? *Oecologia* 155, 367–376. <https://doi.org/10.1007/s00442-007-0910-0>.
- Wichels, A., Würtz, S., Döpke, H., Schütt, C., Gerdts, G., 2006. Bacterial diversity in the breadcrumb sponge *Halichondria panicea* (Pallas). *FEMS Microbiol.* 56, 102–118. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2006.00067.x>.
- Wilkinson, C.R., Evans, E., 1989. Sponge distribution across Davies Reef, Great Barrier Reef, relative to location, depth, and water movement. *Coral Reefs* 8, 1–7.
- Wilkinson, C.R., Vacelet, J., 1979. Transplantation of marine sponges to different conditions of light and current. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 37, 91–104. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(79\)90028-5](https://doi.org/10.1016/0022-0981(79)90028-5).
- Wilson, M.C., Mori, T., Rückert, C., Uribe, A.R., Helf, M.J., Takada, K., et al., 2014. An environmental bacterial taxon with a large and distinct metabolic repertoire. *Nature* 506, 58–62. <https://doi.org/10.1038/nature12959>.
- Witte, U., Barthel, D., Tendal, O., 1994. The reproductive cycle of the sponge *Halichondria panicea* Pallas (1766) and its relationship to temperature and salinity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 183, 41–52. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(94\)90155-4](https://doi.org/10.1016/0022-0981(94)90155-4).
- Wooster, M.K., McMurray, S.E., Pawlik, J.R., Morán, X.A., Berumen, M.L., 2019. Feeding and respiration by giant barrel sponges across a gradient of food abundance in the Red Sea. *Limnol. Oceanogr.* 64, 1790–1801. <https://doi.org/10.1002/lno.11151>.
- Wright, A.E., Pomponi, S.A., McConnell, O.J., Khomoto, S., McCarthy, P.J., 1987. (+)-Curcuphenol and (+)-curcupdiol, sesquiterpene phenols from shallow and deep water collections of the marine sponge *Didiscus flavus*. *J. Nat. Prod.* 50, 976–978. <https://doi.org/10.1021/np50053a042>.
- Wysokowski, M., Petrenko, L., Stelling, A.L., Stawski, D., Jesionowski, T., Ehrlich, H., 2015. Poriferan chitin as a versatile template for extreme biomimetics. *Polymers* 7, 235–265. <https://doi.org/10.3390/polym7020235>.
- Xue, L., Zhang, X., Zhang, W., 2009. Larval release and settlement of the marine sponge *Hymeniacidon perlevis* (Porifera, Demospongiae) under controlled laboratory conditions. *Aquaculture* 290, 132–139. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.01.037>.
- Yahel, G., Sharp, J.H., Marie, D., Häse2, C., Genin, A., 2003. In situ feeding and element removal in the symbiont-bearing sponge *Theonella swinhoei*: bulk DOC is the major source for carbon. *Limnol. Oceanogr.* 48, 141–149. <https://doi.org/10.4319/lo.2003.48.1.0141>.
- Yahel, G., Eerkes-Medrano, D.I., Leys, S.P., 2006. Size independent selective filtration of ultraplankton by hexactinellid glass sponges. *Aquat. Microb. Ecol.* 45, 181–194. <https://doi.org/10.3354/ame045181>.
- Yahel, G., Whitney, F., Reilswig, H.M., Eerkes-Medrano, D.I., Leys, S.P., 2007. In situ feeding and metabolism of glass sponges (Hexactinellida, Porifera) studied in a deep temperate fjord with a remotely operated submersible. *Limnol. Oceanogr.* 52, 428–440. <https://doi.org/10.4319/lo.2007.52.1.0428>.
- Yang, G., Xiao, Z., Long, H., Ma, K., Zhang, J., Ren, X., et al., 2018. Assessment of the characteristics and biocompatibility of gelatin sponge scaffolds prepared by various crosslinking methods. *Sci. Rep.* 8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20006-y>.
- Yong, K.W.L., Jankam, A., Hooper, J.N.A., Suksamrarn, A., Garson, M.J., 2008. Stereochemical evaluation of sesquiterpene quinones from two sponges of the genus *Dactylospongia* and the implication for enantioselective processes in marine terpene biosynthesis. *Tetrahedron* 64, 6341–6348.
- Zhang, L., An, R., Wang, J., Sun, N., Zhang, S., Hu, J., et al., 2005. Exploring novel bioactive compounds from marine microbes. *Curr. Opin. Microbiol.* 8, 276–281. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.04.008>.
- Zhang, H., Dong, M., Chen, J., Wang, H., Tenney, K., Crews, P., 2017. Bioactive secondary metabolites from the marine sponge genus *Agelas*. *Mar. Drugs* 15. <https://doi.org/10.3390/md15110351>.

CONCLUSION DU CHAPITRE

La spongiculture est une aquaculture peu chronophage lorsqu'elle est développée *in situ*. Même si cela ne représente pas le revenu principal d'un aquaculteur, il peut tout de même compter sur un revenu continu toute l'année en tant qu'activité professionnelle à temps partiel (MacMillan & Ladwig, 1996). Travailler directement en milieu naturel permet de réduire les exigences de récolte et transport des géniteurs en amont. Un état des lieux préexistant correctement mené aide en outre à mieux anticiper d'éventuels dommages sur les stocks locaux et l'environnement. Les rétributions peuvent être faibles au début de l'activité et l'assurance d'un marché local bien établi avec une demande avérée des produits destinés à la vente paraît essentiel avant tout démarrage d'exploitation. Un exemple réussi d'élevage d'éponges à des fins diverses de valorisation envisagées (toilette, cosmétique, pharmacologie), initié depuis plus de 10 ans à Jambiani (Zanzibar), représente aujourd'hui un revenu incontournable pour de nombreuses personnes, contribuant à faire face à la pauvreté qui prévaut. Les mères célibataires sont particulièrement visées et peuvent s'attendre à vendre leur produit pour plus de 30 \$ pièce, un grand pas vers la stabilité financière puisque les 200 \$ constitués mensuellement dépassent le revenu moyen du pays.

L'aquaculture en bassins terrestres s'est avérée plus onéreuse et moins fructueuse pour la croissance à long terme de certaines espèces destinées à être commercialisées en tant qu'éponges de toilette (Duckworth, 2009). Du point de vue de la production de biomasse à des fins de valorisation chimique, des expérimentations *in situ* ont permis de révéler l'adaptation positive de plusieurs espèces à la mise en culture (Koopmans *et al.*, 2009). D'autres potentiels de ces organismes ont également été mis en évidence à travers ces essais, comme leurs actions en tant que bioremédiateurs des eaux polluées (Ledda *et al.*, 2004). La spongiculture multitrophique est également citée comme bénéfique envers les teneurs en bactéries et éléments nutritifs pour l'ensemble du réseau trophique (Cattaneo-Vietti *et al.*, 2003 ; Milanese *et al.*, 2003).

Une grande variabilité dans les taux de croissance et le chémotype des éponges a été démontrée, mettant en avant l'importance de sélectionner des cultivars présentant à la fois une croissance rapide et une production élevée de métabolites secondaires (Page *et al.*, 2011). De telles variations intraspécifiques pourraient se trouver liées à des différences concernant les réserves énergétiques lors de la mise en culture, la performance du métabolisme intrinsèque, le nombre de chambres vibratiles rassemblant les choanocytes et l'adaptation aux variables environnementales (Verdenal et Vacelet, 1990 ; Becerro *et al.*, 1995 ; de Voogd, 2007). Cela implique une sélection préférentielle, dans la mesure du possible, de sites de culture situés à proximité immédiate voire directement dans les habitats naturels des éponges mères pour tenter de minimiser les écarts de réponse aux traitements aquacoles plébiscités.

En conclusion, ces travaux de décryptage de la littérature scientifique ont fait ressortir la grande difficulté de généralisation d'un procédé d'aquaculture à une zone géographique et un organisme ciblé, surtout lorsqu'il s'agit d'espèces peu documentées comme c'est le cas pour cette étude. L'influence de paramètres écologiques ayant souvent été démontrée, il conviendra de s'interroger sur les facteurs prédominants du milieu pouvant avoir une influence sur les réponses constatées. Toutefois, il apparaît impératif en premier lieu de s'interroger plus en détails sur le spongiaire qui nous intéresse dans le cadre de ces travaux, à savoir *Dactylospongia*

metachromia. Une caractérisation biologique et écologique de cet organisme encore très mal décrit pourrait en effet permettre de mieux cerner ses besoins physiologiques pour pouvoir ensuite raisonner au mieux son aquaculture *in situ*. Suite à de nombreuses observations sur le terrain et à des plongées répétées dans son habitat naturel, des caractéristiques spécifiques jamais rapportées auparavant ont effectivement pu être observées telles que présentées dans le **Chapitre II** ci-après.

An underwater photograph of a coral reef. The scene is dominated by large, green, textured sponges in the foreground and middle ground. To the right and in the background, there are patches of white, branching coral. The water is clear, and the lighting is bright, highlighting the intricate textures of the marine life.

**CHAPITRE II :
BIOLOGIE
ET ÉCOLOGIE**

INTRODUCTION DU CHAPITRE

Dactylospongia metachromia (**Photo 1**) est un invertébré benthique sessile appartenant à la plus grande classe d'éponges, les Demospongiae, qui regroupent près de 80 % de toute la diversité des 9 469 éponges recensées dans le monde (de Voogd *et al.*, 2021). Cet organisme macro-filtreur de la famille des Thorectidae (186 espèces à ce jour) a été décrit pour la première fois par de Laubenfels (1954) sous le nom d'*Hippiospongia metachromia* à partir d'un spécimen trouvé lors d'une plongée en 1949 sur l'île de Koror en République des Palaos (ou Palau), Micronésie.



Photo 1. Un spécimen sauvage de *Dactylospongia metachromia* sur la barrière externe de Rangiroa (Polynésie française).
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

L'objectif de ce premier volet est de fournir des données bio-écologiques sur cette éponge, toujours méconnue lorsque l'on considère ces aspects, ainsi que sur sa répartition géographique. L'identification taxonomique de l'espèce par barcoding a été réalisée au Naturalis Biodiversity Center de l'Université de Leiden (Pays-Bas). Pour cela, des échantillons d'éponges sauvages de Rangiroa ont été génétiquement comparés à d'autres, issus des collections privées du Rijksmuseum van Natuurlijke Historie (RMNH) et de l'ancien Zoological Museum Amsterdam (ZMA), précédemment identifiés comme *Dactylospongia metachromia* (de Laubenfels, 1954). Des rapprochements avec d'autres espèces de Thorectidae ont également été entrepris pour une étude phylogénétique plus approfondie.

I. DISTRIBUTION ET MORPHOLOGIE DE L'ESPÈCE

I. 1. Distribution

La distribution géographique dans l'océan Pacifique de *Dactylospongia metachromia* s'étend de l'Indonésie à la Polynésie française. Cette éponge inter-tropicale est également retrouvée aux îles Cook, Salomon, Palaos, à Taiwan, au Japon et dans l'archipel des îles Hawaii (**Figure 1**). Les biotopes mentionnés sont variables au sein d'une même région : à Hawaii, l'éponge a ainsi été trouvée à la fois dans les eaux relativement préservées de la petite île de

Lana'i (environ 3 000 habitants) et à proximité immédiate du littoral de l'île la plus peuplée de O'ahu (plus de 980 000 habitants) (Hagiwara *et al.*, 2016). La profondeur des spécimens récoltés, lorsqu'elle est renseignée, s'étend de 3 à près de 80 m sous la surface (de Laubenfels, 1954 ; Kobayashi *et al.*, 1989). Dans les archipels de Polynésie française, de nombreuses observations ont été réalisées au cours de notre suivi, ce qui nous a permis de fournir des caractères intéressants liés à la morphologie et à la distribution *in situ* de l'espèce pour ces zones insulaires.



Figure 1. Cartographie de la distribution de l'éponge *Dactylospongia metachromia*. Établie d'après les données et références disponibles sur les bases de données WoRMS et World Porifera Database et étoffée par de la littérature scientifique.

En Polynésie française, cette éponge semble favoriser les zones hydrodynamiques aux eaux non soumises à l'influence d'effluents d'eau douce, comme dans les îles hautes où elle n'est pas observée (i.e. ruissellement, embouchures de rivière). En effet, elle a uniquement été aperçue sur l'atoll de Tetiaroa pour l'archipel de la Société, tandis qu'elle se manifeste en abondance dans la plupart des atolls des Tuamotu jusqu'aux îles Gambier. On l'y trouve préférentiellement exposée sur la barrière récifale, parmi les roches coralliennes détritiques, bien qu'elle ait également été observée à l'intérieur de certains lagons figurant des récifs affleurants comme Raroia et Makemo (Debitus *et al.*, 2019). Des spécimens ont été rencontrés de 10 à plus de 65 m de profondeur, pouvant atteindre plus de 1 m de long pour les plus grands individus observés.

I. 2. Aspect macroscopique

Sa morphologie est variable, y compris à échelle géographique réduite comme ce que l'on peut observer dans l'archipel des Tuamotu que nous ciblerons dans cette étude. Dans le lagon de Raroia, elle se présente davantage sous une forme sphérique assez ferme. À Rangiroa, c'est une espèce plutôt massive et digitée avec de nombreuses crêtes qui est visible sur la barrière récifale. *Dactylospongia metachromia* y recouvre différents substrats, allant des coraux vivants aux roches détritiques colonisées par les algues calcaires. Toujours sur Rangiroa, mais cette fois à l'intérieur même de la passe de Tiputa, nous avons également pu constater la présence de véritables tapis de cette éponge à l'aspect cette fois très encroûtant (**Photo 2**). Dans cette zone, où la courantologie est nettement plus marquée qu'aux abords extérieurs des passes, ces populations s'étalent sur plusieurs centaines de mètres en l'absence d'autres espèces sessiles

benthiques majoritaires comme les coraux toujours dominants *Pocillopora verrucosa*, *Pocillopora eydouxi* et *Acropora rotumana* (Montaggioni *et al.*, 1985).

Nous avons enfin constaté au cours de nos plongées la relative résilience de l'espèce sur plusieurs mois lorsqu'elle se trouve placée sur un fond lagonaire sablo-limoneux. De même, cette éponge semble bien s'acclimater lorsqu'elle évolue sur des supports artificiels anciens, tels que des parpaings mis en place dans le lagon ou d'anciens fils de pêche immergés retrouvés colonisés sur la barrière corallienne.



Photo 2. Tapis de *Dactylospongia metachromia* découverts dans la passe de Tiputa (intervalle de profondeur estimé entre 15 et 25 m de fond).

©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

La coloration du pinacoderme varie du vert foncé lorsque l'éponge se trouve exposée sur le récif au jaune vif lorsqu'on la retrouve à l'abri dans les crevasses, loin de l'influence des courants violents comme c'est le cas aux latitudes plus australes des îles Gambier (Maslin *et al.*, 2021). La présence d'éponges à l'intérieur de crevasses peut résulter d'une tentative de protection contre les effets directs de la lumière, voire contre une occupation de l'espace hautement compétitive face aux organismes photosynthétiques comme les algues (Rützler, 1969 ; Ginn *et al.*, 2000). Lors des essais aquacoles, une variation de couleur était parfois également remarquée. Il est à noter que le choanosome de *Dactylospongia metachromia* devient violet lorsque l'éponge est endommagée ou coupée. En outre, les individus affectés par un encrassement biologique important ou dont le pinacoderme se trouvait endommagé par endroits présentaient souvent une surface beaucoup plus jaune que les explants intacts restés vert olive (**Photo 3**). Tous se trouvant placées à la même profondeur, aucun effet d'altération directe de la couleur du derme par une variation d'exposition aux rayons UV ne peut être présumé, la photoprotection ayant toutefois déjà été citée comme explication potentielle au phénomène (McClintock *et al.*, 2005).



Photo 3. Variation de couleur du pinacoderme retrouvé jaune chez des individus cultivés à Rangiroa et présentant un aspect encrassé ou dégradé.

I. 3. Composition du squelette

Dactylospongia metachromia est principalement constituée de spongine, un type modifié de scléroprotéine de collagène sécrété par des cellules mésenchymateuses appelées « spongioblastes » (Ehrlich *et al.*, 2007). De petits « conules » ou protubérances de moins d'1 mm hérissent le pinacoderme de manière aléatoire (**Photo 4**).



Photo 4. Détail du pinacoderme de *Dactylospongia metachromia* figurant les oscules sommitaux et de nombreuses conules.
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

Dans le cadre de notre étude, le choanosome de l'éponge a pu être examiné sur des spécimens de diverses régions du monde, mais également de différentes îles des Tuamotu (Makemo, Tematangi, Raroia, Rangiroa). Il est partout composé de fibres de couleur ambre ramifiées et densément assemblées en un réseau d'aspect homogène, confortant de précédentes observations (Hooper, 2014). Des images de ces structures tronquées ont pour la première fois pu être obtenues au microscope électronique à balayage (MEB), révélant leur aspect gainé et

stratifié (**Photo 5**). Leur diamètre ainsi calculé a démontré la présence de réseaux primaires et secondaires interconnectés et difficilement distinguable comme cela a également été rapporté pour d'autres Thorectidae du genre *Smenospongia* (de Cook & Bergquist, 2002). Le diamètre maximal des fibres primaires peut atteindre près de 0.1 mm, tandis que les structures secondaires les plus fines ne dépassent pas les 15 µm de diamètre (**Annexe 1**). Le squelette présente également de grandes cavités sphériques (ou « lacunes ») directement recouvertes de pinacoderme. Ces interstices sont souvent remplis de débris sédimentaires, que l'on retrouve parfois également à l'intérieur des fibres primaires.

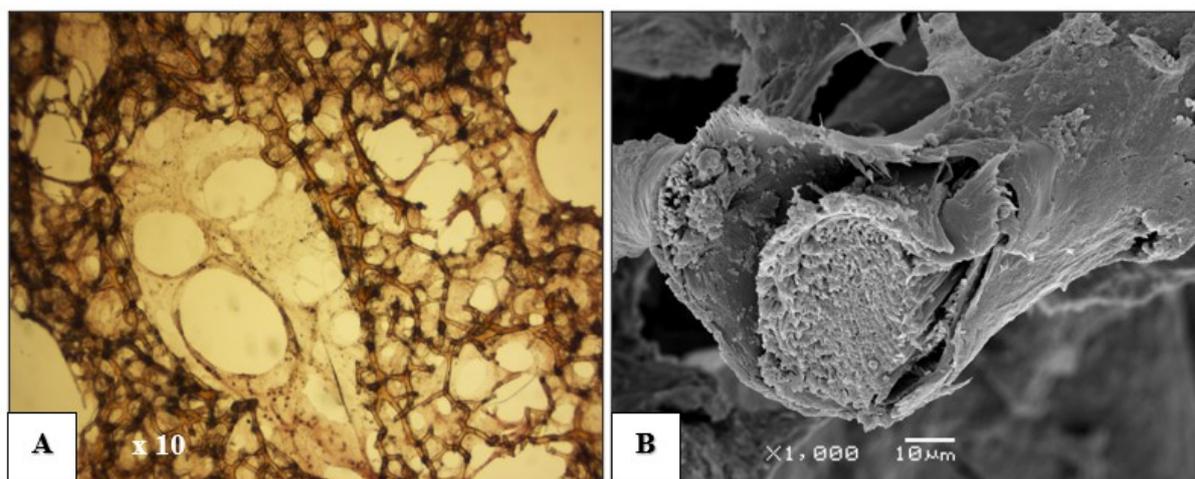


Photo 5. Détails du réseau de fibres de spongine de spécimens de *Dactylospongia metachromia* collectés à Rangiroa. Observation au microscope optique (A, modèle Leica DM5500 B équipé avec un appareil photo Leica DFC320) et au microscope électronique à balayage (B, modèle JEOL JSM-6480LV).

Ces caractéristiques squelettiques font de cette éponge une espèce ferme et peu compressible. D'un point de vue de mise en aquaculture, il s'agit de spécificités idéales pour la manutention qui viennent s'ajouter au fait que *Dactylospongia metachromia* soit dépourvue de spicules coupants et reste également très peu déformable.

II. PHYLOGÉNIE

La taxonomie des spongiaires étant reconnue comme difficilement appréhendable en raison de l'absence de traits hautement spécifiques (Van Soest *et al.*, 2012), des analyses barcoding de spécimens de *Dactylospongia metachromia* provenant de Polynésie française ont été effectués lors d'un séjour au Naturalis Biodiversity Center de Leiden (Pays-Bas). Les rapprochements au sein de la famille des Thorectidae ont concerné d'autres éponges issues des collections privées du musée, dont certaines avaient précédemment été identifiées comme appartenant au même genre *Dactylospongia*, voire à la même espèce mais issues de localités géographiquement différentes. La liste des échantillons employés pour le genre *Dactylospongia*, figurant également leur localisation, est disponible en **Annexe 2**. Les espèces de Thorectidae affichées dans les arbres phylogénétiques qui n'appartiennent pas aux échantillons de la liste ont été récupérées par leurs identifiants dans la base de données de séquences GenBank® (National Institutes of Health, www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Des numéros d'accès ont également été fournis pour nos propres échantillons suite à leur implémentation dans cette plate-forme bioinformatique afin de contribuer à l'enrichir.

II. 1. Matériels et Méthodes

Les échantillons d'éponges ont été découpés en très petits morceaux ($< 0.5\text{mm}^3$) contenant uniquement du chanosome afin d'éviter une trop forte contamination avec les bactéries du pinacoderme. Les découpes furent ensuite placées dans des vials de 2 mL remplis d'éthanol à 96 %. L'extraction de l'ADN s'est effectuée manuellement via l'emploi du kit DNeasy® des laboratoires QIAGEN (Qiagen Blood and Tissues Kit 250) en suivant les recommandations du fabricant. La sous-unité ribosomique 28S et la sous-unité I du gène mitochondrial du cytochrome oxydase (COI) ont été utilisées pour extraire l'ADN (Chombard *et al.*, 1998 ; Meyer *et al.*, 2005). Si la première est très courante et plus largement employée chez les spongiaires, la seconde permet une meilleure détection des variations intraspécifiques. Ces fragments ont été amplifiés à l'aide des amorces suivantes :

- pour 28S : 28S-C2-fwd (5'-GAAAAGAAGCTTTGRARAGAGAGT-3') et 28S-D2-rev (5'-TCCGTGTTTCAAGACGGG-3')
- pour COI : dgLCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGAYATYGG-3') et dgHCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAARAAYCA-3')

Les paramètres d'amplification sur un total de 40 cycles étaient les suivants : dénaturation initiale à 98 °C pendant 30 s, dénaturation à 98 °C pendant 10 s, appariement à 55 °C (COI) ou 52.5 °C (28S) pendant 10 s, première extension à 72°C pendant 15 s et extension finale à 72 °C pendant 5 min. Le rendement du produit de PCR a été vérifié à l'aide de gels d'agarose (96.2 %) prêts-à-l'emploi (kits E-Gel® d'Invitrogen™). Les produits de PCR ont été envoyés à la société BaseClear B.V. (Leiden, Pays-Bas) pour un séquençage direct et inverse en utilisant les mêmes amorces que celles employées pour l'amplification par PCR.

Les séquences de nucléotides ont été éditées et analysées grâce au logiciel Geneious Prime (version 19.2.3). Les blocs de séquence continue ont été débarrassés des portions se référant aux amorces et leur alignement a été effectué à l'aide du programme MAFFT (version 7.017) (Kato *et al.*, 2002). Les arbres phylogénétiques obtenus à l'issue ont été construits à l'aide des programmes informatiques MrBayes (Huelsenbeck *et al.*, 2001) et PhyML 3.0 (Guindon *et al.*, 2010).

II. 2. Résultats et Discussion

La **Figure 2** ci-dessous nous renseigne sur les affinités génétiques retournées après l'emploi du marqueur COI. La qualité de l'ADN n'ayant pas toujours été jugée exploitable, des retraits d'échantillons ont dû être effectués par rapport au marqueur 28S présenté ci-après. Le degré de qualité des séquences post-extraction est représenté par la longueur des barres relatives à chaque taxon représenté.

On constate notamment une absence de clivage entre tous les spécimens de *Dactylospongia metachromia* investigués, ceci peu importe leurs caractéristiques spécifiques. Le plus fort degré de parenté génétique illustré concerne une autre espèce du même genre, *Dactylospongia elegans*. Les deux taxa non identifiés, notés sp., appartiennent ainsi probablement à l'une ou l'autre des deux espèces selon l'endroit où ils ressortent parmi les sous-groupe. Aussi, l'arbre renvoie une forte proximité avec le genre *Smenospongia*, qui est susceptible de présenter un faciès étonnamment similaire à *Dactylospongia metachromia* pour certaines localités, laissant dès lors planer le doute sur l'identification exacte de l'une ou de l'autre (**Photo 6**). Ces résultats nous permettent entre autres d'asseoir la preuve d'une bonne identification de l'espèce utilisée pour ces travaux de thèse.

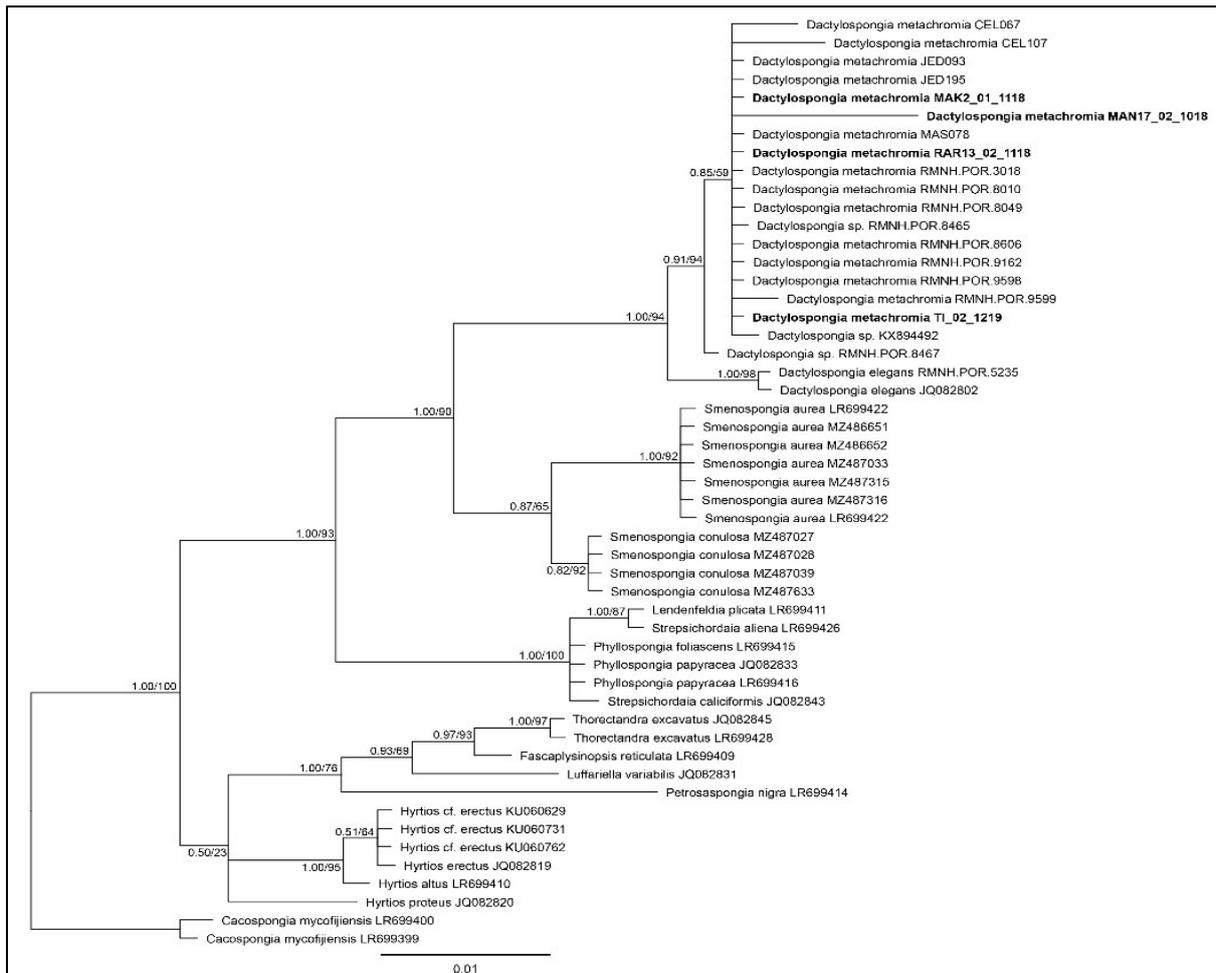


Figure 2. Arbre phylogénétique figurant plusieurs Thorectidae et reconstruit d'après les résultats du marqueur moléculaire COI. Les quatre échantillons provenant de Polynésie française sont indiqués **en gras** selon la nomenclature suivante : MAK (Makemo, Tuamotu), MAN (Mangareva, Gambier), RAR (Raroia, Tuamotu) et TI (Rangiroa, Tuamotu). Les probabilités renvoyées par les programmes MrBayes (échelle de 0 à 1) et PhyML (échelle de 0 à 100) sont indiquées à chaque embranchement.



Photo 6. Spécimens d'éponges possiblement identifiés comme *Smenospongia* sp. et photographiés aux Bahamas (île de San Salvador). La très forte ressemblance morphologique avec *Dactylospongia metachromia* vient conforter les résultats barcoding obtenus de genres étroitement apparentés.

©Sven ZEA (www.spongeguide.uncw.edu)

La **Figure 3** représente l'arbre phylogénétique des séquences retenues après usage du marqueur 28S. Très peu de séquences relatives à ce marqueur étant disponibles sur GenBank®, cette analyse a uniquement ciblé l'éponge *Dactylospongia metachromia* afin d'identifier un possible regroupement génétique en lien avec la répartition géographique.

On remarque en effet une telle distinction au sein de l'espèce. Toutefois, si la majorité des localités se démarquent les unes des autres par régions océaniques et permettent d'envisager l'hypothèse d'adaptations environnementales de ce taxon sur le plan génétique, la Polynésie française fait figure d'exception par l'existence de deux sections notablement distinctes. Celles-ci n'ont *a priori* aucune corrélation avec la répartition latitudinale des atolls concernés au sein de l'archipel des Tuamotu, toutefois un potentiel gradient longitudinal est à noter. Ainsi, on remarque que les génotypes des trois atolls situés à l'extrémité est de cet archipel se rassemblent, à savoir Rangiroa, Tematangi et Tetiaroa (Société). L'opposition avec le secteur ouest se dénote par le rassemblement de Makemo, Raroia et Mangareva (Gambier) dans un sous-groupe distinct de l'arbre.

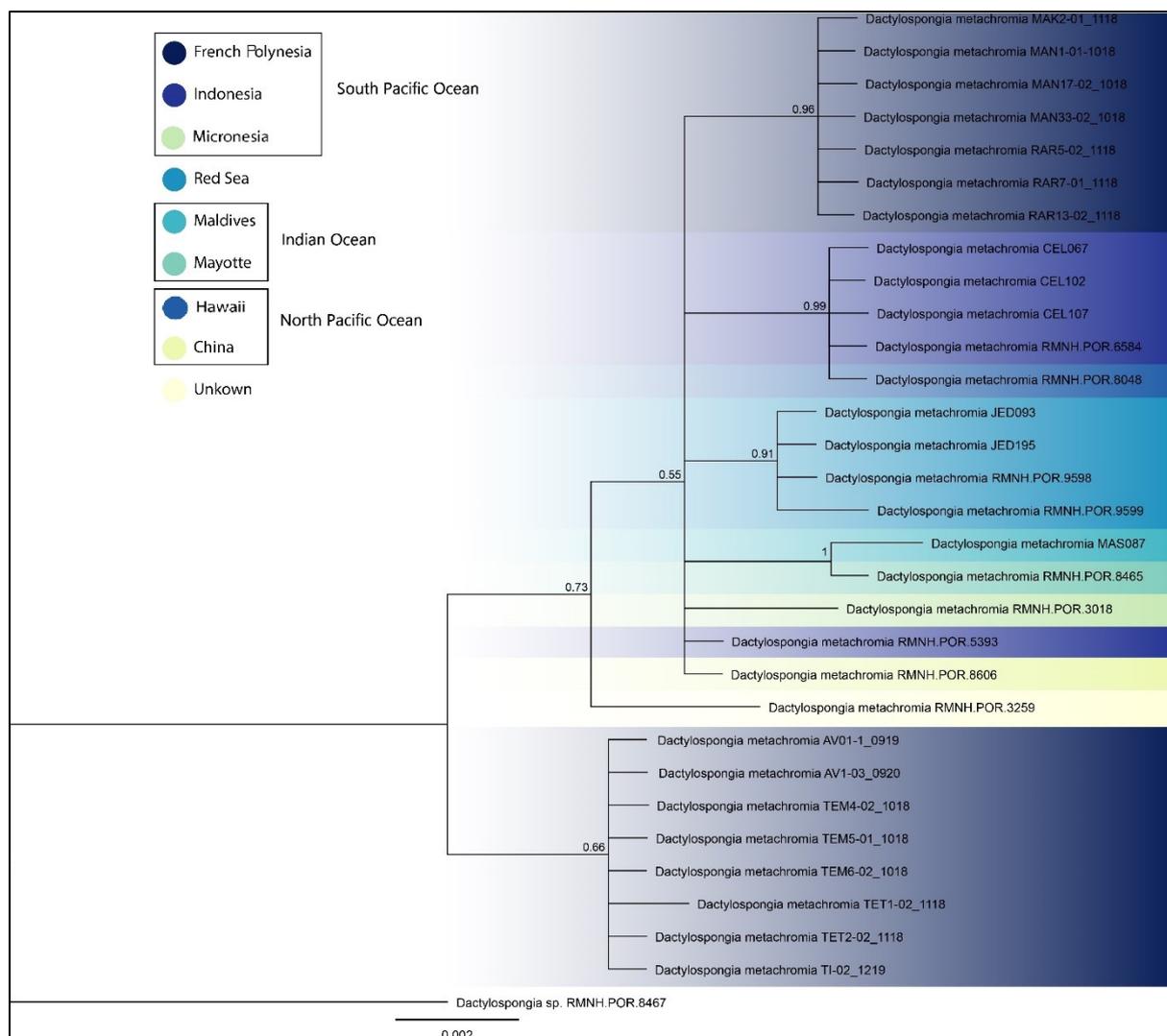


Figure 3. Arbre phylogénétique de l'espèce *Dactylospongia metachromia* reconstruit d'après les résultats du marqueur ADN_r 28S. Les quinze échantillons provenant de Polynésie française sont indiqués selon la nomenclature suivante : MAK (Makemo, Tuamotu), MAN (Mangareva, Gambier), RAR (Raroia, Tuamotu), AV/TI (Rangiroa, Tuamotu), TEM (Tematangi, Tuamotu) et TET (Tetiaroa, Société). Les valeurs de probabilités renvoyées par le programme MrBayes (échelle de 0 à 1) sont indiquées à chaque embranchement.

III. SYSTÈME DE FILTRATION

III. 1. Généralités

Les ostioles de cette éponge ne sont pas visibles à l'œil nu. Les oscules sont quant à eux inférieurs à 1 cm de diamètre, en général compris entre 2 et 6 mm (**Photo 7**). Dans la plupart des cas, ils se trouvent rassemblés au sommet des crêtes de l'organisme, mais cette constatation n'est pas généralisable à l'espèce. Comme pour *Polymastia crocea* (Kelly-Borges & Bergquist, 1997) et d'autres démosponges (Leys & Meech, 2006), *Dactylospongia metachromia* peut contracter ses fibres de spongine pour fermer ses oscules à la suite d'un stress mécanique ou photique (i.e. excision, transplantation). La présence de cellules sensorielles pouvant propager des ondes de contraction entre elles dans le choanosome épais de ces éponges constitue une explication intéressante.

Aucune relation n'a été trouvée entre le nombre ou le diamètre des oscules et la taille de l'éponge ou la surface couverte par ses sommités (**Annexe 3**). La densité d'oscules mesurée sur des spécimens sauvages variait ainsi entre 0.3 et 5 ± 1.2 oscule·cm⁻² (n = 25). Pour les individus d'élevage, le nombre d'oscules de ceux placés en milieu lagunaire était en règle générale bien inférieur à celui des spécimens de la barrière récifale. En revanche, les rares oscules présents sur les éponges cultivées en lagon présentaient un diamètre plus large que la moyenne, probablement pour compenser leur faible nombre visant à empêcher le blocage des canaux de filtration par la forte charge en particules de l'eau environnante (Duckworth, 2000). La présence d'un ectosome contractile et l'ajustement ultérieur des taux de pompage de la colonne d'eau ont depuis longtemps été signalés chez plusieurs spongiaires confrontés à des quantités élevées de sédiments en suspension tels que *Jaspis stellifera* ou *Aplysina lacunosa* (Wilkinson, 1978 ; Gerrodette & Flechsig, 1979).



Photo 7. Détails des oscules sur les crêtes sommitales de *Dactylospongia metachromia*.
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

III. 2. Capacité de filtration *in situ*

III. 2. 1. Matériels et Méthodes

Les performances de filtration de l'espèce ont été évaluées du fait de l'observation de différents profils *in situ*. En effet, individus sauvages comme explants ne pompent pas continuellement, mais utilisent parfois les flux hydriques auxquels ils sont exposés pour satisfaire leurs besoins physiologiques. Bien que marginale, cette « filtration passive » est un mécanisme connu des Porifera et a également été démontré chez d'autres éponges (Riisgård et al., 1993 ; Leys *et al.*, 2011 ; Kraus *et al.*, 2021). Suite à des prises vidéo de tests de pompage à la fluorescéine dans les populations d'éponges sauvages situées à proximité des sites de culture de la barrière récifale (**Annexe 4**), la vitesse d'exhalation de *Dactylospongia metachromia* a été mesurée grâce au logiciel d'analyse de vidéos Tracker (version 5.1.5) (Wooster *et al.*, 2019). Six individus sauvages de même longueur (i.e. environ 20 cm pour un volume compris entre 1 500 et 3 000 cm³) ont été filmés près des installations aquacoles à deux endroits distincts de la barrière récifale de Rangiroa (Tuamotu). Un minimum de 3 oscules par individu a ainsi été analysé pour obtenir le débit moyen exhalé (mL·min⁻¹) et normalisé à la surface d'ouverture de l'oscule concerné (**Figure 4**), assimilé à une ellipse, d'après l'hypothèse communément admise d'une proportionnalité entre les deux paramètres (Kumala *et al.*, 2017 ; Lavy *et al.*, 2016 ; Goldstein *et al.*, 2019).

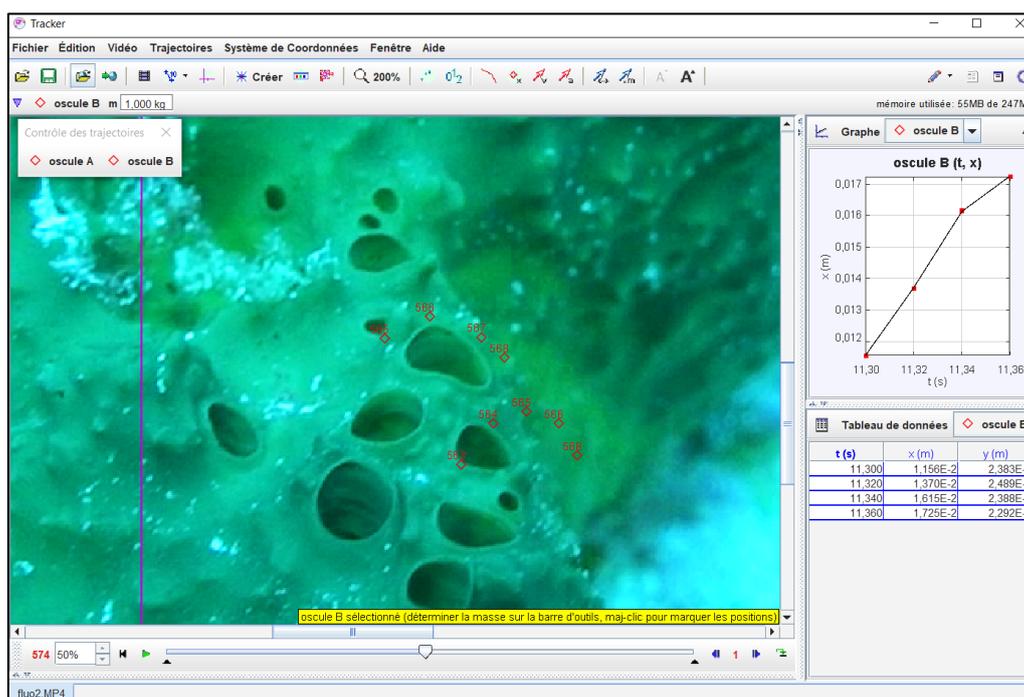


Figure 4. Mesure de la vitesse d'exhalation de *Dactylospongia metachromia* effectuée grâce au logiciel Tracker.

III. 2. 2. Résultats et Discussion

La trajectoire du flux sortant présente le plus souvent un profil parabolique, comme cela fut démontré selon le même protocole chez la démosponge *Xestospongia muta* (Wooster *et al.*, 2019). Avant d'être dispersée par le courant ambiant, le débit exhalant moyen acquis est fortement contrasté entre les individus et des références préalables indiquent de fait qu'il peut parfois se voir qualifier de « fort » ou « faible » d'un oscule à l'autre (Lavy *et al.*, 2016). Les débits moyens des spécimens sauvages filmés vont de 20 à 150 mL·min⁻¹. Les équivalents en

vitesses quadratiques moyennes des flux sortant vont de 3 à 24 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$. À l'échelle de chaque oscule pris individuellement, le maxima observé s'élève à 300 et $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, soit 18 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$. Le minima tombe quant à lui à moins d'1 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ pour un oscule au repos utilisant la force naturelle du courant présent, tandis que la moyenne des 6 spécimens avoisine les 4 $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$. Le débit moyen total regroupant l'intégralité des mesures en triplicata ($n = 66$) est de $63 \pm 23 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ pour cette espèce, soit un hypothétique potentiel de 90 L filtrés par jour par individu.

IV. ALIMENTATION PHYTOPLANCTONIQUE

De nombreuses études ont exploité le potentiel de fluorescence des cellules planctoniques en utilisant la cytométrie en flux pour obtenir plus d'informations sur les régimes alimentaires naturels et les stratégies d'alimentation des éponges (Pile *et al.*, 1996 ; Ribes *et al.*, 1999 ; Yahel *et al.*, 2003, 2005, 2007 ; Pile & Young, 2006 ; Stabili *et al.*, 2006 ; Trussell *et al.*, 2006 ; Topçu *et al.*, 2010). Elles impliquent la collecte manuelle d'eau de mer entrant dans le corps de l'éponge à travers les nombreux pores inhalant ou « ostioles » et le flux d'eau exhalant généré par des cellules spécifiques connues sous le nom de « choanocytes ». Nous avons utilisé un tel protocole afin d'étudier l'efficacité de filtration *in situ* de *Dactylospongia metachromia* par rapport aux particules de picoplancton photosynthétique présentes dans la colonne d'eau environnante. Le « picophytoplancton », de taille comprise en 0.2 et 2 μm , constitue en effet la fraction dominante du phytoplancton dans les eaux océaniques de Polynésie française (Andréfouët & Adjeroud, 2019). Les bactéries hétérotrophes à haute et faible teneur en acide nucléique (respectivement nommées HNA et LNA), composantes du bactérioplancton couramment observées dans les environnements aquatiques et connues pour être assimilables par les spongiaires, n'ont pas été retenues pour ces analyses car le risque de contamination avec les populations bactériennes du même type présentes sur la surface de l'éponge ou au sein du mucus la recouvrant était trop important (Wehrl *et al.*, 2007 ; McMurray *et al.*, 2016).

La période d'échantillonnage en plongée sous-marine a été organisée lors de la campagne « TUAM 2018 » menée à bord du N/O *Alis* par l'IRD du 19 octobre au 23 novembre 2018. Ces mois correspondent au tout début de la saison des pluies tropicale, ou été austral, au cours de laquelle l'humidité et la température augmentent et de fortes précipitations sévissent régulièrement (Laurent *et al.*, 2019). Les échantillonnages *in situ* ciblaient 6 îles de 3 archipels polynésiens distincts (**Figure 5**) : **Hereheretue**, **Rangiroa**, **Raroia**, **Tematangi** (Tuamotu), **Mangareva** (Gambier) et enfin **Tetiaroa** (Société). Des informations de nature géographique et démographique sur ces localités sont disponibles dans le **Tableau I** ci-dessous.

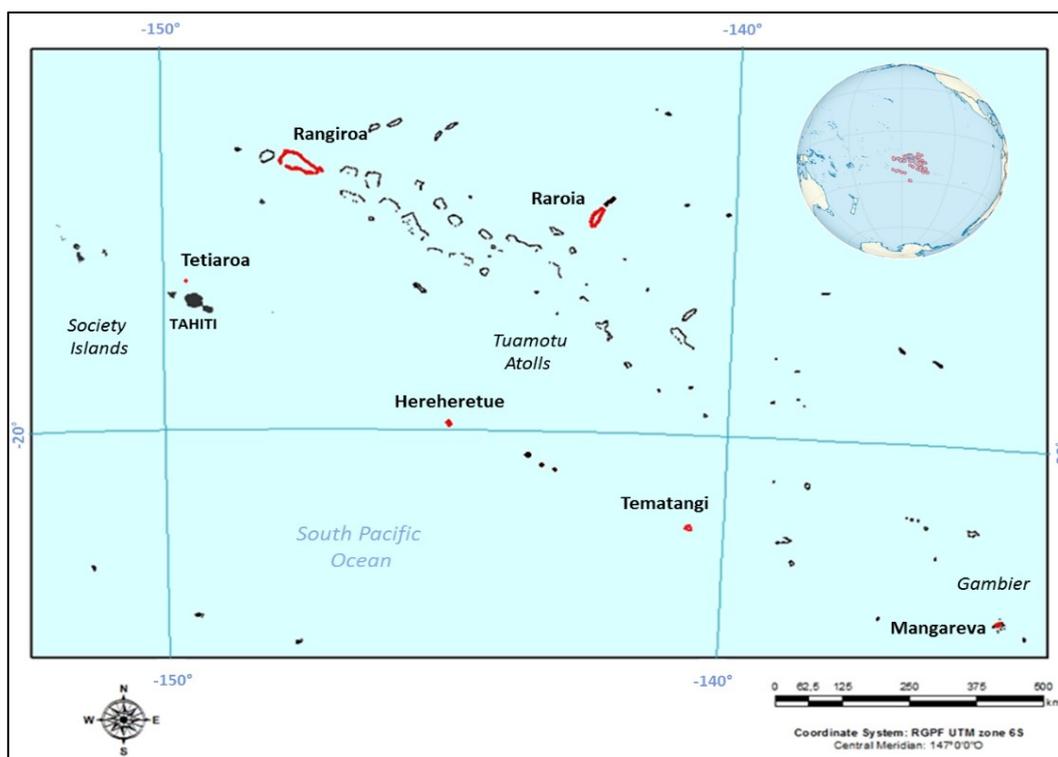


Figure 5. Localisation des six sites de prélèvement dans les archipels de la Société, des Tuamotu et des Gambier.

Tableau I. Caractéristiques des six îles où l'échantillonnage a été effectué.

Nom	Type	Latitude (S)	Longitude (W)	Terre (km ²)	Lagon (km ²)	Passe	Résidents
Hereheretue	Atoll	-19° 51' 59.99"	-144° 57' 59.99"	4	23	0	57
Rangiroa	Atoll	-15° 07' 18.60"	-147° 38' 25.79"	79	1 446	2	2 709
Raroia	Atoll	-16° 00' 60.00"	-142° 25' 59.99"	41	359	1	174
Tematangi	Atoll	-21° 39' 59.99"	-140° 36' 59.99"	7.7	61	0	61
Mangareva	Ile	-23° 06' 20.40"	-134° 57' 34.19"	15.4	-	3	1 384
Tetiaroa	Atoll	-17° 00' 0.00"	-149° 32' 59.99"	6	34	0	240

IV. 1. Matériels et Méthodes

Une solution diluée de fluorescéine a de nouveau été employée comme traceur de l'écoulement d'eau à travers l'éponge (Annexe 4). Trois spécimens voisins de taille semblable étaient systématiquement échantillonnés en respectant un même protocole de prélèvement à la seringue en plastique : 40 mL d'eau de mer inhalée et 40 mL d'eau expirée furent collectés, respectivement à proximité immédiate du pinacoderme et à la sortie d'un oscule, sans contact avec ce dernier pour éviter une contamination par la matière organique. Une fraction de 1.6 mL de chaque échantillon d'eau a été placée dans un flacon de stockage cryogénique et fixée avec 8 µL d'une solution de formaldéhyde à 37 % filtrée sur 0.22 µm. Les flacons étaient ensuite agités manuellement puis placés dans de l'azote liquide à -180 °C jusqu'à leur retour au laboratoire de l'UPF. Ils y étaient maintenus conservés à -80 °C jusqu'à l'analyse par cytométrie en flux qui était impérativement menée dans le mois suivant l'échantillonnage (Charpy & Blanchot, 1999).

Les mesures de la teneur en particules picoplanctoniques des échantillons ont été effectuées à l'aide d'un cytomètre en flux de paillasse CytoFLEX (Beckman Coulter, Inc.) équipé de deux lasers (bleu et rouge). Faute d'un trieur de cellules couplé à notre appareil, des contaminations croisées excessives conduisaient au retrait de l'échantillon pour les analyses suivantes de par la difficulté à discriminer avec précision le bruit du plancton. Des billes fluorescentes calibrées BD Trucount™ (Becton Dickinson Biosciences, USA) ont été utilisées comme étalons internes pour déterminer le nombre absolu de cellules et le volume réellement analysé. Des microsphères Fluoresbite™ YG de 1 et 2 µm de diamètre (Polysciences, Inc.) furent employées comme étalons de dimension des particules. Une vérification quotidienne de l'alignement optique et du système fluide du CytoFLEX était effectuée pendant toute la durée des expériences. Un fluide de gaine non ionique et non fluorescent a été utilisé comme diluant prêt-à-l'emploi. Suite au passage d'échantillons contaminés, un rinçage était programmé au nettoyant FlowClean Cleaning Agent (Beckman Coulter, Inc.) suivi d'eau milli-Q.

Les cyanobactéries picoplanctoniques ont été identifiées sur les cytogrammes en fonction de leur signature fluorescente (**Figure 6**), aboutissant à des populations distinctes de *Synechococcus* et *Prochlorococcus* qui constituent les picoprocaryotes dominants et les plus répandus du phytoplancton (Charpy & Blanchot, 1997 ; Andréfouët & Adjeroud, 2019 ; Santos *et al.* 2019).

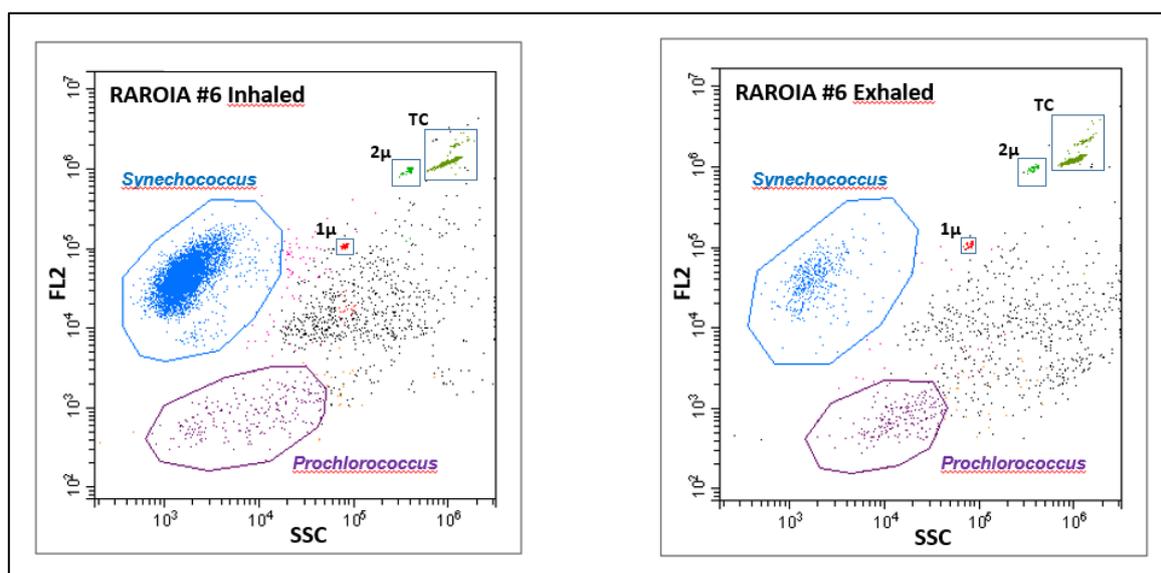


Figure 6. Exemples de cytogrammes pour l'atoll de **Raroia** (Tuamotu) avec le détail des populations picoplanctoniques de *Synechococcus* et de *Prochlorococcus* aux siphons inhalant (gauche) et exhalant (droite).

Les taux de rétention (R , %) en particules de chaque individu ont été calculés selon la formule suivante :

$$R (\%) = [(C_{inh} - C_{exh}) / C_{inh}] * 100$$

où C_{inh} se réfère à la concentration inhalée de particules picoplanctoniques par l'éponge et C_{exh} à la concentration exhalée.

Des tests statistiques au seuil de 95 % de confiance ont été réalisés à l'aide du logiciel R-Studio (version 1.3.1093) sur les différentes données présentées. Les transformations usuelles (fonctions logarithme, racine carrée ou inverse) ont parfois été appliquées aux résultats afin de

valider les hypothèses de normalité des résidus et d'homoscédasticité, respectivement vérifiées par des tests de Shapiro-Wilk et de Levene. L'indépendance des variables a été explorée par des tests exacts de Fisher, permettant également des analyses de variance (ANOVA) à 1 facteur accompagnées de tests post-hoc de Tukey pour la comparaison d'une variable quantitative (e.g. « Abondance en picoplancton eucaryote ») à une variable qualitative (e.g. « Sites », 6 modalités ou « Type d'eau », 2 modalités). En cas de distribution non normale des données malgré les transformations précitées, des tests de Kruskal-Wallis suivis de tests post-hoc de Dunn-Bonferroni ont été exécutés. Pour les tests multivariés, les interactions des variables ont été testées à l'aide d'ANOVA à plusieurs facteurs.

IV. 2. Résultats et Discussion

Les résultats des concentrations moyennes en picoplancton eucaryote et procaryote (cellules·mL⁻¹) dans les îles échantillonnées sont présentés dans la **Figure 7** ci-dessous.

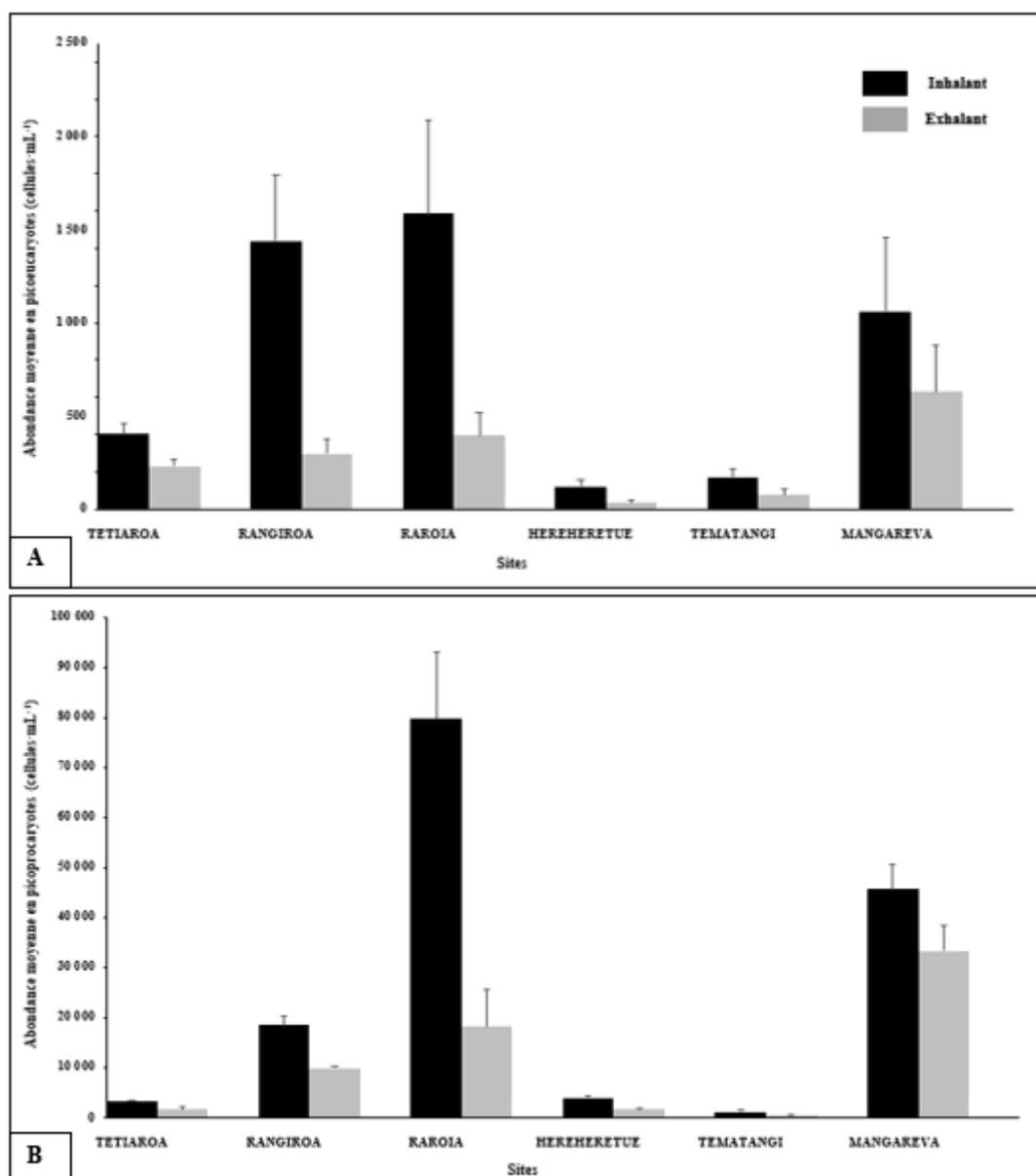


Figure 7. Comparaison des valeurs moyennes de l'abondance totale en organismes planctoniques picoeucaryotes (A) et picoprocarvites (B) dans les eaux inhalées et exhalées de spécimens de *Dactylosporgia metachromia*

pour six îles différentes de Polynésie française.

Au niveau du type d'eau analysé tous sites confondus, on constate un différentiel significatif entre les concentrations inhalées et exhalées, avec des densités picoplanctoniques plus élevées dans les flux entrant par les ostioles par rapport aux flux sortant par les oscules aussi bien pour les populations picoeucaryotes (ANOVA, $P < 0.001$) que picoprocaryotes (Kruskal-Wallis, $P < 0.001$). Pour ce qui est des comparaisons d'abondance planctonique entre sites, une différence significative est démontrée pour les concentrations en picoeucaryotes obtenues entre **Raroia** et **Tematangi**. (ANOVA, Tukey-HSD, $P < 0.05$). L'interaction entre les sites et le type d'eau échantillonné n'est pas significative (ANOVA, $P > 0.05$). Les concentrations en picoprocaryotes montrent quant à elles des différences significatives entre plusieurs paires de sites (Kruskal-Wallis, $P < 0.001$), dont le détail des analyses est fourni dans le **Tableau II** ci-dessous.

Tableau II. Bilan des analyses statistiques significatives effectuées sur les populations picoprocaryotes pour la comparaison des sites d'échantillonnage. Les *p-values* sont issues de la correction post-hoc de Dunn-Bonferroni suite au test de Kruskal-Wallis.

Site 1	Site 2	<i>p-value</i>	significativité
Hereheretue	Mangareva	$P < 0.05$	*
Hereheretue	Raroia	$P < 0.05$	*
Mangareva	Tematangi	$P < 0.0001$	****
Mangareva	Tetiaroa	$P < 0.001$	***
Rangiroa	Tematangi	$P < 0.05$	*
Raroia	Tematangi	$P < 0.0001$	****
Raroia	Tetiaroa	$P < 0.001$	***

Les organismes picoprocaryotes sont largement majoritaires dans la colonne d'eau par rapport aux picoeucaryotes et ceci pour l'ensemble des îles considérées. Pour citer l'exemple de **Raroia**, où les concentrations planctoniques les plus élevées furent obtenues, les moyennes s'élèvent respectivement pour les deux fractions précitées à 4.89×10^4 et 9.9×10^2 cellules $\cdot \text{mL}^{-1}$, soit une composition à près de 98 % d'organismes procaryotes dans la fraction du picoplancton. Cette même proportion se retrouve également pour les autres sites de **Hereheretue** et **Mangareva**, tandis qu'elle diminue légèrement à **Rangiroa** (94 %), **Tetiaroa** (88 %) et **Tematangi** (86 %).

Les taux de rétention, dont l'amplitude s'étend de 5 % (**Mangareva**) à 97 % (**Rangiroa**) pour les picoeucaryotes et de 3 % (**Mangareva**) à 98 % (**Raroia**) pour les picoprocaryotes, se sont révélés très variables selon les individus à l'échelle d'un même site (**Figure 8**). Les particules picoprocaryotes sont en moyenne davantage retenues par l'éponge que les picoeucaryotes (R de 6 à 16 % plus élevés), mis à part pour les atolls de **Raroia** et **Rangiroa** qui sont justement ceux enregistrant les teneurs les plus élevées pour cette dernière catégorie de particules planctoniques (R de 11 à 45 % plus faibles respectivement).

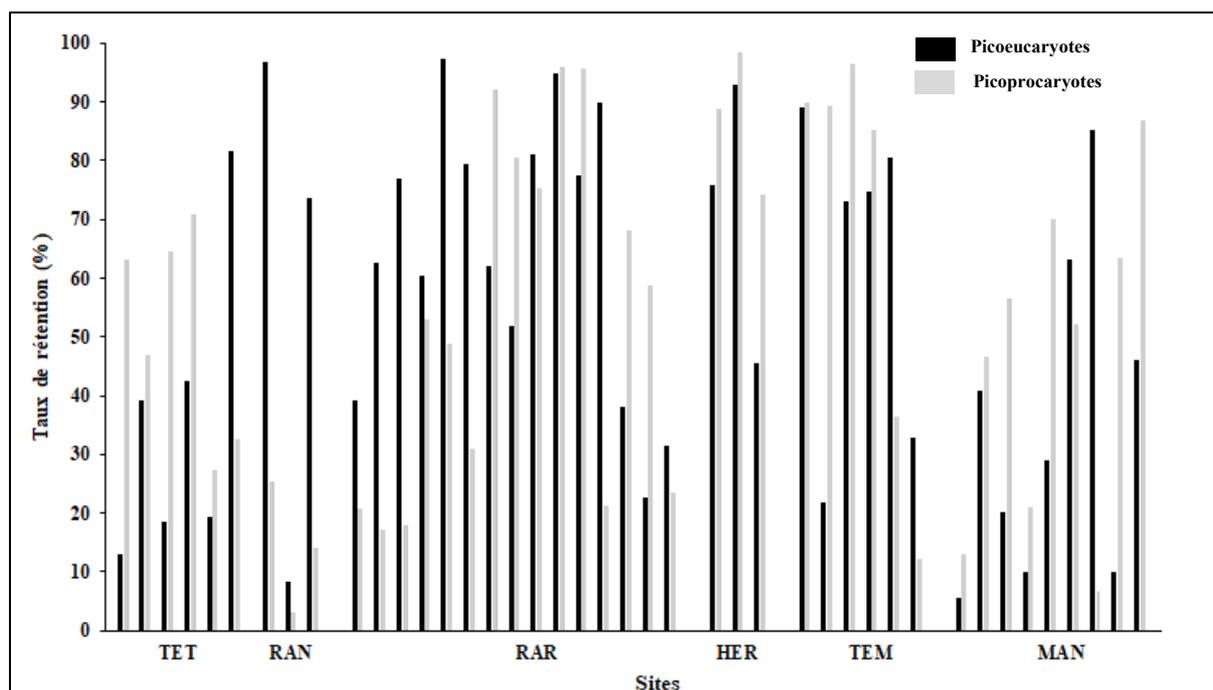


Figure 8. Taux de rétention R (%) en picoeucaryotes et picoprocaryotes dans les six îles étudiées (TET = Tetiaroa, RAN = Rangiroa, RAR = Raroia, HER = Hereheretue, TEM = Tematangi, MAN = Mangareva). Chaque unité constituée de deux barres consécutives (grise et noire) représente un individu échantillonné.

Les atolls de **Hereheretue**, **Tematangi** et **Tetiaroa** enregistrent les teneurs les plus faibles tout type de particules confondues, ce qui reflète un écosystème marin très oligotrophe. Les concentrations picoplanctoniques moyennes inhalées y atteignent ainsi respectivement $4.1 \times 10^3 \pm 3.6 \times 10^2$, $1.3 \times 10^3 \pm 4.4 \times 10^2$ et $3.5 \times 10^3 \pm 3.4 \times 10^2$ cellules·mL⁻¹, ce qui est en adéquation avec des valeurs précédemment obtenues sur d'autres atolls très isolés des Tuamotu comme Reka-Reka et Tekokota (Charpy & Blanchot, 1997).

Ces teneurs peuvent en partie s'expliquer par la quasi-absence de tout impact anthropique, du fait de l'aspect très reculé de ces petites terres émergées. Les lagons fermés dénués de passes de **Hereheretue** et **Tematangi**, de même que leur non-accessibilité par voie aérienne, imposent un trafic maritime extrêmement réduit se limitant à des échanges de marchandises par barges à l'extérieur du récif. En outre, l'absence de toute structure permettant d'y développer le tourisme (i.e. hébergement, centre de plongée) en font des sites aux eaux récifales pouvant être qualifiées de « vierges », car reflétant typiquement et sans altération les conditions de pauvreté marquée en particules planctoniques des eaux tropicales du Pacifique Sud (Andréfouët & Adjeroud, 2019). De façon similaire, **Tetiaroa** est l'un des deux seuls atolls de l'archipel de la Société, se situant à plus de 50 km de Tahiti et à près de 150 km de la plus proche des îles Sous-le-Vent. Sa localisation laisse présager une eau non soumise à une influence anthropique majeure. Un trafic maritime par croisières contribue à une desserte touristique régulière de l'atoll, mais les sites d'échantillonnage retenus se situaient de 600 m à plus de 4 km de l'unique baie d'amarrage des bateaux.

L'atoll de **Raroia** est le seul site où les prélèvements ont eu lieu à l'intérieur du lagon, étant donné le fait que *Dactylospongia metachromia* y pousse à l'état naturel et grâce à l'existence d'une passe le rendant accessible pour l'échantillonnage. Contrairement aux trois sites précédemment cités, il présente les concentrations picoplanctoniques inhalées les plus importantes, avec une moyenne de $8.1 \times 10^4 \pm 1.4 \times 10^4$ cellules·mL⁻¹ ce qui est en accord avec

des valeurs obtenues dans les lagons d'atolls voisins des Tuamotu tels que Nihiru et Hikueru (Charpy & Blanchot, 1998).

À **Rangiroa**, les prélèvements effectués sur le versant océanique est de la passe de Tiputa ont révélé une teneur moyenne globale de $2.0 \times 10^4 \pm 1.9 \times 10^3$ cellules·mL⁻¹ dans la colonne d'eau avoisinant les éponges. Ce résultat qui, bien que non significativement distinct des autres localités relativement excentrées des Tuamotu, reste plutôt élevé ce qui pourrait y refléter une activité anthropique assez marquée. En effet, cette partie de l'atoll attire une très importante affluence de plongeurs et prestataires nautiques, du fait de la renommée mondiale de la richesse aquatique des abords de la passe de Tiputa (Spotmydive 2017, www.spotmydive.com, consulté le 17/12/2021). Par ailleurs, la proximité immédiate du village de Tiputa, qui compte près de 1 000 habitants, laisse présager de probables altérations du milieu maritime avoisinant (i.e. pollution domestique et hydrocarbures). Enfin, le nord des Tuamotu peut occasionnellement être soumis à l'influence des eaux froides du Courant Équatorial Sud (CES), enrichies en phytoplancton (Andréfouët & Adjeroud, 2019).

Mangareva est une île située dans l'archipel des Gambier, le plus oriental de Polynésie française. Elle bénéficie d'un climat plus austral que pour la Société et les Tuamotu, avec des températures relativement fraîches et une moindre insolation (Laurent *et al.*, 2004). Les concentrations en picophytoplancton dans l'eau inhalée par *Dactylospongia metachromia* s'y élèvent à $4.7 \times 10^4 \pm 5.1 \times 10^3$ cellules·mL⁻¹. Ces teneurs plus importantes peuvent être présagées du fait que **Mangareva** constitue la seule île haute parmi les sites étudiés, d'où un possible lessivage des sols riches en nutriments en période d'averse associé à un déversement des eaux de ruissellement issues des bassins versants jusqu'au récif (Moniod, 1974). De même, un océan plus froid constitue un environnement pouvant s'apparenter au contexte mésotrophique d'un régime subtropical susceptible d'être plus riche en particules planctoniques que le régime tropical humide qui prévaut en Polynésie française (Andréfouët & Adjeroud, 2019).

V. RELATIONS TROPHIQUES

V. 1. Observations macroscopiques

Dans le cadre d'essais *in situ* destinés à évaluer la performance de l'éponge *Dactylospongia metachromia* à des fins d'exploitation aquacole raisonnée, des observations de terrain ont permises de révéler son importance au sein de la chaîne trophique récifale. Des spécimens sauvages ont ainsi été photographiés se développant en association avec des algues (genre *Halimeda*), des coraux (genres *Porites* et *Pocillopora*) et d'autres spongiaires (genre *Haliclona*) présents sur le récif dont ils constituent une partie essentielle de la matrice (**Photo 8**).

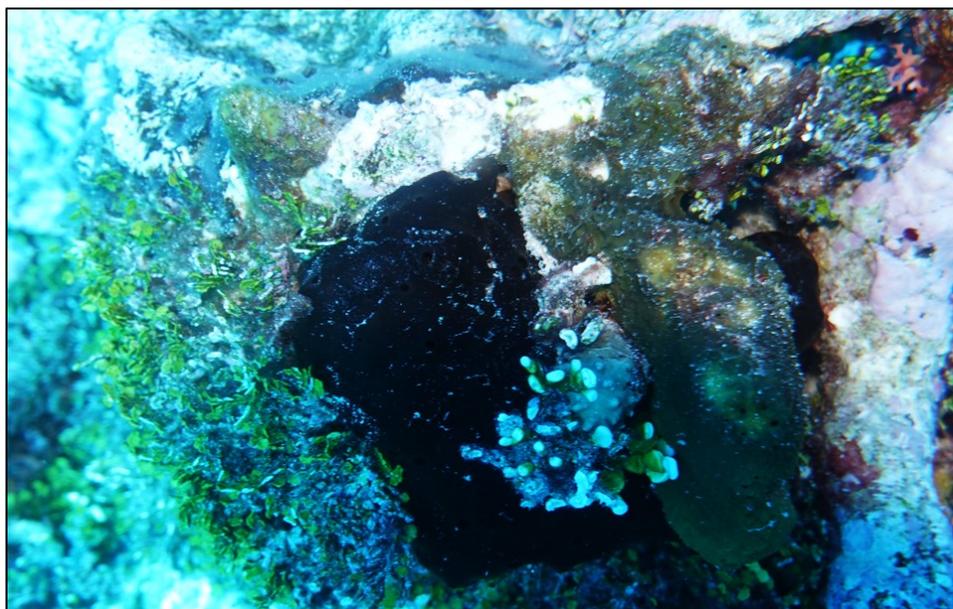


Photo 8. *Dactylospongia metachromia* en association avec l'éponge noire *Haliclona* sp. et l'algue calcaire *Halimeda* sp.
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

L'encrassement biologique des explants cultivés, s'il était parfois notable en milieu lagunaire, n'a jamais atteint des magnitudes alarmantes sur la barrière récifale hormis lors d'un épisode de prolifération inhabituel détecté en juin 2020 et figurant une prolifération de cyanobactéries rouges et vertes à l'aspect chevelu. La prédation directe par le biais de marques laissées sur le pinacoderme de certains spécimens fut très rarement observée. Des poissons de récif omnivores (chaetodontidés, labridés) et herbivores (scaridés) étaient toutefois souvent repérés autour des installations aquacoles et furent même filmés en train d'attaquer de petits morceaux d'éponges laissés sur place après la découpe des éponges-mères.

Une étude plus approfondie de spécimens à la fois sains et moribonds a conduit à la découverte d'organismes commensaux vivant à l'intérieur du choanosome de l'espèce, parmi lesquels figuraient notamment des ophiures, polychètes et autres petits mollusques. Les éponges marines sont en effet connues pour abriter de nombreux hôtes, leur mutualisme devenant parfois même obligatoire (Pansini *et al.*, 1999 ; Crowe & Thomas, 2002 ; Bell, 2008). Un amphipode et un crustacé ont également été trouvés dans le système excréteur d'éponges sauvages. Leurs échantillons ont été conservés dans de l'éthanol avant d'être photographiés à la loupe binoculaire (**Photo 9**).

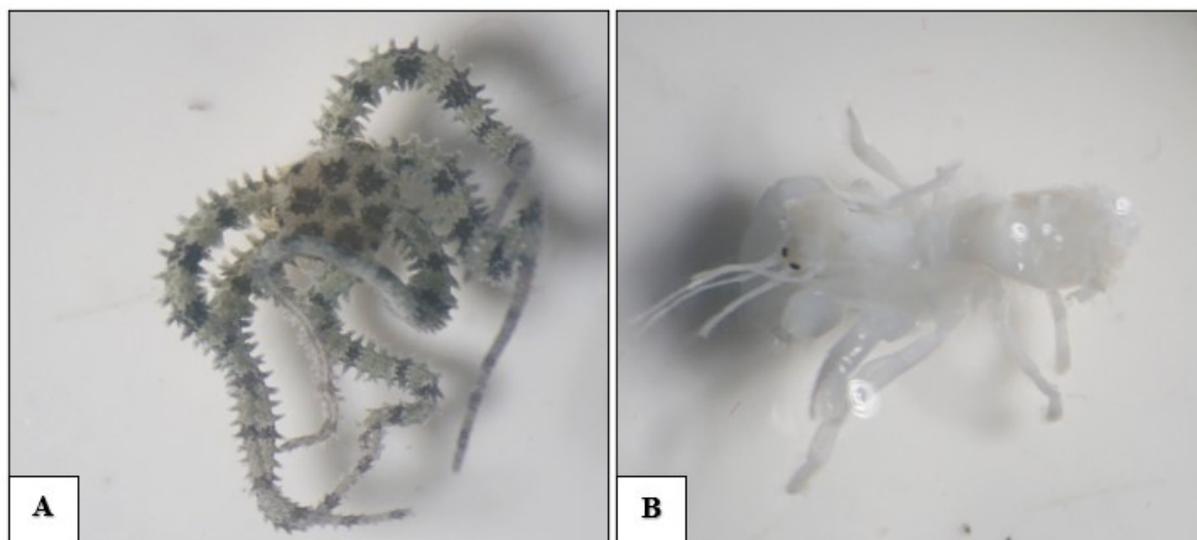


Photo 9. Ophiure (A) et crustacé (B) commensaux collectés dans le choanosome de *Dactylospongia metachromia*.
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

V. 2. Étude du microbiote procaryote

La diversité et la stabilité du microbiote (procaryotes et micro-eucaryotes) du spongiaire sont décrites comme étant de première importance dans la survie de l'hôte face à des altérations du milieu de type changement global (Posadas *et al.*, 2022). L'analyse métabarcoding des communautés procaryotiques (archées et bactéries) de l'holobionte de *Dactylospongia metachromia* a été conduite, afin d'étudier leur répartition biogéographique en Polynésie française au sein de différents archipels (Tuamotu, Gambier, Société) de même que dans d'autres régions du Pacifique Sud (Sulawesi, Indonésie), de l'Océan Indien (Maldives) et de la Mer Rouge (Arabie Saoudite).

V. 2. 1. Matériels et Méthodes

L'ADN a été extrait en utilisant le FastDNA™ SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, Inc.). La préparation de la librairie d'échantillons pour l'approche par métabarcoding du gène codant l'ARNr 16S s'est effectuée à l'aide d'une première PCR de 30 cycles, ciblant l'ensemble des procaryotes grâce à l'emploi de la paire d'amorces 515F / 926R (Parada *et al.*, 2016). Le kit KAPA HiFi HotStart ReadyMix a pour cela été employé (Roche Molecular Systems, Inc.). Après vérifications de la présence des amplicons sur gel d'agarose, les produits PCR ont été nettoyés à l'aide du kit NucleoMag NGS-Beads (Macherey-Nagel, Inc.) Une combinaison spécifique de marqueurs a été ajoutée à chaque échantillons grâce à une seconde PCR. Les produits ainsi obtenus sont quantifiés grâce au séparateur automatique d'acides nucléiques 5300 Fragment Analyzer (Agilent Technologies, CA, USA), puis envoyés à la société BaseClear B.V. (Leiden, Pays-Bas) pour un séquençage par une plateforme Illumina Miseq V3 PE300 (Illumina, CA, USA).

L'assignation de variants de séquences d'amplicons (ou ASVs) aux données brutes correspond à un rang taxonomique équivalent à celui des unités taxonomiques opérationnelles (ou OTUs) et permet d'éviter la prise en compte de séquences erronées associées à des erreurs de PCR ou de séquençage. Une table a ainsi été construite à l'aide du package « dada2 » sous R, regroupant le nombre de séquences obtenu pour chaque ASV de chaque échantillon et

présentant leur assignation taxonomique. Les affiliations s'arrêtent au genre en tant que rang de classification le plus précis.

Les différences d' α -diversité (i.e. richesse en taxa pour l'holobionte considéré) entre les groupes d'échantillons ont été analysées à l'aide de deux indices communément utilisés (Brenner-Raffalli, 2017 ; Wang *et al.*, 2018) : Shannon quant à la richesse spécifique et l'équitabilité (i.e. abondance relative des différents groupes) et Chao1 relatif à la richesse théorique estimée par rapport à celle réellement observée (Shannon, 1948 ; Chao, 1984).

De même, la β -diversité (i.e. différences géographiques de diversité entre les écosystèmes) a été explorée par analyse NMDS (« Non-Metric Multidimensional Scaling ») en utilisant des matrices de distance de Bray-Curtis. Un test de Mantel a permis de tester significativement la corrélation entre la matrice de distance de Bray-Curtis et la matrice de distances géographiques, cette dernière ayant été créée à partir des points GPS relatifs à chaque échantillon.

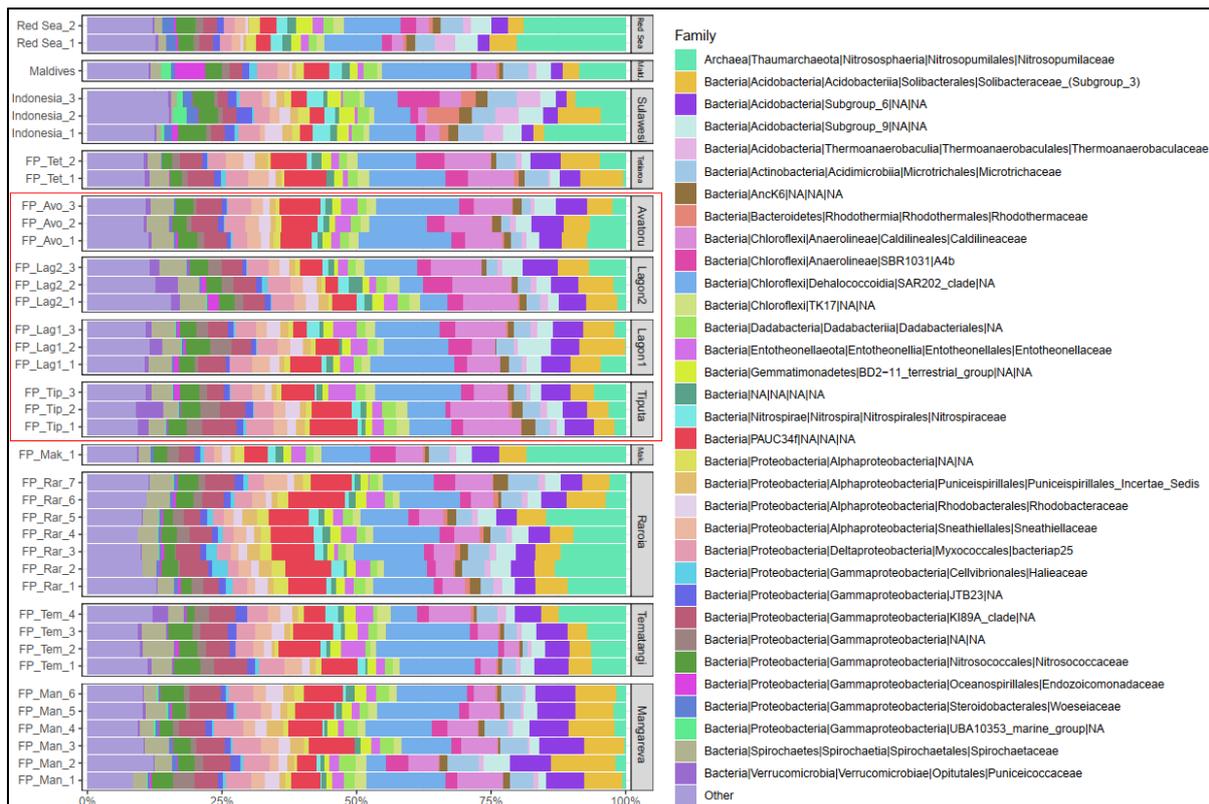
Ces deux explorations complémentaires de la diversité du microbiote associé à *Dactylospongia metachromia* ont à nouveau été conduites sur une dimension temporelle relative au temps de mise en culture des explants sur l'un des sites de la barrière récifale de Rangiroa. Chaque échantillonnage était effectué en triplicata et une éponge sauvage se développant dans la zone étudiée a également été prélevée en tant que témoin non cultivé. Enfin, le microbiote « core » (i.e. gamme de microorganismes-clés aux rôles essentiels dans une population hôte) au sein du jeu de donnée biogéographique a été définie en utilisant des seuils de prévalence de 80 et 90 % dans l'ensemble des échantillons (Risely, 2020).

V. 2. 2. Résultats et Discussion

On remarque tout d'abord que l'holobionte considéré comporte une très grande diversité d'ASVs, dont la composition se retrouve similaire entre les répliques d'un même site d'échantillonnage (**Figure 9**). De légères disparités sont toutefois à noter, comme par exemple pour l'île de Mangareva où l'on dénote moins d'archées de la famille des Nitrosopumilaceae contre davantage d'Acidobacteria par rapport aux autres sites.

De par la faible sélectivité de leur processus de filtration, les spongiaires abritent fréquemment des archéobactéries issues de la colonne d'eau environnante (Brenner-Raffalli, 2017). Celles-ci ont un rôle majeur dans la fixation du nitrogène et les procédés de nitrification contribuant à l'élimination de l'ammoniaque en tant que déchet métabolique (Siboni *et al.*, 2008 ; Feng *et al.*, 2016). En outre, une modification de leurs populations au sein d'organismes coralliens peut conduire à l'augmentation de l'expression de gènes de virulence engendrant la synthèse de certains métabolites secondaires (Piel, 2009 ; Littman *et al.*, 2011).

Les embranchements des Proteobacteria et des Chloroflexi, fortement représentés ici, se sont également trouvés être des clades communément identifiés chez de nombreuses autres espèces de spongiaires (Webster *et al.*, 2008b ; Schmitt *et al.*, 2011 ; Bayer *et al.*, 2018 ; Cleary *et al.*, 2019). Leurs multiples divisions taxonomiques, autrefois considérés comme spécifiques aux éponges, présentent souvent des séquences affiliées à l'habitat marin voire même dulçaquicole (Hentschel *et al.*, 2002 ; Mehrshad *et al.*, 2018). Leurs stratégies métaboliques et par là même leurs rôles écologiques sont extrêmement diversifiés et complexes (i.e. photosynthèse anoxygénique, biodégradation de nombreuses particules planctoniques en condition anaérobie) (Landry *et al.*, 2017 ; Saw *et al.*, 2020). Au contraire, certains phylums abondants comme PAUC34f ont uniquement été isolés d'éponges marines, ce qui suggère certainement un rôle symbiotique à l'échelle de l'holobionte (Chen *et al.*, 2020).



Le microbiote « core » à l'échelle de 90 % de détection dans tous les échantillons n'a retourné que 24 ASVs, ce qui équivaut à une part très faible de l'ensemble de la diversité (i.e. moins de 10 % du nombre total de séquences). Ce résultat pourrait provenir du fait d'échantillons à la distribution géographique et à la période de collecte très hétérogènes. Davantage de procaryotes se démarquent en baissant la sensibilité à 80 % d'apparition, avec notamment les embranchements des Acidobacteria, des Chloroflexi, des Dadabacteria des Nitrospinae, des Proteobacteria et enfin des Spirochaetes (**Tableau III**). Des caractéristiques communes à certaines des différentes familles appartenant à ces phylums existent, comme la respiration anaérobie et la dégradation de la matière organique dissoute. La famille des Thermoanaerobaculales (Acidobacteria) regroupe notamment des bactéries thermophiles, neutrophiles et chimio-hétérotrophes (Dedysh & Lawson, 2015). Le clade SAR202 de la classe Dehalococcoidia (Chloroflexi) du Pacifique appartient à la zone aphotique et participe au cycle du soufre par l'oxydation des sulfites dans l'océan profond (Mehrshad *et al.*, 2018). Les clades marines pélagiques de l'ordre des Dadabacteriales (Dadabacteria) regroupent des organismes aérobies obligatoires et photo-hétérotrophes, présentant notamment des adaptations liées à la lumière comme la présence de protéorhodopsine, de caroténoïdes et de terpènes (Graham & Tully, 2021). La lignée P9X2b3D02 (Nitrospinae) a très récemment été trouvée dans l'holobionte de la démosponge *Aplysina caissara*, dont la distribution se cantonne essentiellement au sud du Brésil, sans pour autant survenir ni dans le sédiment marin échantillonné à proximité, ni chez d'autres espèces de spongiaires de la côte Atlantique ouest (Hardoim *et al.*, 2021). La famille bacteriap25 de l'ordre des Myxococcales (Proteobacteria) se retrouve étonnamment chez des végétaux comme l'Astéracée *Ageratum*

conyzoides qui fut introduite en Polynésie française (Monteiro, 2020 ; Inventaire National du Patrimoine Naturel, www.inpn.mnhn.fr, consulté le 05/03/2022). Cet ordre, dont la plupart des représentants vivent dans le sol, est particulièrement connu comme source de puissants métabolites secondaires à action antibiotique (Wink, 2020). Le genre *AqSI* de la famille des Nitrosococcaceae (Proteobacteria), que l'on retrouve dans les sédiments marins abyssaux, est reconnu en tant que bactérie nitrifiante pour son potentiel d'oxydation de l'ammoniac dans le cycle de l'azote (Molari *et al.*, 2020 ; Marshall *et al.*, 2021). Il a également été identifié chez des éponges de la famille des Tetillidae (Baquiran *et al.*, 2020). Enfin, le genre *Spirochaeta_2* et avec lui la famille des Spirochaetaceae (Spirochaetes), sont abondamment présents chez des macro-invertébrés benthiques tels que des mollusques bivalves dont l'huître creuse du Pacifique *Crassostrea gigas* où ils semblent métaboliser les sources de carbone dans de nombreux tissus distincts (King *et al.*, 2020 ; Bennion *et al.*, 2022). Du côté des éponges, ces microorganismes sont des membres-clés de l'holobionte de *Tsitsikamma favus* et *Cyclacanthia bellae* où ils arborent une congruence phylogénétique très importante et sont entre autres impliqués dans la production de vitamine B6 (cofacteur essentiel de nombreuses enzymes impliquées dans le métabolisme des acides aminés) et de pyrroloiminoquinone (métabolite secondaire à action antibactérienne) (Matcher *et al.*, 2017 ; Waterworth *et al.*, 2020 ; O'Brien *et al.*, 2021).

Tableau III. Microbiote « core » de la communauté procaryotique de *Dactylospongia metachromia*. Les « NA » signifient une absence d'identification aux rangs concernés.

Embranchement	Classe	Order	Famille (Genre)
Acidobacteria	Thermoanaerobaculia	Thermoanaerobaculales	Thermoanaerobaculaceae (Subgroup_10)
Chloroflexi	Dehalococcoidia	SAR02	NA
Dadabacteria	Dadabacteriia	Dadabacteriales	NA
Nitrospinae	P9X2b3D02	NA	NA
Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Myxococcales	bacteriap25
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Nitrosococcales	Nitrosococcaceae (<i>AqSI</i>)
Spirochaetes	Spirochaetia	Spirochaetales	Spirochaetaceae (<i>Spirochaeta_2</i>)

La diminution des indices d' α -diversité constatée sur la **Figure 10** ci-dessous se corrélant de façon nette avec l'ancienneté des échantillons, un biais méthodologique lié à la durée de conservation de l'ADN serait susceptible d'exister ici. Néanmoins, on observe de manière générale pour la Polynésie française une forte diversité microbienne doublée d'une communauté très équitable de par des indices significativement plus élevés comparé au Sulawesi et à la Mer Rouge (ANOVA, $P \leq 0.001$). Les intervalles obtenus pour Shannon (6.25 - 7.5) figurent ici parmi les plus élevés de la littérature disponible sur les communautés microbiennes des spongiaires, ceci tout environnement confondu (Poppell *et al.*, 2013 ; Zhang *et al.*, 2014 ; Jeong *et al.*, 2015 ; Batista *et al.*, 2018 ; Bibi *et al.*, 2020 ; Butina *et al.*, 2020).

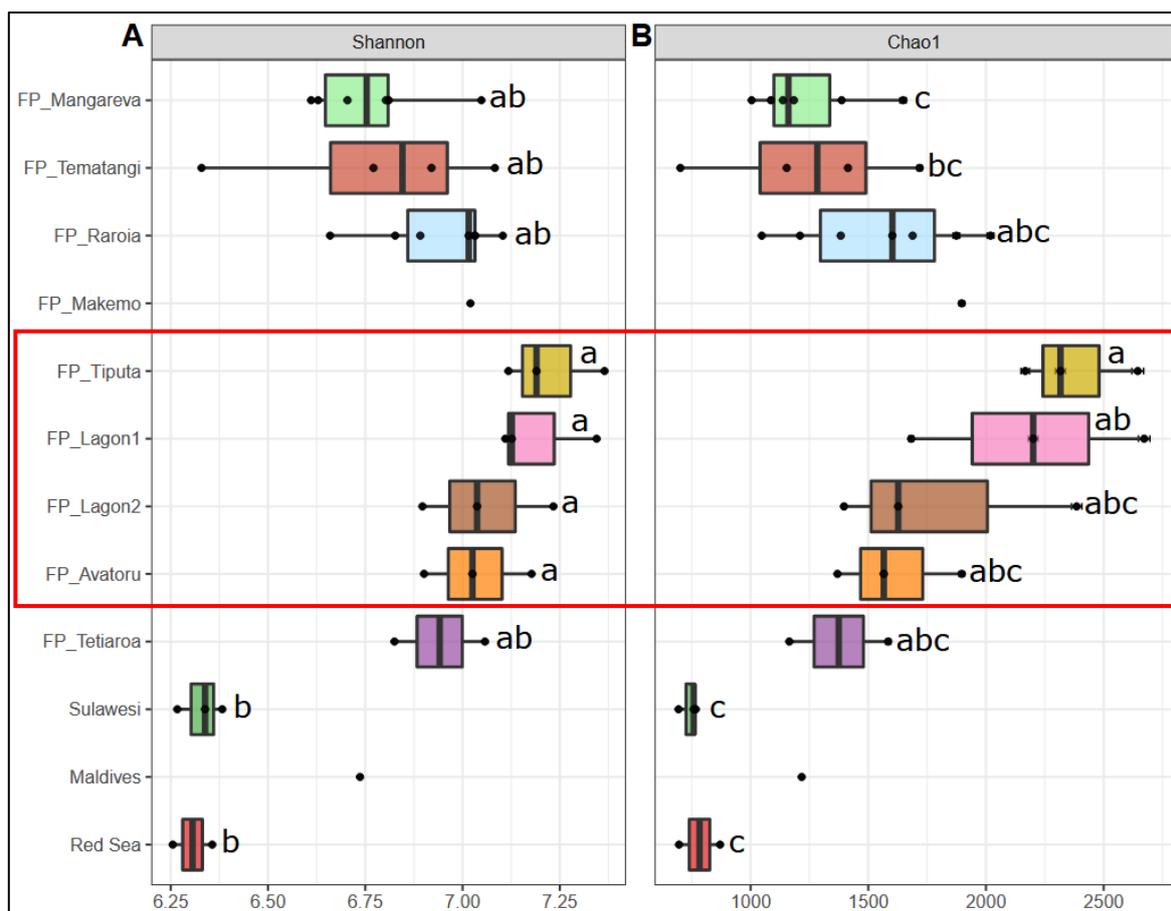


Figure 10. Indices d' α -diversité de Shannon et de Chao1 relatifs à la communauté procaryotique des échantillons de *Dactylospongia metachromia* associés à l'étude biogéographique de l'holobionte. Les sites de culture de l'atoll de Rangiroa sont mis en évidence à l'aide d'un rectangle rouge par rapport au reste de la Polynésie française.

La Polynésie française, en tant que zone à la façade océanique largement ouverte sur le Pacifique de par un éloignement important des territoires marins adjacents, permet une exploitation très pertinente d'une comparaison de matrice de distance géographique (donc liée au milieu) à une matrice de diversité pour le spongiaire concerné (bonne adéquation des distances côtières et marines entre les localités proposées). Un test de Mantel a permis la mise en évidence d'une très forte relation entre les deux variables (corrélation de Spearman, $P = 0.0001$). La β -diversité (**Figure 11**) montre ainsi des différences nettes entre les sites d'échantillonnage, aussi bien à l'échelle de la Polynésie française au fil de l'axe NMDS2 qu'en comparant les régions océaniques entre elles selon l'axe NMDS1 de la matrice de distance (PERMANOVA, $P = 0.001$). À une plus petite échelle géographique, les échantillons de l'île de Rangiroa regroupés au sein de la délimitation polygonale apparaissent proches et sans claires discriminations horizontale ou verticale.

De futures analyses statistiques discriminantes sur les différents clades microbiens (e.g. DESeq2 du logiciel R ou le module LEfSe de Galaxy), permettront sans doute de déterminer les taxa biomarqueurs de certaines régions spécifiques.

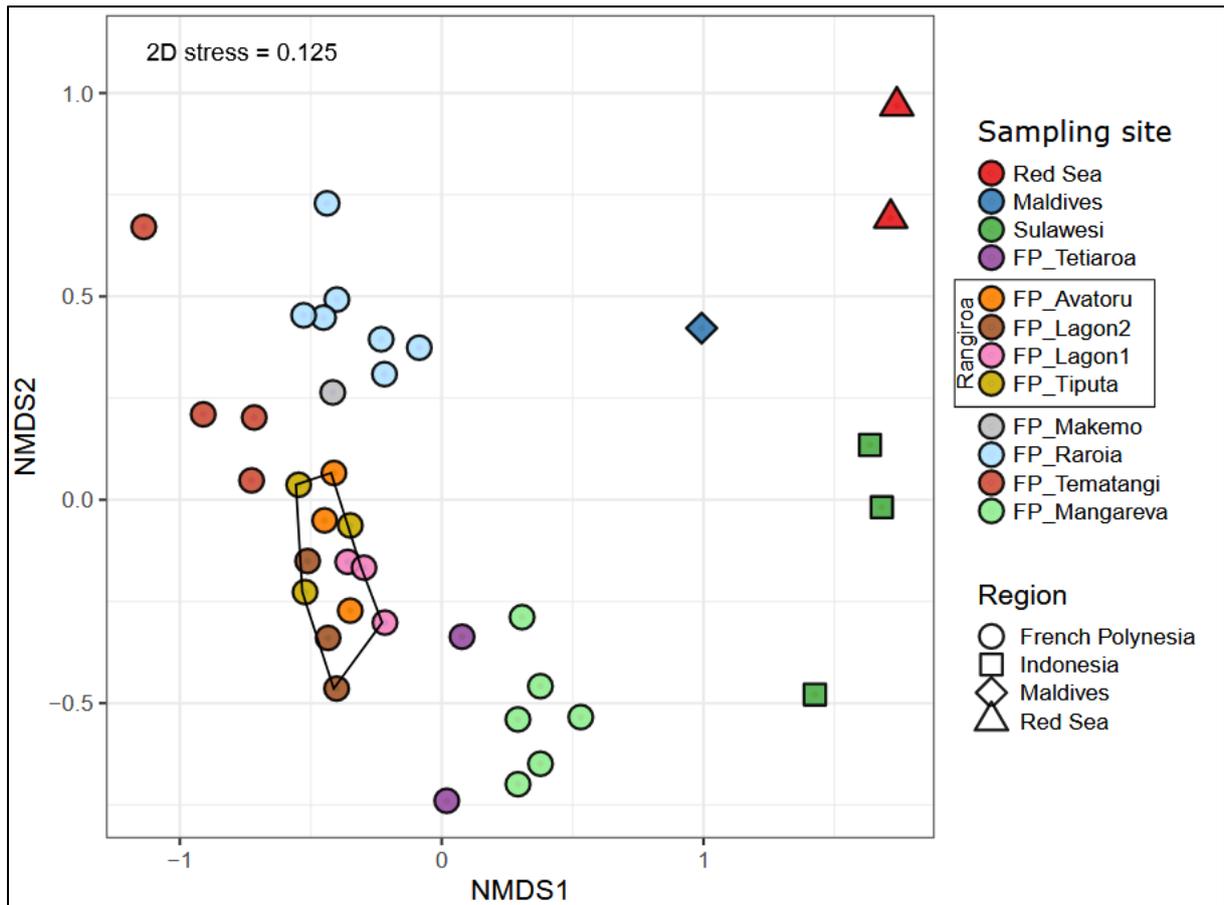


Figure 11. Matrice de β -diversité de la communauté procaryotique des échantillons de *Dactylospongia metachromia* associés à l'étude biogéographique de l'holobionte. Les couleurs et les formes correspondent respectivement aux sites d'échantillonnage et aux régions géographiques. L'atoll de Rangiroa est mis en évidence à l'aide d'un polygone par rapport au reste de la Polynésie française.

D'après la **Figure 12** ci-dessous, on constate une disparité significative pour l'indice d' α -diversité de Shannon entre 6 et 9 mois de culture des explants sur la barrière récifale de Rangiroa (respectivement notés T2 et T3), avec une diminution lors du passage du premier stade à l'autre (ANOVA, $P = 0.0216$). Si l'on s'intéresse aux mensualités correspondantes, un événement affectant négativement la diversité spécifique du microbiote de *Dactylospongia metachromia* est susceptible de s'être produit entre décembre 2020 et mars 2021. Le contexte environnemental sévissant à ces périodes quant à plusieurs variables enregistrées *in situ* est disponible au **Chapitre IV** de cette étude.

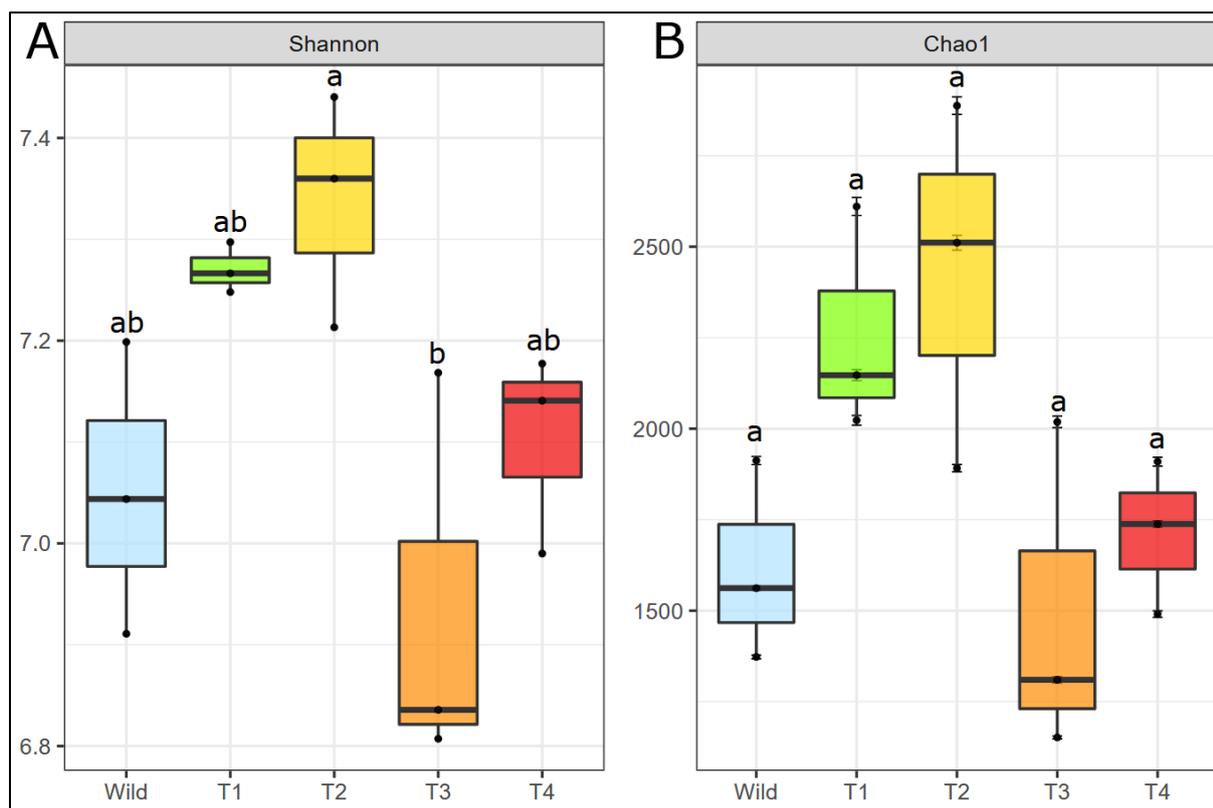


Figure 12. Indices d' α -diversité de la communauté procaryotique des échantillons de *Dactylospongia metachromia* associées aux temps de mise en culture des explants sur le récif de l'atoll de Rangiroa. Un témoin sauvage (« noté Wild ») est représenté en bleu, tandis que les échantillons allant de T1 à T4 correspondent aux périodes d'échantillonnage de septembre 2020, décembre 2020, mars 2021 et mai 2021, respectivement.

Une étude NMDS de la β -diversité, similaire à celle présentée ci-dessus, pour les différentes familles de la communauté procaryotique au cours de l'expérience de mise en culture renvoie de la même manière une grande disparité entre les réplicas. En comparant les périodes d'échantillonnage deux à deux, aucun changement temporel majeur n'a été retourné (Tukey, $P > 0.1$).

VI. ACQUISITION DE DONNÉES BIOMÉTRIQUES

L'évaluation de la biomasse des éponges au cours de chaque sortie sur le terrain est chronophage étant donné le nombre de spécimens bien souvent concernés. Certains paramètres comme le poids (g) sont en outre impossible à acquérir sans retirer les explants de l'eau, ce qui pourrait avoir une incidence sur d'autres estimations via la manipulation des échantillons (Wetzel *et al.*, 2005). Des facteurs de conversion permettant la corrélation entre différentes biométries ont donc été progressivement établis au cours de cette étude à partir de spécimens sauvages. En aquaculture, ils sont depuis longtemps recommandés dans le cadre d'études écologiques de méiofaunes diverses (Lucas & Beninger, 1985 ; Widbom, 1984).

VI. 1. Matériels et Méthodes

Les spécimens sauvages ($n = 7$) ont été coupés en sous-échantillons plus petits ($n = 79$) pour permettre la reproductibilité des résultats. Le poids humide égoutté (WW, g) a été obtenu sur le terrain à Rangiroa après la collecte de l'éponge en drainant simplement l'eau superficielle sur un morceau propre de tissu absorbant (Barthel, 1986). Le volume initial (VI, compris entre

16 et 106 mL) a également été calculé à 1 mL près par déplacement d'eau à l'aide d'une grande éprouvette graduée. Les analyses de la biomasse ont ensuite été réalisées à Tahiti dans les laboratoires de l'UMR 241 EIO. Les échantillons congelés provenant de Rangiroa ont été rapidement rincés sous l'évier pour éliminer l'excès de glace sur le pinacoderme et placés sur un plateau de dissection blanc à côté d'une règle. Tous les individus ont été soigneusement débarrassés de leurs épibiontes, en utilisant si nécessaire une loupe binoculaire, et des photos à l'échelle ont été prises. L'arrière-plan était soigneusement nettoyé après chaque image pour assurer un contraste correct avec les bords de l'éponge.

Les photographies ont par la suite été traitées à l'aide du logiciel ImageJ pour mesurer la surface totale (SA, cm²) de chaque spécimen (Hawes *et al.*, 2010; Schneider *et al.*, 2012; Bart *et al.*, 2020). Les échantillons ont ensuite été découpés en petits cubes et placés dans des sachets ouverts pour faciliter le processus de séchage consécutif. Les poids secs (DW, g) ont ainsi été mesurés après la lyophilisation complète des éponges à l'aide d'un lyophilisateur Christ™ Beta 2-8. Des essais préliminaires sur quelques sachets ont été effectués jusqu'à ce que les cubes atteignent un poids sec constant, ceci afin d'optimiser les paramètres de séchage comme suit : 42 h de dessiccation primaire à 1 mbar, suivie d'une dessiccation secondaire de 6 h à 0,01 mbar. Étant donné que *Dactylospongia metachromia* est dépourvue de spicules, aucune correction liée à leur densité n'a été nécessaire (Paine, 1964).

La teneur en eau (W) de chaque spécimen a été calculée selon l'équation :

$$W (\%) = 100 - ((DW * 100) / WW)$$

La surface des échantillons séchés (DSA, cm²) a de nouveau été mesurée à l'aide d'ImageJ, puis les éponges furent placées dans un creuset en aluminium taré. L'étape de combustion s'est réalisée dans un four à moufle programmable (FP | 1000 °C Witeg, Allemagne). Des tests préliminaires ont permis de suivre la réduction de la biomasse par tranche horaire pour optimiser le temps et la température (Paine, 1974). Le poids des cendres (AW, g) a ainsi été déterminé après 4h de combustion à 450 °C. Le poids sec sans cendres (AFDW, g) de chaque échantillon fut obtenu par simple soustraction comme suit : DW - AW (Leys *et al.*, 2018). À la fin de l'expérience, les cendres résiduelles ont été photographiées et leurs surfaces calculées (APSA, cm²) de façon similaire aux échantillons congelés et lyophilisés.

VI. 2. Résultats et Discussion

La masse volumique moyenne de l'éponge est de $1.0 \pm 0.1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$, soit très légèrement inférieure à celle de l'eau de mer à 27°C (environ $1.025 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$) ce qui corrobore les observations *in situ* de la flottabilité de surface positive de *Dactylospongia metachromia* dans les eaux polynésiennes (Maslin, obs. pers.). Le poids sec équivaut à environ 12 % du poids frais. Après le poids humide, qui s'est avéré être la mesure la plus proportionnelle au volume initial, le poids sec est plus reproductible que le poids sec sans cendres pour cette espèce. Certaines des différentes corrélations obtenues entre les métriques mentionnées sont disponibles en **Figure 13** ci-dessous.

Les cendres représentent respectivement $31.54 \pm 7.49 \%$ et $3.81 \pm 0.98 \%$ des poids sec et frais. Par conséquent, environ 70 % du poids sec de l'éponge se réfère à du contenu organique tandis que près de 96 % de la biomasse de l'organisme *in situ* se trouve être disponible pour une redistribution aux maillons supérieurs de la chaîne trophique. Cette tendance semble

inversée chez les spécimens des latitudes plus froides, comme *Geodia barretti* et *Tedania vanhoeffeni* pour lesquelles Barthel (1995) et Leys *et al.* (2018) n'ont trouvé que 31 à 34 % de biomasse organique sèche respectivement.

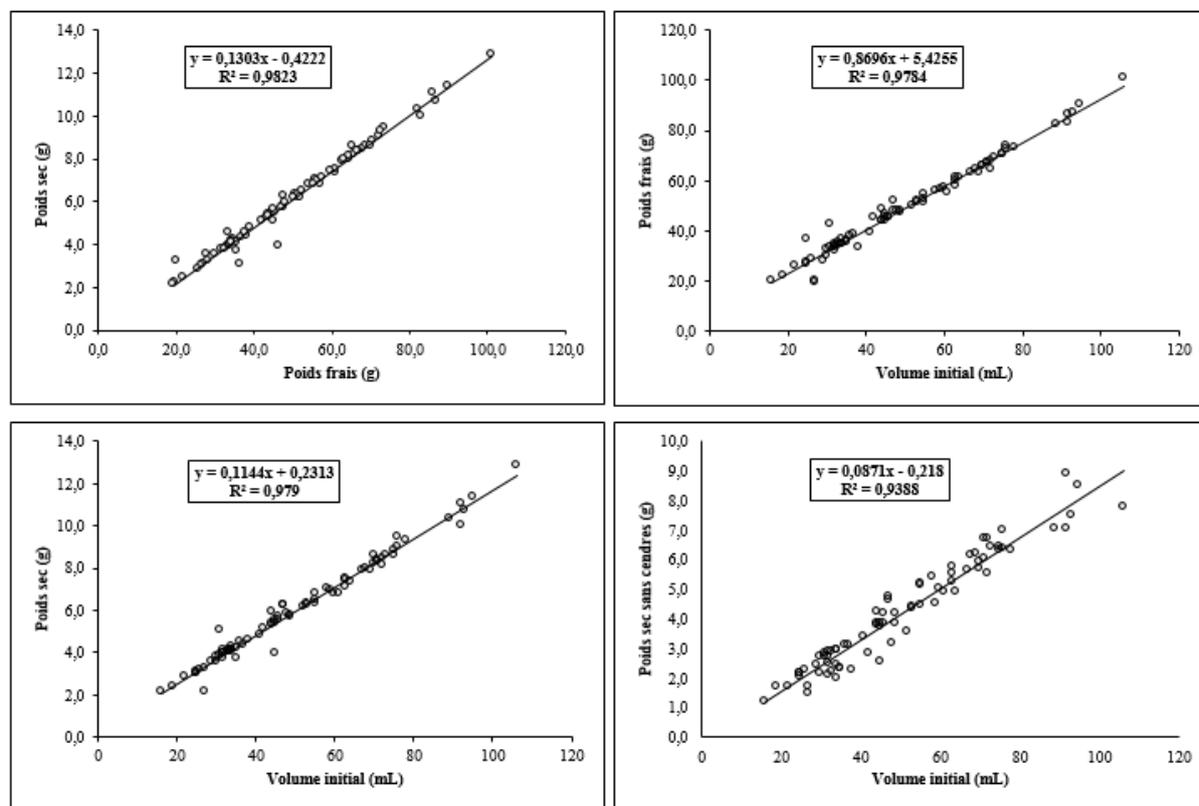


Figure 13. Corrélations des métriques de la biomasse pour les échantillons de *Dactylospongia metachromia*. Les lignes de régression et leurs équations sont affichées.

La surface des échantillons lyophilisés est en moyenne réduite de 60 % après combustion. De la littérature disponible sur des démosponges de l'Atlantique Nord présentant une morphologie massive et érigée, similaire à celle de *Dactylospongia metachromia* sur la barrière récifale de Rangiroa, indique des surfaces de cendres légèrement plus faibles que pour notre étude ($0.2 - 0.3 \text{ cm}^2 \cdot \text{mL}^{-1}$ contre $0.4 \pm 0.1 \text{ cm}^2 \cdot \text{mL}^{-1}$) (Bart *et al.*, 2020). Dans la même étude, les deux démosponges encroûtantes *Hymedesmia paupertas* et *Acantheurypon spinispinosum* ont quant à elles révélé des valeurs beaucoup plus élevées ($4.2 - 10 \text{ cm}^2 \cdot \text{mL}^{-1}$). Des rapports surface/volume plus élevés ont en effet été décrits comme un avantage pour les éponges de faible épaisseur vers une meilleure assimilation et élimination de la matière organique dissoute (Abelson *et al.*, 1993 ; de Goeij *et al.*, 2017).

La teneur en eau moyenne de l'éponge après lyophilisation est égale à 87.63 ± 2.06 % du poids frais ($n = 135$; ratios compris entre 80.2 et 93.7 %). Aucun changement morphologique visible n'a été observé ou signalé pour cette espèce au fil des saisons, mais des différences significatives des teneurs en eau selon la période de l'année considérée ont été obtenues (**Figure 14**). Les éponges échantillonnées en mai et en septembre présentaient en moyenne des teneurs en eau significativement plus élevées que celles collectées d'octobre à décembre (test post-hoc de Tukey-Kramer $F_{(4,130)} = 12.28$, $p < 0.001$). Cet intervalle spécifique de mai à septembre correspond à la saison fraîche et sèche de la Polynésie française tropicale, sur la base de critères englobant à la fois les valeurs de température et de précipitations (Laurent *et al.*, 2019). Il est à

noter que des éponges de l'Antarctique ayant des teneurs en eau similaires à ceux de *Dactylospongia metachromia* présentent une variabilité saisonnière inverse à celle mise en évidence ici, avec des pourcentages plus faibles en hiver qu'en été (Morley *et al.*, 2016).

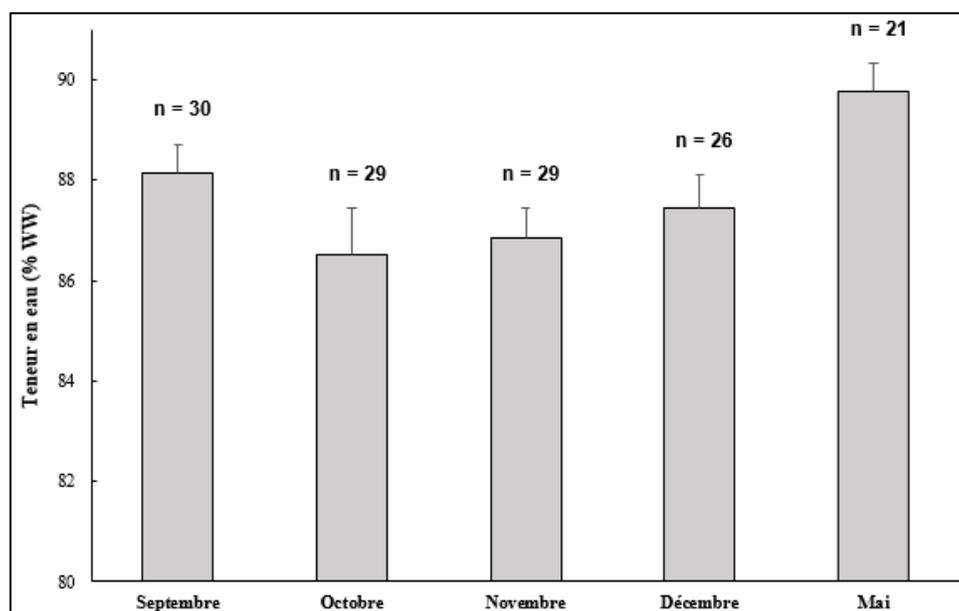


Figure 14. Changements saisonniers dans la teneur moyenne en eau, exprimée en pourcentage du poids frais, d'échantillons de *Dactylospongia metachromia* récoltés à différentes périodes de l'année.

Ces changements saisonniers de la teneur en eau peuvent s'expliquer par des variations dans la disponibilité des ressources alimentaires de l'éponge provoquées par des disparités thermiques peuvent l'obliger à adapter légèrement ses propres voies métaboliques et favoriser plutôt la symbiose comme stratégie d'alimentation (Reiswig, 1971 ; Osinga *et al.*, 2001 ; Pawlik *et al.*, 2018 ; Gökalp *et al.*, 2020). Des écarts de température seraient en effet susceptibles de modifier à la fois l'efficacité de rétention de l'éponge et l'action de son microbiome associé quant à l'assimilation des nutriments de l'eau de mer (Riisgård *et al.*, 1993 ; Webster *et al.*, 2008b). Des adaptations morphologiques difficilement discernables peuvent alors se produire, telle la variation des diamètres des oscules et des dimensions des papilles (Morley *et al.*, 2016). Malheureusement, les variations de l'abondance planctonique dans la colonne d'eau en milieu tropical et leurs effets sur les invertébrés benthiques sont encore mal connus et se doivent d'être davantage explorés (Wooster *et al.*, 2019).

CONCLUSION DU CHAPITRE

1. Répartition et adaptation

Les populations sauvages de *Dactylospongia metachromia* se sont révélées très variables en ce qui concerne leur distribution et leur résilience dans l'espace et dans le temps. Alors que l'espèce est référencée comme habitant les récifs d'îles hautes telles qu'Ambon en Indonésie (Daletos *et al.*, 2014) ou Maui à Hawaii (Hagiwara & Wright, 2016), en Polynésie française elle semble surtout coloniser les atolls. Les prospections établies à ce jour ne sauraient être exhaustives au vu de l'immensité du territoire à couvrir. Cependant, aucune observation de cette éponge à proximité d'îles hautes à l'anthropisation plus marquée comme Tahiti, Moorea ou Bora-Bora n'a été relatée, tandis qu'elle est l'un des taxons les plus visibles de la barrière

récifale aux Tuamotu. Certains individus transportés à l'intérieur du lagon de Rangiroa, où leur présence naturelle n'avait pas été constatée, présentaient encore un aspect sain et filtraient activement quelques mois plus tard tandis que d'autres avaient déjà atteint un stade de dégénérescence avancé une semaine après leur déplacement, dévoilant une adaptation intra-spécifique aux contraintes biotiques et abiotiques.

La coloration de l'éponge est généralement attribuée à une combinaison de métabolites bien souvent générés par ses micro-organismes associés (Hirose & Murakami, 2011 ; Soliev *et al.*, 2011; Ye *et al.*, 2019). Parmi ces substances, les terpènes jouent notamment un rôle crucial et les caroténoïdes qu'ils incluent se sont révélés responsables de la variabilité des couleurs chez plusieurs spongiaires des côtes brésiliennes (Maia *et al.*, 2021). Bien qu'elle puisse être utile en tant que camouflage contre l'action d'un prédateur, l'importance écologique d'une telle altération chromatique ne se limite pas toujours à ce type de relation trophique (Wicksen, 1989 ; Bandaranayake, 2006 ; Pawlik, 2012). Nous suggérons ici que les variations de ce paramètre morphologique rapportées pour *Dactylospongia metachromia* pourraient être dues soit à distinctes combinaisons de pigments d'origine alimentaire, soit à une réponse des communautés bactériennes de l'holobionte de l'éponge qui leur ferait exprimer un mélange particulier de composés bioactifs défensifs envers un stress potentiel (i.e. mécanique, biologique).

2. Morpho-anatomie et relations biotiques

Des regroupements phylogénétiques post-analyses barcoding ont permis de constater que le genre *Dactylospongia* s'apparente étroitement au genre *Smenospongia*, dont la morphologie très similaire conduit encore de nos jours à envisager des réajustements taxonomiques (de Cook & Bergquist, 2002 ; Erpenbeck *et al.*, 2020). Les deux marqueurs utilisés ici ont renvoyés des clivages distincts, l'ADNr 28S s'étant révélé particulièrement pertinent pour l'étude des différenciations génotypiques de *Dactylospongia metachromia* à l'échelle biogéographique. Ainsi, au sein de la Polynésie française, des divergences notables existent entre les échantillons collectés à l'est des Tuamotu par rapport à ceux des atolls de l'ouest de l'archipel, les premiers se trouvant même davantage éloignés génétiquement des seconds que d'autres provenant d'Indonésie.

Une même constitution squelettique des spécimens de *Dactylospongia metachromia* observés fait état de fibres de spongine ramifiées, multi-stratifiées et rassemblées par des nœuds de jonction en forme d'étoiles à 4 branches percées en leur centre. Leur enchevêtrement est dense et intercalant. Le nombre et le diamètre moyen des oscules fut retrouvé très variables selon les individus et sans relation apparente avec la taille de ceux-ci. De manière générale, la morphologie apparente des spécimens sauvages rencontrés peut se trouver extrêmement différente selon l'environnement naturel concerné (i.e. encroûtante et étendue en présence de forts courants, érigée et plus isolée quand l'hydrodynamisme est plus faible et que la compétition horizontale sur le récif est élevée). Des liens plus ou moins directs ont été établis entre de telles variations morphologiques et l'espace disponible pour s'accroître, l'action de la houle ou l'intensité lumineuse, mais ces paramètres sont susceptibles d'affecter aussi bien l'éponge que le microbiote qu'elle héberge (Bell, 2007).

Les cortèges bactériens qui accompagnent *Dactylospongia metachromia* ont de fait été explorés et leur étude a révélé une grande diversité taxonomique, dont la composition laisse entrevoir cette espèce comme une éponge dite « High Microbial Abundance » ou HMA (de

Voogd *et al.*, 2018 ; Čaraitė, 2020). Le constat présent d'indices d' α -diversité très élevés fait généralement état d'une bonne santé du complexe hôte-microbiote, permettant notamment une action efficace contre les opportunistes qui se trouvent par là-même confrontés à une forte compétition susceptible d'empêcher toute action pathogène élargie (Noyer & Becerro, 2011). En effet, la production avérée de nombreux métabolites par l'holobionte laisse présager l'existence d'un lien positif étroit entre les diversités chimique et bactérienne chez les éponges marines (Aguila-Ramírez *et al.*, 2014 ; Indraningrat *et al.*, 2016). L'absence de différences de β -diversité du microbiote dans les explants cultivés sur le récif de Rangiroa au cours de leur élevage est un renseignement largement en faveur de la viabilité de l'aquaculture *in situ* de l'espèce, qui conserve au cours du processus la diversité taxonomique des espèces formant son holobionte. La variabilité démontrée entre les répliquas se raisonne donc davantage à l'échelle des ASVs, soit une analyse très fine qui imposerait de pouvoir arriver *a minima* au rang du genre pour la plupart des identifications.

Une perspective intéressante serait la mise en relation des données barcoding et métabarcoding, afin de s'interroger quant à la corrélation phylogénique du microbiote à différents niveaux taxonomiques au regard des multiples espèces de spongiaires renseignées ici. En effet, des clades biogéographiques tropicaux ont précédemment été mis en évidence (Schmitt *et al.*, 2011). De même, il a été établi que les éponges HMA et LMA (« Low Microbial Abundance ») répondent différemment aux pressions du milieu de par la composition de leur holobionte (Poppell *et al.*, 2013). L'absence d'une corrélation hôte-microbiote permettrait notamment de valider l'hypothèse de l'influence unique du milieu sur la répartition des communautés microbiennes identifiées. De même, une prédiction de la part des taxa impliquée dans différents traits fonctionnels relatifs aux groupes bactériens dégagés (e.g. cycle de l'azote, du carbone...) favoriserait une meilleure appréhension de leurs rôles-clés pour l'organisme hôte.

Outre les micro-organismes, l'éponge développe des relations trophiques étroites avec certains taxa de la faune et de la flore benthique (i.e. abri, substrat), reflétant son rôle écologique majeur envers ces communautés comme il en va de même chez d'autres spongiaires (Rützler, 1976 ; Ribeiro *et al.*, 2003). Le fait que des poissons au régime alimentaire non strictement carnivore aient été aperçus se nourrissant de débris d'éponges excisées conforte les conclusions de Becerro *et al.* (2003) quant à de possibles interactions éponges-prédateurs herbivores, ciblant davantage la densité de cyanobactéries de surface du pinacoderme que le tissu du spongiaire.

3. Écophysiologie

Les performances de filtration ne présentent pas de tendances nettes selon les périodes ou les lieux étudiés sur le récif barrière. De façon similaire, des vitesses moyennes de flux exhalé de même ordre, en général comprises entre 4 et un peu plus de 20 $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$, ont été précédemment mises en évidence chez de nombreuses espèces sub-tropicales sans corrélation avec les dimensions des spécimens, le type de milieu les environnant ou la période journalière de réalisation des tests (Vogel, 1977 ; Hoer *et al.*, 2018). Néanmoins, de fortes disparités de filtration existent chez les éponges marines en fonction du diamètre et de la position de leurs oscules par rapport au courant ainsi que de la puissance de ce dernier (Vogel, 1978 ; Leys *et al.*, 2011 ; Ludeman *et al.*, 2017), ce qui pourrait se révéler être le cas chez *Dactylospongia metachromia*. Les ordres de grandeur des débits présentés dans cette étude sont similaires à ce que l'on peut retrouver dans la littérature chez d'autres espèces de démosponges tropicales,

comme *Aplysina lacunosa*, ou même tempérées, comme *Halichondria panicea* (Gerrodette & Flechsig 1979 ; Thomassen and Riisgård 1995). En revanche, des éponges d'autres classes comme *Aphrocallistes vastus* figurent des flux exhalés nettement plus faibles de par un coût métabolique de pompage accru comparativement aux démosponges (i.e. vitesses moyennes de moins d'1 cm·s⁻¹), phénomène attribué au maillage très fin de leur structure squelettique qui empêche une filtration efficiente (Leys *et al.*, 2011). Ces espèces utilisent de fait préférentiellement les flux naturels pour satisfaire leurs besoins énergétiques.

Dans les Tuamotu, le picophytoplancton est connu pour être la fraction dominante comparativement aux microalgues planctoniques de plus grande taille, ou au zooplancton qui reste encore fort mal décrit du point de vue de la diversité des communautés qui le composent (Delesalle *et al.*, 2001 ; Dolan *et al.*, 2007 ; Lacoste *et al.*, 2021). Dans notre étude, des disparités ont été révélées entre plusieurs atolls en termes de communautés planctoniques, confortant de précédentes investigations pour cet archipel (Charpy & Blanchot, 1997). Une possible explication avancée par les auteurs viendrait de teneurs distinctes en sels nutritifs liées à des temps de résidence des eaux lagunaires dissemblables. De manière également semblable, la biomasse moyenne de picoeucaryotes dans notre cas reste bien nettement inférieure à celle des picoprocaryotes, dont *Synechococcus* constitue la population la plus abondante (Charpy & Blanchot, 1997). À **Raroia**, elle s'est ici révélée de 3 à 13 fois plus élevée comparativement aux sites de **Tetiaroa**, **Tematangi** et **Hereheretue**, ce qui fait écho aux observations préalables de Charpy & Blanchot (1999) qui révélaient pour les mêmes types de données un facteur de 2 à 10 entre les lagons et les eaux océaniques environnantes. La proportions et l'abondances des organismes picoplanctoniques est également connue pour varier entre les eaux mésotrophes et oligotrophes (Andrefouet & Adjeroud, 2019), ce qui pourrait en partie corroborer les différences démontrées dans cette étude entre certaines îles des Tuamotu et l'île plus australe de **Mangareva** située dans l'archipel des Gambier.

En plus de leurs bactéries associées, certaines éponges sont connues pour leur capacité à adapter leur taux de filtration en fonction des catégories des tailles et des concentrations en particules planctoniques (Wehrl *et al.*, 2007 ; Maldonado *et al.*, 2010 ; Ramoino *et al.*, 2011 ; Gökalp *et al.*, 2020). Dans les localités investiguées ici, *Dactylospongia metachromia* retient de fait davantage le picophytoplancton procaryote qui se trouve être la fraction dominante de la colonne d'eau avoisinante et peut dès lors y être considéré comme un macrofiltreur plutôt opportuniste. Néanmoins, cette capacité s'accompagne d'un risque majeur de perturbations des composants de la colonne d'eau et d'impacts potentiels sur l'absorption et la disponibilité des particules pour d'autres espèces benthiques ou pélagiques aux capacités de filtration plus restreintes que les spongiaires (Cabral, 1989 ; Savarese *et al.*, 1997). Ces filtres efficaces constituent en effet de véritables puits à plancton procaryote et contribuent dès lors à enrichir leur environnement en nano et picoeucaryotes (Reiswig, 1971 ; Pile, 1997 ; Diaz & Rützler, 2001).

4. Biomasse

Une étude de la biomasse a été conduite afin d'obtenir de solides corrélations ($R^2 > 93\%$) entre différentes données morphologiques de l'espèce grâce à des régressions linéaires. Ceci afin d'initier une banque de données qui devrait servir sur le long terme à :

- ⇒ pouvoir exprimer les résultats dans différentes unités et pouvoir raisonner directement le mode de culture de l'organisme (densité nécessaire, poids minimal à atteindre) au regard des concentrations en composés d'intérêt obtenues par ailleurs
- ⇒ voir si ces données varient pour d'autres zones géographiques de répartition de l'espèce ou bien les comparer à celles d'autres démosponges présentes en Polynésie française susceptibles d'être également sélectionnées pour des essais de culture.

À partir de simples mesures de poids humide (WW), l'estimation du poids sec (DW) et du poids sec sans cendres (AFWD) ont pu être obtenues en suivant des méthodes simples, facilement normalisées. Certains ratios nous ont permis par la suite d'exprimer la capacité de rétention en eau de l'animal (DW : WW) ou d'évaluer la quantité de matière organique biodisponible pour des niveaux trophiques plus élevés (AFDW : WW). De telles mesures peuvent ensuite faciliter les comparaisons dans l'espace et le temps pour une espèce donnée, en se débarrassant de biais potentiels tels que la fluctuation de la teneur en eau dans les tissus (Ricciardi et Bourget, 1998). Certaines de ces corrélations seront utilisées dans la présentation de la suite des travaux.

Les fluctuations de la teneur en eau des organismes benthiques sont depuis longtemps signalées comme potentiellement liées à leur stade de reproduction ou à des conditions environnementales défavorables impliquant un moindre approvisionnement énergétique (Taylor & Venn, 1979 ; Beninger & Lucas, 1984 ; Lucas & Beninger, 1985). La corrélation et la comparaison spatio-temporelle des métriques de biomasse, telle qu'initialisée dans ce travail, apparaît ainsi pertinente pour appréhender le bilan énergétique et l'état physiologique de l'éponge en culture en réponse aux paramètres biotiques et abiotiques auxquels elle se trouve confrontée.

**CHAPITRE III :
MISE EN
CULTURE**



INTRODUCTION DU CHAPITRE

Dactylospongia metachromia (Demospongiae, Dictyoceratida, famille des Thorectidae) s'avère relativement abondante dans certains atolls des Tuamotu, en Polynésie française, où elle a déjà été observée et échantillonnée pour des études de potentiel chimique (Boufridi *et al.*, 2017). Pour la présente thèse, des spécimens d'éponges ont été cultivés sous l'eau et des boutures d'éponges, ou « explants », ont été collectées tous les trois mois pendant une période de deux ans sur la barrière récifale et dans le lagon de Rangiroa, le plus grand atoll de l'archipel des Tuamotu.

Situé à seulement 355 km de Tahiti, Rangiroa reste l'atoll le plus accessible et le plus peuplé de cet archipel, avec plus de 2 700 habitants en 2017 (recensement ISPF 2017, www.ispf.pf, consulté le 15/02/2021). Les services aériens et maritimes réguliers rendent les contraintes logistiques plus souples que pour les autres îles éparses de l'archipel à l'accessibilité plus restreinte. Cette constatation, assortie du fait que des installations préexistantes de la Direction des Ressources Marines (DRM) de Polynésie française se trouvaient déjà sur place pour permettre un travail scientifique de terrain dans des conditions correctes, expliquent pourquoi Rangiroa fut choisie pour le lancement des essais aquacoles de *Dactylospongia metachromia* parmi d'autres atolls où l'espèce est également présente en abondance.

L'objectif de cette seconde partie est une évaluation du potentiel aquacole de cette espèce dans des biotopes marins distincts aux conditions environnementales variables. Des campagnes de terrain ont ainsi été menées tous les 3 mois à Rangiroa, de février 2019 à mai 2021, faisant appel sur place aux équipements du Centre des Métiers de la Nacre et de la Perliculture (CMNP, DRM). En raison de la pandémie mondiale de SARS-CoV-2 (COVID-19) et de la fermeture des lignes aériennes locales, l'annulation de deux missions consécutives (février et mai 2020) a été déplorée, entraînant une absence partielle de données entre décembre 2019 et septembre 2020. Pendant cette période de confinement, la survie et la croissance ont pu être enregistrées au mois de juin 2020 grâce à un partenariat réfléchi et mis en place avec certains plongeurs résidents de l'atoll.

Tous les échantillons prélevés *in situ* en plongée sous-marine (autorisation de prélèvement N°01391/VP) ont été ramenés à Tahiti par voie aérienne à l'aide de glacières pour être stockés dans les laboratoires de l'Unité Mixte de Recherche Ecosystèmes Insulaires Océaniques (UMR 241 EIO) à l'Université de Polynésie française avant leurs analyses.

Des tests statistiques univariés ont à nouveau été réalisés grâce au logiciel R-Studio (version 1.3.1093). Les mêmes transformations que précédemment mentionnées au **Chapitre II** (voir **IV**) furent à nouveau employées afin de pouvoir vérifier une distribution paramétrique (validation des hypothèses de loi normale). Dans le cas contraire, un test de Kruskal-Wallis était effectué comme alternative à l'ANOVA. Tous les tests étaient là encore interprétés au seuil d'un intervalle de confiance de 95 % ($p < 0.05$).

I. LOCALISATION GÉOGRAPHIQUE DE L'ÉTUDE

I. 1. Atoll de Rangiroa

Rangiroa (**Figure 15**) est un lagon à plusieurs passes formant atoll habité situé à 15° 05' S et 147° 40' W vers l'extrémité nord-ouest de l'archipel des Tuamotu, en Polynésie Française (Stoddart & Sachet, 1969 ; Gabrie & Salvat, 1985). La taille de cette île calcaire corallifère, ayant émergé au centre de l'océan Pacifique Sud entre 25 et 47 millions d'années avant notre ère, est de plus de 80 km de long pour 37 km de large pour une surface totale (terrestre et lagonaire) de 1 717 km² (Clouard & Bonneville, 2004 ; Andréfouët & Chauvin, 2005). Elle est de fait la deuxième plus grande au monde par sa superficie, après Kwajalein dans les îles Marshall. La profondeur maximale du lagon a été évaluée comme atteignant environ 40 m de fond (Ricard, 1985). Deux passes, ou « *ava* », nommées Avatoru et Tiputa et toutes deux situées dans le quart nord-ouest de l'atoll, contribuent au renouvellement quotidien de l'eau du lagon et permettent le trafic maritime à travers l'anneau coralligène. Avatoru mesure 365 m de large, tandis que Tiputa s'ouvre plus à l'est sur 301 m. De forts courants sévissent à l'intérieur, surtout en période d'alizés prédominants, et l'on constate parfois également des passages de tempêtes tropicales balayant l'atoll (Agassiz, 1903 ; Newell, 1956).

Les agrégats coralliens forment l'écosystème terrestre dominant de Rangiroa. Les plates-formes de conglomérat en calcite qui se trouvaient sous l'île ont progressivement été exposées au cours de siècles d'érosion et d'évolution des littoraux. Une zone récifale périphérique forme le côté extérieur de l'anneau terrestre qui peut parfois devenir très étroit comme à Tiputa où il ne dépasse pas les 80 m de large (Agassiz, 1903 ; Newel, 1954 et 1956). Avatoru dispose de son côté d'un plus grand platier (environ 155 m de large) et d'une pente récifale bien moins raide.

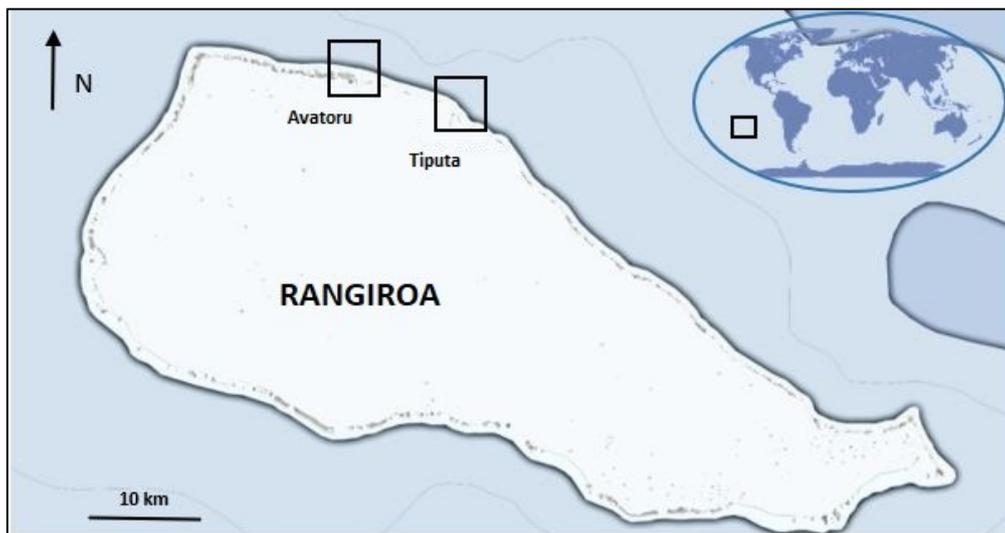


Figure 15. Carte de l'atoll de Rangiroa figurant les deux passes d'Avatoru et de Tiputa.

Considérée comme la destination la plus touristique de Polynésie française après Moorea et Bora-Bora, Rangiroa attire chaque année près de 30 000 visiteurs à 90 % étrangers sur les plus de 200 000 voyageurs séjournant sur le territoire polynésien. Près de 800 prestataires et familles vivent ainsi de cette manne financière, dont la haute saison d'affluence démarre généralement en juillet. Si ce secteur économique était en constante augmentation depuis 2018,

il a chuté de près de 77 % en 2020 par rapport à l'année précédente du fait de la crise sanitaire mondiale (bilan ISPF 2020, www.ispf.pf, consulté le 30/11/2021). Cette tendance s'est poursuivie au premier semestre 2021, avec des effectifs toujours nettement réduits malgré la levée du confinement.

I. 2. Sites de culture

Quatre sites ont été choisis, en consultation avec les autorités maritimes de Polynésie française, les autorités municipales de l'atoll et les gestionnaires des pêches, pour effectuer les essais aquacoles. Une autorisation d'occupation temporaire du territoire a été obtenue le 13 février 2019 auprès de la Direction des Affaires Foncières (N°2372/MED/DAF).

Deux zones se situent sur la barrière de corail, sur les côtés ouest des passes de Tiputa et d'Avatoru, dans des zones où *Dactylospongia metachromia* se trouve naturellement en grande abondance. Les sites ont ainsi été respectivement nommés **Tiputa** et **Avatoru**. Face à la passe d'Avatoru, deux autres emplacements ont été matérialisés et nommés **Lagon 1** et **Lagon 2**. Ces sites se situent donc à l'intérieur du lagon, à moins de 0.2 mille nautique l'un de l'autre (environ 300 m). Une réflexion préliminaire voulait que l'un de ces sites soit placé face à la passe de Tiputa pour conserver la même logique que les dispositions des zones de la barrière. Toutefois, les environs de cette passe étant trop soumis à la pression de la pêche et aux activités récréatives marines (i.e. plongées bouteille et masque tuba au site très visité de « l'Aquarium »), ils n'ont pas été retenus comme pertinents dans une logique de réduction des risques de dommages ou de déplacement intentionnel des installations sous-marines.

Tous les sites étaient indiqués par des bouées jaunes immergées à quelques mètres sous la surface, afin d'être à la fois visibles depuis le bateau et inatteignables pour les dispositifs de pêche à la traîne ou autres hélices de bateaux à moteur. Les caractéristiques des sites sont renseignées dans le **Tableau IV** ci-dessous :

Tableau IV. Description des quatre sites d'étude choisis pour les essais de spongiculture sur l'atoll de Rangiroa.

Nom du site	Profondeur d'exploitation	GPS S	GPS W	Substrat
AVATORU	15 m	14°55.856	147°43.770	Corail détritique
TIPUTA	17 m	14°57.638	147°37.965	Corail vivant (<i>Porites</i>) et algue calcaire (<i>Halimeda</i>)
LAGON 1	16 m	14°57.430	147°42.668	Sable fin gravelo-vaseux
LAGON 2	21 m	14°57.398	147°43.044	Sable fin gravelo-vaseux

I. 3. Représentations sociales partielles

Une brève enquête sociologique a été menée auprès d'un petit échantillon de la population de Rangiroa au mois de février 2021. Quelques résidents de l'atoll, choisis de manière aléatoire, ont été interrogés pour apprécier leur connaissance de l'écosystème marin local, notamment vis-à-vis de l'existence des éponges marines. Leur vision de l'aquaculture comme secteur économique à potentiellement renforcer et diversifier en Polynésie française a également été abordée lors de la réalisation des questionnaires (**Annexe 5**). Les discours ont été combinés pour obtenir un résumé global des tendances dégagées. Bien que l'effectif répondant ne soit pas représentatif, la présente partie contribue à fournir d'intéressantes informations

complémentaires qui pourraient servir de support à une étude plus approfondie des représentations sociales locales quant à l’instauration possible d’une nouvelle activité aquacole sur Rangiroa.

Les réponses complètes de 12 résidents au questionnaire ont ainsi pu être analysées. L’échantillon se composait de 5 femmes et 7 hommes. Parmi les interrogés, 6 personnes avaient plus de 50 ans, 3 personnes se situaient entre 25 et 50 ans et 3 personnes avaient moins de 25 ans. Les catégories socio-professionnelles se distribuaient comme suit : 3 artisans, 3 guides de plongée, 1 agent administratif, 2 gérants de pension, 1 nourrice et 2 enfants. Un aperçu des résultats de l’enquête est disponible dans le **Tableau V** ci-dessous. Des exemples de phrases reflétant les sentiments traduits par ces sujets de conversation sont renseignés dans la **Figure 16** ci-après.

Tableau V. Résultats de l’enquête sociologique réalisée sur un échantillon de la population de Rangiroa en février 2021.

Connaissance générale des éponges	
Oui	9
Non	0
Je crois	3
Observation d’éponges marines sur Rangiroa	
Côté récif (dont échouages le long de la côte)	11
Côté lagon	6
Jamais	2
Activités aquacoles existantes	
Satisfaisante	0
Reste à développer	10
Pas d’avis	2
Activité aquacole envisagée	
Pour	8
Contre	1
Pas d’avis	3
Catégories de bénéficiés cités	
Tourisme (affluence, mise en valeur)	7
Science (avancées)	3
Santé	5
Économie locale (emploi, innovation)	9
Environnement (préservation des ressources)	3

On constate globalement une bonne connaissance générale de l’animal auprès de l’effectif interrogé, ceci toutes tranches d’âge confondues. Les éponges sont en grande majorité observées lorsqu’elles s’échouent sur le platier récifal à la suite d’un épisode de forte houle. Des observations se font également côté lagon mais elles concernent principalement les personnes amenées à exploiter le milieu lagunaire comme terrain professionnel (plongeurs, pêcheurs) ou récréatif (enfants). Bien qu’ayant conscience des activités aquacoles déjà en place sur leur atoll, les habitants de Rangiroa estiment que des efforts restent à faire pour les asseoir afin de pouvoir en bénéficier davantage à leur niveau, surtout du point de vue de l’autonomie

alimentaire. Cette préoccupation particulière est presque systématiquement soulevée et mise en parallèle avec une perception à l'échelle locale doublée d'une crainte de diminution des stocks naturels exploitables. Le fait que les éponges ne soient pas une ressource comestible constitue un frein pour différents répondants, qui restent cependant minoritaires en estimant que la priorité devrait être donnée à des espèces de poissons telles que le *api* (chirurgien) et le '*oéo*' (bec de cane).

Pour ce qui est des bénéfices potentiellement perceptibles, la priorité est donnée à l'essor de l'économie locale qui, si l'on y inclut le tourisme comme levier économique majeur du territoire, rassemble tous les avis et toutes les générations. Du fait de l'aspect curatif mentionné dans le questionnaire, la santé est également retenue comme point-clé susceptible d'entrevoir une amélioration. Les préoccupations environnementales telles que le maintien des stocks naturels sont peu citées, mises à part pour les catégories professionnelles relatives à la sensibilisation desdites ressources envers le grand public (administration et plongeurs).

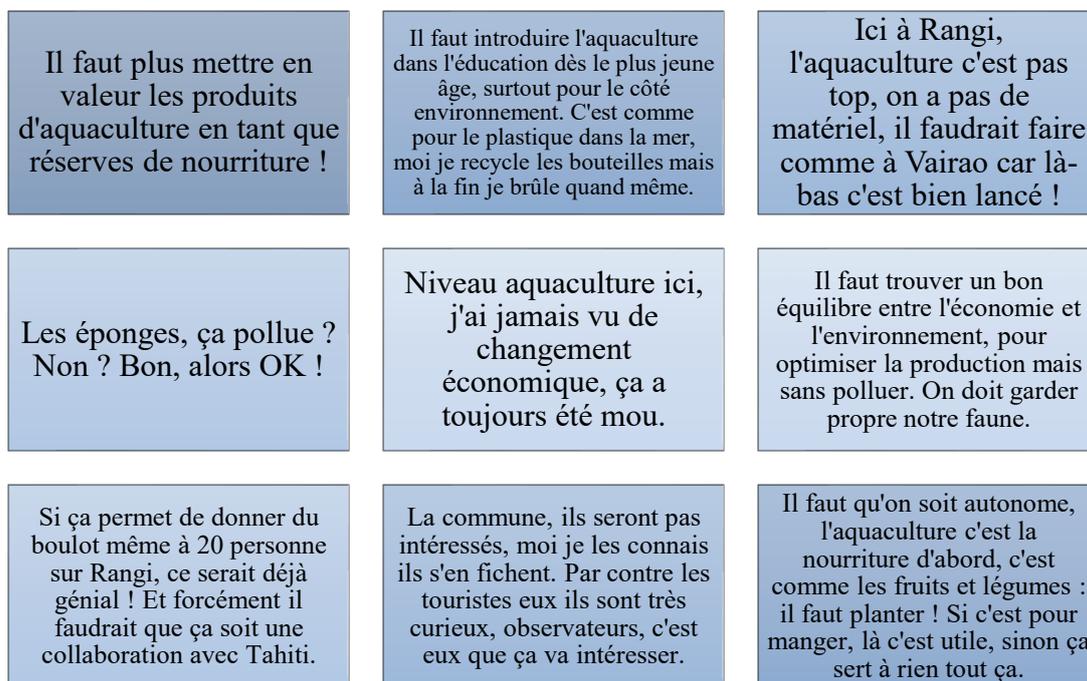


Figure 16. Exemples de commentaires issus des entretiens.

Cette étude aura notamment permis d'apprendre que les habitants de Rangiroa pratiquant la pêche ou la plongée sous-marine connaissent et utilisent les éponges marines pour leurs propriétés « anti-buée » en les appliquant directement sur leurs verres de masque lorsqu'ils se trouvent sous l'eau. « L'éponge verte », faisant ici référence à *Dactylospongia metachromia* par rapport l'autre espèce majoritaire de couleur noire appartenant au genre *Haliclona*, est également reconnue localement pour son action apaisante face aux démangeaisons provoquées par le plancton urticant. Enfin, il ressort de ces dialogues que de nombreux *paumotus* (i.e. habitants des Tuamotu) désirent se lancer eux-mêmes dans l'aquaculture pour exploiter certaines espèces, notamment les bénitiers, mais abandonnent rapidement ces aspirations à cause d'un manque d'informations généralisé sur la façon de procéder.

II. MÉTHODES DE SUIVI : SURVIE ET CROISSANCE

Les taux de survie, exprimés en pourcentage, furent obtenus en calculant le rapport du nombre d'explants retrouvés sur les installations par l'effectif initialement mis en place, abstraction faite des explants collectés à chaque mission. Les explants toujours attachés mais présentant un aspect moribond très avancé étaient comptabilisés comme morts.

Lors de chaque sortie sur le terrain et pour chaque site, les dimensions de tous les explants retrouvés furent mesurées à 0.1 cm près sur des photographies prises à l'échelle sous l'eau pour obtenir les données de croissance. Les photographies furent réalisées en plongée sous-marine à l'aide d'un appareil photo Sony RX 100 muni d'un caisson étanche en aluminium Isotta.

Les explants étaient considérés comme cubiques pour les calculs des volumes bruts (Duckworth *et al.*, 2003). En utilisant les photographies, ces volumes étaient ensuite corrigés par soustraction des volumes des portions manquantes pour l'obtention d'un cube parfait. Le calcul des volumes finaux (V) s'obtenait ainsi selon l'équation :

$$V \text{ (cm}^3\text{)} = (L \cdot l \cdot h) - V_{\text{corrigé}}$$

où L, l et h représentent respectivement la longueur totale (cm), la largeur (cm) et la hauteur (cm) de l'échantillon d'éponge et $V_{\text{corrigé}}$ fait référence au volume manquant par rapport à une géométrie cubique supposée.

Cette approche, obligatoire compte tenu du fait que ramener chaque explant en surface pour le mesurer par déplacement d'eau à l'éprouvette était inenvisageable et hautement susceptible d'être délétère, fut renforcée par l'établissement de corrélations avec les volumes disponibles des explants bel et bien « sacrifiés » *in situ* (Hoffmann *et al.*, 2008), comme présenté dans l'Annexe 6.

La différence entre les volumes finaux des explants au cours d'une mission par rapport à leur mise en culture initiale a également été mesurée. L'augmentation du volume (VI) a été calculée comme suit :

$$VI (\%) = [(V \cdot 100) / V_0] - 100$$

où V_0 est le volume initial de l'explant lorsqu'il est placé sur le cadre.

Le cas échéant, les taux de croissance mensuels (GR) ont été déduits comme suit (Duckworth, 2003 ; Morganti *et al.*, 2019) :

$$GR \text{ (cm}^3 \cdot \text{month}^{-1}\text{)} = \ln (V_t / V_0) / t$$

où V_t représente le volume de l'explant au temps t correspondant de mise en culture, exprimé en mois.

III. TESTS PRÉLIMINAIRES *IN SITU*

La profondeur de culture et l'adhérence des éponges à deux matériaux différents ont d'abord été testées sur des structures transitoires lors de la campagne de terrain « TUAM 2018 » menée à bord du navire de recherche de l'IRD, le N/O *Alis*, en novembre 2018 (Debitus *et al.*, 2019). Ces tests visaient à évaluer, en l'espace de quelques mois et avant l'installation des structures définitives, si ces deux paramètres avaient une influence à court terme visiblement drastique sur la survie et la croissance des éponges au sein d'un même biotope.

III. 1. Profondeur

III. 1. 1. Matériels et Méthodes

Il n'était pas nécessaire de tester la profondeur de culture sur la pente externe du récif barrière, car *Dactylosporgia metachromia* s'y trouve naturellement en abondance tout le long d'un gradient de profondeur étendu. Ce paramètre n'a donc été pré-évalué qu'à l'intérieur du lagon de Rangiroa, à deux endroits distincts appartenant aux concessions maritimes existantes de la ferme perlière Gauguin's Pearl. Ces emplacements nous ont été concédés par son directeur Philippe CABRAL en attendant que notre propre licence d'exploitation soit validée. Ils se situaient de chaque côté du chenal maritime principal reliant les deux îlots habités de l'atoll. Ces sites ont été nommés **Gauguin Nord** et **Gauguin Sud** en fonction de leur position de part et d'autre du chenal (**Figure 17**).

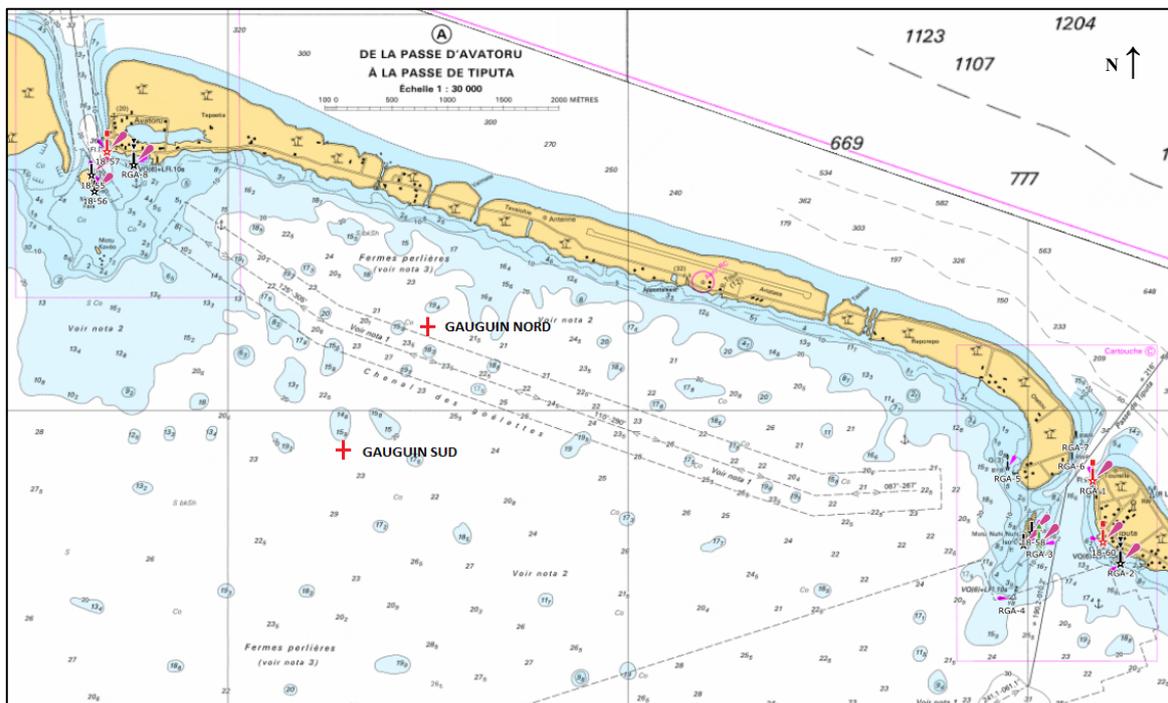


Figure 17. Carte bathymétrique de la position des sites **Gauguin Nord** et **Gauguin Sud** (versant Nord de Rangiroa).

La profondeur était la même pour les deux zones, soit 27 m. Le substrat lagonaire se composait de sédiments de carbonates blancs desquels surgissaient aléatoirement quelques pinacles calcaires. Des structures verticales ont été installées sur chaque site pour avoir un premier aperçu des performances de culture d'explants transplantés depuis la barrière externe dans le temps (**Figure 18**).

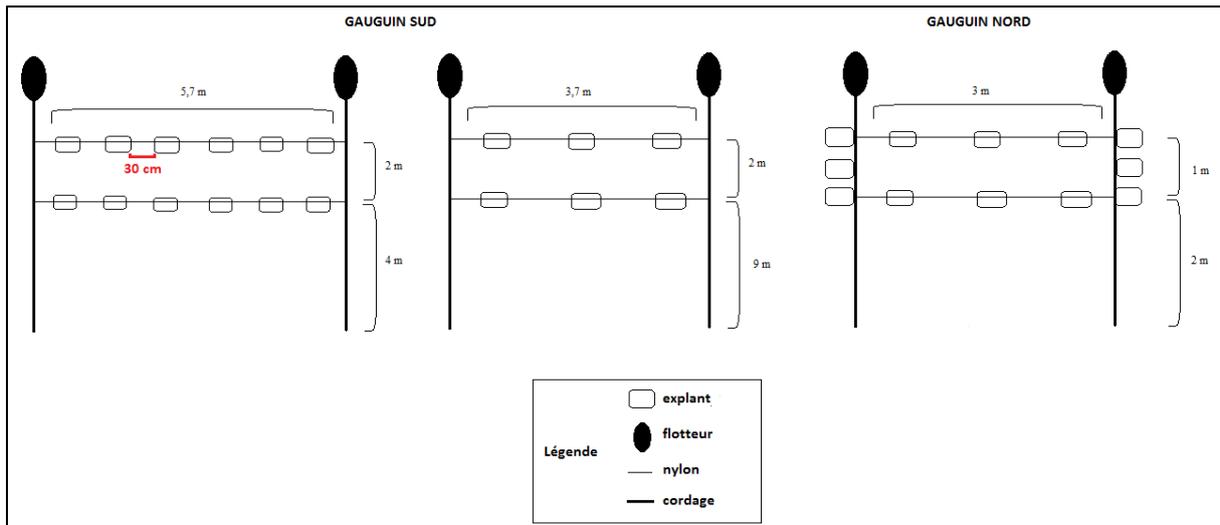


Figure 18. Schéma des installations temporaires des sites **Gauguin Sud** (gauche et milieu) et **Gauguin Nord** (droite).

Ainsi, 4 donneurs ont été choisis sur la barrière récifale puis rapatriés dans le lagon pour être installés à l'aide de boucles de nylon sur les lignes principales des structures. Les différentes profondeurs testées allaient de 2 à 11 m au-dessus du fond marin. Le suivi sur 6 mois de ces stations est disponible dans le **Tableau VI** ci-dessous.

Tableau VI. Résultats des tests de profondeur effectués dans le lagon de Rangiroa de novembre 2018 à mai 2019. Les taux de survie et les volumes (moyenne \pm SD) sont donnés après 3 et 6 mois d'aquaculture. Le nombre d'explants restants est indiqué en italique. Le volume moyen initial à l'installation a été estimé à 32 cm^3 ($4 * 4 * 2 \text{ cm}$) pour tous les explants.

Site	Survie 3 mois	Volume moyen 3 mois	Survie 6 mois	Volume moyen 6 mois
GAUGUIN SUD	$23 \pm 31 \%$	$27 \pm 4 \text{ cm}^3$ <i>n = 4</i>	$23 \pm 31 \%$	$30 \pm 10 \text{ cm}^3$ <i>n = 2</i>
GAUGUIN NORD	$75 \pm 20 \%$	$35 \pm 11 \text{ cm}^3$ <i>n = 9</i>	$58.3 \pm 12 \%$	$32 \pm 12 \text{ cm}^3$ <i>n = 6</i>

III. 1. 2. Résultats et Discussion

Le site **Gauguin Sud** enregistre plus de 75 % de pertes d'individus après seulement 3 mois de mise en culture. Sur les 4 explants survivants et cicatrisés, 3 présentent une régression de volume par rapport à leur installation (de - 8 à - 31 %) et le dernier n'a pas évolué quant à lui. La structure temporaire la plus haute a dû être retirée car elle fut retrouvée complètement dégradée (cordes de nylon très enchevêtrées) avec un unique explant toujours attaché (**Photo 10**). Aucune nouvelle perte n'est à déplorer après 6 mois, en tenant compte du fait que 2 prélèvements furent réalisés à l'issue de la première visite. Les deux explants toujours en place sur la structure conservée présentent des aspects très divergents. Par rapport à leur placement initial, l'un d'entre eux, visiblement moribond et au choanosome violacé apparent (**Photo 10**), a poursuivi sa régression (- 35 %) tandis que le second, d'aspect nettement plus sain, s'est bien

développé (+ 25 %). Étant donné cet effectif si faible, le volume moyen obtenu à 6 mois et présenté dans le **Tableau VI** n'est pas représentatif.

Le site **Gauguin Nord** présente de meilleurs taux de survie qu'au sud du chenal après 3 mois d'aquaculture, 9 explants sur 12 se trouvant toujours en place. Les évolutions de volumes calculées à l'issue du premier trimestre se décomposent comme suit : 3 explants en régression (de - 9 à - 44 %), 1 explant en stagnation et 5 explants en accroissement (de + 14 à + 63 %). Après retrait d'un individu pour analyses, 2 explants ne furent pas retrouvés lors de la mission suivante, conduisant à une baisse du taux de survie de 75 à 58 %. Les survivants étaient entièrement recouverts de silt blanchâtre et, pour certains, d'épibiontes filamenteux. Un seul individu sur ceux qui présentaient des gains de volumes lors du suivi précédent enregistre toujours une dynamique positive, bien que faiblissante (+ 7 contre + 26 % lors des premiers 3 mois). Les 3 autres ayant régressés entre les deux missions, les intervalles de croissance par rapport à leur mise en place initiale se trouvent réduits (de + 4 à + 34 %). Enfin, les deux derniers explants dont la biomasse était déjà en diminution après 3 mois ont poursuivi leur déclin (-25 et -69 %) avec des aspects très squelettiques.

Certains explants, souvent placés aux positions les plus hautes sur les structures aux deux sites, se sont mal remis du processus d'excision et offraient un aspect très squelettique. D'autres, parfois issus du même individu sauvage, se trouvaient au contraire mieux régénérés et plus solidaires de leurs boucles d'attache. Ces divergences morphologiques démontrent l'existence, à très court terme, de fortes irrégularités dans la restructuration du pinacoderme entre les éponges-mères et donc d'une hétérogénéité intra-spécifique marquée de *Dactylospongia metachromia* pour ce qui est de l'adaptation à des conditions environnementales changeantes. Ces tendances peuvent potentiellement être liées à une compétition d'accès aux ressources du fait de la présence de nombreux chapelets d'huîtres perlières situés à proximité immédiate de nos essais. La redistribution favorisée de l'oxygène, des nutriments et des organismes phytobenthiques présents dans le substrat lagonaire vers la couche d'eau profonde par resuspension peut constituer des freins importants vis-à-vis de la croissance des spécimens les plus éloignés du fond (Charpy-Roubaud *et al.*, 1996 ; Charpy & Blanchot, 1997 ; Grenz *et al.*, 2021). Une profondeur amoindrie suggère également une exposition accrue à la lumière du jour et donc une plus forte propension à la croissance d'organismes colonisateurs photosynthétiques sur les explants les plus proches de la surface (Cowie, 2010).

Au niveau des dégâts mécaniques constatés, une profondeur trop faible présente un risque accru de collision avec les bateaux et autres engins tractés issus d'activités humaines. Également, la présence avérée d'une grande faune marine dans le lagon susceptible de heurter les installations (i.e. requins tigres, requins marteaux, raies aigles) ne doit pas être négligée.

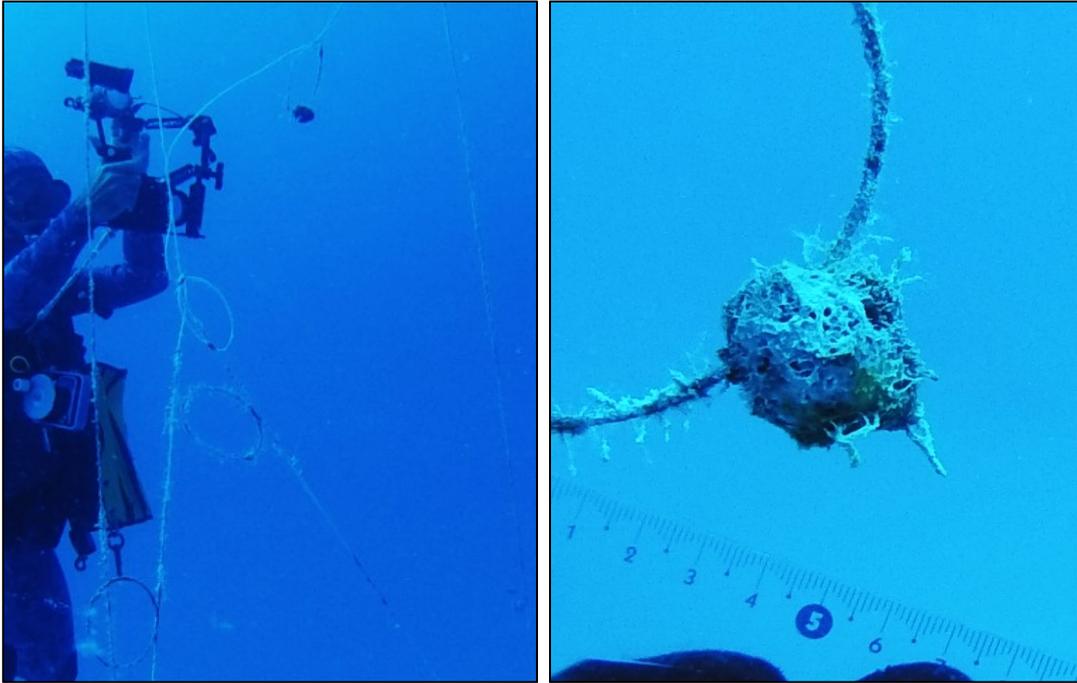


Photo 10. Dégradation apparente de l'une des structures (gauche) et aspect d'un explant mal régénéré (droite) au site de **Gauguin Sud**.

©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

Ces résultats montrent que des installations multi-profondeurs sont défavorables en ce qui concerne la spongiculture de cette espèce en milieu lagunaire. Ils ont ainsi appuyé nos choix de placer les essais lagunaires à proximité des passes pour réduire les charges de matière organique en suspension et d'utiliser plutôt des cadres horizontaux pour tenter de minimiser la dégradation accidentelle et la disparité morphologique.

III. 2. Matériaux de support

III. 2. 1. Matériels et Méthodes

Des essais d'adhérence des éponges ont été réalisés sur les sites de **Tiputa** et d'**Avatoru** sur la barrière de corail externe. Des fils de nylon (polyamide 6-6 ; 1.8 x 300 mm) et des anneaux Colson (polyamide 11 Rilsan ; 4.8 x 250 mm) ont été utilisés pour attacher des explants témoins sur des cordes tressées en polypropylène ancrées au récif et maintenues verticalement par des bouées. Ces cordages verticaux, installés en novembre 2018, servaient également à matérialiser les transects de suivi des populations naturelles mis en place avec les équipes de l'IRD durant la mission « TUAM 2018 ».

Les anneaux Colson en plastique sont très résistants et faciles à employer. Le nylon est quant à lui un matériau largement répandu dans les installations aquacoles du monde entier en raison de son coût modéré et de sa surface lisse empêchant un encrassement biologique important (Gomez-León *et al.*, 2017 ; Ternon *et al.*, 2017 ; Asaf *et al.*, 2018, Abel *et al.*, 2019, Knobloch *et al.*, 2019). Ces avantages ont contribué au choix de ces supports d'attache lors des réflexions de mise en place de ces tests.

À **Tiputa**, des explants d'éponges issus de 6 spécimens distincts situés à proximité immédiate des 2 transects de 20 m matérialisés ont été échantillonnés en duplicata pour les essais. Ils furent placés à raison de 6 explants par transect (soient 3 donneurs) et attachés à l'aide

de boucles en nylon à 40 cm les uns des autres le long des cordages principaux (**Figure 19**). À **Avatoru**, 1 seul spécimen fut échantillonné en triplicata et les 3 explants furent placés de la même façon que pour le site précédent à l'aide de colliers en Colson.

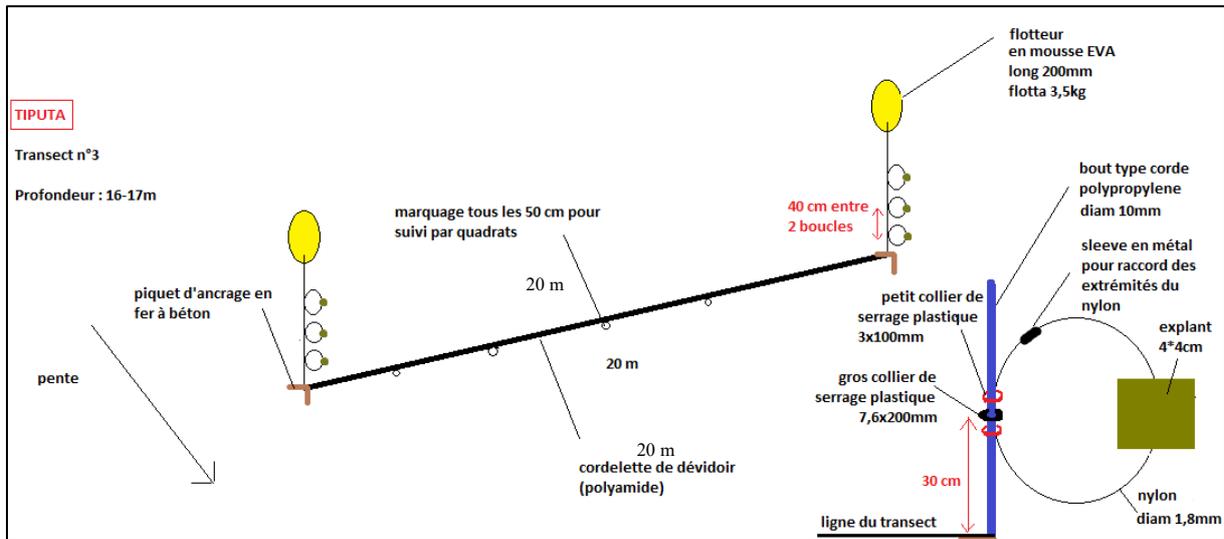


Figure 19. Schéma de l'un des transects utilisés pour les tests d'adhérence au site de **Tiputa**.

III. 2. 2. Résultats et Discussion

Après 3 mois de culture, un rejet de l'anneau Colson par les explants a été clairement mis en évidence. En effet, les explants formaient un large trou autour du collier et présentaient à son contact un aspect squelettique peu engageant (**Photo 11**). Une reprise tardive de croissance comparativement au nylon a été initiée quelques mois plus tard, ciblant exclusivement la partie des explants la plus opposée à l'attache du collier. Une forme d'éponge très allongée a alors émergé et s'est propagé le long la corde en polypropylène, compensant la base de fixation très délaissée du serrage à l'anneau Colson.

À l'inverse, les observations montrent que le nylon n'a pas eu d'influence négative sur la cicatrisation et la repousse des explants. Une régénération complète du pinacoderme était constatable au bout de 3 mois, avec de nombreux oscules apparents. La croissance était homogène, conférant toujours à l'individu une forme plutôt cubique au cours du premier semestre.

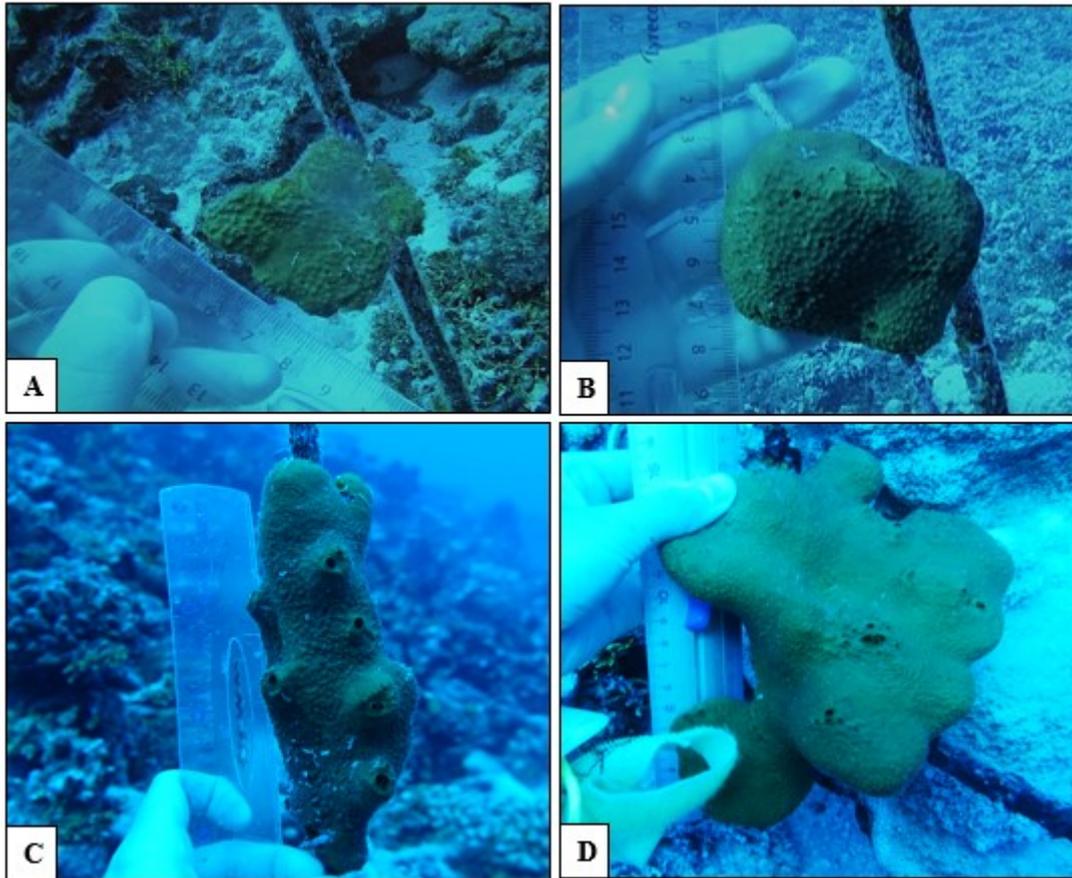


Photo 11. Suivi des explants lors des tests d'adhésion aux matériaux après 3 mois (A, B) et 27 mois (C, D) d'installation. Les aspects diffèrent fortement entre le serrage au collier Colson (A, C) et l'emploi du nylon (B, D).
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

Ces résultats ont validé l'utilisation du nylon comme matériau de support adéquat pour les conceptions permanentes.

IV. INFRASTRUCTURES AQUACOLES PERMANENTES

Des cadres rectangulaires en fer (2.5 m de long sur 1.5 m de large) ont été construits pour servir de tables de culture. Une table se composait de 4 lignes principales en nylon (2 mm de diamètre) fixées horizontalement à 50 cm l'une de l'autre entre les bords du cadre pour soutenir les explants d'éponge.

L'installation de telles structures en triplicata sur les 4 sites de culture choisis a eu lieu de février à mai 2019 lors de deux missions de terrain consécutives. Les tables ont été immergées et solidement ancrées à la massette via des piquets insérés dans les décombres coralliens de la barrière récifale (les colonies vivantes ont été soigneusement évitées) pour les sites externes, ou dans le fond sablo-limoneux du lagon pour les sites lagunaires. Les cadres étaient maintenus de 75 cm à 1 m au-dessus du substrat afin de minimiser les impacts potentiels de l'intrusion d'organismes benthiques dans les explants. Une configuration semblable permettait en outre, à la différence de supports multi-profondeurs également envisagés de prime abord, d'éviter l'enchevêtrement des lignes de culture dans les massifs coralliens adjacents de la barrière récifale. Des dégradations de ce type furent effectivement observées pour les cordages verticaux retenant les flotteurs immergés servant au repérage des sites à distance (**Figure 20**).

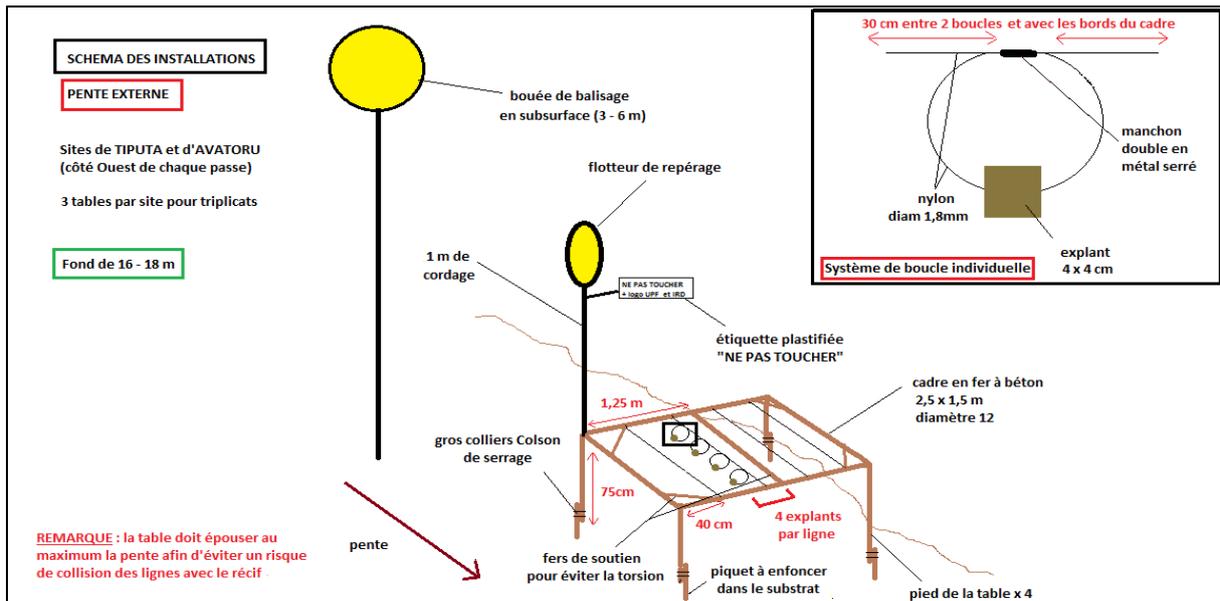


Figure 20. Schéma de l'une des installation aquacoles mises en place sur la barrière externe.

La profondeur de culture était la même à ± 5 m près pour tous les sites. À **Avatoru** et à **Tiputa**, les cadres ont été placés entre 16 et 18 m de profondeur, correspondant à la profondeur à laquelle l'abondance des éponges sauvages sur Rangiroa est la plus élevée. La profondeur aux sites du **Lagon 1** et du **Lagon 2** était de 17 m et 21 m respectivement.

IV. 1. Plan d'échantillonnage des éponges-mères

Comme aucun individu sauvage ne fut repéré dans les zones lagunaires, la découpe des éponges-mères a été effectuée manuellement aux site d'**Avatoru** et de **Tiputa** à partir des stocks naturels. Afin d'éviter le biais éventuel de l'âge du donneur sur des analyses ultérieures, des individus de taille similaire, généralement comprise entre 20 et 30 cm de long, furent ciblés. Les donneurs sélectionnés étaient excisés sous l'eau à l'aide d'un couteau aiguisé pour éviter de les presser et permettre ainsi une meilleure cicatrisation (Oronti *et al.*, 2012). La taille initiale des explants obtenus suite à la découpe était homogène, afin de mieux évaluer et comparer leurs performances de croissance. Des cubes de 4 cm de longueur et de hauteur ont ainsi été réalisés (**Photo 12**), ce qui constituait un optimum permettant la création de plusieurs réplicas sur un même donneur (Duckworth *et al.*, 1997). Une grande partie de chaque éponge donneuse était systématiquement laissée intacte, lui permettant de se régénérer au fil du temps (Duckworth, 2000).

Pour chaque éponge, la profondeur ainsi que les mesures de largeur, de hauteur et de longueur étaient enregistrées. Une photographie à l'échelle était également réalisée. L'aspect général de l'individu était également commenté (i.e. portions en dégénérescence, organismes associés, morphologie dominante). Un morceau de 2 cm³ était prélevé et conservé dans de l'éthanol à 95 % pour les analyses génétiques de barcoding et métabarcoding pour la caractérisation du microbiote associé à l'espèce. Un petit bout était également placé dans un sachet numéroté pour les analyses chimiques du contenu en métabolites d'intérêt.



Photo 12. Un individu sauvage excisé de *Dactylospongia metachromia* (gauche) et l'installation des explants découpés sur une table de culture de la barrière récifale (droite).
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

Lorsque des transferts d'éponges étaient nécessaires depuis le récif jusqu'aux sites lagunaires, les éponges choisies étaient placées dans une cagette en plastique, soigneusement ramenées à la surface et immergées dans une grande glacière remplie d'eau de mer. La glacière était maintenue en permanence à l'ombre sur le pont du bateau pendant toute la durée du transfert, qui n'excédait jamais les 15 min, ce délai étant assez court pour s'affranchir d'une oxygénation en continu (Ellis *et al.*, 2008). À l'arrivée sur le site lagunaire, les cagettes d'éponges étaient lestées puis fermées par un couvercle solidement noué. Elles étaient ensuite doucement coulées à proximité des structures jusqu'à se poser sur le fond. La mise en place des explants n'avait lieu que quelques jours plus tard, laissant aux éponges-mères une période d'acclimatation aux nouvelles conditions environnementales.

IV. 2. Plan d'échantillonnage des explants

Un total de 4 explants provenant tous du même donneur a été placé sur chacune des 4 lignes principales de support, conduisant à une configuration de 16 explants issus de 4 donneurs par table. Les explants furent disposés à 30 cm les uns des autres afin d'avoir suffisamment d'espace pour tirer parti des conditions du milieu et de minimiser les potentiels effets négatifs de densités de peuplement excessives (Wulff, 2007).

Le but de ce volet étant d'étudier les performances de culture des explants au fil du temps, la grande majorité d'entre eux était ainsi laissée en place à chaque mission pour poursuivre le suivi. Toutefois, lorsque les taux de survie le permettaient, un explant par ligne fut systématiquement collecté afin de pouvoir estimer l'évolution de la production en métabolites secondaires du donneur dont il était issu. Ainsi, chaque table pouvait au maximum fournir 4 explants provenant de 4 donneurs distincts dont la teneur en composés d'intérêt était susceptible d'être suivie sur une période d'un an. Du fait de l'annulation des missions de février et mai 2020, ce laps de temps s'est vu prolongé de 6 mois. Cela explique que certains explants présentant des longévités exceptionnelles ont contribué à fournir des résultats après 18 mois d'installation (notamment pour les sites de **Tiputa** et **Avatoru**).

Lorsque suffisamment de place se trouvait libérée après plusieurs échantillonnages successifs ou du fait de forts taux de mortalité, les tables étaient regarnies en explants suivant une logique identique pour les sites de la barrière récifale et les sites lagunaires entre eux. Ceci afin d'accroître le nombre de répliqués, non pas à l'échelle de l'éponge mais bien du site du fait de l'impossibilité logistique (i.e. marquage des individus sur la barrière récifale) et biologique (i.e. biomasse disponible) d'exciser à nouveau les mêmes éponges-mères à plusieurs mois d'intervalle.

Les explants échantillonnés furent placés individuellement dans des sachets étiquetés et rapidement amenés à terre à la fin de la plongée pour être traités dans les plus brefs délais. Chaque explante était ainsi délicatement débarrassé de ses épiphytes puis pesé à 0.1 g près sur une balance de cuisine. Son volume était calculé par déplacement d'eau à l'intérieur d'un cylindre gradué rempli d'eau de mer (López-Acosta *et al.*, 2018). L'échantillon était enfin mis au congélateur à 20 °C dans son sachet pour rester préservé jusqu'au retour sur Tahiti en fin de mission.

IV. 3. Résultats et Discussion : survie

IV. 3. 1. Éponges-mères

Pour les deux sites lagunaires, 28 donneurs ont consécutivement été installés sur les tables de culture au cours du suivi. Aux deux sites de la barrière récifale, ce sont 20 éponges-mères qui se sont succédées sur les cadres horizontaux. Ceci s'explique par des effectifs d'explants survivants bien plus élevés entre chaque mission comparativement au lagon et la non-nécessité de compenser systématiquement les pertes d'individus pour assurer un suivi chimique pertinent.

Les taux de survie moyens des éponges-mères à l'échelle des 4 sites et leur évolution temporelle durant la mise en culture sont renseignés sur la **Figure 21** ci-après. Ces taux apparaissent nettement plus élevés dès le premier trimestre au niveau des sites externes de **Tiputa** et d'**Avatoru** comparativement aux deux sites lagunaires. S'ils restent élevés à **Tiputa** même au bout de 18 mois de culture, avec une moyenne de 61 ± 45 % de donneurs comportant toujours des explants survivants, ils chutent drastiquement à partir de 12 mois à **Avatoru**, passant de 61 ± 34 % au bout d'un an à 22 ± 36 % six mois plus tard. Les sites **Lagon 1** et **Lagon 2** enregistrent une forte baisse d'éponges-mères survivantes dès les 3 premiers mois de mise en culture, avec des moyennes se situant respectivement à 41 ± 44 % et 17 ± 33 %. La survie se stabilise relativement une fois le cap des 9 mois passé pour le **Lagon 1** tandis qu'elle continue à chuter pour le **Lagon 2** pour lequel seuls 2 ± 10 % des effectifs sont toujours représentés après 18 mois.

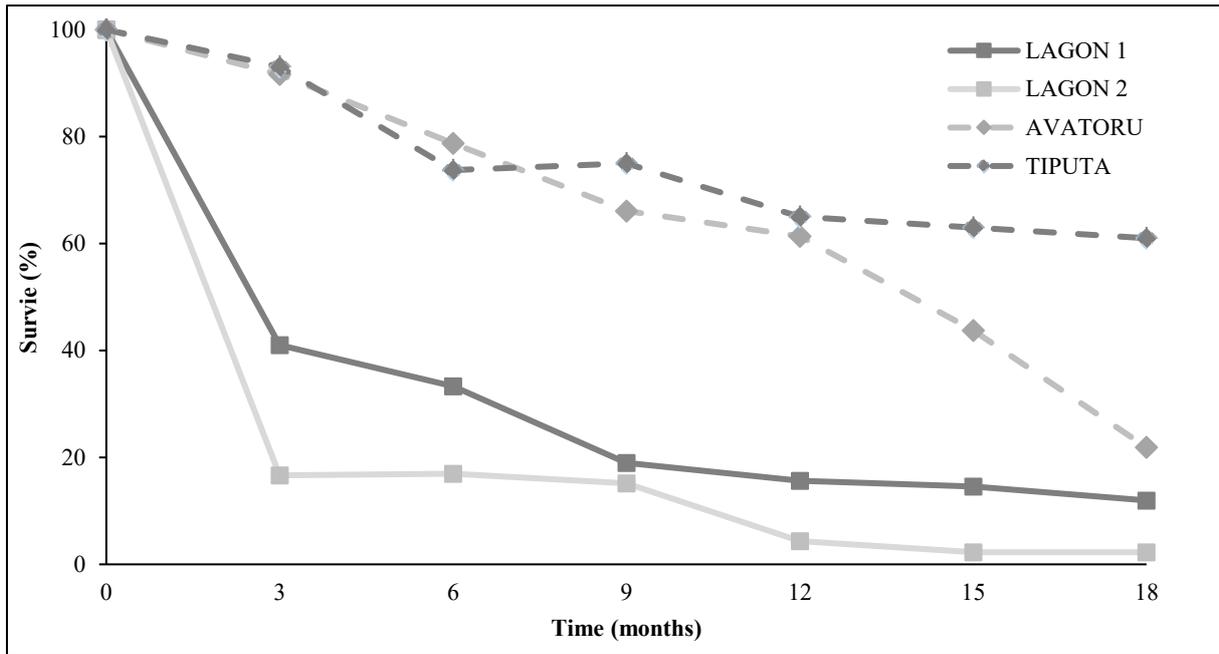


Figure 21. Taux de survie moyens (%) des éponges-mères pour chaque site de culture par rapport à leur installation initiale.

IV. 3. 2. Explants

Au niveau des explants, le nombre de survivants et de morts à certains des différents stades du processus de d'aquaculture est renseigné dans le **Tableau VII** ci-dessous.

Tableau VII. Évolution des effectifs relatifs aux explants toujours en place (ligne du haut) et disparus (ligne du bas) après 3, 6, 12 et 18 mois d'aquaculture aux quatre sites d'étude retenus.

Sites	3 mois	6 mois	12 mois	18 mois
LAGON 1	37	25	6	4
	43	12	2	0
LAGON 2	18	13	1	1
	61	15	0	0
AVATORU	66	47	10	2
	6	10	4	1
TIPUTA	67	46	8	7
	5	13	4	0

Les taux de survie et de mortalité par site (en %) pour l'ensemble du suivi sont indiqués dans la **Figure 22** ci-après. Les résultats les plus prometteurs sont obtenus à **Tiputa**, avec en moyenne plus de 86 % de survie pour ce site. Les performances recueillies à **Avatoru** sont également très encourageantes, avec seulement 17 % de pertes sur les 18 mois de culture. Le site du **Lagon 1** enregistre lui aussi un bilan positif, avec davantage de survie (58 %) que de perte (42 %), ce qui n'est en revanche pas le cas pour le **Lagon 2** (respectivement 35 et 65 %). Ces observations viennent entièrement corroborer les tendances précédemment détaillées concernant les éponges-mères. L'analyse des résultats de survie a montré un lien entre ce paramètre et les sites (Fisher, $P < 0.05$). De manière globale pour toute la période du suivi, chaque paire de site est en effet significativement différente, mis à part lorsque l'on compare **Avatoru** et **Tiputa** entre eux.

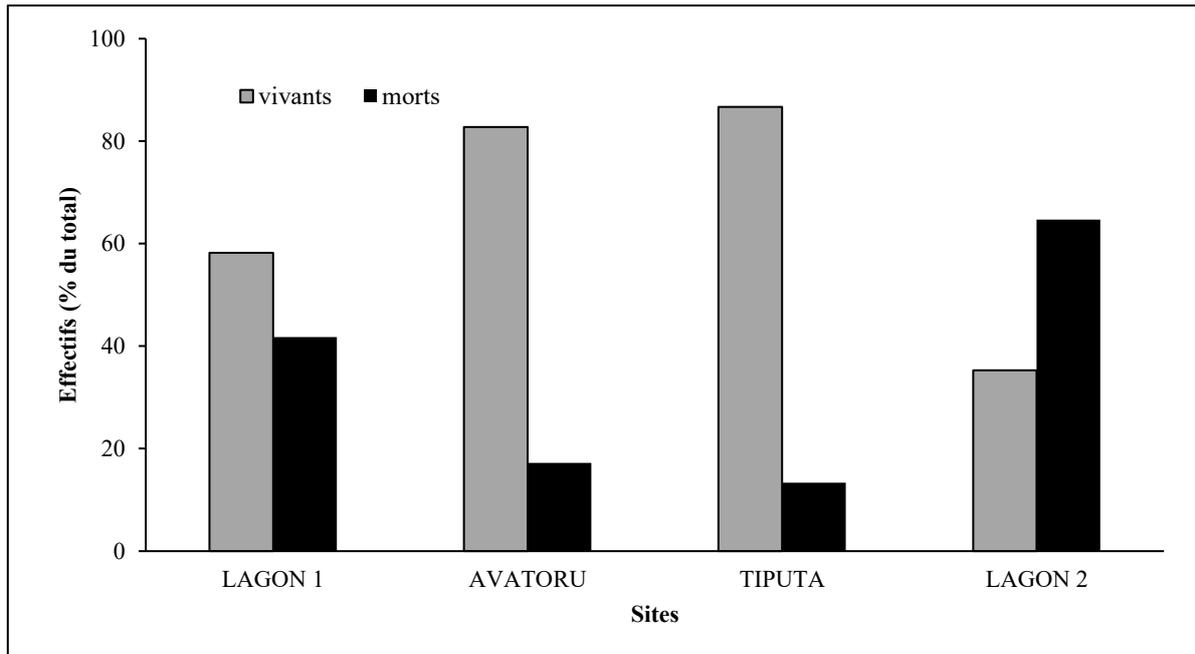


Figure 22. Effectifs cumulés (%) des explants vivants et morts à chaque site de culture à la fin des 18 mois de la période de suivi.

Pour ce qui est du temps de mise en culture, l'évolution des effectifs tous sites confondus est disponible en **Figure 23**. Au niveau statistique, la survie est bien liée à la durée de mise en culture (Fisher, $P < 0.05$). Les différences significatives s'observent à partir du stade des 12 mois par comparaison avec celui des 3 mois : pour 12, 15 et 18 mois les tests de Fisher renvoient ainsi respectivement $P = 0.046$, $P = 0.036$ et $P = 0.026$. Toutefois, les effectifs toujours en place aux sites lagunaires pour les deux derniers stades de 15 et 18 mois sont fortement réduits par rapport aux quorums initialement présents et ne peuvent donc pas faire l'objet d'une discussion approfondie. Néanmoins, une observation plus minutieuse des données à l'horizon d'un an de mise en culture permet de se rendre compte d'un léger pic de survie après 9 mois, suivi d'une faible baisse des effectifs survivants à l'approche des 12 mois (respectivement 77 et 71 % d'explants vivants à ces stades). Une hypothèse de la subséquente remontée progressive des taux pourrait s'expliquer par le fait que les quelques explants ayant franchi ce « stade-pivot » d'un an d'aquaculture, pour lequel l'effectif total initial se trouve divisé par près de 9, sont plus à-même de se maintenir en place du fait d'une adaptation « complète » aux conditions environnementales sévissant dans leur milieu de culture (i.e. couvrant les deux saisons d'une année en zone tropicale).

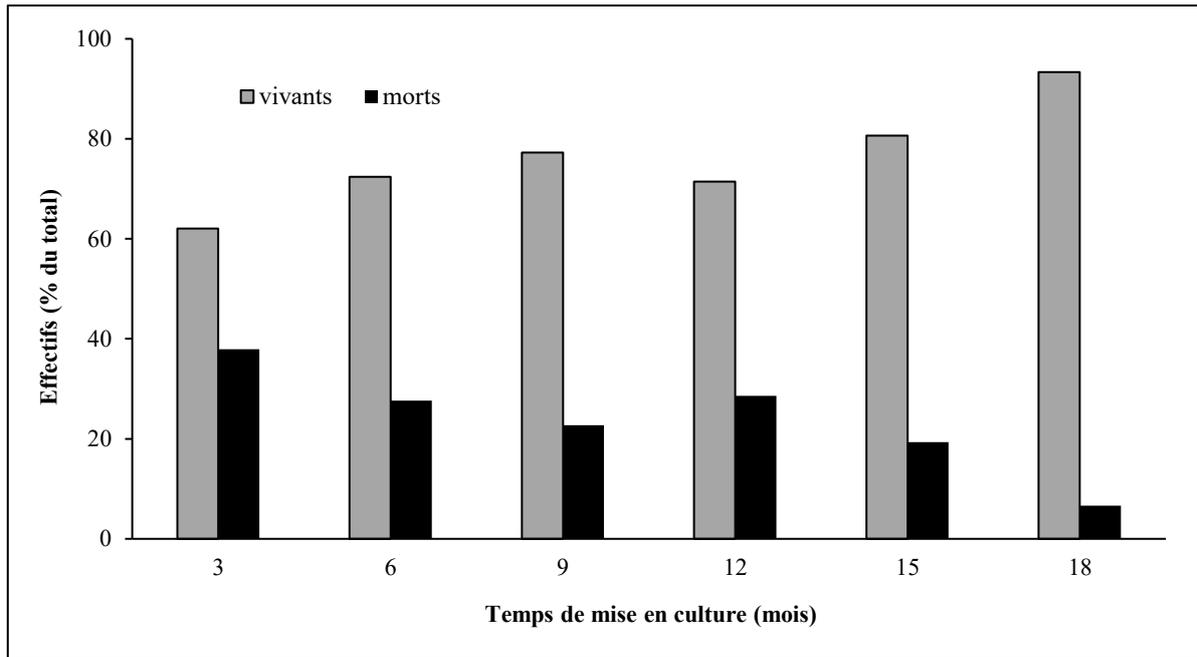


Figure 23. Effectifs cumulés (%) des explants vivants et morts à chaque période du suivi temporel pour l'ensemble des quatre sites de culture retenus.

Si l'on couple les facteurs temps et lieu, on constate dès 3 mois une différence significative de survie entre les deux sites lagunaires et les deux sites externes (Fisher, $P < 0.01$). Le site **Lagon 2** est de fait dès ce premier stade le moins performant de tous. À l'horizon des 6 mois, ce même site se trouve toujours être distinct d'**Avatoru** (Fisher, $P < 0.01$) et de **Tiputa** (Fisher, $P < 0.05$). Au stade des 9 mois, les deux sites lagunaires se démarquent toujours. À partir des 9 mois d'aquaculture, plus de distinction significative entre les paires de sites n'est démontrée (Fisher, $P > 0.05$).

Cependant et de la même manière que précédemment énoncé, les faibles effectifs disponibles à 18 mois de mise en culture pour la quasi-totalité des sites (14 survivants au total) ne permettent pas d'en exploiter les données de manière pertinente. **Ainsi, nous choisirons dans les parties suivantes de ce manuscrit de n'exploiter les données que jusqu'à l'horizon des 15 mois de spongiculture *in situ*.**

IV. 4. Résultats et Discussion : croissance

Les volumes moyens des explants à l'échelle des 4 sites et leur évolution temporelle durant la mise en culture sont renseignés sur la **Figure 24** ci-dessous.

Au niveau des sites, on observe dès 3 mois une différence significative aux deux sites de **Tiputa** et du **Lagon 2** (Kruskal-Wallis, $P < 0.05$). À ce stade, ces mêmes zones se trouvent également être les deux extrêmes au niveau des taux de survie précédemment discutés. Aucune discrimination significative à 95 % d'intervalle de confiance des sites entre eux n'a été obtenue aux stades ultérieurs de 6, 9, 12 et 15 mois (Kruskal-Wallis, $P > 0.05$).

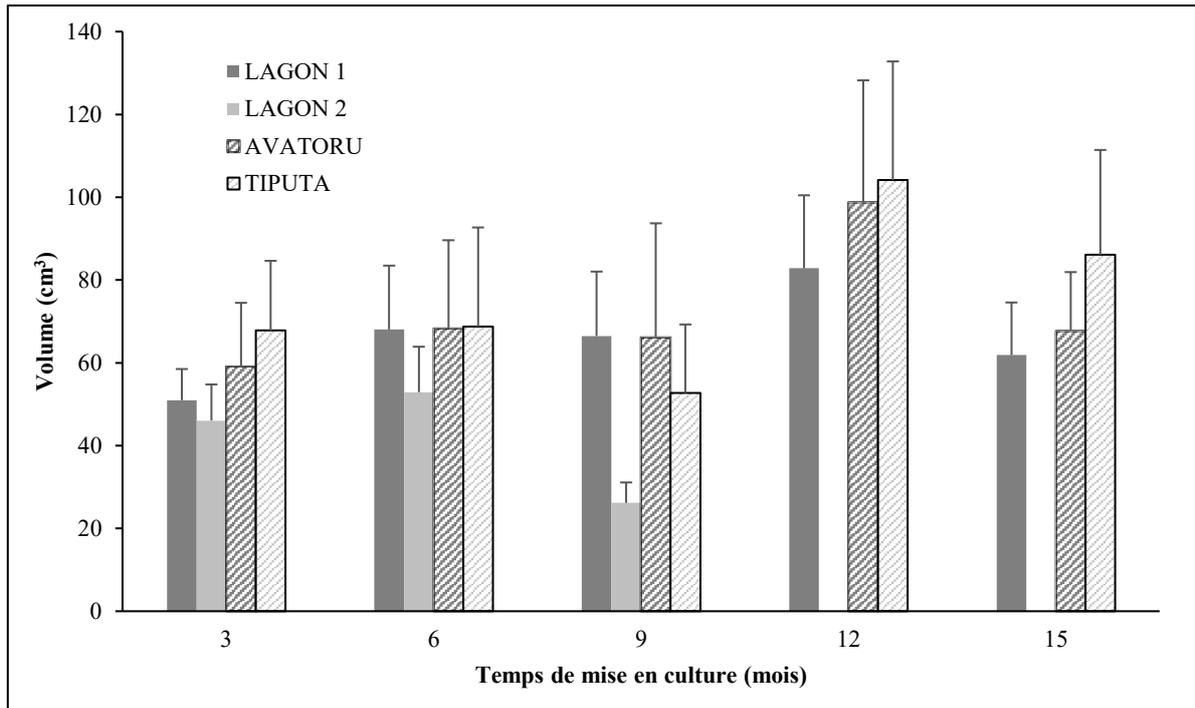


Figure 24. Volumes moyens (cm³) des explants pour chaque site de culture par rapport à leur installation initiale.

Pour ce qui est du temps, on constate que la plus forte croissance s'enregistre après 12 mois de culture pour la totalité des sites comportant toujours des explants, c'est-à-dire à l'exception du site **Lagon 2** pour lequel les effectifs survivants au bout d'un an sont insuffisants pour arriver à des moyennes représentatives. Les volumes à ce stade pour les trois autres sites sont significativement supérieurs aux volumes obtenus après 3 ou 9 mois de culture (Kruskal-Wallis, $P = 0.0325$). La moyenne des explants restants à 12 mois à **Avatoru** (échelle de 24 à 218 cm³) et **Tiputa** se situe respectivement à 99 ± 59 cm³ et 104 ± 57 cm³ (échelle de 38 à 179 cm³ et $GR = 0.11$ cm³·mois⁻¹) tandis qu'elle s'élève à 83 ± 35 cm³ pour le **Lagon 1** (échelle de 22 à 122 cm³). Passé le stade des 12 mois, qui se trouve justement être le point « pivot » des résultats liés à la survie et précédemment évoqués, les volumes moyens enregistrent une diminution générale à chacun des trois sites conservés. On notera toutefois une absence de différence significative à 15 mois comparativement aux stades précédents, y compris le pic de croissance des 12 mois (Kruskal-Wallis, $P > 0.05$).

CONCLUSION DU CHAPITRE

1. Pertinence du système aquacole

Les structures ont démontré leur parfaite tenue face aux éléments dans la durée, avec uniquement quelques minimes réparations effectuées depuis leur déploiement. Le biofouling est présent, mais reste largement acceptable sur l'ensemble du matériel pour lequel le nettoyage n'est pas systématiquement requis. Le montage et le démontage de l'ensemble d'un site est possible en une seule immersion d'un binôme de plongeurs. Le prélèvement et la remise sur table de nouveaux explants sont facilités, de même que la fixation de capteurs ou autres appareils au plus près des éponges. Les seuls véritables inconvénients déplorés ont été de rares actes de vandalisme, qui ont rendu impossible la mise en place des balisages de surface et conduits à une alternative d'ancrage de bouées immergées à quelques mètres sous la surface.

De même, les activités piscicoles et récréatives existantes sur Rangiroa ont limité le choix des sites en milieu lagonaire qui auraient sans cela pu se trouver davantage répartis dans le lagon.

Le chiffrage du coût des installations a été effectué, aboutissant à un total de moins de **115 000 CFP HT**, soient environ 960 € pour l'implantation complète d'un site de culture englobant la fabrication et la mise en place de 3 tables aquacoles. À cela devront se rajouter les prestations d'un pilote de bateau et de deux plongeurs professionnels, aboutissant à un montant total estimé pour une journée de **60 000 CFP**, soient 500 €. Il est à noter que ces montants sont uniquement valables dans le cadre d'une absence de convoi aérien (matériel et/ou humain) depuis Tahiti.

L'espèce ciblée dans le présent travail se développe naturellement sur la barrière de corail de l'île corallienne qui fut sélectionnée pour le lancement des essais d'élevage. Un tel choix évite le risque d'introduction d'espèces envahissantes et de perturbation potentielle des communautés locales. Comme l'échantillonnage est effectué en suivant les recommandations de base disponibles quant à la viabilité d'une telle activité aquacole, aucun sacrifice n'est requis parmi les populations naturelles (Duckworth & Battershill, 2003). En outre, des zones distinctes et éloignées peuvent être ciblées, du fait d'une répartition horizontale et verticale relativement large de l'éponge sur le récif, réduisant ainsi l'impact et les pressions de culture à petite échelle.

Les poissons présents lors des découpes, pouvant se révéler des prédateurs potentiels d'éponges, n'ont pourtant jamais été vus endommageant directement les spécimens d'élevage. Le biofouling affecte préférentiellement les structures de support plutôt que les éponges elles-mêmes, mis à part en de rares occasions de prolifération saisonnières de cyanobactéries, de tuniciers coloniaux et d'hydroïdes urticants. Il reste toutefois largement modéré, surtout sur la barrière récifale, ce qui évite des nettoyages systématiques lors des plongées.

Bien que cela se soit par exemple déjà vu chez *Mycale (Naviculina) chungae* (famille des Mycalidae), nous avons choisi de ne pas échantillonner plusieurs fois les mêmes explants pour obtenir des générations suivantes de cultivars (Page *et al.*, 2011). En effet, un risque de diminution des performances génétiques et de la biomasse dans les futurs lots peut survenir lors d'une utilisation en continu des clones provenant des mêmes donneurs. Par extension, cela pourrait également conduire à une plus grande vulnérabilité des populations d'élevage face à l'encrassement biologique et à la prédation.

2. Performances de culture de l'espèce

Les résultats obtenus ont clairement mis en évidence une difficulté pour la grande majorité des spécimens de *Dactylopongia metachromia* à s'adapter au milieu lagonaire. En effet, le site du **Lagon 2** présente les résultats de croissance et de survie les moins encourageants. Une première hypothèse concerne la localisation de ce site, qui se trouve être relativement plus « à l'abri » de l'influence de la passe que le **Lagon 1** du fait de sa position par rapport au haut-fond du motu Fara. L'environnement récifal peu profond de cet îlot est en effet assez étendu sur son versant sud-sud-ouest, pouvant constituer une barrière importante envers l'apport du flux océanique jusqu'au site de culture. Lorsque les conditions nécessaires à leur croissance sont défavorables, les éponges possèdent la capacité de produire des gemmules, ou petits corps bourgeonnants en latence (Osinga *et al.*, 1999 ; Belarbi *et al.*, 2003). Au cours de notre suivi, la présence de gemmules a bien été observée pour la première fois chez *Dactylopongia*

metachromia au site du **Lagon 2**, soit celui présentant les performances de culture les plus faibles (**Annexe 7**).

Pour ces sites lagunaires, le suivi précis des générations d'explants depuis leur installation a permis de constater que les survivants, même forts peu nombreux, qui arrivaient à se maintenir sur plusieurs trimestres provenaient presque systématiquement des mêmes éponges-mères de départ. Ceci reflète les probables différences physiologique et métabolique existant au sein même de l'espèce et à l'échelle de l'individu. Des groupes d'éponges présentant des taux de croissance bien distincts peuvent effectivement coexister au sein de la même population, comme cela fut démontré pour la démosponge *Coscinoderma mathewsi* (Hawes *et al.*, 2010). Se pose également la question de la possible relation entre la taille initiale de l'éponge-mère et la capacité de croissance des explants qui en sont issus. Les individus sauvages ayant ici été choisis comme figurant les mêmes dimensionnements, cette piste resterait à étudier comme potentiellement espèce-dépendante. En effet, plusieurs travaux pré-existants font état de controverses de par l'absence (Duckworth & Battershill, 2001 ; Hadas *et al.*, 2005) ou l'existence de liens (Singh & Thakur, 2016) entre les deux paramètres.

Concernant les deux sites externes, les taux de survie des explants y demeurent élevés avec plus de 80 % de survivants en moyenne sur les 18 mois de suivi. Un optimum de croissance, qui se retrouve également pour le site du **Lagon 1**, a été mis en évidence au bout d'un an de culture lorsque la biomasse moyenne atteint entre 85 et 105 cm³, soit approximativement le double de la biomasse initiale à l'installation des explants sur les tables. Les taux les plus élevés, à la fois pour la survie et la croissance, se retrouvent à **Tiputa** qui peut dès lors être considéré comme le site de cette étude le plus favorable à l'aquaculture *in situ* de *Dactylospongia metachromia*. Cependant, l'analyse des résultats de croissance montre une absence de discrimination sur 15 mois entre **Avatoru**, **Tiputa** et le **Lagon 1**. Ce dernier emplacement se présente donc comme une alternative pertinente aux conditions logistiques contraignantes de la barrière récifale pour la mise en place d'une filière aquacole de l'espèce. Néanmoins, il convient avant tout de se pencher sur les éventuelles disparités spatiales des teneurs en composés d'intérêt bioactifs qui constituent la cible de cette exploitation et dont l'étude est disponible au **Chapitre V**.

3. Vulnérabilité et leviers d'action face aux risques

Les plus grandes préoccupations à craindre relèvent de catastrophes naturelles ou anthropologiques telles qu'une dégradation des dispositifs suite au passage de grandes tempêtes tropicales ou du fait d'actes de vandalisme, qu'ils soient ou non intentionnels. Un contrôle périodique des ouvrages et un protocole d'actions préventives sont ainsi à développer en amont pour pouvoir réagir à temps ainsi qu'évaluer la détérioration naturelle des supports d'élevage.

L'espèce se retrouvant en abondance aux Tuamotu tandis qu'elle n'est pas observée sur Tahiti, une adaptation au contexte particulier des conditions de travail dans les atolls doit être considérée. À titre d'exemple, les missions de terrain ne pouvant ici se prévaloir de plongée sous-marine scientifique du fait de la profondeur des installations, le caisson hyperbare le plus proche se situe à plus d'une heure de transport aérien. Des mesures sanitaires et sécuritaires essentielles sont à réfléchir avant une phase de déploiement à plus large échelle d'une telle entreprise pour pouvoir assurer à la main-d'œuvre employable une prise en charge efficace en cas d'incident. Dans une logique de diminution de la profondeur des installations, les risques et limites d'un travail en apnée sur la barrière récifale, puisqu'elle offre de bien meilleures

perspectives de culture que le lagon, se posent comme freins majeurs et difficilement contournables.

Les maladies épisodiques affectant les éponges marines sont fréquemment sous-documentées par rapport à celles qui frappent d'autres taxons benthiques, tels les coraux ou les algues. Certaines ont encore été signalées en Méditerranée, dans les Caraïbes et dans l'océan Indien, décrivant des agents pathogènes fongiques ou des bactéries responsables d'une baisse d'abondance des cellules du spongiaire (Webster, 2007). De fait, les éponges sont rarement sujettes aux épidémies car les composés bioactifs qu'elles synthétisent en association avec leurs microsymbiotes s'avèrent souvent être des répulsifs naturels face aux infections et autres biosalissures (Indraningrat *et al.*, 2016 ; Fang *et al.*, 2017). Cependant, l'endosymbiose peut également contribuer à la propagation de pathologies parmi les éponges lorsque les conditions environnementales deviennent trop favorables à la prolifération des microorganismes. Ce fait a été mis en évidence dans les mangroves de la Jamaïque pour *Geodia papyracea* (Tetractinellida) dont la cyanobactérie symbiotique s'est avérée être le précurseur d'une maladie se manifestant par une histolyse très étendue (Rützler, 1988). De même, le syndrome de la bande rouge qui a été décrit dans les Caraïbes pour les espèces du genre *Aplysia* a révélé qu'une cyanobactérie était responsable, sinon de la maladie elle-même, en tout cas de l'aspect nécrotique du pinacoderme (Olson *et al.*, 2006). En effet, des études ont démontré que des différences notables de composition du microbiote à plusieurs niveaux taxonomiques existaient entre des éponges saines et malades ou soumises à un stress environnemental, avec des indices d' α -diversité plus élevés dans ces derniers cas (Webster *et al.*, 2008a et 2008b).

4. Perspectives d'amélioration

Compte tenu de son fort isolement géographique et de la petite surface terrestre de ses îles, la Polynésie française abrite peu d'espèces végétales indigènes (Meyer, 2004). Pourtant, certains arbres localement répandus offrent des perspectives intéressantes comme alternatives à l'utilisation de matériaux polluants et non biodégradables qui sont malheureusement encore préférentiellement utilisés dans les infrastructures aquacoles. Des exemples offrant un bois à la fois souple et relativement imputrescible dans l'eau de mer sont le bambou d'introduction polynésienne ancienne (*Schizostachyum glaucifolium*) et les arbres indigènes comme le *tou* (*Cordia subcordata*) ou encore le *miki-miki* (*Pemphis acidula*) que l'on retrouve très communément sur les atolls et notamment à Rangiroa (Stoddart & Sachet, 1969). Ces espèces sont ou ont été déjà exploitées en Polynésie française à des fins très diverses telles que la fabrication de bateaux ou d'armes, la sculpture, mais également dans la construction de parcs et autres dispositifs aquacoles (Intès, 1984 ; Blanchet, 1986). Nous pensons que leur efficacité dans la conception de dispositifs aquacoles se devrait être étudiée à l'avenir pour mieux satisfaire aux politiques de « l'Économie Bleue ».

**CHAPITRE IV :
ÉTUDE DU
BIOTOPE**



INTRODUCTION DU CHAPITRE

Selon Duckworth *et al.* (1997), les principaux facteurs d'influence de la croissance des éponges sont la teneur en sels nutritifs, la courantologie, l'exposition lumineuse et la température. Toutefois, leurs optima sont fortement susceptibles d'être espèce-dépendants (Wilkinson & Vacelet, 1979). Nous avons analysé chacun ces paramètres de manière continue ou ponctuelle au cours du suivi de l'aquaculture des explants, ainsi que d'autres venant les appuyer et dont l'impact potentiel sur les disparités des performances aquacoles constatées sera discuté.

Au niveau des évolutions climatiques globales à prendre en considération pour l'analyse de nos données sur la période 2019-2021, le phénomène El Niño a sévi sur la région Pacifique tropicale entre septembre 2018 et mai 2019 (NOAA, 2021). Pour la Polynésie française, ces manifestations se traduisent par une baisse de pression atmosphérique, des précipitations plus abondantes et une eau plus chaude que les normales saisonnières (Merle & Tourre, 1984 ; Hopuare, 2014). Cette dernière est de fait moins chargée en nutriments et autres sels dissous, ce qui y limite par conséquent la croissance d'organismes planctoniques (Rapp *et al.*, 2020). Par la suite, une anomalie La Niña fut avérée à partir de septembre 2020, avec un retour à des conditions « El Niño Southern Oscillation » (ENSO) neutres rapporté à la fin du mois de mai 2021 (WMO, 2021). En prenant le relais d'El Niño, La Niña contribue à réduire l'activité cyclonique par un renforcement des alizés qui rétablissent également l'entraînement des nappes d'eau chaude de surface vers l'ouest (Chand *et al.*, 2017). Une fois le phénomène installé, il engendre des températures océaniques anormalement froides de par l'ascendance des nappes de profondeur, couplées à une recrudescence des concentrations en sels nutritifs. La période de transition vers un retour à des conditions d'oscillations neutres se manifeste par l'affaiblissement de la « Zone de Convergence du Pacifique Sud » (ZCPS) située à l'est du bassin, ce qui engendre des périodes de sécheresse parfois prolongées.

Les analyses statistiques des différentes données présentées ont été réalisées à l'aide du logiciel R-Studio (version 1.3.1093), de la même façon qu'aux **Chapitres II** et **III** précédents. Les paramètres de croissance et de survie, détaillés au **Chapitre III** par rapport à un délai de mise en culture, sont de nouveau analysés ici selon une échelle temporelle mensuelle et annuelle. Ceci afin de permettre leur comparaison avec les données environnementales suivies en parallèle à l'aide d'une analyse en composante principale (ACP) et de pouvoir répondre aux objectifs de ce volet, à savoir définir et cibler un ensemble de conditions abiotiques potentiellement plus favorables à la croissance et à la survie des nouvelles générations cultivées de *Dactylospongia metachromia*.

I. ANALYSE DU CONTENU DES PRÉLÈVEMENTS D'EAU

Lors de chaque mission de terrain, des échantillons d'eau de mer ont été prélevés sur chaque site de culture à l'aide d'une bouteille Niskin de 5 L directement immergée depuis le bateau. Différentes profondeurs étaient échantillonnées afin d'avoir une représentativité acceptable de la colonne d'eau au niveau des structures aquacoles. Les profondeurs enregistrées pour **Avatoru** et **Tiputa** étaient de 10, 20 et 30 m. Elles étaient de 10 et 15 m pour le **Lagon 1** et de 10 et 20 m pour le **Lagon 2**, la valeur la plus profonde correspondant à une distance de 1 m au-dessus du fond du lagon à ces emplacements.

L'eau était filtrée à travers un tamis de 250 μm pour en éliminer la macrofaune (Gaillard & Tréguer, 1993) puis conservée dans des bouteilles à l'abri de la lumière jusqu'au retour à terre et au démarrage des analyses. Environ 1 L était utilisé pour rincer trois fois chaque outil ou récipient. Les échantillons étaient ensuite spécifiquement préparés en triplicata pour les analyses écologiques présentées ci-après.

Hormis l'analyse des teneurs en sels nutritifs, réalisée par le Laboratoire des Moyens Analytiques (LAMA) de Nouméa (Nouvelle-Calédonie), toutes les expériences de laboratoire étaient effectuées soit à Tahiti, soit directement sur Rangiroa durant les missions.

I. 1. Phytoplancton et bactéries

I. 1. 1. Matériels et Méthodes

L'analyse des teneurs en particules picoplanctoniques (eucaryotes et procaryotes) de février 2019 à mars 2021 s'est effectuée par cytométrie en flux en suivant le même protocole post-échantillonnage que celui détaillé dans la partie IV du **Chapitre II**. De manière succincte, les particules picophytoplanctoniques issues d'échantillons d'eau de mer fixés au formaldéhyde à 37 % ont été identifiées et dénombrées à l'aide d'un CytoFLEX de paillasse (Beckman Coulter). Contrairement aux analyses des performances de filtration, les cellules bactériennes ont cette fois-ci également été analysées, après coloration au SYBR Green I (Molecular Probes, Eugene, OR, USA). Les teneurs sont exprimées en cellules $\cdot\text{mL}^{-1}$.

➔ **Mélange des réactifs pour le phytoplancton** : 300 μL d'échantillon + 10 μL de microsphères + 25 μL de billes TruCount™.

➔ **Mélange des réactifs pour le compartiment bactérien** : 150 μL d'échantillon fixés dans du SYBR Green (300 μL d'échantillon + 8 μL de colorant SYBR Green laissé à réagir 15 min à 4 °C) + 130 μL d'eau de mer artificielle (salinité de 35 ppt) + 20 μL de microsphères + 50 μL de billes TruCount™.

I. 1. 2. Résultats et Discussion

Les valeurs moyennes obtenues sont disponibles dans le **Tableau VIII** ci-après. Celles-ci mettent en évidence la domination des phytoprocaryotes dans la fraction picoplanctonique, ce qui est en accord avec les résultats obtenus pour les analyses d'eau de la grande majorité des atolls de l'archipel des Tuamotu (Charpy & Blanchot, 1997).

Tableau VIII. Concentrations moyennes (cellules $\cdot\text{mL}^{-1}$) en organismes picoeucaryotes et picoprocaryotes dans les eaux échantillonnées à chacun des 4 sites de l'étude de février 2019 à février 2021 (moyennes \pm SD).

	AVATORU	TIPUTA	LAGON 1	LAGON 2
Picoeucaryotes	3 250 \pm 2 162	9 543 \pm 6 467	15 275 \pm 8 422	18 690 \pm 10 900
Picoprocaryotes	20 802 \pm 5 204	37 677 \pm 18 700	202 059 \pm 44 463	180 899 \pm 37 538
Bactéries	184 759 \pm 66 696	164 750 \pm 60 626	307 931 \pm 123 112	234 831 \pm 66 174

Les atolls du nord des Tuamotu sont considérés au sein de l'archipel comme étant les plus riches en matière organique particulaire (MOP), composée entre autres d'organismes phytoplanctoniques (Charpy *et al.*, 1997). À Rangiroa, les concentrations en picoeucaryotes se sont révélées similaires entre tous les sites étudiés (Kruskal-Wallis, $P > 0.05$). Pour les

picoprocaryotes en revanche, d'après la **Figure 25** ci-dessous, les deux sites externes se démarquent significativement des deux sites lagunaires après transformation en racine carrée des données pour satisfaire aux conditions de l'analyse de variance (ANOVA, $P < 0.0001$). Le même constat est fait pour les bactéries sur les valeurs brutes non transformées (ANOVA, $P < 0.001$).

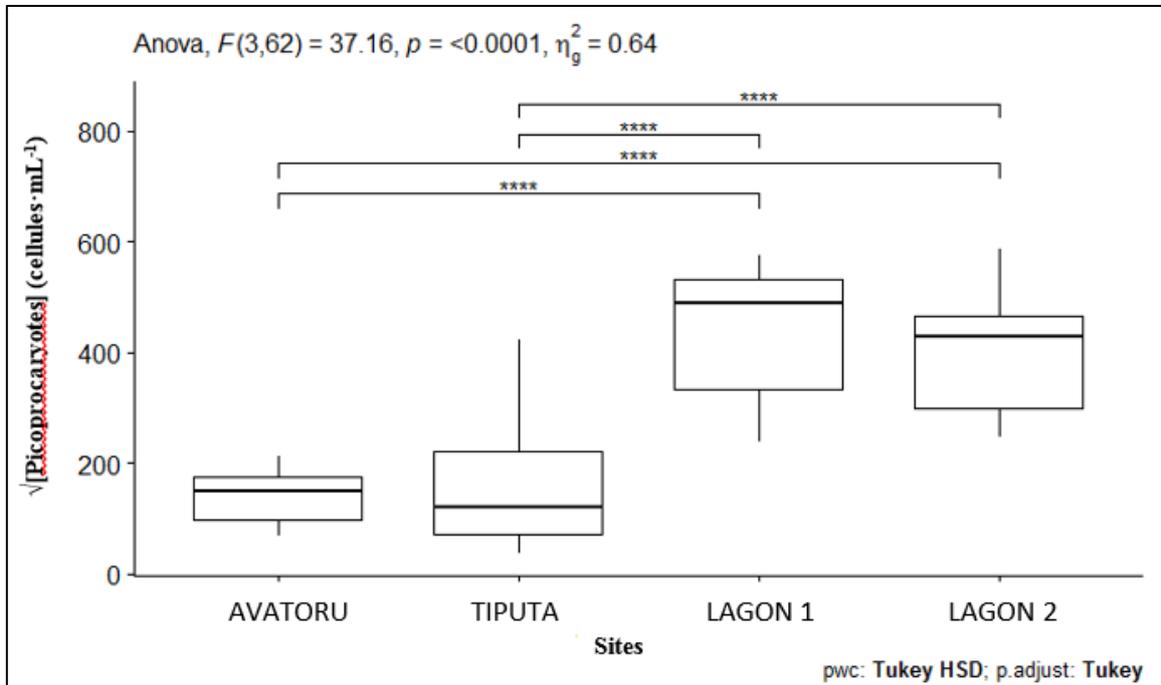


Figure 25. Différences significatives entre les sites de l'étude pour les concentrations ($\text{cellules} \cdot \text{mL}^{-1}$) en organismes phytoplanctoniques picoprocaryotes. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.

L'analyse temporelle sur la période concernée montre, pour les eucaryotes, une hausse significative des teneurs à l'horizon du dernier trimestre 2020 (ANOVA, $P < 0.0001$) (**Figure 26**). La même tendance peut également s'observer pour les organismes procaryotes. Un phénomène affectant drastiquement la biomasse phytoplanctonique est donc à envisager à cette même période. Le mois de septembre 2020 correspond justement à la détection d'une anomalie de type La Niña, phénomène qui s'accompagne d'une baisse des températures de surface et qui engendre par la suite une hausse des concentrations en phytoplancton, comme cela fut démontré pour le Pacifique tropical (Blanchot *et al.*, 1992 ; Timmermann & Jin, 2002).

Pour les concentrations bactériennes, après transformation logarithmique des données, celles-ci montrent des variations non saisonnières (i.e. résultats significativement différents d'une année sur l'autre aux mêmes mois). Si des changements significatifs entre deux suivis ne surviennent de manière générale qu'au bout d'un pas de temps relativement conséquent de plus de 9 mois, une exception notable concerne là encore les mois de novembre 2020 et février 2021. À peine séparés d'un trimestre, ces deux périodes de suivi se trouvent en effet d'ores et déjà distinctes l'une de l'autre (Kruskal-Wallis, $P < 0.05$).

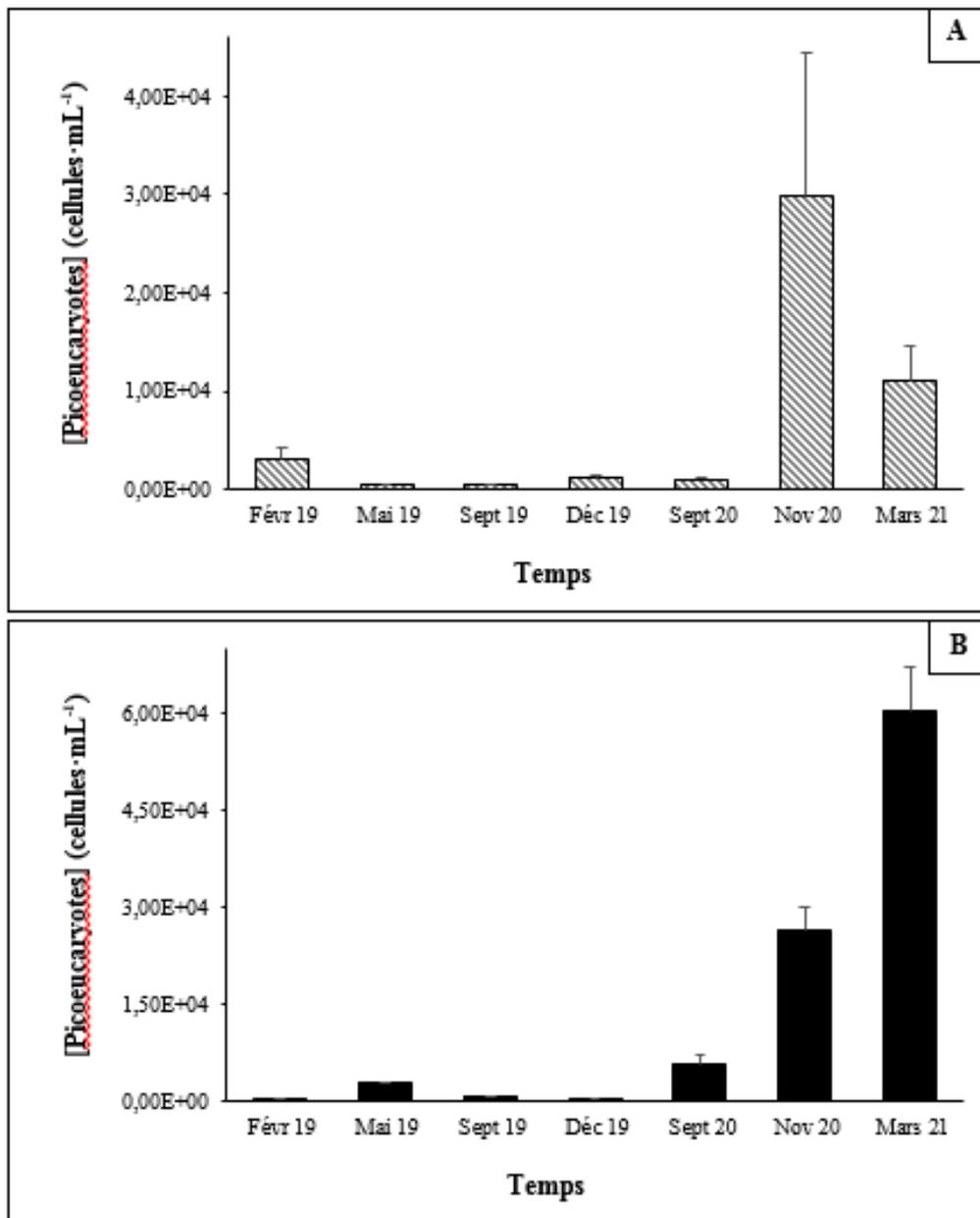


Figure 26. Évolution temporelle des teneurs en phytoplancton eucaryote pour les milieux récifal (A) et lagunaire (B) (cellules·mL⁻¹) sur l'atoll de Rangiroa de février 2019 à mars 2021.

Les variations saisonnières de la biomasse phytoplanctonique aux Tuamotu sont globalement considérées comme négligeables, le profil annuel étant bien plus souvent chaotique que régulier (Charpy *et al.*, 1997 ; Buestel & Pouvreau, 2000). Les disparités constatées peuvent cependant être rapidement significatives, à des échelles spatiales restreintes et malgré de faibles concentrations cellulaires (Thomas *et al.*, 2010). Une fluctuation importante des biomasses planctoniques doublée d'une faible diversité spécifique au sein du lagon de Rangiroa a également été démontrée pour un autre compartiment planctonique, à savoir le zooplancton (Michel *et al.*, 1971). Une telle variabilité temporelle sur le court terme pourrait davantage refléter l'existence d'échanges très hétérogènes entre les masses d'eau lagunaire et océanique, ainsi que dans la prédominance irrégulière de vents plus ou moins violents (Thomas *et al.*, 2010 ; Fournier *et al.*, 2012).

I. 2. Sels nutritifs

I. 2. 1. Matériels et Méthodes

Un sous-échantillon de 20 mL d'eau de mer était versé dans des fioles à scintillation en polyéthylène de 40 mL (Dominique Dutscher SAS) et fixé avec 20 μ L de HgCl_2 . Les fioles étaient ensuite vigoureusement secouées et conservées au réfrigérateur (4 °C) avant d'être expédiées au LAMA (Nouméa, Nouvelle-Calédonie). L'analyse des teneurs en phosphate dissous (PO_4), en oxydes d'azote (NO_x) et en acide orthosilicique (Si(OH)_4) sur la période s'étalant de février 2019 à début juin 2021 a été réalisée par le LAMA selon leurs propres protocoles. L'appareil consistait en un SEAL AA3 HR AutoAnalyzer équipé d'un échantillonneur XY-2, d'une pompe péristaltique IV, d'une plaque collectrice et d'un colorimètre numérique à deux canaux (filtre optique = 550 nm pour NO_x et 880 nm pour Si(OH)_4 et PO_4). Le logiciel AACE 7.10 a été utilisé pour l'acquisition des données. Tous les coefficients de variation entre les triplicata retenus pour l'interprétation des résultats étaient inférieurs à 10 %. Les concentrations sont exprimées en μM .

I. 2. 2. Résultats et Discussion

Les moyennes globales des concentrations pour les différents sels nutritifs durant la période de suivi sont disponibles dans le **Tableau IX** ci-dessous. Les phosphates sont présents en faibles quantités dans la zone euphotique océanique et lagonaire, ce qui y limite la production primaire comme le démontre également la pauvreté généralisée en chlorophylle a (voir **c**) ci-après). Les oxydes d'azote, encore plus rares, permettent de se rendre compte d'une absence de mélange avec la nappe phréatique de l'atoll dont les eaux usées seraient susceptibles d'élever les teneurs aux abords des villages (van Duyls *et al.*, 2002 ; Haßler *et al.*, 2019). De la même manière que pour les deux éléments précédents, la silice dissoute est davantage présente en milieu océanique que lagonaire. Tous ces résultats et nos amplitudes de valeurs sont en accord avec les données préalables récoltées dans d'autres atolls du nord des Tuamotu situés au voisinage de Rangiroa tels que Tikehau ou Takapoto (Charpy & Cremoux, 1990 ; Charpy-Roubaud & Charpy, 1994 ; Charpy-Roubaud *et al.*, 1996).

Tableau IX. Concentrations moyennes (μM) en phosphates, oxydes d'azote et silicates dans les eaux échantillonnées pour chaque type de biotope de septembre 2019 à mai 2021 (moyennes \pm SD).

	PO_4	NO_x	(Si(OH)_4)
RÉCIF	0.211 \pm 0.011	0.184 \pm 0.033	0.959 \pm 0.196
LAGON	0.161 \pm 0.020	0.088 \pm 0.017	0.855 \pm 0.205

En comparant les sites entre eux, on constate d'après la **Figure 27** ci-après que les teneurs en PO_4 et NO_x restent similaires entre deux sites figurant la même configuration environnementale (i.e. **Lagon 1** et **Lagon 2** ou **Tiputa** et **Avatoru**). Toutefois, les valeurs sont très distinctes lorsque l'on considère les sites externes par opposition aux sites lagonaire (ANOVA, $P < 0.0001$). Ces paires de sites peuvent dès lors être appréhendées ensemble dans le reste de l'analyse proposée ici. Pour ces deux nutriments, des teneurs océaniques de même ordre et significativement plus importantes qu'en milieu lagonaire ont précédemment été démontrées pour Rangiroa, ainsi que dans d'autres atolls du même archipel (Michel *et al.*, 1971 ; Rougerie, 1979). Bien que non significative, la disparité des teneurs moyennes en

phosphates entre les sites du **Lagon 1** et du **Lagon 2** semble démontrer une relation positive entre ce paramètre et la profondeur (16 et 21 m respectivement pour les deux sites susmentionnés), comme l'ont précédemment fait remarquer certains auteurs pour d'autres localités dont l'atoll de Tikehau (Atkins, 1926 ; Rougerie *et al.*, 1997a). Les concentrations en Si(OH)_4 ne sont quant à elle pas statistiquement différentes d'un site à l'autre (Kruskal-Wallis, $P > 0.05$).

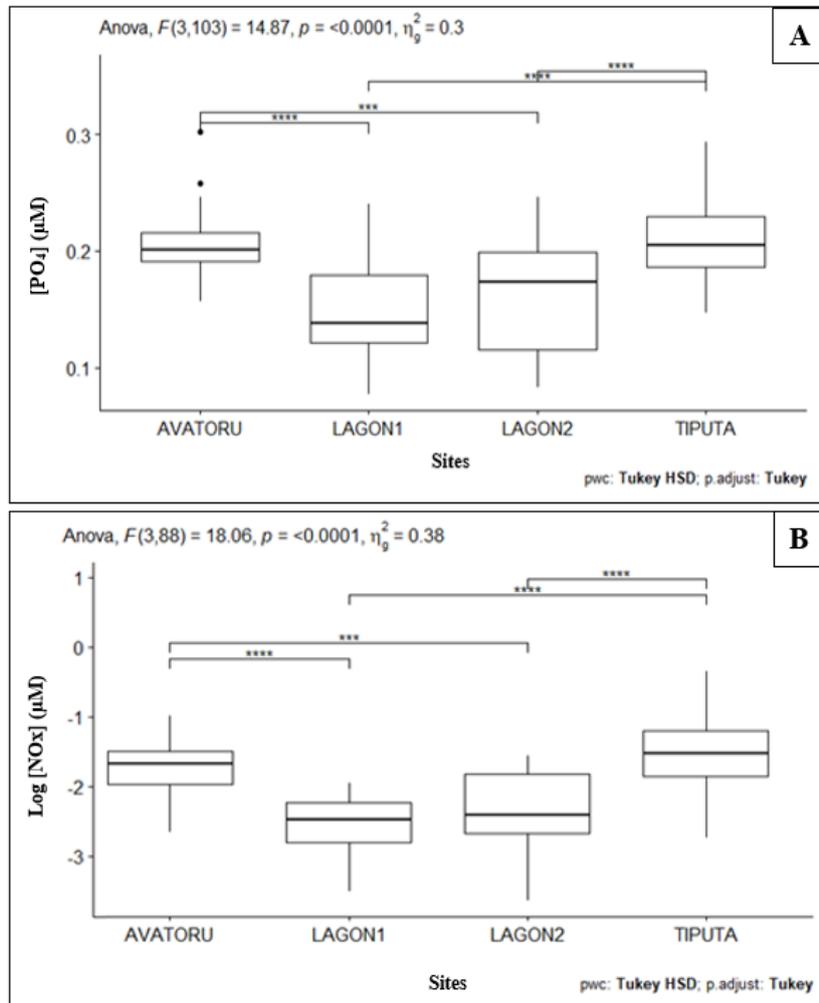


Figure 27. Différences significatives entre les sites de l'étude pour les teneurs (µM) de phosphates (A) et d'oxydes d'azote (B) dans l'eau échantillonnée. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.

L'évolution temporelle des concentrations en phosphates démontre une saisonnalité importante pour ce paramètre. En effet, il n'existe aucune différence significative aux mêmes périodes (± 1 mois) d'une année sur l'autre (**Figure 28**). Des dissimilitudes existent en revanche entre les différents mois relevés sur une même année (i.e. février versus mai ou septembre 2019). Ainsi, les concentrations augmentent progressivement du début d'année jusqu'à l'horizon du mois de septembre : en moyenne sur les 3 ans, passage de $0.19 \mu\text{M}$ en février à $0.23 \mu\text{M}$ en septembre pour le récif et de $0.10 \mu\text{M}$ à $0.21 \mu\text{M}$ respectivement pour le lagon. Puis, elles diminuent au cours du dernier trimestre pour revenir aux moyennes initiales en décembre. Des travaux semblables sur l'atoll de Takapoto aux Tuamotu montrent également de faibles concentrations lagonaires en phosphates au mois de janvier, puis un enrichissement progressif jusque vers juillet (Rougerie, 1979). Les teneurs légèrement plus faibles à Takapoto

que celles obtenues dans notre étude pour Rangiroa peuvent se justifier dans le second cas par un isolement moins drastique avec le milieu océanique, du fait de la relative proximité de nos sites d'étude lagunaires avec la passe d'Avatoru. En effet, plus les lagons sont fermés, plus la déplétion en phosphates dissous est notable (Dufour & Harmelin-Vivien, 1997). Enfin, une comparaison plus globale des teneurs entre les trois années successives 2019, 2020 et 2021 n'aboutit à aucune différenciation notable (Kruskal-Wallis, $P > 0.1$).

Une tendance saisonnière s'observe également, quoique moins marquée, pour les oxydes d'azote d'une année sur l'autre aux mêmes périodes (**Figure 28**). L'évolution est la même que pour les phosphates au cours du premier semestre, cependant la baisse des concentrations s'effectue ici en amont du mois de septembre, pour lequel les teneurs de $0.14 \mu\text{M}$ en moyenne pour le récif et $0.05 \mu\text{M}$ pour le lagon sont déjà significativement plus basses qu'au pic du mois de mai ($0.32 \mu\text{M}$ et $0.13 \mu\text{M}$ respectivement à ce stade). La disponibilité en composés azotés sur du court-terme peut notamment se trouver soumise aux événements météorologiques ambiants sévissant aux abords des atolls, comme par exemple de récentes précipitations ou une recrudescence de vents dominants (Torréton *et al.*, 2010 ; Charpy *et al.*, 2012). Une confrontation interannuelle des données indique une différence significative pour ce paramètre entre 2019 et 2020 (ANOVA, $P < 0.01$) (**Figure 29**).

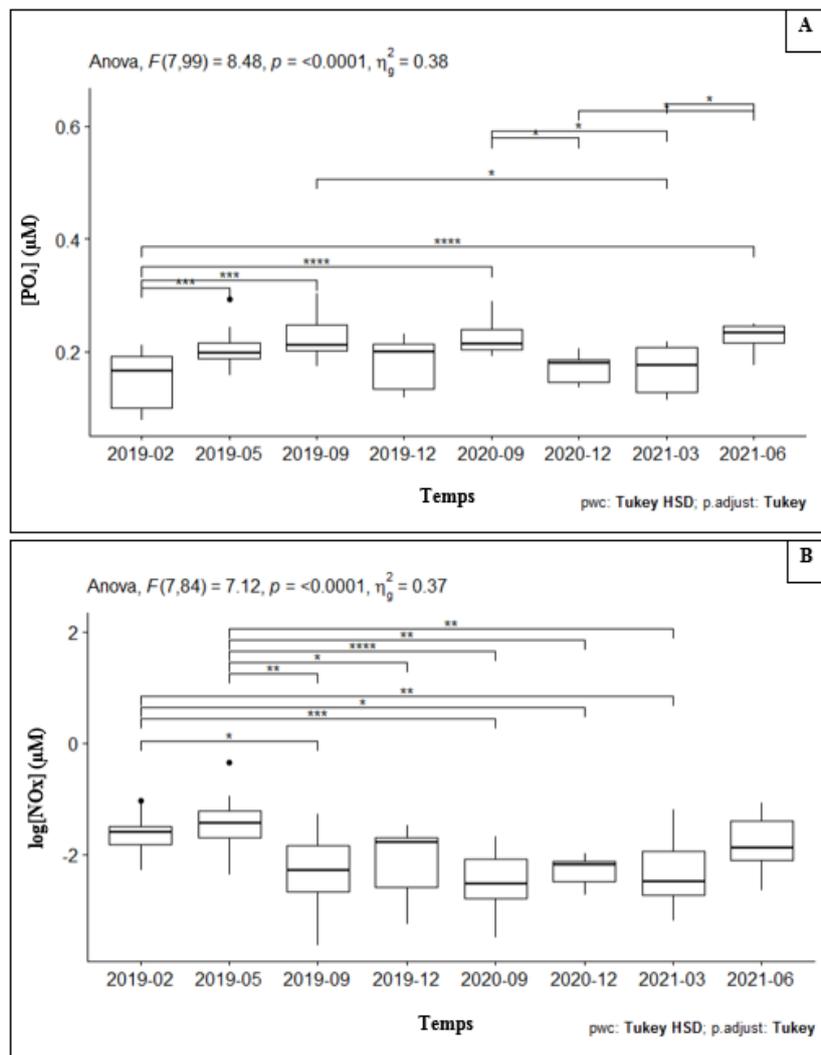


Figure 28. Différences significatives entre les différents mois de suivi des teneurs (μM) de phosphates (A) et d'oxydes d'azote (B) dans l'eau échantillonnée. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.

Une analyse similaire des concentrations en Si(OH)_4 n'a pas permis la mise en évidence d'un profil particulier d'évolution temporel entre les mois. Il semble que les valeurs pour ce paramètre varient de manière bien plus aléatoire au cours des années que les deux autres sels nutritifs étudiés. Toutefois, une analyse plus large des teneurs entre années consécutives permet une nette différenciation entre 2019 et 2021 (Kruskal-Wallis, $P < 0.0001$) (**Figure 29**). Cette approche permet notamment la mise en évidence d'une augmentation constante des moyennes pour les différentes périodes de suivi se succédant à l'intérieur d'une même année par rapport à la précédente.

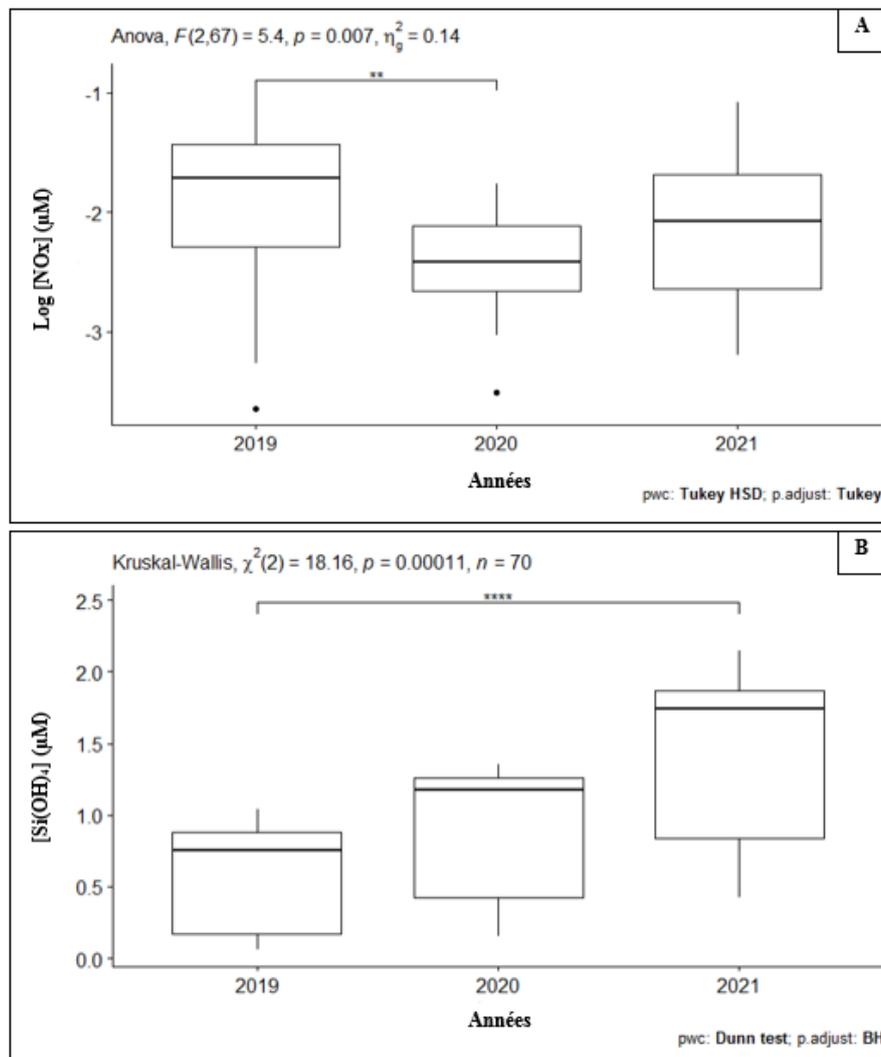


Figure 29. Différences significatives entre les différentes années de suivi des teneurs (μM) d'oxydes d'azote (A) et d'acide orthosilicique (B) dans l'eau échantillonnée. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.

Une diminution relative des teneurs en nutriments durant la saison des pluies (dite « saison chaude » ou « été austral » et s'étalant de novembre à avril), comme il en va pour les phosphates, pourrait s'expliquer par une dilution plus importante de ces substances dans l'eau de mer par comparaison avec la saison sèche (Rougerie, 1979). Une autre hypothèse envisageable serait un enrichissement en profondeur au sein du récif barrière, provoqué par un phénomène accru d'« endo-upwelling » (i.e. remontée d'eau profonde riche en sels minéraux par capillarité et thermo-convection dans la couronne récifale de l'atoll) en période de grands vents et de fortes houles (Rougerie & Wauthy, 1986 et 1993).

Toutefois, nos résultats en ce qui concerne les oxydes d'azote et les silicates ne se corrélant pas de façon très nette avec ces tendances, une réelle distinction saisonnière entre les périodes sèches et humides ne saurait être assurément reflétée ici comme il en va par contre pour d'autres atolls de l'archipel (Charpy *et al.*, 2012).

Une analyse d'interaction entre le phytoplancton et les sels nutritifs dissous présents dans les eaux échantillonnées a montré dans certains cas un effet synergique de ces facteurs par rapport au temps. Une analyse de variance à plusieurs facteurs retourne ainsi une différence significative entre les années 2019 et 2020 pour les phosphates et les oxydes d'azote lorsqu'ils se trouvent combinés à la biomasse picophytoplanctonique (ANOVA, $P < 0.05$ et $P < 0.01$ respectivement). On peut observer sur la **Figure 30** ci-après une corrélation plutôt négative avec PO_4 , qui apparaît comme un élément très limitant du fait d'une raréfaction notable d'organismes phytoplanctoniques en-deçà des $0.17 \mu M$. Des teneurs plus élevées en phosphates couplées à de plus faibles concentrations planctoniques en 2019 sont révélées par rapport aux deux années suivantes. Pour les NO_x , la tendance est inversée avec une évolution positive conjointe des deux variables et davantage de maxima atteints en 2019 qu'en 2020 ou 2021. En revanche, concernant les deux biotopes parallèlement étudiés (i.e. récif et lagon), seules les teneurs en oxydes d'azote semblent avoir un lien fort avec la variabilité du phytoplancton pour discriminer les configurations environnementales (ANOVA, $P < 0.001$). Ainsi, pour le récif, de fortes concentrations en oxydes d'azote sont majoritairement associées à une faible biomasse phytoplanctonique, tandis que dans le lagon la prévalence d'organismes phytoplanctoniques s'accompagne de teneurs en nitrates très modérées. Des corrélations spatiales entre la production primaire d'origine phytoplanctonique et les taux d'approvisionnement en sels nutritifs ont précédemment été démontrées en Polynésie française et dans le Pacifique Sud (Legendre *et al.*, 1988 ; Jacquet, 2005). De la même manière que présenté ici, ces travaux ont révélé à la fois une absence de similitude entre les profils d'évolution pour les différents nutriments, une possibilité de concentrations analogues entre les milieux récifaux et lagonaire pour certaines stations (ceci bien que les teneurs restent globalement supérieures dans les eaux récifales) et également un aspect fortement limitant des phosphates sur la charge planctonique.

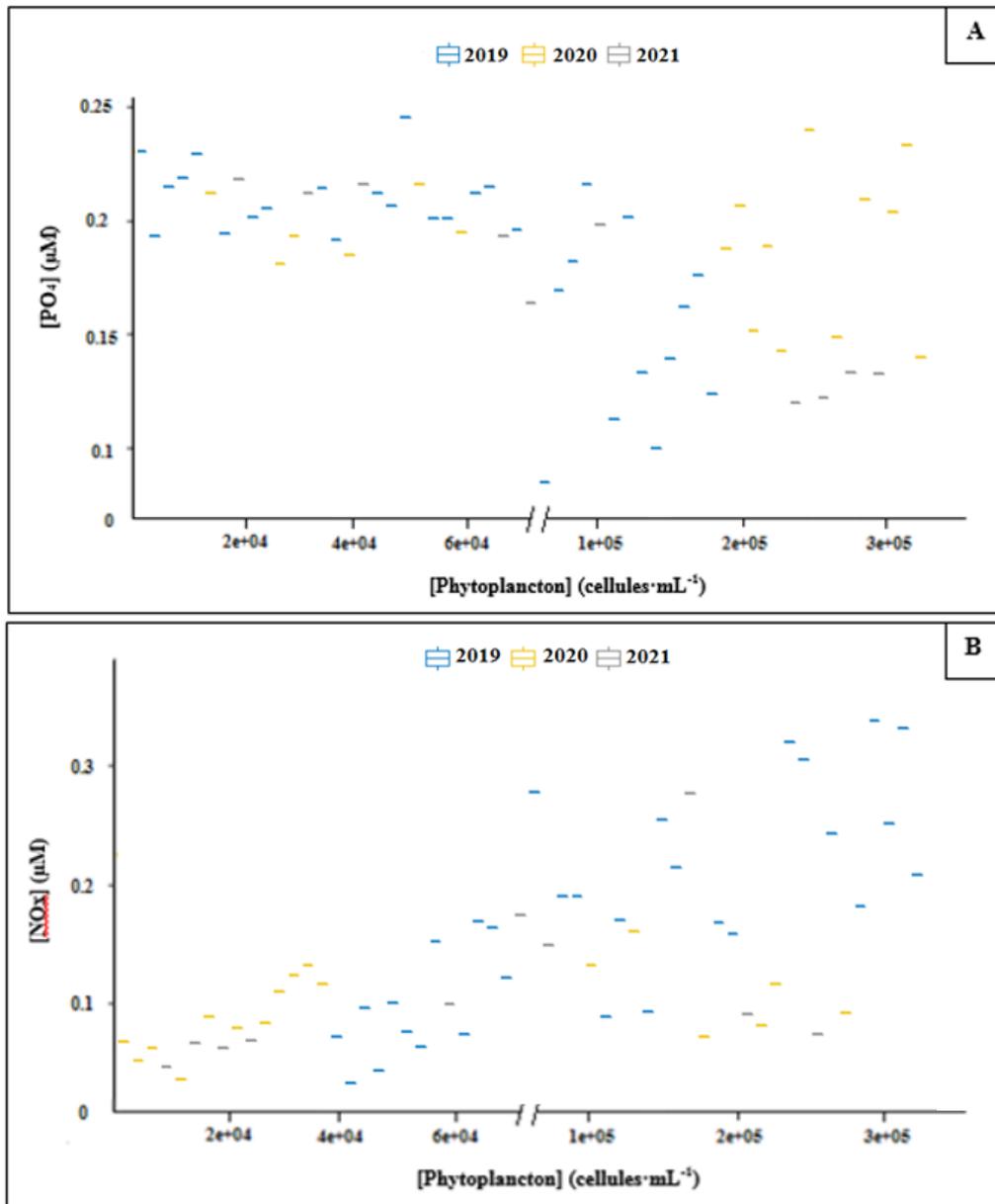


Figure 30. Interaction entre les concentrations en phytoplancton (cellules·mL⁻¹) et les teneurs en phosphates (A) et oxydes d'azote (B) (μM) pour chaque année de mise en culture des éponges.

I. 3. Chlorophylle a

I. 3. 1. Matériels et Méthodes

Un sous-échantillon de 500 ml d'eau de mer était passé sur un filtre Whatman[®] GF/F (porosité 0.7 μm, diamètre 47 mm) en fibres de verre borosilicaté (Herbland *et al.*, 1885 ; Amino & Rey, 2001). La filtration était effectuée directement sur le terrain, de février 2019 à fin mai 2021, au moyen d'une rampe d'entonnoirs Büchner en plastique montés en série et d'une pompe à vide manuelle. Les filtres étaient ensuite placés dans des feuilles d'aluminium à l'abri de la lumière et conservés au congélateur (-20 °C) en attendant d'être analysés au laboratoire de l'UPF.

Une fois l'aluminium retiré, les filtres étaient positionnés dans des tubes à essai de 25 mL dans lesquels 6 ml d'une solution d'acétone 90 % (C₃H₆O) étaient rajoutés. Le contenu de chaque tube était manuellement broyé à l'aide de tiges d'agitation en verre jusqu'à obtenir une dégradation homogène du filtre dans le liquide. Les tubes étaient conservés une nuit à 4 °C, puis centrifugés 15 min sans augmentation de température.

L'étalonnage s'effectuait à l'aide d'un morceau de feuille d'hibiscus broyé et dilué dans 5 mL de C₃H₆O à 90 %. Suite aux mesures en triplicata de blancs (solvant et filtres GF/F propres), des dilutions en série du standard ont été titrées à 664 et 750 nm sur un spectrophotomètre Prim'Light SECOMAM[®]. La teneur en chlorophylle a du surnageant a ensuite été mesurée par un fluorimètre de laboratoire Trilogy[®] (Turner Designs) muni d'un module de fluorescence pour la chlorophylle a non-acidifiée (Chl-NA). La valeur de densité optique (DO) renvoyée par l'appareil était par la suite convertie en concentration (µg·L⁻¹) selon l'équation suivante :

$$[\text{Chl a}] (\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}) = (\text{Fo} - \text{Fb}) / (1000\cdot\text{v})$$

où Fo est la valeur de la DO retournée en unités de fluorescence relative (RFU) par le fluorimètre et corrigée à l'aide de l'équation d'une courbe standard, Fb est la valeur de fluorescence moyenne des 3 blancs d'étalonnage et v est le facteur de dilution entre le volume de solution extraite (ici 6 mL) et l'eau de mer filtrée initialement échantillonnée (ici 500 mL). Les triplicata n'ont été conservés que lorsque l'écart-type ne dépassait pas les 0.01 µg·L⁻¹.

I. 3. 2. Résultats et Discussion

L'évolution des concentrations en chlorophylle a selon les sites est disponible en **Figure 31** ci-dessous. Les moyennes renseignées sont en accord avec de précédentes campagnes de recherche réalisées sur Rangiroa ou d'autres atolls voisins comme Ahe (Andréfouët *et al.*, 2001 ; Pagano *et al.*, 2021). De la même manière que pour les phosphates et les oxydes d'azote précédemment détaillés, une forte différence significative est ici démontrée entre les deux types de biotopes considérés, à savoir récif et lagon (Kruskal-Wallis, P < 0.0001), qui peuvent à nouveau se regrouper. D'après le **Tableau X** ci-après, les teneurs du lagon sont plus élevées que pour les sites de la barrière récifale, comme cela est également renseigné pour la zone nord des Tuamotu (Sournia & Ricard, 1976 ; Rancher & Rougerie, 1995 ; Pagano *et al.*, 2012).

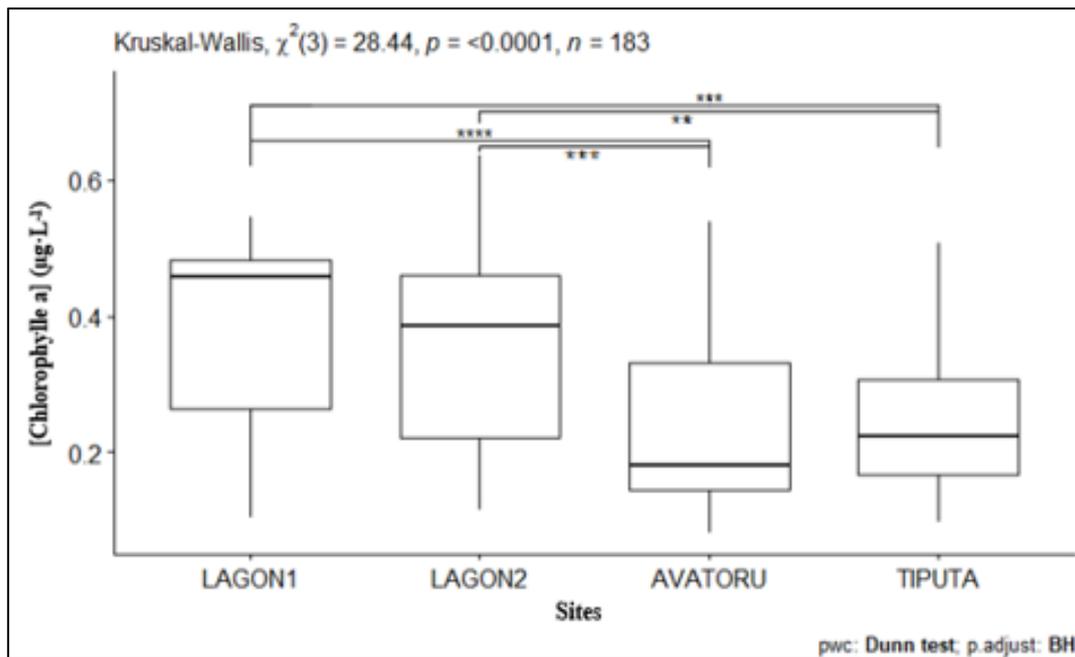


Figure 31. Différences significatives entre les sites de l'étude pour les concentrations en chlorophylle a ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) dans l'eau échantillonnée. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.

Tableau X. Concentrations moyennes ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) en chlorophylle a dans les eaux échantillonnées à chacun des quatre sites de l'étude de février 2019 à mai 2021 (moyennes \pm SD).

	AVATORU	TIPUTA	LAGON 1	LAGON 2
Chlorophylle a	0.24 ± 0.06	0.25 ± 0.05	0.39 ± 0.06	0.34 ± 0.07

La **Figure 32** montre un profil d'évolution des teneurs figurant une hausse notable à partir de la fin de l'année 2019. De fait, les années 2020 et 2021 figurent des valeurs significativement plus élevées qu'en 2019 (Kruskal-Wallis, $P < 0.001$). Si l'on compare les concentrations obtenues à chaque mission de terrain dans le temps, suite à une transformation logarithmique des données, une différence significative est presque systématiquement renvoyée entre les différentes mensualités (Kruskal-Wallis, $P < 0.0001$). Cela dénote une absence de contraste saisonnier au profil récurrent d'une année sur l'autre, comme il en va aux Tuamotu pour ce paramètre environnemental (Pagano *et al.*, 2012). Un décalage temporel entre les sites d'étude est également rapporté à Takapoto pour des pas de temps restreints (i.e. environ 1 mois) (Buestel & Pouvreau, 2000). Toutefois, ces résultats sont à raisonner au regard de l'amplitude des différences ainsi constatée. En effet, les données présentées ici font état de concentrations très faibles comparativement à d'autres latitudes de Polynésie française, comme par exemple l'archipel des Marquises, et dont la pauvreté s'étale depuis la surface jusque vers les - 200 m de la thermocline (Rancher & Rougerie, 1995 ; Maamaatuaiahutapu, 2015 ; Andréfouët & Adjeroud, 2019). Malgré les différences observées, les deux milieux restent ainsi fortement oligotrophes au regard des précédentes analyses en sels nutritifs, de par leur ouverture (i.e. passe d'Avatoru ou grand large) et le renouvellement continu de leur colonne d'eau (Rougerie, 1995).

De la même façon que précédemment démontré avec les sites, les concentrations des eaux extérieures de l'atoll restent temporellement plus faibles que dans le lagon quelle que soit la période ou l'année considérées, contribuant ainsi continuellement à faire diminuer les teneurs

dans les emplacements lagunaires situés aux abords des passes (Rancher & Rougerie, 1995). Cette période de transition post-événement El Niño a vu ses caractéristiques de recrudescence de chlorophylle a se maintenir par une phase La Niña avérée en septembre 2020, ceci jusqu'au retour à des conditions ENSO neutres après mai 2021 (Organisation Météorologique Mondiale, www.public.wmo.int, consulté le 31/01/2022). Les concentrations sont également susceptibles d'être plus élevées durant la saison des pluies par rapport à la saison sèche, comme mis en évidence à Takapoto (Buestel & Pouvreau, 2000). De même que pour le plancton et les sels nutritifs ci-avant présentés, la dynamique des vents présents peut aussi fortement influencer sur les concentrations en chlorophylle a, les plus faibles teneurs ayant été constatées durant les périodes de régimes notablement modérés qui accompagnent l'hiver austral (Records de vent, www.meteo.pf, consulté le 31/01/2022 ; Fournier *et al.*, 2012).

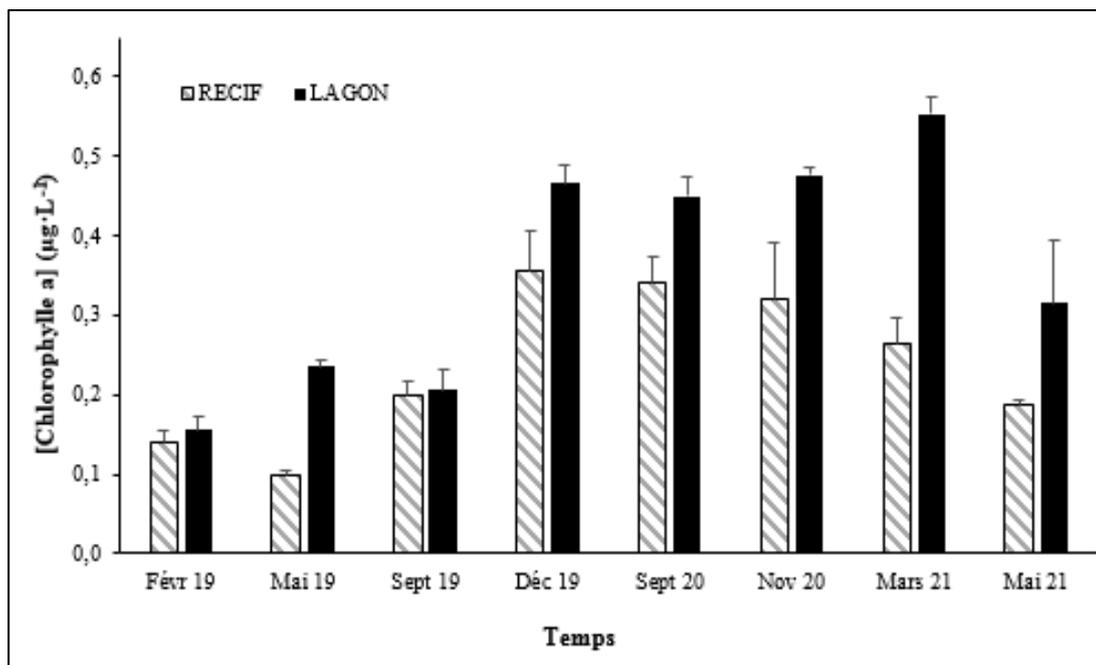


Figure 32. Évolution temporelle des teneurs en chlorophylle a ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) pour les milieux récifal et lagunaire de l'atoll de Rangiroa de février 2019 à mai 2021.

De manière globale, même à ces échelles de valeurs réduites, une disparité des concentrations entre les atolls des Tuamotu existe, figurant parfois des variations de plus d'1:3 d'un lagon à un autre (Charpy & Blanchot, 1997). Ainsi, les autres atolls investigués quant au même paramètre ont révélé des teneurs variant entre 0.09 et $0.55 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Charpy *et al.*, 1997 ; Andréfouët *et al.*, 2001), ce qui se trouve également être le cas pour nos propres résultats. De fortes concentrations à l'intérieur de certains lagons figurant des profondeurs réduites a été démontrée et une explication avancée pourrait concerner la remise en suspension de particules microalgales benthiques par le flux hydrique, comme cela pourrait également se trouver être le cas au site moins profond du **Lagon 1** qui reste davantage soumis au courant que le **Lagon 2** (voir **a**) du **III**).

Nos données pour le milieu récifal présentent des moyennes plus élevées que certaines études faisant état d'une teneur océanique se situant habituellement aux alentours de $0.10 - 0.15 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ pour les 50 premiers mètres de profondeur (Charpy *et al.*, 1997). Toutefois, le positionnement de nos sites d'étude d'**Avatoru** et de **Tiputa** directement sur la barrière

corallienne et non au large permet de les appréhender différemment des stations situées en haute mer. En outre, leur emplacement sur le versant sous le vent de l'atoll (côté ouest des passes) pourrait expliquer cette hausse des valeurs, de par l'existence d'un « effet de lagon » provoqué par la décharge d'eau lagonaire enrichie en pigments chlorophylliens vers la périphérie de l'atoll en période de courant sortant (Bourret *et al.*, 1979 ; Rougerie *et al.*, 1984). De fait, l'existence d'une relation entre le temps de résidence des eaux océaniques dans les lagons et la concentration en chlorophylle a de ces derniers a été observé (Delesalle & Sournia, 1992).

Les pigments chlorophylliens sont souvent considérés comme des proxys de la biomasse phytoplanctonique (Charpy *et al.*, 2012 ; Rodier *et al.*, 2021). Une analyse de variance multifactorielle des teneurs en chlorophylle a et des concentrations en picophytoplancton dans le temps a effectivement révélé une interaction de ces deux paramètres, discriminant entre elles les années 2019 et 2020 ainsi que 2019 et 2021 (ANOVA, $P < 0.001$ et $P < 0.01$ respectivement). On dénote ainsi une relation positive dans les évolutions des deux paramètres, avec une prédominance de teneurs élevées durant les années 2020 et 2021 comparativement à 2019 (Figure 33). De même, pour le biotope, un lien positif fort entre ces facteurs montre une richesse accrue en milieu lagonaire par rapport au récif, ceci surtout pour le phytoplancton quand l'amplitude des teneurs en chlorophylle est plus étendue (ANOVA, $P < 0.0001$).

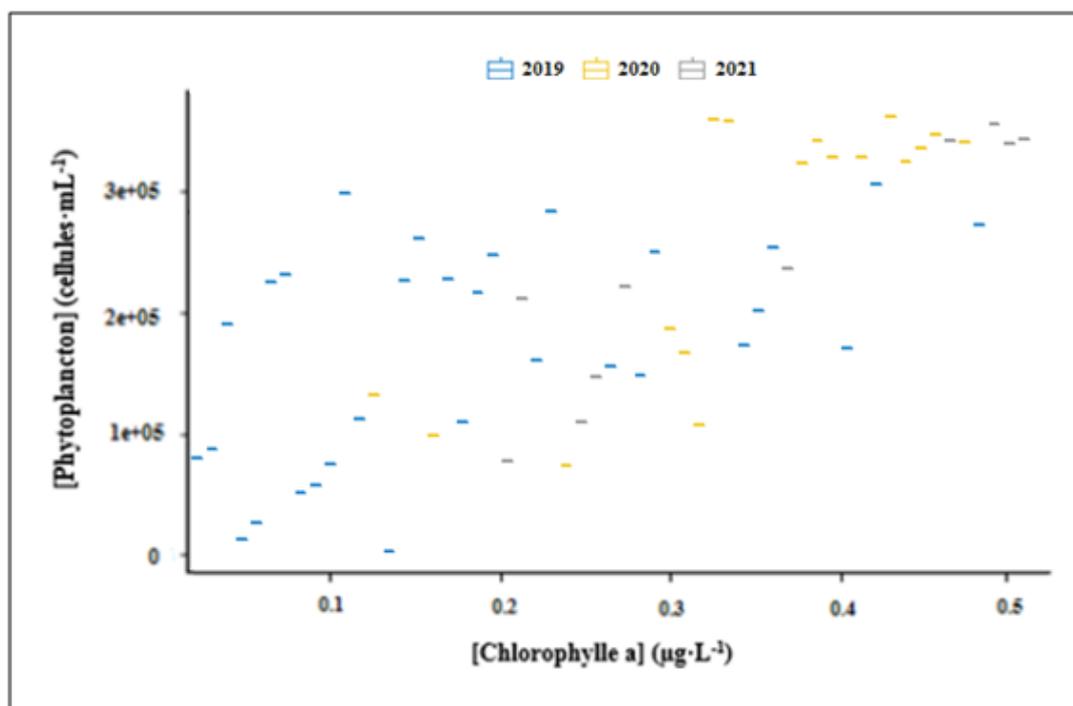


Figure 33. Interaction entre les concentrations en chlorophylle a ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) et en phytoplancton ($\text{cellules}\cdot\text{mL}^{-1}$) pour chaque année de mise en culture des éponges.

Des évolutions similaires entre la chlorophylle a et les sels nutritifs dissous, pour des valeurs situées sous le seuil des $1.5 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de chlorophylle a comme rapportées dans la présente étude, ont précédemment été renseignées (Torréton *et al.*, 1997). Un couplage des teneurs en chlorophylle a et en sels nutritifs entre les années fait ici ressortir une interaction négative des pigments photosynthétiques avec les phosphates, discriminant à nouveau 2019 avec 2020 (ANOVA, $P < 0.0001$) et 2021 (ANOVA, $P < 0.05$). Les deux dernières années figurent en effet de plus fortes concentrations qu'en 2019 pour les deux variables. Aucune corrélation temporelle

ne ressort toutefois avec les nitrates (ANOVA, $P = 0.47$). Ces résultats sont parfaitement conformes à ce qui fut obtenu en testant successivement le lien entre ces deux nutriments et la variable biologique de la chlorophylle a au cours du temps en Nouvelle-Calédonie, également à l'échelle d'un gradient récif-lagon (Jacquet, 2005).

II. SUIVI DES DONNÉES ABIOTIQUES *IN SITU*

Plusieurs paramètres écologiques présentés dans cette partie ont été surveillés en continu grâce au déploiement sur le terrain et à différentes périodes de capteurs électroniques.

II. 1. Courant

À Rangiroa, les principaux types d'échanges existant entre les milieux océanique et lagonaire sont le débordement des vagues par-dessus le platier récifal en période de fortes houles ainsi que les courants sévissant à l'intérieur des deux passes de Tiputa et Avatoru situées sur la façade nord de l'atoll (Guilcher, 1969 ; Michel *et al.*, 1971). Ces mouvements d'eau sont alternativement rentrant et sortant, pénétrant dans le lagon en moyenne 40 % du temps ou refluant vers l'océan pour environ 55 % des échanges. Ils sont séparés, le reste du temps, par une brève période d'étalement (i.e. absence de courant entre deux marées) d'une durée moyenne référencée de 6 h, bien que souvent perturbée (Rougerie & Gros, 1980). Les courants de surface à l'intérieur des passes de Rangiroa ont fait l'objet de précédentes études ayant renseignées des vitesses moyennes d'environ 3 nœuds (i.e. $1.5 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$), avec des maxima pouvant aller jusqu'à plus de 4 nœuds (i.e. $2.0 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) (Michel *et al.*, 1971 ; Bonvallot, 1994).

II. 1. 1. Matériels et Méthodes

La force du courant ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) et sa direction (degrés horaires par rapport au nord) ont été enregistrées à l'aide de courantomètres Marotte HS (Marine Geophysics Laboratory, James Cook University, Australie). Également équipés d'un système d'enregistrement de la température, ces appareils nous ont permis de confirmer les données collectées par les thermoboutons (disponibles au **c**) du **III**). La période des mesures s'étend de septembre 2020 à mai 2021, mis à part pour le site de **Tiputa** où le suivi s'arrête en décembre 2020 suite à la disparition de l'appareil. Les courantomètres furent placés à plus de 3 m de distance des tables de culture, afin d'empêcher le fer utilisé dans leur fabrication de fausser les valeurs de direction du magnétomètre. Les enregistrements étaient effectués toutes les 10 minutes et les données ont par la suite été sommées afin d'obtenir des intensités journalières. Le logiciel MarotteHSCConfig fut utilisé pour l'étalonnage et le traitement des données.

II. 1. 2. Résultats et Discussion

Les données de courantologie à la profondeur de chaque site de culture sont représentées sur les roses des courants disponibles en **Figure 34** ci-dessous. Les vitesses maximales sur la barrière récifale peuvent atteindre près de $36 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ tandis qu'elles ne dépassent jamais les $18 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ pour les sites lagonaire, soit un rapport d'1:2. Les moyennes trimestrielles pour **Tiputa** et **Avatoru** se situent globalement entre 10.5 et $13 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Pour le **Lagon 1**, la moyenne oscille entre 4.2 et $6 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Le **Lagon 2** est le site enregistrant les plus faibles vitesses moyennes de flux hydrique, comprises entre 1.8 et $3.1 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$. Statistiquement, la transformation par mise sous racine carrée des données suivie d'une analyse de variance couplée à un test post-hoc de Tukey pour étudier chaque paire de site entre elle renvoie 4 groupes significativement distincts,

soit 1 site par groupe (ANOVA, $P < 0.05$). On obtient le classement suivant d'intensité croissante : **Lagon 2** < **Lagon 1** < **Avatoru** < **Tiputa**.

À **Tiputa**, où l'amplitude temporelle d'enregistrement est restreinte de 6 mois par rapport aux trois autres sites, la vitesse et la périodicité moyennes des flux sortants est légèrement plus importante qu'en courant rentrant. Sur un plus long suivi, ce phénomène se retrouve bien plus marqué à **Avatoru** et pour les deux sites lagunaires. Ces résultats confirment des observations antérieures de disparités des vitesses maximales, mais également des durées, entre les courants entrant et sortant avec l'exemple d'une station prise à l'intérieur de la passe d'Avatoru figurant un écart moyen de plus de $30 \text{ cm}\cdot\text{s}^{-1}$ entre les deux configurations (Rougerie & Gros, 1980).

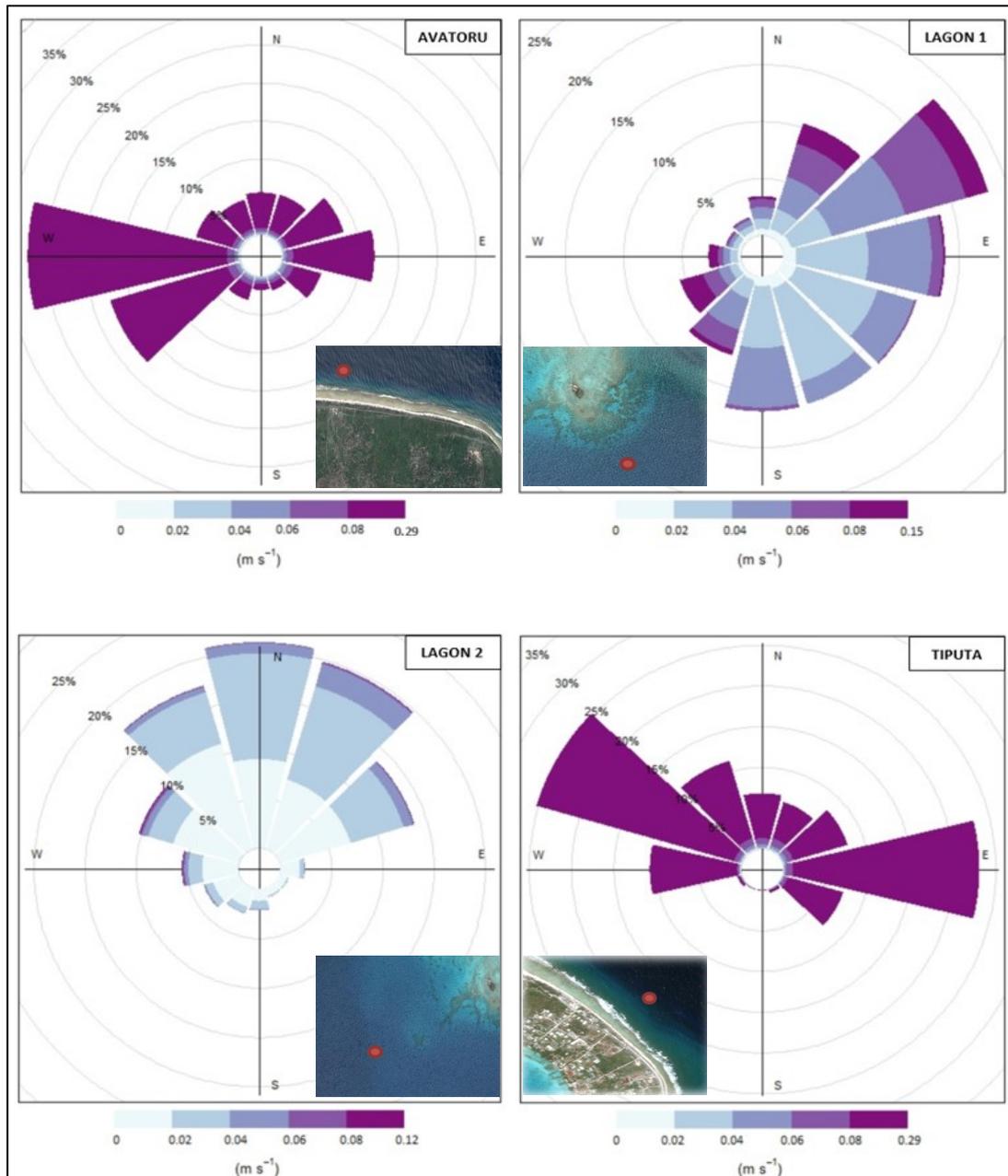


Figure 34. Vitesse et direction du courant aux quatre sites de culture. Les valeurs sont rassemblées selon les axes de direction NS et WE et des arcs de fréquence (%). Une cartographie satellites des abords du site est représentée sur chaque graphique de même que les échelles de vitesse des flux (m s^{-1}).

Pour les sites lagunaires, on observe que les directions sont régies par les flux entrant et sortant de la passe avoisinante d'Avatoru. De même, elles sont impactées par la présence de hauts-fonds, parfois surplombés de petits îlots lagunaires (ou *motus*), comme c'est le cas pour la partie centrale de ladite passe avec l'existence des motus Fara et Kaveu. On observe de fait pour le site **Lagon 2** l'absence d'influence du courant rentrant de la passe à cause de sa position par rapport au motu Kaveu. Ce relief ne permet, aux abords de la zone, qu'un flux unidirectionnel provenant de l'intérieur du lagon (orientation nord) et associé à de faibles vitesses relatives.

Pour l'externe, les mouvements des masses d'eau provenant du large et confrontées à la géomorphologie de la barrière récifale de l'atoll expliquent les tendances observées. Ainsi, à **Avatoru**, la dynamique du flux se décline selon un axe est/ouest car la passe du même nom est orientée plein nord. À **Tiputa**, dont l'entrée de la passe adjacente bifurque légèrement au nord/est, le flux suit là encore les courbes de la barrière récifale avec une direction ouest-nord-ouest/est.

La forte disparité des vitesses et des directions du courant entre le récif barrière et le lagon conduit naturellement à envisager une forte influence de ce paramètre pour l'adaptation de *Dactylospongia metachromia*. Cette hypothèse est renforcée par une observation *in situ* de véritables tapis benthiques de cette espèce dans la passe de Tiputa, où sévissent des courants encore bien plus puissants que sur les pentes récifales car renforcés par le profil de cuvette naturelle de la passe (Rougerie & Gros, 1980). Des corrélations ont déjà été établies chez certaines éponges entre l'aspect plutôt érigé ou au contraire encroûtant de l'organisme et la courantologie présente, respectivement modérée ou bien plus forte (Bell & Barnes, 2000 ; McDonald *et al.*, 2002 ; Abdo *et al.*, 2006). Le courant est un paramètre-clé à raisonner selon l'espèce considérée et sa zone de croissance de prédilection, car il peut se révéler délétère pour des organismes préférant les eaux plus calmes (Duckworth *et al.*, 1997). Pour notre modèle d'étude, cette composante hydrique apparaît comme un facteur prédominant dans le choix de zones favorable à la spongiculture en milieu insulaire.

II. 2. Lumière

Les variations saisonnières d'intensité lumineuse dans l'hémisphère sud figurent notablement une réduction d'ensoleillement pendant la saison sèche ou fraîche. Ces disparités sont susceptibles d'influer sur la production primaire de l'écosystème marin, de par la corrélation significative de l'énergie lumineuse incidente ($E \cdot m^{-2}$) avec la productivité du phytoplancton et autres microorganismes photosynthétiques (Charpy & Roubaud-Charpy, 1990 ; Harbaugh, 2000). La luminosité diminuant en outre avec la profondeur et la turbidité du milieu, des mesures effectuées dans le lagon de Tikehau aux Tuamotu ont parfois révélé que seulement 17 % de l'énergie lumineuse de surface atteignait les 25 m de fond, soit la profondeur moyenne du lagon de cet atoll (Charpy-Roubaud & Charpy, 1994 ; Grenz *et al.*, 2021). Le besoin d'étudier l'incidence ce facteur sur les communautés marines benthiques est notamment reflété par la forte influence de la stabilité globale du milieu sur ces organismes et leur holobionte (Gao *et al.*, 2012 ; Edmunds, 2012 ; Tavakoly Sany *et al.*, 2014).

II. 2. 1. Matériels et Méthodes

Des capteurs d'intensité lumineuse (HOBO Water Temp Pro v2 U22-001, Prosensor, France) ont été placés directement sur les cadres des tables culture lors de trois sorties de terrain consécutives en septembre 2020, décembre 2020 et février 2021. Les enregistrements étaient

effectués toutes les heures. Nous avons utilisé le logiciel HOBOWare pour l'étalonnage et le traitement des données, qui ont été regroupées pour leur analyse en moyennes journalières d'intensité lumineuse. Ces moyennes concernent uniquement les tranches horaires de « véritable » ensoleillement, c'est-à-dire pour lesquelles des valeurs autres que nulles étaient retournées. Lesdites tranches horaires sont comprises entre 5 h et 17 h en saison sèche et entre 6 h et 18 h en saison chaude (GMT -10:00).

Un dysfonctionnement du capteur laissé au **Lagon 2** entre septembre 2020 et novembre 2020 nous conduit à présenter pour ce site des valeurs enregistrées uniquement sur la période de décembre 2020 à février 2021.

II. 2. 2. Résultats et Discussion

D'après la **Figure 35** ci-dessous, une forte différence significative d'ensoleillement existe entre les sites sur la période analysée (Kruskal-Wallis, $P < 0.0001$). **Tiputa** apparaît comme le site le plus ensoleillé, avec une moyenne de 5 891 lux pour un maxima s'élevant à 26 178 lux. Pour **Avatoru**, on obtient respectivement 3 947 et 15 156 lux tandis qu'au **Lagon 1** les valeurs s'élèvent à 3 195 et 10 678 lux. Le site du **Lagon 2** est le moins éclairé, avec une moyenne de seulement 1 099 lux pour un maxima à 5 167 lux.

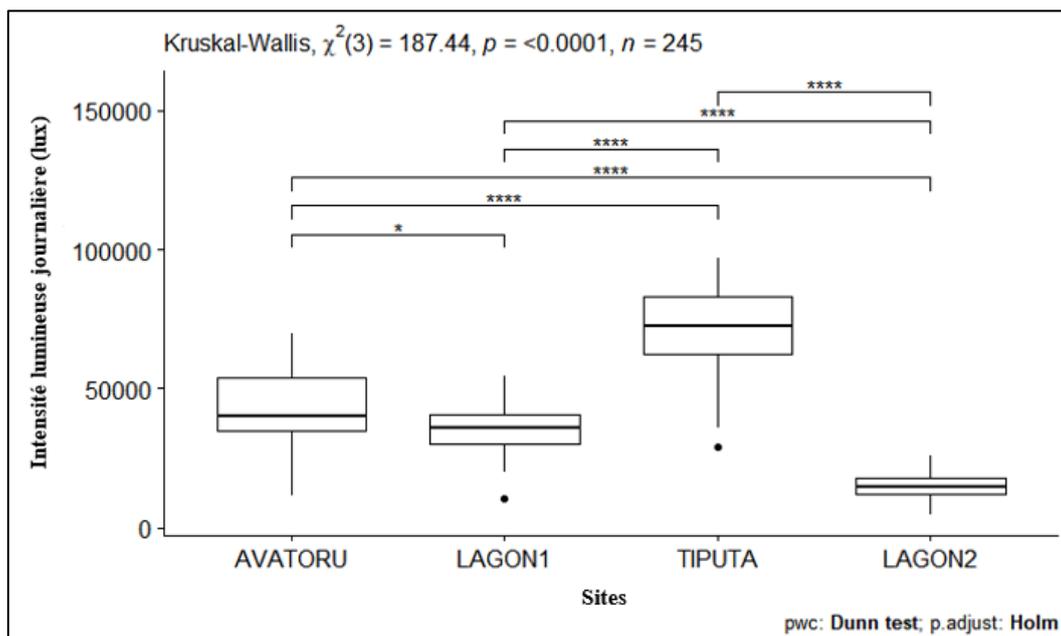


Figure 35. Différences significatives entre les sites de l'étude pour l'intensité lumineuse journalière (lux). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.

Ces constatations et disparités importantes pourraient, de la même manière que pour le courant ci-avant, contribuer à expliquer certaines différences en termes de performances de culture des explants au niveau de chaque zone de culture. En effet, la lumière est susceptible d'impacter la reproduction, la propagation larvaire et la croissance de l'éponge ou encore d'affecter son degré d'encrassement biologique par des organismes colonisateurs (Kaandorp & de Kluijver, 1992). Cela fut précédemment conjecturé chez plusieurs espèces comme *Psammocinia hawere* (Duckworth *et al.*, 1997) et *Dysidea avara* (Osinga *et al.*, 1999 et 2010). En outre, l'intensité lumineuse affecte les communautés microbiennes photosynthétiques hébergées par le spongiaire et a par conséquent un effet sur la productivité primaire nette de ce dernier (Wilkinson, 1983). Cet effet, qui n'est pas toujours bénéfique, semble varier selon

l'espèce et la zone géographique concernée (Wilkinson & Vacelet, 1979 ; Jokiel, 1980 ; Wilkinson & Evans, 1989 ; Osinga *et al.*, 1999 ; Abdo *et al.*, 2006).

II. 3. Température

Au niveau mondial, les 75 premiers mètres de profondeur du milieu océanique ont connu une hausse de 0.44 °C ces quarante dernières années (Lough *et al.*, 2011). Cette tendance au réchauffement planétaire des eaux devrait continuer de se poursuivre au fil du XXI^{ème} siècle (Pörtner *et al.*, 2019). Au nord des Tuamotu, une variation thermique de 2 à 3 °C au sein des lagons est constatée entre les saisons fraîche et sèche, avec une diminution progressive des températures océaniques de surface le long d'un gradient sud-est au sein de l'archipel (Pichon, 2019 ; Sangare *et al.*, 2020). La moyenne, située aux alentours de 28.5 °C et se révélant homogène jusqu'à 50 m de profondeur, comprend des minima et maxima respectifs de 26 °C en août et 30 °C en mars (été austral) susceptibles de se trouver modifiés par les événements ENSO (Charpy *et al.*, 2012 ; van Wynsberge *et al.*, 2020 ; Grenz *et al.*, 2021). À une échelle plus restreinte, les mouvements d'eau à travers la couronne récifale de l'atoll engendrent des disparités thermiques journalières parfois significatives (Pagano *et al.*, 2017). Les effets de ces modifications subites sur le benthos récifal restent globalement peu connus, car inconsistants à travers le Pacifique comme démontré pour le recrutement larvaire des coraux (Edmunds, 2017).

II. 3. 1. Matériels et Méthodes

À chaque site, un enregistreur de données de température de type thermobouton (iBee 22L Thermo Button, Plug and Track, Proges Plus, France) a été directement fixé sur l'une des tables supportant les explants pour sauvegarder les variations saisonnières à 0.1 °C toutes les heures. Lors de chaque sortie sur le terrain de septembre 2019 à début juin 2021, les quatre capteurs étaient retirés de l'eau et remplacés par d'autres nouvellement étalonnés. Le logiciel ThermoTrack PC V8 fut utilisé pour le paramétrage des appareils et le traitement des données.

II. 3. 2. Résultats et Discussion

Les températures océaniques moyennes obtenues à partir des enregistreurs de données sont disponibles en **Figure 36** ci-dessous. Dans l'ensemble, la saison sèche a été plus fraîche en 2020 par rapport à 2019, ce qui est en cohérence avec l'apparition du phénomène La Niña (Organisation Météorologique Mondiale, www.public.wmo.int, consulté le 31/01/2022). Ainsi, une différence de plus de 0.5 °C peut être remarquée entre les pics de chaleur de 2020 par rapport à 2021, année pour laquelle les maxima arrivent en outre bien plus tardivement. Statistiquement, une analyse de variance suivie d'un test post-hoc de Tukey n'a montré aucune différence significative en ce qui concerne les relevés de température entre les différents sites de culture pour l'ensemble de la période considérée (ANOVA, P = 0.22). Les enregistrements ont ainsi varié de la même manière dans les 4 localités au cours de la période de suivi, avec une différence globale moyenne de 0.5 °C entre la barrière récifale et les zones lagonaires se trouvant être légèrement plus chaudes. L'évolution similaire démontrée pour ce paramètre nous permet de supposer ici l'absence d'un facteur-clé au regard des disparités dans les résultats de survie et de croissance précédemment illustrés (voir **Chapitre III**).

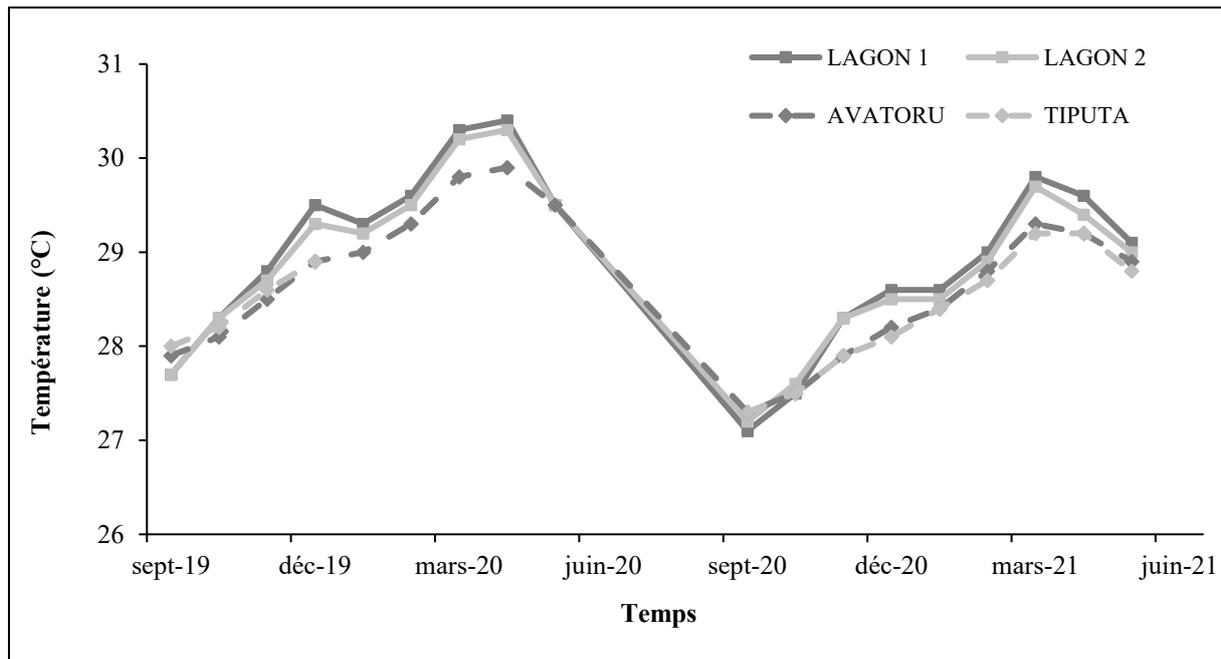


Figure 36. Températures (°C) enregistrées aux quatre sites de culture entre les mois de septembre 2019 et mai 2021.

L'amplitude thermique quotidienne sur la barrière externe peut atteindre près de 1 °C (**Annexe 8**). Ce fait est principalement dû à la libération d'eau chaude se trouvant soit piégée sur le platier récifal très exposé, soit à l'intérieur des nombreux chenaux peu profonds traversant l'atoll (nommés *hoa*) (Dumas *et al.*, 2012). Une autre influence pourrait provenir de la remontée océanique côtière d'eaux froides et profondes. Toutefois, pour les îles tropicales du Pacifique, ce phénomène se révèle principalement épisodique dans l'accompagnement de dérives d'eaux équatoriales (Charpy *et al.*, 1997). L'upwelling en eaux libres à ces latitudes semble en effet entravé par la prévalence d'une couche d'eau chaude stable sur les premiers mètres de profondeur, ce qui assure une stratification oligotrophe permanente (Rougerie *et al.*, 1997b). Un phénomène beaucoup plus localisé d'entraînement sous-jacent de l'eau froide pourrait cependant être occasionné par l'action des courants à l'intérieur des passes (Michel *et al.*, 1971). De même, des remontées d'eau profonde dans les lagons polynésiens causées par les alizés dominants ont été démontrées, avec des implications dans les changements thermiques observés à l'intérieur des atolls (Dumas *et al.*, 2012 ; Rodier *et al.*, 2021). Ces observations prendraient part à expliquer certaines évolutions brutales de température dans le lagon de Rangiroa relevées par nos instruments, par rapport à une évolution générale passablement linéaire (**Annexe 9**).

II. 4. Mesures complémentaires : oxygène, salinité, solides dissous, pH

Des analyses de salinité dans plusieurs atolls des Tuamotu tels que Tikehau et Ahe ont démontré une homogénéité verticale des teneurs dans la colonne d'eau, avec une légère augmentation non significative parfois mise en évidence en milieu océanique comparativement aux passes et stations lagunaires (Charpy *et al.*, 2012 ; Pagano *et al.*, 2017). Les alternances de courants depuis l'océan ouvert engendrent des disparités journalières, avec des valeurs inférieures à 35 PSU en courant sortant par opposition à près de 36 PSU mesuré en période d'étale et de courant entrant. Cependant, la variation de salinité de surface s'explique essentiellement par les différences de précipitations entre les saisons fraîche et chaude, rendant l'évaporation excédentaire en périodes de faibles pluies (Delesalle *et al.*, 1985). Les plus fortes

salinités sont généralement obtenues en mai, soit en début d'hiver austral, tandis que le mois d'octobre figure les moyennes les plus basses.

L'oxygène dissous, de même que le pH, ne semblent pas non plus présenter de stratification ni verticale ni entre les stations échantillonnées à l'échelle d'un atoll (Pagès & Andréfouët, 2001). L'oxygénation des masses d'eau se révèle très efficace, pouvant facilement atteindre une saturation supérieure à 97 % (Grenz *et al.*, 2021). Ceci reflète les temps relativement faibles de séjour de l'eau à l'intérieur des lagons et les masses d'eau entrantes bien souvent modestes au regard des volumes de ces derniers.

II. 4. 1. *Matériels et Méthodes*

Une sonde multi-paramètres submersible AquaSonde-5000 (Aquaread, SDEC, France) a été déployée dans chacun des sites de septembre 2019 à fin mai 2021. Le dispositif était utilisé au début des immersions pour éviter aux mouvements des plongeurs d'interférer avec les variables environnementales, en particulier pour les sites lagunaires au substrat fortement sablonneux. L'appareil était laissé pendant plusieurs minutes à des profondeurs distinctes pour l'acquisition de paramètres complémentaires à ceux présentés ci-avant. L'étalonnage de chaque électrode était effectué en laboratoire selon les recommandations du fabricant. Le logiciel SondeLink-PC fut utilisé pour les paramétrages et le traitement des données post-enregistrements.

Les résultats ont été regroupées par type de milieu, à savoir récifal et lagunaire, afin d'analyser une éventuelle disparité des valeurs entre ces deux configurations environnementales. Les mesures présentées ici concernent l'oxygène dissous (DO, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), la salinité (Practical Salinity Unit ou PSU) et les solides dissous totaux (TDS, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Des données sur le pH sont également renseignées, toutefois l'amplitude qu'elles recouvrent est bien plus restreinte pour cause d'électrode défectueuse et ne s'étale que sur 3 mois seulement (i.e. mars à mai 2021).

II. 4. 2. *Résultats et Discussion*

Tout d'abord, on constate sur la **Figure 37** ci-dessous une relation inverse, moyennant un ajustement de quelques mois, entre l'évolution de la solubilité de l'oxygène dans l'eau de mer et de la salinité.

L'évolution de DO est identique pour les deux milieux, avec une diminution progressive de 7.25 à 6.25 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en moyenne entre septembre 2019 et novembre 2020 suivie d'une hausse qui se stabilise à nouveau autour de 7.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ entre mars et mai 2021. De manière générale, l'archipel des Tuamotu présente un haut niveau d'oxygénation dans la colonne d'eau, aussi bien en milieu océanique que lagunaire et ceci malgré le caractère très fermé de certains atolls (Rougerie, 1979 ; Rancher & Rougerie, 1995). Les valeurs moyennes à Rangiroa renseignées ici figurent de hauts pourcentages de saturation permanents (entre 96.5 et 106 % pour le récif et de 98.8 à 108.4 % pour le lagon), ce qui reflète un brassage actif à proximité des deux sites lagunaires de cette étude de même qu'une production primaire excédentaire au regard des besoins en oxygène des organismes dans les processus de respiration et de dégradation de la matière organique.

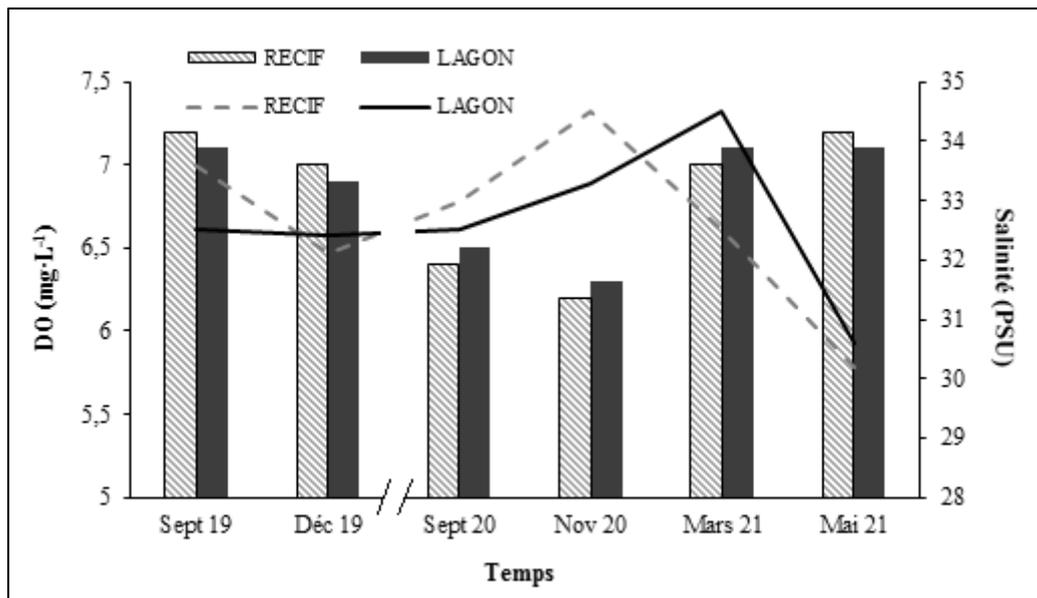


Figure 37. Évolution de l'oxygène dissous (histogramme, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) et de la salinité (courbes, PSU) dans l'eau de mer du récif barrière et du lagon de Rangiroa entre septembre 2019 et mai 2021.

Concernant maintenant la salinité, elle évolue également de façon similaire entre les deux biotopes (Kruskal-Wallis, $P = 0.27$), avec un léger décalage en phase d'augmentation dont le même pic de 34.5 PSU est atteint 3 mois plus tôt en milieu récifal (fin novembre 2020) comparativement au lagon (début mars 2021). De septembre 2019 à mars 2021, la salinité dans le lagon présente une évolution plus linéaire que pour le récif. Cependant, il est à noter une chute relativement brutale de mars à mai 2021 en milieu lagonaire, comme écho à celle précédemment initiée pour les sites de la barrière récifale au début de la saison des pluies (novembre 2020). Cette diminution se corrélant de surcroît avec le démarrage d'un épisode La Niña, un bilan accru en précipitations qui supplanterait l'évaporation naturelle à ce stade pourrait partiellement expliquer cette tendance (Rougerie, 1979 ; Gouriou & Delcroix, 2002). Un décalage notable dans les évolutions de la salinité du fait des conditions ENSO a précédemment été démontré en Nouvelle-Calédonie (Magnen, 2010). Toutefois, le bilan des organismes météorologiques pour la saison chaude 2020-2021 fait état en Polynésie française d'une sécheresse prononcée et d'une absence de phénomène cyclonique, soit un déficit de pluie généralisé (Bilan Météo-France, www.meteo.pf, consulté le 27/01/2022). Il apparaît donc que d'autres facteurs d'influence soient en jeu. L'action des courants peut par exemple engendrer des déplacements des fronts de salinité, de même que des nappes d'eau fraîches altérant les températures de surface, ceci surtout en période ENSO où des dynamiques anormales de courantologie sont davantage observées qu'en régime neutre (Gouriou & Delcroix, 2002). Ces changements sont amplifiés à proximité des côtes comparativement au grand large.

Les valeurs obtenues aux mois de septembre 2019 et 2020 sont identiques pour les deux environnements, cependant l'aspect saisonnier ne s'étend pas au-delà du fait d'une augmentation des moyennes à l'horizon de la fin d'année 2020 contrairement à l'année précédente. De fait, on observe sur la **Figure 38** une hausse notable des résultats en 2020, ce qui engendre une différence significative avec l'année 2021 pour laquelle les mesures sur la période de janvier à fin mai sont nettement inférieures (Kruskal-Wallis, $P < 0.01$). Une hausse de salinité pourrait être due au même processus d'endo-upwelling précédemment suggéré quant aux apports variables en sels nutritifs à travers la barrière récifale (Rougerie, 1979). Par la suite,

de forts épisodes d'alizés durant la saison chaude contribueraient de façon légèrement décalée dans le temps, comme cela se trouve être le cas ici, à l'augmentation progressive du taux de sel en milieu lagunaire. Il est également à noter l'influence de la « Pacific Decadal Oscillation » (PDO), qui engendre des altérations de salinité pouvant se révéler importantes (près d'1 PSU) lors de ses changements de phase (Magnen, 2010). La variabilité climatique mensuelle élevée de ce phénomène en fin d'année 2019, renseignant le passage d'un régime positif en septembre 2019 à une phase négative en octobre 2019 qui redevient nulle en décembre 2019, coïncide justement avec la période d'altération notable comparativement à la fin d'année 2020 (National Oceanic and Atmospheric Administration, www.ncdc.noaa.gov, consulté le 27/01/2022).

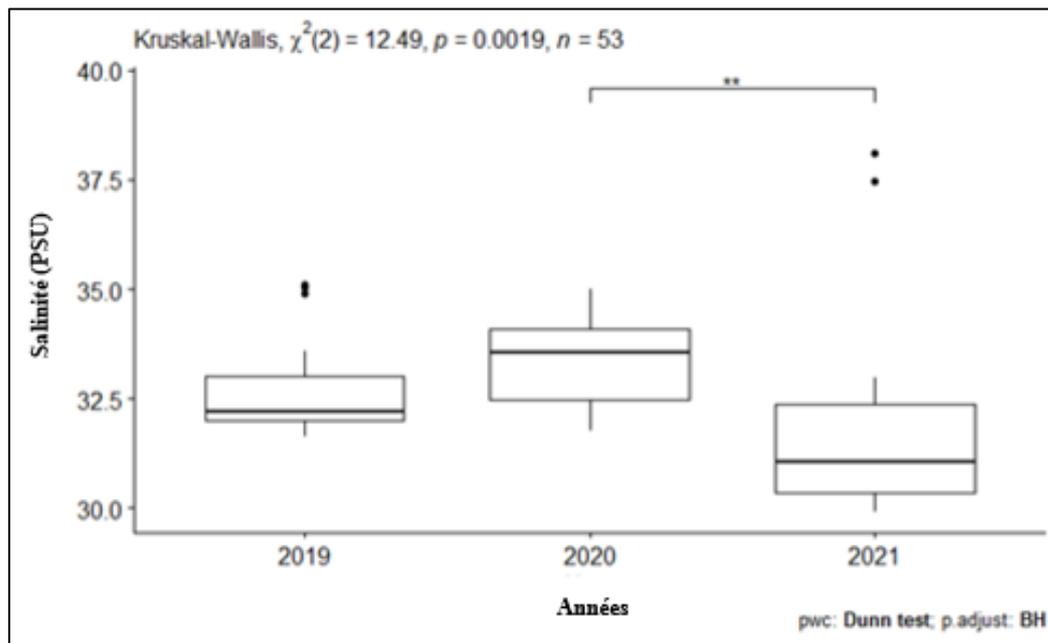


Figure 38. Différences significatives entre les différentes années de suivi de la salinité (PSU). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.

Dans un troisième temps, la **Figure 39** ci-après nous renvoie la comparaison des profils d'évolution des solides dissous totaux entre les sites de la barrière récifale et les sites lagunaires. On peut observer une assez forte disparité des concentrations à l'horizon du début de la saison sèche plus fraîche, avec des teneurs plus faibles au mois de mai 2021 (30 235 et 30 580 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ respectivement pour le récif et le lagon) comparativement aux moyennes renseignées 3 mois plus tôt pour le mois de mars (32 303 et 34 059 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). La **Figure 40** montre effectivement des valeurs significativement plus faibles sur le premier semestre 2021 comparativement aux résultats du dernier trimestre de l'année précédente (Kruskal-Wallis, $P < 0.01$).

L'usage anthropique des terres, notamment à travers l'exploitation agricole de parcelles agraires, contribue à enrichir le sol en éléments nutritifs partiellement représentés par les TDS (Chang, 2014). Cet ensemble d'ions et de matière organique dissoute se retrouve également en fortes concentrations dans les eaux souterraines par ruissellement, lixiviation et drainage (Cooper *et al.*, 1995 ; Duwig, 1998 ; Linsley & McEwan, 1998 ; Terry, 1999). La faible élévation des atolls comparativement aux îles hautes favorise la stagnation de ces ions qui, outre le fait d'être impactés en cas d'occupation humaine du territoire, revêtent également une origine naturelle biotique ou abiotique (i.e. chlorure de sodium marin, carbonate de calcium corallien) (Muselli *et al.*, 2021). Sur Rangiroa, l'existence de parcelles viticoles à proximité de notre site d'étude d'**Avatoru** aurait donc pu avoir une influence directe de par les rejets des épandages

dans le milieu océanique, surtout en saison des pluies. Toutefois, les évolutions restent très similaires entre les deux biotopes lagonaire et récifal et les moyennes ne sont pas significativement différentes au seuil de 5 % (Kruskal-Wallis, $P = 0.83$). Cela dénote pour ce paramètre une absence de réel contraste susceptible d'être relié aux dissimilarités de survie et de croissance des explants observées entre les deux milieux.

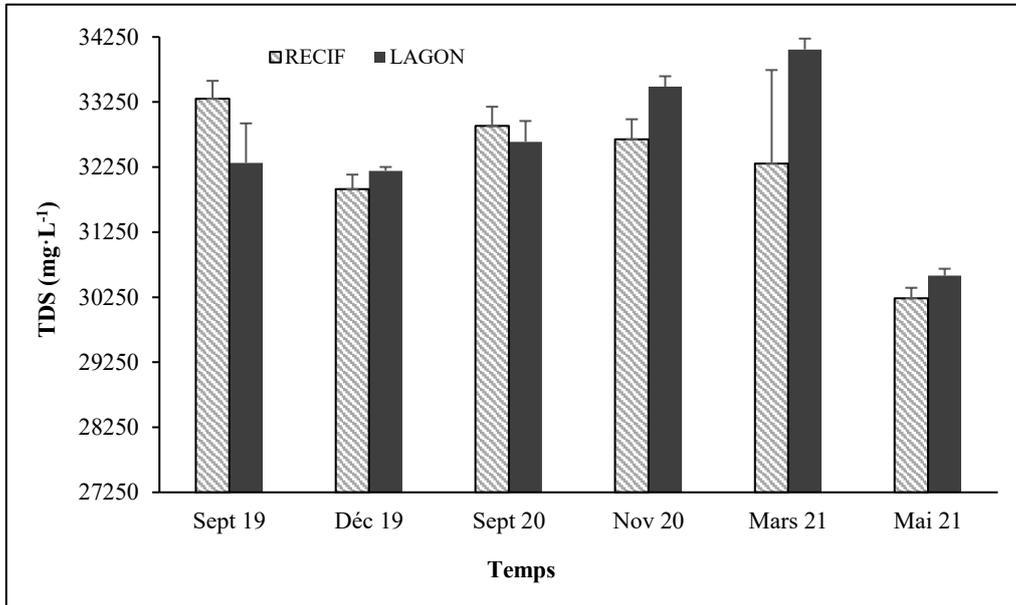


Figure 39. Évolution des solides dissous totaux ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) dans l'eau de mer du récif barrière et du lagon de Rangiroa entre septembre 2019 et mai 2021.

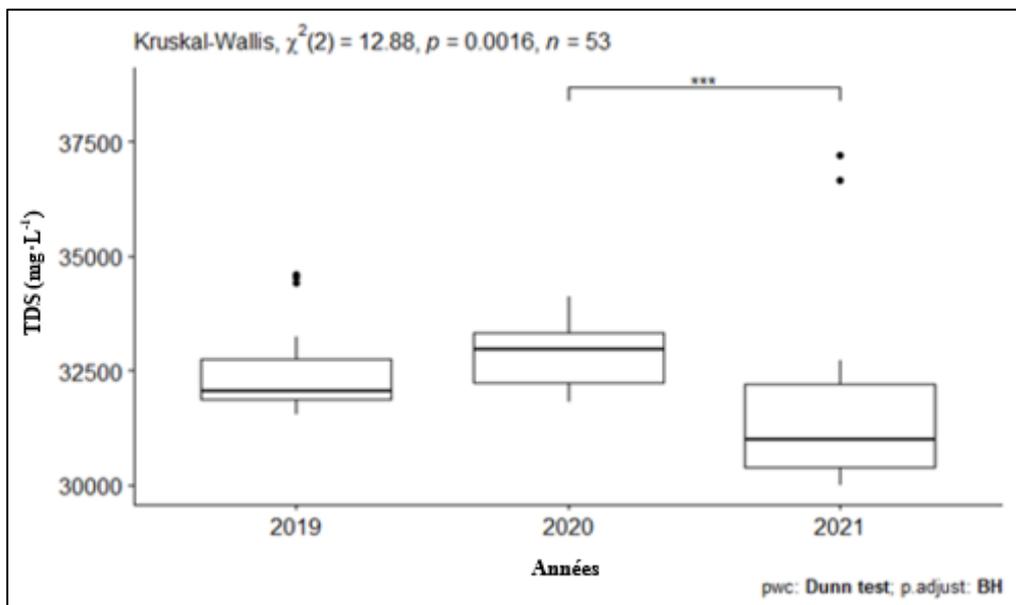


Figure 40. Différences significatives entre les différentes années de suivi des solides dissous totaux ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.

Enfin, le **Tableau XI** ci-dessous affiche les valeurs du pH aux 4 sites d'étude. On observe que les résultats au site de **Tiputa** sont inférieurs aux moyennes trouvées dans chacun des trois autres sites aux deux périodes de mesure considérées. Aucune différence statistique notable entre les sites n'est retournée (Kruskal-Wallis, $P = 0.209$) (**Figure 41**). En revanche, une

distinction entre les deux périodes de mesure est révélée (Kruskal-Wallis, $P < 0.01$), avec une plus forte acidité en mai qu'en mars 2021 pour tous les sites. Dans un contexte de changement global, étant donné que l'acidification à large échelle s'accompagne d'une hausse généralisée des températures océaniques, des auteurs ayant étudié l'impact de ces deux paramètres sur les éponges concluent à une plus forte incidence du facteur thermique (Bennett *et al.*, 2017). Si le pH est un paramètre à considérer pour l'optimisation du procédé d'aquaculture, cela est surtout vrai dans le cadre d'expérimentations *in vitro* où l'évolution défavorable des paramètres peut engendrer de rapides manifestations dans les populations cultivées du fait d'un espace restreint plus ou moins fortement occupé (Duckworth, 2009). En outre, les optima sont spécifiques et donc difficiles à appréhender, surtout dans le cas présent d'une espèce récifale dont l'environnement est jugé stable et fort peu sujet aux évolutions brutales de pH. Ces mêmes espèces cultivées en aquarium seraient de fait plus enclines à développer un stress physiologique important en cas de différenciation notable de ce paramètre avec les conditions naturelles qu'elles rencontrent dans leur milieu. De telles perturbations peuvent par exemple provoquer des déficiences immunitaires chez le spongiaire, notamment pour ce qui a trait au renouvellement cellulaire (i.e. agrégation et perméabilité des cellules amoindries) ou la production de métabolites secondaires (Philp, 1997 ; Pita *et al.*, 2018). Cette observation est intéressante dans le cas où de plus amples études sur l'aquaculture de *Dactylospongia metachromia* passent par une phase d'expérimentation en bassin.

De plus, le consortium bactérien qui accompagne l'éponge est susceptible de varier en s'adaptant au contexte géographique et environnemental, comme par exemple lors d'anomalies thermiques avérées ou d'une acidité accrue (Fan *et al.*, 2013 ; Kiran *et al.*, 2018 ; Botté *et al.*, 2019). Les communautés holobiontes des éponges marines, pouvant parfois compter pour 50 % de la biomasse de l'organisme, sont effectivement connues pour leur résistivité et leur grande adaptabilité, notamment face aux variations de salinité et de pH (Menezes *et al.*, 2010 ; Kiran *et al.*, 2018 ; Pita *et al.*, 2018 ; Voolstra & Ziegler, 2020). Ces changements seraient dès lors susceptibles d'entraîner une meilleure compétitivité spatiale des éponges face à d'autres organismes benthiques récifaux, comme par exemple les coraux (Goodwin *et al.*, 2014 ; Morrow *et al.*, 2015). Des épisodes de prolifération massive d'éponges envahissantes, provoquant au passage le déclin des populations coralliennes, ont d'ailleurs été reliés au phénomène planétaire d'acidification des océans (Bell *et al.*, 2013 ; Powell *et al.*, 2014). Au contraire des éponges calcaires pouvant se retrouver affectées par une diminution de pH (i.e. nécrose tissulaire conduisant à la mort de l'organisme), certaines éponges siliceuses et démosponges comme peut-être *Dactylospongia metachromia* se trouveraient davantage favorisées par un tel contexte environnemental (Smith *et al.*, 2013 ; Posadas *et al.*, 2022). Grâce à l'interaction qu'elles développent avec leur microbiote, les éponges compteraient de fait parmi les organismes benthiques les plus susceptibles de survivre au changement climatique global (Bell *et al.*, 2018).

Tableau XI. Moyenne du pH pour les quatre sites d'étude aux deux périodes de suivi du premier semestre 2021.

	AVATORU	TIPUTA	LAGON 1	LAGON 2
mars 2021	8.23	8.18	8.23	8.23
mai 2021	8.19	8.09	8.17	8.16

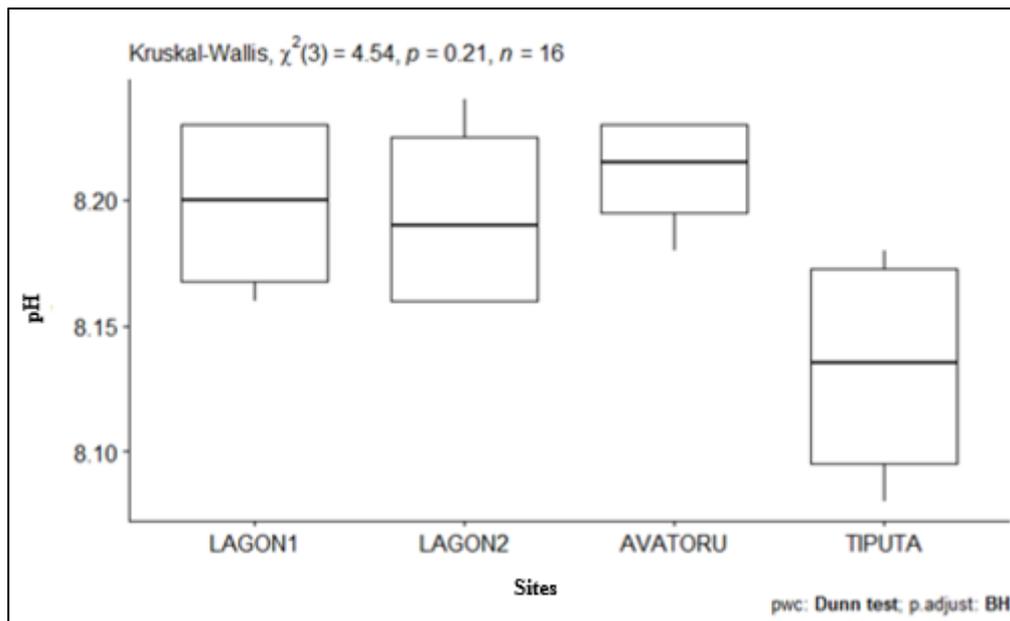


Figure 41. Différences significatives entre les différents sites de l'étude pour les valeurs du pH. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.

III. CORRÉLATIONS AVEC LA SURVIE ET LA CROISSANCE

III. 1. Survie

Les taux de survie tous sites confondus ont été regroupés en moyennes annuelles afin d'éviter de trop nombreuses combinaisons deux à deux recouvrant l'intégralité de la période de suivi et susceptibles de masquer d'importantes tendances. Si l'on s'intéresse aux évolutions présentées sur la **Figure 42** ci-dessous, on constate après analyse statistique que les performances obtenues entre 2019 et 2020 (respectivement 56.9 % et 75.2 % d'explants survivants) sont significativement différentes (Fisher, $P < 0.05$). Un épisode massif de biofouling affectant les explants situés aux sites externes de **Tiputa** et d'**Avatoru** entre décembre 2019 et juin 2020 (voir **V** du **Chapitre II**) ne semble de fait pas avoir eu d'incidence négative sur les taux de survie obtenus, qui ont plutôt eu tendance à augmenter durant cette période. Cette dichotomie fait davantage écho à celle précédemment trouvée pour les oxydes d'azote lors de la comparaison interannuelle des teneurs en sels nutritifs (voir **b**) du **I** ci-avant). Les résultats de l'année 2021, durant laquelle 63.5 % des effectifs ont survécus, ne se distinguent pas de ceux de 2019. Pour les années 2020 et 2021, une légère tendance, bien que non significative, est mise en évidence en faveur de meilleurs taux de survie pour 2020 comparé à l'année suivante (Fisher, $P = 0.08$).

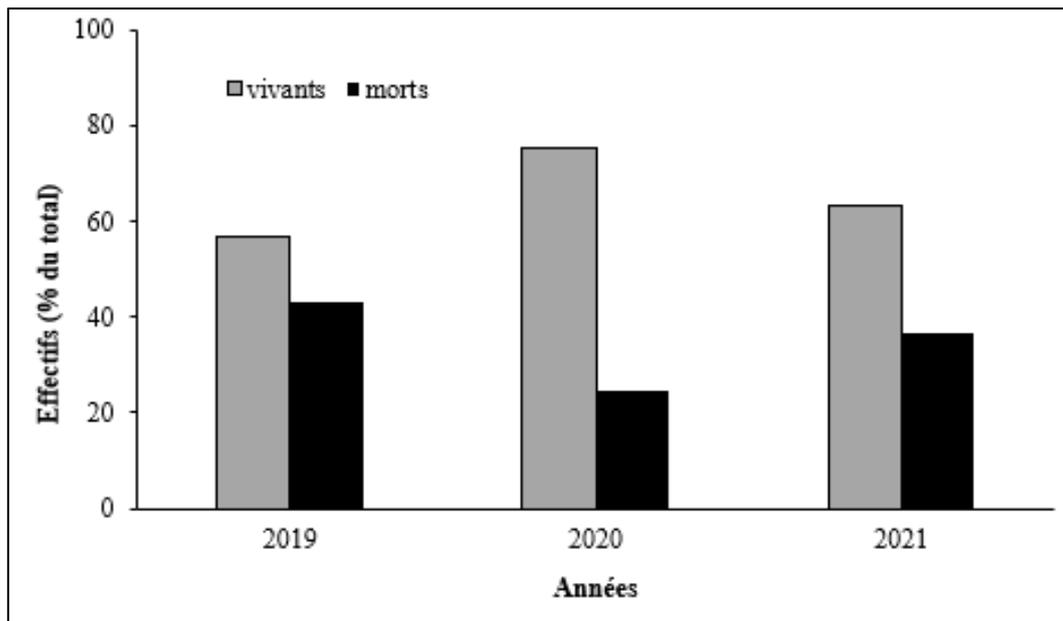


Figure 42. Pourcentages relatifs aux effectifs cumulés des explants vivants et morts pour chaque année de culture pour l'ensemble des 4 sites de culture retenus.

Le **Tableau XII** ci-après renseigne l'ensemble des paramètres analysés susceptibles d'avoir un effet conjoint dans l'amélioration des performances de survie des explants au niveau de leurs évolutions dans le temps (années) et l'espace (biotope voire sites). Mis à part le facteur relatif à l'intensité lumineuse, pour lequel la plage de mesure de septembre 2020 à février 2021 se trouvait trop restreinte pour exploiter les données au regard des autres variables, l'interaction de chacun des paramètres avec la survie a été analysée selon l'une ou l'autre des deux dimensions proposées. Cette dernière fut pour cela réexprimée sous forme de pourcentage comme suit :

$$\text{Taux de survie (\%)} = \frac{\text{nombre d'explants vivants} \times 100}{\text{total des explants vivants} + \text{morts}}$$

Tableau XII. Bilan comparatif des performances de survie au regard des divergences temporelles et spatiales des paramètres environnementaux d'après les résultats de l'étude.

	Survie	Picophytoplancton	Chlorophylle a	PO ₄	NO _x	Courant et lumière
TEMPS	2020 > 2019	nov 2020 - mars 2021 > 2019	2020 > 2019	-	2019 > 2020	-
SITES	récif > lagon Lagon 1 > Lagon 2	-	-	récif > lagon	récif > lagon	4 sites distincts

Au niveau temporel, les deux facteurs ayant démontré une influence significative sur le pourcentage d'explants résistant aux conditions de mise en culture après des analyses de variances à deux facteurs sont la teneur en **NO_x** (ANOVA, P < 0.01), de même que le **picophytoplancton** (ANOVA, P < 0.05). Ces deux paramètres semblent ainsi contribuer à expliquer les différences de survie entre les années 2019 et 2020 qu'ils discriminent. En 2019, on peut notamment retenir des taux de survie modérés (moyenne de 54 %) dont les plus faibles s'accompagnent d'assez fortes concentrations en organismes phytoplanctoniques couplées à de

très faibles teneurs en oxydes d'azote. En 2020, la survie s'améliore drastiquement pour les sites lagunaires et les taux moyens élevés conséquemment obtenus (moyenne de 89 %) sont liés à l'augmentation des teneurs des deux variables susmentionnées.

Au niveau spatial, les trois paramètres proposés dans le tableau précédent, à savoir les teneurs en PO_4 et NO_x dissous de même que le **courant**, se sont révélés significatifs pour expliquer les taux de survie après des analyses de variance à plusieurs facteurs (ANOVA, respectivement $P < 0.05$; $P < 0.001$, $P < 0.0001$). D'après la **Figure 43** ci-dessous, on observe que le courant est en effet fortement associé aux taux de survie moyens pour l'écosystème récifal, mais qu'il n'est pas le seul paramètre à conduire les évolutions au sein du lagon du fait d'amplitudes très étendues malgré la prévalence d'une courantologie très faible.

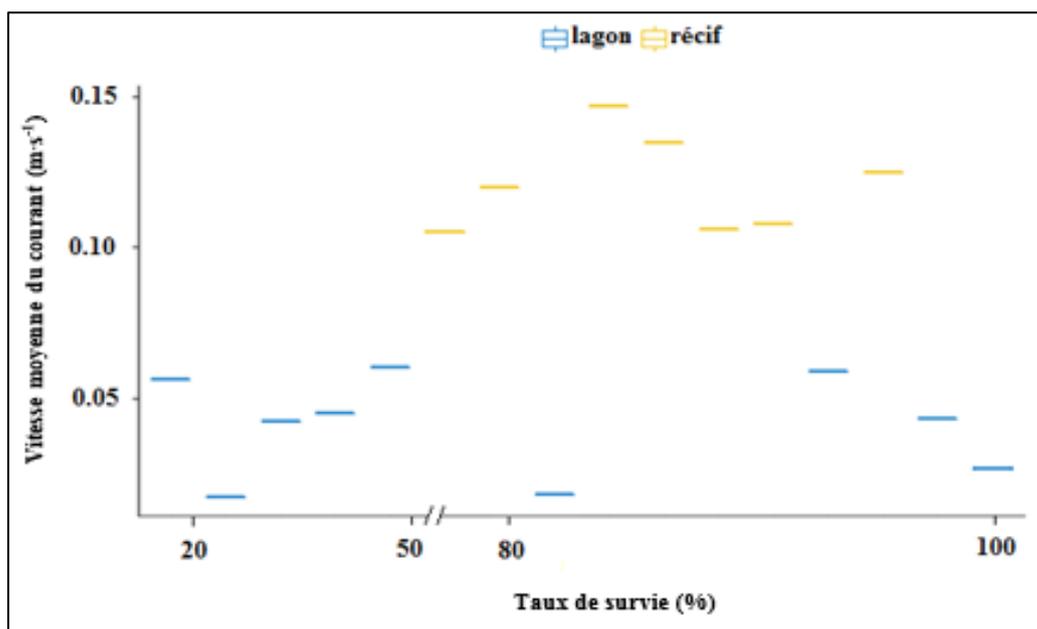


Figure 43. Interaction entre la vitesse du courant ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$) et la survie (% d'explants vivants) pour chaque année de mise en culture des éponges.

III. 2. Croissance

Les données de croissance exprimées par mois et année de culture sont disponibles en **Figure 44** ci-après. Les profils des sites la barrière récifale suivent la même évolution gaussienne au cours de la première année de mise en culture, c'est-à-dire de septembre 2019 à septembre 2020. Leurs tendances s'inversent à partir du mois de décembre 2020, avec une augmentation progressive des accroissements pour les explants situés à **Avatoru** sur les 6 derniers mois (passage de $44 \pm 6 \text{ cm}^3$ à $69 \pm 8 \text{ cm}^3$) tandis que les volumes diminuent à **Tiputa** pour la même période (de 65 ± 13 à $44 \pm 9 \text{ cm}^3$ en moyenne). Si l'on étudie ces évolutions d'un point de vue saisonnier, on constate une absence de répliquabilité d'une année sur l'autre pour le site d'**Avatoru**. Pour **Tiputa**, il apparaît plus difficile de statuer car le pas de temps trimestriel sis entre décembre 2020 et mai 2021 ne trouve pas son équivalent l'année précédente du fait de l'annulation d'une mission de terrain. Une potentielle saisonnalité pour ce site pourrait de fait exister de par une reprise de croissance en décembre par rapport à septembre, suivie d'une diminution au cours de la saison des pluies semblant se maintenir jusqu'au retour de la saison sèche en mai. Ceci bien que les teneurs à compter de septembre 2020 soient bien inférieures aux performances obtenues les douze premiers mois. Toutes choses considérées, ces données

nous permettent de situer l'optimum de croissance pour ces deux sites récifaux vers le mois de décembre 2019.

Les sites lagunaires évoluent quant à eux très distinctement des sites récifaux dès le premier trimestre de septembre à décembre 2019. À l'inverse de **Tiputa** et d'**Avatoru**, le **Lagon 1** présente des explants aux volumes globalement moins élevés en 2019 qu'en 2020. En effet, les moyennes obtenues en septembre atteignent respectivement $52 \pm 11 \text{ cm}^3$ et $71 \pm 12 \text{ cm}^3$ pour ces deux années consécutives. Pour ce site, l'existence d'un schéma d'accroissement saisonnier est à envisager, qui se traduirait par une très légère baisse des volumes entre septembre et décembre suivie d'une forte reprise en fin de saison des pluies. Toutefois, cette hypothèse ne peut pas être confortée par les données obtenues au mois de mai 2021, période pour laquelle trop peu d'effectifs survivants étaient encore présents pour être représentatifs (seulement 2 explants toujours en place). Les explants situés au **Lagon 2** enregistrent en moyenne une diminution de volumes au cours des douze mois s'étalant de septembre 2019 à septembre 2020 (passage de $56 \pm 8 \text{ cm}^3$ à $22 \pm 1 \text{ cm}^3$). Une évolution symétrique se produit au cours des six mois suivants, aboutissant à un retour à la moyenne initiale en février 2021 ($54 \pm 12 \text{ cm}^3$). Tout comme pour le **Lagon 1**, la baisse drastique d'effectifs au mois de mai 2021 (seuls 4 survivants à ce stade) ne permet pas d'en exploiter la moyenne, bien que celle-ci dénote une diminution des valeurs comparativement au suivi réalisé trois mois plus tôt.

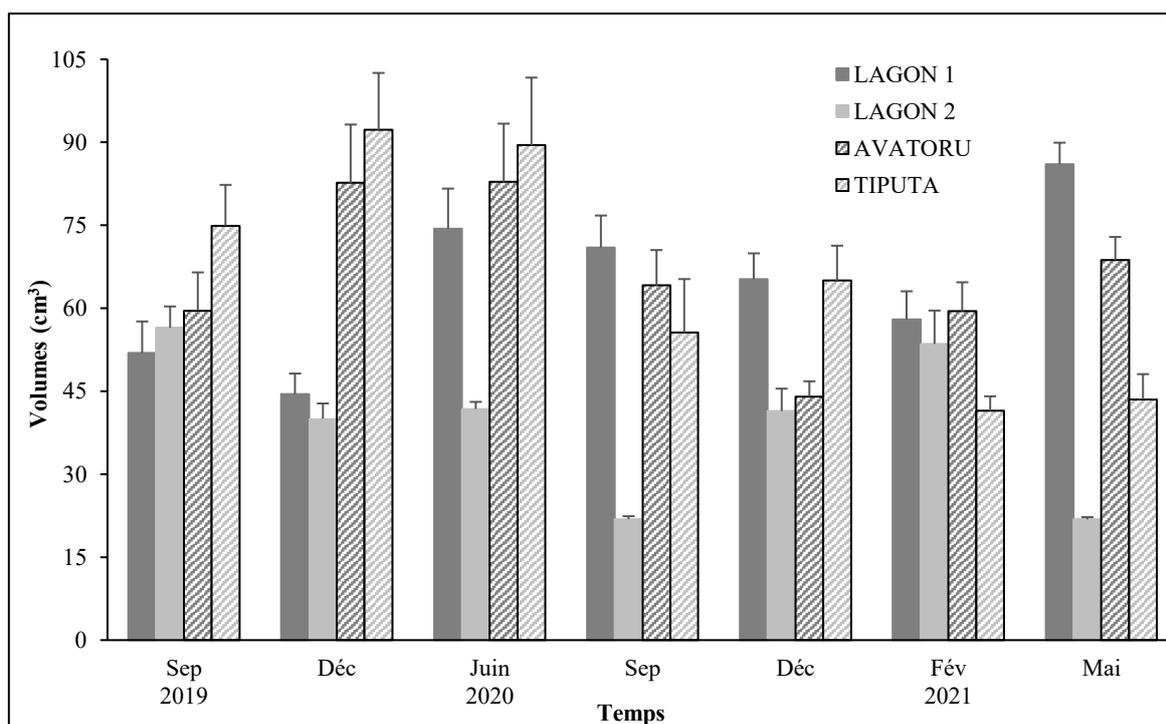


Figure 44. Volumes moyens (cm^3) des explants pendant la période d'aquaculture (septembre 2019 - mai 2021).

Au niveau statistique, **le mois de mai 2021 a donc été écarté des analyses pour cause d'effectifs trop réduits**. D'après la Figure 45 ci-dessous, des disparités spatiales significatives concernant les volumes des explants en culture de septembre 2019 à février 2021 existent pour les années 2019 et 2020. Fin 2019, **Tiputa** et le **Lagon 1** se démarquent, le premier site précité renseignant des volumes plus élevés à ce stade que le second (Kruskal-Wallis, $P < 0.01$). Fin 2020, les volumes moyens à **Avatoru**, à **Tiputa** et au **Lagon 1** sont tous significativement supérieurs à ceux mesurés au **Lagon 2** (Kruskal-Wallis, $P < 0.01$). Pour une meilleure

corrélation de ces résultats avec les données environnementales précédentes, l'analyse interannuelle globale des évolutions des volumes a été conduite et renvoie une dissimilitude générale entre 2019 et 2021 (Kruskal-Wallis, $P > 0.05$), cette dernière année figurant une croissance significativement inférieure (passage des moyennes annuelles de $71 \pm 16 \text{ cm}^3$ à $52 \pm 11 \text{ cm}^3$).

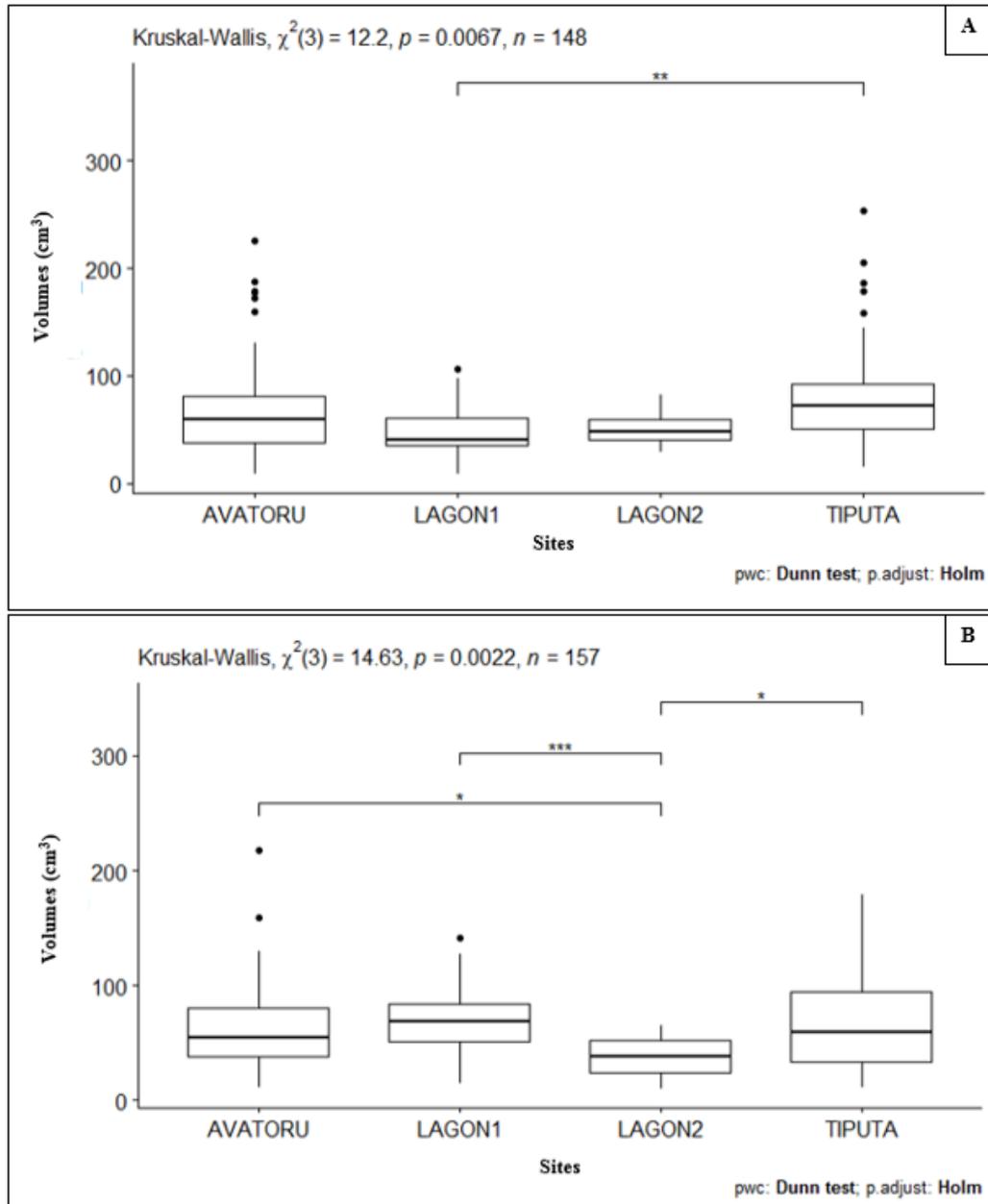


Figure 45. Différences significatives entre les volumes des explants pour l'ensemble des sites en 2019 (A) et 2020 (B). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.

De la même manière qu'avec la survie précédemment, le **Tableau XIII** ci-après renseigne l'ensemble des paramètres analysés susceptibles d'avoir un effet conjoint dans l'amélioration des performances de croissance des explants au niveau de leurs évolutions spatio-temporelles. Le facteur lumière a de nouveau été écarté pour les mêmes raisons que précédemment renseignées.

Tableau XIII. Bilan comparatif des performances de croissance au regard des divergences temporelles et spatiales des paramètres environnementaux d'après les résultats de l'étude. La ligne en italique indique une forte tendance observée mais non significative.

	Croissance	Picophytoplancton	Chlorophylle a	SI	Courant et lumière
TEMPS	2019 > 2021	nov 2020 - mars 2021 > 2019	2021 > 2019	2019 < 2021	-
SITES	tous les sites > Lagon 2 fin 2020	-	-	-	4 sites distincts

Au niveau temporel, seule la chlorophylle a ne semble pas influencer le gain en biomasse des nouvelles générations de *Dactylospongia metachromia* (ANOVA, $P = 0.26$). Les plus faibles accroissements constatés en 2019 sont un parallèle aux teneurs réduites en **phytoplancton** comparativement aux années 2020 et 2021, bien que l'effet d'interaction soit à la limite de la significativité (ANOVA, $P = 0.06$). Les concentrations en **SI** discriminent entre elles les croissances des années 2019 et 2020, ainsi que 2020 et 2021 (ANOVA, $P < 0.05$). Les fortes teneurs en acide orthosilicique ($> 1.7 \mu\text{M}$) de 2021 apparaissent plutôt détractantes pour le bon développement des d'éponges, là où des concentrations inférieures à $1.25 \mu\text{M}$ les années précédentes permettaient des pics de croissance, principalement en milieu récifal.

Au niveau spatial, la **courantologie** exerce là encore une forte influence positive sur la croissance des explants dans les deux types de biotope testés (ANOVA, $P < 0.01$). Le fort courant associé au milieu récifal engendre des performances de croissances globalement nettement supérieures à celles obtenues aux sites lagunaires, où la courantologie est très réduite.

III. 3. Visualisation par analyse multivariée

Afin de pouvoir mieux visualiser les corrélations inter-variables, une Analyse en Composante Principale (ACP) combinant les variations temporelles (années) et spatiales (sites) a été effectuée sur les paramètres ayant précédemment révélé un impact significatif sur la survie et la croissance. D'après le cercle des corrélations obtenu en **Figure 46** ci-dessous, les principaux facteurs tels que la courantologie, les différents sels nutritifs et les concentrations planctoniques sont efficacement représentés sur les deux axes principaux et peuvent bien dès lors constituer des variables explicatives des disparités relatives aux performances aquacoles. Sur le cercle, un angle restreint entre deux variables induit des réponses similaires pour les individus qu'elles représentent, comme par exemple pour la survie et la courantologie ou encore le picoplancton et les bactéries planctoniques en tant qu'exemple pertinent pour la validité de ces rapprochements.

Une première analyse conjointe des profils de bioactivité (i.e. somme des teneurs en composés ilimaquinone et 5-épiilimaquinone), qui seront par la suite explicités dans le **Chapitre V**, avec les paramètres environnementaux révèle pour la grande majorité d'entre eux une absence de corrélation spatio-temporelle plutôt marquée. Du fait de la forte proximité de la production en métabolites, de même que les taux de croissance qui s'en trouvent négativement corrélés, avec l'axe 1 (**Dim1**), celui-ci pourrait représenter l'investissement énergétique des éponges qui favoriserait tour à tour des stratégies inverses de défense ou d'accroissement. Inversement défini par les concentrations en phosphates/nitrates et la production primaire d'origine

planctonique, l'axe 2 (**Dim2**) pourrait résumer l'intensité du renouvellement de la zone hydrologique. En effet, PO₄ et NO_x constituent avec le fer les principaux nutriments consommés par le phytoplancton (Behrenfeld *et al.*, 2006). Ils proviennent des couches profondes de l'océan qui remontent par upwelling, grâce notamment à l'hydrodynamisme de la zone représenté sur le cercle par une corrélation positive de ces sels nutritifs avec le courant.

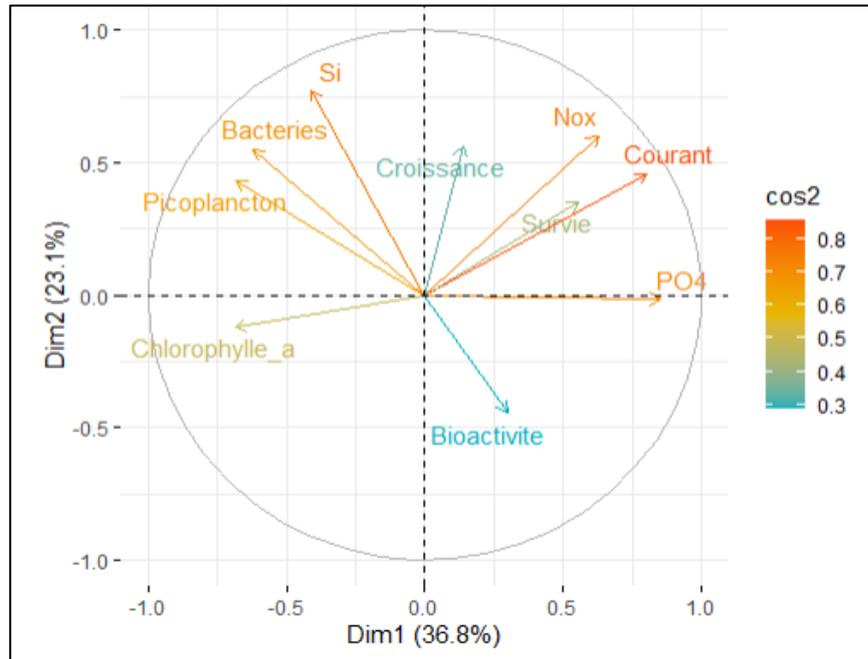


Figure 46. Cercle des corrélations obtenu suite à une analyse en composante principale effectuée sur les variables ayant précédemment renvoyé des disparités spatio-temporelles significatives.

L'ensemble de ces tendances visuelles se trouve confirmé par la **Figure 47** ci-après qui offre par ailleurs un résumé élargi des rapprochements de variables pouvant être effectués, de même que leurs amplitudes négatives ou positives.

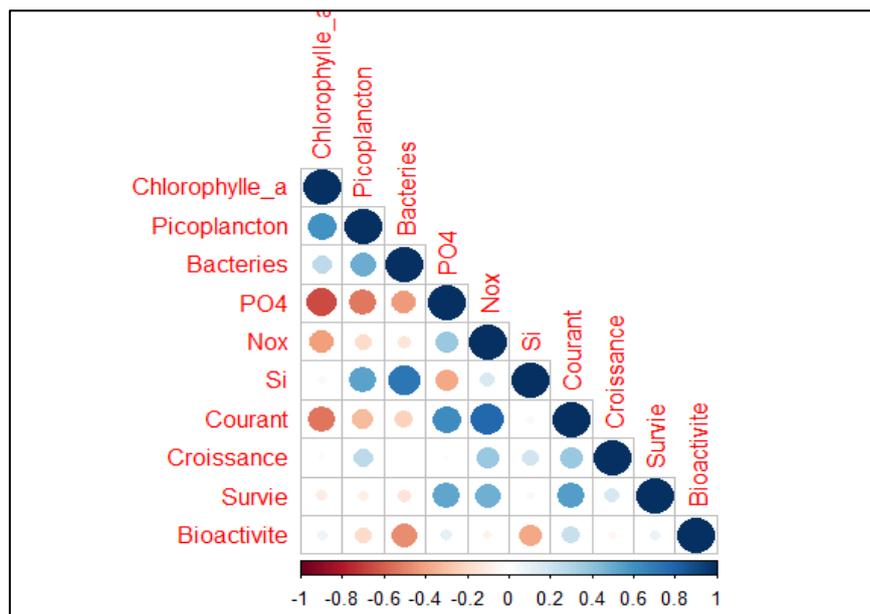


Figure 47. Corrélations positives (échelle de bleu) ou négatives (échelle de rouge) des variables de l'analyse en composante principale entre elles.

CONCLUSION DU CHAPITRE

Une étude antérieure de l'eau du lagon de Rangiroa réalisée par Michel *et al.* (1971) n'indique pas de spécificités véritablement marquées par rapport à l'océan, ceci malgré la superficie relativement étendue de l'atoll. Bien que figurant des teneurs plus élevées en biomasse phytoplanctonique et en pigments chlorophylliens que le milieu récifal, le lagon de cet atoll s'appréhende ici comme également oligotrophe. Le démontrent les très faibles concentrations en sels nutritifs dissous obtenues, comparativement par exemple aux mares d'eau stagnante de la couronne récifale qui figurent parfois des valeurs jusqu'à plus de dix fois supérieures (Rougerie, 1979). Toutefois, des dissemblances notables existent entre les deux environnements insulaires, qui peuvent parfois se trouver discriminantes.

Comparé à l'océan, l'écosystème lagonaire s'apparente davantage à un milieu instable et qui relève, surtout à l'abord des passes et chenaux de la couronne de l'atoll, de la fluctuation des apports d'entrées d'eaux océaniques en lien avec la géomorphologie de l'atoll. Les deux zones lagonaires de cette étude ont été choisies à une distance inférieure à 500 m de la passe d'Avatoru, dans l'intention première de bénéficier de conditions « semi-océaniques » de par les forts échanges sévissant généralement aux abords de ces zones bien particulières des atolls (Michel *et al.*, 1971 ; Dumas *et al.*, 2012). Cependant, même pour ces zones spécifiques d'échanges hydriques intensifs, de fortes disparités d'ensoleillement et de courantologie existent déjà entre les deux biotopes, d'après les mesures *in situ* retournées par nos appareils. En outre, les plus faibles teneurs en phosphates et en oxydes d'azote du lagon par rapport à la barrière récifale s'accompagnent globalement d'une concentration plus importante en chlorophylle a et en organismes picoprocaryotes.

Des activités anthropiques sont également susceptibles de venir impacter voire creuser les écarts observés (Frouin, 1996 ; Halpern *et al.*, 2008 ; Andréfouët & Charpy, 2012). Toutefois, à Rangiroa, l'homme est peu susceptible d'avoir une incidence sur la structure des communautés planctoniques de par l'absence d'activités aquacoles lagonaires intensives au regard de la superficie de l'atoll, ceci par rapport à d'autres localités des Tuamotu présentant par exemple de très importants élevages d'huîtres perlières comme Takapoto et Ahe (Vacelet *et al.*, 1996 ; Charpy *et al.*, 1997 ; Charpy *et al.*, 2012). En effet, des disparités entre atolls voisins existent, pouvant pour certains paramètres varier avec une grande rapidité (i.e. sels nutritifs, chlorophylle a) de par une étroite corrélation avec le régime des alizés et donc l'agitation générale du lagon (Charpy *et al.*, 1997). Des variations à court terme de teneurs en chlorophylle a ont effectivement été reliées au contexte météorologique existant, notamment à travers la prévalence passagère d'épisodes venteux et de précipitations accrues (Torréton *et al.*, 2010). De la même manière, des phénomènes biotiques plus ou moins éphémères peuvent intervenir, comme la déplétion d'organismes planctoniques procaryotes dans les lagons ou vers les zones côtières des atolls pour cause d'infections virales suite à la prolifération de populations cyanophages (Proctor & Fuhrman, 1990 ; Blanchot & Rodier, 1996).

Bon nombre de données environnementales exploitées de manière individuelles ne permettent pas d'appréhender des changements majeurs d'enrichissement ou d'appauvrissement du milieu marin qui auraient un impact sur les performances de culture des explants. À titre d'exemple, les organismes procaryotes dominent la biomasse phytoplanctonique à Rangiroa et sont donc responsables de la fraction majeure de la production primaire, comme il en va de manière générale dans les atolls des Tuamotu (Charpy & Blanchot,

1998). Les variations temporelles de l'abondance et de la richesse taxonomique de cette fraction du plancton peuvent être en lien avec les flux irréguliers d'apports océaniques, au travers par exemple de teneurs distinctes en éléments nutritifs. Aussi, la hausse importante de phytoplancton constatée de septembre 2020 à février 2021 est étroitement corrélée à la relative augmentation de la salinité durant cette même période, hypothèse précédemment émise en tant qu'explication de ce phénomène dans des études similaires (Charpy & Blanchot, 1998 ; Ras *et al.*, 2008). Il apparaît donc plus largement que les facteurs abiotiques, dont la stabilité temporelle est de manière générale très peu probable, sont ici à prendre comme des facteurs de gestion dont la variabilité pourrait par moments se révéler antagoniste à la durabilité d'une spongiculture insulaire. Ainsi, pour tendre vers cette dernière, devront être réfléchis en parallèle des points immuables du plan d'aménagement de l'activité, comme par exemple l'occupation spatiale qu'elle sera susceptible de recouvrir afin de minimiser son impact sur le biotope avoisinant.

La mise en relation de très nombreux renseignements ayant traits au contexte environnemental présent reste fastidieuse et induit un fort risque d'omission de potentielles interactions. En outre, les méthodes classiques d'analyses ponctuelles de données océanographiques employées lors de cette étude permettent d'avoir une idée qualitative, voire semi-quantitative, des phénomènes biotiques et abiotiques qui sévissent dans les zones échantillonnées. Couplés aux données *in situ*, des dispositifs complémentaires de suivi sur le long terme (i.e. sondes connectées immergées, images satellites, modélisation) se devraient donc d'être employés dans l'optique d'une continuité de cette étude comme il en va dans d'actuels travaux océanographiques (Gregg & Rousseaux, 2019 ; Hayashida *et al.*, 2020 ; Ishizaka & Yamada, 2019 ;). Ils permettraient notamment d'aboutir à une évaluation plus précise de l'impact (potentiellement conjoint) de certains facteurs susceptibles, étudiés dans ce chapitre ou additionnels, de varier drastiquement sur un pas de temps bien inférieur au suivi trimestriel plébiscité ici, comme par exemple la chlorophylle a (Sournia & Ricard, 1976 ; Torréton *et al.*, 2010 ; Mazzella, 2007).

Bien que les données présentées dans ce chapitre ne permettent pas d'expliquer la différenciation de diversité spécifique du microbiote constatée entre décembre 2020 et mars 2021 (voir V du **Chapitre II**), les caractéristiques environnementales jouent souvent un rôle déterminant sur la communauté procaryotique de l'holobionte (Poppell *et al.*, 2013 ; Batista *et al.*, 2018 ; Čaraitė, 2020). Certains paramètres présentés dans ce chapitre, parfois en corrélation avec d'autres, sont donc bien susceptibles d'avoir un effet sur la production de métabolites par le complexe éponge-microorganismes, comme par exemple la lumière lorsque le microbiote figure des taxa photosynthétiques (Thompson *et al.*, 1987 ; Belarbi *et al.*, 2003). Ce constat fait l'objet d'une évaluation, dans le prochain chapitre, des liens qui existent entre les teneurs en molécules bioactives dans les échantillons d'éponges et les conditions du milieu aquatique ambiant telles que renseignées ici.

CHAPITRE V :
ÉTUDE DU
POTENTIEL
CHIMIQUE



INTRODUCTION DU CHAPITRE

Les organismes marins à la fois benthiques et sessiles ne peuvent pas compter sur l'évasion comme moyen d'échapper à leurs prédateurs naturels (Harborne, 1994). De fait, ils constituent souvent une source non négligeable de métabolites secondaires aux rôles fonctionnels multiples, pouvant notamment être sécrétées comme moyens de défense biologique (Hay, 1996). De très nombreux exemples issus des éponges marines comprennent entre autres des composés antiviraux et anticancéreux désormais synthétisés *in vitro* et disponibles sur le marché de la pharmacologie, comme la cytarabine et la vidarabine isolées de *Tectitethya crypta* et l'éribuline mesylate dérivée d'*Halichondria (Halichondria) okadaï* (Sagar *et al.*, 2010 ; Polastro *et al.*, 2014 ; Faruqi & Tadi, 2020). Les principaux composés d'intérêt que l'on retrouve chez *Dactylospongia metachromia* sont l'ilimaquinone (Capon et MacLeod, 1987 ; Takizawa *et al.*, 1993) et son épimère 5-épiilimaquinone (Carte *et al.*, 1985 ; Boufridi *et al.*, 2016) (**Figure 48**).

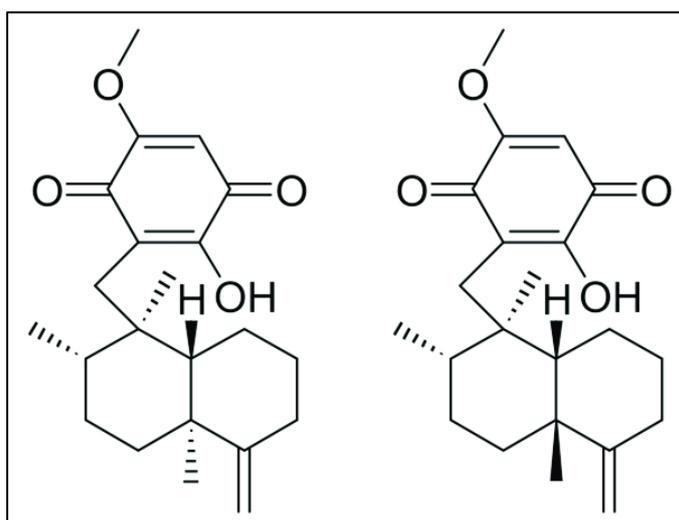


Figure 48. Structures moléculaires de l'ilimaquinone (gauche) et de la 5-épiilimaquinone (droite).

L'ilimaquinone, un énantiomère de l'avarol également dérivé d'une éponge, a d'abord été isolée à partir d'un spécimen hawaïen d'*Hippospongia metachromia* (Luibrand *et al.*, 1979). Ce métabolite secondaire a été découvert plus tard dans d'autres taxons du monde entier, tels que *Fenestraspongia sp.* à Palaos (Carte *et al.*, 1985), *Smenospongia sp.* en Mer Rouge (Loya *et al.*, 1990), *Polyfibrospongia australis* à Taiwan (Shen & Hsieh, 1997) ou encore *Spongia sp.* aux Philippines (Cao *et al.*, 2004). Son nom fait référence à la fois à la fonction chimique qu'il présente, à savoir un motif quinonique, ainsi qu'à sa couleur une fois extraite, le préfixe « ilima » se référant à une fleur dorée que l'on trouve sur l'île d'Hawaii (Maschek & Baker, 2008). Il a révélé plusieurs activités biologiques, y compris des propriétés anti-inflammatoires, anti-VIH, antimicrobiennes, antiparasitaires et anticancéreuses (Kushlan *et al.*, 1989 ; Rangel *et al.*, 1997 ; Radeke *et al.*, 1999 ; Lu *et al.*, 2007 ; Leary *et al.*, 2009 ; Yasuhara-Bell & Lu, 2010 ; Pereira *et al.*, 2013). De plus, l'ilimaquinone peut dégrader l'appareil de Golgi en vésicules plus petits et ceci de manière réversible, ce qui affecte directement le transport cellulaire des protéines (Takizawa *et al.*, 1993 ; Rangel *et al.*, 1997). Ce composé est déjà disponible sur le marché et peut être acheté à plus de 120 \$ les 100 µg (Santa Cruz Biotechnology Inc., www.scbt.com, consulté le 17/04/2019).

Les modifications chimiques s’opérant dans les voies de biosynthèse de l’ilimaquinone et de la 5-épiilimaquinone (**Annexe 10**), composés se retrouvant chez plusieurs éponges marines, ont conduit à la synthèse de nombreux autres métabolites (Bonneau *et al.*, 2017 ; Evanno *et al.*, 2018). L’obtention de futures substances alternatives valorisables est également envisagée. En effet, les molécules à structure quinoïde comprenant un squelette drimane réarrangé, comme il en va pour les métabolites dérivés de l’ilimaquinone, jouent un rôle dans l’activation des voies de signalisation de l’insuline, mettant ainsi en évidence un nouveau potentiel curatif du diabète de type II (Spyroudis, 2000 ; Dušan & Miroslav, 2006 ; Pearce & Kerr, 2013 ; Wang *et al.*, 2017).

Pour cette troisième partie, nous nous interrogeons sur le lien qui pourrait exister entre les paramètres de culture et environnementaux précédemment discutés et la production d’ilimaquinone et de 5-épiilimaquinone par *Dactylospongia metachromia*. À ce jour, bien que la 5-épiilimaquinone ne soit pas commercialisée, les deux molécules sont intéressantes en vue d’une valorisation chimique. Ainsi, pour des questions de lisibilité des résultats, nous choisirons dans ce chapitre de traiter du potentiel de bioactivité de l’éponge en couplant les teneurs des deux métabolites secondaires. Ce chapitre présente également les résultats de tests d’activité de ces deux composés sur des pathogènes marins présents dans les élevages aquacoles de Polynésie française. Ces travaux ont été réalisés au Centre IFREMER du Pacifique, ciblant pour la première fois certaines des souches bactériennes isolées par les équipes de recherche de l’unité « Ressources Marines en Polynésie ».

L’extraction chimique et la quantification de ces deux composés dans des échantillons d’éponges ont fait appel à des techniques complémentaires disponibles soit directement sur Tahiti, dans les laboratoires de l’UPF, soit en France par le biais d’un partenariat avec l’IRD (Technopôle de Brest-Iroise). Les analyses statistiques des données ont à nouveau été réalisées à l’aide du logiciel R-Studio (version 1.3.1093), tel que détaillé dans les précédents chapitres et avec l’application des transformations d’usage lorsque nécessaires pour l’ANOVA.

I. EXTRACTION DES MÉTABOLITES SECONDAIRES

Un total de 255 échantillons (éponges-mères et explants) a été analysé au cours du suivi pour l’extraction et la quantification des métabolites secondaires d’intérêt présents chez *Dactylospongia metachromia*, à savoir l’ilimaquinone et la 5-épiilimaquinone. Les standards des deux composés, sous forme de solides amorphes orangés, ont été fournis par l’IRD (Brest, France) et conservés à 4 °C dans le laboratoire de chimie de l’UPF.

La préparation des extraits bruts a été réalisée à Tahiti sur des échantillons d’éponge lyophilisés puis broyés afin d’obtenir une poudre organique homogène. Le protocole a été réfléchi puis éprouvé afin d’optimiser l’extraction des composés : par rapport à des précédents travaux, il permet de réduire à la fois le temps de mise en fonctionnement des divers appareils nécessaires et l’emploi de substances dangereuses (Boufridi *et al.*, 2017). Ceci dans l’optique de satisfaire aux conditions de la Chimie Verte définies par l’agence américaine pour la protection de l’environnement (U.S. Environmental Protection Agency, 1991). Pour chaque échantillon, environ 500 mg de poudre ont ainsi été placés dans un erlenmeyer avec 10 mL d’acétate d’éthyle (AcOEt) puis dans un bain à ultrasons (US) pendant trois fois 15 min. Entre chaque phase de sonication, le surnageant de la solution homogénéisée était introduit dans une colonne d’extraction en phase solide (SPE) pour filtration, puis récupéré dans un ballon

en verre de 50 mL. Les extraits AcOEt ont été concentrés sous pression (190 mbar) à l'aide d'un évaporateur rotatif. À la fin du processus, le résidu a été solubilisé dans 1 ml d'AcOEt dans le ballon et soniqué une nouvelle fois pendant 3 min. La solution finale était transférée dans un tube à hémolyse préalablement taré, puis pesée et enfin placée sous la hotte environ 24 h jusqu'à l'obtention d'un résidu sec par la suite dilué pour atteindre une concentration de $4 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ (**Photo 13**).

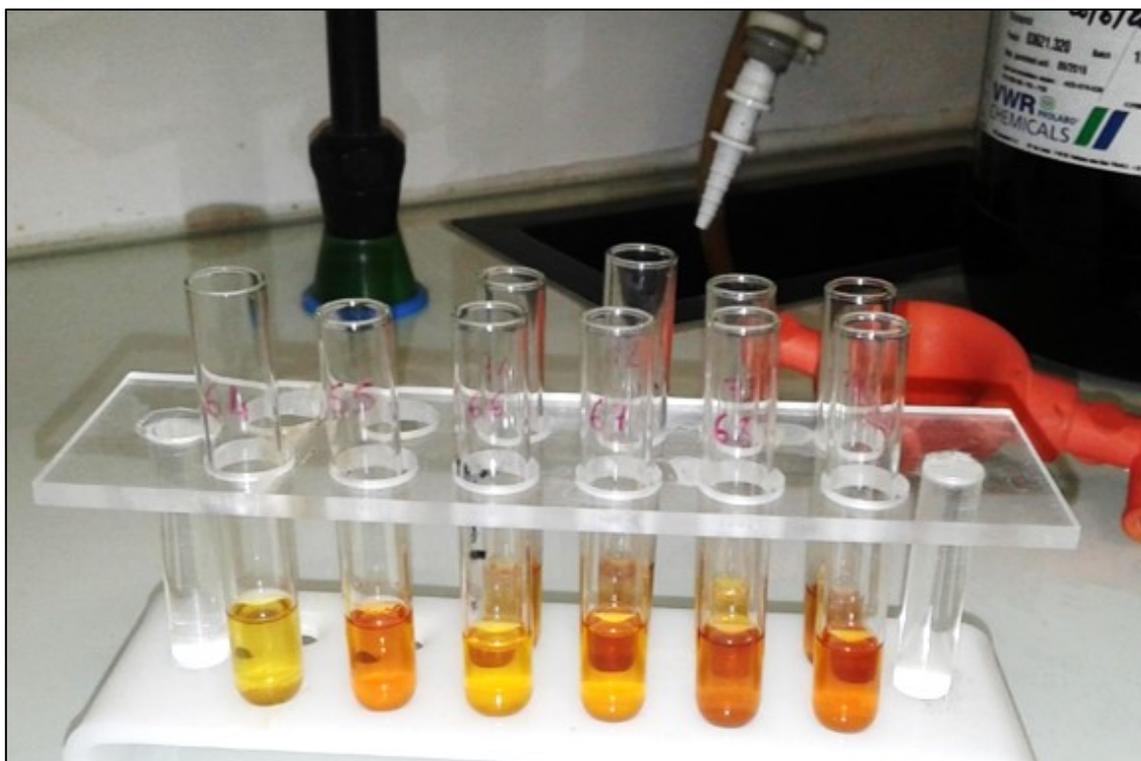


Photo 13. Préparation des extraits bruts d'échantillons de *Dactylosporgia metachromia* collectés à Rangiroa.
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

La méthode de Chromatographie sur Couche Mince (CCM) a été utilisée pour évaluer qualitativement la présence d'ilimaquinone et de 5-épiilimaquinone dans certains extraits, dont une fraction a été diluée dans du dichlorométhane (DCM) à $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Les standards des deux molécules brutes, solubilisés de la même manière, ont été employés en tant que témoins. Des plaques de gel de silice ont été prétraitées en les trempant dans une solution à 2 % de nitrate d'argent (AgNO_3) dilué dans l'acétonitrile (Aitzetmüller & Goncalves, 1990). L' AgNO_3 permet en effet la séparation d'isomères géométriques et de position en formant des composés de coordination (ou « complexes ») avec les doubles liaisons de ces molécules carbonylées (Pradel & Alda, 1975). Après trempage, les plaques ont été mises à sécher dans une étuve à 100°C pendant 5 min. L'éluion de $15 \mu\text{L}$ d'échantillon comparativement à $5 \mu\text{L}$ de chaque standard a été évaluée dans une cuve en verre saturée au dichlorométhane par migration du front d'éluant entraînant les composés. La position et la densité de coloration des composés ont été révélées par exposition aux rayons ultraviolets (UV).

On constate effectivement la présence des molécules en quantité variable dans les extraits par la présence de tâches violacées (**Photo 14**). Si l'ilimaquinone est pratiquement toujours détectée, l'épimère apparaît déjà comme plus difficilement décelable de par sa teinte généralement moins prononcée, voire dans certains cas non observable à l'œil nu.

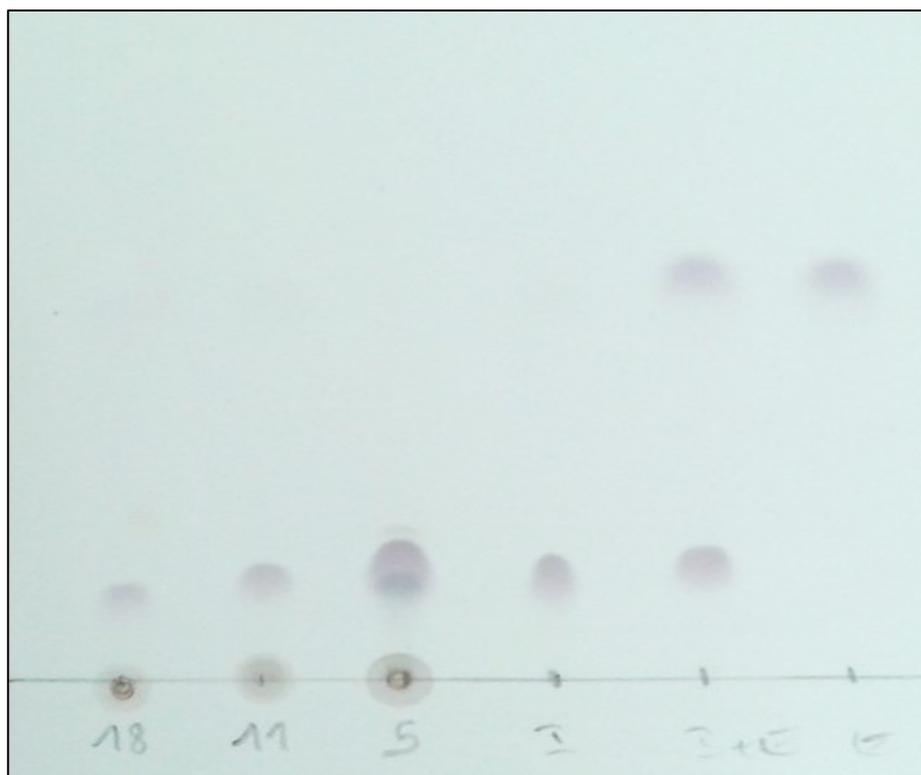


Photo 14. Plaque CCM figurant l'analyse qualitative de trois extraits (notés 18, 11 et 5) par comparaison avec les standards de l'ilimaquinone (notée I) et de la 5-épilimaquinone (notée E) à la fois seuls et combinés.

©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

II. DÉTERMINATION DES RAPPORTS DIASTÉRÉOISOMÈRES

II. 1. Matériels et Méthodes

Les extraits bruts secs à $4 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ont été envoyés à l'Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM, France) pour évaluer leur ratio à l'aide de la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) de l'Université de Bretagne Occidentale (UBO, France). La RMN est une technique pertinente de détection des deux molécules-cibles de cette étude afin de déterminer leur ratio ou « rapport diastéréoisomère » (Boufridi *et al.*, 2017 ; Ebada *et al.*, 2017). Les échantillons réceptionnés ont été solubilisés dans $700 \mu\text{L}$ de chloroforme deutéré (CDCl_3) ramené à température ambiante. Les solutions ont ensuite été brièvement agitées et soniquées dans un bain US avant d'être transférées dans des tubes RMN.

La spectroscopie RMN ^1H a été réalisée à une fréquence de 400 MHz. Lorsque de fortes charges en particules grossières issues de la poudre d'éponge étaient remarquées, les échantillons étaient préfiltrés sur $0.2 \mu\text{m}$ de teflon. Le logiciel TopSpin® a été employé pour l'analyse et le traitement des spectres RMN (**Figure 49**).

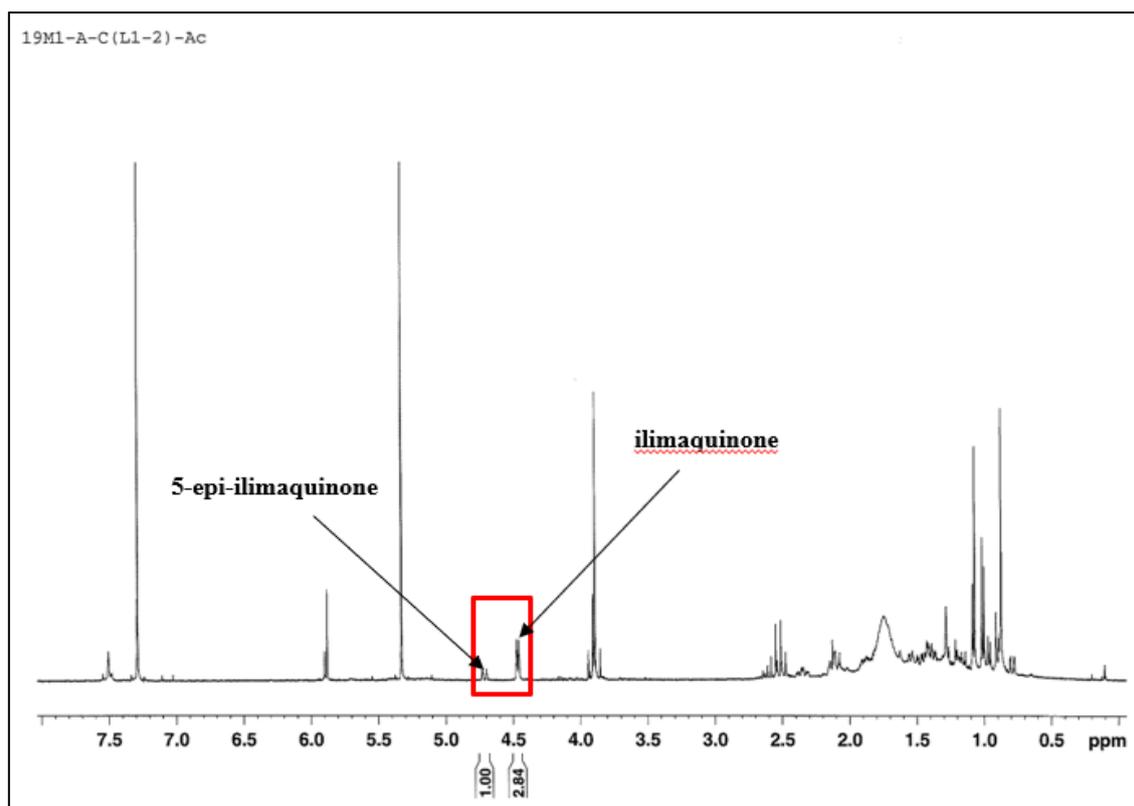


Figure 49. Spectre RMN ^1H d'un échantillon d'éponge-mère collecté à Rangiroa (site du **Lagon 1**) en mars 2019. Le ratio ilimaquinone / 5-épiilimaquinone de cet extrait est de 0.75.

II. 2. Résultats et Discussion

De même que ce qui avait été constaté chez Boufridi *et al.* (2017), les ratios des deux molécules se sont révélés hautement hétérogènes à l'échelle des individus échantillonnés. Leur variation au cours du suivi est disponible dans le **Tableau XIV** ci-dessous.

Tableau XIV. Rapports diastéréoisomères entre l'ilimaquinone et la 5-épiilimaquinone, exprimés en % d'ilimaquinone (moyenne \pm écart-type), établis sur des extraits de *Dactylospongia metachromia* issus des quatre sites de culture de Rangiroa par RMN ^1H pour chacun des deux composés. Les données manquantes font références à des résultats relatifs à un seul explant survivant et n'ont donc pas été compatibles dans l'analyse.

Sites	3 mois	6 mois	9 mois	12 mois	15 mois
LAGON 1	78.8 \pm 3.4 12	74.2 \pm 1.3 4	75.7 \pm 6.1 4	89.1 \pm 3.6 3	-
LAGON 2	89.9 \pm 5.0 6	76.4 \pm 3.1 4	76.9 \pm 4.8 6	83.3 \pm 8.4 6	-
TIPUTA	70.5 \pm 7.1 15	69.6 \pm 3.4 12	68.1 \pm 2.4 9	78.6 \pm 0.2 2	74.4 \pm 5.7 5
AVATORU	78.3 \pm 2.9 17	79.0 \pm 3.1 14	75.2 \pm 3.7 7	87.1 \pm 6.5 2	74.4 \pm 4.0 3

Celle-ci reste imprévisible, bien que non significativement différente à la fois selon les sites et les périodes considérées (Kruskal-Wallis, $P > 0.05$). En couplant les deux facteurs, une unique différence significative se démarque au stade de 6 mois de culture entre **Avatoru** et **Tiputa** (Kruskal-Wallis, $P < 0.01$), avec des ratios globalement inférieurs pour le site de **Tiputa** (Figure 50).

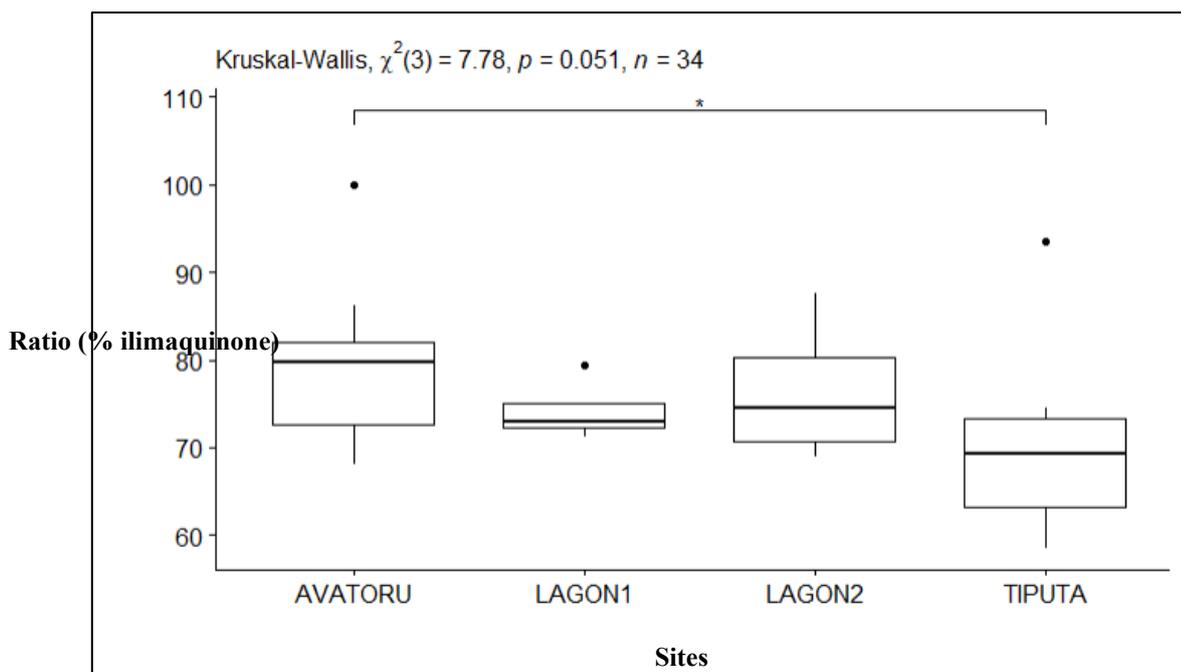


Figure 50. Rapports ilimaquinone / 5-épiilimaquinone des extraits au stade de 6 mois de culture faisant figurer une différence significative entre les sites de **Tiputa** et d'**Avatoru**.

Les écarts obtenus vont d'un récurrent 100 % d'ilimaquinone pour chacun des sites à seulement 26 % pour l'une des éponges-mères installées au site du **Lagon 1** en décembre 2019. Les moyennes globales par site recouvrant toute la période des 18 mois de suivi se distribuent par ordre croissant comme suit : 72.4 ± 4.9 % à **Tiputa** ; 75.1 ± 4.9 % au **Lagon 1** ; 75.7 ± 4.3 % à **Avatoru** et 79.6 ± 5.4 % au **Lagon 2**. Même si les amplitudes de variation sont restreintes, suggérant une relative homogénéité des teneurs à l'échelle de l'espèce, on constate à nouveau la plus forte disparité des ratios entre les deux sites de **Tiputa** et du **Lagon 2**, comme précédemment mis en évidence pour la survie et la croissance (voir **Chapitre III**). Une hypothèse à lever ici, qui sera vérifiée dans la suite de ce chapitre, serait la participation relative de ces métabolites aux performances de culture de l'organisme.

III. TENEURS EN MÉTABOLITES DANS LES EXTRAITS

III. 1. Matériels et Méthodes

La chromatographie liquide haute performance couplée à la détection ultraviolette (HPLC-UV) a été utilisée pour déterminer les rendements ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ d'éponge sèche) en ilimaquinone et 5-épiilimaquinone dans les extraits issus d'éponges-mères et d'explants. Les analyses des échantillons ont été effectuées à 25 °C par l'injection de 5 μL d'extrait AcOEt dans un système HPLC Agilent 1260 Infinity Series (Agilent Technologies, USA) avec un débit fixé à 200 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$. La séparation a été réalisée à l'aide d'une colonne à phase inverse Luna® C18 (dimensions 4.6 x 250 mm, granulométrie 5 μm , Phenomenex, USA). La longueur d'onde de détection a été fixée à 287 nm (Luibrand *et al.*, 1979). La phase mobile était composée de méthanol (MeOH, qualité HPLC) et d'eau (80 : 20, v/v).

Les pics d'absorbance d'ilimaquinone et de 5-épiilimaquinone ont été validés par comparaison avec les temps de rétention des standards correspondants, injectés dans la

séquence tous les 10 échantillons. L'acquisition des données et l'intégration automatique des aires sous chaque pic d'absorbance renvoyé ont été réalisées en utilisant le logiciel Open LAB CDS ChemStation C01.04 (**Figure 51**).

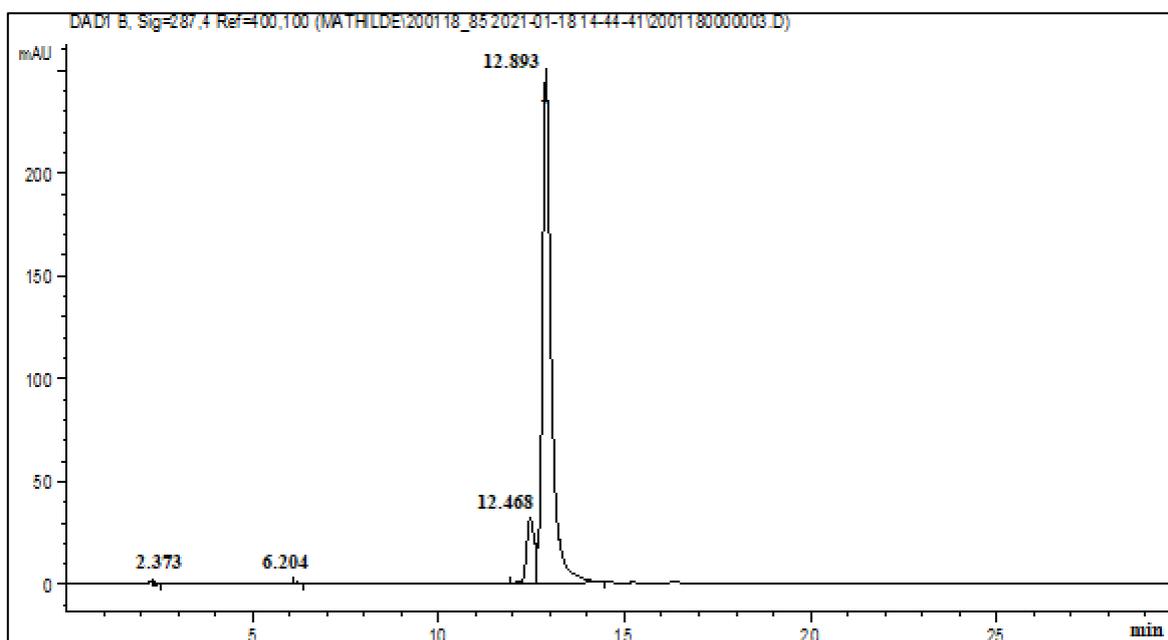


Figure 51. Chromatogramme obtenu par analyse HPLC d'un extrait AcOEt d'éponge dont le ratio ilimaquinone / 5-épiilimaquinone s'élève à 79 %.

Afin de pouvoir relier ces aires et les concentrations en composés bioactifs dans l'extrait concerné, une courbe d'étalonnage a été effectuée pour chacun des deux métabolites secondaires à partir de 1000 μg de standard et en effectuant des dilutions successives à 500, 250, 200, 125, 100 et 50 μg (**Figure 52**).

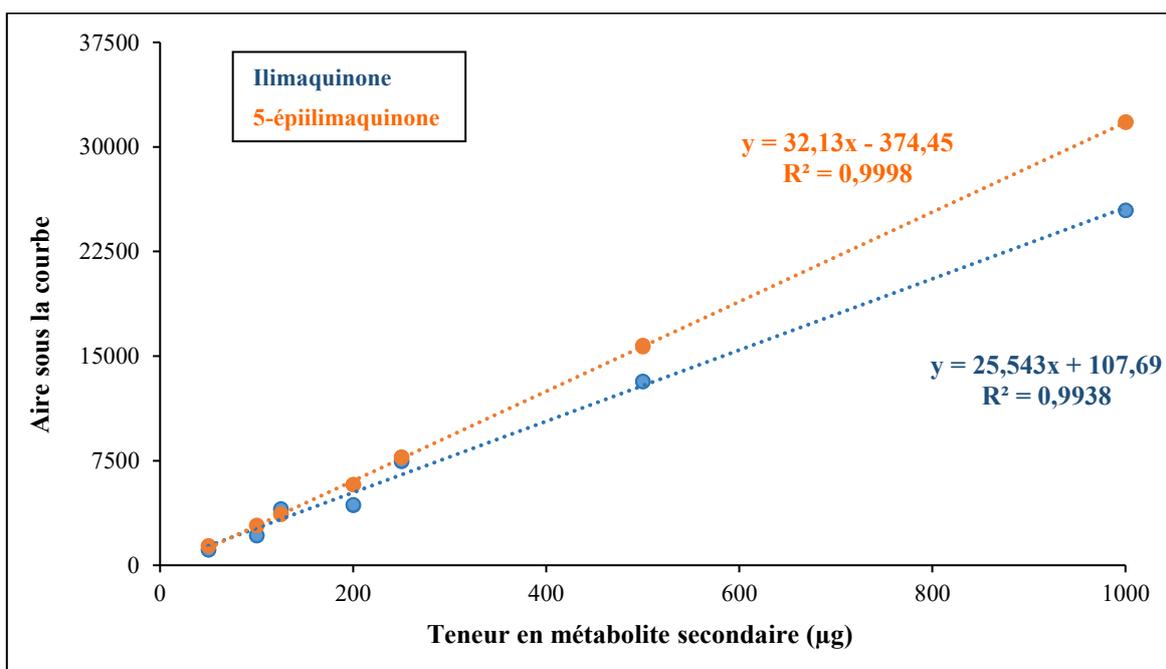


Figure 52. Courbes de dosage de l'ilimaquinone (bleu) et de la 5-épiilimaquinone (orange) obtenues après régression linéaire.

III. 2. Résultats et Discussion

De manière globale, l'ilimaquinone contribue davantage à expliquer les tendances observées en termes d'évolution des teneurs en métabolites, sa concentration étant presque systématiquement plus élevée que son épimère dans les extraits (10 exceptions sur 255 extraits analysés). Nous avons pu observer dans certains extraits une absence de 5-épiilimaquinone au profit d'un ratio $^1\text{H RMN}$ à 100 % d'ilimaquinone, tandis que l'inverse ne s'est jamais présenté durant nos expérimentations. À partir des deux courbes de dosage de l'ilimaquinone et de son épimère, tous prélèvements confondus, la moyenne globale des concentrations en ilimaquinone s'élève à $0.36 \pm 0.29 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ tandis que celle de son épimère atteint $0.13 \pm 0.08 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, soit un rapport moyen d'1:3. Des rendements similaires en ilimaquinone en tant que composé majoritaire isolé ont été précédemment rapportés par Kushlan *et al.* (1989) sur un spécimen de *Dactylosporgia* sp. provenant de Palaos ainsi que plus récemment sur *Dactylosporgia elegans* par Balansa *et al.* (2019) en Indonésie. Pour l'épimère, des proportions semblables se retrouvent dans les travaux de Neupane *et al.* (2019) sur des extraits de *Dactylosporgia elegans* à Hawaii.

Les teneurs moyennes en composés bioactifs (i.e. somme de l'ilimaquinone et de la 5-épiilimaquinone) des explants à l'échelle des 4 sites et leur évolution temporelle durant la mise en culture sont renseignés sur la **Figure 53** ci-dessous. Du fait de l'absence de possibilité de suivi pendant 6 mois consécutifs durant la pandémie de COVID-19, les concentrations obtenues après 12 et 15 mois de culture pour les sites **Lagon 2** et **Lagon 1** respectivement ne sont pas représentées car basées sur trop peu d'explants survivants échantillonnés.

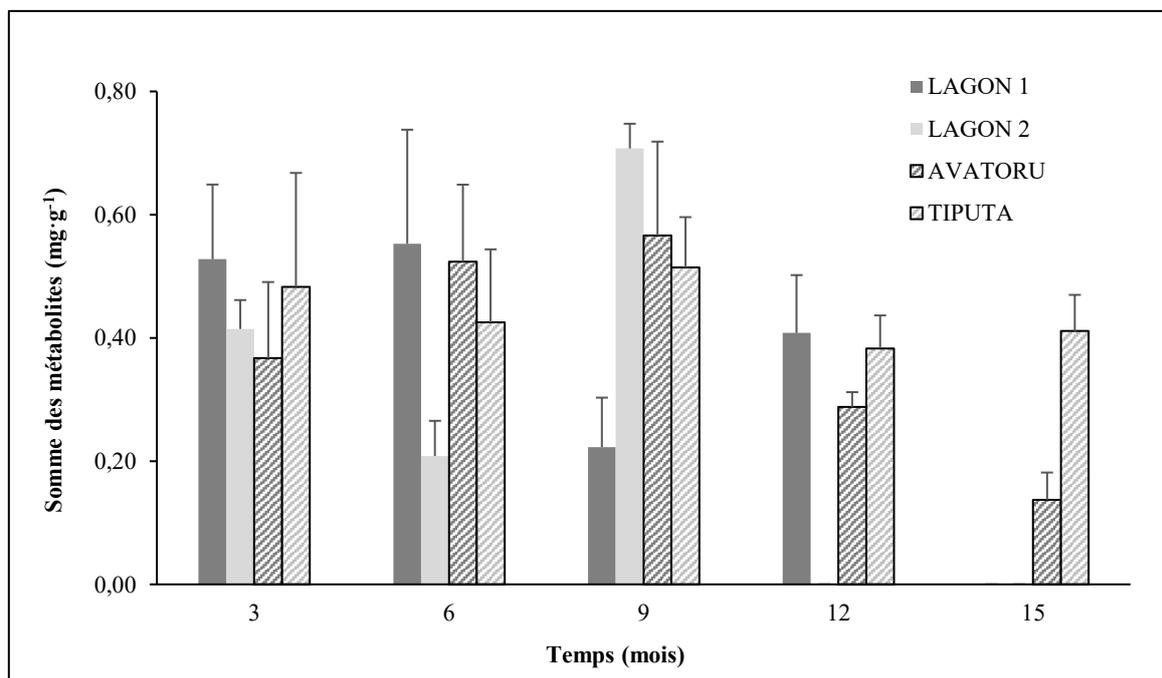


Figure 53. Concentrations moyennes ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) des teneurs en métabolites d'intérêt (ilimaquinone et 5-épiilimaquinone) dans les extraits d'éponge pour les 4 sites d'étude au cours du processus de mise en culture.

Pour le temps de mise en culture, aucune différence significative des teneurs n'est globalement démontrée tous sites confondus au seuil de 95 % d'intervalle de confiance (Kruskal-Wallis, $P = 0.066$). Les concentrations en métabolites secondaires ne se discriminent pas davantage entre chaque site d'élevage (Kruskal-Wallis, $P = 0.373$), confirmant les

observations de l'ACP (voir **III. 3.** du **Chapitre IV**). L'interaction de ces deux facteurs sur la production des molécules ciblées ne démontre aucune différence significative après 3 et 6 mois. En revanche, les deux sites lagunaires sont statistiquement différents au stade des 9 mois (Kruskal-Wallis, $P = 0.0374$), avec des teneurs en métabolites secondaires plus élevées pour le **Lagon 2**. De même, après 15 mois, les sites de **Tiputa** et d'**Avatoru** se discriminent avec des concentrations moyennes plus faibles pour ce dernier (Kruskal-Wallis, $P = 0.0106$).

Tous sites et périodes confondus, on obtient en moyenne $0.48 \pm 0.35 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de composés bioactifs dans les extraits. Si l'on considère un volume d'explant moyen se situant autour de 100 cm^3 après une année de culture, selon les résultats obtenus pour les sites de la barrière externe, la relation linéaire définie entre le volume calculé et le volume mesuré (**Annexe 5**) nous fait obtenir un volume équivalent de $41 \pm 12 \text{ mL}$. Cela nous donne, grâce aux relations de biomasse trouvées dans le **Chapitre II**, un poids lyophilisé de $4.9 \pm 1.6 \text{ g}$ pour un tel explant. Celui-ci est de fait susceptible de contenir un peu moins de 2 mg d'ilimaquinone seule et près de 2.4 mg pour les deux molécules ensemble.

Toujours avec les relations linéaires établies, nous pouvons ramener la valeur de poids sec obtenu à un poids frais initial de 47 g , soit environ 22.5 mg pour les deux molécules actives dans l'éponge collectée. Cette teneur constitue une concentration importante comparativement à certains travaux précédents d'isolation desdits composés chez d'autres éponges. Pour citer un exemple apparenté, moins de 385.5 mg furent obtenus pour 2.5 kg de poids frais chez *Dactylospongia elegans* au Japon, ce qui ne constitue que 7 mg de composés si l'on ramène ces valeurs aux 47 g de poids frais trouvés ci-avant (Mitome *et al.*, 2002). Nous retrouvons cependant des rendements plus intéressants chez d'autres espèces, comme par exemple *Hippospongia* sp. à Palaos où un rendement de 22 mg de métabolites a pu être obtenu à partir de 10 g d'éponge fraîche (Liu *et al.*, 2006).

IV. CORRÉLATIONS AQUACOLES ET ENVIRONNEMENTALES

IV. 1. Concordance des profils de bioactivité avec la survie et la croissance

Les teneurs en composés bioactifs d'intérêt, pour l'ensemble des sites et stades considérés, sont ici confrontés à l'évolution des performances de croissance volumique des explants telles que disponibles au **Chapitre III**.

Pour le site du **Lagon 2**, on constate que les teneurs en métabolites secondaires suivent la tendance inverse de la croissance volumétrique les 9 premiers mois, soit une diminution au bout de 6 mois aboutissant à une division par deux des concentrations moyennes par rapport au premier trimestre (chute de 0.41 ± 0.05 à $0.21 \pm 0.06 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Cette baisse est suivie d'une forte augmentation à 9 mois de culture, avec l'atteinte d'un seuil de $0.71 \pm 0.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ de molécules. Les données montrent pour ce site que les explants, lorsqu'ils sont en phase d'expansion, produisent (seuls ou en symbiose avec leurs microorganismes associés) moins de substances bioactives. Si lesdites substances se destinent effectivement à leur protection contre les prédateurs (Pawlik *et al.*, 1995), un seuil élevé dès les premiers mois permettrait bien une phase de croissance subséquente qui, une fois initiée, engendrerait une diminution des teneurs comme observé dans nos données. Des explants en difficulté d'adaptation, comme nous pouvons l'observer au bout du troisième trimestre du fait d'une chute brutale des volumes moyens, sont plus sujets à la prédation ou à la colonisation par des pathogènes. De fait, leur production de

molécules défensives s'en trouve favorablement impactée. L'absence d'effectifs suffisants ne nous permet pas de poursuivre l'interprétation au-delà de cette limite des 9 mois de culture par risque de non-représentativité des résultats.

Le site du **Lagon 1** présente une évolution « en dents-de-scie », alternant des phases d'augmentation et de diminution des concentrations moyennes. Le maxima à 6 mois de culture s'élève à $0.55 \pm 0.19 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Ce profil ne semblant *a priori* pas corrélé avec la croissance telle que présentée dans le **Chapitre III**, une représentation mettant en parallèle les teneurs en métabolites et la survie aux différents stades est disponible en **Figure 54** ci-après. Après 3 mois de mise en culture, la forte disparité des profils de survie entre les sites lagunaires et récifaux ne se trouve pas corrélée à la bioactivité, qui demeure elle plutôt similaire pour tous les sites (comprise en moyenne entre 0.37 à **Avatoru** et 0.53 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ au **Lagon 1**). Au stade des 6 mois, on constate une nette hausse de survie pour le **Lagon 1** qui n'est alors plus significativement distinct des sites récifaux en termes de production de substances bioactives. Au contraire, le site du **Lagon 2** se situe toujours sous la barre des 50 % d'explants survivants et toujours statistiquement différents des autres localités à cette période. Un premier parallèle entre les deux variables est ici mis en évidence. Au seuil des 9 mois de culture, concernant la disparité significative de bioactivité des deux sites lagunaires entre eux précédemment renseignée, on constate là encore que les teneurs en métabolites inférieures s'accompagnent positivement d'un taux de survie moyen bien plus faible au **Lagon 1** qu'au **Lagon 2** (respectivement 89 et 65 % d'explants survivants).

Ces considérations ne sont pas généralisables à l'ensemble des résultats obtenus, comme discuté ci-dessus pour le stade des 3 mois. La production de métabolites secondaires dans les premiers temps n'a de fait pas obligatoirement d'incidence sur la réussite d'adaptation des explants après une transplantation depuis le récif vers le lagon. Néanmoins, il ressort bien ici que l'impact de la bioactivité sur la survie peut parfois contribuer à expliquer les divergences constatées.

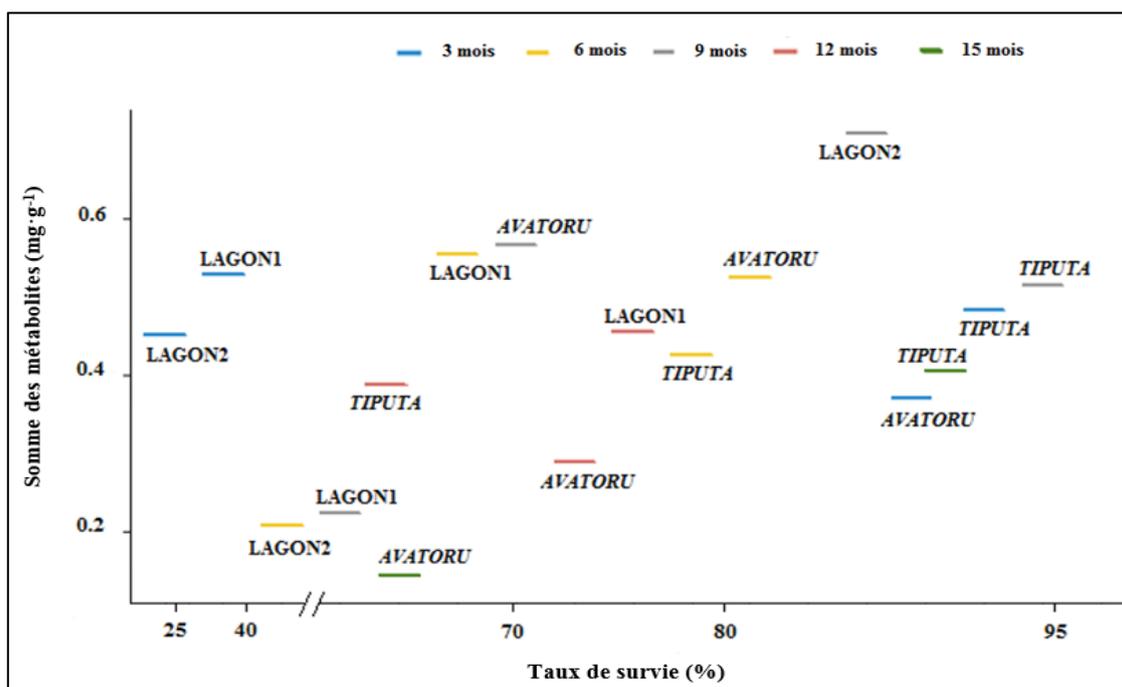


Figure 54. Corrélation entre les moyennes des taux de survie (%) et de la teneur en métabolites secondaires ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) des explants aux différents stades de culture.

Les sites externes conservent des teneurs et évolutions relativement proches les 12 premiers mois de culture, avec une tendance à la stagnation pour **Tiputa** entre $0.43 \pm 0.12 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ et $0.51 \pm 0.08 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, voire une légère augmentation pour **Avatoru** de $0.37 \pm 0.12 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ à $0.57 \pm 0.15 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Ces profils sont suivis d'une diminution au bout d'un an pour les deux sites. Là encore, un parallèle avec la croissance, qui n'évolue quasiment pas au cours des 9 premiers mois mais à l'inverse augmente fortement au bout d'un an, est à noter. Une représentation croisée des deux variables est disponible en **Figure 55** ci-dessous. Cependant, de la même manière que pour la survie, la généralisation de ce rapprochement n'est pas pertinente. En effet, on observe au stade des 3 mois que malgré le fait que **Tiputa** et le **Lagon 2** se démarquent en termes de volumes moyens des explants toujours en place, l'existence d'une bioactivité similaire aux deux sites ne permet pas de mettre en avant une relation entre les deux variables. De même, l'atteinte du seuil des 12 mois de mise en culture qui s'accompagne d'un accroissement volumétrique maximal sur la barrière récifale ne présente pas des teneurs élevées en métabolites, mais au contraire plutôt modérées voire faibles concernant **Avatoru** (minima atteint de $0.29 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$). À compter du 15^{ème} mois de culture, les évolutions entre les deux sites externes divergent. Si **Tiputa** conserve une production de métabolites secondaires plutôt constante à partir d'un an de mise en culture, avec des moyennes qui oscillent entre $0.38 \pm 0.05 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ à 12 mois et $0.41 \pm 0.06 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ à 15 mois, **Avatoru** présente des variations plus marquées pour cette période, passant en l'espace du même trimestre de $0.29 \pm 0.02 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ à $0.14 \pm 0.04 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$. Ce différentiel de bioactivité entre **Tiputa** et **Avatoru** au même stade de développement s'accorde positivement à la fois avec la survie (respectivement 92 et 67 % d'explants survivants), mais également avec la croissance (respectivement 86 et 68 cm³ en moyenne). L'existence de conditions environnementales favorables permettant un seuil minimal d'activité biologique au site de **Tiputa** est à envisager. Une nouvelle fois, ce site se positionne donc comme étant le plus favorable à la spongiculture *in situ* de *Dactylospongia metachromia*.

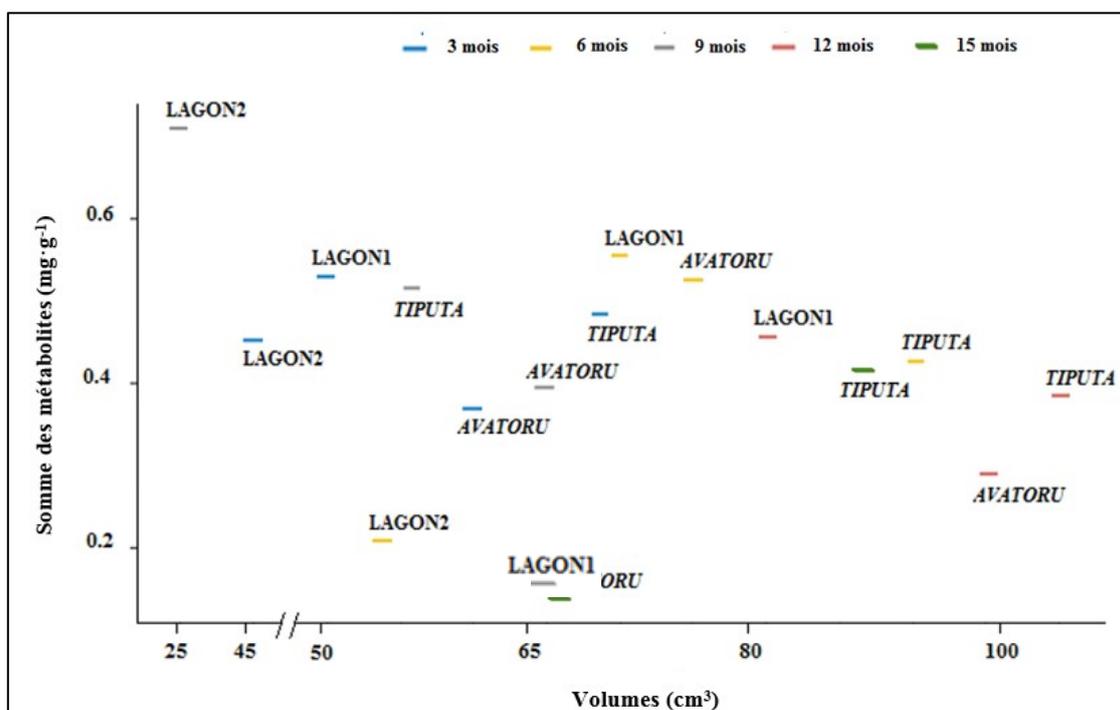


Figure 55. Corrélation entre les moyennes des volumes (cm³) et de la teneur en métabolites secondaires (mg·g⁻¹) des explants aux différents stades de culture.

L'influence de paramètres environnementaux sur la teneur en métabolites secondaires chez *Dactylosporgia metachromia* est explorée dans la section suivante. Ceci afin de pouvoir davantage expliquer les profils observés, non plus au niveau des effets qu'ils produisent sur les performances de culture mais via une recherche de ce qui pourrait les engendrer.

IV. 2. Concordance des profils de bioactivité avec l'environnement

Pour pouvoir effectuer une comparaison avec les paramètres environnementaux, les données de bioactivité ont été regroupées en mois et années de suivi. Des analyses statistiques sur les évolutions constatées à cette échelle temporelle, disponibles en **Figure 56** ci-après, renvoient une forte différence significative mensuelle (Kruskal-Wallis, $P < 0.0001$), bien que les variations constatées ne présentent aucune tendance générale et s'établissent de manière totalement aléatoire. Si l'on regroupe les résultats par année pour une meilleure interprétation, une différence significative est observée entre les échantillons collectés en 2019 et 2020 (Kruskal-Wallis, $P < 0.05$), avec des teneurs globalement plus élevées la première année par rapport à la suivante. Ce résultat est à mettre en parallèle avec les données de survie, qui ont de la même manière conduit à une disparité entre ces deux années, avec toutefois pour 2019 des pourcentages d'explants survivants inférieurs à 2020. Les deux variables se trouvant ici négativement corrélées, nous pouvons à nouveau supposer l'existence d'une action défensive des métabolites secondaires ciblés, qui seraient de fait globalement davantage sécrétés les années où les explants expriment une plus grande difficulté d'accommodation à la mise en culture. Une croissance plus faible en 2019 peut, avec un moindre impact, venir appuyer ces analyses bien qu'elle se démarque plutôt en 2021 qu'en 2020.

Pour ce qui est des quatre sites de l'étude, aucune différence significative ne ressort de la comparaison des concentrations issues des extraits entre chacun d'eux (Kruskal-Wallis, $P > 0.05$).

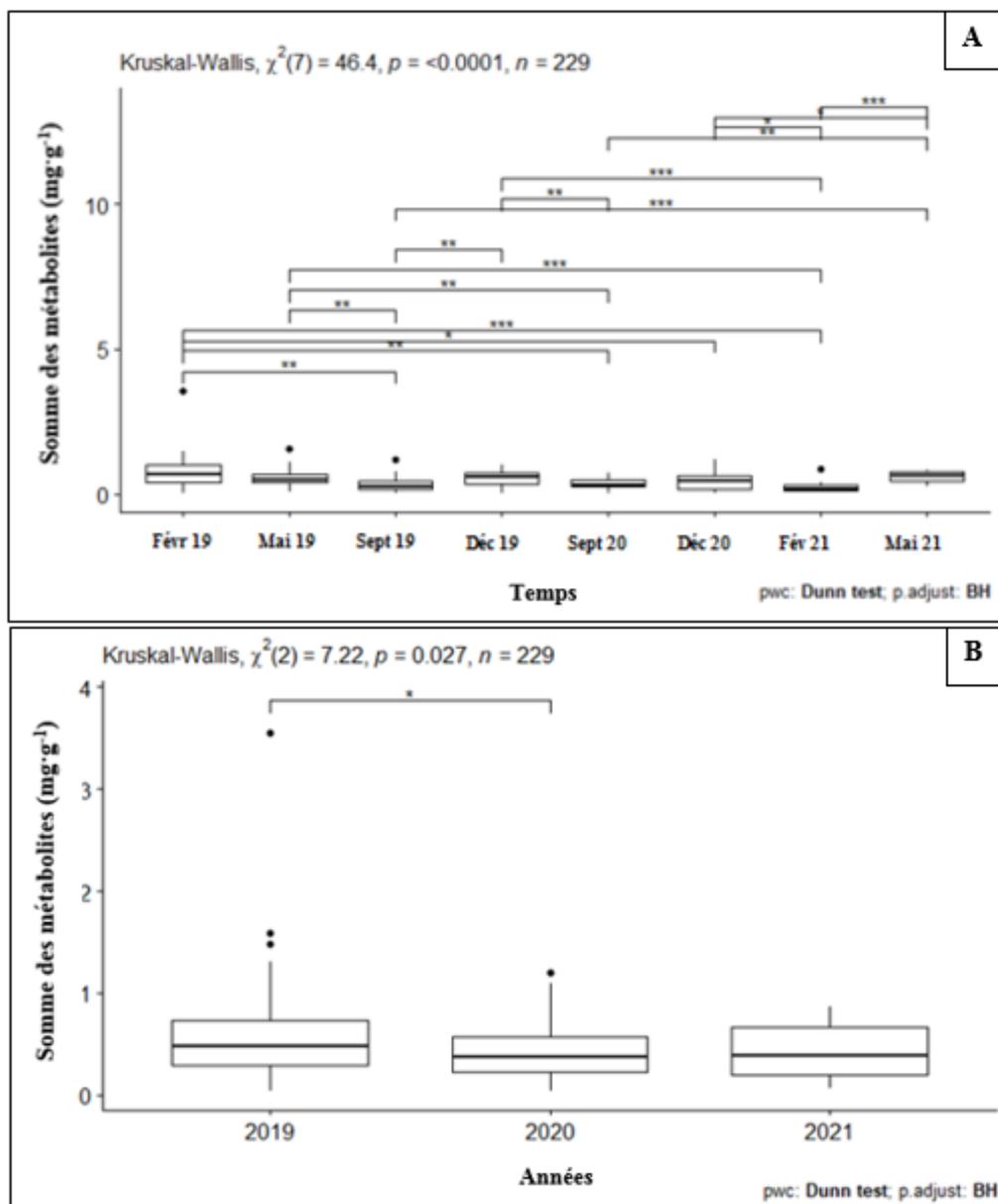


Figure 56. Différences significatives entre les différents mois (A) et années (B) de suivi quant à la somme des deux métabolites secondaires d'intérêt ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) dans les extraits d'éponge. Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut des graphiques.

Par comparaison avec les résultats obtenus au **Chapitre IV**, la seule variable environnementale ayant montré un profil temporel positivement corrélé aux différences renvoyées ci-dessus est la teneur en **composés azotés**. Toutefois, un couplage des données de bioactivité et des concentrations en NO_x dans une analyse de variance à plusieurs facteurs n'aboutit pas à un effet d'interaction significatif pour discriminer entre elles les années de suivi (ANOVA, $P > 0.05$). À l'inverse, il existe une corrélation négative avec la **chlorophylle a** et la **biomasse picophytoplanctonique** qui figurent conjointement des richesses plus marquées en 2020 qu'en 2019 (voir **I. 3.** du Chapitre IV). Des valeurs élevées de ces deux variables s'accompagnent effectivement d'une diminution de la production de métabolites secondaires (**Figure 57**). Cette observation permet ici de supposer qu'un milieu riche en sources de nourriture d'origine planctonique pour *Dactylospongia metachromia* permettra la mise à profit

par l'éponge et son holobionte du métabolisme énergétique, notamment via l'alimentation, au détriment des échanges et adaptations biochimiques.

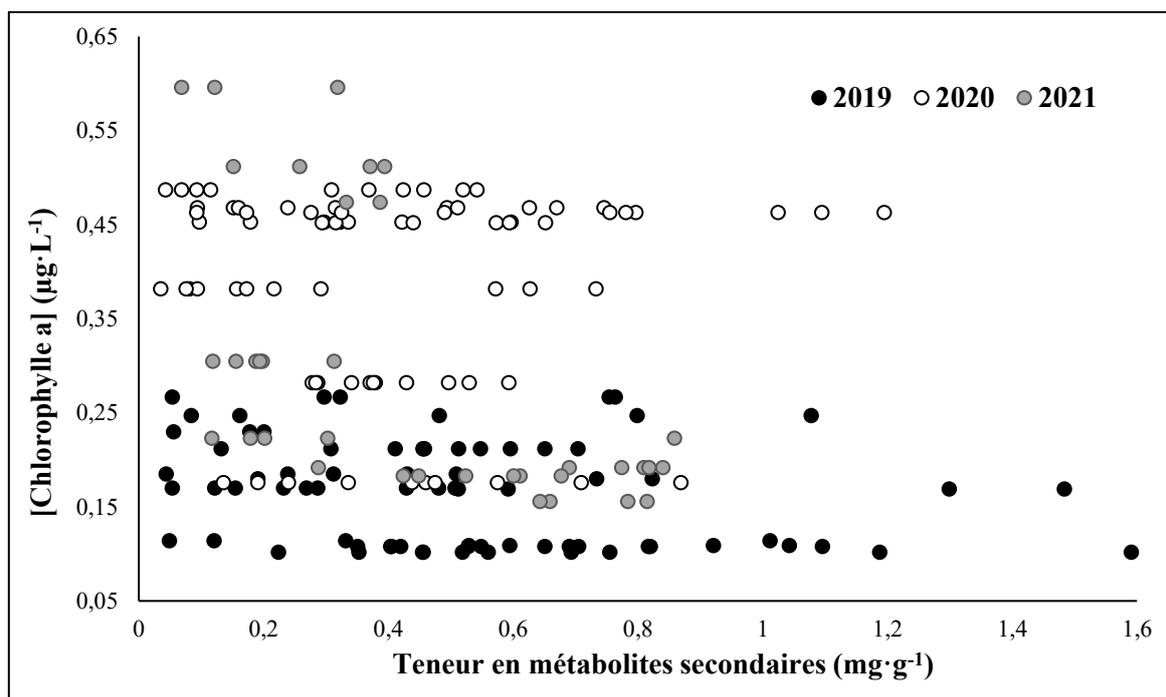


Figure 57. Évolution temporelle de la teneur en composés bioactifs (somme de l'ilimaquinone et de la 5-épiilimaquinone) dans les extraits ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) en fonction des concentrations en chlorophylle a ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) dans le milieu.

V. INHIBITION DU QUORUM SENSING DE PATHOGÈNES MARINS

De très nombreuses bactéries Gram-positives ou Gram-négatives utilisent le mécanisme de détection du quorum (ou « quorum sensing », noté QS) afin d'évaluer leur propre densité en partageant des molécules de communication bactériennes ou des auto-inducteurs sécrétés dans le milieu extérieur. Concernant les bactéries pathogènes, il a été observé chez un grand nombre d'entre elles que l'expression des gènes impliqués dans des fonctions variées telles que la virulence, la bioluminescence et la formation de biofilms, était également sous le contrôle du QS. Par là-même, elles minimisent les potentielles réponses immunitaires de l'hôte qu'elles colonisent jusqu'à ce que la population microbienne soit suffisamment élevée afin que l'infection puisse s'établir (Hentzer *et al.*, 2003).

Les risques sanitaires affiliés à l'aquaculture sont des freins importants pouvant avoir des répercussions technico-économiques majeures. Ainsi, en Polynésie française, un pathogène marin prédominant a été isolé et identifié dans les élevages de *Platax orbicularis*. Il s'agit de l'espèce *Tenacibaculum maritimum*, associée à la pathologie dénommée « ténacibaculose », qui peut engendrer des mortalités allant jusqu'à près de 90 % des effectifs lors de la phase ciblée du pré-grossissement en cage lagonaire des juvéniles de poissons (Lopez *et al.*, 2022). De plus, des bactéries opportunistes appartenant à l'espèce *Vibrio harveyi* sont également présentes en Polynésie française et associées aux épisodes de mortalité précédemment évoqués, quoique de façon non systématique selon les élevages. Ces dernières ont une aire de répartition mondiale et certaines souches sont responsables de pertes économiques importantes chez un grand nombre d'espèces aquacoles (mollusques, poissons et crustacés) (Schikorski *et al.*, 2013). Leur virulence est régulée par un QS largement documenté dans la littérature et qui permet à

des bactéries d'espèces différentes de collaborer entre elles, notamment sur le plan de la pathogénicité et de la résistance aux antimicrobiens (Bassler *et al.*, 1997 ; Chen *et al.*, 2020).

La mise en évidence de substances engendrant l'inhibition du quorum sensing (ou QSi) dans un contexte de réduction de ces taux préoccupants pourrait permettre d'endiguer les infections en empêchant la communication entre les bactéries. Plusieurs composés bioactifs issus d'algues, de plantes voire d'éponges ont été testés *in vitro* sur une souche biosenseur du QSi nommée BB120 et appartenant à *Vibrio harveyi* (Mai *et al.*, 2019 ; Zubia *et al.*, 2020). Dans une suite logique de recherche d'alternatives à l'usage d'antibiotiques, pouvant en effet sur le long terme se révéler délétères de par le phénomène connu d'antibiorésistance des bactéries (Blair *et al.*, 2015), nous avons effectué des expérimentations au Centre Ifremer du Pacifique (Vairao, Tahiti) afin d'évaluer le potentiel antibactérien des métabolites secondaires majoritaires identifiés dans les extraits bruts de *Dactylospongia metachromia*. Les tests ont été réalisés non seulement sur l'espèce *Vibrio harveyi* précédemment mentionnée (souche BB120 et souches associées à des épisodes de ténacibaculose dans les élevages de *Platax orbicularis*), mais également sur des souches appartenant au genre *Tenacibaculum*.

V. 1. Matériels et Méthodes

Deux standards et cinq extraits bruts de concentrations distinctes en ilimaquinone et 5-épiilimaquinone solubilisés dans du MeOH ont été mis en présence de souches bactériennes préalablement cultivées en bouillons de culture. Les produits sélectionnés par rapport à la concentration minimale en ilimaquinone établie à $1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ sont répertoriées dans le **Tableau XV** ci-dessous, tandis que le **Tableau XVI** ci-après détaille les différentes espèces retenues provenaient de la souche de l'Ifremer ainsi que leurs caractéristiques.

Tableau XV. Liste des produits testés avec leurs concentrations en métabolites secondaires.

Dénomination	Nature	Concentration ilimaquinone ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	Concentration 5-épiilimaquinone ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
S1	Standard ilimaquinone	1	-
S2	Standard 5-épiilimaquinone	-	1
P1	Extrait brut	1.41	0.19
P2	Extrait brut	3.01	0.54
P3	Extrait brut	1.11	0.38
P4	Extrait brut	1.01	0.19
P5	Extrait brut	1.08	Traces (non quantifiable)

CHAPITRE V : ÉTUDE DU POTENTIEL CHIMIQUE

Tableau XVI. Liste des espèces et souches bactériennes testées (T = souche-type). Les souches surlignées en jaune sont des souches virulentes (pour *Tenacibaculum maritimum*) ou associées aux épisodes de ténacibaculose (pour *Vibrio harveyi*) ayant été isolées en Polynésie française chez le *Platax orbicularis*. Les souches grisées non pathogènes du genre *Tenacibaculum* ont également été isolées en Polynésie française chez ce même poisson d'élevage. Toutes les autres souches non surlignées sont des souches de référence.

Espèce	Type	Famille	Souche
<i>Tenacibaculum maritimum</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	NCIMB 2154(T)
<i>Tenacibaculum maritimum</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	NCIMB 2158
<i>Tenacibaculum gallaicum</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	A37.1(T)
<i>Tenacibaculum discolor</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	LL04 11.1.1(T)
<i>Tenacibaculum maritimum</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	O1
<i>Tenacibaculum maritimum</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	O2
<i>Tenacibaculum maritimum</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	TFA4 (O3)
<i>Tenacibaculum mesophylum</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	Aq9-67
<i>Tenacibaculum skagerrakense</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	4-A1
<i>Tenacibaculum jejuense</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	4-A2
<i>Tenacibaculum litopenaei</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	4-B3
<i>Tenacibaculum holothuriorum</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	4-B5
<i>Tenacibaculum xiamenense</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	4-C4
<i>Tenacibaculum geojense</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	10-C3
<i>Tenacibaculum litopenaei</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	10-E4
<i>Tenacibaculum holothuriorum</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	10-F3
<i>Tenacibaculum aestuarii</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	10-G9
<i>Tenacibaculum aestuarii</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	10-I3
<i>Tenacibaculum sp.</i>	Gram-négative	Flavobacteriaceae	Non décrite (New T 3)
<i>Vibrio coralliilyticus</i>	Gram-négative	Vibrionaceae	CIP 107925(T)
<i>Vibrio rotifer</i>	Gram-négative	Vibrionaceae	A186(T)
<i>Vibrio alginolyticus</i>	Gram-négative	Vibrionaceae	LMG 4409(T)
<i>Vibrio harveyi</i>	Gram-négative	Vibrionaceae	BB120
<i>Vibrio harveyi</i>	Gram-négative	Vibrionaceae	LMG 7890(T)
<i>Vibrio harveyi</i>	Gram-négative	Vibrionaceae	001/10
<i>Vibrio harveyi</i>	Gram-négative	Vibrionaceae	003/10
<i>Vibrio harveyi</i>	Gram-négative	Vibrionaceae	013/10

Pour les tests en milieu solide, ils ont ciblé la croissance de bactéries du genre *Tenacibaculum* (souches représentantes des sérotypes O1, O2 et O3) en présence des sept produits concentrés à 50 µg·mL⁻¹ dans de la gélose sur boîte de Pétri (Zobell, Becton, Dickinson and Co. : Bacto™ peptone, 5 g ; BBL™ extrait de levure, 1 g ; Bacto™ agar, 17 g ; eau de mer stérilisée, 1 L). 50 µL d'une suspension bactérienne à saturation ont ensuite été étalés au râteau stérile sur les géloses. Une observation à l'œil nu des boîtes, après incubation de plusieurs heures à 27 °C, permettait de se rendre compte de l'éventuel développement d'un tapis microbien.

Pour les tests en milieu liquide, toutes les bactéries listées ci-dessus ont été employées. 10 µL de chaque produit à tester ont été manuellement introduits, selon un plan de plaque préétabli, dans une microplaque de 96 puits à fond transparent (Greiner Bio-One, Allemagne). La plaque a ensuite été séchée à température ambiante sous une hotte à flux pour éliminer l'excès de MeOH des puits. Ces derniers ont par la suite été comblés avec 100 µL de milieu Marine Broth 2216 (Difco, Becton, Dickinson and Co., Franklin Lakes, New Jersey, USA) avant que la plaque ne soit soniquée 30 min dans un bain US. Une suspension bactérienne de souche pure a été

obtenue après incubation d'un tube Falcon à 27 °C pendant une nuit sous agitation constante. Cette suspension bactérienne a été diluée au 1/200^{ème} dans du milieu Marine Broth 2216 après avoir atteint la phase de plateau de sa croissance. 100 µL de cet inoculum bactérien ont enfin été ajoutés à la micropipette dans les puits correspondants (hors témoins du milieu et des produits seuls). Chaque microplaque a été lue pendant 720 min, avec une acquisition des données d'absorbance et éventuellement de luminescence toutes les 10 min, dans un lecteur FLUOstar® Omega (BMG Labtech, Allemagne) à l'aide du logiciel OPTIMA Control. À la fin des 72 cycles, le logiciel OPTIMA Data Analysis a été utilisé afin de traiter les données de cinétique obtenues.

Dans une tentative de recherche de la dose minimale provoquant l'inhibition de la croissance bactérienne, chacun des sept produits a été mis en présence de la souche BB120 de *Vibrio harveyi* ainsi que des souches O1, O2 et O3 de l'espèce *Tenacibaculum maritimum* à différentes concentrations allant de 1.25 à 50 ppm. Les cinétiques d'absorbance à 340 nm ont ainsi été comparées avec les témoins bactériens non traités. De la même manière, les produits P3 et P5 ont été testés à 10 ppm sur l'ensemble des souches mentionnées dans le **Tableau XV**. Un retard significatif d'absorbance, exploré par le contraste des valeurs de DO des tangentes au point d'inflexion des sigmoïdes (i.e. endroit où la tangente à la pente se trouve être maximale), était interprété comme l'existence d'un effet **bactériostatique** du produit en présence. Une absence de cinétique conférait par ailleurs audit produit une propriété **bactéricide** contre la souche testée (i.e. coefficient directeur de la pente nulle).

La sensibilité aux antibiotiques des souches testées a été préalablement déterminée en milieu solide par la méthode de diffusion sur des disques contenant de l'ampicilline et de la gentamicine à raison de 10 µL par disque (Bauer *et al.*, 1966 ; Mayer *et al.*, 2015 ; Yudiati & Azhar, 2021). Une inhibition de croissance pour le genre *Tenacibaculum* (sérotypes O1, O2 et O3) a effectivement été observée en présence d'ampicilline. Le même effet a été constaté pour le genre *Vibrio* (souche BB120) en présence de gentamicine. Ces observations ont également été validées en milieu liquide après lecture des microplaques. De même, un contrôle négatif contenant uniquement du milieu Marine Broth a systématiquement été instauré dans chaque expérimentation afin de juger de la non-contamination dudit milieu.

V. 2. Résultats et Discussion

V. 2. 1. Tests en milieu solide

Après plus de 72 h d'incubation des boîtes de Pétri, aucune croissance bactérienne n'a été observée après ajout des différents produits à 50 µg·mL⁻¹, ceci quelle que soit la souche (ou sérotype) de *Tenacibaculum maritimum* testée (O1, O2 et O3).

Les essais ont été reproduits dans les mêmes conditions à des concentrations inférieures de 10 et 5 µg·mL⁻¹. Ils ont notamment permis de confirmer un effet **bactéricide** de l'ensemble des sept produits par une absence totale de repousse au seuil de 10 µg·mL⁻¹, tandis qu'un tapis microbien était déjà visible 48 h après la mise en incubation au seuil de 5 µg·mL⁻¹ (**Photo 15**).

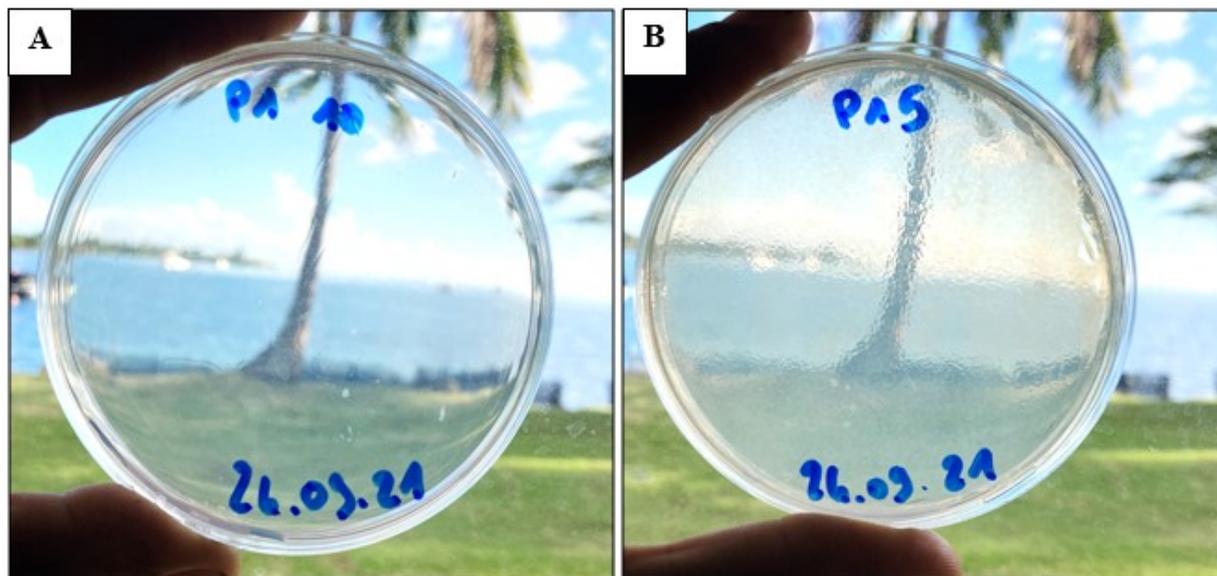


Photo 15. Résultats des tests en milieu solide 72 h après étalement sur boîte de Pétri du produit P1 à $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (gauche) et $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (droite) en présence de la souche TFA4 (sérotype O3) du pathogène *Tenacibaculum maritimum*.

©Denis SAULNIER (IFREMER, UMR 241 - EIO)

V. 2. 2. Tests en milieu liquide

Pour le genre *Vibrio*, on constate un retard de luminescence chez la souche de référence BB120 de l'espèce *Vibrio harveyi*, avec un délai d'atteinte du seuil de saturation des 2.10^5 Relative Forming Unit (RFU) du témoin s'étalant de 20 min (standard S2) à 240 min (produit P1) comparativement au témoin. Aucune corrélation nette entre la proportion de chaque épimère dans les produits et leur activité QSi sur l'inhibition de la luminescence de la bactérie BB120 n'a pu être mise en évidence. En revanche, pour ce qui est des deux standards, l'ilimaquinone semble ici avoir un effet bien plus marqué que son épimère, avec un écart notable de 160 min entre les deux QSi (**Figure 58**).

Aucun effet antibiotique des différents produits testés sur l'absorbance de ce genre bactérien n'a globalement été mis en évidence pour l'ensemble des souches du **Tableau XVI**, y compris pour le sérotype BB120 (**Figure 59 D**), de par la similitude du profil de croissance des témoins seuls avec celui obtenu lorsqu'ils sont mis au contact des standards ou extraits sélectionnés.

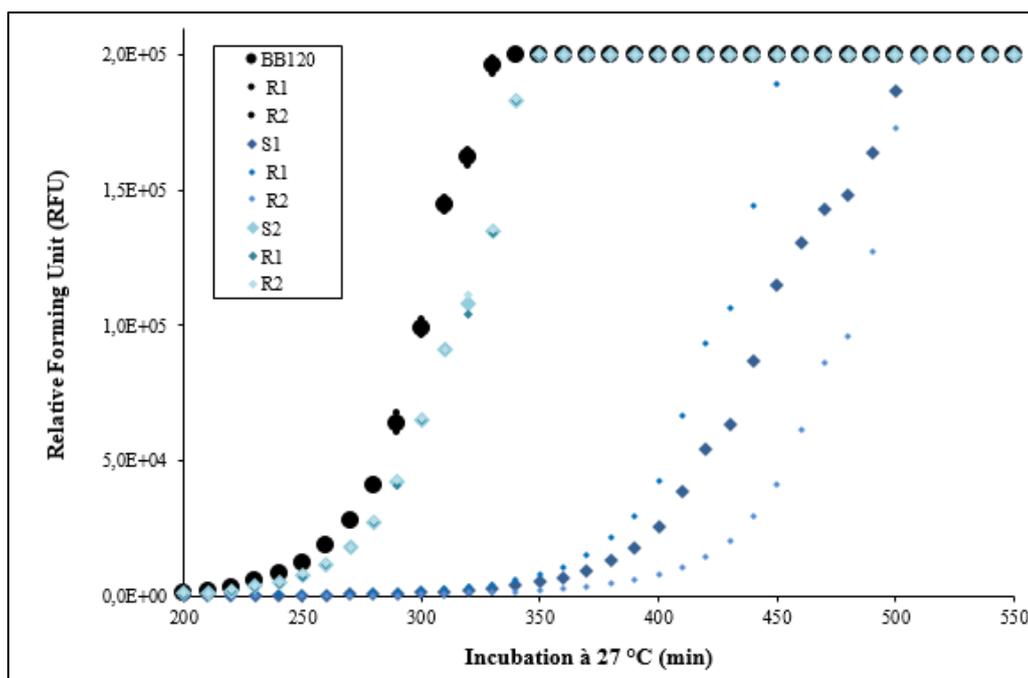


Figure 58. Effets des standards ilimaquinone (S1) et 5-épiilimaquinone (S2) sur la luminescence de la bactérie *Vibrio harveyi* (souche BB 120). R1 = réplique 1 et R2 = réplique 2.

Des essais préliminaires d'hémisynthèses des deux composés investigués ici, ayant pour objectif de diminuer leur cytotoxicité sur des lignées cellulaires humaines, ont conduits à des résultats ambigus sur le QS de la même souche BB120 de *Vibrio harveyi* (Evanno *et al.*, 2018). Les composés obtenus par réarrangements moléculaires présentaient en effet des profils tour à tour activateurs ou inhibiteurs. À 50 ppm, l'ilimaquinone et la 5-épiilimaquinone renvoyaient des retards de bioluminescence de 40 et 30 min respectivement par rapport au témoin bactérien. La présente étude fait au contraire état de respectivement 180 et 20 min, soit pour l'ilimaquinone un effet bien plus important sur les protéines de virulence de cette bactérie. Le meilleur délai observé dans les travaux cités ci-avant correspond à 150 min pour un composé également cytotoxique obtenu suite à la déméthylation de l'ilimaquinone par chauffage à reflux (solution d'éthanol et d'hydroxyde de sodium), soit près de 100 min de moins que le produit **P1** testé ici et qui se trouve être le plus concentré en ilimaquinone de tous les extraits.

Ces considérations ont motivé le choix de poursuivre les tests en s'intéressant à présent au pathogène *Tenacibaculum maritimum*. Les résultats obtenus ci-dessous mettent en évidence une relative spécificité d'action de type **bactéricide** sur ce pathogène (**Figure 59 A**), par opposition aux autres bactéries étudiées (**Figure 59 B, C et D**). Les souches ayant présentées des profils d'absorbance similaires aux exemples donnés en **Figure 59 B** et **Figure 59 C** concernent respectivement les espèces *Tenacibaculum gallaicum* (sérotypage A37.1(T)) et *Tenacibaculum discolor* (sérotypage LL04 11.1.1(T)). Les doses-réponses minimales engendrant une telle action, dont le mécanisme reste inconnu à ce jour, divergent selon les produits considérés. Ainsi, la plus petite concentration bactéricide pour l'ensemble des sept produits testés s'élève à 10 ppm et ceci pour toutes les souches retenues pour cette espèce (NCIMB 2154(T), NCIMB 2158, O1, O2 et O3).

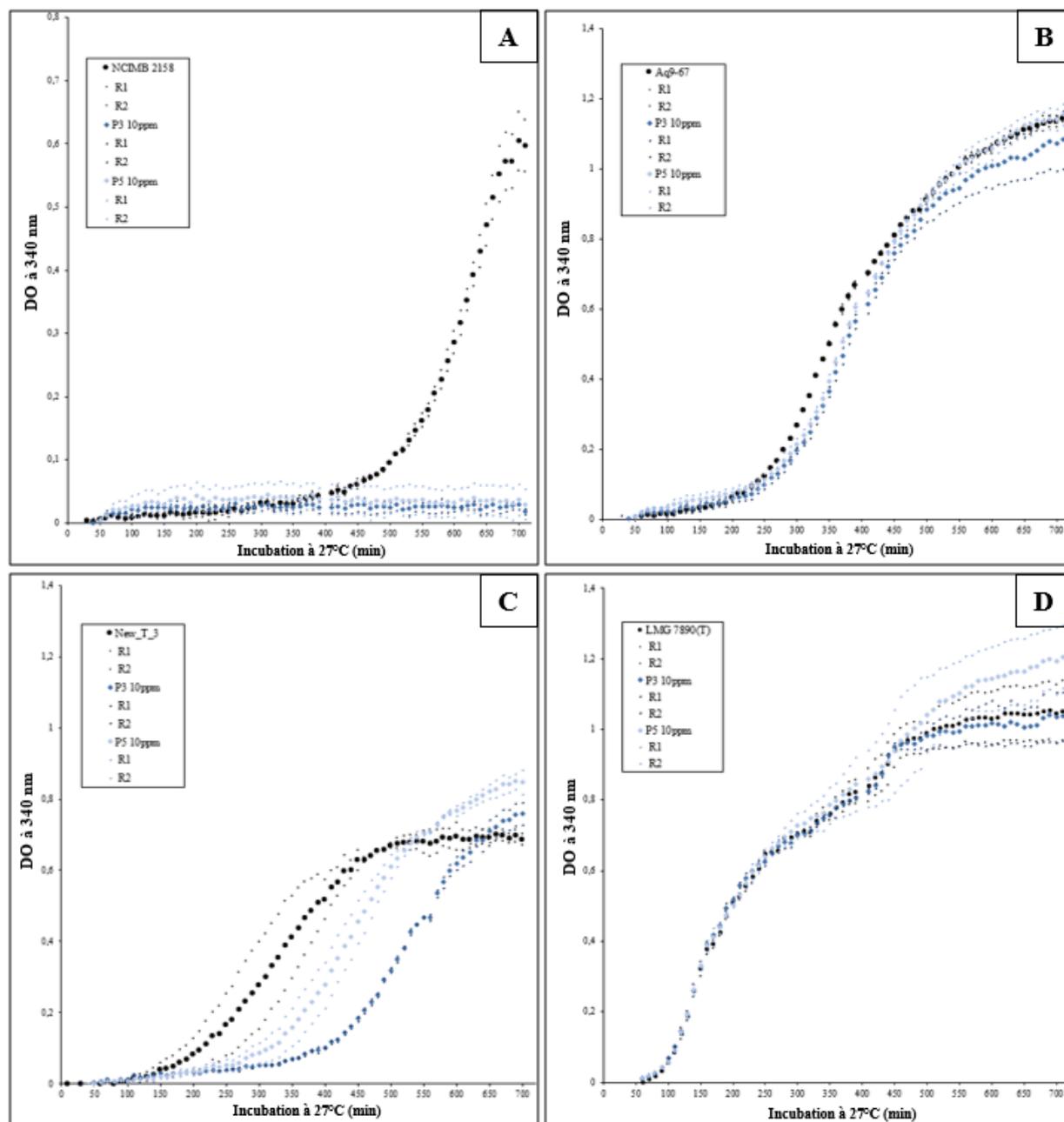


Figure 59. Effets antibiotiques de deux produits (extraits 3 et 5) sur l'absorbance de quatre pathogènes distincts à $10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ (A = *Tenacibaculum maritimum* souche-type NCIMB 2158 ; B = *Tenacibaculum mesophyllum* souche Aq9-67 ; C = *Tenacibaculum* sp. souche non décrite (New_T_3) ; D = *Vibrio harveyi* souche BB120). R1 = réplique 1 et R2 = réplique 2.

Des essais plus approfondis sur la souche de référence TFA4 (O3) qui a déjà fait l'objet de plusieurs travaux (Alix *et al.*, 2020 ; Schull *et al.*, 2020 ; Le Luyer *et al.*, 2021 ; Lopez *et al.*, 2022) montrent que ce minimum peut être réduit à 2.5 ppm, notamment pour les standards S1 et S2, ces derniers engendrant déjà à cette concentration une absence de cinétique bactérienne (Figure 60).

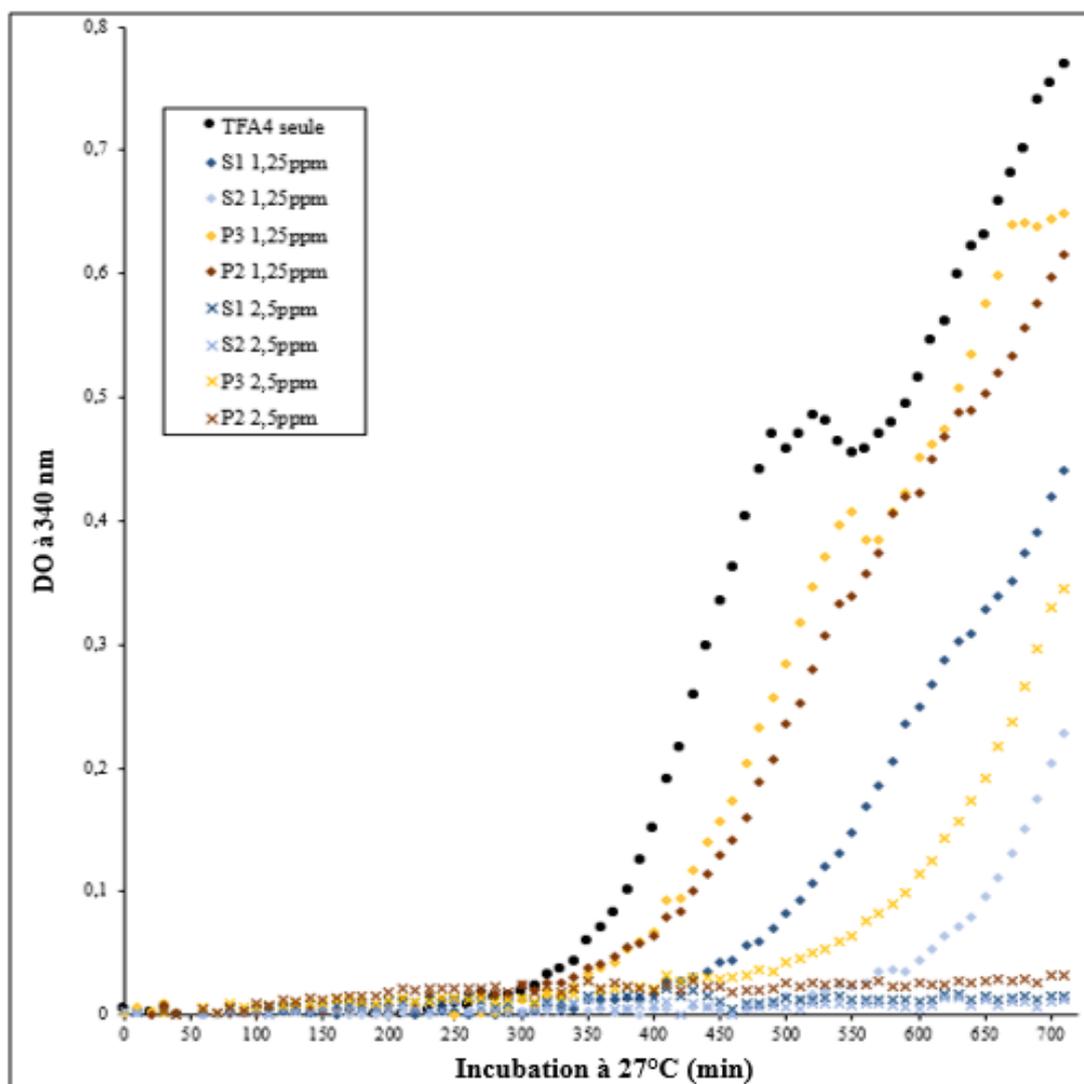


Figure 60. Effets antibiotiques de quatre produits (standards 1 et 2 et extraits 2 et 3) sur l'absorbance de la souche TFA4 (sérotype O3) de *Tenacibaculum maritimum* à 2.5 et 1.25 ppm.

Les réponses **bactériostatiques** au seuil de 1.25 ppm ont été mises en évidence pour l'ensemble des produits et standards par régression polynomiale et analyses de variance des ordonnées à l'origine liées aux différentes courbes d'absorbance sur leurs portions rectilignes comparativement au standard. Une différence significative des valeurs au seuil de 95 % d'intervalle de confiance, telle que démontrée en **Figure 61** ci-après pour l'exemple du produit P3 (ANOVA, $P < 0.05$), indique une cinétique différente d'avec le témoin et donc un impact négatif sur la croissance bactérienne de la souche de *Tenacibaculum maritimum* concernée.

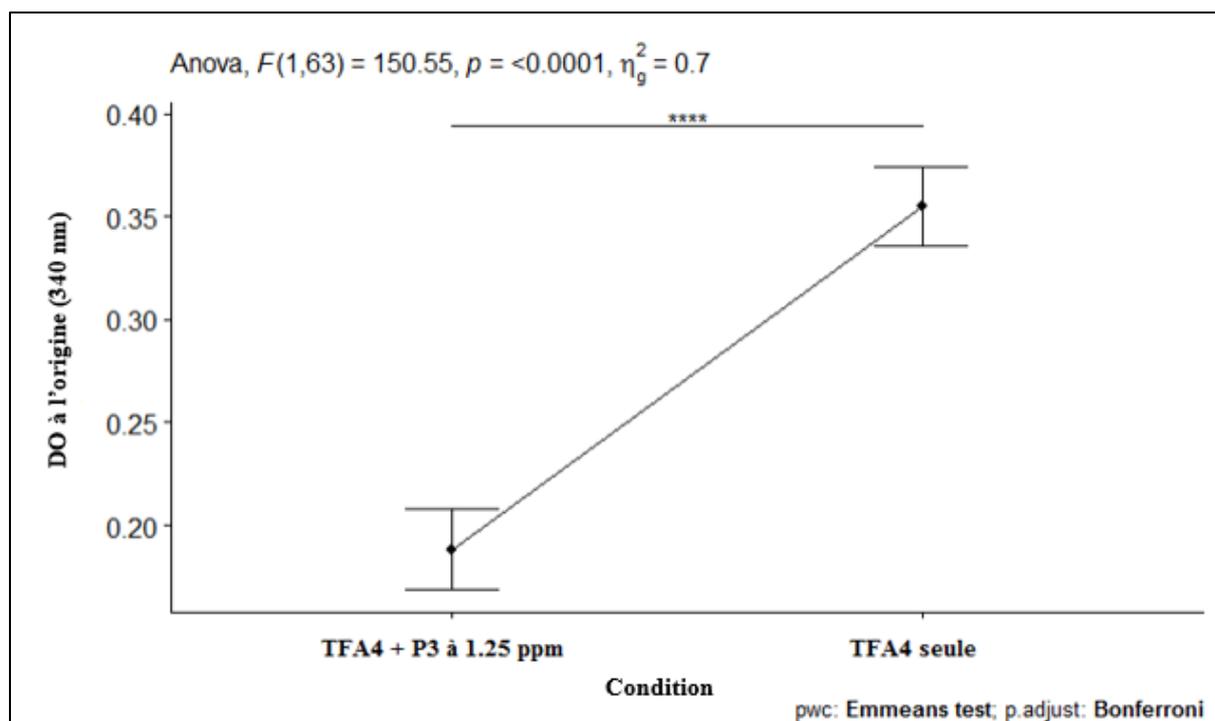


Figure 61. Différence significative entre les intercepts à l'origine de l'absorbance à 340 nm pour la souche TFA4 additionnée du produit P3 à 1.25 ppm (gauche) comparé à la même souche bactérienne seule (droite). Les résultats de l'analyse statistique sont affichés en haut du graphique.

Une relecture de plaque pour la concentration de 2.5 ppm a été entreprise 6 h après la fin du 72^{ème} cycle, soit au bout de 1070 min d'incubation et l'on y constate une légère reprise de la croissance bactérienne pour P1, P3 et P5 tandis que P2, S1 et S2 restent bactéricides à ce stade. Ces résultats sont intéressants, si l'on part du principe qu'un effet bactéricide trop marqué est effectivement à éviter pour s'affranchir du risque d'antibio-résistance des souches face à de potentiels futurs essais *in vivo*. Concernant les autres espèces du genre *Tenacibaculum*, des actions **bactériostatiques** à 10 ppm ont été démontrées chez certaines comme *Tenacibaculum discolor*, *Tenacibaculum holothuriorum* et *Tenacibaculum aestuarii* (souche 10-G9).

CONCLUSION DU CHAPITRE

De faibles teneurs relatives en métabolites secondaires ont été obtenues dans les extraits de *Dactylosporgia metachromia* au regard des impératifs souvent attendus par l'industrie pharmaceutique, qui dépasseront de fait l'offre disponible à court et moyen termes afin notamment d'asseoir certains tests cliniques (Sipkema *et al.*, 2005 ; Malve, 2016). L'aquaculture visant à maximiser les stocks et la biomasse exploitable de cette éponge marine apparaît ainsi définitivement comme une option plus durable sur le long terme que des récoltes de spécimens sauvages à des fins de valorisation chimique.

La méthodologie présentée dans ce chapitre, minimisant particulièrement l'emploi de solvants chimiques, a montré sa pertinence de par l'extraction avérée des deux métabolites secondaires désirés, à savoir l'ilimaquinone et la 5-épiilimaquinone. Une recherche de composés minoritaires entreprise sur certains extraits bruts a attesté de l'absence d'autres molécules en quantités exploitables, les rares pics observés sur les chromatogrammes et relatifs à d'autres composés que les deux précités n'étant visibles qu'à l'état de traces.

Les ratios diastéréoisomères intraspécifiques entre les deux molécules se sont révélés très hétérogènes selon les spécimens d'éponge considérés pour un même site, avec une prévalence de l'ilimaquinone dans la grande majorité des extraits. Toutefois, les moyennes globales des teneurs en composés obtenues au cours du suivi ne permettent pas de discriminer les sites entre eux au cours du premier semestre de mise en culture. Idéalement, un élevage *in situ* destiné exclusivement à la production de composés bioactifs d'intérêt pharmacologique issus de cette espèce pourrait donc bien s'effectuer dans certaines localités du lagon, pourvu qu'elles figurent des conditions environnementales favorables telles que renseignées dans le **Chapitre IV**. Néanmoins, le site de **Tiputa** figurant le profil d'expression biochimique le plus constant au fil du temps, il apparaît définitivement comme le plus pertinent au regard des attentes pour ce niveau d'exploitation également.

Les forts taux de mortalité vers les derniers mois du suivi ont conduit, notamment aux deux sites lagonaires, à des moyennes faiblement représentatives car basées sur un nombre restreint d'individus survivants. Toutefois, plusieurs observations renseignées dans ce chapitre laissent pressentir une implication active des molécules dans les mécanismes de survie et de croissance de l'organisme. De très nombreux métabolites secondaires issus des éponges (seules ou en association avec leur microbiote) ont effectivement démontrés des activités de protection et de défense de l'animal face aux agressions extérieures qu'il est susceptible de subir (Weiss *et al.*, 1996 ; Thakur *et al.*, 2003 ; Thoms *et al.*, 2006). Lorsque l'éponge est en souffrance, elle est de fait plus sensible aux attaques de divers prédateurs et colonisateurs, ce qui aurait pour effet d'accroître la sécrétion de composés bioactifs destinés à les éloigner. Dans notre cas, il semble qu'une production élevée de métabolites soit notamment plébiscitée en cas de défaut d'adaptation au milieu de l'organisme, en particulier lors de périodes de pauvreté plus marquée en alimentation phytoplanctonique. Sources potentielles de stress, ces conditions défavorables engendrent une croissance du spongiaire négativement perturbée en aval, tel que démontré chez d'autres espèces (Becerro *et al.*, 1997 ; Goodwin *et al.*, 2014).

L'ilimaquinone de synthèse compte déjà parmi les catalogues de nombreux laboratoires internationaux (e.g. Cayman Chemical, Adipogen Life Sciences, Alfa Aesar, Usbiological). Généralement purifiée à plus de 98 %, elle se vend majoritairement au format 100 µg pour des prix s'étalant de 125 à près de 650 \$. Sa production *in vitro* complète, offrant un rendement prometteur de 33 %, est désormais possible en seulement sept étapes (Katoh *et al.*, 2017). Concernant la mise en place d'une activité aquacole dédiée à l'exploitation de ce métabolite secondaire et de son épimère 5-épiilimaquinone, qui ne se trouve pas encore sur le marché actuellement, une étude économique préliminaire est essentielle à conduire afin de pouvoir déterminer une politique adéquate de prix de vente et de revient dans l'optique de rester compétitif face aux diverses sociétés de commercialisation existantes.

Au contraire de l'absence d'activité démontrée par les métabolites secondaires majoritaires retrouvés chez *Dactylospongia metachromia* sur la croissance de la bactérie *Vibrio harveyi*, des résultats très prometteurs ont été obtenus concernant l'inhibition du QS de l'espèce *Tenacibaculum maritimum*. Les standards des deux molécules brutes d'ilimaquinone et de 5-épiilimaquinone font particulièrement état d'une forte action bactéricide sur ce pathogène dès 2.5 ppm. Pour les extraits issus d'éponges lyophilisées, la dose minimale bactéricide, qui semble à première vue non corrélée avec la proportion de chacun des deux composés à l'intérieur, se ramène de manière générale à 10 ppm. Quant aux autres espèces du même genre bactérien, des actions bactériostatiques encourageantes sur certaines seulement dénotent de

potentielles spécificités d'action qu'il conviendrait d'explorer plus en profondeur dans de futures expérimentations (i.e. existence de traits microbiologiques communs aux espèces sensibles à l'action de ces composés naturels ?).

Cette sélectivité se trouve particulièrement intéressante concernant les applications envisageables sur la santé des juvéniles de *Platax orbicularis*, espèce commerciale particulièrement touchée par *Tenacibaculum maritimum* en tant qu'agent causal d'infections mortelles (Alix *et al.*, 2020). En effet, elle induit une probable absence de pression de sélection contre d'autres espèces de *Tenacibaculum* également présentes dans le milieu et susceptibles de présenter des rôles écologiques essentiels. De même, pour *Vibrio harveyi*, une action des molécules sur les gènes de virulence plutôt que sur la croissance permet d'envisager la réduction de la pathogénicité des souches sensibles au traitement lorsqu'elles sont en présence de *Tenacibaculum maritimum* et dès lors susceptibles d'avoir des actions délétères conjointes.

Ainsi, des tests *in vivo* seraient à considérer dans les élevages piscicoles polynésiens. Les molécules dont il est question ici ayant démontré leur toxicité face à certaines lignées cellulaires humaines (Evanno *et al.*, 2018), il conviendrait notamment d'étudier leur action cytotoxique sur les poissons dans une perspective de leur utilisation large échelle en tant qu'alternatives aux antibiotiques existants. *Tenacibaculum maritimum* affectant principalement les téguments des organismes infectés, une cure par ingestion pourrait ne pas se révéler judicieuse, hormis le fait que soit mise en évidence une importante diffusion tissulaire depuis le tractus digestif. Une exposition prolongée par balnéation apparaît comme plus judicieuse et permettrait en outre d'être mieux à-même de juger de la durée adéquate du traitement et de la dose optimale à administrer, en minimisant les risques d'effets physiologiques indésirables. Ces paramètres devront précisément se trouver ajustés par rapport au volume des bassins retenus et à la capacité en animaux de chacun d'entre eux, établie dans une logique de réponse à la demande du marché local et d'exportation.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

Bien que récemment considérées pour leur importance écologique, les éponges jouent depuis toujours un rôle clé dans le fonctionnement des écosystèmes marins. Certaines de leurs fonctions écologiques, comme la consolidation des substrats récifaux ou le recyclage de nutriments et d'énergie vers les niveaux trophiques supérieurs, sont malgré tout pour la plupart encore trop peu reconnus (Bell, 2008 ; Silva *et al.*, 2017 ; Sigwart *et al.*, 2021). En raison des interactions fondamentales qu'elles développent avec l'environnement adjacent, il est nécessaire d'inclure les éponges dans des évaluations de la biodiversité visant à de meilleures stratégies de gestion (de Goeij *et al.*, 2017 ; Maslin *et al.*, 2021). En outre, leurs nombreuses applications exploitables par le genre humain font l'objet d'efforts de recherche au niveau mondial, comme dans les secteurs de l'ingénierie osseuse et tissulaire ou encore la gestion des eaux usées qui fait particulièrement appel à leur capacité reconnue à filtrer la colonne d'eau qui les entoure en la détoxifiant (Gifford *et al.*, 2007). L'extraction de composés bioactifs issus des spongiaires pour la synthèse de traitements pharmaceutiques connaît de la même manière depuis quelques décennies son apogée (Faulkner, 2000 ; Mayer & Gustafson, 2008 ; Agrawal *et al.*, 2016 ; Malve, 2016). Dans un contexte international sans précédent d'exploitation chimique des produits naturels marins, il est ainsi plus que jamais impératif de parvenir à des modèles d'aquaculture économiquement et écologiquement performants afin de préserver les ressources existantes. En effet, le choix de sécuriser une biomasse constante via l'emploi d'un système d'aquaculture *in situ* ayant parfois recours à la transplantation de spécimens par rapport à la récolte des populations naturelles, s'est déjà révélé comme pertinent pour plusieurs espèces d'éponges marines (Baldaconi *et al.*, 2010 ; de Caralt *et al.*, 2010 ; Wahab *et al.*, 2012).

Cette thèse est la première à renseigner l'aquaculture *in situ* efficace sur plusieurs années d'une espèce d'éponge en Polynésie française. Ce territoire insulaire du Pacifique Sud apparaît comme un lieu propice à l'exercice des activités aquacoles, grâce notamment à une faible concurrence pour l'usage du littoral (Adams *et al.*, 2001 ; Salvat *et al.*, 2008). Par conséquent, les systèmes visant à la conservation des stocks naturels marins peuvent facilement être extensifs, s'ancrant de fait dans une perspective durable d'Économie Bleue. Cet aspect est renforcé par la non-nécessité d'intrants chimiques, la minimalisation des rejets (pour la plupart d'origine métabolique, i.e. excrétion et respiration) et l'exploitabilité du potentiel de régénération naturelle des éponges. Le dispositif imaginé, conçu et testé ici, faisant appel à des tables de culture horizontales situées entre 15 et 20 m de fond et munies de fils de support en nylon pour les explants, a démontré sa très bonne adéquation avec les conditions topographiques de l'atoll de Rangiroa, choisit comme site-pilote pour la présente étude. Une excellente tenue des installations sur le long terme dans les deux biotopes récifaux et lagonaires considérés, couplée à un faible besoin de maintenance, une grande facilité de collecte/remise en place d'explants et un moindre encrassement biologique (particulièrement en milieu récifal), permettent des conditions de travail facilitées et une rapidité d'action à chaque suivi. De plus, cette configuration assure la non-destruction du milieu avoisinant par son ancrage dans des zones déjà détritiques et son immuabilité une fois installé, de même que par une absence de compétition spatiale des éponges avec les autres organismes benthiques grâce au

positionnement des cadres au-dessus du substrat. Enfin, le brassage océanique sévissant sur les pentes externes et aux abords des passes engendre une mixité constante de la colonne d'eau, évitant ainsi une déplétion des fractions planctoniques de par l'activité de filtration des éponges marines au détriment d'autres organismes macro-filtreurs.

Le coût modéré des matériaux et leur disponibilité directement sur le territoire polynésien constituent des avantages économiques non négligeable. De plus, Rangiroa reste relativement facile d'accès de par une desserte régulière et des structures d'accueil et de travail fonctionnelles directement sur place. Cet atoll figure en outre une faible exploitation lagonaire, qui se manifeste principalement par l'absence d'une perliculture massive comme il en va au contraire à Arutua ou à Manihi, de même que par le nombre très restreints de parcs à poissons au regard de la superficie générale fortement étendue du lagon. Le taxon tropical concerné affiche également de nombreux avantages d'exploitation. *Dactylopongia metachromia* présente en effet une vaste distribution dans le Pacifique et tolère de grandes amplitudes de profondeur. Cette éponge démontre aussi une bonne adaptation à son contexte environnemental, par exemple via la modification saisonnière de sa teneur en eau et la régulation intraspécifique des taux de filtration au regard de la courantologie prévalente et de la disponibilité en nourriture picoplanctonique (à la fois eucaryote et procaryote). Sa morphologie, idéale pour la mise en culture sur lignes immergées, tient en grande partie à sa fermeté, sa résistance à la déformation et sa composition fibreuse permettant une manutention sans risque de blessure. Cet animal semble subir une pression de prédation globalement très négligeable et n'a jamais été sujet à une maladie majeure renseignée dans la région du Pacifique Sud. Enfin, il s'inscrit parfaitement dans la chaîne trophique récifale, par le biais de nombreuses interactions avec d'autres organismes benthiques partageant le même biotope.

Le présent travail a pourtant mis en évidence certains inconvénients liés à la spongiculture en milieu insulaire. L'absence de recensement de *Dactylopongia metachromia* sur les îles de la Société, exception faite de l'atoll de Tetiaroa, engendre des contraintes logistiques à son exploitation en Polynésie française (Debitus *et al.*, 2019). Une adaptation des infrastructures et des protocoles d'aquaculture au contexte insulaire des îles Tuamotu, où la forte abondance relative de *Dactylopongia metachromia* est avérée, est de fait nécessaire en raisonnant particulièrement l'usage de la plongée autonome. Ces préférences de développement dans des milieux très faiblement anthropisés, aux eaux claires et fortement oligotrophes, laissent présager l'affinité de ce taxon pour un contexte environnemental pristine dans cette région du Pacifique, là où d'autres localités comme Hawaii font état de colonies se développant à proximité immédiate de zones hautement urbanisées telles qu'Honolulu (Hagiwara *et al.*, 2016). Or, les conditions environnementales sévissant sur la barrière récifale des atolls polynésiens, où se développent quasi-exclusivement les populations naturelles de *Dactylopongia metachromia*, peuvent varier considérablement sur une échelle de temps très réduite. Ainsi, une forte houle couplée à un courant prononcé et à l'impossibilité d'un amarrage permanent peuvent compromettre la réalisation de certaines immersions sous-marines, voire même empêcher la simple approche des sites par voie navigable. Mondialement réputé pour son site de plongée de la passe de Tiputa et rapidement desservi depuis Tahiti, Rangiroa accueille en outre un trafic maritime annuel important. Une absence flagrante de données quant à la saisonnalité de ce trafic (notamment touristique) fait aujourd'hui défaut. Une telle évaluation serait cependant pertinente à conduire, surtout dans le cas d'une probable exploitation des éponges au site de **Tiputa** qui se trouve justement être le plus performant des quatre localités investiguées. Ceci afin de pouvoir, par exemple, émettre des hypothèses

d'implication de pressions anthropiques relatives à des observations de phénomènes biotiques ponctuels, inattendus et nettement délimités dans le temps (i.e. recrudescence soudaine d'encrassement biologique sur les explants). Enfin, les pressions de prédation et de maladie, bien que minimales voire inexistantes à l'échelle de notre suivi, ne peuvent pas être prédites sur le long terme et seront dans tous les cas difficiles à gérer correctement sans entraîner de problèmes connexes (i.e. protéger les explants face aux poissons par des cages ou des filets peut conduire à une entrave de la circulation de l'eau et donc une altération des rendements de filtration/alimentation).

Afin d'alléger les contraintes logistiques, en plus de deux zones d'étude récifales, deux sites lagunaires furent suivis à proximité de la passe d'Avatoru. Ces derniers nous ont permis d'étudier les effets de la transplantation des éponges hors de leurs aires de développement naturel sur leur métabolisme et la production de métabolites secondaires leur étant associés. Des résultats très mitigés à ces deux endroits, qui restent de manière générale économiquement insatisfaisants, ne conduisent pas à y envisager une exploitation aquacole viable et pérenne. Si une absence de différence significative entre les sites de la barrière récifale et le site du **Lagon 1** a été trouvée quant à la croissance des explants au cours du suivi, cette observation est à mettre en parallèle avec les données de survie également présentées dans le **Chapitre II** et faisant état d'une mortalité globale significativement plus élevée comparée aux sites externes. Les trois variables principales étudiées ici, à savoir la croissance, la survie et la production de métabolites secondaires, se sont révélées hautement intraspécifiques chez *Dactylospongia metachromia*. Dans d'autres études, elles ont montré de la même manière une absence de corrélation positive significative (de Voogd *et al.*, 2007 ; de Caralt *et al.*, 2010). Dans ces travaux, les optima étaient particulièrement contradictoires au regard de la méthode de culture employée (i.e. cage, fixation sur support artificiel), qui doit impérativement être raisonnée en amont au regard de l'espèce concernée (i.e. morphologie, métabolisme, microbiote associé) et du biotope disponible (i.e. stabilité des paramètres environnementaux). Des conditions favorables à la prise de biomasse peuvent ainsi entraîner une mortalité accrue, comme nous le constatons effectivement à Rangiroa après un an de mise en culture en milieu récifal. Certains auteurs font donc le choix de privilégier de forts taux de croissance, couplés à des rendements en molécules maximisés, par rapport aux taux de survie élevés. Dans le cas présent, si une activité lagunaire venait quand bien même à se développer pour le site du **Lagon 1** au regard des profils de bioactivité intéressants couplés à des volumes acceptables de manière générale, un renouvellement rapide et maîtrisé des explants est à préconiser, tout comme une traçabilité des éponges-mères sur le récif afin de procéder à la sélection des géniteurs les plus longévifs et performants dès les premiers résultats concluants. Un exemple de réflexion à mener pourrait entre autres évaluer la pertinence de cesser l'exploitation aquacole pour ce site après 1 an d'exploitation, stade où des teneurs en métabolites correctes comprises entre 0.3 et 0.5 mg·g⁻¹ se trouvent couplées à une survie acceptable qui reste supérieure à 60 % et des volumes ayant en moyenne doublés par rapport à l'installation initiale des explants.

Au niveau de la survie sur l'ensemble de la période du suivi, **Tiputa** présente la plus forte longévité tandis que le site du **Lagon 2** renvoie un bilan déficitaire quant au ratio vivants/morts. Les très faibles taux de survie globalement constatés le premier trimestre en milieu lagunaire nous font ici préconiser un non-dérangement absolu des explants en amont de ce stade. Les résultats de précédents travaux mettent de la même manière en exergue la phase cruciale des premiers mois d'élevage, durant lesquels la cicatrisation des explants provoque souvent un

accroissement très restreint de la biomasse, voire même une possible régression volumétrique (Hoffmann *et al.*, 2003 ; Giagrande *et al.*, 2020). Une réflexion quant aux techniques visant à assurer la meilleure acclimatation possible des éponges post-transplantation doit être entreprise, à la fois avant et après leur installation sur les structures, comme par exemple laisser plusieurs jours les éponges-mères intactes dans leur nouvel environnement sans les solliciter avant de procéder à leur excision. Les sites externes ont, quant à eux, présenté des taux de survie très prometteurs tout au long du suivi, avec des maxima allant jusqu'à 94 % d'un trimestre à l'autre tandis qu'ils ne chutaient jamais sous les 65 % pour les minima. Cela démontre la pertinence du système aquacole choisi et installé dans un milieu où l'espèce se développe naturellement. De trop faibles taux de survie à l'horizon d'une année de mise en culture, comme mentionnés ci-avant pour le lagon, feraient préconiser l'installation de davantage de tables à chaque site, voire également de plus d'explants par table. Toutefois, ces ajustements s'accompagneraient obligatoirement de plusieurs freins au niveau de la durée de chaque plongée sous-marine et donc des missions en elles-mêmes, de l'extension des zones d'exploitation qui pourrait se trouver compromise par endroits (i.e. absence de substrat détritique pour l'implantation des tables en milieu récifal) et de la rigueur du suivi quant à la réimplantation post-échantillonnage, puisque la grande variabilité intraspécifique démontrée à l'échelle d'une éponge-mère voire d'un explant rendrait très difficile d'avoir des plans de tables gérés de manière identique.

Concernant la croissance, elle présente également des variations interannuelles, avec une diminution notable en 2021 par rapport à 2019. Des fluctuations dans les évolutions de biomasse, avec des alternances de phase d'accroissement et de régression comme pour la présente étude, sont aussi renseignées chez d'autres espèces (Hoffmann *et al.*, 2003 ; de Caralt *et al.*, 2010). Un optimum d'accroissement volumétrique des explants situé aux alentours de septembre 2019 a ici été démontré pour les sites récifaux. **Tiputa** se démarque positivement de tous les autres sites dès la fin du premier semestre de suivi, tandis qu'un an plus tard, seul l'emplacement du **Lagon 2** est toujours significativement moins performant que les trois autres. Toutefois, même en cas d'accroissements réduits, les volumes finaux restent en moyenne supérieurs aux volumes initiaux relatifs à la mise en culture des explants, ce qui dénote de manière générale un gain de biomasse pour tous les sites. Les volumes moyens des explants pour le biotope récifal passent globalement de 50 à 100 cm³ en 12 mois, soit un taux annuel d'accroissement de 100 %. Ce résultat est engageant au regard de la majorité des études similaires, dont les valeurs dépassent très rarement le seuil des 200 % de gain en poids ou volumes (Hoffmann *et al.*, 2003 ; van Treeck *et al.*, 2003 ; Webster *et al.*, 2006 ; Louden *et al.*, 2007 ; Ruiz *et al.*, 2013). Il existe bien évidemment quelques espèces de spongiaires aux taux de croissance phénoménaux, telles que *Latrunculia brevis*, *Lissodendoryx* sp. ou *Mycale hentscheli* (Munro *et al.*, 1999 ; Duckworth, 2001 ; Page *et al.*, 2005) en Nouvelle-Zélande. Si les deux premiers genres susmentionnés ne se trouvent pas, en l'état actuel des connaissances, répertoriés en Polynésie française, le troisième présente en revanche deux taxons recensés : *Mycale (Zygomycale)* sp. et *Mycale (Mycale) grandis* (Petek & Debitus, 2017). Le genre *Mycale* a particulièrement été mis en avant par les fortes teneurs en chitine exhibées par plusieurs de ses représentants, composé notamment exploitable dans les biomatériaux et la biomédecine (Carballo *et al.*, 2013 ; Żółtowska-Aksamitowska *et al.*, 2018). Ces espèces combinent malheureusement plusieurs caractères freinant radicalement leur possibilité d'exploitation en Polynésie française : recensement actuellement limité à l'archipel des Marquises, profil majoritairement encroûtant (quelques millimètres d'épaisseur seulement pour *Mycale (Zygomycale)* sp.) et cavernicole, action néfaste et destructrice sur les communautés

récifales et caractère envahissant précédemment démontré dans d'autres localités du Pacifique comme Hawaii (Coles & Bolick, 2007 ; Shih & Popp, 2020 ; Global Invasive Species Database, www.issg.org, consulté le 25/02/2022).

Pour ce qui est des paramètres environnementaux, les résultats présentés sont en accord avec la bibliographie disponible pour la Polynésie française ou le Pacifique sud. Des dissimilarités marquées entre les deux types de biotopes étudiés permettent de discriminer les sites lagunaires des sites récifaux concernant de nombreuses variables (i.e. picophytoplancton, phosphates et oxydes d'azote, chlorophylle a), quand d'autres n'affichent à l'inverse aucun contraste (i.e. température, salinité, oxygène dissous). Certaines différences mettent également en avant des spécificités à l'échelle d'un site par rapport aux trois autres, comme il en va particulièrement pour **Tiputa** (i.e. courant, lumière, pH). Les disparités de survie et de croissance démontrées au niveau du temps de mise en culture et de l'année correspondante mettent très probablement en cause le contexte environnemental sur plusieurs échelles : internationale via l'alternation des phénomènes El Niño/La Niña, régionale par les changements de régime de l'oscillation décennale du Pacifique (PDO) et enfin locale pour l'endo-upwelling et la succession des saisons sèches et humides avec des phases de recrudescence de houles, de vents dominants et de précipitations. Il est enfin à noter que les deux paramètres du milieu se retrouvant conjointement impliqués dans la survie et la croissance au niveau des sites sont la courantologie et la teneur en organismes phytoplanctoniques.

Étant donné l'incidence conjointe de nombreux facteurs sur les performances de culture, les multiples corrélations établies rendent parfois difficilement appréhendable la dynamique environnementale opérante, d'autant plus que certaines mesures prématurément arrêtées pour cause de défauts techniques comme par exemple l'intensité lumineuse se devraient d'être réitérées.

Les infrastructures étant fortement susceptibles de rester soumises à la rigueur du milieu récifal, le choix de matériaux fiables ainsi que leur renouvellement fréquent sont des aspects primordiaux à considérer face à la dégradation mécanique, à la corrosion saline ou à l'encrassement biologique. Cette dernière menace est toutefois un phénomène naturel qui ne devrait être réellement préoccupant que si les éponges elles-mêmes en sont fortement recouvertes, chose qui n'a que très rarement été démontrée pour les installations récifales. Situer les structures aquacoles plus profondément, pour réduire l'intensité lumineuse et par-là même modérer le biofouling, ne semble pas pertinent à cause de l'impact probable de la lumière sur la croissance et la survie de nouvelles générations. Malgré le fait que *Dactylospongia metachromia* semble atteindre des profondeurs conséquentes aux Tuamotu (i.e. plus de 65 m), le facteur de l'intensité lumineuse a effectivement démontré des variations significatives entre les sites de l'étude, qui se démarquent également au niveau de leurs performances de culture. Nous avons montré que cette éponge abrite un cortège de plusieurs phylums bactériens arborant des photosystèmes qui servent à la conversion de la chlorophylle d'origine bactérienne en énergie, comme les Proteobacteria, Chloroflexi et Gemmatimonadetes (Imhoff *et al.*, 2018). Cet holobionte serait dès lors susceptible d'être très négativement affecté par une telle relocalisation (Wilkinson & Vacelet, 1979).

Bien que non représentative, la petite enquête sociologique initiée ici auprès de représentants de la population de l'atoll fait état d'un secteur aquacole polynésien jugé comme insuffisamment développé. De très nombreux projets en cours et à l'étude contribuant aujourd'hui à y apporter dynamisme et créativité, la spongiculture trouve dès lors toute sa place

dans un contexte scientifiquement et économiquement favorable (Direction des Ressources Marines, www.ressources-marines.gov.pf, consulté le 23/02/2022). *Dactylospongia metachromia* n'étant en revanche pas comestible, des alternatives à la seule valorisation pharmacologique méritent d'être approfondies afin de ne pas susciter un manque d'intérêt pour la filière par les acteurs locaux polynésiens, peu sensibilisés à un tel marché. Dans une perspective de multiplicité d'emploi des produits dérivés de la spongiculture, des possibilités peuvent concerner le recyclage des composés azotés excrétés par les explants en bionutriments pour la co-culture de microalgues à des fins de revalorisation dans les filières de l'alimentation ou des bioénergies (Osinga *et al.*, 1999 ; Sialve & Steyer, 2013). Certaines démosponges étant déjà reconnues comme de puissants bioremédiateurs (Fu *et al.*, 2006 ; Stabili *et al.*, 2006), nous pensons particulièrement qu'une étude de la capacité de *Dactylospongia metachromia* à réguler la pollution bactérienne dans le cadre de programmes de restauration de zones affectées serait intéressante, par exemple à travers le lancement de tests d'élevage avec un suivi régulier de la qualité de l'eau. De telles investigations supplémentaires pourraient également aider à évaluer les effets potentiels de l'exposition aux contaminants sur la sécrétion de métabolites bioactifs. Toutefois, il conviendra au regard des résultats exposés dans le présent travail de tenir compte des exigences écologiques de l'organisme, surtout concernant la courantologie qui doit être maintenue élevée. Ainsi, en amont de telles expériences exploratoires, des essais *in vitro* pour un meilleur contrôle des paramètres dans un premier temps seraient sans nul doute plus pertinents. Des expérimentations complémentaires faisant appel à des tests en aquarium pourraient aussi permettre l'analyse de certaines caractéristiques écophysologiques de *Dactylospongia metachromia* n'ayant pas pu se réaliser à l'échelle du présent travail (i.e. estimation des taux de respiration et d'excrétion de l'organisme). Des tests additionnels quant à la caractérisation de la diversité des apports alimentaires de l'organisme, par le biais d'analyses de taux de filtration relatifs à d'autres fractions planctoniques, seraient notamment à préconiser. Toutefois, de tels essais s'accompagnent obligatoirement d'une gestion particulière impliquant un contrôle et un renouvellement de l'eau très régulier. En effet, les éponges placées dans des volumes d'eau restreints produisent de très grandes quantités de déchets azotés pouvant s'avérer létaux si l'eau n'est pas rapidement détoxifiée par réapprovisionnement (Duckworth, 2009). Cela implique donc également l'existence d'installations adéquates directement aux Tuamotu, là où *Dactylospongia metachromia* pousse naturellement, car le transport de ces organismes vivants jusqu'à Tahiti par glacière reste très hasardeux pour les mêmes raisons qu'évoquées ci-avant.

Le protocole simplifié d'extraction proposé ici s'est révélé à la fois rapide et efficace pour le ciblage des molécules d'intérêt, soutenant par ailleurs les principes de la Chimie Verte via un emploi de solvant organiques fortement réduit, la production subséquente de faibles quantités de déchets une consommation moins énergivore par la minimisation de mise en fonction des différents appareils. Toutefois, des procédés encore plus durables du génie chimique existent, tels que les éco-extractions assistées par ultrasons, micro-ondes ou encore l'extraction au fluide supercritique. Sans emploi de solvants ni génération d'effluents, cette dernière technique permettrait d'optimiser les rendements d'extraction en assurant une plus grande durabilité environnementale, particulièrement pertinente dans un contexte d'implantation en milieu insulaire par définition vulnérable (Ziemons, 2006 ; da Silva *et al.*, 2016). En contrepartie, le coût très onéreux d'une telle technologie serait à prendre en considération par le biais d'une étude d'amortissement des frais engendrés à court, moyen et long terme.

Aucune variation significative des teneurs en métabolites dans le temps de mise en culture n'a été obtenue, ce qui permet de pouvoir envisager l'extraction des molécules à plusieurs stades de développement des explants, en particulier en adéquation avec leur gain de biomasse. Un autre avantage lié à l'exploration des potentialités de valorisation chimique de *Dactylosporgia metachromia* a trait à la multiplicité d'applications des deux composés majoritaires ciblés dans cette étude, dont certaines sont déjà fortement renseignées tandis que d'autres continuent de faire leur apparition au fil des problématiques sanitaires internationales émergentes (Loya & Hizi, 1993 ; Takizawa *et al.*, 1993 ; Rangel *et al.*, 1997 ; Lu *et al.*, 2007 ; Do *et al.*, 2014 ; Lee *et al.*, 2015 ; Surti *et al.*, 2020). Il existe donc une réelle possibilité de criblage des tests cliniques parmi les plus avancés et les moins exigeants en quantité de molécules à fournir.

À l'échelle des années, de plus fortes concentrations moyennes recueillies en 2019 font écho à de moins bonnes performances de survie cette année-là, comparativement à 2020 et 2021. Ce rapprochement fait envisager la probable action défensive de l'ilimaquinone et de la 5-épiilimaquinone dans le cas de conditions environnementales défavorables, voire répulsive contre les colonisateurs ou prédateurs occasionnels de l'éponge. Cette hypothèse est en partie corroborée par les résultats des expérimentations ayant trait à l'activité antibactérienne de ceux deux composés sous forme de molécules brutes ou d'extraits issus d'explants cultivés de *Dactylosporgia metachromia*. En effet, une relative sélectivité d'action inhibitrice du Quorum Sensing (QSi) de l'espèce *Tenacibaculum maritimum* a notablement été trouvée pour différentes souches par comparaison avec d'autres bactéries marines à Gram négatif également testées. Nos résultats dénotent une action bactéricide préférentielle, mais non exclusive, sur cette espèce et favorisent donc la possibilité d'un traitement antibiotique sans risque majeur de développement d'une résistance bactérienne. L'absence de corrélation entre l'efficacité de l'inhibition et le rapport ilimaquinone / 5-épiilimaquinone dans les extraits démontre la pertinence d'utilisation des deux molécules en termes d'action contre la prévalence de ce pathogène marin dans les élevages piscicoles polynésiens de *Platax orbicularis*. Pour la souche BB120 du genre *Vibrio harveyi*, autre bactérie Gram-négative infectant les téguments des juvéniles de ces poissons commerciaux, il apparaît cependant que l'action bactériostatique de l'ilimaquinone soit plus prononcée que son épimère. Des effets bactériostatiques ayant également été obtenus sur d'autres espèces du même genre, davantage de tests *in vitro* seraient à conduire afin de mieux cibler les ratios les plus pertinents et proposer des traitements envisageables, notamment sur certaines cyanobactéries proliférantes ayant été observées *in situ* en train de coloniser les explants (i.e. recherche d'action antifouling).

Les concentrations en composés bioactifs dans les nouvelles générations d'éponge laissent envisager l'obtention d'un peu moins de 3 mg de molécules brutes par explant après une année d'aquaculture dans un scénario optimal, c'est-à-dire concernant uniquement le milieu récifal. Les ratios des deux métabolites dans les extraits, aux évolutions totalement imprévisibles, ne permettent pas d'envisager un système d'installation ou une transplantation des spécimens maximisant l'une ou l'autre des molécules. Un regroupement des données de l'analyse métabarcoding du microbiote de *Dactylosporgia metachromia* avec la bioactivité de l'éponge et les ratios de chaque métabolite secondaire d'intérêt au sein des extraits permettrait toutefois de potentiellement corrélérer certains taxa procaryotes à la production d'ilimaquinone et/ou de 5-épiilimaquinone. Globalement, la proportion d'ilimaquinone est la plus faible à **Tiputa** et la plus forte au **Lagon 2**, avec un écart d'un peu plus de 7 % entre les deux localités. Cela rejoint les remarques précédentes concernant aussi bien le rôle défensif plus marqué de cette molécule dans certains tests d'activités QSi que l'explication des disparités de performances aquacoles

dans ces sites figurant les extrêmes opposés. Toutefois, l'existence de réactions d'épimérisation au sein des extraits bruts n'est pas à écarter. La modélisation des réarrangements moléculaires visant à comprendre les préférences énergétiques qui peuvent conduire à la formation privilégiée de l'un ou l'autre des épimères semble, par ailleurs, favoriser la production de 5-épiilimaquinone (Boufridi *et al.*, 2014).

La forte variabilité de β -diversité du microbiote entre les répliques d'explants issus d'une même table de culture conforte l'étonnante intra-spécificité de la plupart des résultats relatifs à cette éponge et présentés dans cette étude. Toutefois, une homogénéité de la diversité des taxa microbiens tout au long du procédé d'aquaculture vient rassurer sur l'absence d'une influence négative du dispositif sur l'holobionte de *Dactylospongia metachromia*. De fait, le complexe hôte-microorganismes associé aux éponges marines a souvent été relaté comme géographiquement et temporellement stable, proposant l'existence d'une communauté bactérienne très diversifiée mais spécifiquement associée aux éponges (Hentschel *et al.*, 2002 ; Taylor *et al.*, 2004 ; Hill *et al.*, 2006). En effet, l'étude de procaryotes isolés spécifiquement de différentes éponges a montré leur parenté plus étroite comparativement aux bactéries du milieu marin (Schmitt *et al.*, 2011). Néanmoins, des optima environnementaux, notamment thermiques, ont été révélés (Webster *et al.*, 2008a). Une plus grande diversité du microbiote, positivement couplée à une plus forte activité QSi de métabolites secondaires, a ainsi été démontrée chez des spécimens issus de milieux fortement anthropisés et moins exposés aux variations de température par endo-upwelling (Batista *et al.*, 2018). Des changements globaux, tels qu'une élévation généralisée des températures de surface, sont dès lors susceptibles d'affecter la communauté bactérienne de l'éponge via la disparition de certains clades symbiotiques au profit d'autres (Lemoine *et al.*, 2007). Cela reflète le réel besoin de conduire davantage d'études se basant sur les différents scénarii d'évolution des variables océaniques dans un futur de plus en plus imminent. Réalisées en-dehors du cadre d'un doctorat venant naturellement imposer un temps d'exécution restrictif, ces recherches complémentaires devront en outre cibler une temporalité plus étendue que les présents travaux.

Dans cette étude, les mesures biométriques de *Dactylospongia metachromia* viennent établir des corrélations entre les différents états exploitables de l'espèce, telle qu'étudiée *in situ* dans un habitat particulier ou bien une fois transformée à des fins de valorisation industrielle. En outre, des intervalles de confiance étroits entourant les rapports moyens des poids frais, secs et lyophilisés nous permettent de suggérer des mesures alternatives comme estimations pertinentes de la biomasse de *Dactylospongia metachromia*. Cependant, avant toute activité d'exploitation, des données sur la distribution réelle et l'évolution temporelle des populations d'éponges sauvages sont primordiales à acquérir (Pronzato, 2003). Or, la non-uniformité des investigations et l'absence de protocole standardisé dans le cas des éponges marines peuvent constituer des freins à la comparabilité de certains résultats techniques ou biologiques. Chez les spongiaires, la prévalence de résultats d'expérimentations hautement spécifiques nécessite de privilégier les études individuelles est fortement mise en évidence lors de la réalisation de comparaisons à grande échelle, en particulier lorsqu'une haute précision des données est recherchée (Ricciardi & Bourget, 1998 ; van Treeck *et al.*, 2003). En 2003, Handley *et al.* avaient déjà mis en évidence le fait que *Dactylospongia metachromia* était massivement récolté dans les écosystèmes récifaux de l'Asie du Sud-Est pour des applications dans l'industrie des éponges de toilette. Sans une évaluation efficace du métabolisme de l'espèce, de ses exigences écologiques et des interactions trophiques qui l'accompagnent à tous les niveaux, l'exploitation

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

des stocks naturels engendre un risque non négligeable de menace d'extinction. Ce volet, initié par des campagnes océanographiques à plus large échelle dans les Tuamotu (mission IRD TUAM'2011 et TUAM'2018), a été abordé dans cette étude par la pose et la réalisation de transects de suivi des populations naturelles. Une fois son analyse terminée et au regard des résultats obtenus, il sera à consolider dans de futurs travaux afin d'avoir une meilleure représentativité et un recul plus important pour la mise en adéquation de mesures de gestion. De la même manière, des études similaires à celle présentée ici sont à envisager dans les atolls de Raroia et de Makemo, où l'espèce a singulièrement été observée à l'intérieur même du lagon (Debitus *et al.*, 2019). En effet, concernant la faisabilité d'une spongiculture en milieu lagunaire, ces localités pourraient de par ces constatations potentiellement conduire à des résultats plus encourageants.

RÉFÉRENCES

- Abdo, D. A., Battershill, C. N., & Harvey, E. S. (2006). Manipulation of environmental variables and the effect on the growth of *Haliclona* sp.: implications for open-water aquaculture. *Marine Biology Research*, 2(5), 326-332.
- Abel, B. V., Manuel, M. S. J., Mario, F. G., & Araceli, A. Q. M. (2019). Sponge Fishery and Aquaculture in Cuba: Impacts and Challenges. In : *Invertebrates-Ecophysiology and Management*. IntechOpen.
- Abelson, A., Miloh, T., & Loya, Y. (1993). Flow patterns induced by substrata and body morphologies of benthic organisms, and their roles in determining availability of food particles. *Limnology and Oceanography*, 38, 1116-1124.
- Adams, C., Stevely, J. M., & Sweat, D. (1995). Economic Feasibility of Small-Scale Sponge Farming in Pohnpei, Federated States of Micronesia 1. *Journal of the World Aquaculture Society*, 26(2), 132-142.
- Adams, T., Bell, J., & Labrosse, P. (2001). Current status of aquaculture in the Pacific Islands. Secretariat of the Pacific Community, 13 pp.
- Agassiz, A. (1903). The coral reefs of the tropical Pacific. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoölogy at Harvard College*, 28, 1-410.
- Agrawal, S., Adholeya, A., & Deshmukh, S. K. (2016). The pharmacological potential of non-ribosomal peptides from marine sponge and tunicates. *Frontiers in pharmacology*, 7, 333.
- Aguila-Ramírez, R. N., Hernández-Guerrero, C. J., González-Acosta, B., Id-Daoud, G., Hewitt, S., Pope, J., & Hellio, C. (2014). Antifouling activity of symbiotic bacteria from sponge *Aplysina gerardogreeni*. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 90, 64-70.
- Aitzetmüller, K., & Goncalves, L. A. G. (1990). Dynamic impregnation of silica stationary phases for the argentation chromatography of lipids. *Journal of Chromatography A*, 519, 349-358.
- Alix, M., Gasset, E., Bardon-Albaret, A., Noel, J., Pirot, N., Perez, V., Coves, D., Saulnier, D., Lignot, J.-H., & Cucchi, P. N. (2020). Description of the unusual digestive tract of *Platax orbicularis* and the potential impact of *Tenacibaculum maritimum* infection. *PeerJ*, 8, e9966.
- Aminot, A., & Rey, F. (2001). Chlorophyll a: Determination by spectroscopic methods. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, 30, 17 pp.
- Andréfouët, S., & Chauvin, C. (2005). Atlas des récifs coralliens de Polynésie française. Centre IRD de Nouméa, 38 pp.
- Andréfouët, S., & Charpy, L. (2012). Ahe atoll and pearl oyster aquaculture in the Tuamotu archipelago. *Marine Pollution Bulletin*, 65(10-12), 407-548.
- Andréfouët, S., & Adjeroud, M. (2019). French Polynesia. In : *World seas: an environmental evaluation* (pp. 827-854). Academic Press.

- Andréfouët, S., Pages, J., & Tartinville, B. (2001). Water renewal time for classification of atoll lagoons in the Tuamotu Archipelago (French Polynesia). *Coral reefs*, 20(4), 399-408.
- Asaf, R., Samsi, A. N., Athirah, A., & Paena, M. (2018). Bioactive compounds of sponge for aquaculture and potential methods for sponge cultivation. *Jurnal Natural*, 18, 107-114.
- Atkins, W. R. G. (1926). The phosphate content of sea water in relation to the growth of the algal plankton. Part III. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 14(2), 447-467.
- Balansa, W., Mettal, U., Wuisan, Z. G., Plubrukarn, A., Ijong, F. G., Liu, Y., & Schäberle, T. F. (2019). A new sesquiterpenoid aminoquinone from an Indonesian marine sponge. *Marine drugs*, 17(3), 158.
- Baldacconi, R., Cardone, F., Longo, C., Mercurio, M., Marzano, C. N., Gaino, E., & Corriero, G. (2010). Transplantation of *Spongia officinalis* L.(Porifera, Demospongiae): a technical approach for restocking this endangered species. *Marine Ecology*, 31(2), 309-317.
- Bandaranayake, W. M. (2006). The nature and role of pigments of marine invertebrates. *Natural Product Reports*, 23, 223-255.
- Baquiran, J. I. P., Nada, M. A. L., Posadas, N., Manogan, D. P., Cabaitan, P. C., & Conaco, C. (2020). Population structure and microbial community diversity of two common tetillid sponges in a tropical reef lagoon. *PeerJ*, 8, e9017.
- Baran, P., Maimone, T., & Richter, J. (2007). Total synthesis of marine natural products without using protecting groups. *Nature*, 446, 404-408.
- Bart, M. C., Mueller, B., Rombouts, T., van de Ven, C., Tompkins, G. J., Osinga, R., & de Goeij, J. M. (2020). Dissolved organic carbon (DOC) is essential to balance the metabolic demands of four dominant North-Atlantic deep-sea sponges. *Limnology and Oceanography*, 9999, 1-14.
- Barthel, D. (1986). On the ecophysiology of the sponge *Halichondria panicea* in Kiel Bight. I. Substrate specificity, growth and reproduction. *Marine Ecology Progress Series*, 32, 291-298.
- Barthel, D. (1995). Tissue composition of sponges from the Weddell Sea, Antarctica: not much meat on the bones. *Marine Ecology Progress Series*, 123, 149-153.
- Bassler, B. L., Greenberg, E. P., & Stevens, A. M. (1997). Cross-species induction of luminescence in the quorum-sensing bacterium *Vibrio harveyi*. *Journal of bacteriology*, 179(12), 4043-4045.
- Batista, D., Costa, R., Carvalho, A. P., Batista, W. R., Rua, C. P., de Oliveira, L., Leomil, L., Fróes, A. M., Thompson, F. L., Coutinho, R., & Dobretsov, S. (2018). Environmental conditions affect activity and associated microorganisms of marine sponges. *Marine environmental research*, 142, 59-68.
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45, 493-496.
- Bauvais, C. (2015). Diversité chimique et bactéries associées à *Spongia officinalis*, une éponge marine accumulatrice de métaux. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.

- Bayer, K., Jahn, M. T., Slaby, B. M., Moitinho-Silva, L., & Hentschel, U. (2018). Marine sponges as Chloroflexi hot spots: genomic insights and high-resolution visualization of an abundant and diverse symbiotic clade. *MSystems*, 3(6), e00150-18.
- Becerro, M. A., Uriz, M. J., & Turon, X. (1997). Chemically-mediated interactions in benthic organisms: the chemical ecology of *Crambe crambe* (Porifera, Poecilosclerida). In : *Interactions and Adaptation Strategies of Marine Organisms* (pp. 77-89). Springer, Dordrecht.
- Becerro, M. A., Thacker, R. W., Turon, X., Uriz, M. J., & Paul, V. J. (2003). Biogeography of sponge chemical ecology: comparisons of tropical and temperate defenses. *Oecologia*, 135(1), 91-101.
- Bechmann, N., Ehrlich, H., Eisenhofer, G., Ehrlich, A., Meschke, S., Ziegler, C. G., & Bornstein, S. R. (2018). Anti-tumorigenic and anti-metastatic activity of the sponge-derived marine drugs aeropylsinin-1 and isofistularin-3 against pheochromocytoma in vitro. *Marine drugs*, 16, 172.
- Behrenfeld, M. J., O'Malley, R. T., Siegel, D. A., McClain, C. R., Sarmiento, J. L., Feldman, G. C., Milligan, A. J., Falkowski, P. G., Letelier, R. M. & Boss, E. S. (2006). Climate-driven trends in contemporary ocean productivity. *Nature*, 444(7120), 752-755.
- Belarbi, E. H., Domínguez, M. R., García, M. C. C., Gómez, A. C., Camacho, F. G., & Grima, E. M. (2003). Cultivation of explants of the marine sponge *Crambe crambe* in closed systems. *Biomolecular engineering*, 20(4-6), 333-337.
- Belarbi, E. H.; Gómez, A. C.; Chisti, Y.; Camacho, F. G. & Grima, M. (2003). Producing drugs from marine sponges. *Biotechnology Advances*, 21, 585-598.
- Bell, J. J. (2007). Contrasting patterns of species and functional composition of coral reef sponge assemblages. *Marine Ecology Progress Series*, 339, 73-81.
- Bell, J. J. (2008). The functional roles of marine sponges. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 79, 341-353.
- Bell, J. D., & Gervis, M. (1999). New Species for Coastal Aquaculture in the Tropical Pacific – Constraints, Prospects and Considerations. *Aquaculture International*, 7, 207-223.
- Bell, J. J., & Barnes, D. K. (2000). The influences of bathymetry and flow regime upon the morphology of sublittoral sponge communities. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 80, 707-718.
- Bell, J. J., Davy, S. K., Jones, T., Taylor, M. W., & Webster, N. S. (2013). Could some coral reefs become sponge reefs as our climate changes?. *Global change biology*, 19(9), 2613-2624.
- Bell, J. J., Bennett, H. M., Rovellini, A., & Webster, N. S. (2018). Sponges to be winners under near-future climate scenarios. *Bioscience*, 68, 955–68.
- Beninger, P. G., & Lucas, A. (1984). Seasonal variations in condition, reproductive activity, and gross biochemical composition of two species of adult clam reared in a common habitat: *Tapes decussatus* L. (Jeffreys) and *Tapes philippinarum* (Adams & Reeve). *Journal of experimental marine biology and ecology*, 79, 19-37.

- Bennett, H. M., Altenrath, C., Woods, L., Davy, S. K., Webster, N. S., & Bell, J. J. (2017). Interactive effects of temperature and pCO₂ on sponges: from the cradle to the grave. *Global Change Biology*, 23(5), 2031-2046.
- Bennion, M., Ross, P. M., Lane, H. S., & McDonald, I. R. (2022). Bacterial composition in the toheroa (*Paphies ventricosa*), a threatened surf clam from Aotearoa (New Zealand). *Marine Biology*, 169(3), 1-9.
- Bergquist, P. R. (1978). *Sponges*. University of California Press, Berkeley, 268 pp.
- Beuck, L., Vertina, A., Stepina, E., Karolczak, M., Pfannkuche, O. (2007). Skeletal response of *Lophelia pertusa* (Scleractinia) to bioeroding sponge infestation visualised with micro-computed tomography. *Facies*, 53, 157-176.
- Bibi, F., Alvi, S. A., Al-Sofyani, A., Naseer, M. I., Yasir, M., & Azhar, E. I. (2020). Pyrosequencing reveals sponge specific bacterial communities in marine sponges of Red Sea, Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(1), 67-73.
- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology*, 13(1), 42-51.
- Blanchet, G. (1986). Réalités et perspectives de la pêche artisanale dans le développement de l'économie de la Polynésie française.
- Blanchot, J., Rodier, M., & Le Bouteiller, A. (1992). Effect of El Niño Southern Oscillation events on the distribution and abundance of phytoplankton in the Western Pacific Tropical Ocean along 165 E. *Journal of Plankton Research*, 14(1), 137-156.
- Bonvallot, J. (1994). *Les atolls des Tuamotu*. IRD Editions.
- Botté, E. S., Nielsen, S., Wahab, M. A. A., Webster, J., Robbins, S., Thomas, T., & Webster, N. S. (2019). Changes in the metabolic potential of the sponge microbiome under ocean acidification. *Nature communications*, 10(1), 1-10.
- Boufridi, A. (2014). De l'étude d'éponges du genre *Dactylospongia* aux particularités chimiques des ilimaquinones. Thèse de doctorat, Université Paris Sud-Paris XI.
- Boufridi, A., Lachkar, D., Erpenbeck, D., Beniddir, M. A., Evanno, L., Petek, S., Debitus, C. & Poupon, E. (2016). Ilimaquinone and 5-epi-ilimaquinone: Beyond a simple diastereomeric ratio, biosynthetic considerations from NMR-based analysis. *Australian Journal of Chemistry*, 70(6), 743-750.
- Bourret, P., Binet, D., Hoffschir, C., Rivaton, J., & Velayoudon, H. (1979). Évaluation de l'"effet d'île" d'un atoll: plancton et micronecton au large de Mururoa (Tuamotu). Centre ORSTOM, Nouméa, 124 p.
- Bourrouilh-Le Jan, F. G., & Talandier, J. (1985). Sédimentation et fracturation de haute énergie en milieu récifal: Tsunamis, ouragans et cyclones et leurs effets sur la sédimentologie et la géomorphologie d'un atoll: Motu et hoa, à Rangiroa, Tuamotu, Pacifique SE. *Marine Geology*, 67, 263-333.

- Bouvy, M., Combe, M., Bettarel, Y., Dupuy, C., Rochelle-Newall, E., & Charpy, L. (2012). Uncoupled viral and bacterial distributions in coral reef waters of Tuamotu Archipelago (French Polynesia). *Marine Pollution Bulletin*, 65(10-12), 506-515.
- Brener-Raffalli, K. (2017). Dynamique de l'holobionte corallien et plasticité transcriptomique: variabilité interindividuelle, interpopulationnelle et interspécifique. Thèse de doctorat, Université de Perpignan - Via Domitia, 248 pp.
- Bruner, S. D., Radeke, H. S., Tallarico, J. A., & Snapper, M. L. (1995). Total synthesis of (-)-Ilimaquinone. *The Journal of Organic Chemistry*, 60(5), 1114-1115.
- Buestel, D., & Pouvreau, S. (2000). La matière particulaire des eaux du lagon de Takapoto: nourriture potentielle pour les élevages d'huitres perlières. *Oceanologica acta*, 23(2), 193-210.
- Butina, T. V., Khanaev, I. V., Kravtsova, L. S., Maikova, O. O., & Bukin, Y. S. (2020). Metavirome datasets from two endemic Baikal sponges *Baikalospongia bacillifera*. *Data in brief*, 29, 105260.
- Cabral, P. (1989). Some aspects of the abnormal mortalities of the pearl oysters, *Pinctada margaritifera* in the Tuamotu Archipelago (French Polynesia). In : *Advances in Tropical Aquaculture, Workshop at Tahiti, French Polynesia*.
- Cao, S., Gao, Z., Thomas, S. J., Hecht, S. M., Lazo, J. S., & Kingston, D. G. (2004). Marine sesquiterpenoids that inhibit the lyase activity of DNA polymerase β . *Journal of natural products*, 67(10), 1716-1718.
- Capon, R. J., & MacLeod, J. K. (1987). Revision of the absolute stereochemistry of ilimaquinone. *The Journal of Organic Chemistry*, 52(22), 5059-5060.
- Čaraitė, I. (2020). Factors shaping the microbiomes of deep-sea sponges. Thèse de doctorat, Ghent University, 67 pp.
- Carballo, J. L., Ovalle-Beltrán, H., Yáñez, B., Bautista-Guerrero, E., & Nava-Bravo, H. (2017). Assessment of the distribution of sponge chips in the sediment of East Pacific Ocean reefs. *Marine Ecology*, 38(1), e12390.
- Carballo, J. L., Yáñez, B., Zubía, E., Ortega, M. J., & Vega, C. (2010). Culture of explants from the sponge *Mycale cecilia* to obtain bioactive mycalazal-type metabolites. *Marine Biotechnology*, 12(5), 516-525.
- Carballo, J. L., Aguilar-Camacho, J. M., Knapp, I. S., & Bell, J. J. (2013). Wide distributional range of marine sponges along the Pacific Ocean. *Marine Biology Research*, 9(8), 768-775.
- Carballo, J. L., Cruz-Barraza, J. A., Vega, C., Nava, H., & Chávez-Fuentes, M. D. C. (2019). Sponge diversity in Eastern Tropical Pacific coral reefs: an interoceanic comparison. *Scientific reports*, 9(1), 1-15.
- Carte, B., Rose, C. B., & Faulkner, D. J. (1985). 5-Epi-Ilimaquinone, a metabolite of the sponge *Fenestraspongia* sp. *The Journal of Organic Chemistry*, 50(15), 2785-2787.
- Cebrian, E., & Uriz, M. J. (2006). Grazing on fleshy seaweeds by sea urchins facilitates sponge *Cliona viridis* growth. *Marine Ecology Progress Series*, 323, 83-89.

- Chand, S. S., Tory, K. J., Ye, H., & Walsh, K. J. (2017). Projected increase in El Niño-driven tropical cyclone frequency in the Pacific. *Nature Climate Change*, 7(2), 123-127.
- Chang, M. (2014) Effects of agricultural land use on stream habitats, riparian zones, water quality, and freshwater biodiversity in Moorea, French Polynesia. University of California, Berkeley, USA, 17 pp.
- Chao, A. (1984). Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of statistics*, 265-270.
- Charisiadou, S., Halling, C., Jiddawi, N., von Schreeb, K., Gullström, M., Larsson, T., & Nordlund, L. M. (2022). Coastal aquaculture in Zanzibar, Tanzania. *Aquaculture*, 546, 737331.
- Charpy, L., & Blanchot, J. (1997). Relative contributions of the Prochlorococcus to picophytoplankton biomass and production of eleven Tuamotu atoll lagoons (French Polynesia).
- Charpy, L., & Blanchot, J. (1998). Photosynthetic picoplankton in French Polynesian atoll lagoons: estimation of taxa contribution to biomass and production by flow cytometry. *Marine Ecology Progress Series*, 162, 57-70.
- Charpy, L., & Blanchot, J. (1999). Synechococcus and Prochlorococcus dominance estimated by flow cytometry in Tuamotu Atoll lagoons. *Bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco*, (special 19), 369-375.
- Charpy, L., & Roubaud-Charpy, C. J. (1990). A model of the relationship between light and primary production in an atoll lagoon. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 70(2), 357-369.
- Charpy, L., Blanchot, J., & Lo, L. (1992). Contribution des cyanobactéries (*Synechococcus* spp.) à la production phytoplanctonique dans un lagon d'atoll fermé (Takapoto, Tuamotu, Polynésie Française). *Comptes rendus de l'Académie des sciences. Série 3, Sciences de la vie*, 314(9), 395-401.
- Charpy, L., & Cremoux, J-L. (1990). Nutrient budget of the lagoonal waters in an open South Pacific atoll (Tikehau Tuamotu French Polynesia). *Marine Biology*, 107, 67-73.
- Charpy, L., Dufour, P., & Garcia, N. (1997). Particulate organic matter in sixteen Tuamotu atoll lagoons (French Polynesia). *Marine Ecology Progress Series*, 151, 55-65.
- Charpy, L., Rodier, M., Fournier, J., Langlade, M. J., & Gaertner-Mazouni, N. (2012). Physical and chemical control of the phytoplankton of Ahe lagoon, French Polynesia. *Marine Pollution Bulletin*, 65(10-12), 471-477.
- Charpy-Roubaud, C. J., & Charpy, L. (1994). Nutrients, Particulate Organic Matter, and Plankton and Benthic Production of the Tikehau Atoll (Tuamotu Archipelago French Polynesia). *Atoll Research Bulletin*.
- Charpy-Roubaud, C., Charpy, L., & Sarazin, G. (1996). Diffusional nutrient fluxes at the sediment-water interface and organic matter mineralization in an atoll lagoon (Tikehau, Tuamotu Archipelago, French Polynesia). *Marine Ecology Progress Series*, 132, 181-190.

- Chen, M. L., Becraft, E. D., Pachiadaki, M., Brown, J. M., Jarett, J. K., Gasol, J. M., Ravin, N. V., Moser, D. P., Nunoura, T., Herndl, G. J., Woyke, T. & Stepanauskas, R. (2020). Hiding in plain sight: the globally distributed bacterial candidate Phylum PAUC34f. *Frontiers in microbiology*, 376.
- Chen, J., Lu, Y., Ye, X., Emam, M., Zhang, H., & Wang, H. (2020). Current advances in *Vibrio harveyi* quorum sensing as drug discovery targets. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 207, 112741.
- Chombard, C., Boury-Esnault, N., & Tillier, S. (1998). Reassessment of homology of morphological characters in tetractinellid sponges based on molecular data. *Systematic Biology*, 47(3), 351-366.
- Cleary, D. F., Swierts, T., Coelho, F. J., Polónia, A. R., Huang, Y. M., Ferreira, M. R., Putschakarn, S., Carvalheiro, L., van der Ent, E., Ueng, J.-P., Newton, C., Gomes, M., & de Voogd, N. J. (2019). The sponge microbiome within the greater coral reef microbial metacommunity. *Nature communications*, 10(1), 1-12.
- Clouard, V., & Bonneville, A. (2004). Submarine landslides in French Polynesia. In *Oceanic Hotspots* (pp. 209-238). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Coles, S. L., & Bolick, H. (2007). Invasive introduced sponge *Mycale grandis* overgrows reef corals in Kāne ‘ohe Bay, O ‘ahu, Hawai ‘i. *Coral Reefs*, 26(4), 911-911.
- Cooper, A. B., Smith, C. M., & Smith, M. J. (1995). Effects of riparian set-aside on soil characteristics in an agricultural landscape: Implications for nutrient transport and retention. *Agriculture, ecosystems & environment*, 55(1), 61-67.
- Cowie, P. R. (2010). Biofouling patterns with depth. *Biofouling*, 87, 94-95.
- Crowe, S. E., & Thomas, J. D. (2002). Abundance and distribution of commensal amphipods from common marine sponges of southeast Florida. In : *Modern Approaches to the Study of Crustacea* (pp. 105-110). Springer, Boston, MA.
- Daletos, G., de Voogd, N. J., Müller, W. E., Wray, V., Lin, W., Feger, D., Kubbutat, M., Aly, A. H., & Proksch, P. (2014). Cytotoxic and protein kinase inhibiting nakijiquinones and nakijiquinols from the sponge *Dactylospongia metachromia*. *Journal of natural products*, 77(2), 218-226.
- Debitus, C. (2011). TUAM 2011 cruise, R/V Alis,
- Debitus, C., Dumas, M., Bouvot, V., Butscher, J., Le Bec, T., Maslin, M. & Petek, S. (2019). Rapport de la mission TUAM’2018 Polynésie française, archipel des Tuamotu-Gambiers N/O ALIS, 19/10/18 - 23/11/2018. Institut de Recherche pour le Développement, UMR LEMAR, Plouzané, France, 70 pp.
- Cook, S. C. D., & Bergquist, P. R. (2002). Family Thorectidae Bergquist, 1978. In *Systema Porifera* (pp. 1028-1050). Springer, Boston, MA.
- Da Silva, R. P., Rocha-Santos, T. A., & Duarte, A. C. (2016). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 76, 40-51.

- De Caralt, S., Sánchez-Fontenla, J., Uriz, M. J., & Wijffels, R. H. (2010). In situ aquaculture methods for *Dysidea avara* (Demospongiae, Porifera) in the Northwestern Mediterranean. *Marine drugs*, 8(6), 1731-1742.
- Dedysh, S. N., & Lawson, P. (2015). Thermoanaerobaculales. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-1.
- De Goeij, J. M., De Kluijver, A., Van Duyl, F. C., Vacelet, J., Wijffels, R. H., De Goeij, A. F. P. M., Cleutjens, J. P. M. & Schutte, B. (2009). Cell kinetics of the marine sponge *Halisarca caerulea* reveal rapid cell turnover and shedding. *Journal of Experimental Biology*, 212(23), 3892-3900.
- De Goeij, J. M., Van Oevelen, D., Vermeij, M. J., Osinga, R., Middelburg, J. J., De Goeij, A. F., & Admiraal, W. (2013). Surviving in a marine desert: the sponge loop retains resources within coral reefs. *Science*, 342, 108-110.
- De Goeij, J. M., Lesser, M. P., & Pawlik, J. R. (2017). Nutrient fluxes and ecological functions of coral reef sponges in a changing ocean. In : *Climate change, ocean acidification and sponges*. Springer, Cham, pp. 373-410.
- De Laubenfels, M. W. (1954). The sponges of the west-central Pacific (No. 7). Oregon State College. Corvallis, Oregon.
- Delesalle, B., & Sournia, A. (1992). Residence time of water and phytoplankton biomass in coral reef lagoons. *Continental Shelf Research*, 12(7-8), 939-949.
- Delesalle, B., Galzin, R., & Salvat, B. (1985). French Polynesian coral reefs. In : *Proceedings of the 5th International Coral Reef Congress, Papeete (Vol. 1, pp. 1-554)*. Tahiti: IABO.
- Delesalle, B., Sakka, A., Legendre, L., Pagès, J., Charpy, L., & Loret, P. (2001). The phytoplankton of Takapoto Atoll (Tuamotu Archipelago, French Polynesia): time and space variability of biomass, primary production and composition over 24 years. *Aquatic Living Resources*, 14(3), 175-182.
- De Voogd, N. J. (2007). The mariculture potential of the Indonesian reef-dwelling sponge *Callyspongia* (*Euplacella*) *biru*: growth, survival and bioactive compounds. *Aquaculture*, 262(1), 54-64.
- De Voogd, N. J., Gauvin-Bialecki, A., Polónia, A. R., & Cleary, D. F. (2018). Assessing the bacterial communities of sponges inhabiting the remote western Indian Ocean island of Mayotte. *Marine Ecology*, 39(6), e12517.
- De Voogd, N. J., Alvarez, B., Boury-Esnault, N., Carballo, J. L., Cárdenas, P., Díaz, M.-C., Dohrmann, M., Downey, R., Hajdu, E., Hooper, J. N. A., Kelly, M., Klautau, M., Manconi, R., Morrow, C. C., Pisera, A. B., Ríos, P., Rützler, K., Schönberg, C., Vacelet, J., & van Soest, R. W. M. (2021). World Porifera Database. Accessed at <http://www.marinespecies.org/porifera> on 2021-11-30.
- Diaz, M. C., & Rützler, K. (2001). Sponges: an essential component of Caribbean coral reefs. *Bulletin of marine science*, 69, 535-546.

- Do, M. T., Na, M., Kim, H. G., Khanal, T., Choi, J. H., Jin, S. W., Oh, S. H., Hwang, I. H., Chung, Y. C., Kim, H. S., Jeong, T. C. & Jeong, H. G. (2014). Ilimaquinone induces death receptor expression and sensitizes human colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis through activation of ROS-ERK/p38 MAPK-CHOP signaling pathways. *Food and chemical toxicology*, 71, 51-59.
- Dolan, J. R., Ritchie, M. E., & Ras, J. (2007). The "neutral" community structure of planktonic herbivores, tintinnid ciliates of the microzooplankton, across the SE Tropical Pacific Ocean. *Biogeosciences*, 4(3), 297-310.
- Drechsel, A., Helm, J., Ehrlich, H., Pantovic, S., Bornstein, S. R., & Bechmann, N. (2020). Anti-tumor activity vs. normal cell toxicity: Therapeutic potential of the bromotyrosines aerothionin and homoaerothionin in vitro. *Marine drugs*, 18, 236.
- Duckworth, A. R. (2000). Aquaculture of sponges for production of bioactive metabolites. Thèse de doctorat, University of Canterbury, Christchurch, New Zealand.
- Duckworth, A. R. (2003). Effect of wound size on the growth and regeneration of two temperate subtidal sponges. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 287, 139-153.
- Duckworth, A. (2009). Farming sponges to supply bioactive metabolites and bath sponges: a review. *Marine Biotechnology*, 11, 669-679.
- Duckworth, A. R., Battershill, C. N., & Bergquist, P. R. (1997). Influence of explant procedures and environmental factors on culture success of three sponges. *Aquaculture*, 156(3-4), 251-267.
- Duckworth, A., & Battershill, C. (2003). Sponge aquaculture for the production of biologically active metabolites: the influence of farming protocols and environment. *Aquaculture*, 221, 311-329.
- Duckworth, A. R., & Wolff, C. (2007). Bath sponge aquaculture in Torres Strait, Australia: Effect of explant size, farming method and the environment on culture success. *Aquaculture*, 271, 188-195.
- Dufour, P., & Harmelin-Vivien, M. (1997). A research program for a typology of atoll lagoons: strategy and first results. In : *Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium*, 1, pp. 843-848.
- Dumas, F., Le Gendre, R., Thomas, Y., & Andréfouët, S. (2012). Tidal flushing and wind driven circulation of Ahe atoll lagoon (Tuamotu Archipelago, French Polynesia) from in situ observations and numerical modelling. *Marine Pollution Bulletin*, 65(10-12), 425-440.
- Dumdei, E. J., Blunt, J. W., Munro, M. H. G., Battershill, C. N., & Page, M. J. (1998). The whys and whats of sponge chemistry: why chemists extract sponges and what problems does this cause? In : *Sponge Sciences Multidisciplinary Perspectives*, Springer, pp. 353-364.
- Dušan, S., & Miroslav, J. G. (2006). Reactivity and biological activity of the marine sesquiterpene hydroquinone avarol and related compounds from sponges of the order Dictyoceratida. *Molecules*, 11, 1-33.

- Duwig, C. (1998). Étude des transferts d'eau et de nitrate dans les sols ferrallitiques de Maré (Nouvelle-Calédonie): Risques de pollution des lentilles d'eau douce. Thèse de doctorat, Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 203 pp.
- Dyshlovoy, S. A., & Honecker, F. (2020). Marine compounds and cancer: The first two decades of XXI century.
- Ebada, S. S., de Voogd, N., Kalscheuer, R., Müller, W. E., & Proksch, P. (2017). Cytotoxic drimane meroterpenoids from the Indonesian marine sponge *Dactylospongia elegans*. *Phytochemistry Letters*, 22, 154-158.
- Edmunds, P. J. (2012). Effect of pCO₂ on the growth, respiration, and photophysiology of massive *Porites* spp. in Moorea, French Polynesia. *Marine biology*, 159(10), 2149-2160.
- Edmunds, P. J. (2017). Unusually high coral recruitment during the 2016 El Niño in Mo'orea, French Polynesia. *PLoS One*, 12(10), e0185167.
- Ehrlich, H., Maldonado, M., Spindler, K. D., Eckert, C., Hanke, T., Born, R., Goebel, C., Simon, P., Heinemann, S., & Worch, H. (2007). First evidence of chitin as a component of the skeletal fibers of marine sponges. Part I. Verongidae (Demospongia: Porifera). *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 308(4), 347-356.
- Ellis, S., Ellis, E., Lohn, W., Haws, M., & Fong, Q. (2008). Farming the Micronesian Wool Sponge (*Cosinoderma matthewsi*).
- Erpenbeck, D., Galitz, A., Ekins, M., Cook, S. D. C., van Soest, R. W., Hooper, J. N., & Wörheide, G. (2020). Soft sponges with tricky tree: On the phylogeny of dictyoceratid sponges. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 58(1), 27-40.
- Evanno, L., Lachkar, D., Lamali, A., Boufridi, A., Séon-Méniel, B., Tintillier, F., Saulnier, D., Denis, S., Genta-Jouve, G., Jullian, J.-C., Leblanc, K., Beniddir M. A., Petek, S., Debitus, C. & Poupon, E. (2018). A ring-distortion strategy from marine natural product ilimaquinone leads to quorum sensing modulators. *European Journal of Organic Chemistry*, 2018, 2486-2497.
- Fan, L., Liu, M., Simister, R., Webster, N. S., & Thomas, T. (2013). Marine microbial symbiosis heats up: the phylogenetic and functional response of a sponge holobiont to thermal stress. *The ISME journal*, 7(5), 991-1002.
- Fang, S. T., Yan, B. F., Yang, C. Y., Miao, F. P., & Ji, N. Y. (2017). Hymerhabdrin A, a novel diterpenoid with antifouling activity from the intertidal sponge *Hymerhabdia* sp. *The Journal of antibiotics*, 70, 1043-1046.
- Faruqi, A., & Tadi, P. (2020). Cytarabine. In: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). PMID: 32491612.
- Feng, G., Sun, W., Zhang, F., Karthik, L., & Li, Z. (2016). Inhabitancy of active *Nitrosopumilus*-like ammonia-oxidizing archaea and *Nitrospira* nitrite-oxidizing bacteria in the sponge *Theonella swinhoei*. *Scientific Reports*, 6(1), 1-11.
- Fortman, J. L., & Sherman, D. H. (2005). Utilizing the power of microbial genetics to bridge the gap between the promise and the application of marine natural products. *Chembiochem*, 6(6), 960-978.

- Frouin, P. (1996). Structure et fonctionnement des écosystèmes benthiques dans les lagons soumis aux perturbations anthropiques. Thèse de doctorat, Université française du Pacifique, 208 pp.
- Fu, W., Sun, L., Zhang, X., & Zhang, W. (2006). Potential of the marine sponge *Hymeniacidon* perleve as a bioremediator of pathogenic bacteria in integrated aquaculture ecosystems. *Biotechnology and Bioengineering*, 93, 1112-1122.
- Gabrie, C., & Salvat, B. (1985). General features of French Polynesian islands and their coral reefs. In : 5th International Coral Reef Congress, Tahiti, 1, pp. 1-16.
- Gaillard, J. F., & Tréguer, P. (1993). ANTARES I à bord du MARION-DUFRESNE 29 mars-18 mai 1993. Les rapports des campagnes à la mer, Institut Français pour la Recherche et la Technologie Polaires Technopôle, Brest-Iroise, N8, 94-04.
- Gao, K., Helbling, E. W., Häder, D. P., & Hutchins, D. A. (2012). Responses of marine primary producers to interactions between ocean acidification, solar radiation, and warming. *Marine Ecology Progress Series*, 470, 167-189.
- García-Hernández, J. E., Hammerman, N. M., Cruz-Motta, J. J., & Schizas, N. V. (2019). Associated organisms inhabiting the calcareous sponge *Clathrina lutea* in La Parguera, Puerto Rico. *Caribbean Journal of Science*, 49(2-3), 239-254.
- Genin, A., Yahel, G., Reidenbach, M. A., Monismith, S. G., Koseff, J. R., & Monismith, S. B. (2002). Intense benthic grazing on phytoplankton in coral reefs revealed using the control volume approach. *Oceanography*, 90-96.
- Gerrodette, T., & Flechsig, A. O. (1979). Sediment-induced reduction in the pumping rate of the tropical sponge *Verongia lacunosa*. *Marine Biology*, 55, 103-110.
- Giangrande, A., Pierri, C., Arduini, D., Borghese, J., Licciano, M., Trani, R., Corriero, G., Basile, G., Cecere, E., Petrocelli, A., Stabili, L. & Longo, C. (2020). An innovative IMTA system: Polychaetes, sponges and macroalgae co-cultured in a Southern Italian in-shore mariculture plant (Ionian Sea). *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(10), 733.
- Gifford, S., Dunstan, R. H., O'Connor, W., Koller, C. E., & MacFarlane, G. R. (2007). Aquatic zooremediation: deploying animals to remediate contaminated aquatic environments. *TRENDS in Biotechnology*, 25, 60-65.
- Ginn, B. K., Logan, A., & Thomas, M. L. H. (2000). Sponge ecology on sublittoral hard substrates in a high current velocity area. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 50(3), 403-414.
- Goldstein, J., Riisgård, H. U., & Larsen, P. S. (2019). Exhalant jet speed of single-osculum explants of the demosponge *Halichondria panicea* and basic properties of the sponge-pump. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 511, 82-90.
- Gomez-León, J., Lopez-Navarro, J., Millanguir, A., Castaño, J. D., & Zea, S. (2017). Production of (+)-discodermolide by the sponge *Discodermia dissoluta* under fixed and suspended culture systems. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras-INVEMAR*, 46(2), 153-174.

- Goodwin, C., Rodolfo-Metalpa, R., Picton, B., & Hall-Spencer, J. M. (2014). Effects of ocean acidification on sponge communities. *Marine Ecology*, 35, 41-49.
- Gouriou, Y., & Delcroix, T. (2002). Seasonal and ENSO variations of sea surface salinity and temperature in the South Pacific Convergence Zone during 1976–2000. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 107(C12), SRF-12.
- Graham, E. D., & Tully, B. J. (2021). Marine Dadabacteria exhibit genome streamlining and phototrophy-driven niche partitioning. *The ISME journal*, 15(4), 1248-1256.
- Grenz, C., Rodier, M., Seceh, C., Varillon, D., Haumani, G., & Pinazo, C. (2021). Benthic nutrients and oxygen fluxes at the water sediment interface in a pearl farming atoll (Ahe, Tuamotu, French Polynesia). *Marine Pollution Bulletin*, 173, 112963.
- Guilcher, A. (1969). Les Récifs et lagons coralliens de Mopelia et de Bora-Bora (îles de la Société): et quelques autres récifs et lagons de comparaison (Tahiti, Scilly, Tuamotu occidentales); morphologie, sédimentologie, fonctionnement hydrologique (No. 38). IRD Editions.
- Guindon, S., Dufayard, J. F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., & Gascuel, O. (2010). New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology*, 59(3), 307-321.
- Haßler, K., Dähnke, K., Kölling, M., Sichoix, L., Nickl, A. L., & Moosdorf, N. (2019). Provenance of nutrients in submarine fresh groundwater discharge on Tahiti and Moorea, French Polynesia. *Applied Geochemistry*, 100, 181-189.
- Hadas, E., Shpigel, M., & Ilan, M. (2005). Sea ranching of the marine sponge *Negombata magnifica* (Demospongiae, Latrunculiidae) as a first step for latrunculin B mass production. *Aquaculture*, 244(1-4), 159-169.
- Hagiwara, K. A., & Wright, A. D. (2016). Half a Century of Hawaiian Marine Natural Products. *Planta medica*, 82(09/10), 800-815.
- Halpern, B. S., Walbridge, S., Selkoe, K. A., Kappel, C. V., Micheli, F., D'Agrosa, C., Bruno, J. F., Casey, K. S., Ebert, C., Fox, H. E., Fujita, R., Heinemann, D., Lenihan, H. S., Madin, E. M. P., Perry, M. T., Selig, E. R., Spalding, M., Steneck, R., & Watson, R. (2008). A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, 319(5865), 948-952.
- Handley, S., Kelly, S., & Kelly, M. (2003). Non-destructive video image analysis method for measuring growth in sponge farming: Preliminary results from the New Zealand bath-sponge *Spongia (Heterofibria) manipolatus*. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 37(3), 613-621. Hawes, I., Oengpepa, C. P., & Center, W. (2010). Village scale sponge aquaculture in the Solomon Islands. Final Report for mini-project MS0506.
- Harbaugh, D. T. (2000). The use of algae to indicate eutrophication in the streams of Cook's and Opunohu Bays, Mo'orea, French Polynesia. *Biology and Geomorphology of Tropical Islands: Student Papers*, 172-182.
- Hardoim, C. C. P., Ramaglia, A. C. M., Lôbo-Hajdu, G., & Custódio, M. R. (2021). Community composition and functional prediction of prokaryotes associated with sympatric sponge species of southwestern Atlantic coast. *Scientific reports*, 11(1), 1-16.

- Hay, M. E. (1996). Marine chemical ecology: what's known and what's next?. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 200(1-2), 103-134.
- Hayashida, H., Matear, R. J., & Strutton, P. G. (2020). Background nutrient concentration determines phytoplankton bloom response to marine heatwaves. *Global change biology*, 26(9), 4800-4811.
- Henry, L. A., & Hart, M. (2005). Regeneration from injury and resource allocation in sponges and corals—a review. *International Review of Hydrobiology: A Journal Covering all Aspects of Limnology and Marine Biology*, 90(2), 125-158.
- Hentschel, U., Hopke, J., Horn, M., Friedrich, A. B., Wagner, M., Hacker, J., & Moore, B. S. (2002). Molecular evidence for a uniform microbial community in sponges from different oceans. *Applied and environmental microbiology*, 68(9), 4431-4440.
- Hentzer, M., & Givskov, M. (2003). Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. *The Journal of clinical investigation*, 112(9), 1300-1307.
- Herbland, A., Le Bouteiller, A., & Raimbault, P. (1985). Size structure of phytoplankton biomass in the equatorial Atlantic Ocean. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 32(7), 819-836.
- Hill, M., Hill, A., Lopez, N., & Harriott, O. (2006). Sponge-specific bacterial symbionts in the Caribbean sponge, *Chondrilla nucula* (Demospongiae, Chondrosida). *Marine Biology*, 148(6), 1221-1230.
- Hirose, E., & Murakami, A. (2011). Microscopic anatomy and pigment characterization of coral-encrusting black sponge with cyanobacterial symbiont, *Terpios hoshinota*. *Zoological science*, 28, 199-205.
- Hoffmann, F., Rapp, H. T., Zöllner, T., & Reitner, J. (2003). Growth and regeneration in cultivated fragments of the boreal deep water sponge *Geodia barretti* Bowerbank, 1858 (Geodiidae, Tetractinellida, Demospongiae). *Journal of biotechnology*, 100(2), 109-118.
- Hoffmann, F., Røy, H., Bayer, K., Hentschel, U., Pfannkuchen, M., Brümmer, F., & De Beer, D. (2008). Oxygen dynamics and transport in the Mediterranean sponge *Aplysina aerophoba*. *Marine biology*, 153(6), 1257-1264.
- Holme, N. A., & McIntyre, A. D. (1984). *Methods for the study of marine benthos*, 2nd edition. Blackwell Scientific Publ, Oxford.
- Hopuare, M. Changement climatique en Polynésie française détection des changements observés, évaluation des projections. 2014. Thèse de doctorat, Université de la Polynésie Française, 149 pp.
- Hooper, J. (2014). QM1520 *Dactylospongia metachromia* (de Laubenfels, 1954). In : *SpongeMaps: an online community for taxonomy and identification of sponges*.
- Huelsenbeck, J. P., & Ronquist, F. (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17(8), 754-755.

- Imhoff, J. F., Rahn, T., Künzel, S., & Neulinger, S. C. (2018). Photosynthesis is widely distributed among Proteobacteria as demonstrated by the phylogeny of PufLM reaction center proteins. *Frontiers in microbiology*, 8, 2679.
- Indraningrat, A. A. G., Smidt, H., & Sipkema, D. (2016). Bioprospecting sponge-associated microbes for antimicrobial compounds. *Marine drugs*, 14, 87.
- Institut de la Statistique de Polynésie française (ISPF). Recensement de la population 2017. https://www.ispf.pf/docs/default-source/rp2017/cpo_rp2017.pdf?sfvrsn=2, consulté le 15/02/2021.
- Intès, A. (1984). L'huitre nacrée et perlière en Polynésie Française: mutation de l'exploitation. *Pêche Marit*, 1272, 161-166.
- Ishizaka, J., & Yamada, K. (2019). Phytoplankton and primary production in the Japan Sea. In : Remote sensing of the Asian Seas, Springer, Cham, pp. 177-189.
- Jacquet, S. (2005). Impact des apports en nutriments sur le réseau trophique planctonique du lagon sud-ouest de Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI., 279 pp.
- Jeong, J. B., Kim, K. H., & Park, J. S. (2015). Sponge-specific unknown bacterial groups detected in marine sponges collected from Korea through barcoded pyrosequencing. *Journal of microbiology and biotechnology*, 25(1), 1-10.
- Jokiel, P. L. (1980). Solar ultraviolet radiation and coral reef epifauna. *Science*, 207(4435), 1069-1071.
- Kaandorp, J. A., & De Kluijver, M. J. (1992). Verification of fractal growth models of the sponge *Haliciona oculata* (Porifera) with transplantation experiments. *Marine Biology*, 113(1), 133-143.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. I., & Miyata, T. (2002). MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic acids research*, 30(14), 3059-3066.
- Katoh, T., Atsumi, S., Saito, R., Narita, K., & Katoh, T. (2017). Unified Synthesis of the Marine Sesquiterpene Quinones (+)-Smenoqualone, (-)-Ilimaquinone, (+)-Smenospongine, and (+)-Isosponginaquinone. *European Journal of Organic Chemistry*, 2017(26), 3837-3849.
- Kelecom, A. (2002). Secondary metabolites from marine microorganisms. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 74(1), 151-170.
- Kelly, M., Handley, S., Page, M., Butterfield, P., Hartill, B., & Kelly, S. (2004). Aquaculture trials of the New Zealand bath-sponge *Spongia* (*Heterofibria*) *manipulatus* using lanterns. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 38(2), 231-241.
- Kelly-Borges, M., & Bergquist, P. R. (1988). Sponges from Motupore Island, Papua New Guinea. *Indo-Malayan Zoology*, 5(2), 121-159.
- Kelly-Borges, M., & Bergquist, P. R. (1997). Revision of Southwest Pacific Polymastiidae (Porifera: Demospongiae: Hadromerida) with descriptions of new species of Polymastia

- Bowerbank, Tylexocladus Topsent, and Acanthopolymastia gen. nov. from New Zealand and the Norfolk Ridge, New Caledonia. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 31(3), 367-402.
- King, W. L., Siboni, N., Kahlke, T., Dove, M., O'Connor, W., Mahbub, K. R., Jenkins, C., Seymour, J. R., & Labbate, M. (2020). Regional and oyster microenvironmental scale heterogeneity in the Pacific oyster bacterial community. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(5), fiae054.
- Kiran, G. S., Sekar, S., Ramasamy, P., Thinesh, T., Hassan, S., Lipton, A. N., Ninawe, A. S., & Selvin, J. (2018). Marine sponge microbial association: Towards disclosing unique symbiotic interactions. *Marine environmental research*, 140, 169-179.
- Klautau, M., Lopes, M. V., Guarabyra, B., Folcher, E., Ekins, M., & Debitus, C. (2020). Calcareous sponges from the French Polynesia (Porifera: Calcarea). *Zootaxa*, 4748, 261-295.
- Knobloch, S., Jóhannsson, R., & Marteinson, V. (2019). Co-cultivation of the marine sponge *Halichondria panicea* and its associated microorganisms. *Scientific reports*, 9(1), 1-11.
- Kobayashi, J. I., Murayama, T., Ohizumi, Y., Ohta, T., Nozoe, S., & Sasaki, T. (1989). Metachromin C, a new cytotoxic sesquiterpenoid from the Okinawan maring sponge *Hippospongia metachromia*. *Journal of natural products*, 52(5), 1173-1176.
- Kraus, E., Mellenthin, L., Siwiecki, S., Song, D., Janmey, P., & Sweeney, A. (2021). Marine Sponge Tissue Displays Both Dynamic and Diverse Mechanics. *Bulletin of the American Physical Society*.
- Kumala, L., Riisgård, H. U., & Canfield, D. E. (2017). Osculum dynamics and filtration activity in small single-osculum explants of the demosponge *Halichondria panicea*. *Marine Ecology Progress Series*, 572, 117-128.
- Kumar, M. S., & Pal, A. K. (2016). A review of bioactive compounds from marine organisms with special mention on the potential of marine sponges in pharmacological applications. *Journal of the Marine Biological Association of India*, 58(1), 84.
- Kushlan, D. M., Faulkner, D. J., Parkanyi, L., & Clardy, J. (1989). Metabolites of the Palauan sponge *Dactylospongia* sp. *Tetrahedron*, 45(11), 3307-3312.
- Lacoste, É., Raimbault, P., & Gaertner-Mazouni, N. (2021). Different food particle sources in the pearl oyster *Pinctada margaritifera* and its epibionts. *Aquaculture Reports*, 21, 100887.
- Landry, Z., Swan, B. K., Herndl, G. J., Stepanauskas, R., & Giovannoni, S. J. (2017). SAR202 genomes from the dark ocean predict pathways for the oxidation of recalcitrant dissolved organic matter. *MBio*, 8(2), e00413-17.
- Laurent, V., Maamaatuaiahutapu, K., Maiiau, J., & Varney, P. (2004) *Atlas climatologique de Polynésie française*, Météo France, 201 pp.
- Laurent, V., Maamaatuaiahutapu, K., Brodien, I., Lombardo, S., Tardy, M., & Varney, P. (2019). *Atlas climatologique de la Polynésie française*. Météo France, Délégation interrégionale de Polynésie française.

- Lee, C. S., & Awaya, K. (2003). Viable aquaculture development in the US affiliated islands-lessons from giant clam and sponge farming. *Aquaculture Economics & Management*, 7(1-2), 125-135.
- Legendre, L., Demers, S., Delesalle, B., & Harnois, C. (1988). Biomass and photosynthetic activity of phototrophic picoplankton in coral reef waters (Moorea Island, French Polynesia). *Marine Ecology Progress Series*, 153-160.
- Leinfelder, R., Werner, W., & Nose, M. (1996). Paleoecology, growth parameters and dynamics of coral, sponge and microbolite reefs from the Late Jurassic. Report for the Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Le Luyer, J., Schull, Q., Auffret, P., Lopez, P., Crusot, M., Belliard, C., Basset, C., Carradec, Q., Poulain, J., Planes, S., & Saulnier, D. (2021). Dual RNAseq highlights the kinetics of skin microbiome and fish host responsiveness to bacterial infection. *Animal microbiome*, 3(1), 1-15.
- Lemoine, N., Buell, N., Hill, A., & Hill, M. (2007). Assessing the utility of sponge microbial symbiont communities as models to study global climate change: a case study with *Halichondria bowerbanki*. *Porifera research: biodiversity, innovation and sustainability*, 419-425.
- Le Pennec, G., & Gardères, J. (2019). The challenge of the sponge *suberites domuncula* (Olivi, 1792) in the presence of a symbiotic bacterium and a pathogen bacterium. *Genes*, 10(7), 485.
- Leys, S. P., & Meech, R. W. (2006). Physiology of coordination in sponges. *Canadian journal of zoology*, 84, 288-306.
- Leys, S. P., Yahel, G., Reidenbach, M. A., Tunnicliffe, V., Shavit, U., & Reiswig, H. M. (2011). The sponge pump: the role of current induced flow in the design of the sponge body plan. *PloS one*, 6(12), e27787.
- Leys, S. P., Kahn, A. S., Fang, J. K. H., Kutti, T., & Bannister, R. J. (2018). Phagocytosis of microbial symbionts balances the carbon and nitrogen budget for the deep-water boreal sponge *Geodia barretti*. *Limnology and Oceanography*, 63(1), 187-202.
- Ling, T., Poupon, E., Rueden, E. J., & Theodorakis, E. A. (2002). Synthesis of (-)-ilimaquinone via a radical decarboxylation and quinone addition reaction. *Organic Letters*, 4(5), 819-822.
- Linsley, G., & McEwan, A. C. (1998). Potential doses at the atolls. *IAEA Bulletin*, 40(4), 38-42.
- Littman, R., Willis, B. L., & Bourne, D. G. (2011). Metagenomic analysis of the coral holobiont during a natural bleaching event on the Great Barrier Reef. *Environmental Microbiology Reports*, 3(6), 651-660.
- Liu, H., Wang, G., Namikoshi, M., Kobayashi, H., Yao, X., & Cai, G. (2006). Sesquiterpene quinones from a marine sponge *Hippospongia* sp. that inhibit maturation of starfish oocytes and induce cell cycle arrest with HepG2 cells. *Pharmaceutical biology*, 44(7), 522-527.
- Lopez, P., Saulnier, D., Swarup-Gaucher, S., David, R., Lau, C., Taputuarai, R., Belliard, C., Basset, C., Labrune, V., Marie, A., Bernadet, J. F. & Duchaud, E. (2022). First isolation of

virulent *Tenacibaculum maritimum* strains from diseased orbicular batfish (*Platax orbicularis*) farmed in Tahiti Island. *Pathogens*, 11(2), 131.

López-Acosta, M., Leynaert, A., Grall, J., & Maldonado, M. (2018). Silicon consumption kinetics by marine sponges: An assessment of their role at the ecosystem level. *Limnology and Oceanography*, 63(6), 2508-2522.

Louden, D., Inderbitzin, S., Peng, Z., & De Nys, R. (2007). Development of a new protocol for testing bath sponge quality. *Aquaculture*, 271(1-4), 275-285.

Lough, J. M., Meehl, G. A., & Salinger, M. J. (2011). Observed and projected changes in surface climate of the tropical Pacific. Vulnerability of tropical Pacific fisheries and aquaculture to climate change. Secretariat of the Pacific Community, Noumea, New Caledonia, 49-99.

Lowe, B., Venkatesan, J., Ehrlich, H., & Kim, S. K. (2016). Global Constraints, Prospects, and Perspectives of Marine Sponge Research. In *Marine Sponges: Chemicobiological and Biomedical Applications* (pp. 25-35). Springer, New Delhi.

Loya, S., & Hizi, A. (1993). The interaction of illimaquinone, a selective inhibitor of the RNase H activity, with the reverse transcriptases of human immunodeficiency and murine leukemia retroviruses. *Journal of Biological Chemistry*, 268(13), 9323-9328.

Loya, S. H., Tal, R., Kashman, Y., & Hizi, A. (1990). Illimaquinone, a selective inhibitor of the RNase H activity of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 34(10), 2009-2012.

Lucas, A., & Beninger, P. G. (1985). The use of physiological condition indices in marine bivalve aquaculture. *Aquaculture*, 44, 187-200.

Ludeman, D. A., Reidenbach, M. A., & Leys, S. P. (2017). The energetic cost of filtration by demosponges and their behavioural response to ambient currents. *Journal of Experimental Biology*, 220(6), 995-1007.

Luibrand, R. T., Erdman, T. R., Vollmer, J. J., Scheuer, P. J., Finer, J., & Clardy, J. (1979). Illimaquinone, a sesquiterpenoid quinone from a marine sponge. *Tetrahedron*, 35(5), 609-612.

Maamaatuaiahutapu, K. (2015). Contexte océanographique de l'archipel des Australes. In : *Environnement marin des îles Australes*. Polynésie française.

MacMillan, S. M., & Ladwig, J. (1996). Starting a Successful Commercial Sponge Aquaculture Farm. Center for Tropical and Subtropical Aquaculture, University of Hawaii, Waimanalo, Hawaii.

Magnen, D. (2010). Étude de la salinité de surface dans le lagon sud-ouest calédonien. Rapport de stage. Centre IRD de Nouméa, Nouvelle-Calédonie.

Mai, T., Toullec, J., Van Wynsberge, S., Besson, M., Soulet, S., Petek, S., Aliotti, E., Ekins, M., Hall, K., Erpenbeck, D., Lecchini, D., Beniddir, M. A., Saulnier, D. & Debitus, C. (2019). Potential of faspaplysin and palauolide from *Faspaplysinopsis cf reticulata* to reduce the risk of bacterial infection in fish farming. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 22(1), 1-11.

- Maia, L. F., Gonzaga, T. A., Campos, M. T., Lobo-Hajdu, G., Edwards, H. G., & de Oliveira, L. F. (2021). Coloration patterns of marine sponges assessed by vibrational spectroscopy. *Journal of Raman Spectroscopy*.
- Majali, I., Qaralleh, H. N., Idid, S. Z., Saad, S., Susanti, D., & Althunibat, O. Y. (2019). Potential antimicrobial activity of marine sponge *Neopetrosia exigua*. arXiv preprint arXiv:1912.05323.
- Malve, H. (2016). Exploring the ocean for new drug developments: Marine pharmacology. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 8(2), 83.
- Marlow, J., Schönberg, C. H., Davy, S. K., Haris, A., Jompa, J., & Bell, J. J. (2019). Bioeroding sponge assemblages: the importance of substrate availability and sediment. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 99(2), 343-358.
- Marshall, A. J., Longmore, A., Phillips, L., Tang, C., Hayden, H. L., Heidelberg, K. B., & Mele, P. (2021). Nitrogen cycling in coastal sediment microbial communities with seasonally variable benthic nutrient fluxes. *Aquatic Microbial Ecology*, 86, 1-19.
- Maschek, J. A., & Baker, B. J. (2008). The chemistry of algal secondary metabolism. In : *Algal chemical ecology*. Springer, Berlin, Heidelberg, 1-24 pp.
- Maslin, M., Gaertner-Mazouni, N., Debitus, C., de Voogd, N. J., & Ho, R. (2021). Marine sponge aquaculture towards drug development: An ongoing history of technical, ecological, chemical considerations and challenges. *Aquaculture Reports*, 21, 100813.
- Matcher, G. F., Waterworth, S. C., Walmsley, T. A., Matsatsa, T., Parker-Nance, S., Davies-Coleman, M. T., & Dorrington, R. A. (2017). Keeping it in the family: Coevolution of latrunculid sponges and their dominant bacterial symbionts. *Microbiologyopen*, 6(2), e00417.
- Mayer, A. M., & Gustafson, K. R. (2008). Marine pharmacology in 2005–2006: Antitumour and cytotoxic compounds. *European Journal of Cancer*, 44(16), 2357-2387.
- Mayer, C., Romero, M., Muras, A., & Otero, A. (2015). Aii20J, a wide-spectrum thermostable N-acylhomoserine lactonase from the marine bacterium *Tenacibaculum* sp. 20J, can quench AHL-mediated acid resistance in *Escherichia coli*. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(22), 9523-9539.
- Mazza, J. (1964). Premières observations sur les valeurs de poids sec chez quelques copépodes de Méditerranée. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches maritimes*, 28(3), 293-301.
- Mazzella, A. (2007). Etude des sources d'alimentation potentielles des larves de l'huître perlière à l'échelle d'un lagon des Tuamotu, Ahe (Polynésie Française). Mémoire de fin d'étude, Université de La Rochelle.
- McClintock, J. B., Amsler, C. D., Baker, B. J., & Van Soest, R. W. (2005). Ecology of Antarctic marine sponges: an overview. *Integrative and Comparative Biology*, 45, 359-368.
- McDonald, J. I., Hooper, J. N., & McGuinness, K. A. (2002). Environmentally influenced variability in the morphology of *Cinachyrella australiensis* (Carter 1886) (Porifera: Spirophorida: Tetillidae). *Marine and Freshwater Research*, 53(1), 79-84.

- McMurray, S. E., Johnson, Z. I., Hunt, D. E., Pawlik, J. R., & Finelli, C. M. (2016). Selective feeding by the giant barrel sponge enhances foraging efficiency. *Limnology and Oceanography*, 61(4), 1271-1286.
- Mehrshad, M., Rodriguez-Valera, F., Amoozegar, M. A., López-García, P., & Ghai, R. (2018). The enigmatic SAR202 cluster up close: shedding light on a globally distributed dark ocean lineage involved in sulfur cycling. *The ISME journal*, 12(3), 655-668.
- Menezes, C. B., Bonugli-Santos, R. C., Miqueletto, P. B., Passarini, M. R., Silva, C. H., Justo, M. R., Rebeca, R. L., Fantinatti-Garboggini, F., Oliveira, V. M., Berlinck, R. G. S., & Sette, L. D. (2010). Microbial diversity associated with algae, ascidians and sponges from the north coast of São Paulo state, Brazil. *Microbiological Research*, 165(6), 466-482.
- Merle, J., & Tourre, Y. (1984). El Niño 1982-1983 et ses conséquences climatologiques. *Météorologie Maritime*, 120, 31-39.
- Meyer, J. Y. (2004). Threat of invasive alien plants to native flora and forest vegetation of Eastern Polynesia. *Pacific Science*, 58, 357-375.
- Meyer, C. P., Geller, J. B., & Paulay, G. (2005). Fine scale endemism on coral reefs: archipelagic differentiation in turbinid gastropods. *Evolution*, 59(1), 113-125.
- Miao, X. X., Chen, M. X., Zhu, H. R., Sun, F., Hong, L. L., Wu, W. H., Lin, H. W., & Yang, F. (2020). New polyketides and norterpeneoids from the marine sponge *Diacarnus megaspinorhabdosa*. *Tetrahedron*, 76, 131062.
- Michel, A., Colin, C., Desrosières, R., & Oudot, C. (1971). Observations sur l'hydrologie et le plancton des abords et de la zone des passes de l'atoll de Rangiroa (archipel des Tuamotu, océan Pacifique central). *Cahiers ORSTOM, Série Océanographie*, 9, 375-402.
- Mitome, H., Nagasawa, T., Miyaoka, H., Yamada, Y., & van Soest, R. W. (2002). Dactyloquinones C, D and E novel sesquiterpenoid quinones, from the Okinawan marine sponge, *Dactylospongia elegans*. *Tetrahedron*, 58(9), 1693-1696.
- Molari, M., Janssen, F., Vonnahme, T. R., Wenzhöfer, F., & Boetius, A. (2020). The contribution of microbial communities in polymetallic nodules to the diversity of the deep-sea microbiome of the Peru Basin (4130–4198 m depth). *Biogeosciences*, 17(12), 3203-3222.
- Molinski, T. F., Dalisay, D. S., Lievens, S. L., & Saludes, J. P. (2009). Drug development from marine natural products. *Nature reviews Drug discovery*, 8(1), 69-85.
- Monaco, C. J., Sangare, N., Le Moullac, G., Basset, C., Belliard, C., Mizuno, K., Smith, D. L. & Lo-Yat, A. (2021). Dynamic Energy Budget model suggests feeding constraints and physiological stress in black-lip pearl oysters, 5 years post mass-mortality event. *Marine Pollution Bulletin*, 167, 112329.
- Moniod, F. (1974). Étude hydrologique des îles Gambier. *ORSTOM*, 35 pp.
- Montaggioni, L. F., Richard, G., Bourrouilh-Le Jan, F., Gabrié, C., Humbert, L., Monteforte, M., Naim, O., Payri, C., & Salvat, B. (1985). Geology and marine biology of Makatea, an uplifted atoll, Tuamotu Archipelago, central Pacific Ocean. *Journal of Coastal Research*, 165-171.

- Montaser, R., & Luesch, H. (2011). Marine natural products: a new wave of drugs?. *Future medicinal chemistry*, 3(12), 1475-1489.
- Monteiro, L. C. P. (2020). Rhizospheric microbial communities of plants coexisting under different edaphic conditions.
- Morganti, T. M., Ribes, M., Yahel, G., & Coma, R. (2019). Size is the major determinant of pumping rates in marine sponges. *Frontiers in physiology*, 10, 1474.
- Morrow, K. M., Bourne, D. G., Humphrey, C., Botté, E. S., Laffy, P., Zaneveld, J., Uthicke, S., Fabricius, K. E., & Webster, N. S. (2015). Natural volcanic CO₂ seeps reveal future trajectories for host–microbial associations in corals and sponges. *The ISME journal*, 9(4), 894-908.
- Munro, M. H., Blunt, J. W., Dumdei, E. J., Hickford, S. J., Lill, R. E., Li, S., Battershill, C. N., & Duckworth, A. R. (1999). The discovery and development of marine compounds with pharmaceutical potential. *Progress in Industrial Microbiology*, 35, 15-25.
- Munroe, S., Sandoval, K., Martens, D. E., Sipkema, D., & Pomponi, S. A. (2019). Genetic algorithm as an optimization tool for the development of sponge cell culture media. In : *Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 55(3), 149-158.
- Muselli, M., Clus, O., Ortega, P., Milimouk, I., & Beysens, D. (2021). Physical, Chemical and Biological Characteristics of Dew and Rainwater during the Dry Season of Tropical Islands. *Atmosphere*, 12(1), 69.
- Neupane, R. P., Parrish, S. M., Bhandari Neupane, J., Yoshida, W. Y., Yip, M. L., Turkson, J., Harper, M. K., Head, J. D. & Williams, P. G. (2019). Cytotoxic sesquiterpenoid quinones and quinols, and an 11-membered heterocycle, Kauamide, from the Hawaiian marine sponge *Dactylospongia elegans*. *Marine drugs*, 17(7), 423.
- Newell, N. D. (1954). Reefs and sedimentary processes of Raroia. *Atoll Research Bulletin*, 36, 43 pp.
- Newell, N. D. (1956). Geological reconnaissance of Raroia (Kon Tiki) Atoll, Tuamotu Archipelago. *Bulletin of the AMNH*, 109 (3), 91 pp.
- Noyer, C., & Becerro, M. A. (2011). Relationship between genetic, chemical, and bacterial diversity in the Atlanto-Mediterranean bath sponge *Spongia lamella*. In *Ancient Animals, New Challenges* (pp. 85-99). Springer, Dordrecht.
- O'Brien, P. A., Andreakis, N., Tan, S., Miller, D. J., Webster, N. S., Zhang, G., & Bourne, D. G. (2021). Testing cophylogeny between coral reef invertebrates and their bacterial and archaeal symbionts. *Molecular Ecology*, 30(15), 3768-3782.
- Olson, J. B., Gochfeld, D. J., & Slattery, M. (2006). *Aplysina* red band syndrome: a new threat to Caribbean sponges. *Diseases of aquatic organisms*, 71, 163-168.
- Oronti, A., Danylchuk, A. J., Elmore, C. E., Auriemma, R., & Pesle, G. (2012). Assessing the feasibility of sponge aquaculture as a sustainable industry in The Bahamas. *Aquaculture International*, 20(2), 295-303.

- Osinga, R., Tramper, J., & Wijffels, R. H. (1999). Cultivation of marine sponges. *Marine Biotechnology*, 1(6), 509-532.
- Page, M. J., Northcote, P. T., Webb, V. L., Mackey, S., & Handley, S. J. (2005). Aquaculture trials for the production of biologically active metabolites in the New Zealand sponge *Mycale hentscheli* (Demospongiae: Poecilosclerida). *Aquaculture*, 250(1-2), 256-269.
- Pagès, J., & Andréfouët, S. (2001). A reconnaissance approach for hydrology of atoll lagoons. *Coral Reefs*, 20(4), 409-414.
- Paine, R. T. (1964). Ash and calorie determinations of sponge and opisthobranch tissues. *Ecology*, 45(2), 384-387.
- Pansini, M., Cattaneo-Vietti, R., & Schiaparelli, S. (1999). Relationship between sponges and a taxon of obligatory inquilines: the siliquariid molluscs. *Memoirs of the Queensland Museum*, 44, 427-438.
- Parada, A. E., Needham, D. M., & Fuhrman, J. A. (2016). Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environmental microbiology*, 18(5), 1403-1414.
- Pawlik, J. R. (2012). Antipredatory defensive roles of natural products from marine invertebrates. *Handbook of marine natural products*, 677-710.
- Pawlik, J. R., Chanas, B., Toonen, R. J., & Fenical, W. (1995). Defenses of Caribbean sponges against predatory reef fish. I. Chemical deterrence. *Marine Ecology Progress Series*, 127, 183-194.
- Pearce, B., & Kerr, R. (2013). Semi-Synthesis of a Biologically Inspired Library of Natural Product Mimics, from the Lipophilic Marine Natural Product β -Gorgonene. *Planta Medica*, 79(10), PC5.
- Perea-Blázquez, A., Davy, S. K., & Bell, J. J. (2011). Nutrient utilisation by shallow water temperate sponges in New Zealand. In *Ancient Animals, New Challenges* (pp. 237-250). Springer, Dordrecht.
- Pereira, D. M., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2013). Lessons from the Sea: Distribution, SAR, and molecular mechanisms of anti-inflammatory drugs from marine organisms. In : *Studies in Natural Products Chemistry*, 40, 205-228.
- Petek, S., & Debitus, C. (2017). *Sponges of Polynesia*. Marseille, IRD, 827 pp.
- Philp, R. B. (1997). Effects of pH and oxidant stressors (hydrogen peroxide and bleach) on calcium-induced aggregation of cells of the marine sponge *Microciona prolifera*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 118(3), 347-351.
- Pichon, M. (2019). French Polynesia. In : *Mesophotic Coral Ecosystems* (pp. 425-443). Springer, Cham.
- Piel, J. (2009). Metabolites from symbiotic bacteria. *Natural product reports*, 26(3), 338-362.

- Piel, J., Hui, D., Wen, G., Butzke, D., Platzer, M., Fusetani, N., & Matsunaga, S. (2004). Antitumor polyketide biosynthesis by an uncultivated bacterial symbiont of the marine sponge *Theonella swinhoei*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(46), 16222-16227.
- Pile, A. J. (1997). Finding Reiswig's missing carbon: quantification of sponge feeding using dual-beam flow cytometry. In : *Proceedings of the 8th International Coral Reef Symposium*, 2, 1403-1410.
- Pita, L., Rix, L., Slaby, B. M., Franke, A., & Hentschel, U. (2018). The sponge holobiont in a changing ocean: from microbes to ecosystems. *Microbiome*, 6(1), 1-18.
- Polastro, L., Aftimos, P. G., & Awada, A. (2014). Eribulin mesylate in the management of metastatic breast cancer and other solid cancers: a drug review. *Expert review of anticancer therapy*, 14(6), 649-665.
- Poppell, E., Weisz, J., Spicer, L., Massaro, A., Hill, A., & Hill, M. (2014). Sponge heterotrophic capacity and bacterial community structure in high-and low-microbial abundance sponges. *Marine Ecology*, 35(4), 414-424.
- Pörtner, H. O., Roberts, D. C., Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Tignor, M., Poloczanska, E., & Weyer, N. M. (2019). The ocean and cryosphere in a changing climate. *IPCC Special Report on the Ocean and Cryosphere in a Changing Climate*.
- Posadas, N., Baquiran, J. I. P., Nada, M. A. L., Kelly, M., & Conaco, C. (2022). Microbiome diversity and host immune functions influence survivorship of sponge holobionts under future ocean conditions. *The ISME Journal*, 16(1), 58-67.
- Powell, A., Smith, D. J., Hepburn, L. J., Jones, T., Berman, J., Jompa, J., & Bell, J. J. (2014). Reduced diversity and high sponge abundance on a sedimented Indo-Pacific reef system: implications for future changes in environmental quality. *PloS one*, 9(1), e85253.
- Pradel, G., & Adda, J. (1975). Chromatographie en couches minces des 2, 4-dinitrophénylhydrazones des composés carbonylés. *Le Lait*, 55(549-550), 603-620.
- Proctor, L. M., & Fuhrman, J. A. (1990). Virus mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature*, 343, 60- 62.
- Przeslawski, R., Alvarez, B., Kool, J., Bridge, T., Caley, M. J., & Nichol, S. (2015). Implications of sponge biodiversity patterns for the management of a marine reserve in northern Australia. *PLoS One*, 10(11), e0141813.
- Rancher, J., & Rougerie, F. (1995). L'environnement océanique de l'archipel des Tuamotu (Polynésie française). *Oceanologica acta*, 18(1), 43-60.
- Rangel, H. R., Dagger, F. & Compagnone, R. S. (1997). Antiproliferative effect of illimaquinone on *Leishmania mexicana*. *Cell biology international*, 21(6), 337-339.
- Rapp, I., Schlosser, C., Browning, T. J., Wolf, F., Le Moigne, F. A., Gledhill, M., & Achterberg, E. P. (2020). El Niño-driven oxygenation impacts Peruvian shelf iron supply to the South Pacific Ocean. *Geophysical Research Letters*, 47(7), e2019GL086631.

- Ras, J., Claustre, H., & Uitz, J. (2008). Spatial variability of phytoplankton pigment distributions in the Subtropical South Pacific Ocean: comparison between in situ and predicted data. *Biogeosciences*, 5(2), 353-369.
- Reiswig, H. M. (1971). In situ pumping activities of tropical Demospongiae. *Marine Biology*, 9(1), 38-50.
- Reiswig, H. M. (1975). The aquiferous systems of three marine demospongiae. *Journal of Morphology*, 145, 493-502.
- Ribeiro, S. M., Omena, E. P., & Muricy, G. (2003). Macrofauna associated to *Mycale microsigmatosa* (Porifera, Demospongiae) in rio de Janeiro state, SE Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 57(5-6), 951-959.
- Ricard, M., Défarge, C., Ginsburg, R., Grand, S., Pirazzoli, P. A., Siu, P., & Vahrenkamp, V. C. (1985). Rangiroa atoll, Tuamotu archipelago. In : 5th International Coral Reef Congress, Tahiti, 1, 59-210.
- Ricciardi, A., & Bourget, E. (1998). Weight-to-weight conversion factors for marine benthic macroinvertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 163, 245-251.
- Riisgård, H. U., Thomassen, S., Jakobsen, H., Weeks, J. M., & Larsen, P. S. (1993). Suspension feeding in marine sponges *Halichondria panicea* and *Haliclona urceolus*: effects of temperature on filtration rate and energy cost of pumping. *Marine Ecology Progress Series*, 177-188.
- Risely, A. (2020). Applying the core microbiome to understand host–microbe systems. *Journal of Animal Ecology*, 89(7), 1549-1558.
- Rix, L., De Goeij, J. M., Mueller, C. E., Struck, U., Middelburg, J. J., Van Duyl, F. C., Al-Horani, A. F., Wild, C., Naumann, M. S., & Van Oevelen, D. (2016). Coral mucus fuels the sponge loop in warm-and cold-water coral reef ecosystems. *Scientific reports*, 6, 1-11.
- Reverter, M., Saulnier, D., David, R., Bardon-Albaret, A., Belliard, C., Tapissier-Bontemps, N., Lecchini, D., & Sasal, P. (2016). Effects of local Polynesian plants and algae on growth and expression of two immune-related genes in orbicular batfish (*Platax orbicularis*). *Fish & shellfish immunology*, 58, 82-88.
- Robbins, S. J., Song, W., Engelberts, J. P., Glasl, B., Slaby, B. M., Boyd, J., Marangon, E., Botté, E. S., Laffy, P., Thomas, T., & Webster, N. S. (2021). A genomic view of the microbiome of coral reef demosponges. *The ISME journal*, 15(6), 1641-1654.
- Rodier, M., Pinazo, C., Secch, C., & Varillon, D. (2021). Pelagic stocks and carbon and nitrogen uptake in a pearl farming atoll (Ahe, French Polynesia). *Marine Pollution Bulletin*, 167, 112352.
- Rougerie, F. (1979). Caractéristiques générales du milieu liquide lagonaire de l'atoll de Takapoto. *Journal de la Société des Océanistes*. 62, 35-45.
- Rougerie, F. (1995). Nature et fonctionnement des atolls des Tuamotu (Polynésie Française). *Oceanologica acta*, 18(1), 61-78.
- Rougerie, F., & Gros, R. (1980). Les courants dans la passe d'Avatoru : atoll de Rangiroa, archipel des Tuamotu. ORSTOM, 30 pp.

- Rougerie, F., & Wauthy, B. (1986). Le concept d'endo-upwelling dans le fonctionnement des atolls-oasis. *Oceanologica acta*, 9(2), 133-148.
- Rougerie, F., & Wauthy, B. (1993). The endo-upwelling concept: from geothermal convection to reef construction. *Coral Reefs*, 12(1), 19-30.
- Rougerie, F., Ricard, M., & Mazaury, E. (1984). Le lagon de l'atoll de Mururoa. Notes et Documents Oceanographiques, 16.
- Rougerie, F., Jehl, C., & Trichet, J. (1997a). Phosphorus pathways in atolls: interstitial nutrient pool, cyanobacterial accumulation and Carbonate-Fluoro-Apatite (CFA) precipitation. *Marine Geology*, 139(1-4), 201-217.
- Rougerie, F., Fichez, R., Déjardin, P., Vacher, H. L., & Quinn, T. (1997b). Geomorphology and hydrogeology of selected islands of French Polynesia: Tikehau (atoll) and Tahiti (barrier reef). *Geology and Hydrogeology of Carbonate Islands. Developments in sedimentology*, 475-502.
- Rovellini, A., Dunn, M. R., Fulton, E. A., Webster, N. S., Smith, D. J., Jompa, J., Haris, A., Berman, J. & Bell, J. J. (2019). Decadal variability in sponge abundance and biodiversity on an Indo-Pacific coral reef. *Marine Ecology Progress Series*, 620, 63-76.
- Ruiz, C., Valderrama, K., Zea, S., & Castellanos, L. (2013). Mariculture and natural production of the antitumoural (+)-discodermolide by the Caribbean marine sponge *Discodermia dissoluta*. *Marine biotechnology*, 15(5), 571-583.
- Rützler, K. (1969). Principles of sponge distribution in Indo-Pacific coral reefs: results of the Australian Indo-west Pacific expedition. In : Proceedings of the Symposium on Coral Reefs. Marine Biology Association of India, 314-332.
- Rützler, K. (1976). Ecology of Tunisian commercial sponges. *Tethys*.
- Rützler, K. (1988). Mangrove sponge disease induced by cyanobacterial symbionts: failure of a primitive immune system?. *Diseases of aquatic organisms*, 5, 143-149.
- Sagar, S., Kaur, M., & Minneman, K. P. (2010). Antiviral lead compounds from marine sponges. *Marine drugs*, 8(10), 2619-2638.
- Salvat, B., Aubanel, A., Adjeroud, M., Bouisset, P., Calmet, D., Chancerelle, Y., Cochenec, N., Davies, N., Fougereuse, A., Galzin, R., Lagouy, E., Lo, C., Monier, C., Ponsonnet, C., Remoissenet, G., Schneider, D., Stein, A., Tatarata, M., & Villiers, L. (2008). Le suivi de l'état des récifs coralliens de Polynésie Française et leur récente évolution. *Revue d'écologie*, 34 pp.
- Sangare, N., Lo-Yat, A., Le Moullac, G., Pecquerie, L., Thomas, Y., Lefebvre, S., Le Gendre, R., Beliaeff, B., & Andréfouët, S. (2020). Impact of environmental variability on *Pinctada margaritifera* life-history traits: A full life cycle deb modeling approach. *Ecological Modelling*, 423, 109006.
- Santa Cruz Biotechnology Inc., <https://www.scbt.com/p/ilimaquinone-71678-03-0>, consulté le 17/04/2019.
- Saw, J. H., Nunoura, T., Hirai, M., Takaki, Y., Parsons, R., Michelsen, M., Longnecker, K., Kujawinski, E. B., Stepanauskas, R., Landry, Z., Carlson, C. A. & Giovannoni, S. J. (2020).

- Pangenomics analysis reveals diversification of enzyme families and niche specialization in globally abundant SAR202 bacteria. *MBio*, 11(1), e02975-19.
- Schikorski, D., Renault, T., Paillard, C., Bidault-Toffin, A., Tourbiez, D., & Saulnier, D. (2013). Development of TaqMan real-time PCR assays for monitoring *Vibrio harveyi* infection and a plasmid harbored by virulent strains in European abalone *Haliotis tuberculata* aquaculture. *Aquaculture*, 392, 106-112.
- Schippers, K. J., Martens, D. E., Pomponi, S. A., & Wijffels, R. H. (2011). Cell cycle analysis of primary sponge cell cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 47(4), 302-311.
- Schmitt, S., Tsai, P., Bell, J., Fromont, J., Ilan, M., Lindquist, N., Perez, T., Rodrigo, A., Schupp, P. J., Vacelet, J., Webster, N., Hentschel, U., & Taylor, M. W. (2012). Assessing the complex sponge microbiota: core, variable and species-specific bacterial communities in marine sponges. *The ISME Journal*, 6(3), 564-576.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*, 9(7), 671-675.
- Schönberg, C. H., Fang, J. K. H., & Carballo, J. L. (2017). Bioeroding sponges and the future of coral reefs. In *Climate change, ocean acidification and sponges* (pp. 179-372). Springer, Cham.
- Schorn, M. A., Jordan, P. A., Podell, S., Blanton, J. M., Agarwal, V., Biggs, J. S., Allen E. E. & Moore, B. S. (2019). Comparative genomics of cyanobacterial symbionts reveals distinct, specialized metabolism in tropical Dysideidae sponges. *MBio*, 10(3), e00821-19.
- Schull, Q., Auffret, P., Lopez, P., Crusot, M., Belliard, C., Basset, C., Carradec, Q., Poulain, J., Planes, S., & Saulnier, D. (2020). Dual RNAseq Highlights the Kinetics of Skin Microbiome and Fish Host Responsiveness to Bacterial Infection.
- Shannon, C. E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell system technical journal*, 27(3), 379-423.
- Shaw, J.; Conway, K. W.; Wu, Y. & Kung, R. (2018) Distribution of hexactinellid sponge reefs in the Chatham Sound region, British Columbia. Geological Survey of Canada, Current Research 2018-1, 14 pp.
- Shen, Y. C., & Hsieh, P. W. (1997). New sesquiterpene hydroquinones from a Taiwanese marine sponge *Polyfibrospongia australis*. *Journal of natural products*, 60(2), 93-97.
- Shih, J. L., & Popp, B. N. (2020). Assessment of an Invasive Tropical Sponge on Coral Reefs in Hawai'i. *Pacific Science*, 74(2), 175-187.
- Sialve, B., & Steyer, J. P. (2013). Les microalgues, promesses et défis. *Innovations Agronomiques*, 26, 25-39.
- Siboni, N., Ben-Dov, E., Sivan, A., & Kushmaro, A. (2008). Global distribution and diversity of coral-associated Archaea and their possible role in the coral holobiont nitrogen cycle. *Environmental Microbiology*, 10(11), 2979-2990.

- Sigwart, J. D., Blasiak, R., Jaspars, M., Jouffray, J. B., & Tasdemir, D. (2021). Unlocking the potential of marine biodiscovery. *Natural Product Reports*, 38(7), 1235-1242.
- Silva, A. G., Fortunato, H. F., Lôbo-Hajdu, G., & Fleury, B. G. (2017). Response of native marine sponges to invasive *Tubastraea* corals: a case study. *Marine Biology*, 164, 1-11.
- Simpson, T. L. (1984). Gamete, embryo, larval development. In : *The cell biology of sponges*. Springer, New York, NY, 341-413.
- Singh, A., & Thakur, N. L. (2016). Influence of spatial competitor on the growth and regeneration of the marine sponge *Cinachyrella* cf. *cavernosa* (Porifera, Demospongiae). *Hydrobiologia*, 768(1), 111-123.
- Sipkema, D., Osinga, R., Schatton, W., Mendola, D., Tramper, J., & Wijffels, R. H. (2005). Large-scale production of pharmaceuticals by marine sponges: Sea, cell, or synthesis?. *Biotechnology and bioengineering*, 90(2), 201-222.
- Smith, A. M., Berman, J., Key Jr, M. M., & Winter, D. J. (2013). Not all sponges will thrive in a high-CO₂ ocean: Review of the mineralogy of calcifying sponges. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 392, 463-472.
- Soliev, A. B., Hosokawa, K., & Enomoto, K. (2011). Bioactive pigments from marine bacteria: applications and physiological roles. *Evidence-based complementary and alternative medicine (ECAM)*, 299 pp.
- Sournia, A., & Ricard, M. (1976). Données sur l'hydrologie et la productivité du lagon d'un atoll fermé (Takapoto, Iles Tuamotu). *Vie et milieu*, 26, 243-279.
- Spyroudis, S. (2000). Hydroxyquinones : synthesis and reactivity. *Molecules*, 5, 1291-1330.
- Stabili, L., Licciano, M., Giangrande, A., Longo, C., Mercurio, M., Marzano, C. N., & Corriero, G. (2006). Filtering activity of *Spongia officinalis* var. *adriatica* (Schmidt) (Porifera, Demospongiae) on bacterioplankton: implications for bioremediation of polluted seawater. *Water research*, 40, 3083-3090.
- Stoddart, D. R., & Sachet, M. H. (1969). Reconnaissance geomorphology of Rangiroa atoll, Tuamotu Archipelago. *Atoll Research Bulletin*, 25, 1-31.
- Stone, R. P., Conway, K. W., Csepp, D. J., & Barrie, J. V. (2014). The boundary reefs: Glass sponge (Porifera: Hexactinellidae) reefs on the international border between Canada and the United States. NOAA technical memorandum NMFS-AFSC, 264, 41 pp.
- Surti, M., Patel, M., Adnan, M., Moin, A., Ashraf, S. A., Siddiqui, A. J., Snoussi, M., Deshpande, S. & Reddy, M. N. (2020). Ilimaquinone (marine sponge metabolite) as a novel inhibitor of SARS-CoV-2 key target proteins in comparison with suggested COVID-19 drugs: designing, docking and molecular dynamics simulation study. *RSC Advances*, 10(62), 37707-37720.
- Takizawa, P. A., Yucel, J. K., Veit, B., Faulkner, D. J., Deerinck, T., Soto, G., Ellisman, M., & Malhotra, V. (1993). Complete vesiculation of Golgi membranes and inhibition of protein transport by a novel sea sponge metabolite, ilimaquinone. *Cell*, 73(6), 1079-1090.

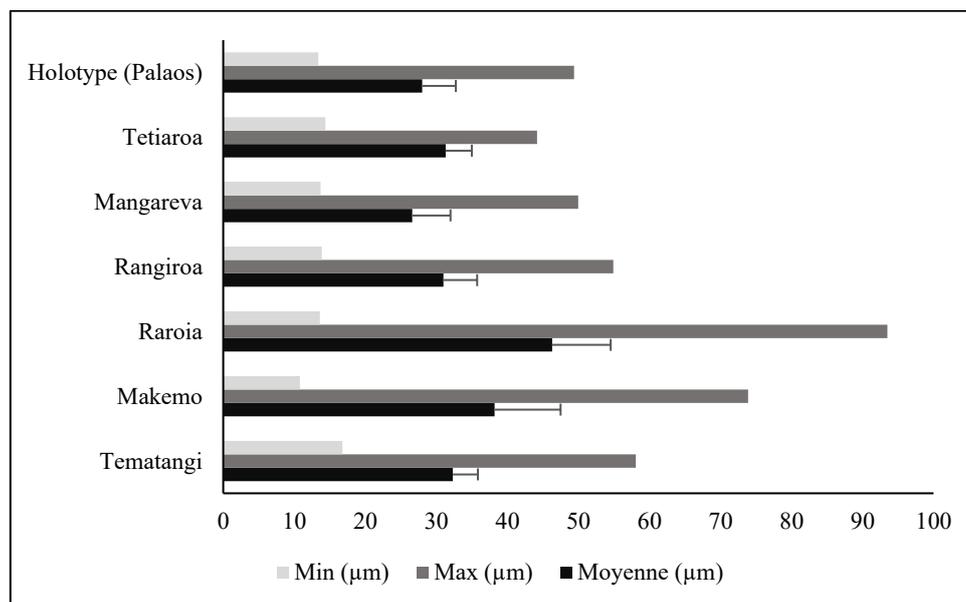
- Tavakoly Sany, S. B., Hashim, R., Rezayi, M., Salleh, A., & Safari, O. (2014). A review of strategies to monitor water and sediment quality for a sustainability assessment of marine environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(2), 813-833.
- Taylor, A. C., & Venn, T. J. (1979). Seasonal variation in weight and biochemical composition of the tissues of the queen scallop, *Chlamys opercularis*, from the Clyde Sea area. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 59, 605-621.
- Taylor, M. W., Schupp, P. J., Dahllöf, I., Kjelleberg, S., & Steinberg, P. D. (2004). Host specificity in marine sponge-associated bacteria, and potential implications for marine microbial diversity. *Environmental Microbiology*, 6(2), 121-130.
- Ternon, E., Perino, E., Manconi, R., Pronzato, R., & Thomas, O. P. (2017). How environmental factors affect the production of guanidine alkaloids by the mediterranean sponge *Crambe crambe*. *Marine drugs*, 15, 181.
- Terry, J. P. (1999). Kadavu island, Fiji: fluvial studies of a volcanic island in the humid tropical South Pacific. *Singapore Journal of Tropical Geography*, 20(1), 86-98.
- Thakur, N. L., Hentschel, U., Krasko, A., Pabel, C. T., Anil, A. C., & Müller, W. E. (2003). Antibacterial activity of the sponge *Suberites domuncula* and its primmorphs: potential basis for epibacterial chemical defense. *Aquatic microbial ecology*, 31(1), 77-83.
- Thomas, Y., Garen, P., Courties, C., & Charpy, L. (2010). Spatial and temporal variability of the pico-and nanophytoplankton and bacterioplankton in a deep Polynesian atoll lagoon. *Aquatic microbial ecology*, 59(1), 89-101.
- Thompson, J. E., Murphy, P. T., Berquist, P. R., & Evans, E. A. (1987). Environmentally induced variation in diterpene composition of the marine sponge *Rhopaloeides odorabile*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 15(5), 595-606.
- Thoms, C., Ebel, R., & Proksch, P. (2006). Activated chemical defense in *Aplysina* sponges revisited. *Journal of chemical ecology*, 32(1), 97-123.
- Timmermann, A., & Jin, F. F. (2002). Phytoplankton influences on tropical climate. *Geophysical research letters*, 29(23), 19-1.
- Topçu, N. E., Pérez, T., Grégori, G., & Harmelin-Vivien, M. (2010). In situ investigation of *Spongia officinalis* (Demospongiae) particle feeding: coupling flow cytometry and stable isotope analysis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 389(1-2), 61-69.
- Torréton, J. P., Pagès, J., Harris, P., Talbot, V., Pournier, S., & Fichez, R. (1997). Eutrophisation en milieu lagunaire. *Compte rendu CORDET*, 94, 72 pp.
- Torréton, J. P., Rochelle-Newall, E., Pringault, O., Jacquet, S., Faure, V., & Briand, E. (2010). Variability of primary and bacterial production in a coral reef lagoon (New Caledonia). *Marine Pollution Bulletin*, 61(7-12), 335-348.
- Vacelet, E., Arnoux, A., & Thomassin, B. (1996). Particulate material as an indicator of pearl-oyster excess in the Takapoto lagoon (Tuamotu, French Polynesia). *Aquaculture*, 144(1-3), 133-148.

- Van Duyl, F., Gast, G., Steinhoff, W., Kloff, S., Veldhuis, M., & Bak, R. (2002). Factors influencing the short-term variation in phytoplankton composition and biomass in coral reef waters. *Coral Reefs*, 21(3), 293-306.
- Van Treeck, P.; Eisinger, M.; Müller, J.; Paster, M. & Schuhmacher, H. (2003). Mariculture trials with Mediterranean sponge species. The exploitation of an old natural resource with sustainable and novel methods. *Aquaculture*, 218, 439-455.
- Van Wynsberge, S., Le Gendre, R., Sangare, N., Aucan, J., Menkes, C., Liao, V., & Andréfouët, S. (2020). Monitoring pearl farming lagoon temperature with global high resolution satellite-derived products: An evaluation using Raroia Atoll, French Polynesia. *Marine Pollution Bulletin*, 160, 111576.
- Vogel, S. (1977). Current-induced flow through living sponges in nature. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(5), 2069-2071.
- Vogel, S. (1978). Evidence for one-way valves in the water-flow system of sponges. *Journal of experimental biology*, 76(1), 137-148.
- Voolstra, C. R., & Ziegler, M. (2020). Adapting with microbial help: microbiome flexibility facilitates rapid responses to environmental change. *BioEssays*, 42(7), 2000004.
- Waddell, B., & Pawlik, J. R. (2000). Defenses of Caribbean sponges against invertebrate predators. I. Assays with hermit crabs. *Marine Ecology Progress Series*, 195, 125-132.
- Wahab, M. A., de Nys, R., & Whalan, S. (2012). Closing the lifecycle for the sustainable aquaculture of the bath sponge *Coscinoderma matthewsi*. *Aquaculture*, 324, 281-289.
- Wang, J., Mu, F. R., Jiao, W. H., Huang, J., Hong, L. L., Yang, F., Xu, Y., Wang, S. P., Sun, F. & Lin, H. W. (2017). Meroterpenoids with protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity from a *Hyrtios* sp. marine sponge. *Journal of natural products*, 80(9), 2509-2514.
- Wang, C., Liu, D., & Bai, E. (2018). Decreasing soil microbial diversity is associated with decreasing microbial biomass under nitrogen addition. *Soil Biology and Biochemistry*, 120, 126-133.
- Waterworth, S. C., Kalinski, J. C. J., Madonsela, L. S., Parker-Nance, S., Kwan, J. C., & Dorrington, R. A. (2020). Family matters: The genomes of conserved bacterial symbionts provide insight into specialized metabolic relationships with their sponge host. *BioRxiv*, 2020-12.
- Warwick, R. M. (1980). Population dynamics and secondary production of benthos. In : *Marine benthic dynamics*. University of South Carolina Press, Columbia, 1-24.
- Webster, N. S. (2007). Sponge disease: a global threat?. *Environmental Microbiology*, 9, 1363-1375.
- Webster, N. N., Evans-Illidge, E. E., Duckworth, A. A., Loudon, D. D., Whalan, S. S., Bannister, R. R., Brinkman, R., Wolff, C., de Nys, R. & Battershill, C. C. (2006). *Palm Island Sponge Aquaculture Research: A compilation of relevant reviews and research conducted at the Australian Institute of Marine Science, James Cook University, and AIMS@ JCU*.

- Webster, N. S., Cobb, R. E., & Negri, A. P. (2008a). Temperature thresholds for bacterial symbiosis with a sponge. *The ISME journal*, 2(8), 830-842.
- Webster, N. S., Xavier, J. R., Freckelton, M., Motti, C. A., & Cobb, R. (2008b). Shifts in microbial and chemical patterns within the marine sponge *Aplysina aerophoba* during a disease outbreak. *Environmental microbiology*, 10(12), 3366-3376.
- Webster, N. S., & Taylor, M. W. (2012). Marine sponges and their microbial symbionts: love and other relationships. *Environmental microbiology*, 14(2), 335-346.
- Wehrl, M., Steinert, M., & Hentschel, U. (2007). Bacterial uptake by the marine sponge *Aplysina aerophoba*. *Microbial Ecology*, 53(2), 355-365.
- Weiss, B., Ebel, R., Elbrächter, M., Kirchner, M., & Proksch, P. (1996). Defense metabolites from the marine sponge *Verongia aerophoba*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 24(1), 1-12.
- Wetzel, M. A., Leuchs, H., & Koop, J. H. (2005). Preservation effects on wet weight, dry weight, and ash-free dry weight biomass estimates of four common estuarine macro-invertebrates: no difference between ethanol and formalin. *Helgoland Marine Research*, 59, 206-213.
- Widbom, B. (1984). Determination of average individual dry weights and ash-free dry weights in different sieve fractions of marine meiofauna. *Marine Biology*, 84, 101-108.
- Wilkinson, C. R. (1978). Microbial associations in sponges. I. Ecology, physiology and microbial populations of coral reef sponges. *Marine biology*, 49, 161-167.
- Wilkinson, C. R. (1983). Net primary productivity in coral reef sponges. *Science*, 219(4583), 410-412.
- Wilkinson, C. R., & Vacelet, J. (1979). Transplantation of marine sponges to different conditions of light and current. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 37(1), 91-104.
- Wink, J. (2020). “Actinobacteria and Myxobacteria—Important Resources for Novel Antibiotics”. *Microorganisms*, 8(10), 1464.
- Wulff, J. L. (2006). Rapid diversity and abundance decline in a Caribbean coral reef sponge community. *Biological Conservation*, 127, 167-176.
- Wulff, J. L. (2007). Disease prevalence and population density over time in three common Caribbean coral reef sponge species. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87, 1715-1720.
- Wulff, J. L. (2012). Ecological interactions and the distribution, abundance, and diversity of sponges. *Advances in Marine Biology*, 61, 273-344.
- Wulff, J. L., & Buss, L. W. (1979). Do sponges help hold coral reefs together?. *Nature*, 281, 474-475.
- Yang, Q., Franco, C. M., Lin, H. W., & Zhang, W. (2019). Untapped sponge microbiomes: Structure specificity at host order and family levels. *FEMS microbiology ecology*, 95(9), fiz136.

- Yasuhara-Bell, J. & Lu, Y. (2010). Marine compounds and their antiviral activities. *Antiviral Research*, 86, 231-240.
- Ye, K. X., Fan, T. T., Keen, L. J., & Han, B. N. (2019). A review of pigments derived from marine natural products. *Israel Journal of Chemistry*, 59(5), 327-338.
- Yudiati, E., & Azhar, N. (2021). Antimicrobial susceptibility and minimum inhibition concentration of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus* and *Vibrio harveyi* isolated from a white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) pond. In : IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 763 (1), 012025.
- Zhang, F., Pita, L., Erwin, P. M., Abaid, S., López-Legentil, S., & Hill, R. T. (2014). Symbiotic archaea in marine sponges show stability and host specificity in community structure and ammonia oxidation functionality. *FEMS microbiology ecology*, 90(3), 699-707.
- Zhang, H., Dong, M., Chen, J., Wang, H., Tenney, K., & Crews, P. (2017). Bioactive secondary metabolites from the marine sponge genus *Agelas*. *Marine drugs*, 15(11), 351.
- Zhu, J., Liu, Y., Liu, Z., Wang, H., & Zhang, H. (2019). Bioactive nitrogenous secondary metabolites from the marine sponge genus *Haliclona*. *Marine drugs*, 17(12), 682.
- Ziemons, E. (2006). Etude en temps réel du processus d'extraction de la tagitinine C en fonction des caractéristiques physico-chimiques du CO₂ supercritique à l'aide de fibres optiques couplant un spectrophotomètre IRTF à un extracteur à fluide supercritique. Thèse de doctorat, Université de Liège, Liège, Belgique, 75 pp.
- Żółtowska-Aksamitowska, S., Shaala, L. A., Youssef, D. T., Elhady, S. S., Tsurkan, M. V., Petrenko, I., Wysokowski, M., Tabachnick, K., Meissner, H., Ivanenko, V. N., Bechmann, N., Joseph, Y., Jesionowski, T., & Ehrlich, H. (2018). First report on chitin in a non-verongioid marine demosponge: The *Mycale euplectellioides* case. *Marine drugs*, 16(2), 68.
- Zubia, M., Thomas, O. P., Soulet, S., Demoy-Schneider, M., Saulnier, D., Connan, S., Murphy, E. C., Tintillier, F., Stiger-Pouvreau, V., & Petek, S. (2020). Potential of tropical macroalgae from French Polynesia for biotechnological applications. *Journal of Applied Phycology*, 32(4), 2343-2362.

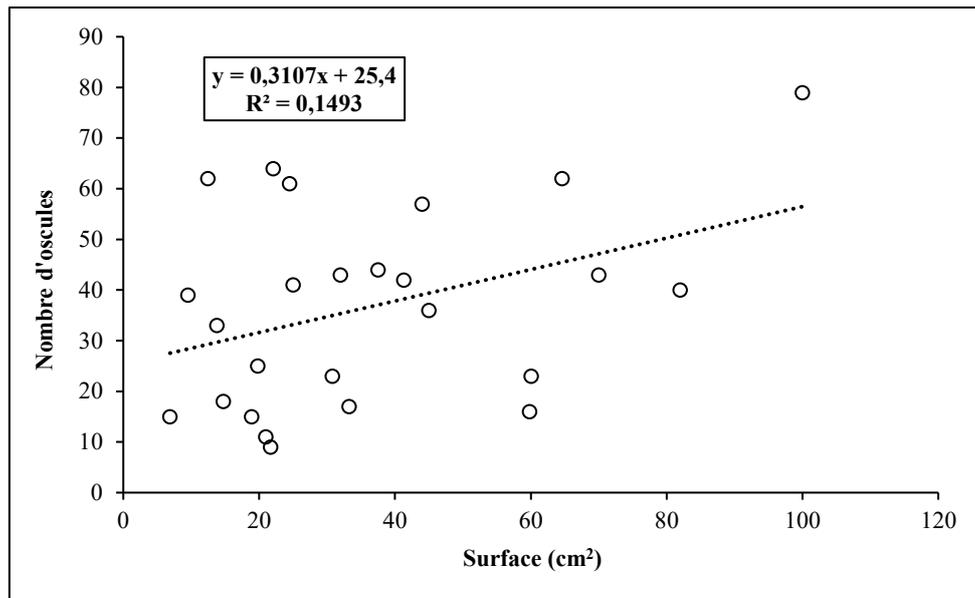
ANNEXES



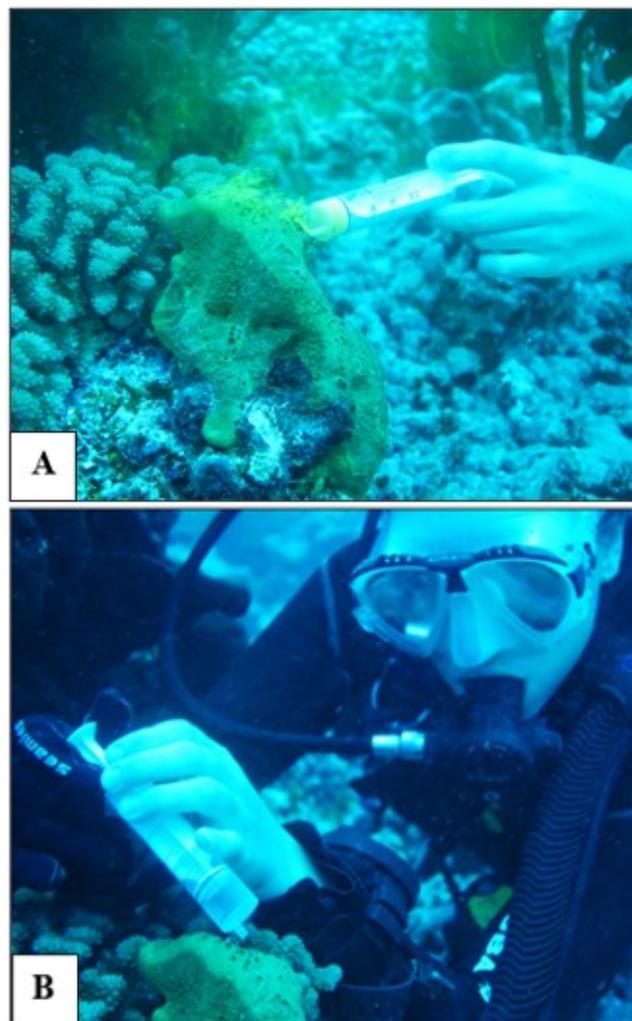
Annexe 1. Diamètre des fibres de spongine d'échantillons de *Dactylospongia metachromia* selon différentes localités en Polynésie française.

Région	Localité	Code PCR	Espèces	Numéro GenBank
Indonésie	Sulawesi	CEL_067	DM	OM949599
Indonésie	Sulawesi	CEL_107	DM	OM949600
Arabie Saoudite	Djeddah	JED_093	DM	OM949601
Arabie Saoudite	Djeddah	JED_195	DM	OM949602
Polynésie française	Makemo	MAK2_01_1118	DM	OM949603
Polynésie française	Mangareva	MAN17_02_1018	DM	OM949604
Maldives	-	MAS_078	DM	OM949605
Polynésie française	Raroia	RAR13_02_1118	DM	OM949606
Micronésie	Ile de Guam	RMNH POR 3018	DM	OM949608
Indonésie	Ambon	RMNH POR 8010	DM	OM949610
Hawaii	Big Island	RMNH POR 8049	DM	OM949611
Mayotte	Passe bateau	RMNH POR 8465	Dsp.	OM949612
Chine	Iles Xisha	RMNH POR 8606	DM	OM949614
Arabie Saoudite	Zahban	RMNH POR 9162	DM	OM949615
Arabie Saoudite	Abu Gishaa	RMNH POR 9598	DM	OM949616
Arabie Saoudite	Abu Gishaa	RMNH POR 9599	DM	OM949617
Polynésie française	Rangiroa	TI_02_1219	DM	OM949618
Mayotte	Passe bateau	RMNH POR 8467	Dsp.	OM949613
Chine	Iles Dongluoxigu	RMNH POR 5235	DE	OM949609

Annexe 2. Liste des échantillons employés pour l'étude barcoding (marqueur COI) de l'espèce *Dactylospongia metachromia*. DM = *Dactylospongia metachromia*, DE = *Dactylospongia elegans*, Dsp. = *Dactylospongia* sp.



Annexe 3. Relation entre le nombre d'oscules visibles et la surface du pinacoderme correspondante (n = 25).

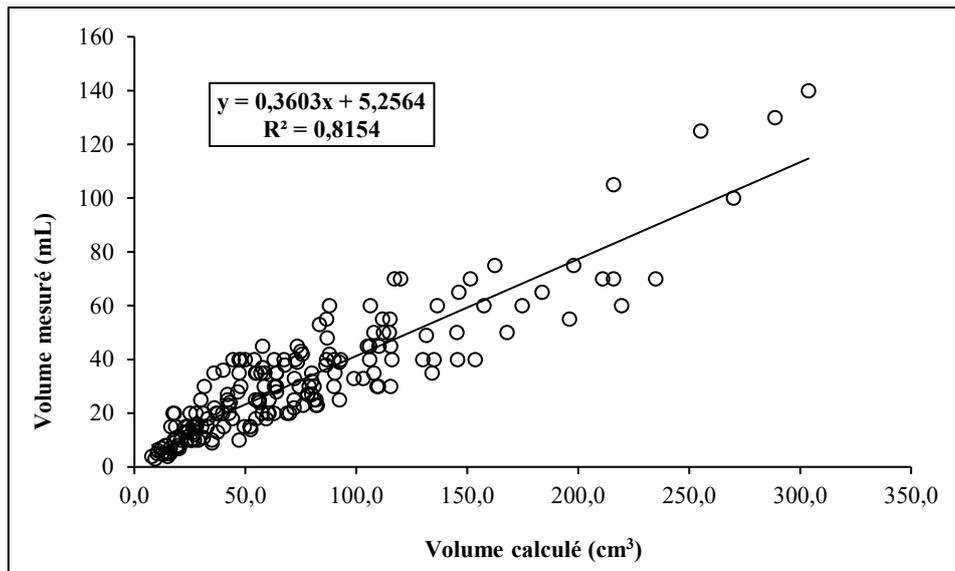


Annexe 4. Mise en évidence du pompage actif de l'eau à l'aide d'un colorant à la fluorescéine (A) et prélèvement d'eau de mer exhalée à la sortie d'un oscule de l'éponge *Dactylospongia metachromia* (B).

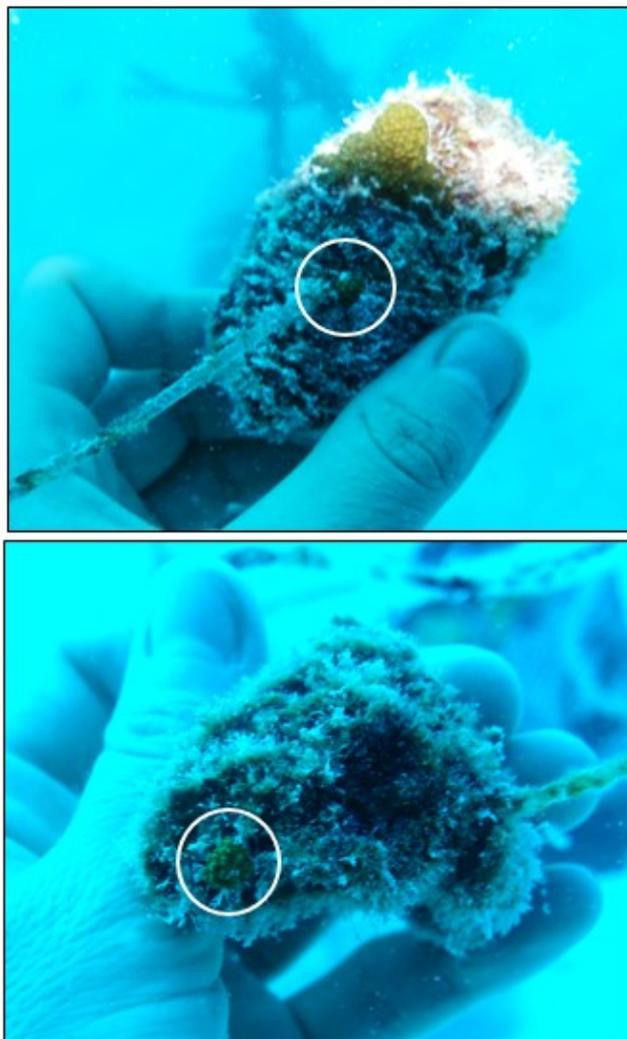
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)

Questionnaire REDAME	MASLIN Mathilde – UMR 241 EIO
Age :	
Sexe :	
Profession :	
Sais-tu ce que sont les éponges marines ?	
En as-tu déjà vu à Rangiroa ? Si oui, où (récif, lagon, côté secteur ou village...) ?	
Qu'est-ce que tu penses de la filière aquaculture à Rangiroa (perles, parcs à poissons etc) ? en en Polynésie (paraha peuve, crevettes etc) ?	
Si l'on te disait que les éponges sont d'un côté très importantes pour l'écosystème mais qu'elles peuvent aussi être utilisées par l'homme pour beaucoup d'applications dans la cosmétique, la santé, etc est-ce que tu penses que cela vaudrait le coup de lancer une nouvelle aquaculture ?	
Si non, pourquoi ?	
Si oui, quels seraient à ton avis les bénéfices pour la commune ?	
Merci à toi ! Maururu roa !	

Annexe 5. Trame de l'enquête sociologique menée à Rangiroa.

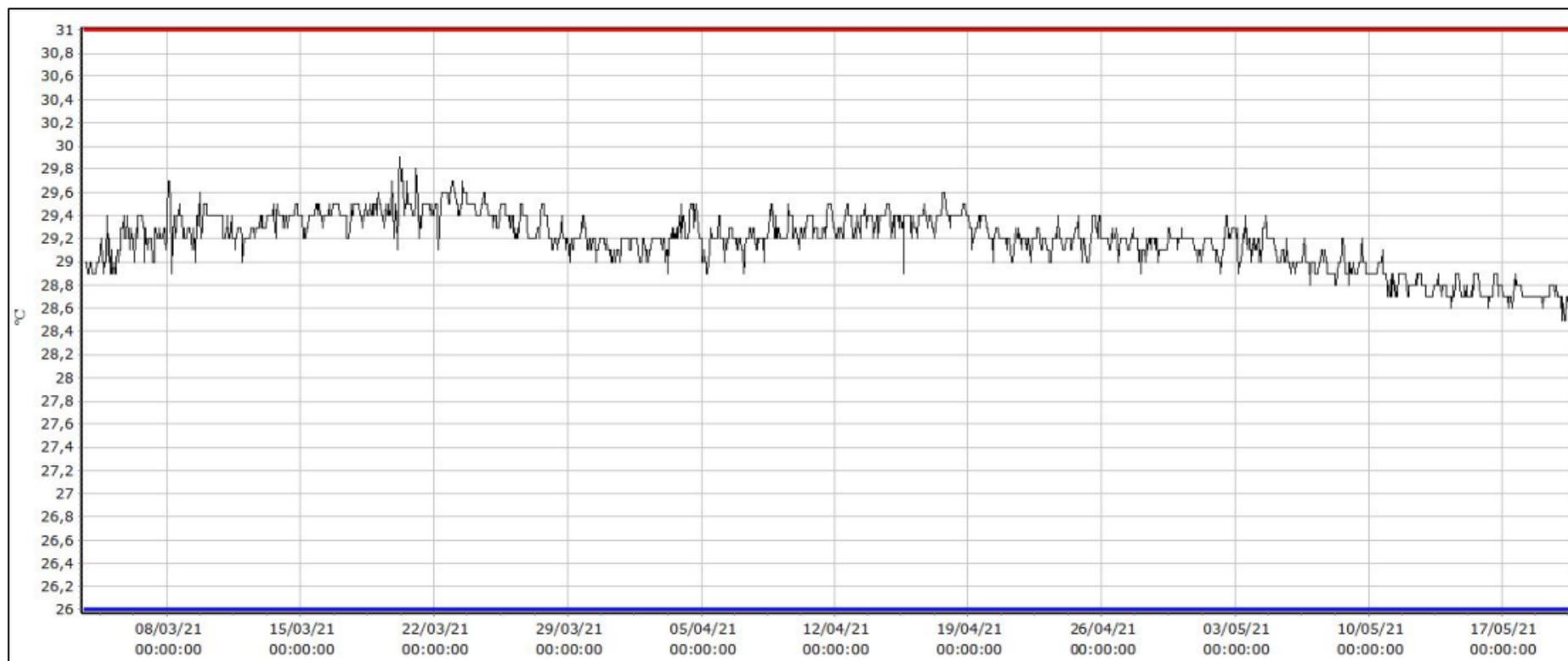


Annexe 6. Relation entre le volume calculé d'après des photos à l'échelle (cm³) et le volume mesuré à l'éprouvette graduée.

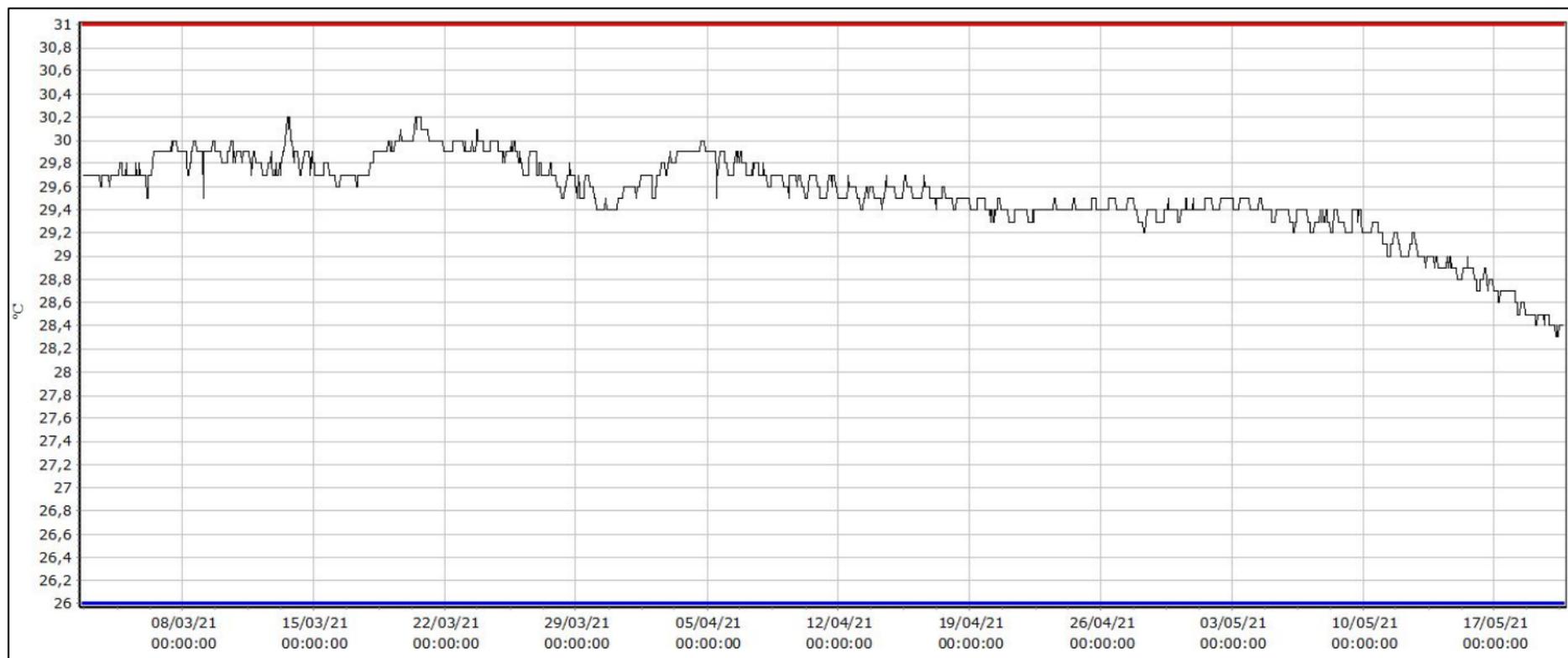


Annexe 7. Gemmules de croissance indiquées par des cercles blancs) sur des explants en dégénérescence au site du **Lagon 2** (mars 2021).

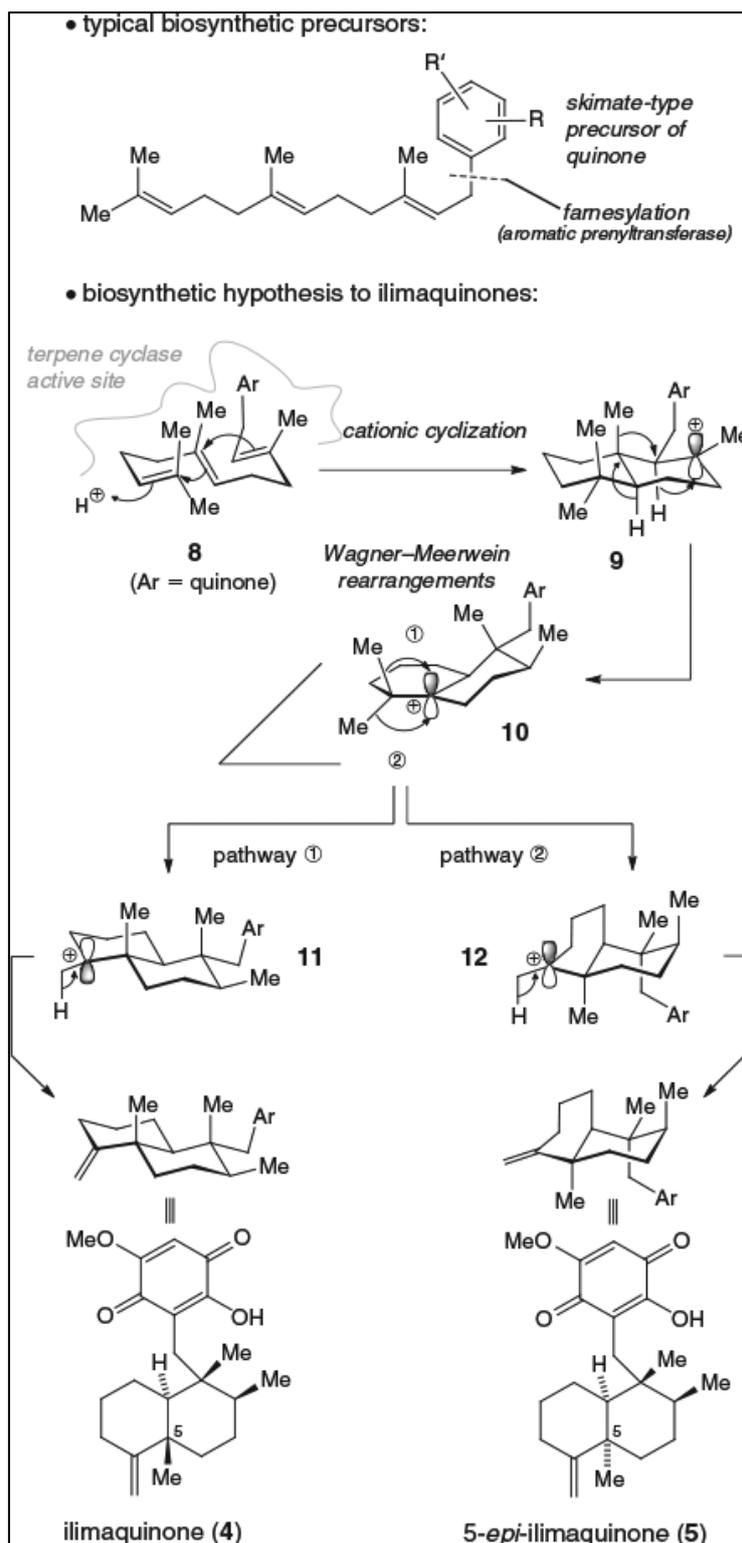
©Mathilde MASLIN (UPF, UMR 241 - EIO)



Annexe 8. Températures journalières (°C) au site d'Avatoru entre mars et mai 2021.



Annexe 9. Températures journalières (°C) au site du **Lagon 1** entre mars et mai 2021.



Annexe 10. Voie de biosynthèse proposée pour l'ilimaquinone et la 5-épiilimaquinone (d'après Boufridi *et al.*, 2017).