


<p>Sujet de stage</p> 	<p>ROLE DES DIAZOTROPHES DANS LA POMPE BIOLOGIQUE A CARBONE (projet <u>TONGA</u>)</p>
<p>Encadrement:</p>	<p>Sophie Bonnet, Directrice de recherche (HDR) au M.I.O. Sophie.bonnet@mio.osupytheas.fr https://sophiebonnet.wixsite.com/website</p>
<p>Laboratoire, équipe:</p>	<p>MIO, Equipe CYBELE</p>
<p>Données /campagnes:</p>	<p>Données mouillage fixe <u>TONGA</u> (1 an) Données <u>KANADEEP 2</u> (2 mouillages, 1 an)</p>
<p>Programmes de rattachement :</p>	<p>TONGA 2019-2023 (Coordination Sophie Bonnet & Cécile Guieu (LOV Villefranche sur mer) KANADEEP 2 (Coordination Sarah Samadi, Karine Olu)</p>
<p>Collaborations au sein du MIO :</p>	<p>Mercedes Camps, responsables plateforme Imagerie et microscopie (Véronique Cornet), responsables plateforme OMICS (Léa Sylvi)</p>
<p>Collaborations nationales et internationales:</p>	<p>Cécile Guieu (LOV, Villefranche sur), Vincent Taillandier (LOV, Villefranche sur mer), Nathalie Leblond (Cellule Pièges CNRS-INSU), Sarah Samadi (MNHN, Paris), Karine Olu (IFREMER, Brest), Angela Knapp & Heather Forrer (Florida State University)</p>
<p>Possibilité de poursuite en thèse</p>	<p>Oui dans le cadre du projet HOPE (ERC 2023-2028, coordination S. Bonnet) – MIO Marseille-MIO Nouvelle Calédonie)</p>

Contexte scientifique

Rôle des diazotrophes dans la pompe biologique à carbone. L'intensité de la pompe biologique à carbone dans l'océan 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 ~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 appelés 'diazotrophes'. La source de N_2 étant inépuisable, cela leur confère un 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 '**N₂-primed Prokaryotic Carbon Pump**' (Karl et al., 2003). A ce jour, cette pompe alternative est largement inexplorée, bien qu'active dans plus de la moitié de l'océan global. Les modèles de climat prévoient un océan du futur plus chaud et plus stratifié, dans lequel l'abondance et l'activité des diazotrophes pourraient augmenter (Bopp et al., 2022). Explorer en détail leur rôle dans la pompe biologique à carbone est donc de la plus grande actualité.

Voies d'export des diazotrophes vers l'océan profond. Au cours des projets [VAHINE](#) et [OUTPACE](#) coordonnés par nos équipes au M.I.O, nous avons établi avec 2 précédents doctorants (Hugo Berthelot & Mathieu Caffin) le lien entre diazotrophie et export à l'aide de bilans biogéochimiques et isotopiques (Berthelot et al., 2015 ; Caffin et al., 2018), montrant que la diazotrophie soutient 50-80% de la production exportée dans le Pacifique tropical sud (Knapp et al., 2018). Cependant, 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.

Les diazotrophes influencent la pompe biologique à carbone par deux voies principales: la sédimentation gravitationnelle des diazotrophes (Voie 1 : export direct, Fig. 1) et le transfert de l'azote dérivé des diazotrophes vers le phytoplancton, zooplancton et/ou bactéries non diazotrophes, qui sont secondairement exportés vers les profondeurs de l'océan sous forme d'agrégats et de pelotes fécales (Voie 2 : export indirect, Fig. 1). Ce stage s'intéressera principalement aux voies d'export directes (les voies indirectes seront explorées dans le cadre d'une possible thèse dans le cadre du projet HOPE, cf ci-dessous).

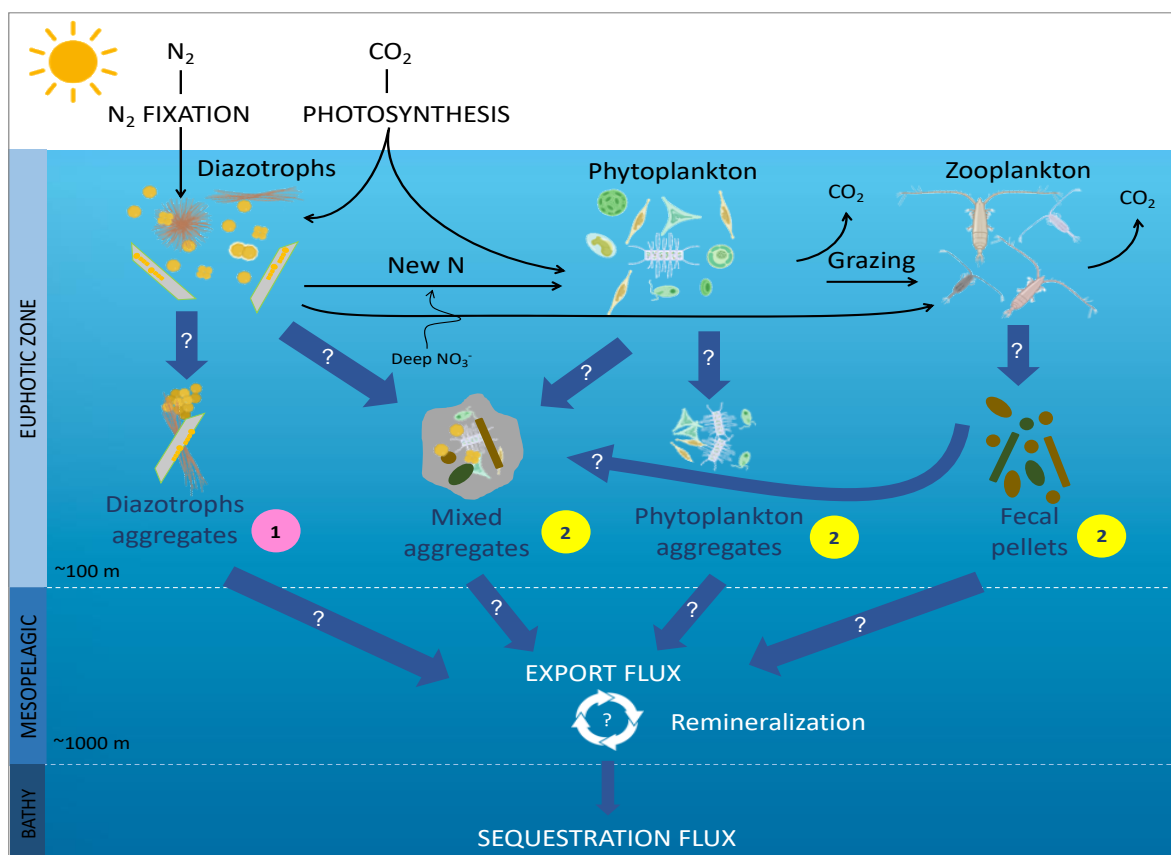


Figure 1. Représentation schématique des voies directes et indirectes d'export de matière organique en lien avec la diazotrophie dans l'océan.

Résultats récents obtenus par l'équipe proposante. La voie 1 a été très peu explorée car il est généralement admis que les diazotrophes ne sédimentent pas vers l'océan profond, mais sont recyclés dans la couche de surface, restituant leur CO₂ à l'atmosphère. En effet, la taille et la densité des cellules ne seraient pas suffisantes pour pouvoir engendrer une chute vers les profondeurs océaniques. Nos récentes études menées dans le cadre du projet [TONGA](#) (Pacifique Sud) viennent néanmoins de remettre en cause ce paradigme : c'est en effectuant des mesures dans l'océan profond à l'aide d'un couplage d'outils collectant la neige marine que nous avons démontré que les diazotrophes chutent vers l'océan profond, contribuant à certaines stations à la majeure partie du flux d'export de carbone ([Bonnet et al., 2022](#)). L'étude révèle en outre que les organismes sont peu dégradés (Fig. 2), voire quasi intacts à cette profondeur, suggérant une chute rapide et donc un faible recyclage en CO₂ pendant la descente. Dans une étude complémentaire ([Benavides et al., 2022](#)), nous révélons que certains de ces organismes (*Trichodesmium*) sont encore vivants à 1000 m de profondeur, confirmant leur chute rapide et donc leur export direct vers l'océan profond, où ce carbone sera piégé sur le long terme. Par des études en laboratoire par une doctorante dans notre équipe (FZ Ababou), nous avons par la suite mesuré la vitesse à laquelle la neige marine issue de diazotrophes coule (100 à 400 m par jour), confirmant les observations de terrain. Ces vitesses de chute relativement élevées seraient dues au fait que les petites cellules de diazotrophes (1-8 µm) ont la capacité de s'agglomérer pour former des agrégats de neige marine suffisamment grands (50-500 µm) et volumineux pour couler.

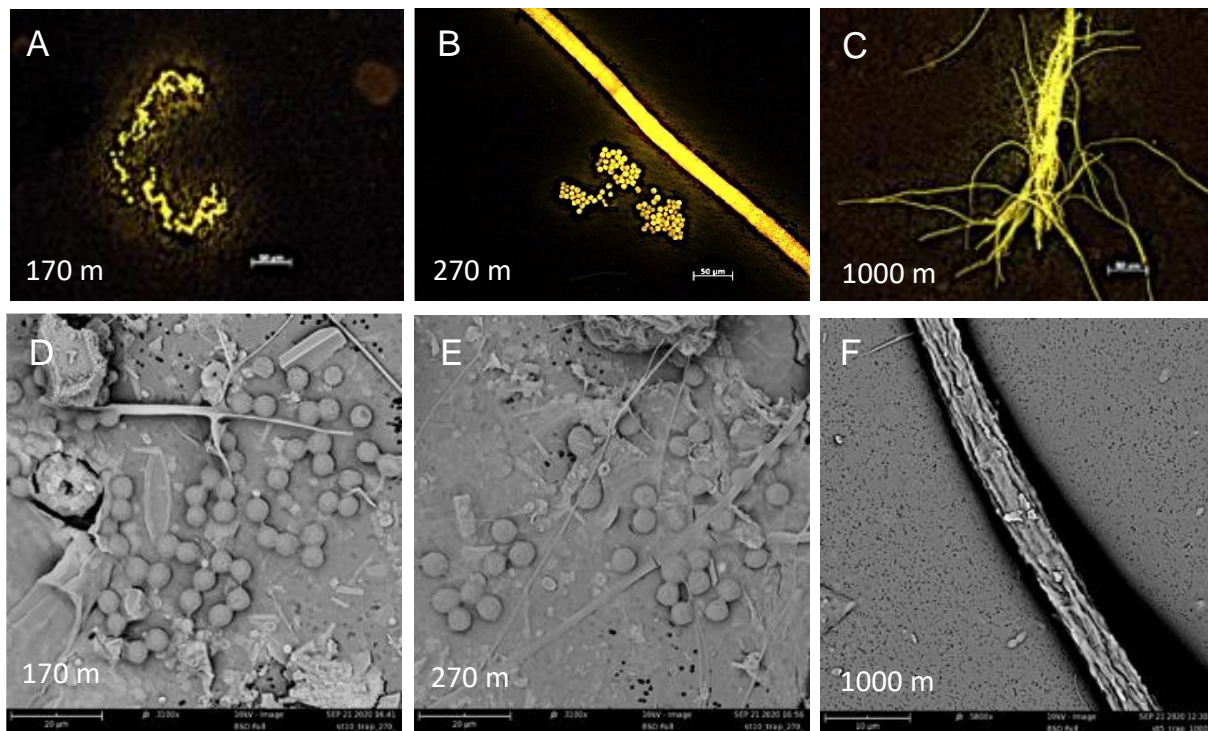


Figure 2. Diazotrophes (*Trichodesmium* sp. et unicellulaires) collectés dans les pièges à particules dérivants dans l'océan profond (170, 270, et 1000 m) dans le Pacifique Sud (Campagne TONGA). A, B, C. Photos prises en microscopie à épifluorescence. D, E, F. Photos prises en microscopie électronique à balayage. © S. Bonnet, K. Leblanc. Tiré de <https://www.nature.com/articles/s41396-022-01319-3>

Au-delà du Pacifique Sud, nous avons étayé nos données par l'analyse des métagénomiques de Tara Oceans collectés dans d'autres bassins océaniques, étendant ainsi la portée de nos résultats à l'échelle globale. Nous avons montré que, lorsque les diazotrophes sont présents dans la zone euphotique, ils sont aussi systématiquement présents dans les eaux mésopélagiques, ce qui suggère leur transport vers l'océan profond. Nous concluons donc que les diazotrophes

constituent une part importante du carbone séquestré dans l'océan profond et qu'ils doivent donc être pris en compte dans les estimations régionales et globales de l'export de carbone. **Cependant, nous manquons à ce jour de séries temporelles permettant de saisir comment les facteurs environnementaux influencent cet export des diazotrophes vers l'océan profond, ce qui fait l'objet de ce stage.**

Contexte programmatique et objectifs du stage

Ce stage sera effectué dans le cadre du projet [TONGA](#) (2019-2023) (*shallow hydroThermal sOurces of trace elemeNts: potential impacts on biological productivity and the bioloGicAl carbon pump3*). 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 le fer d'origine hydrothermale. Il implique 110 scientifiques de 21 institutions internationales et repose à la fois sur une campagne océanographique de 37 jours dans le Pacifique sud-ouest (Fig. 1) qui été effectuée fin 2019 ([voir film de l'expédition](#)) et sur des travaux de modélisation. TONGA est financé par l'ANR, l'INSU, la fondation A-Midex, l'IRD (2.4 M€). Il est labélisé par les programmes internationaux GEOTRACES et IMBER. <https://twitter.com/tongaproject>

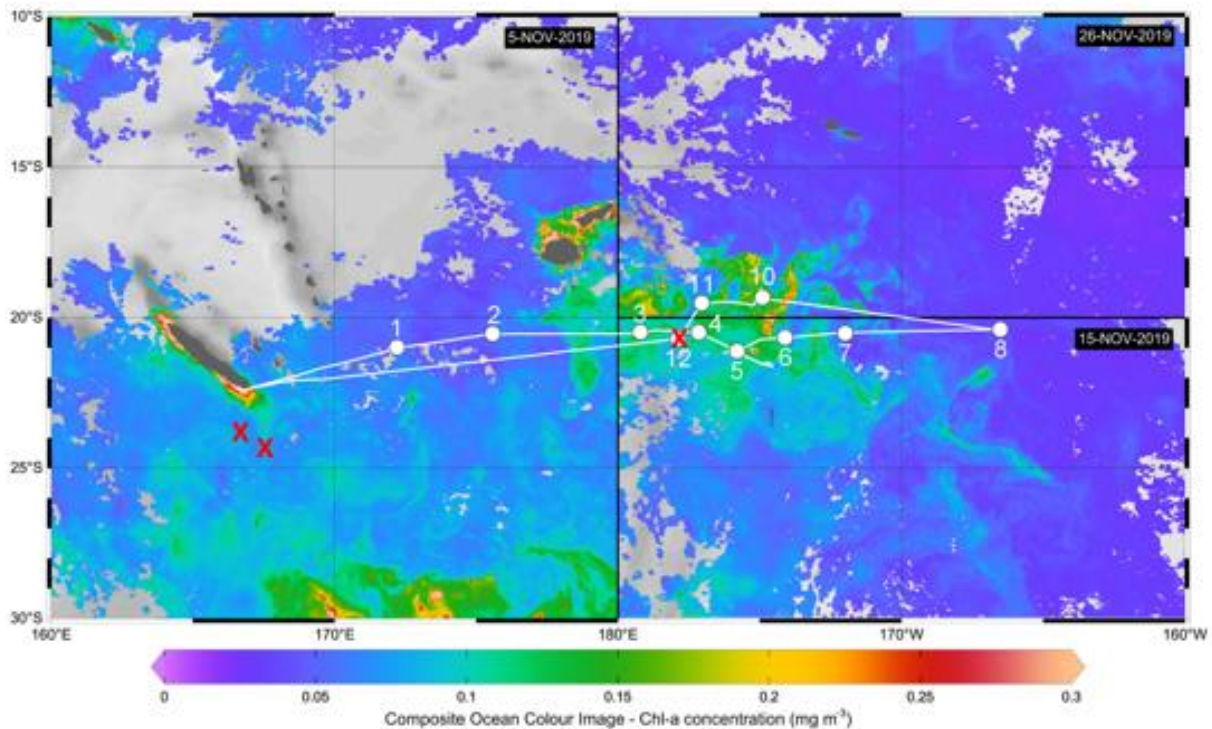


Figure 3. Localisation géographique de la zone d'étude et des stations échantillonnées durant la campagne TONGA : les zones d'études de déploiement des lignes de mouillage fixes (1 an) sont indiquées par des croix rouges.

Dans le cadre de TONGA et du projet partenaire KANADEEP 2, 3 mouillages fixes ont été déployés dans le Pacifique Sud-ouest pendant une durée de 1 an, au niveau de 3 localisations géographiques (Fig. 3). Ces lignes de mouillages étaient munies de pièges à particules situés entre 200 et 1000 m, collectant la neige marine avec un pas de temps de 15 jours pendant une année chacun. L'objectif général du stage sera d'étudier la variabilité temporelle de l'export direct des diazotrophes vers l'océan profond au niveau de ces 3 sites à l'aide de méthodes de biologie moléculaire, microscopiques et isotopiques.

1/ Le premier objectif du stage sera de quantifier les 4 principaux groupes de diazotrophes présents dans les pièges à particules à l'aide de techniques de biologie moléculaire. L'étudiant sera formé aux extractions d'ADN et à la PCR quantitative (qPCR) réalisée sur le gène *nifH* (gène codant pour l'enzyme nitrogénase qui catalyse la fixation d'azote) (méthode décrite dans Stenegren et al., 2018). Lieu de réalisation : M.I.O Marseille

2/ Ces mesures seront complétées par des observations microscopiques qualitatives en microscopie à épifluorescence et en microscopie électronique à balayage afin de faciliter les interprétations. Pour les pièges qui ont été conservés dans du formol, les analyses de biologie moléculaires ne seront pas assez robustes, et des comptages en microscopie à épifluorescence seront nécessaires. Lieu de réalisation : M.I.O Marseille

3/ Des mesures des flux d'export de carbone et d'azote seront également mesurés dans les pièges de KANADEEP 2 (les données pour TONGA sont déjà disponibles), ce qui permettra de calculer la contribution des diazotrophes à l'export total et sa variabilité au cours des cycles annuels étudiés. Lieu de réalisation : M.I.O Marseille

4/ Données hydrologiques, biogéochimiques et isotopiques.

Pour l'interprétation des données sur la variabilité temporelle des patterns qui ressortiront des analyses de pièges, 3 types de données seront disponibles et l'étudiant sera impliqué dans le traitement de ces données, en collaboration avec Vincent Taillandier et Cécile Guieu au LOV à Villefranche sur mer (un séjour sera effectué dans ce laboratoire durant le stage):

- les propriétés hydrologiques enregistrées par les capteurs montés sur les lignes de mouillage (température, salinité, force et direction des courants etc)

- les données satellite couleur de l'eau, SST

- les données des flotteurs profileurs ARGO. En effet, 9 flotteurs ARGO munis de capteurs TS mais également pour certains de capteurs biogéochimiques ont été déployés pendant TONGA, et sont restés au voisinage de la zone des mouillages fixes pendant un an. Les données issues de ces flotteurs (voir exemple Fig. 4) sur la couche 0-1000 m seront donc extrêmement précieuses pour interpréter les données d'export acquises en 1/, 2/ et 3/.

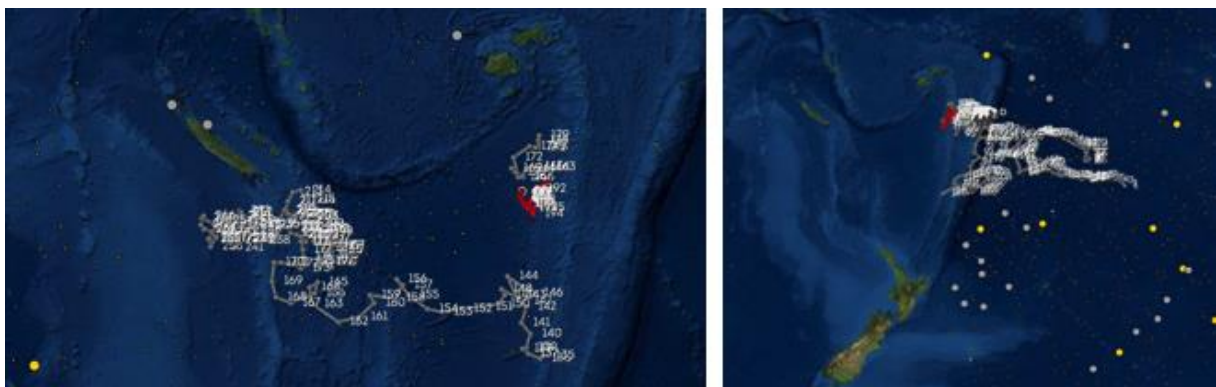


Figure 4. Exemple de trajectoires de flotteurs ARGO actifs autour des mouillages fixes pendant la période de déploiement

Enfin, les données isotopiques ($\delta^{15}\text{N}$) mesurées sur ces mêmes pièges par notre équipe et Florida State University seront également utilisées pour l'interprétation des données.

A l'issue du stage, ces données seront publiées dans de Numéro Special TONGA (Special issue) dans *Frontiers in Marine Science*. Voir site du Special issue ici :

<https://www.frontiersin.org/research-topics/49099/hydrothermal-and-submarine-volcanic-activity-impacts-on-ocean-chemistry-and-plankton-dynamics>

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/ OMICS (biologie moléculaire), 2/ (Imagerie et Microscopie) et PACEM (Plateforme Analytique de Chimie des Environnements Marins) et sur un séjour de ~4 semaines au LOV.

Durée du stage. 6 mois, gratifications standard - Une continuation en thèse sur ce sujet est envisagée dans le cadre du projet ERC HOPE (2023-2028, 2.5 M€, Coordination: S. Bonnet)

Compétences requises/profil de l'étudiant(e).

- Connaissances solides en océanographie et notamment en biogéochimie
- Aisance en manipulation et traitement des données Outils
- Curiosité scientifique
- Travail en équipe
- Anglais de base pour acquérir la bibliographie en lien avec le sujet
- Des compétences en biologie moléculaire (extraction d'ADN, qPCR) et en microscopie 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@mio.osupytheas.fr

Références citées

Benavides M, Bonnet S, Armin G, Inomura K, Hallstrøm S, Riemann L, et al. Sinking Trichodesmium fixes nitrogen in the dark ocean. *ISME J.* 2022;16:2398–2405. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01289-6>

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., Benavides, M., Le Moigne, F.A.C. *et al.* Diazotrophs are overlooked contributors to carbon and nitrogen export to the deep ocean. *ISME J* (2022). <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01319-3>.

Bopp, L., Aumont, O., Kwiatkowski, L., Clerc, C., Dupont, L., Ethé, C., Gorgues, T., Sférian, R., and Tagliabue, A.: Diazotrophy as a key driver of the response of marine net primary productivity to climate change, *Biogeosciences*, 19, 4267–4285, <https://doi.org/10.5194/bg-19-4267-2022>, 2022.

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. N₂ 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 CO₂ 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.