

## Projet de Doctorat

Titre du Doctorat :	<b>MicroCOSMA: Variabilité saisonnière et multidécennale des communautés microbiennes dans les écosystèmes côtiers de la Nouvelle Calédonie en relation avec les forçages anthropiques</b>
PhD supervisor ( <i>HDR</i> ): Ifremer Dpt./Unit/Lab:	Dr. Raffaele Siano, HDR ODE/DYNECO/Pelagos – Brest
PhD co-supervisor: (Ifremer Dpt./Unit/Lab):	Dr. Hugues Lemonnier RBE/LEAD – Nouvelle-Calédonie- Nouméa
Laboratoire d'accueil	DYNECO/Pelagos – Brest
Doctoral School:	EDSML

### Résumé en Français – 1199 caractères (max 1200)

Le lagon de Nouvelle-Calédonie présente une biodiversité marine exceptionnelle qu'il faut préserver face aux forts enjeux environnementaux liés au développement du territoire. L'industrie minière et l'urbanisation côtière représentent une menace pour la biodiversité marine en augmentant les apports de matière organique et de contaminants dans les systèmes côtiers. Les impacts potentiels des apports terrestres sur la diversité et la structure des communautés de microorganismes marins ne sont pas clairement définis aux échelles spatiales et temporelles. En associant des approches de génomique environnementale (ADNe), hydrologie côtière et géochimie, le PhD visera à comprendre les impacts de l'activité humaine sur les communautés microbiennes sous trois perspectives complémentaires. (1) L'évaluation des variations de la structure des communautés microbiennes entre la saison sèche et humide dans les écosystèmes estuariens des bassins versants sous influence minière. (2) L'analyse des changements des communautés microbiennes qui ont eu lieu au cours du siècle dernier parallèlement au développement de l'industrie minière via l'analyse de paléoarchives sédimentaires (ADNsed et métaux lourds). (3) L'évaluation de l'arrivée et/ou de la recrudescence des efflorescences de micro-organismes potentiellement nuisibles en relation avec le développement des activités humaines.

### Mots-clés :

Ecologie côtière, impacts des rivières, impacts anthropiques, pollutions, microbiologie environnementale, ADN environnemental, paléoécologie-paléogénétique, Nouvelle Calédonie, gestion côtière, metabarcoding

### Profil de candidature souhaité – 388 caractères (max 400)

Le/a candidat/e doit être en possession d'un Master en Ecologie Marine.

Compétences spécifiques :

- connaissance en diversité, génétique et écologie des microorganismes marins ;
- techniques d'analyses génétiques ;
- gestion des données de metabarcoding ;
- biostatistique (logiciel R) ;
- très bonne connaissance de l'anglais ;
- attitude au travail en mer et en équipe ;
- disponibilité à la mobilité en outre-mer ;
- intérêt pour la gestion des zones côtières.

## Projet de recherche détaillé

### 1- Contexte scientifique

En Nouvelle-Calédonie (NC), les pressions humaines et climatiques augmentent les apports des terres par les rivières impactant les écosystèmes protégés des récifs coralliens et des lagunes (voir l'annexe 1 pour des informations complémentaires sur le territoire de la NC). Ces apports sont essentiels pour la biodiversité et le fonctionnement de l'écosystème corallien calédonien (1,2) mais peuvent être potentiellement néfastes en cas d'excès (3, 4, 5). En effet, le territoire de la NC est soumis à d'importants épisodes de pluies intenses, eux-mêmes influencés par de fortes variations climatiques interannuelles dues au phénomène climatique El Niño (6, 7, 8). Le lessivage du sol suite à ces événements pluvieux extrêmes, favorisé par la destruction des milieux terrestres par les incendies, induit dans les eaux des rivières des signatures marquées d'apports d'origine terrestre (9). Les impacts du ruissellement sur les eaux oligotrophes de la lagune néo-calédonienne représentent un cas d'étude intéressant pour évaluer et suivre les influences humaines sur la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes coralliens tropicaux. Les eaux fluviales peuvent être des vecteurs et / ou favoriser le développement de microorganismes affectant directement la santé humaine (bactéries entériques, nouveaux virus) ou menaçant l'homme via la consommation de produits de la mer dangereux (microalgues toxiques) (10, 11). En fait, le risque de maladie à Ciguatera augmente avec l'enrichissement en sels nutritifs dans l'environnement et en présence de cyanobactéries (12, 13). Le risque de contamination humaine par *Vibrio vulnificus*, qui a déjà entraîné la mort de 3 personnes en 2008 en Caroline du Nord après avoir consommé des huîtres (14), devrait augmenter à la fois avec le réchauffement climatique, la montée des eaux et l'enrichissement environnemental dû au ruissellement des rivières (15,16). En plus des risques microbiologiques, il existe des risques chimiques dus à l'impact de l'industrie minière sur les captages d'eau. Le niveau de contamination métallique dans les organismes dépend des caractéristiques des milieux récepteurs (17, 18) qui peuvent même rendre certains produits de la mer impropres à la consommation (19, 20).

En raison de leur renouvellement rapide et de leur plasticité physiologique, les microorganismes planctoniques unicellulaires côtiers réagissent rapidement aux perturbations environnementales chroniques ou extrêmes. Étant le plancton le premier élément essentiel des chaînes trophiques marines, les variations de leur communauté pourraient avoir de lourdes conséquences sur l'ensemble des écosystèmes marins par des effets en cascade. Les techniques les plus modernes de biologie moléculaire basées sur la *metabarcoding* et les analyses PCR en temps réel de l'ADN environnemental (eDNA) peuvent désormais donner accès à une analyse plus complète de la diversité microbienne et pourraient améliorer les études sur les communautés ou les variations d'espèces menées jusqu'à présent en NC (21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28). La *metabarcoding* de l'ADN e contemporain s'est avéré être un outil précieux pour la gestion des écosystèmes, de l'évaluation de la qualité de l'eau douce (par exemple 29, 30) à l'analyse des impacts écologiques sur les communautés (par exemple, événement de déversement d'hydrocarbures (31), piscicultures (32) et biosurveillance des vertébrés (33). En outre, l'étude de l'ADN ancien (ADN a) des sédiments marins (*sedaDNA*) a montré qu'elle rendait disponibles des informations précieuses sur les communautés biologiques passées, en particulier pour le plancton unicellulaire (virus, bactéries, protistes) (34; 35; 36 ; 37, 38, 39). En fait, l'utilisation des paléo-archives c peut fournir une base de biodiversité pour l'évaluation des variations biologiques qui auraient pu se produire à l'époque anthropocène en raison d'impacts humains (40). Les analyses sur le *sedaDNA* et plus généralement sur les approches paléoécologiques deviennent de nouveaux outils pour la science de la conservation et les actions de gestion de écosystèmes, fournissant des bases pour comprendre l'évolution de la nature sous différents facteurs de stress (41). **L'eADN et le *sedaDNA* peuvent améliorer l'évaluation des effets présents et passés des pollutions anthropiques sur les communautés microbiennes et contribuer à l'évaluation de la stabilité et de la résilience des écosystèmes estuariens de Nouvelle-Calédonie.**

### 2- Positionnement stratégique au sein du Département / Institut de l'Ifremer

L'analyse de l'interface terre-mer ainsi que l'analyse de la résilience et l'application des stratégies de conservation des écosystèmes protégés font partie des priorités de l'Ifremer (COP: Action 1 et 2, Projet de recherche Ifremer: Thèmes 6, 8, 10 et défi 1) (voir l'annexe 2 pour des informations complémentaires sur la position stratégique du projet).

### 3- Objectifs scientifiques

L'objectif principal de ce projet de doctorat est l'étude de l'effet des activités anthropiques sur les communautés microbiennes côtières à des échelles de temps saisonnières et multidécennales. Au-delà des impacts généraux du ruissellement fluvial, nous nous concentrerons volontairement sur la pollution de l'industrie minière, en étudiant l'effet des intrants métalliques (Ni, Co, Cr, Mn), qui sont les sources d'impact les plus pertinentes en NC, en particulier dans le sud-ouest du territoire (estuaires de Dumbea, Coulée et Pirogues). Basé sur l'approche couplée de la génomique environnementale et de l'hydrologie et de la géochimie côtière, le doctorat visera à comprendre l'effet du développement de l'activité humaine sur les communautés microbiennes. Le projet de doctorat a été organisé en 3 parties, correspondant à 3 objectifs. **1<sup>er</sup> objectif**) Comparaison de la diversité des communautés microbiennes (metabarcoding eDNA des bactéries et communautés protistes) et des interactions potentielles entre les microbes (réseaux microbiens) dans les écosystèmes estuariens pendant les saisons sèches et pluvieuses (événements pluvieux extrêmes) afin d'identifier les changements de communauté structures en relation avec les écoulements fluviaux. **2<sup>ème</sup> objectif**) Corrélation entre les changements de concentration de métaux lourds et les changements de communautés microbiennes à l'aide de paléoarchives chimio-biologiques (traces de métaux lourds et *sedDNA*) collectées à partir de carottes de sédiments échantillonnées dans les écosystèmes cibles. **3<sup>ème</sup> objectif**) Identification de traceurs biologiques terrestres de ruissellements (PCR en temps réel sur eDNA de plantes endogènes, bactéries du sol, bactéries entériques) ou de microorganismes nuisibles potentiels (microalgues toxiques) le long du panache fluvial (approche spatiale) et évaluation de la date d'arrivée et / ou de dynamique au cours du siècle dernier de ces traceurs utilisant des données paléogénétiques (approche temporelle) pour analyser les recrudescences toxiques et les variations de ruissellement en relation avec le développement de l'activité humaine.

### 4- Méthodologie

Le projet de doctorat bénéficiera des informations et expériences collectées dans le cadre des projets Searcé (9), PALMITO (37), POHEM (42) et PALMIRA (39) coordonnés par les directeurs de thèse.

**1<sup>er</sup> objectif**) La zone de Nouméa en NC a été choisie comme zone cible de cette partie du projet. Cette zone est caractérisée par des impacts contrastés de trois rivières. La première rivière (La Pirogue) montre un approvisionnement massif en métaux traces (intrants naturels et industriels). La seconde (La Coulée) se caractérise par un apport massif de métaux traces mais aussi par des apports importants de nutriments (nitrate et phosphate) et de matière organique dissoute. Le troisième fleuve (La Dumbéa) révèle des apports élevés de nutriments, de matières organiques dissoutes et particulaires, mais un approvisionnement plus faible en métaux. Ce dernier site sera utilisé comme écosystème de référence pour l'évaluation des impacts métalliques d'autres rivières (9). L'étude écologique concerne les analyses biostatistiques d'ensembles de données eDNA déjà acquis ou en cours d'acquisition (cf. §5). Ces ensembles de données consistent en des données de metabarcoding d'ADNe de communautés protistes et bactériennes estuariennes acquises ciblant les gènes codant pour l'ARNr V4-V5 16S (pour les procaryotes, les amorces (43) et l'ADNr V4 18S (pour les eucaryotes, les amorces (44)) et en utilisant des approches développées dans des études antérieures (Tara Oceans, (45) ans; POHEM (42)) et mis en œuvre dans des projets en cours (Ifremer ROME) afin d'assurer la comparaison des données. Au-delà d'une comparaison des communautés microbiennes à travers les écosystèmes et les saisons échantillonnées, la présence et l'étendue des impacts terrestres seront étudiées en utilisant l'amplification par PCR en temps réel (rt-PCR) sur des espèces sélectionnées d'origine terrestre, utilisées comme bio-indicateurs des impacts (cf. objectif 3). L'identification des communautés par microscopie, cytométrie en flux et analyse pigmentaire (spectrofluorimétrie et HPLC) complètera les données moléculaires. Certains processus biologiques seront mesurés en complément (MAP, production primaire et bactérienne).

**2<sup>ème</sup> objectif**) Les carottes de sédiments seront collectées dans la zone de l'estuaire des Pirogues affectée par l'exploitation minière et les contaminations naturelles métalliques. Des carottes de sédiments et des analyses paléoarchives seront réalisées en collaboration (cf. §9). Nous nous concentrerons volontairement sur une échelle de temps d'environ 150 ans pour évaluer le pré et post-industriel au cours de la période de l'Anthropocène. Le *sedDNA* sera soigneusement extrait des carottes de sédiments de faciès de sédiments vaseuses en suivant les précautions générales pour la manipulation du *sedDNA*, pour éviter la contamination avec l'ADN contemporain (46) et sur la base de l'expérience acquise dans les projets précédents (PALMITO: (37); PALMIRA: (39)). Des amplifications de gènes cibles (V4 18srDNA) pour les analyses de metabarcoding des paléocommunautés des protistes seront réalisées dans des laboratoires de génétique propre disponibles à l'IRD de Nouméa. L'évolution des communautés protistes sera évaluée par des analyses statistiques (MRT: Multiregression Tree Analysis) sur des données paléogénétiques (38; 39).

**3<sup>ème</sup> objectif**) L'amplification rt-PCR sur les espèces cibles sera réalisée sur les mêmes extraits d'ADNe de la phase 1 et sur le *sedDNA* de la phase 2 utilisés pour les analyses de metabarcoding. La dynamique spatiale (objectif 1) et temporelle (objectif 2) des bio-indicateurs de ruissellement terrestres sera analysée. eDNA: i) des bactéries entériques, indicateur des impacts de la reproduction animale (*Campylobacter* spp.), ii) des bactéries du sol (47), iii) des champignons

ectomycorhiziens (48), et iv) des plantes endogènes de NC (49) seront amplifiées dans des échantillons collectés dans des transects cote-large afin de vérifier l'ampleur des impacts terrestres, et en particulier d'évaluer si les ruissellements atteignent le récif corallien externe du lagon. Pour cette partie, le projet de thèse bénéficiera des données collectées dans le cadre du projet Bioindic sur sol ultramafique (50). Les espèces de microalgues nuisibles seront sélectionnées pour l'évaluation de la recrudescence des espèces toxiques (par exemple *Gambierdiscus* spp.) (37). D'autres bio-indicateurs reflétant mieux l'effet des concentrations métalliques pourraient être sélectionnés sur la base d'analyses de metabarcoding réalisées dans les objectifs 1 et 2. La dynamique à long terme des espèces sélectionnées sera évaluée sur la période de l'Anthropocène à l'aide du *sedaDNA*. Si la rt-PCR ne sera pas possible en raison d'un biais potentiel de quantification du *sedaDNA*, nous pourrions au moins dater la première présence d'un potentiel bio-indicateur et corrélérer cette occurrence dans les écosystèmes avec un impact potentiel. La corrélation entre l'ADNe et la contamination métallique sera analysée à l'aide de tests statistiques multivariés.

## 5- Ressources à disposition du doctorant pour la durée du projet de recherche (humaine, technologique...)

Deux sets d'échantillons environnementaux et de données de metabarcoding (ADNr 18s pour les protistes et ADNr 16s pour les bactéries) seront disponibles avant le début de la thèse. Ces ensembles de données correspondent aux analyses d'échantillons collectés pendant des campagnes de 3 à 7 jours le long de transects estuariens-eaux du large dans le cadre du projet Searcé en septembre 2019 (période sèche) et février 2020 (fortes pluies) en utilisant simultanément des stratégies d'échantillonnage eulérienne et lagrangienne. Une autre campagne d'échantillonnage a été réalisée en décembre 2020 pendant une autre saison sèche. Plus de 40 paramètres environnementaux ont été traités et tout le séquençage des échantillons d'eDNA sera terminé en avril 2020, avant le début du doctorat. Ces ensembles de données seront utilisés pour répondre au premier objectif du projet. Afin de financer les objectifs 2 et 3 de la thèse, des financements complémentaires sont actuellement demandés dans le cadre (1) du nouvel appel à projets «Au fil de l'eau» du Consortium de recherche Cresica (2021-2023) et (2) la future bourse de recherche de la Province Nord NC, Province Sud et Ifremer (2022 - 2027). Ces nouveaux projets rassembleront tous les collaborateurs du projet de doctorat. **Le projet de thèse se déroulera à la fois à Brest et à Nouméa (50% du temps chez DYNECO et LEAD, respectivement). Il démarrera à Brest en attendant la stabilisation de la crise du COVID-19, puis une période à Nouméa est prévue, avant de terminer le doctorat à Brest.** Les tuteurs de doctorat organiseront des visites réciproques à Nouméa et Brest pour suivre les travaux, les prélèvements et les analyses du/de la doctorant/e. **Grâce à cette double planification du site du doctorat, le/la doctorante bénéficiera des installations des deux centres Ifremer de Brest et de Nouméa (voir l'annexe 3 pour des informations complémentaires sur la disponibilité des ressources doctorales).**

## 6- Résultats attendus et valorisation (publications et diffusion publique)

**Ce projet de thèse fournira une analyse intégrée et multidisciplinaire de l'impact des eaux de ruissellement et des pollutions métalliques sur la lagune néo-calédonienne.** Une reconstruction à long terme des pollutions industrielles et de son effet sur les communautés microbiennes sera proposée pour la première fois, en utilisant l'approche eDNA jamais appliquée jusqu'à présent sur ce territoire pour le compartiment microbien. Nous générerons de nouvelles données et analyses qui pourraient être utiles pour la protection de la biodiversité des écosystèmes lagunaires et l'analyse de la résilience des récifs coralliens. Nous prévoyons de publier 3 articles scientifiques, correspondant aux 3 parties du travail, dans des revues à haut facteur d'impact (revue ISME, Environ. Microbiology). Les résultats de cette thèse seront discutés dans le cadre de partenariats scientifiques locaux (Cresica, ENTROPIE) mais aussi avec les acteurs locaux et les administrations afin d'améliorer le suivi et la gestion du lagon. Des présentations grand public seront également programmées dans le cadre de manifestations locales mais aussi en France continentale pour mieux enseigner et transmettre les enjeux environnementaux des territoires d'outre-mer.

## 7- Originalité et innovation

Le territoire estuarien néo-calédonien, son climat et les caractéristiques hydriques du lagon offrent la meilleure opportunité d'étudier l'impact des ruissellements terrestres dus aux fortes pluies sur les eaux oligotrophes des écosystèmes tropicaux. Les conditions extrêmement contrastées que connaît la lagune de la saison sèche (eaux oligotrophes) à la saison des pluies (impacts du ruissellement) amélioreront certainement la possibilité d'étudier les changements drastiques de la composition microbienne de ces écosystèmes marins, permettant vraisemblablement l'identification des bio-indicateurs des impacts terrestres. De plus, le développement de l'industrie minière sur l'écosystème côtier du territoire NC aidera à comprendre l'impact de la pollution métallique dans un écosystème oligotrophique. Souvent, dans les écosystèmes côtiers, les pollutions métalliques se superposent à d'autres pollutions (agricoles, d'élevage), compliquant les analyses des impacts

métalliques. Le territoire NC offre l'opportunité de démêler cette pollution et d'étudier in situ l'effet spécifique des apports métalliques sur les compartiments microbiens.

## 8- Le projet relève-t-il du Protocole APA de Nagoya et / ou implique-t-il l'utilisation de ressources génétiques?

Oui, pour l'utilisation de matériel génétique (ADNe) de Nouvelle-Calédonie (voir l'annexe 4 pour des informations complémentaires)

## 9- Partenariats potentiels

Le/la doctorant/e bénéficiera des collaborateurs internes (Ifremer) et externes des partenariats Cresica et UMR ENTROPIE. La spécialité et la contribution de chaque collaborateur du projet sont précisées à l'annexe 5.

## 10- Calendrier prévisionnel

	2021	2022					2023				2024		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	Trimestre												
	PhD à Brest												
	PhD à Nouméa (NC)												
Objectif 1	Analyses des données de metabarcoding déjà disponibles												
	Redaction 1 papier, Congress												
Objectif 2	Préparation de la campagne d'échantillonnage de sédiments												
	Echantillonnage des carottes de sédiments												
	Extraction du <i>seDa</i> DNA extraction et amplifications												
	Metabarcoding du <i>seDa</i> DNA												
Objectif 3	Analyses de real time qPCR analyses sur les espèces cible												
Objectif 2/3	Analyses et corrélations avec les données environnementales												
Objectif 2	Redaction du papier 2												
Objectif 3	Redaction du papier 3, Congress												
	Redaction du manuscrit de these et soutenance												

## 11. Annexe 1: Informations complémentaires sur le territoire de la Nouvelle-Calédonie

Depuis plus de 20 ans, la Nouvelle-Calédonie (NC) est reconnue comme l'un des «hot-spots» de la biodiversité mondiale, foyer de quatre écorégions primordiales et l'une des plus riches richesses endémiques (51, 52). Ce territoire possède une zone économique exclusive (ZEE) de près de 1 500 000 km<sup>2</sup>. Son espace maritime comprend des récifs aux structures variées, des zones lagunaires, des mangroves et de très grandes zones océaniques. NC est également le siège de changements démographiques, économiques et sociétaux rapides. Alors que l'industrie minière a considérablement façonné les terres et les paysages côtiers au cours du siècle dernier, il existe un fort désir de diversifier l'économie du pays par le tourisme, l'aquaculture et l'agriculture. Il en résulte une urbanisation forte et des pressions anthropiques croissantes et diversifiées sur les zones côtières auxquelles s'ajoutent les conséquences du changement climatique, encore mal connues (53, 54, 55, 55, 56, 57).

## 12. Annexe 2 : Informations complémentaires sur le positionnement stratégique du projet doctoral à l'Ifremer

L'Action 1 du COP (Contrat d'Objectifs et de Performance) fixe les objectifs scientifiques de l'Ifremer pour 2019-2023. Le projet MicroCOSMA contribue à trois des objectifs de l'Ifremer: l'évolution des écosystèmes côtiers dans une perspective de changement global (thème 6 du projet de recherche Ifremer), l'impact cumulé des stressors (thème 8) et l'évaluation des socio-écosystèmes et de la biodiversité face au global changements (sujet 10). Pour contribuer à ces enjeux, MicroCOSMA développera et appliquera une stratégie multidisciplinaire et intégrée d'observation in situ (biologie et chimie) utilisant de nouvelles approches (eDNA), à la suite du défi 1 du projet de recherche Ifremer (COP Action 2).

L'utilisation des approches eDNA pour évaluer les changements et les risques de la communauté microbiologique sont les objectifs du projet de recherche clé en cours de l'Ifremer (projet ROME). L'approche eDNA dans les écosystèmes marins côtiers en NC est un nouvel outil prometteur pour l'évaluation de la biodiversité, les analyses des impacts anthropiques et l'élaboration de stratégies de conservation. Cet outil n'a jamais été utilisé jusqu'à présent en NC pour les analyses de la diversité et de l'écologie des microorganismes. Ce projet de thèse permettra d'affirmer l'Ifremer et LEAD / DYNECO comme seule équipe intégrant cet outil dans les analyses d'écologie microbienne côtière dans le cadre de stratégies de partenariat locales (Cresica) et nationales (UMR ENTROPIE).



En fournissant une évaluation exhaustive des déplacements microbiens, y compris des agents pathogènes et des espèces toxiques, avec un nouvel outil (eDNA) dans un environnement oligotrophe et protégé (lagune NC), MicroCOSMA contribuera: i) aux perspectives de recherche futures sur l'évaluation des co-occurrences facteurs de stress sur les écosystèmes côtiers (exosome) et ii) le développement d'approches multidisciplinaires favorisant la protection et la conservation des écosystèmes marins dans une perspective holistique (Eco-One-Health). La recherche et les progrès techniques réalisés au cours de MicroCOSMA pourraient contribuer à construire un observatoire intégré à long terme (côtier et off-shore) pour la protection des écosystèmes en NC. Ce projet pourrait aider son consortium à éventuellement contribuer et potentiellement diriger cet observatoire marin à long terme d'eDNA microbien en Caroline du Nord.

MicroCOSMA contribue au développement de nouvelles initiatives de recherche dans les territoires d'outre-mer français. La collaboration interdépartementale entre les unités de recherche ODE / DYNECO et RBE / LEAD, élaborée en 2018 (projet politique inter-centre POLCA) et démarrée concrètement en 2019 (projet Searsé), continuera d'évoluer dans le cadre de ce projet. Le projet Searsé s'inscrit dans un programme plus large intitulé "au fil de l'eau" soutenu par le Consortium de recherche Cresica dont l'Ifremer est partenaire à part entière (<https://www.cresica.nc/>). Le but de Cresica est de coordonner diverses actions de recherche multidisciplinaires le long du continuum terre-mer en Caroline du Nord. Ce projet de thèse contribuera également aux objectifs des axes 2 (compréhension des organismes marins), 3 (caractérisation de la dynamique des communautés) et 4 (protection de la biodiversité marine) de l'UMR ENTROPIE rejoint par l'Ifremer-LEAD en janvier 2020 (<http://umr-entropie.ird.nc/index.php/home>).

### 13. Annexe 3 : Informations complémentaires sur la disponibilité des ressources doctorales

A Brest, l'étudiant sera encadré pour la partie écologie moléculaire et paléogénétique (eDNA) de la thèse et bénéficiera de la collaboration et de l'aide du service de bioinformatique SeBiMer de l'Ifremer. Pendant le séjour en NC, des échantillons de carottes de sédiments et potentiellement de nouveaux échantillons d'ADNe seront collectés en profitant de l'expérience et des installations de l'équipe LEAD pour les échantillonnages environnementaux. Le doctorat sera formé aux analyses génétiques par des techniciens et chercheurs de l'équipe LEAD à Nouméa et Saint-Vincent, avec la collaboration de l'équipe DYNECO. Le laboratoire LEAD dispose de tous les instruments et de l'expertise permettant des analyses génétiques in loco (PCR, qPCR, frigos, etc.), d'autres installations seront disponibles à l'IRD et à l'Université de NC (laboratoire à atmosphère contrôlée pour *seadaDNA*). A Nouméa, l'étudiant sera encadré pour la partie hydrologique et bénéficiera des collaborations avec les membres du consortium Cresica et l'UMR ENTROPIE (voir annexe 6) qui assureront des analyses sur les nutriments, métaux et composés de matières organiques (cf. § 9, Annexe 5). Des ensembles de données de métagénomique microbienne provenant du sol ultramafique néocalédonien sont déjà disponibles pour identifier l'ADNe terrestre dans les échantillons (54, 55, 56). Cet ensemble de données aidera à l'identification des bio-indicateurs terrestres et sera réalisé en collaboration avec les membres de l'IAC (Institut Agronomique Néo-Caledonien).

### 14. Annexe 4 : Informations complémentaires sur la disponibilité des ressources doctorales

Toutes les analyses génétiques (extractions d'ADN, analyses PCR) seront réalisées à Nouméa. Le séquençage Illumina Mi-Seq pour les analyses de metabarcoding nécessite des installations spécifiques qui ne sont pas disponibles en NC. Ainsi, les produits d'amplification à la fois de l'eau et de l'ADN sédimentaire doivent être exportés en France, et séquencés à Toulouse (plateforme [www.genotoul.fr](http://www.genotoul.fr)). Une liste de tous les échantillons sera établie suivant les protocoles ABS et les règles internes de l'Ifremer élaborés dans le projet MORSE suivant les procédures spéciales pour le territoire de Nouvelle-Calédonie.

### 15. Annex 5 : Complementary information on the future collaborators and their roles

Le/la doctorant/e sera en charge des analyses biostatistiques des communautés (données de metabarcoding, objectif 1), de l'échantillonnage et du traitement des carottes de sédiments (objectif 2), et de toutes les analyses génétiques (extraction *seadaDNA*, objectif 2 et rt-PCR sur les espèces traceurs, objectif 3). Les objectifs et la valorisation du projet seront atteints au profit de multiples collaborations listées ici:

#### Ecologie Microbienne

- **Nolwenn Callac** (Ifremer/LEAD – écologie microbienne, bioinformatique): aide à l'analyse de la diversité des bactéries et des archées.
- **Thierry Jauffrais** (Ifremer/LEAD – physiologie des microalgues): support d'analyse de la physiologie du compartiment phytoplancton et des microalgues toxiques dans le cadre de notre prélèvement.
- **Michèle Gourmelon** (Ifremer/DYNECO/Pelagos – écologie microbienne, bactéries entériques): identification des contaminations bactériennes.

- **Martine Rodier** (MIO-IRD Marseille – écologie du phytoplancton dans le Pacifique Sud): support et expertise des données pour les analyses du microphytoplancton.

#### eDNA e Ecologie Tropicale

- **Laurent Vigliola** (IRD Nouméa - Analyses eDNA sur les populations de poissons): soutien aux installations d'échantillonnage d'ADN.

- **Fabian Carriconde** (IAC – Nouméa): Aide à l'analyse et à l'identification de l'ADN terrestre

#### Bioinformatique

- **Alexandre Cormier and Patrick Durand** (Ifremer/SeBiMer): support d'analyse métabarcoding et formation

#### Chimie des métaux lourds

- **Farid Juillot** (IRD Nouméa – Géochimie et minéralogie): support pour les analyses des métaux lourds dans les sédiments et pour l'identification des sources métalliques à partir des contaminations terrestres.

#### Chimie de ma matière organique

- **Cécile Dupouy** (IRD Fidji - Biogéochimie): support pour les analyses de matière organique

- **Stéphane Mounier** (IRD Toulon- biogéochimie): aide à l'identification des sources de matière organique dissoute

#### Sédimentologie

- **Sabine Schmidt** (CNRS/EPOC- sédimentologie): analyses de datation des sédiments

- **Axel Ehrhold** (Ifremer/GM- paléo-sédimentologie côtière): analyses de granulométrie des sédiments

- **Stephan Jorry** (Ifremer/GM): support pour les analyses sur les paléoreconstructions.

#### Analyses de données et modélisation

- **Romain Le Gendre** (Ifremer/LEAD: modélisation): simulations de ruissellement fluvial

- **Simon Van Wynsberge** (Ifremer/LEAD: population ecology): support for analysing of *in situ* ecological data

- **Nazha Selmaoui-Folcher** (Univ. New Caledonia,

informatique, intelligence artificielle): support pour l'exploration de données et les analyses statistiques.

## 16. Liste des références

1. Biscéré T, Rodolfo-Metalpa R, Lorrain A, Chauvaud L, Thébault J, Clavier J, Houbrèque F (2015) Responses of Two Scleractinian Corals to Cobalt Pollution and Ocean Acidification. *PLoS One*, 10, e0122898
2. Biscéré T, Lorrain A, Rodolfo-Metalpa R, Gilbert A, Wright A, Devissi C, Peignon C, Farman R, Duveilbourg E, Payri C, Houbrèque F (2017) Nickel and ocean warming affect scleractinian coral growth. *Marine Pollution Bulletin*, 120, 250-258.
3. Briand MJ, Letourneur Y, Bonnet X, Wafo E, Fauvel T, Brischoux F, Guillou G, Bustamante P (2014) Spatial variability of metallic and organic contamination of anguilliform fish in New Caledonia. *Environmental Science and Pollution Research*, 21, 4576-4591.
4. Gilbert A, Heintz T, Hoeksema BW, Benzoni F, Fernandez JM, Fauvelot C, Andréfouët S (2015) Endangered New Caledonian endemic mushroom coral *Cantharellus* Nouméae in turbid, metal-rich, natural and artificial environments. *Marine Pollution Bulletin* 100, 359-369.
5. Heintz T, Haapkylä J, Gilbert A (2015) Coral health on reefs near mining sites in New Caledonia. *Diseases of Aquatic Organisms* 115, 165-173.
6. Terry JP, Kostaschuk RA, Wotling G (2008). Features of tropical cyclone-induced flood peaks on Grande Terre, New Caledonia. *Water and Environment Journal* 22, 177-183.
7. Terry JP, Wotling G (2011) Rain-shadow hydrology: influences on river flows and flood magnitudes across the central massif divide of La Grande Terre Island, New Caledonia. *Journal of hydrology* 404, 77-86.
8. Desclaux T, Lemonnier H, Genthon P, Soulard B, Le Gendre R (2018) Suitability of a lumped rainfall-runoff model for flashy tropical watersheds in New Caledonia, *Hydrological Sciences Journal* 63(11), 1689-1706.
9. Lemonnier H, Royer F, Lopez E, Berne S, Boher L, Coignot E, Desnues A, Dupouy C, Helly M, Gérard P, Gunkel-Grillon P, Jamet L, Lemestre M, Liufau F, Siano R, Soulard B (2020) Signature des EAux des Rivières et des Estuaires dans le Sud-Ouest de la Nouvelle-Calédonie: le projet SEARSÉ. Editions PUNC, 21- 22
10. Baumann F, Bourrat M-B, Pauillac S (2010) Prevalence, symptoms and chronicity of ciguatera in New Caledonia: Results from an adult population survey conducted in Nouméa during 2005. *Toxicon*, 56, 662-667.
11. Clua E, Brena PF, Lecasble Cm, Ghnassia R, Chauvet C (2011) Prevalence and proposal for cost-effective management of the ciguatera risk in the Nouméa fish market, New Caledonia (South Pacific). *Toxicon*, 58, 591-601.



12. Kerbrat AS, Darius HT, Pauillac S, Chinain M, Laurent D (2010) Detection of ciguatera-like and paralyzing toxins in *Trichodesmium* spp. from New Caledonia lagoon. *Marine Pollution Bulletin* 61, 360-366.
13. Skinner MP, Lewis RJ, Morton S (2013) Ecology of the ciguatera causing dinoflagellates from the Northern Great Barrier Reef: Changes in community distribution and coastal eutrophication. *Marine Pollution Bulletin* 77, 210-219.
14. Cazorla C, Guigon A, Noel M, Quilici M-L, Lacassin F (2011) Fatal *Vibrio vulnificus* infection associated with eating raw oysters, New Caledonia. *Emerg Infect Dis* 17(1), 136-137.
15. Baker-Austin C, Oliver JD (2018) *Vibrio vulnificus*: new insights into a deadly opportunistic pathogen. *Environ Microbiol*, 20: 423-430.
16. Hernández C, Cabanyero CA (2020) Phylogeny and life cycle of the zoonotic pathogen *Vibrio vulnificus*. *Environmental microbiology*, In press
17. Hédouin L, Metian M, Teyssié J-L, Fichez R, Warnau M (2010) Delineation of heavy metal contamination pathways (seawater, food and sediment) in tropical oysters from New Caledonia using radiotracer techniques. *Marine Pollution Bulletin* 61, 542-553
18. Hédouin L, Metian M, Teyssié J-L, Fichez R, Warnau M (2017) High contribution of the particulate uptake pathway to metal bioaccumulation in the tropical marine clam *Gafrarium pectinatum*. *Environmental Science and Pollution Research*.
19. Metian M, Bustamante P, Hédouin L, Warnau M (2008) Accumulation of nine metals and one metalloid in the tropical scallop *Comptopallium radula* from coral reefs in New Caledonia. *Environmental Pollution* 152, 543-552.
20. Metian M, Warnau M, Chouvelon T, Pedraza F, Rodriguez y Baena AM, Bustamante P (2013) Trace element bioaccumulation in reef fish from New Caledonia: Influence of trophic groups and risk assessment for consumers. *Marine Environmental Research* 87-88, 26-36.
21. Jacquet S, Dellasalle B, Torrétou J-P, Blanchot J (2006) Response of phytoplankton communities to increased anthropogenic influences (Southwestern lagoon, New Caledonia). *Marine Ecology Progress Series* 320, 65-78.
22. Neveux J, Lefebvre J-P, Le Gendre R, Dupouy C, Gallois F, Courties C, Gérard P, Fernander J-M, Ouillon S (2010) Phytoplankton dynamics in the southern New Caledonian lagoon during a southeast trade winds event. *Journal of marine systems* 82, 230-244
23. Leblanc K, Cornet V, Caffin M., Rodier M, Desnue A, Berthelot H, Turk-Kubo K, Heliou J (2016) Phytoplankton community structure in the VAHINE MESOCOSM experiment. *Biogeosciences* 13, 5205-5219
24. **Lemonnier H**, Courties C, Mugnier C, Torrétou J.-P, Herbland A (2010) Nutrient and microbial dynamics in eutrophying shrimps ponds affected by a vibriosis. *Marine Pollution Bulletin* 60, 402-411.
25. **Lemonnier H**, Lantoine F, Courties C, Guillebault D, Nézan E, Chomérat N, Escoubeyrou K, Galinié C, Blockmans B, Laugier T (2016) Dynamics of phytoplankton communities in eutrophying tropical shrimp ponds affected by vibriosis. *Marine Pollution Bulletin* 11, 449-459.
26. **Lemonnier H**, Hochard S, Nakagawa K, Courties C, Rodier M (2017). Response of phytoplankton to organic enrichment and shrimp activity in tropical aquaculture ponds: a mesocosm study. *Aquatic Microbial Ecology* 80, 105-122.
27. Tenório MMB, Le Borgne R, Rodier M, Neveux J (2005) The impact of terrigenous inputs on the Bay of Ouinné (New Caledonia) phytoplankton communities: A spectrofluorometric and microscopic approach. *Estuarine Coastal and Shelf Science* 64(2), 531-545.
28. Tenório MMB, Dupouy C, Rodier M, Neveux J (2018) *Trichodesmium* and other planktonic cyanobacteria in New Caledonian waters (SW tropical Pacific) during an El Nino episode. *Aquatic Microbial Ecology* 81 (3), 219-241.
29. Zimmermann J, Gernot G, Jahn, R, Enke N, Gemeinholzer B (2015). Metabarcoding vs. morphological identification to assess diatom diversity in environmental studies. *Molecular Ecology Resources* 15, 526-542.
30. Kermarrec L, Franc A, Rimet F, Chaumeil P, Humbert J, Bouchez, A (2014). A next-generation sequencing approach to river biomonitoring using benthic diatoms. *Freshwater Science* 33, 349-363.
31. Bik HM, Sung W, De Ley P, Baldwin JG, Sharma J, Rocha-Olivares A., Thomas WK (2012) Metagenetic community analysis of microbial eukaryotes illuminates biogeographic patterns in deep-sea and shallow water sediments. *Molecular Ecology*, 21, 1048-1059.
32. Pawlowski J, Esling P, Lejzerowicz F, Cedhagen T, Wilding TA (2014). Environmental monitoring through protist next-generation sequencing metabarcoding: assessing the impact of fish farming on benthic foraminifera communities. *Molecular Ecology Resources* 14, 1129-1140.
33. Andruszkiewicz EA, Starks HA, Chavez FP, Sassoubre LM, Block BA, Boehm, A (2017) Biomonitoring of marine vertebrates in Monterey Bay using eDNA metabarcoding *PLoS One* 12 (4), e0176343
34. Coolen MJL, Orsi, WD, Balkema C, Quince C, Harris K, Sylva SP., ... Giosan, L. (2013). Evolution of the plankton paleome in the Black Sea from the Deglacial to Anthropocene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110. doi:10.1073/pnas.1219283110
35. Guardiola M, Uriz MJ, Taberlet P, Coissac E, Wangensteen S, Turon X (2015). Deep-Sea, Deep-Sequencing : Metabarcoding Extracellular DNA from Sediments of Marine Canyons. doi:10.5061/dryad.520gq

36. Lejzerowicz F, Esling P, Majewski W, Szczucin W, Decelle J, Obadia C, ... Pawlowski, J. (2013). Ancient DNA complements microfossil record in deep-sea subsurface sediments. doi:10.5061/dryad.b5m0j.
37. Klouch KZ, Schmidt S, Andrieux-Loyer F, Le Gac M, Hervio-Heath D, Qui-Minet ZN, Quéré J, Bigeard E, Guillou L, **Siano R** (2016) Historical records from dated sediment cores unveiled the multidecadal dynamics of the toxic dinoflagellate *Alexandrium minutum* in the Bay of Brest (France) *FEMS Microbiol. Ecol.* 92, fiw101.
38. Capo E, Debros D, Arnaud F, Guillemot T, Bichet V, Millet L, Gauthier E, Charly E, Develle E, Pignol F, Lejzerowicz F, Domaizon I (2016) Long - term dynamics in microbial eukaryotes communities: a palaeolimnological view based on sedimentary DNA. *Mol. Ecol.* 25, 5925-5943.
39. **Siano R**, Lassudrie M, Cuzin P, Briant N, Loizeau V, Schmidt S, Ehrhold A, Mertens KN, Lambert C., Quintric L, Noel C, Latimier M, Quéré J, Durand P, Penaud A. Sediment archives reveal irreversible shifts in plankton communities after World War II and agricultural pollution Accepted on *Current Biology* .
40. Jonckers L, Hillebrand H, Kucera M (2019) Global change drives modern plankton communities away from the pre-industrial state. *Nature* 570, 372-375.
41. Fordham DA, Jackson ST, Brown SC, Huntley B, Brook BW, Dahl-Jense D, Gilbert DTP, Otto-Bliesner BL, Svensson A, Theodoridis S, Wilmshurst JM, Buettel JC, Canteri E, McDowell M, Orlando L, Pilowsky J, Rahbek C, Noguera-Bravo D (2020) Using paleo-archives to safeguard biodiversity under climate change. *Science* 369, eabc5654.
42. Ramond P, Sourisseau M, Simon N, Sarah R, Schimtt S, Rigaut-Jalabert F, Henry N, de Vargas C, **Siano R** (2019) Coupling between taxonomic and functional diversity in protistan coastal communities. *Environ. Microbiol.* 21, 730-749.
43. Parada AE, Needham, DM, Fuhrman, J. A. (2016) Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environ Microbiol* 18, 1403–1414.
44. Stoeck T, Bass D, Nebel M, Christen R, Jones MDN, Breiner H-W, Richards T (2010). Multiple marker parallel tag environmental DNA sequencing reveals a highly complex eukaryotic community in marine anoxic water. *Molecular Ecology* 19, 21–31.
45. de Vargas C, Audic S, Henry N, Decelle J, Mahé F, Logares R, Lara E, Berney C, Le Bescot N, Probert I, Carmichael M, Poulain J, Romac S, Colin S, Aury JM, Bittner L, Chaffron S, Dunthorn M, Engelen S, Flegontova O, Guidi L, Horak A, Jaillon O, Lukes J, Malviya S, Morard R, Mulot M, Scalco E, **Siano R**, Vincent F, Zingone A, Dimier C, Picheral M, Searson S, Kandels-Lewis S, Acinas SG, Bork P, Bowler C, Gorsky G, Grimsley N, Hingamp P, Iudicone D, Not F, Ogata H, Pesant S, Raes J, Sieracki M, Speich S, Stemman L, Sunagawa S, Weissenbach J, Wincker P, Karsenti E, and Tara Oceans Expedition, Tara Oceans Coordinators (2015) Eukaryotic plankton diversity in the sunlit global ocean. *Science* 348, 1-12
46. Armbrecht LH, Coolen MJL, Lejzerowicz F, George SC, Negandhi K, Suzuki Y, Young J, Foster NR, Armand LK, Cooper A, Ostrowski M, Focardi A, Stat M, Moreau JW, Weyrich LS (2019) Ancient DNA from marine sediments: Precautions and considerations for seafloor coring, sample handling and data generation. *Earth Sci. Rev.* 196, 102887.
47. Gourmelon V, Maggia L, Powell JR, Gigante S, Hortal S, Gueunier C, et al. (2016) Environmental and Geographical Factors Structure Soil Microbial Diversity in New Caledonian Ultramafic Substrates: A Metagenomic Approach. *PLoS ONE* 11(12), e0167405.
48. Houles A, Vincent B, David M et al. (2018) Ectomycorrhizal Communities Associated with the Legume *Acacia spirorbis* Growing on Contrasted Edaphic Constraints in New Caledonia. *Microbial Ecology* 76, 964–975.
49. Demenois J, Merino-Martín L, Fernandez Nuñez N et al. (2020) Do diversity of plants, soil fungi and bacteria influence aggregate stability on ultramafic Ferralsols? A metagenomic approach in a tropical hotspot of biodiversity. *Plant Soil* 448, 213–229.
50. Carriconde F, Fernandez Nunez N, Ripoll J., Leopold A., Fogliani B, Ititiaty Y., Lelervre M, Letellier K, Maggia L, Bidau G, L'Huillier L, Amir A, Cavaloc Y, Ducouso M, Galiana A, Hannibal L, Jourand P, Lebrun M (2019) Identification d'indicateurs biologiques du fonctionnement des écosystèmes miniers restaurés. Acronyme : « Bioindic ». Rapport final de convention CNRT. 272pp.
51. Kier G, Kreft H, Lee TM, Jetz W, Ibsch PL, Nowicki C, Mutke J, Barthlott W (2009) A global assessment of endemism and species richness across island and mainland regions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 9322-9327.
52. Ceccarelli DM, McKinnon AD, Andréfouët S, Allain V, Young J, Gledhill DC, Flynn A, Bax NJ, Beaman R, Borsa P, Brinkman R, Bustamante RH, Campbell R, Cappo M, Cravatte S, D'Agata S, Dichmont CM, Dunstan PK, Dupouy C, Edgar G, Farman R, Furnas M, Garrigue C, Hutton T, Kulbicki M, Letourneur Y, Lindsay D, Menkès C, Mouillot D, Parravicini V, Payri C, Pelletier B, Richer de Forges B, Ridgway K, Rodier M, Samadi S, Schoeman D, Skewes T, Swearer S, Vigliola L, Wantiez L, Williams A, Richardson A (2013) *The Coral Sea: Physical Environment, Ecosystem Status and Biodiversity Assets*, *Advances in Marine Biology*, Vol. 66, Burlington: Academic Press, 2013, pp. 213-290, ISBN: 978-0-12-408096-64
53. Bird C, Dubois J-P, Iltis J (1984) *The impact of opencast mining on the rivers and coasts of New Caledonia*. The United Nations University, Tokyo, pp. 53.

54. Fichez R, Chifflet S, Douillet P, Gérard P, Gutierrez F, Jouon A, Ouillon S, Grenz C (2010) Biogeochemical typology and temporal variability of lagoon waters in a coral reef ecosystem subject to terrigenous and anthropogenic inputs (New Caledonia). *Marine Pollution Bulletin* 61, 309–322.
55. Fernandez J-M, Ouillon S, Chevillon C, Douillet P, Fichez R, Le Gendre R (2006) A combined modelling and geochemical study of the fate of terrigenous inputs from mixed natural and mining sources in a coral reef lagoon (New Caledonia). *Marine Pollution Bulletin* 52, 320-331.
56. Fernandez Nunez, N., Maggia, L., Lelievre, M, Letellier, K, Gigante, S, Manez, A., Mournet, P., Ripoll, J, Carriconde, F. Soil fungal and bacterial metabarcoding: excellent bioindicators for ecological restoration in the New Caledonian biodiversity hotspot context. Submitted in *Ecological Engineering*.
57. Carriconde F, Ripoll J, Fernandez Nunez N, Demenois J, Gourmelon V, Letellier K, Robert N, Drouin J, Manez A, Mournet P, Maggia L (in prep.) A meta-analysis of ultramafic soil microbial metagenomic datasets in New Caledonia: towards a referential system in an ecological restoration context? *Ecological Engineering*.