

## PROPOSITION DE STAGE MASTER 2 - Année 2019/2020

Impact de la fixation d'azote atmosphérique sur l'export de matière organique dans le Pacifique tropical sud-ouest (Campagne océanographie TONGA)

Responsables scientifiques	Sophie Bonnet, Directrice de recherche au M.I.O Mar Benavides, Chargée de recherche au M.I.O
Lieu du stage	Mediterranean Institute of Oceanography (MIO) Campus de Luminy (Marseille)
Contacts	<a href="mailto:sophie.bonnet@univ-amu.fr">sophie.bonnet@univ-amu.fr</a> <a href="mailto:mar.benavides@ird.fr">mar.benavides@ird.fr</a>
Collaborations	Olivier grosso (Ingénieur au M.I.O)

### Présentation de la thématique

L'efficacité de la pompe biologique océanique dépend essentiellement de l'intensité de la production primaire, elle-même dépendante de la disponibilité en nutriments dans la couche euphotique. L'azote est le principal nutriment limitant la production primaire dans l'océan (Falkowski, 1997). Dans les milieux oligotrophes qui occupent plus de 60% de la surface de l'océan global, l'azote nouveau provient essentiellement du processus de fixation d'azote atmosphérique, ou diazotrophie. Il consiste en la transformation de l'azote gazeux présent dans l'eau de mer ( $N_2$ ) en une forme assimilable ( $NH_3$ ) par des organismes du plancton appelé 'diazotrophes'. La source de  $N_2$  étant inépuisable, cela leur confère un très net avantage compétitif dans ces environnements limités en nitrates. En fixant ainsi l'azote de l'air, ces organismes enrichissent le milieu marin environnant en azote nouveau qui peut alors être utilisable par la chaîne trophique marine et contribuer directement ou indirectement à l'export de matière organique vers les profondeurs. **Cet export de matière soutenu par l'azote nouveau apporté par les organismes diazotrophes constitue une pompe biologique alternative appelée la 'N<sub>2</sub>-primed Prokaryotic Carbon Pump' (Karl et al., 2003).** Si le lien entre diazotrophie et export a été établi à l'aide de bilans biogéochimiques et isotopiques (Karl et al., 1997 ; Caffin et al., 2018 ; Knapp et al., 2018 et ref internes), **les voies de transfert de l'azote/carbone issus de la diazotrophie hors de la couche euphotique sont peu documentées et font l'objet de ce stage.**

### Contexte programmatique

Ce stage sera effectué dans le cadre du projet multidisciplinaire [TONGA](#) (2019-2022) (*shallow hydroThermal sOurces of trace elemeNts: potential impacts on biological productivity and the bioloGicAl carbon pump*, 2018-2022). TONGA est un projet pluridisciplinaire (coordination S. Bonnet, MIO, C. Guieu, LOV) dédié à l'étude du contrôle de la productivité océanique et de la séquestration du carbone par les micronutriments d'origine hydrothermale. Il implique 90 scientifiques de 19 institutions internationales et repose à la fois sur une campagne océanographique de 37 jours dans le Pacifique sud-ouest (Figure 1) en 2019 (N/O L'Atalante, campagne programmée en 2019) et sur des travaux de modélisation. TONGA est financé par l'ANR, l'INSU, la fondation A-Midex, l'IRD. Il est labélisé par les programmes internationaux GEOTRACES et IMBER.

<http://tonga-project.org/web/#>

<https://twitter.com/tongaproject>

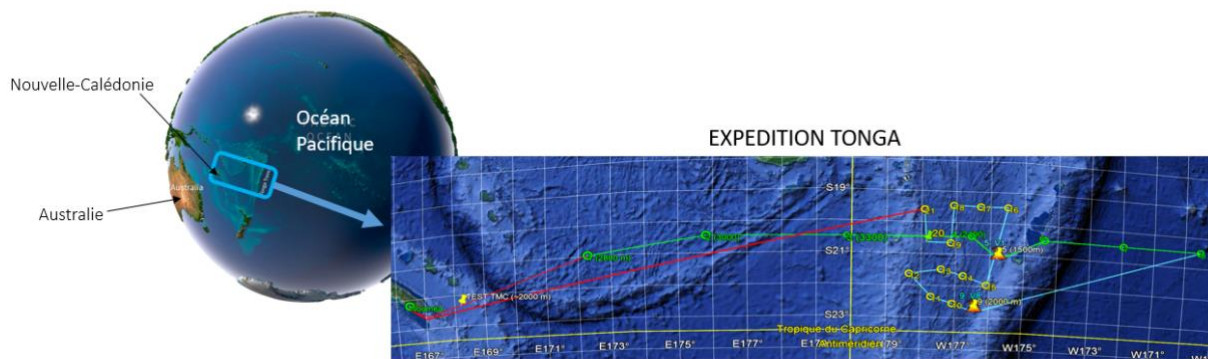


Figure 1. Localisation géographique de la zone d'étude et des stations qui seront échantillonnées durant la campagne TONGA : les zones d'études intensives au niveau desquelles seront déployées des pièges à particules sont indiquées par les croix rouges.

### Activités réalisées durant le stage

Des travaux récents menés par les équipes du M.I.O ont permis de montrer que l'océan Pacifique sud-ouest constituait un hot spot de diazotrophie à l'échelle globale (Bonnet et al., 2017), c'est-à-dire que les taux de fixation d'azote y sont parmi les plus forts à ce jour mesurés dans l'océan. Nous avons également montré dans le cadre des thèses M.I.O-AMU de Hugo Berthelot et Mathieu Caffin que l'efficacité d'export de matière dans cette région était importante et principalement soutenue par la diazotrophie (Berthelot et al., 2016 ; Caffin et al., 2018). L'objectif de ce stage est d'aller plus loin en allant explorer en détail les voies d'export de matière liée aux diazotrophes dans cette région. L'export peut être (i) direct : lié à un export des diazotrophes eux-mêmes (sous forme de cellules seules, d'agrégats ou de colonies), ou (ii) indirect : après transfert trophique de l'azote dérivé de la diazotrophie vers le plancton non diazotrophe qui est lui-même secondairement exporté (Bonnet et al., 2016) (Figure 2). Ce stage s'intéressera principalement aux voies d'export directes (les voies indirectes seront explorées dans le cadre d'une possible thèse).

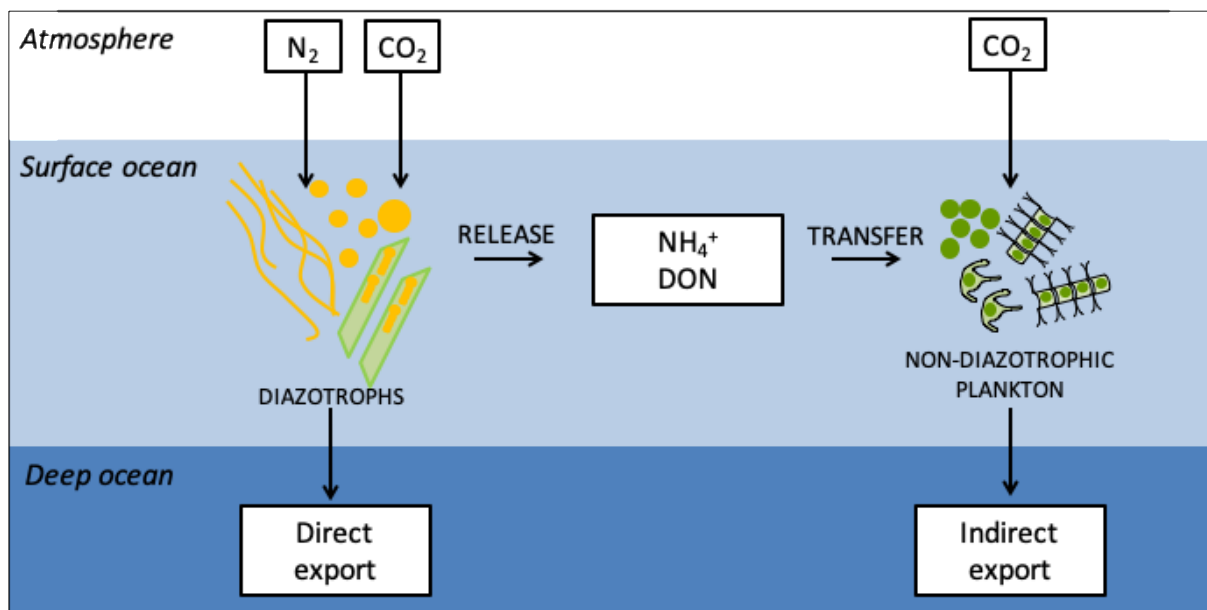


Figure 2. Représentation schématique des voies directes et indirectes d'export de matière organique en lien avec la diazotrophie dans l'océan oligotrophe.

Dans le cadre de la campagne océanographique TONGA (Nov.-Dec. 2019), une approche multi-instrumentée (cf ci-dessous) sera déployée afin de quantifier diazotrophes présents

dans les particules en voie de sédimentation (neige marine) et de déterminer quels groupes de diazotrophes (filamenteux/unicellulaires, grande taille/petite taille) sont préférentiellement exportés le long des gradients de productivité et de diazotrophie qui seront traversés.

1/ des profils verticaux seront réalisés dans la couche méso-pélagique (200-1000 m) à l'aide d'une bottlenet au niveau de 9 stations. La bottlenet est un nouvel outil conçu en 2010 pour l'océanographie afin de qualifier/quantifier les particules en cours de sédimentation dans la colonne d'eau. Le premier objectif du stage sera de quantifier les 4 principaux groupes de diazotrophes présents dans cette région dans ces particules mésopélagiques (200-1000 m) à l'aide d'une technique de biologie moléculaire : extraction d'ADN et PCR quantitative (qPCR) réalisée sur le gène *nifH* (gène codant pour l'enzyme nitrogénase qui catalyse la fixation) (méthode décrite dans Stenegren et al., 2018). L'étudiant analysera également en qPCR les échantillons issus de la couche euphotique (environ 0-200 m) à l'aplomb de ces profils afin de calculer une efficacité d'export pour chaque groupe étudié. Ces mesures seront complétées par des observations microscopiques qualitatives afin de faciliter les interprétations. Des mesures de carbone et azote particulaire dans les échantillons seront également réalisées durant le stage à l'aide d'un analyseur élémentaire. Des données concernant la viabilité des cellules de diazotrophes en cours de sédimentation ainsi que les données environnementales de la campagne seront disponibles pour interpréter les résultats.

2/ Pendant TONGA, des mouillages dérivants munis de pièges à particules seront également déployés au niveau de 2 stations afin de quantifier l'export de carbone/azote hors de la couche euphotique.

-la même approche que précédemment sera réalisée : qPCR *nifH* sur 4 groupes de diazotrophes dans les pièges à 150 m et 1000 m de profondeur et dans la couche éclairée 0-100 m afin d'évaluer la capacité d'export de chaque groupe de diazotrophe en fonction de leur taille/forme.

-comme précédemment, une analyse qualitative en microscopie à épifluorescence sera réalisée sur ces échantillons. L'étudiant sera également en charge des analyses en microscopie électronique à balayage sur les échantillons issus des pièges à ces 2 stations.

-des mesures de production primaire et de fixation d'azote seront réalisées à l'aide d'outils isotopiques (marquages  $^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$ ) lors de profils verticaux aux stations de déploiement des mouillages munis de pièges. L'étudiant sera en charge des analyses en spectrométrie de masse des échantillons (méthode décrite dans e.g. Berthelot et al., 2016) afin de réaliser des bilans préliminaires en azote au niveau de ces deux stations (les données de carbone/azote dans la matière exportés seront mis à disposition).

3/ Des expériences en roller tanks seront réalisées à bord afin d'étudier la capacité d'agrégation des diazotrophes en cours de sédimentation. Ces expériences seront réalisées au niveau de 2 zones contrastées (une zone dominée par des diazotrophes filamenteux de type *Trichodesmium* spp., une zone dominée par la présence de diazotrophes unicellulaires de type *Crocospaera* spp.). Le travail consistera à quantifier chaque groupe de diazotrophes dans les particules formées comme décrit ci-dessus, mesurer le contenu en azote/carbone des particules, leur taille et leur structure. Des mesures de vitesses de chute seront disponibles pour l'interprétation des données.

*Si le temps le permet, des expériences complémentaires en roller tanks seront menées au laboratoire durant le stage par l'étudiant à l'aide de cultures pures de *Trichodesmium* et *Crocospaera* disponibles et cultivées par l'équipe proposante.*

Insertion au sein du MIO. Le stage s'insère dans le cadre de l'axe transverse 'Pompe Biologique' du MIO et s'appuie sur plusieurs plateformes expérimentales du MIO pour la réalisation des travaux 1/ PACEM (Plateforme Analytique de Chimie des Environnements Marins), 2/ MIM (Imagerie et Microscopie), et 3/ Cultures expérimentales.

## Durée du stage et compétences requises

Durée du stage: 6 mois, gratifications standard - Une continuation en thèse sur ce sujet est envisagée

Compétences requises/profil de l'étudiant(e): Connaissances solides en océanographie et notamment en biogéochimie et microbiologie marines. Outils de base en traitement de données et statistiques (visualisation et analyses de jeux de données), curiosité scientifique, compétences de base en anglais pour acquérir la bibliographie en lien avec le sujet. Des compétences en biologie moléculaire (extraction d'ADN, qPCR) ou en isotopie (spectrométrie de masse) seront un plus mais ne sont pas indispensables.

Pour faire acte de candidature, merci d'envoyer CV, lettre de motivation et relevé de notes du Master 1 à [sophie.bonnet@univ-amu.fr](mailto:sophie.bonnet@univ-amu.fr) et [mar.benavides@ird.fr](mailto:mar.benavides@ird.fr)

## Références citées

Berthelot, H., Moutin, T., L'Helguen, S., Leblanc, K., H'elias, S., Grosso, O., Leblond, N., Charriere, B., and Bonnet, S. Dinitrogen fixation and dissolved organic nitrogen fueled primary production and particulate export during the VAHINE mesocosm experiment (New Caledonia lagoon), *Biogeosciences*, 12, 4099–4112, 2015.

Bonnet, S., Berthelot, H., Turk-Kubo, K. A., Cornet-Barthaux, V., Fawcett, S., Berman-Frank, I., Barani, A., Gregori, G., Dekaezemacker, J., Benavides, M., and Capone, D. G. Diazotroph derived nitrogen supports diatom growth in the South West Pacific : A quantitative study using nanoSIMS, *Limnology and Oceanography*, 61, 1549–1562, <https://doi.org/10.1002/lno.10300>, 2016a.

Bonnet, S., Caffin, M., Berthelot, H., and Moutin, T. Hot spot of N<sub>2</sub> fixation in the western tropical South Pacific pleads for a spatial decoupling between N<sub>2</sub> fixation and denitrification, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 114, E2800–E2801, <https://doi.org/10.1073/pnas.1619514114>, 2017.

Caffin, M., Moutin, T., Foster, R. A., Bouruet-Aubertot, P., Doglioli, A. M., Berthelot, H., Guieu, C., Grosso, O., Helias-Nunige, S., Leblond, N., Gimenez, A., Petrenko, A. A., de Verneil, A., and Bonnet, S. N<sub>2</sub> fixation as a dominant new N source in the western tropical South Pacific Ocean (OUTPACE cruise), *Biogeosciences*, 15, 2565–2585, <https://doi.org/10.5194/bg-15-2565-2018>, 2018.

Falkowski, P. G. Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological sequestration of CO<sub>2</sub> in the ocean, *Nature*, 387, 272, 1997.

Karl, D., Letelier, R., Tupas, L., Dore, J., Christian, J., and Hebel, D. The role of nitrogen fixation in biogeochemical cycling in the subtropical North Pacific Ocean, *Nature*, 388,533, 1997.

Karl, D. M., Bates, N. R., Emerson, S., Harrison, P. J., Jeandel, C., Liu, K. K., Marty, J. C., Michaels, A., Miquel, J. C., Neuer, S., Nojiri, Y., and Wong, C. S. Temporal Studies of Biogeochemical Processes Determined from Ocean Time-Series Observations During the JGOFS Era, in : *Ocean Biogeochemistry : The Role of the Ocean Carbon Cycle in Global Change*, edited by Fasham, pp. 239–267, Springer, New York, 2003.

Knapp, A. N., McCabe, K. M., Grosso, O., Leblond, N., Moutin, T., and Bonnet, S. Distribution and rates of nitrogen fixation in the western tropical South Pacific Ocean constrained by nitrogen isotope budgets, *Biogeosciences*, 15, 2619–2628, <https://doi.org/10.5194/bg-15-2619-2018>, 2018.

Stenegren, M., Caputo, A., Berg, C., Bonnet, S., and Foster, R. A. Distribution and drivers of symbiotic and free-living diazotrophic cyanobacteria in the western tropical South Pacific, *Biogeosciences*, 15, 1559–1578, <https://doi.org/10.5194/bg-15-1559-2018>, 2018.