

Aix Marseille Université

THESE

Pour obtenir le grade de : **Docteur en Sciences**

Mention : Océanographie

Présentée et soutenue par

Kahina DJAoudi

Rôle de l'apport atmosphérique sur les processus de biodégradation et la stœchiométrie de la matière organique dissoute en mer Méditerranée

Préparée à l'Institut Méditerranéen d'Océanologie

Soutenue le 09/03/2018 devant un jury composé de :

Maria Kanakidou	Université de Crète, ECPL	Rapportrice
Télesphore Sime-Ngando	Université Clermont Ferrand, LMGE	Rapporteur
Pascal Conan	Université Pierre et Marie Curie, LOMIC	Examineur
Thierry Moutin	Aix Marseille Université, MIO	Président du jury
Elvira Pulido-Villena	Aix Marseille Université, MIO	Directrice de thèse
France Van Wambeke	Aix Marseille Université, MIO	Directrice de thèse

Résumé

Etablir un lien entre le dépôt atmosphérique et le réservoir de matière organique dissoute (DOM) en mer Méditerranée, est actuellement rendu difficile en raison : (1) d'une faible connaissance du réservoir de phosphate dissous de surface, principalement contraint par les faibles concentrations en phosphate inorganique dissous (DIP), (2) d'un manque critique de données de dépôt atmosphérique de C, N et P organique et (3) d'une absence d'information sur sa biodisponibilité. Cette thèse a tenté de pallier ces manques. (1) A l'aide d'une mesure sensible du DIP, le recouvrement des données valides de phosphate organique dissous (DOP) en mer Méditerranée a été augmenté de 70% par rapport à la méthode classique à la fois sur une échelle spatiale et temporelle, permettant de révéler la dynamique biogéochimique du phosphate dissous au niveau des eaux de surface. En effet, au cours de deux campagnes océanographiques ayant eu lieu en période de stratification, un gradient nano-molaire positif du DIP et une utilisation potentielle du DOP, non observés avec la méthode classique, ont été révélés au niveau des eaux de subsurface. Lors d'un suivi allant d'avril à septembre 2015, une accumulation du réservoir de DOP a été mise en évidence au niveau de la couche de mélange de surface (SML) avec une contribution du réservoir labile de DOP (LDOP) de $27 \pm 19\%$. (2) Les flux atmosphériques en carbone (SOC), azote (SON) et phosphate (SOP) organique soluble ont été quantifiés et ont été de $59 \text{ mmol C m}^{-2} \text{ an}^{-1}$, $16,4 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ et $23,6 \text{ } \mu\text{mol P m}^{-2} \text{ an}^{-1}$. La contribution de la fraction organique aux flux atmosphériques totaux en N et P est respectivement de 40% et 25%. La fraction labile du dépôt atmosphérique en phosphate organique soluble (LSOP) a également été quantifiée au cours de la période d'étude et a montré une importante variabilité, allant de 0 à 97%. La quantification couplée des réservoirs de carbone organique dissous (DOC), d'azote organique dissous (DON) et DOP a permis, au cours de cette période de stratification, de contraindre un rapport C:N:P de 1360:102:1. La contribution du dépôt atmosphérique au réservoir de DOC, DON et DOP au niveau de la couche de mélange de surface pendant la période de stratification a été estimée faible pour C (3%), P (4.5%) et modéré pour N (12%). Les flux atmosphériques de LSOP ont contribué pour 7% au réservoir de LDOP de surface et peuvent soutenir jusqu'à 8% de la demande en phosphate des bactéries hétérotrophes au niveau de la SML en Méditerranée Nord Occidentale. (3) La biodisponibilité de la matière organique atmosphérique a été étudiée expérimentalement. Ainsi, la DOM contenue dans une eau de pluie ayant une signature désertique peut à elle seule soutenir l'activité des bactéries hétérotrophes marines, avec une quantité de carbone labile de 29%. La fraction labile du carbone contenue dans les aérosols désertiques et anthropiques est également importante, $26 \pm 2\%$ et $15 \pm 5\%$, respectivement. L'efficacité de croissance bactérienne a été plus importante en réponse à un enrichissement en aérosols désertiques ($13 \pm 4\%$) qu'en aérosols anthropiques ($2 \pm 1\%$), suggérant des différences dans la réponse métabolique des bactéries hétérotrophes suivant la source de carbone.

Les résultats issus de cette thèse soulignent le caractère non négligeable du dépôt atmosphérique en matière organique et le rôle déterminant que ces dépôts peuvent avoir dans le cycle de la matière organique dissoute océanique, particulièrement dans les régions oligotrophes.

Mots clés : dépôt atmosphérique ; matière organique dissoute ; rapports C:N:P ; nutriments ; mer Méditerranée ; biodisponibilité.

Abstract

Establishing a link between atmospheric deposition and the dissolved organic matter (DOM) pool in the Mediterranean Sea, is currently hampered by: (1) a poor knowledge on the surface dissolved phosphate pool, mainly due to low concentrations of dissolved inorganic phosphate (DIP), (2) a critical lack of data on atmospheric fluxes of organic C, N and P and (3) the lack of information on their bioavailability. This PhD thesis aimed at filling these gaps. (1) Relying upon a sensitive determination of DIP, the coverage of the valid dissolved organic phosphate (DOP) data in the Mediterranean Sea was enhanced up to 70% both on a spatial and temporal scale, revealing a vertical pattern in the dissolved phosphate biogeochemistry in surface waters. Indeed, during two cruises that took place during the stratification period, a positive nano-molar gradient of DIP and a potential use of DOP were revealed in subsurface waters. During a stratification period from April to September 2015, an accumulation of the DOP pool was revealed in the surface mixed layer (SML) with a contribution of the labile pool of DOP (LDOP) of $27 \pm 19\%$. (2) Atmospheric fluxes of soluble organic carbon (SOC), nitrogen (SON) and phosphate (SOP) were quantified and were $59 \text{ mmol C m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$, $16.4 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ and $23.6 \text{ } \mu\text{mol P m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$, respectively. The contribution of the organic fraction to the total atmospheric fluxes of N and P was of 40% and 25%, respectively. The labile fraction of atmospheric deposition of organic phosphate (LSOP) was also quantified during the study period and showed a wide variability, ranging from 0 to 97%. Coupled quantifications of dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON) and DOP, during this stratification period, allowed to constrain a C:N:P ratio of 1,360:102:1. The contribution of atmospheric deposition to the DOC, DON and DOP pools in the SML during the stratification period was low for C (3%), P (4.5%) and moderate for N (12%). The atmospheric fluxes of LSOP contributed by 7% to the surface LDOP pool and could support up to 8% of the phosphate demand of heterotrophic bacteria at the SML in the NW Mediterranean Sea. (3) The bioavailability of atmospheric organic matter was experimentally assessed. Dissolved organic matter contained in a Saharan rainwater could support the activity of marine heterotrophic bacteria, with an amount of labile carbon of 29%. The labile fraction of carbon contained in desert dust and anthropogenic aerosols was also substantial, $26 \pm 2\%$ and $15 \pm 5\%$, respectively. The bacterial growth efficiency was higher in response to desert dust aerosols addition ($13 \pm 4\%$) than that of anthropogenic aerosols ($2 \pm 1\%$), suggesting differences in the metabolic response of heterotrophic bacteria depending on the carbon source.

The results obtained from this PhD thesis emphasize the non-negligible character of atmospheric deposition of organic matter and highlight the key role that this external source could have on the oceanic dissolved organic matter cycle, particularly in the oligotrophic regions.

Key words: Atmospheric deposition; dissolved organic matter; C:N:P ratios; nutrients; Mediterranean Sea; bioavailability.

Remerciements

Cette thèse a été réalisée à l'Institut Méditerranéen d'Océanologie de Marseille au sein de l'équipe CYBELE. Je tiens à remercier le directeur du MIO, Richard Sempéré et le directeur de l'OSU Pythéas, Bruno Hamelin pour m'avoir permis de réaliser ce travail au sein de leurs structures respectives. Un grand merci à l'ensemble de l'équipe administrative avec des remerciements particuliers à Dominique Estival et à Aurélia Lozingot pour leur précieuse aide dans mes démarches administratives.

*J'adresse mes sincères remerciements aux membres du jury de m'avoir fait l'honneur d'examiner mon travail de thèse : Maria Kanakidou, Téléphore Sime-
Ngando, Pascal Conan et Thierry Moutin.*

Je tiens à exprimer toute ma gratitude envers mes encadrantes Elvira Pulido-Villena et France Van Wambeke, pour la qualité de leur encadrement, leur présence indéniable et leur investissement personnel dans ce travail de recherche.

Je remercie Chiarra Santinelli, Karine Desboeufs et Bernard Queguiner pour avoir fait partie de mon comité de thèse et pour leur judicieux conseils.

Cette thèse n'aurait pas pu aboutir sans l'aide des personnes qui m'ont accompagné tout au long de ces trois années, je tiens donc à les remercier chaleureusement. Je pense en particulier à Dominique Lefèvre, Patrick Raimbault, Emilie Pasero, Aude Barani, Sandra Helias-Nunige. J'adresse un remerciement particulier à Michel Fournier, avec qui j'ai eu le plaisir d'effectuer mes petites balades aux Frioul, pour son aide précieuse lors de la mise en place du collecteur de dépôt atmosphérique et pour sa joyeuse compagnie. Je remercie également l'ensemble des équipages des navires océanographiques le Suroit et le Thetys II, avec des remerciements particuliers à Nagib Bhairy et Joris Guittonneau, pour leur précieuse aide en mer.

Je remercie chaleureusement Amel Nouara, mon amie coup de cœur de cette aventure. Merci d'avoir été là à mes moments de doute.

Merci également à Hutch pour son affection et les nombreuses balades.

Je ne saurai oublier mon petit Alain. Merci pour ton soutien indéfectible à tout épreuve et tes bons petits plats.

Je voudrai par-dessus tout exprimer toute mon affection à ma petite famille, mes sœurs Lilia et Lynda, mon frère Koceila et surtout mes parents qui sans leurs précieux encouragements et leur présence permanente malgré la distance m'ont aidé à parcourir ce petit bout de chemin.

Ce projet de thèse n'aurait pas été possible sans le soutien financier du labex OT-Med que j'en remercie.

Table des matières

I. Introduction générale 1

I.1. Cycle océanique du carbone	1
I.2. Facteurs contrôlant la production biologique de carbone organique dans l'océan	3
I.3. Le dépôt atmosphérique : une source de nutriments à l'océan	8
I.4. Réservoir de matière organique dissoute	12
I.4.1. Rôle biogéochimique de la matière organique dissoute	13
I.4.2. Le rapport C:N:P du réservoir de matière organique dissoute	19
I.4.3. Sources de la matière organique dissoute.....	21
I.5. La Mer Méditerranée	23
I.5.1. Biogéochimie de la mer Méditerranée.....	23
I.5.2. Dépôt atmosphérique en mer Méditerranée.....	25
6. Objectifs de la thèse.....	28
I.7. Cadre programmatique de la thèse.....	30

II. Matériel et Méthodes32

II.1. Sites d'étude	32
II.2. Techniques de prélèvement	34
II.2.1. Prélèvements marins	34
II.2.2. Prélèvements atmosphériques.....	36
II.3. Approche expérimentale	38
II.3.1. Biodégradabilité de la matière organique soluble contenue dans une pluie ayant une signature désertique.....	38
II.3.2. Biodisponibilité de la matière organique soluble contenue dans des aérosols désertiques et anthropiques.	40
II.4. Techniques de mesure et protocoles d'analyse	45
II.4.1. Paramètres hydrologiques.....	45
II.4.2. Carbone organique dissous.....	46
II.4.3. Analyse de l'azote et du phosphate dissous	47
II.4.4. Abondance bactérienne	56
II.4.5. Respiration bactérienne.....	56

II.4.6. Production bactérienne.....	58
II.5. Traitement des données	59

Chapitre III. Détermination sensible du réservoir de surface de phosphate dissous pour une meilleure résolution de sa variabilité verticale : cas de la mer Méditerranée..... 61

III.1. Introduction.....	62
III.2. Quantification du phosphate organique dissous : comparaison de deux méthodes d'oxydation : oxydation humide <i>versus</i> digestion UV.....	63
III.3. Résumé.....	66
III.4. Article: Sensitive determination of the dissolved phosphate pool for an improved resolution of its vertical variability: New views in the P-depleted Mediterranean upper waters.....	67
Abstract	68
Introduction	69
Materials and methods.....	70
Study area and sampling	70
Dissolved nutrients analysis	73
Calculations.....	74
Results	74
Dissolved phosphate pools	74
N:P molar ratios in the upper Mediterranean Sea	77
Discussion.....	79
N:P ratios	82
Conclusion	83
Acknowledgments	83
III.5. Conclusion.....	88

Chapitre IV : Flux atmosphériques de carbone, azote et phosphate organique dissous en mer Méditerranée : potentielles implications biogéochimiques au niveau des eaux de surface..... 88

IV.1. Introduction.....	89
IV.2. Résumé	91

IV.3. Article 2: Atmospheric fluxes of soluble organic C, N, and P to the Mediterranean Sea: potential biogeochemical implications in the surface layer	92
Abstract	93
Introduction	94
Material and Methods	96
Atmospheric deposition sampling.....	96
Seawater sampling.....	97
Analytical methods	98
Experimental assessment of atmospheric SOC bioavailability.....	100
Calculations.....	101
Results	102
Atmospheric fluxes of soluble organic matter (SOM).....	102
Bioavailability of soluble organic phosphate and carbon in atmospheric deposition.....	104
Dissolved organic matter (DOM) and heterotrophic prokaryotes in the surface layer.....	104
Discussion.....	108
Atmospheric fluxes	108
Marine dissolved organic matter.....	110
Elemental ratios in both atmospheric SOM and marine DOM	111
Potential biogeochemical implications of atmospheric fluxes of SOM	112
Concluding Remarks	116
Acknowledgments	116
Supplementary figures	117
IV.4. Conclusion	123

Chapitre V. Évidences expérimentales de la biodisponibilité potentielle de la matière organique contenue dans des aérosols sahariens et anthropiques pour les bactéries hétérotrophes marines 123

V.1. Introduction	124
V.2. Résumé.....	125
V.3. Article 3. Experimental evidence of the potential bioavailability for marine heterotrophic bacteria of organic matter from Saharan and anthropogenic aerosols	126
Abstract	127

Introduction	128
Material and Methods	129
Aerosol sampling	129
Experimental design	130
Subsampling and technical analysis	131
Calculations.....	132
Results	133
Organic carbon in aerosols.....	133
Changes in bacterial production and abundance	133
Dissolved organic carbon	137
Dissolved organic nitrogen and phosphate	139
Discussion.....	140
Conclusion	142
V.4. Conclusion.....	144
 VI. Synthèse et conclusions générales	145
 Références bibliographiques.....	151
 Annexe	180

Liste des acronymes

BA : abondance bactérienne (*bacterial abundance*)
BB : biomasse bactérienne (*bacterial biomass*)
BCD : demande carbonée des bactéries (*bacterial carbon demand*)
BGE : efficacité de croissance bactérienne (*bacterial growth efficiency*)
BP : production bactérienne (*bacterial production*)
CR : respiration communautaire (*community respiration*)
DCM : maximum profond de chlorophylle (*deep chlorophyll maximum*)
DIC : carbone inorganique dissous (*dissolved inorganic carbon*)
DIN : azote inorganique dissous (*dissolved inorganic nitrogen*)
DIP : phosphate inorganique dissous (*dissolved inorganic phosphate*)
DOC : carbone organique dissous (*dissolved organic carbon*)
DOM : matière organique dissoute (*dissolved organic matter*)
DON : azote organique dissous (*dissolved organic nitrogen*)
DOP : phosphate organique dissous (*dissolved organic phosphate*)
GPP : production primaire brute (pour *gross primary production*)
HDPE : Polyéthylène haute densité (*high density polyethylene*)
LDOC : carbone organique dissous labile (*labile dissolved organic carbon*)
LDOP : phosphate organique dissous labile (*labile dissolved organic phosphate*)
MCP : pompe microbienne de carbone (*microbial carbon pump*)
MLD : profondeur de la couche de mélange (*mixed layer depth*)
POC : carbone organique particulaire (*particulate organic carbon*)
POM : matière organique particulaire (*particulate organic matter*)
RDOC : carbone organique dissous réfractaire (*refractory dissolved organic carbon*)
SLDOC : carbone organique dissous semi-labile (*semi-labile dissolved organic carbon*)
SML : couche de mélange de surface (*surface mixed layer*)
SNP : phosphate soluble non réactif (*soluble non reactive phosphate*)
SRDOC : carbone organique dissous semi-réfractaire (*semi refractory dissolved organic carbon*)
SRP : phosphate soluble réactif (*soluble reactive phosphate*)
TDN : azote total dissous (*total dissolved nitrogen*)
TDP : phosphate dissous total (*total dissolved phosphate*)
URDOC : carbone organique dissous ultra-réfractaire (*ultra refractory dissolved organic carbon*)

Liste des figures

Chapitre I : Introduction Générale

Figure I. 1: Champ moyen annuel de la production primaire totale du phytoplancton [g C m ⁻² an ⁻¹] dans la zone euphotique de l'océan global obtenu par Longhurst et al., (1995).	3
Figure I. 2: Concentrations annuelles en nitrate et phosphate, exprimées en µM, au niveau des eaux de surface de l'océan global. Les données sont issues du NOAA World Ocean Atlas 2013 (https://www.nodc.noaa.gov/OC5/woa13fv2).	5
Figure I. 3: Rapports N:P à l'échelle de l'océan global, ensemble des données des campagnes GEOSECS (Gruber, 2008).	6
Figure I. 4: Dépôt atmosphérique moyen de poussières désertiques exprimé en g m ⁻² an ⁻¹ (Jickells et al., 2005).	9
Figure I. 5: Nombre d'observations en carbone organique dissous (DOC), azote organique dissous (DON) et phosphate organique dissous (DOP) au niveau de l'océan global (tiré de Letscher and Moore, 2015).	13
Figure I. 6: Distribution verticale de carbone organique dissous (DOC) suivant son degré de réactivité : carbone organique dissous semi-labile (SLDOC), carbone organique dissous semi réfractaire (SRDOC) et carbone organique dissous réfractaire (RDOC) (adapté de Hansell et al., 2013).	18
Figure I. 7: Schéma représentatif de la circulation thermohaline en mer Méditerranée (Gogou et al., 2014).	24
Figure I. 8: Schéma représentatif de l'évolution saisonnière de la matière organique dissoute de surface. POM se réfère à la matière organique particulaire, DOM se réfère à la matière organique dissoute, SLDOC se réfère au carbone organique dissous labile, DON se réfère à l'azote organique dissous, DOP se réfère au phosphate organique dissous, DOC se réfère au carbone organique dissous et le POC se réfère au carbone organique particulaire. La courbe rouge schématise le profil de température durant la période de stratification.	25
Figure I. 9: A. Apports en poussière d'origine anthropiques et désertiques depuis l'Europe et les régions arides de l'Afrique du nord, respectivement. B. Image satellite d'un transport de poussières sahariennes en Méditerranée Nord Occidentale.	26

Chapitre II. Matériel et Méthodes

Figure II. 1: Stations prélevées durant les campagnes MOOSE-GE (10-26 Juillet 2015, cercles) et BioArgoMed (16-31 Mai 2015, triangles).	32
Figure II. 2: Stations fixes d'observation des flux atmosphériques de matière organique dissoute (île du Frioul) et des stocks océaniques de matière organique dissoute (MOOSE-Antares). B. Collecteur de dépôt atmosphérique total mis en place sur l'île Frioul, au niveau du sémaphore à hauteur de 2 m par rapport au sol.....	34
Figure II. 3: Schéma représentant les profondeurs de prélèvement lors de la campagne MOOSE- GE, choisies à partir des profils d'anomalie de densité (courbe noire en trait plein) et de fluorescence (courbe verte en tiretés). La ligne noire horizontale en tiretés représente la profondeur de la couche de mélange (MLD).....	35
Figure II. 4: Représentation schématique de l'expérience visant à étudier la biodégradabilité du DOC contenu dans une pluie saharienne.	39
Figure II. 5: Représentation schématique de l'expérience visant à étudier la biodisponibilité de la SOM de différentes origines. (C) représente le traitement contrôle, (G) le traitement glucose, (D) le traitement en aérosols désertiques et le traitement en aérosols anthropiques.....	42
Figure II. 6: Photo représentant l'analyse nanomolaire du phosphate à l'aide du Liquid Waveguide Capillary Cell (LWCC).	50
Figure II. 7: (A) Droite de régression pour des solutions étalons préparées dans de l'eau de mer (couleur bleue) et dans de l'eau ultrapure (couleur noire). (B). Figure regroupant les courbes d'étalonnages obtenues dans le cadre de cette thèse (n =43).	52
Figure II. 8: Absorbance en fonction de la concentration du phosphate inorganique dissous.....	52
Figure II. 9: Cinétique temps d'hydrolyse enzymatique en présence de phosphatase alcaline (AP) d'une concentration saturante en glucose phosphate à 1 000 nM, la ligne verticale correspond à un pas de temps égal à 3 heures.	55
Figure II. 10: Rétro-trajectoire des masses d'air calculées, à partir du modèle Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectories (HYSPLIT), le 02-04-2016 au niveau du site Frioul (site de prélèvement atmosphérique), à des altitudes de 3 000 m (courbe verte), 1000 m (courbe bleue) et 500 m (courbe rouge).	59

Figure II. 11: Rétro-trajectoires des masses d'air calculées, à partir du modèle Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectories (HYSPLIT), aux dates de prélèvements atmosphériques au site Frioul à des altitudes de 3 000 m (courbe verte), 1 000 m (courbe bleue) et 500 m (courbe rouge).....61

Chapitre III : Détermination sensible du réservoir de phosphate dissous pour une meilleure résolution de sa variabilité verticale : cas de la mer Méditerranée

Figure III. 1: Comparaison des profils verticaux de phosphate organique dissous (DOP) obtenus après digestion UV (gauche) et oxydation humide (droite)..... 64

Figure III. 2: Station locations in the North Western Mediterranean Sea (MOOSE-GE cruise: 10 - 26 July-2015, circles) and along an E-W transect (BioArgoMed cruise: 16 - 31 May-2015, triangles).....71

Figure III. 3: Schematic representation of the sampling depth determination in the NWMS, basing on both density and fluorescence depth profiles. The vertical profiles of density and fluorescence were schematized by the black plot and the dashed green plot, respectively..... 73

Figure III. 4: Dissolved inorganic phosphate (DIP) concentration between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The black plot represents the mean profile of DIP concentration and the bounded line the standard deviation from the mean. The blue dashed line corresponds to the limit of detection (LOD) of the conventional automated colorimetric procedure (20 nM). The green plot represents the fluorescence profile (mean $\pm$ standard of deviation). 75

Figure III. 5: Dissolved organic phosphate (DOP) concentration in the North Western Mediterranean Sea (circles) and Along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The black plot represents the mean depth profile of DOP concentrations and the bounded line the deviation from the mean. The green plot represents the fluorescence profile (mean $\pm$ standard of deviation).....77

Figure III. 6: DIN:DIP molar ratios between the surface and 100 m in the NWMS (circles) and DIN:DIP ratios between the surface and 120 m along the E-W transect (triangles). The black plot represents the mean depth profile of the DIN:DIP ratio,

the bounded line the standard deviation from the mean and the dark vertical line the Redfield molar ratio of 16:1.	78
Figure III. 7: DON:DOP ratios between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles). DON:DOP molar ratios between the surface and 120 m along the E-W transect (triangles) crossing Ionian and Tyrrhenian seas. The black plot represents the mean depth profile of the DON:DOP ratio, the bounded line the standard deviation from the mean and the black vertical line the Redfield molar ratio of 16:1.	79

Figure III.S. 1: Individual vertical profiles of dissolved inorganic phosphate (DIP) between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The green plots represent the fluorescence profiles. The horizontal lines represent the mixed layer depth (MLD, dashed lines) and the phosphacline depth (full line), respectively. For DIP, the symbol '+' indicates DIP depth profiles where an increase in DIP concentrations was observed in the layers between the MLD and the deep chlorophyll maximum (DCM) depth and between the DCM depth and 100 m.....	84
---	----

Figure III.S. 2 : Individual vertical profiles of dissolved organic phosphate (DOP) between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The green plots represent the fluorescence profiles. The horizontal dashed lines represent the mixed layer depth (MLD). The letters a, b, and c discriminate the three types of DOP profiles as described in the text. (a) DOP decrease between the MLD and the deep chlorophyll maximum (DCM) depth. (b) Slight decrease of DOP with depth and (c) slight increase of DOP with depths.	85
---	----

Figure III.S. 3: Individual vertical profiles of the DIN:DIP molar ratio between the surface and 100 in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The green plots represent the fluorescence profiles. The vertical full lines represent the Redfield N:P molar ratio of 16:1. The symbol '+' indicates	
---	--

profiles in which an increase of the DIN:DIP ratio was observed at the deep chlorophyll maximum.....	86
Figure III.S. 4: Individual vertical profiles of the DON:DOP molar ratio between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The green plots represent the fluorescence profiles. The vertical full lines represent the Redfield N:P molar ratio of 16:1. The symbol '+' indicates profiles in which an increase of the DON:DOP ratio was observed at the deep chlorophyll maximum.....	87

Chapitre IV : Rôle des flux atmosphériques en carbone, azote et phosphate en mer Méditerranée : Potentielles implications biogéochimiques au niveau des eaux de surface

Figure IV. 1: Location of the sampling sites: atmospheric deposition at the Frioul Island and sea water sampling at the ANTARES site. Both sampling sites are included in the MOOSE observation network (http://www.moose-network.fr/).....	98
Figure IV. 2: Temporal evolution of atmospheric fluxes ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ day}^{-1}$) of soluble organic carbon (SOC; panel A), total soluble and soluble organic nitrogen (TSN, SON; panel B), total soluble, soluble organic and labile soluble organic phosphate (TSP, SOP, LSOP; panel C), for each 2-week sample collected at the Frioul Island between March 2015 and July 2016. Arrows point to rain events higher than 30 mm. The vertical line differentiates the year 2015 from the year 2016.....	103
Figure IV. 3: Integrated inventories of dissolved organic carbon (DOC; panel A), dissolved organic nitrogen (DON; panel B), dissolved organic phosphate and labile dissolved organic phosphate (DOP and LDOP; panel C) in the surface mixed layer over the study period. The vertical line differentiates the year 2015 from the year 2016.....	106
Figure IV. 4: C:N (panel A), C:P (panel B) and N:P (panel C) molar ratios of soluble organic matter in atmospheric deposition (line with squares) and of marine dissolved organic matter between the surface and 200 m depth (box plots: the central mark represents represents the mean value for all depths, the edges of the box are the 25th and 75th percentiles, the whiskers extend data points to the minimum and the maximum, and the outliers are plotted individually).....	108

Figure IV.S 1: Dissolved organic carbon (DOC) vertical depth profiles between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.....	117
Figure IV.S 2: Dissolved organic nitrogen (DON) vertical depth profiles between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.....	118
Figure IV.S 3: Dissolved organic phosphate (DOP) and labile dissolved organic phosphate (LDOP) vertical depth profiles between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.	119
Figure IV.S 4: Soluble reactive phosphate (SRP) and dissolved inorganic nitrogen (DIN) vertical depth profiles between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.	120
Figure IV.S 5: Heterotrophic prokaryotic abundance (HPA) and community respiration (CR) between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.	121
Figure IV.S 6: Heterotrophic prokaryotic production (HPP) between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.	122

Chapitre V. Évidences expérimentales de la biodisponibilité potentielle de la matière organique contenue dans des aérosols sahariens et anthropiques pour les bactéries hétérotrophes marines

Figure V. 1 : Bacterial abundance (BA) and bacterial production (BP) in the glucose (green plot), anthropogenic (gray plot) and dust (orange plot) amended treatments over the incubation period. The control treatment is represented by the blue plot (blue points correspond to the average value among the triplicates and the bounded line the standard deviation).	136
Figure V. 2 : Dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic phosphate (DOP) in the glucose (green plot), the anthropogenic (grey plot) and the dust (orange plot) amended treatments. The control treatment is represented by the blue plot (blue points correspond to the average value among the triplicates and the bounded line the standard deviation).	138

Liste des tableaux

Chapitre I : Introduction Générale

Tableau I. 1: Dépôt atmosphérique en nutriments à l'échelle de l'océan global et aux différents océans exprimés en Tg an ⁻¹	9
Tableau I. 2 : Stœchiométrie de la matière organique dissoute au niveau des eaux de surface.	20

Chapitre II. Matériel et Méthodes

Tableau II. 1: Concentrations en DOC, DIP, TDP, DIN et TDN obtenues après analyse des blancs de prélèvement atmosphériques. Les pourcentages de contribution aux plus faibles concentrations mesurées sont présentés entre parenthèses.	38
Tableau II. 2: Volumes prélevés et pas de temps de prélèvements effectués pour l'analyse de DOC, BA et BP lors de l'étude de la biodisponibilité du DOC contenu dans une pluie ayant une signature saharienne.	39
Tableau II. 3: Concentration en DOC, BA et BP dans l'inoculum.	40
Tableau II. 4: Récapitulatif des dates de collecte des aérosols désertiques et anthropiques, de la durée de la collecte, du débit moyen de l'échantillonneur et de la masse d'aérosols collectée.	41
Tableau II. 5 : Quantité de carbone organique dissous (DOC) contenu dans les filtres désertiques et anthropiques et pourcentage de solubilité obtenue en divisant le DOC sur la carbone organique total (TOC) contenu dans chaque filtre.	43
Tableau II. 6: Concentration en DOC, BA et BP dans l'inoculum.	44
Tableau II. 7: Volumes prélevés et temps de prélèvements effectués pour l'analyse du DOC, DON, DOP, BA et BP au cours de l'étude de la biodisponibilité d'un aérosol désertique et anthropique.	44
Tableau II. 8: Récapitulatif des différents paramètres analysés, instruments utilisés, et personnes en charge des analyses.	46

Chapitre IV : Rôle des flux atmosphériques en carbone, azote et phosphate en mer Méditerranée : Potentielles implications biogéochimiques au niveau des eaux de surface

Tableau IV. 1 : Annual atmospheric fluxes of soluble organic carbon (SOC), soluble organic nitrogen (SON) and soluble organic phosphate (SOP) extrapolated to the western Mediterranean basin compared to dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic phosphate (DOP) fluxes from the Rhône River and net inputs from Sicily and Gibraltar straits.	113
Tableau IV. 2: Depth-integrated inventories (means $\pm$ standard deviation) within the surface mixed layer calculated between April and October 2015 (mmol m ⁻²). DOM-related inventories: DOC: dissolved organic carbon, DON: dissolved organic nitrogen, DOP: dissolved organic phosphate, LDOP: labile dissolved organic phosphate. Biological activity-related inventories: HPA: heterotrophic prokaryotic abundance, HPP: heterotrophic prokaryotic production, HPR: heterotrophic prokaryotic respiration, HPPD: Heterotrophic prokaryotic phosphate demand. Details on the estimation of HPR and HPPD can be found on the text (sections 2.3 and 2.5, respectively).	114
Tableau IV. 3: Cumulative integration of atmospheric fluxes (mmol m ⁻²) and molar ratios of soluble organic matter (SOM) for the period between April-02 and October-29 (2015). SOC: soluble organic carbon, SON: soluble organic nitrogen, SOP: soluble organic phosphate, LSOP: labile soluble organic phosphate. Contributions (%) of atmospheric fluxes of SOM to marine surface pool of dissolved organic matter (DOM) and to heterotrophic prokaryotic C and P demand in the mixed layer depth during that period.	115

Chapitre V. Évidences expérimentales de la biodisponibilité potentielle de la matière organique contenue dans des aérosols sahariens et anthropiques pour les bactéries hétérotrophes marines

Tableau V. 1: Summary of the amount of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC) per aerosols mass contained in both anthropogenic and dust aerosols. The solubility of organic carbon was obtained by dividing the amount of TOC on that of DOC for both anthropogenic and dust aerosols.	133
---	-----

Tableau V. 2 : Bacterial abundance (μ BA) and bacterial production (μ BP) growth rates during the exponential growth phase.....	135
Tableau V. 3 : Summary of data related to the decrease in dissolved organic concentration (DOC) and the corresponding labile dissolved organic carbon, integrated bacterial production (BP) and the corresponding bacterial growth efficiency (BGE BP).....	139

Annexe

Annexe.1. Figure. 1: Courbes d'étalonnage individuelles tracées dans le cadre de cette thèse, l'absorbance à 710 nM est représentée sur l'axe des ordonnées et la concentration de phosphate inorganique dissous (DIP) nano-molaire sur l'axe des abscisses.	182
---	-----

Chapitre I : Introduction Générale

Sommaire

I.1. Cycle océanique du carbone	1
I.2. Facteurs contrôlant la production biologique de carbone organique dans l'océan	3
I.3. Le dépôt atmosphérique : une source de nutriments à l'océan	8
I.4. Réservoir de matière organique dissoute	12
I.4.1. Rôle biogéochimique de la matière organique dissoute	13
I.4.2. Le rapport C:N:P du réservoir de matière organique dissoute	19
I.4.3. Sources de la matière organique dissoute	21
I.5. La Mer Méditerranée	23
I.5.1. Biogéochimie de la mer Méditerranée	23
I.5.2. Dépôt atmosphérique en mer Méditerranée	25
6. Objectifs de la thèse	28
I.7. Cadre programmatique de la thèse	30

I. Introduction générale

I.1. Cycle océanique du carbone

Depuis la Révolution industrielle, en raison de l'utilisation massive des combustibles fossiles (charbon, gaz, pétrole), la destruction des forêts tropicales et l'intensification des activités industrielles et agricoles, les quantités de gaz à effet de serre et autres polluants inorganiques et organiques présents dans l'atmosphère n'ont pas cessé d'augmenter (Galloway *et al.*, 2004 ; IPCC, 2014). L'effet de serre est un phénomène naturel par lequel les gaz et la vapeur d'eau présents dans l'atmosphère absorbent une partie du rayonnement infrarouge réémis par la terre, permettant le maintien de la température moyenne de la planète à 15°C (au lieu de -18°C). Seulement, l'émission croissante de gaz tels que le dioxyde de carbone (CO₂), le méthane (CH₄) ou bien le protoxyde d'azote (N₂O) accentue cet effet de serre naturel en exerçant un forçage radiatif positif sur le climat, aboutissant à une augmentation de la température de la planète et donc à un réchauffement climatique. Ces émissions anthropiques alimentent les échanges qui s'opèrent naturellement entre l'atmosphère, l'océan et la biosphère terrestre perturbant les flux entre ces trois compartiments, avec des conséquences non des moindres sur les cycles des éléments biogéochimiques et sur les écosystèmes terrestres et océaniques.

L'océan occupe 70% de la surface de la planète et apparaît comme un réceptacle majeur à ces différentes émissions anthropiques. En effet, l'océan joue un rôle crucial dans la régulation du climat puisqu'il absorbe 1/3 des émissions anthropiques de CO₂ (Takahashi *et al.*, 2002 ; Sabine *et al.*, 2004), le CO₂ étant le gaz ayant la contribution majeure à l'effet de serre (Bigg, 2003). Cette absorption est rendue possible grâce à l'activité de trois pompes océaniques : (1) la pompe physique, (2) la pompe des carbonates et (3) la pompe biologique (Sarmiento and Gruber, 2006). Ces trois pompes induisent un export des stocks de surface en carbone inorganique dissous (DIC, pour *dissolved inorganic carbon*), favorisant un gradient de diffusion atmosphère-océan du CO₂ anthropique.

- **La pompe physique de carbone**

La pompe physique de carbone, également appelée pompe de solubilité, est régie par l'équilibre thermodynamique du CO₂ à l'interface air-mer. Elle résulte principalement de la solubilité du CO₂ atmosphérique au niveau de la couche de surface de l'océan et de son export vers les profondeurs suite à des mécanismes de convection

profonde (mélange vertical et/ou formation d'eau profonde). La solubilisation du CO_2 atmosphérique au niveau des eaux de surface dépend principalement de la température de l'océan de surface et dans une moindre mesure de la salinité. En effet, étant inversement proportionnelle à la température, la solubilité du CO_2 présente une contribution importante à l'export de carbone au niveau des hautes latitudes (exemple : Atlantique Nord et océan Austral), où les eaux froides et denses enrichies en CO_2 sont advectées au fond des océans (Sarmiento and Gruber, 2006).

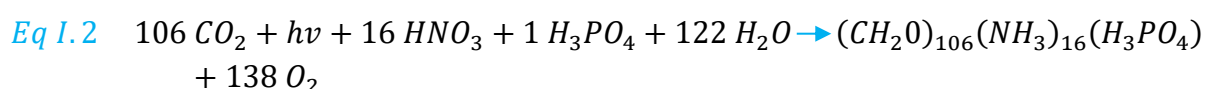
- **La pompe des carbonates**

La pompe des carbonates induit une précipitation biologique du carbonate de calcium (CaCO_3 , Eq I.1) au niveau des eaux de surface, maintenant un gradient de diffusion de CO_2 atmosphère-océan (Sarmiento *et al.*, 2002).



- **La pompe biologique de carbone**

La pompe biologique de carbone est le processus par lequel le carbone organique produit en surface *via* la production primaire est exporté au fond des océans. La production primaire est régie par des organismes photoautotrophes (premier maillon de la chaîne trophique), et consiste en l'assimilation photosynthétique du DIC et en sa conversion en carbone organique particulaire (POC, pour *particulate organic carbon*) et/ou en carbone organique dissous (DOC, pour *dissolved organic carbon*) (Eq I. 2).



La sédimentation de la matière organique particulaire (POM, pour *particulate organic matter*) et le transfert de la matière organique dissoute (DOM, pour *dissolved organic matter*) à travers des processus de diffusion et/ou de convection verticale (formation d'eau profonde et/ou mélange hivernal) injecte le POC et le DOC au fond des océans. Ce transfert de carbone depuis l'océan de surface vers l'océan profond contribue à sa séquestration de manière temporaire (temps équivalent au temps de résidence des masses d'eau) et/ou permanente (enfouissement dans les sédiments marins). Cependant, le long de la colonne d'eau, les réservoirs de POM et DOM sont en partie reminéralisés *via* l'activité microbienne, libérant ainsi du CO_2 vers l'atmosphère à travers les réservoirs de POC et de DOC (Raven and Falkowski, 1999). Récemment,

des études suggèrent que les processus microbiens peuvent être à l'origine d'une production de matière organique dissoute réfractaire (RDOM, pour *refractory dissolved organic matter*), pouvant être séquestrée dans l'océan sur de longues échelles de temps. Ce processus est connu sous le nom de pompe microbienne de carbone (MCP, pour *microbial carbon pump*) (Jiao *et al.*, 2010).

Pendant longtemps, seule la POM était considérée comme vecteur de carbone pour les eaux profondes. En effet, la DOM, du fait de son caractère apparemment 'inerte', a été ignorée dans les différentes études portant sur la modélisation du cycle du carbone. **Aujourd'hui, les conceptions évoluent en considérant l'importance de la DOM particulièrement dans l'océan oligotrophe, autant au niveau des cycles biogéochimiques mais aussi dans les transferts verticaux de carbone (Letscher and Moore, 2015).**

I.2. Facteurs contrôlant la production biologique de carbone organique dans l'océan

La lumière est le premier facteur pouvant contrôler la production biologique de carbone organique. En effet, la lumière étant très rapidement atténuée dans la colonne d'eau, la production primaire ne s'effectue qu'au niveau de la couche euphotique (couche éclairée de l'océan) dont la limite inférieure est définie par la profondeur à laquelle parvient 1% de l'intensité lumineuse de surface. A l'échelle de l'océan global, la production primaire océanique au niveau de cette couche euphotique se concentre au niveau des marges continentales (Berger *et al.*, 1989), avec des taux de productivités variant entre 300 et 800 g C m⁻² an⁻¹ (Figure I. 1).

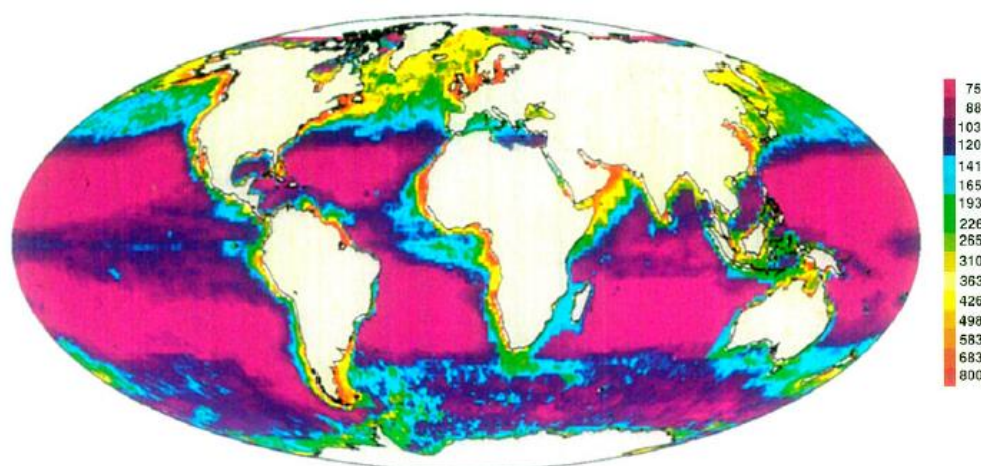


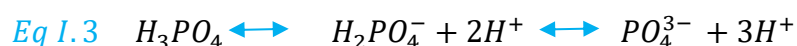
Figure I. 1: Champ moyen annuel de la production primaire totale du phytoplancton [g C m⁻² an⁻¹] dans la zone euphotique de l'océan global obtenu par Longhurst *et al.*, (1995).

Par opposition, dans l'océan ouvert, de vastes déserts océaniques sont observés présentant des taux faibles de production primaire, variant entre 25 et 60 g C m⁻² an⁻¹ (Figure I. 1). Ces régions caractérisent l'océan oligotrophe et occupent 60% de la surface globale (Eppley and Peterson, 1979). En dépit de la biomasse photosynthétique relativement faible de l'océan oligotrophe, de par sa superficie, il assure la moitié de la production primaire globale (Field, 1998).

Outre la lumière, la disponibilité en nutriments tels que l'azote (N) et le phosphore (P) est essentielle à la croissance des organismes au niveau de l'océan de surface (Redfield, 1958).

L'azote est disponible dans le milieu marin sous de multiples formes chimiques : l'azote moléculaire (N₂), le nitrite (NO₂⁻), le nitrate (NO₃⁻), l'ammonium (NH₄⁺) et le protoxyde d'azote (N₂O), présentant différents degrés d'oxydation allant d'un état de valence (-III) à (+V) (Gruber, 2008). A l'exception du N₂, les différentes formes de l'azote constituent l'inventaire océanique en azote fixé, azote biodisponible assurant les fonctions métaboliques et structurales des organismes. Le N₂, est quant à lui la forme chimique la plus abondante, seulement son utilisation est restreinte à un groupe d'organismes spécifiques, les diazotrophes. Les diazotrophes sont des organismes unicellulaires (regroupant essentiellement des cyanobactéries et des procaryotes hétérotrophes), ayant la faculté de convertir le N₂ en azote organique par voie biologique. La dégradation et/ou le broutage subséquent de l'azote organique ainsi produit alimente le réservoir océanique en azote fixé, jouant un rôle primordial dans les régions limitées en azote (Moore *et al.*, 2009 ; Eugster and Gruber, 2012).

Contrairement à l'azote, le phosphore est présent dans le milieu marin essentiellement sous forme d'ions phosphates (Eq I. 3), ayant un degré d'oxydation (+V). Nous utiliserons donc le terme phosphate pour nous référer au phosphore dans la suite du manuscrit. Ces ions phosphates, directement assimilables par les organismes phototrophes, correspondent aux différentes étapes de dissociation de l'acide ortho-phosphorique (H₃PO₄ ; Eq I. 3). Au pH de l'eau de mer, les ions HPO₄²⁻ présentent une contribution majeure (87%) au réservoir de phosphate, suivi des ions PO₄³⁻ (12%) et enfin des ions H₂PO₄²⁻ (1%) (Kester and Pytkowicz, 1967).



A l'échelle de l'océan oligotrophe, les eaux de surface sont sujettes à un appauvrissement en N et P (Figure I. 2) en raison, entre autres, d'une assimilation biologique active (Tyrell, 1999) et d'une importante stratification de la colonne d'eau qui restreint tout approvisionnement en N et P nouveaux depuis les couches profondes riches en nutriments. Alfred Redfield (1934) a été le premier à avoir mis en évidence la co-variation de l'azote et du phosphate dans un rapport moyen de 16 dans l'océan mondial. Ce rapport a depuis été considéré comme principe fondamental en biogéochimie marine. De ce fait, toute déviation du rapport canonical de Redfield renseigne sur la physiologie du phytoplancton (Goldman *et al.*, 1979 ; Quigg *et al.*, 2003), l'efficacité de l'export de carbone (Sigman and Boyle, 2000) et la limitation en nutriments de la production primaire (i.e. Falkowski and Raven, 1979 ; Moore *et al.*, 2013), entre autres.

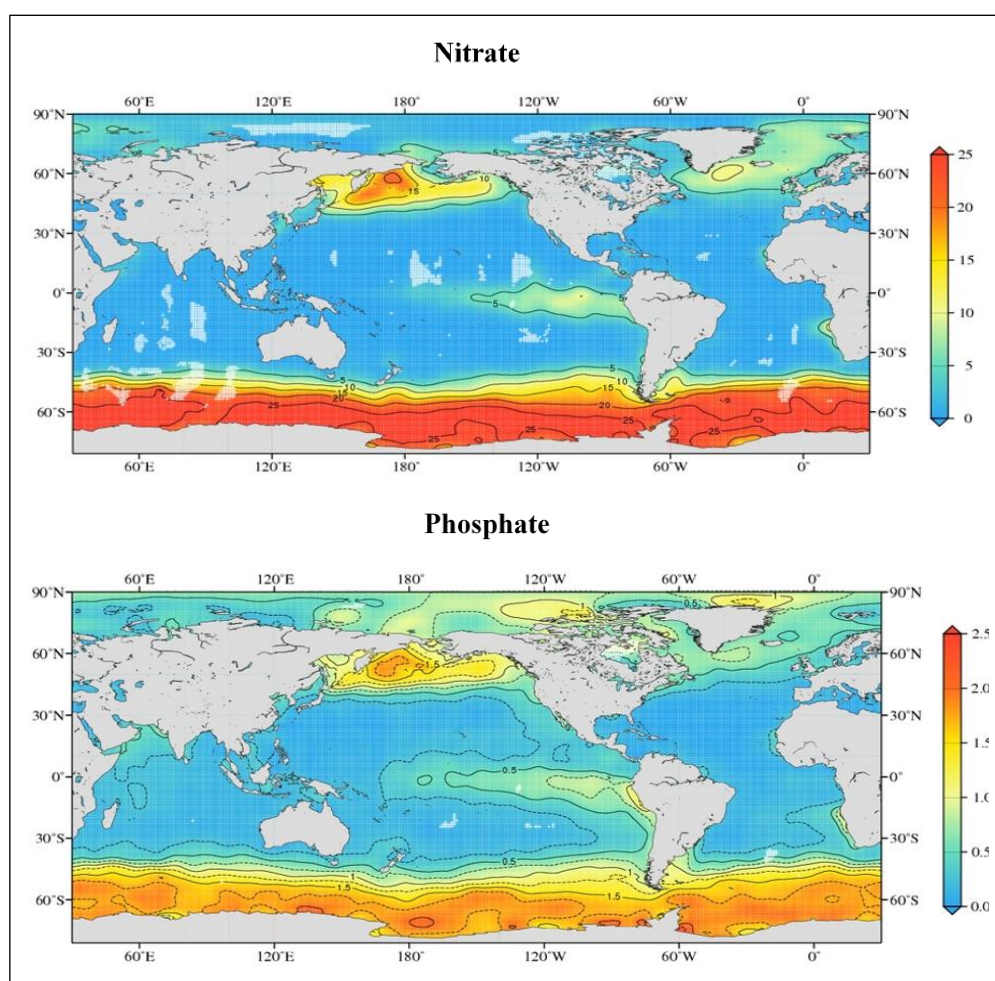


Figure I. 2: Concentrations annuelles en nitrate et phosphate, exprimées en μM , au niveau des eaux de surface de l'océan global. Les données sont issues du NOAA World Ocean Atlas 2013 (<https://www.nodc.noaa.gov/OC5/wao13fv2>).

D'un point de vue biologique, en raison de la tendance globale du rapport N:P à présenter des concentrations nulles en N alors qu'il subsiste un résidu en P (Figure I. 3) dans les eaux de surface, l'azote a été considéré comme élément limitant de la production primaire (Ryther, 1969 ; Ryther and Dunstan, 1971).

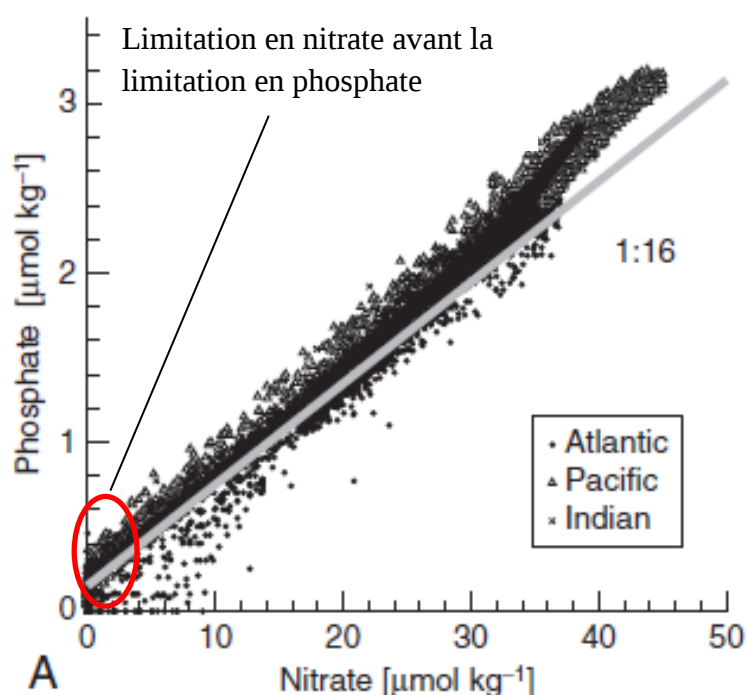


Figure I. 3: Rapports N:P à l'échelle de l'océan global, ensemble des données des campagnes GEOSECS (Gruber, 2008).

Par opposition, d'un point de vue géochimique, le phosphate a été considéré comme l'élément limitant de la production primaire. Ce point de vue est basé sur le potentiel des organismes diazotrophes à apporter de l'azote fixé à l'océan tandis que l'approvisionnement en phosphate dépend exclusivement de sources externes. De ce fait, malgré de faibles concentrations en nitrate pouvant limiter la production océanique localement, il est considéré qu'au niveau de l'océan global et sur de longues échelles de temps, les sources et les puits d'azote se réajustent de manière à maintenir une concentration en nitrate à une valeur relativement constante, valeur essentiellement régulée par la disponibilité en phosphate.

Pour réconcilier ces deux points de vu, Tyrrell (1999) propose deux modèles de limitation en nutriments selon lesquels l'azote et le phosphate exercent un contrôle sur la production primaire dit 'proximate' et 'ultimate', respectivement (Encadré I. 1 : Modèles de limitation en nutriments, tels définie par Tyrrell (1999)). Cependant, dans

certaines régions océaniques tel que l'Atlantique Nord, il est admis aujourd'hui que le phosphate est l'élément limitant 'proximate' de la production primaire (i.e. Wu *et al.*, 2000 ; Ammerman *et al.*, 2003 ; Lomas *et al.*, 2010).

Encadré I. 1 : Modèles de limitation en nutriments, tels définie par Tyrrell (1999)

Un élément limitant dit 'proximate', se réfère à une limitation locale, où le taux de croissance est limité par la seule disponibilité de l'élément en question, donc un simple enrichissement par l'élément limitant peut induire une augmentation de la productivité.

Un élément limitant dit 'ultime', se réfère à une limitation dont l'apport de l'élément en question exerce un forçage sur la totalité du système productif et ce sur de longues échelles de temps.

Dans ces régions appauvries en P, la quantification des concentrations en cet élément est rendue difficile puisqu'elles se situent à niveau nano-molaire, difficilement quantifiable *via* l'utilisation des méthodes de mesure classiques. Récemment, des méthodes d'analyses plus sensibles ont été introduites pour améliorer les mesures environnementales du P (revue des méthodes dans : Patey *et al.*, 2008 ; Ma *et al.*, 2014). A l'aide de ces dernières, des études révèlent que les concentrations en P se situent à un niveau nano-molaire sur environ 40% de l'océan global de surface (Patey *et al.*, 2008). Cependant, malgré les efforts consentis, très peu de données nano-molaires sont disponibles à ce jour. Ces dernières ont été mesurées principalement dans le gyre subtropical de l'Atlantique Nord (Wu *et al.*, 2000 ; Ammerman *et al.*, 2003 ; Lomas *et al.*, 2010), dans le gyre subtropical du Pacifique Nord (Karl *et al.*, 2001 et références y figurant ; Suzumura *et al.*, 2012), dans l'océan pacifique tropical (Moutin *et al.*, 2008) et en mer Méditerranée (Pulido-Villena *et al.*, 2010).

Dans d'autres régions océaniques, l'azote et le phosphate limitent simultanément la production primaire (Eppley *et al.*, 1973). Cette limitation peut également varier saisonnièrement en passant d'une limitation en azote à une limitation en phosphate (D'Elia *et al.*, 1986).

Outre la limitation en azote et/ou phosphate, une limitation de la production biologique de carbone par d'autres éléments, en particulier les micronutriments, peut également avoir lieu. En effet, depuis les expériences de fertilisation en fer initiées par

Martin and Fitzwater (1988), le rôle du fer comme élément limitant de la productivité biologique océanique a été mis en évidence. De plus, étant un cofacteur métallique d'enzymes tel que la nitrate réductase (enzyme contrôlant la réduction du nitrate) et la phosphatase (enzyme contrôlant la dégradation du phosphate organique, détail dans la section I.4.1), le fer peut contrôler la limitation de la production primaire par l'azote et/ou par le phosphate (Wu *et al.*, 2000, Browning *et al.*, 2017). D'autres éléments traces métalliques influencent la croissance des photoautotrophes. Ces éléments incluent, le manganèse (Mn), le cobalt (Co), le nickel (Ni), le cuivre (Cu) et le zinc (Zn) (Bruland *et al.*, 1991).

I.3. Le dépôt atmosphérique : une source de nutriments à l'océan

Le dépôt atmosphérique consiste en un transfert de matière depuis l'atmosphère vers la surface de l'océan à travers deux processus, le dépôt sec (dépôt de matières sous le contrôle presque exclusif de la gravité) et le dépôt humide (dépôt de matières à travers la phase aqueuse, pluies ou neige). Il est issu de particules pouvant se former dans la couche atmosphérique suite à des réactions physico-chimiques à partir de précurseurs dans la phase gazeuse, ou bien être introduits dans l'atmosphère depuis des sources naturelles et/ou anthropiques (De Leeuw *et al.*, 2014 et références y figurant). Après dépôt à la surface de l'océan, une large variété de composés, incluant des macros et micronutriments (N, P, C, Si, Fe et autres éléments traces) (Duce *et al.*, 1991 ; Guieu *et al.*, 2014) mais aussi des éléments toxiques (i.e. Cu, Al, Pb) (Paytan *et al.*, 2009 ; Jordi *et al.*, 2012), sont introduits dans la colonne d'eau.

Au niveau de l'océan ouvert, le dépôt atmosphérique en N, P et Fe contribue significativement au réservoir de surface de nutriments (Prospero *et al.*, 1996 ; Mahowald *et al.*, 2009 ; Baker *et al.*, 2010). A l'échelle de l'océan global, le dépôt total (sec et humide) en N, P et Fe est estimé respectivement à 63 Tg N an⁻¹, 0,32 Tg P an⁻¹ et 0,36 Tg Fe an⁻¹, avec une répartition au niveau des océans représentée dans le [Tableau I. 1](#) (Okin *et al.*, 2011).

Tableau I. 1: Dépôt atmosphérique en nutriments à l'échelle de l'océan global et aux différents océans exprimés en Tg an⁻¹.

	N* (Tg N an ⁻¹)	P (T g P an ⁻¹)	Fe (T g P an ⁻¹)
Océan global	63	0,32	0,36
Océan Atlantique	18	0,13	0,11
Océan Indien	11	0,073	0,10
Océan Pacifique	24	0,067	0,10
Océan Austral	8,2	0,032	0,039

* Les dépôts en N incluent la phase gazeuse hormis la part liée à la fixation du N₂.

Les dépôts atmosphériques en N proviennent essentiellement des émissions anthropiques (Duce *et al.*, 2008), tandis que ceux en P et Fe proviennent principalement des aérosols désertiques, d'où d'importants dépôts en ces éléments dans les régions soumises à l'influence de masses d'airs transportées depuis les régions désertiques et semi arides (Figure I. 4) (Luo *et al.*, 2008 ; Mahowald *et al.*, 2008 ; Jickells *et al.*, 2005).

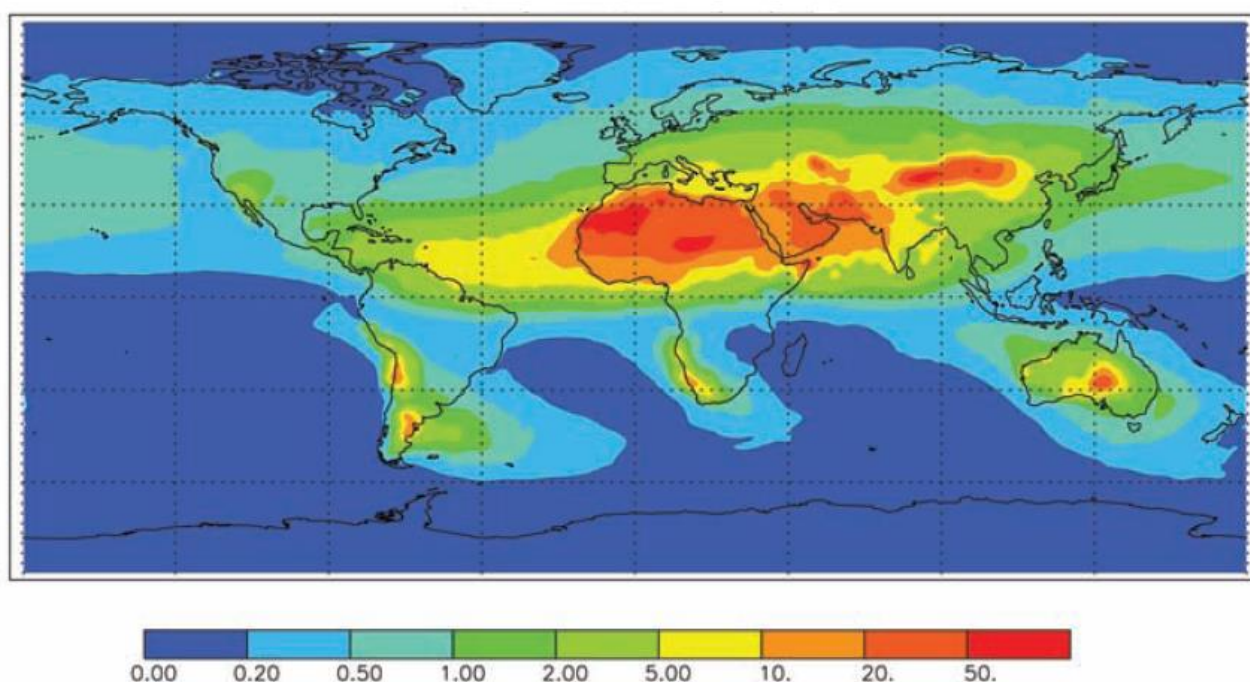


Figure I. 4: Dépôt atmosphérique moyen de poussières désertiques exprimé en g m⁻² an⁻¹ (Jickells *et al.*, 2005).

De larges régions océaniques, comme l'Atlantique tropical, sont régulièrement sous l'influence des dépôts désertiques (Moulin *et al.*, 1997). Dans d'autres régions océaniques, ces dépôts ont un caractère plus épisodique et s'opèrent généralement sous forme de pulses (Grousset and Biscaye, 2005).

Les origines dominantes des dépôts de poussières désertiques sont le désert du Sahara et la région du Sahel en mer Méditerranée, en Atlantique Nord et parfois même dans les régions tropicales des océans Pacifique et Indien. Le Moyen Orient représente une source importante en ces dépôts en mer d'Arabie, tandis que le continent Américain constitue une source d'approvisionnement importante au niveau de l'océan Atlantique tropical, et des océans Pacifique et Indien. Enfin, le continent Australien constitue une source importante au sud des océans Pacifique et Indien (Grousset and Biscaye, 2005).

Au cours de leur transport dans l'atmosphère, les aérosols anthropiques et désertiques interagissent (De Leeuw *et al.*, 2014 et références y figurant). L'émission de gaz réactifs et d'aérosols secondaires depuis les sources anthropiques est suspectée avoir un effet indirect dans l'augmentation de la solubilité des micronutriments associés aux poussières désertiques, particulièrement dans les régions industrialisées (Solmon *et al.*, 2009). En effet, la solubilité du Fe est par exemple augmentée à travers une attaque acide par les composés anthropiques (Zhuang *et al.*, 1992). Outre le Fe, ces interactions peuvent être à l'origine d'une augmentation de la solubilité et de ce fait de la disponibilité d'autres nutriments associés aux poussières désertiques, tel que le phosphate (Nenes *et al.*, 2011).

Outre les apports anthropiques et en poussières désertiques, les dépôts de cendres et d'aérosols volcaniques à l'océan peuvent également être importants. En effet, à l'échelle globale, les dépôts en aérosols volcaniques sont du même ordre de grandeur que les poussières désertiques, entre 39 et 519 Tg an⁻¹ (Rea, 1994 ; Mahowald *et al.*, 2005) et constituent une source importante en Fe à l'océan (i.e. Achterberg *et al.*, 2013). Durant de larges épisodes d'éruption volcaniques, les dépôts en Fe provenant des cendres volcaniques peuvent être supérieurs aux dépôts annuels de Fe issus des poussières désertiques. Par exemple, lors de l'importante éruption du Mount Hudson entre le 12 et le 15 Aout 1991, les cendres volcaniques ont été à l'origine d'un dépôt en Fe équivalent à 500 ans de dépôts en cet élément par les poussières désertiques depuis la Patagonie (Gaiero *et al.*, 2003).

Le dépôt atmosphérique en N, P et Fe influence la biogéochimie de surface, particulièrement en période de stratification quand les eaux de surface sont isolées des couches profondes de l'océan (i.e. Guieu *et al.*, 2014). La complexité des interactions entre les dépôts atmosphériques, la biogéochimie marine, l'export de carbone et sa séquestration sont reconnus comme d'importants volets dans la recherche scientifique, notamment dans le cadre du programme SOLAS (*the international Surface Ocean-Lower Atmospheric Study*) (Brévière *et al.*, 2016).

Ainsi, l'impact du dépôt atmosphérique au niveau de l'océan oligotrophe a été étudié, en procédant à des études soit directement dans le milieu naturel (i.e. Pulido-Villena *et al.*, 2008) ou bien indirectement, dans le cadre d'expériences en mésocosmes et microcosmes (i.e. Mills *et al.*, 2004 ; Bonnet *et al.*, 2005 ; Ridame et Guieu, 2002). Ces études ont montré que les dépôts atmosphériques en macro et micro-nutriments renforcent la fixation d'azote tel qu'il a été observé en Atlantique Nord (Mills *et al.*, 2004) et en mer Méditerranée (Bonnet *et al.*, 2005). Ces dépôts induisent d'une part un accroissement de la biomasse phytoplanctonique (Ridame et Guieu, 2002 ; Guieu *et al.*, 2010 ; Mills *et al.*, 2004) et d'autre part des réponses significatives des activités des bactéries hétérotrophes (Pulido-Villena *et al.*, 2008 ; Lekunberri *et al.*, 2010 ; Laghdass *et al.*, 2011). Selon le type de réponse dominante (autotrophie *versus* hétérotrophie), les conséquences sur l'export de carbone vont être contrastées. En effet, si la réponse des organismes phytoplanctoniques est dominante, il s'ensuivra une stimulation de la pompe biologique de carbone et un export de carbone *via* la sédimentation de POM et/ou l'export de DOM. Inversement, si les bactéries hétérotrophes prennent un avantage compétitif sur les organismes autotrophes, une stimulation de la minéralisation des réservoirs de POM et/ou DOM peut avoir lieu, entravant l'export de carbone et relarguant ainsi du CO₂ vers l'atmosphère. Néanmoins, suivant ce dernier cas, les processus impliqués dans la pompe microbienne de carbone (MCP) peuvent être stimulés également et favoriser la conversion de DOM labile en DOM réfractaire et induire, de ce fait, une séquestration de carbone. La réponse des organismes phytoplanctoniques et des bactéries hétérotrophes à un apport en poussières désertiques se révèle dépendant du statut nutritionnel du milieu. En effet, l'effet positif de ces apports sur la production primaire s'amenuise au fur et mesure que le degré d'oligotrophie augmente (Marañón *et al.*, 2010), suggérant un avantage compétitif des bactéries hétérotrophes au niveau des régions oligotrophes soumises à des dépôts de poussières désertiques.

I.4. Réservoir de matière organique dissoute

La matière organique dissoute (DOM, pour *dissolved organic matter*) est opérationnellement définie comme la matière organique pouvant passer à travers un filtre de porosité 0,2 μm (Carlson and Hansell, 2015 et références y figurant). Elle constitue un important réservoir en C, N et P. Le carbone organique dissous (DOC, pour *dissolved organic carbon*), l'azote organique dissous (DON, pour *dissolved organic nitrogen*) et le phosphate organique dissous (DOP, pour *dissolved organic phosphate*) sont, respectivement, les composantes en C, N et P de la DOM.

A hauteur de 662 Pg C, le réservoir océanique de DOC est comparable au réservoir atmosphérique de CO_2 (700 Pg C) et est supérieur au réservoir de carbone de la biomasse marine d'un facteur 200 (Hansell *et al.*, 2009). Les réservoirs de DON et DOP, sont présents également de façon non négligeable dans tous les océans. En effet, les quantités en N et P contenues au niveau de ces deux compartiments contribuent significativement au réservoir total de N et P, avec des pourcentages supérieurs à 70% dans les eaux de surface (Bronk, 2002 ; Lomas *et al.*, 2010).

La DOM est composée d'une grande variété de molécules organiques allant de simples monomères à de complexes polymères (Benner, 2002) dont la composition chimique a été très peu caractérisée, en raison des difficultés analytiques (Benner, 2002 ; Hedges, 2002 ; Carlson and Hansell, 2015 et références y figurant). Le peu d'études effectuées sur cette question montrent que le DOC est composé de carbohydrates, de lipides, d'acides aminés et d'acides nucléiques (Benner, 2002). Différentes classes de composés constituant le réservoir de DON ont également été identifiées, englobant l'urée, les acides aminées, les acides nucléiques et des substances humiques et fulviques (Sipler and Bronk, 2015 et références y figurant). Le DOP inclut quant à lui des esters monomériques et polymériques (C-O-P) et les phosphonates (C-P). Les composés de DOP liés à un radical ester existent sous forme de phospho-monoester et phospho-diester (Karl and Björkman, 2015 et références y figurant).

En raison de sa contribution à l'export de carbone, un grand intérêt a été porté au DOC au cours des dernières décennies, les méthodes de mesure ont été affinées et les données d'observations augmentées d'où un recouvrement spatial important au niveau de l'océan global (Figure I. 5). La distribution globale du DON (Figure I. 5) a été augmentée par l'US Global Ocean Repeat Hydrography program (<https://usgoship.ucsd.edu/>) (Letscher *et al.*, 2013). En revanche, un manque critique

de données de DOP est notable au niveau de tous les océans (Figure I. 5). En effet, les investigations du cycle du phosphate conduites en dehors des zones continentales sont rares en raison, d'une part de l'intérêt récent porté au cycle du phosphate et d'autre part, des limitations méthodologiques qui contraignent la détermination des concentrations nano-molaires de phosphate dissous (Patey *et al.*, 2008).

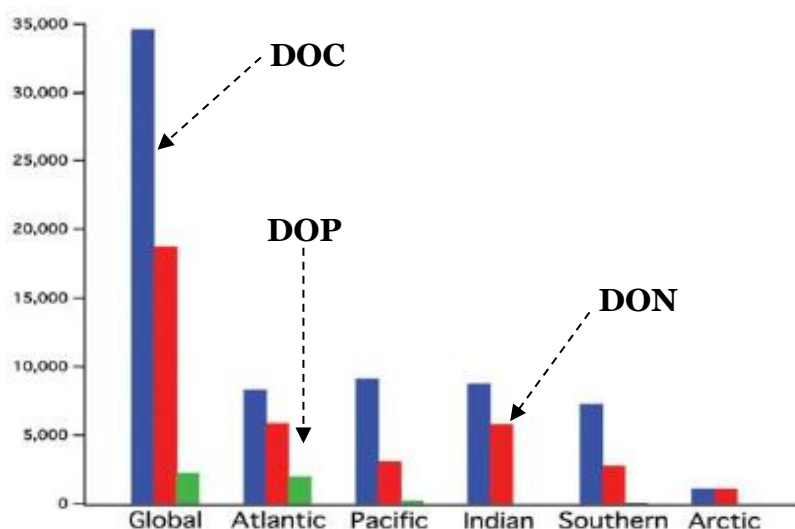


Figure I. 5: Nombre d'observations en carbone organique dissous (DOC), azote organique dissous (DON) et phosphate organique dissous (DOP) au niveau de l'océan global (tiré de Letscher and Moore, 2015).

I.4.1. Rôle biogéochimique de la matière organique dissoute

I.4.1.1. Rôle de la matière organique dissoute comme substrat

La DOM constitue un substrat essentiel soutenant l'activité des hétérotrophes procaryotes. L'utilisation de carbone par ces organismes a été estimée à 50% de la production primaire (Becquevort *et al.*, 2000 ; Williams, 2000). Ces organismes, regroupant les bactéries et les archées, sont les plus abondants au niveau de l'océan ($1,2 \times 10^{29}$ cellules) (Whithman *et al.*, 1998). Ils représentent une composante essentielle des écosystèmes oligotrophes puisque leur biomasse est comparable à celle du phytoplancton (Azam, 1998 ; Fuhrman, 1992).

La membrane externe des bactéries hétérotrophes (Encadré I.2 : Procaryotes hétérotrophes *versus* bactéries hétérotrophes) est un important site où les interactions avec le milieu les entourant s'opèrent. La DOM de faible poids moléculaire (< 600 Da : $1 \text{ Da} = 1/12$ la masse du ^{12}C) est directement transportée à travers la membrane cellulaire *via* l'action de perméases. Par opposition, le transport de la matière organique de haut poids moléculaire (> 600 Da) nécessite une hydrolyse enzymatique

à travers l'action d'ectoenzymes (Hoppe *et al.*, 2003). Ces ectoenzymes sont soit associées à la membrane externe des bactéries hétérotrophes marines ou bien libérées dans le milieu suite à l'éclatement des cellules et/ou un contrôle *top down* (Chrost, 1990). Les bactéries hétérotrophes marines sont pour la majorité libres dans le milieu marin, c'est-à-dire suspendues dans la colonne d'eau, ces bactéries assimilent la DOM fortement diluée (Cho and Azam, 1988). D'autres sont attachées à des particules et expriment une plus forte activité enzymatique en comparaison aux bactéries hétérotrophes libres (Karner and Herndl, 1992 ; Smith *et al.*, 1992). Ces ectoenzymes sont de tous types et plus ou moins spécifiques, elles incluent par exemple des protéases, des glucosidases, des chitinases, des lipases et des phosphatases.

Encadré I.2 : Procaryotes hétérotrophes *versus* bactéries hétérotrophes

Dans le passé, la plupart des procaryotes hétérotrophes identifiés étaient des bactéries. De ce fait, les anciens travaux se sont référés à ces organismes sous le terme de bactéries hétérotrophes. De récentes études ont montré que les archées présentent une contribution importante à l'abondance cellulaire des procaryotes hétérotrophes, allant de 20 à 40% dans les zones méso-pélagique et bathypélagique de l'océan (Church *et al.*, 2003 ; Herndl *et al.*, 2005), d'où la dénomination de procaryotes hétérotrophes. Pour la clarté du manuscrit et pour être en accord avec ce qui est souvent utilisée comme terminologie dans la littérature, nous utiliserons la dénomination de 'bactéries hétérotrophes' pour nous référer aux groupes des bactéries et des archées.

L'interaction enzyme-DOM permet une hydrolyse des composés constituant ce réservoir en ayant pour cible des liaisons chimiques spécifiques pour chaque enzyme, restituant dans le milieu des composés de faible poids moléculaire assimilables par les bactéries hétérotrophes marines mais aussi des nutriments inorganiques après hydrolyses des composés DON et DOP. Cette activité enzymatique peut avoir un rôle capital dans les régions oligotrophes où l'accès aux nutriments est rendu difficile vu les faibles concentrations s'y trouvant. Une des enzymes permettant l'accès à ces nutriments est la phosphatase. La phosphatase est un terme général utilisé pour se référer aux enzymes catalysant l'hydrolyse des liaisons anhydres et esters de l'acide phosphorique (Karl, 2014). La plus commune est la classe des phosphomonoesterases, également appelée phosphatase alcaline, qui potentiellement hydrolyse une large

gamme des composés de DOP de façon optimale au pH de l'eau de mer (Karl, 2014). La phosphatase alcaline est une enzyme non spécifique qui permettrait un relargage du phosphate sous sa forme inorganique depuis une variété de phosphomonoesters, di, tri et polyphosphates ce qui peut donc constituer une source potentielle de P pour les microorganismes (Björkman and Karl, 1994). Le P ainsi libéré, est dilué de façon homogène au sein du réservoir total ou est immédiatement assimilé par les microorganismes. Les fortes teneurs en P intracellulaire répriment la synthèse des phosphatases alcalines en inhibant l'expression du gène correspondant. Quand le réservoir intracellulaire diminue, l'expression du gène devient possible (Chrost, 1991). Cette sensibilité à la teneur du P du milieu a suscité chez de nombreux auteurs l'utilisation de cette enzyme comme indicateur nutritionnel. Son activité a donc été largement mesurée dans les milieux appauvris en P ou en culture en laboratoire pour montrer une limitation des communautés par cet élément (Thingstad *et al.*, 1998, Van Wambeke *et al.*, 2002 ; Hoppe *et al.*, 2003).

Une fois assimilé par les bactéries hétérotrophes, le carbone est métabolisé pour servir à la fois aux besoins de production (BP, pour *bacterial production*) et de respiration (BR, pour *bacterial respiration*) cellulaire. Donc, connaître le flux de carbone transféré à travers les bactéries hétérotrophes (BCD, pour *bacterial carbon demand*) nécessite la mesure des flux de carbone *via* ces deux processus : $BCD = BP + BR$.

La BP correspond à la vitesse de synthèse de la biomasse bactérienne (BB, pour *bacterial biomass*) (Ducklow, 2000). La mesure de l'incorporation de traceurs radioactifs tels que ^3H -thymidine ou ^3H -leucine dans l'ADN et dans les protéines, respectivement sont les approches les plus communément utilisées pour estimer la production bactérienne. En effet, une vitesse d'incorporation de la thymidine ou de la leucine dans les macromolécules au cours du temps est mesurée (Eq I. 4).

$$\text{Eq I. 4. A} \quad \frac{dBB}{dt} = \alpha \frac{dADN}{dt}$$

$$\text{Eq I. 4. B} \quad \frac{dBB}{dt} = \beta \frac{d\text{protéines}}{dt}$$

Ou α et β sont des facteurs de conversion utilisés pour convertir ces vitesses d'incorporation en production bactérienne (Kirchman *et al.*, 1985)

La respiration bactérienne (BR, pour *bacterial respiration*) correspond à la vitesse de production de CO₂. Elle est communément quantifiée en mesurant la diminution de la concentration en O₂ au cours d'incubations dans le noir sur de courtes durées (12 - 24h). La quantité de CO₂ produite associée à cette diminution dans la concentration d'O₂ est obtenue au moyen d'un quotient respiratoire de 1 (Del Giorgio and Cole, 1998).

La BP représente en moyenne entre 10 à 20% de la production primaire (Cole *et al.*, 1988 ; Ducklow, 2000). Elle constitue, à travers la boucle microbienne, un lien entre le DOC et les niveaux trophiques supérieurs (Azam *et al.*, 1983). La BR contribue en moyenne entre 40 et 50% à la respiration communautaire totale (del Giorgio et Duarte, 2002 ; Robinson, 2008), ce qui représente un important puits de carbone pour la production primaire. Les mesures de BR sont essentielles à la définition du statut trophique de l'océan ouvert, net autotrophe *versus* net hétérotrophe. Dans un système net autotrophe, la production de matière organique est supérieure aux pertes engendrées par la respiration, contribuant à l'export de carbone. Par opposition, dans un système net hétérotrophe, la respiration microbienne domine, favorisant par opposition le retour du carbone sous forme de CO₂ vers l'atmosphère. Depuis près de 20 ans, il existe une controverse quant au statut trophique de l'océan oligotrophe. En effet, du point de vue de Williams *et al.* (2013), l'océan oligotrophe est net autotrophe puisque la production primaire brute (GPP, pour *gross primary production*) est supérieure à la respiration communautaire (CR, pour *community respiration*) quand celles-ci sont moyennées sur une région suffisamment étendue et sur une longue échelle de temps. Par opposition, du point de vue de Duarte *et al.* (2013), l'océan oligotrophe est net hétérotrophe avec une CR supérieure à la GPP. A ce jour cette question reste non résolue. Ces discordances ont été en partie attribuées aux difficultés des mesures *in vitro*, non adéquates pour reproduire l'échelle temporelle des processus trophiques d'une part, et du fait que la plupart des mesures actuelles de taux de production primaire et de respiration communautaires sont imprégnées d'incertitudes, d'autre part (Ducklow and Doney, 2013).

I.4.1.2. Rôle de la matière organique dissoute dans l'export de carbone

Les composés constituant le réservoir de DOM se caractérisent par différents degrés de réactivité biologique. Cette réactivité biologique a principalement été définie pour le réservoir de DOC et a montré des temps de résidence variés sur des échelles

de temps horaires à millénaires. Par opposition, la réactivité biologique du DON et du DOP est faiblement contrainte de nos jours.

Le long de la colonne d'eau, différentes fractions au sein du réservoir de DOC ont été définies selon un modèle conceptuel : un réservoir labile (LDOC, pour *labile dissolved organic carbon*), semi labile (SLDOC, pour *semi labile dissolved organic carbone*), semi réfractaire (SRDOC, pour *semi refractory dissolved organic carbon*), réfractaire (RDOC, pour *refractory dissolved organic carbon*) et ultra-réfractaire (URDOC, pour *ultra-refractory dissolved organic carbon*) (Figure I. 6) (Hansell *et al.*, 2013). Au niveau de l'océan de surface, les différents réservoirs de DOC sont présents. Seulement, leurs proportions respectives vont dépendre de l'équilibre entre leurs sources (exemples : hydrolyse, dissolution, convection, lyse et apports allochtones) et leurs puits (agrégation, consommation). Au fond des océans, le DOC en présence montre une distribution homogène et est considéré comme étant réfractaire. Récemment, de nouvelles études débattent sur ce caractère réfractaire du DOC profond. En effet, Arrieta *et al.* (2015) ont montré, à l'aide d'une expérience en microcosmes utilisant comme substrat le DOC profond, sa biodisponibilité pour les bactéries hétérotrophes, conférant à ce réservoir contrairement à ce qui a été énoncé précédemment un caractère labile. Cependant, en raison de la présence de molécules chimiques à très faibles concentrations au niveau de l'océan profond, leur utilisation par les bactéries marines hétérotrophes est rendue difficile puisqu'elles engendrent d'importantes pertes métaboliques, cette hypothèse est appelée dilution isotopique et permettrait donc un maintien du DOC profond à des concentrations constantes (Arrieta *et al.*, 2015).

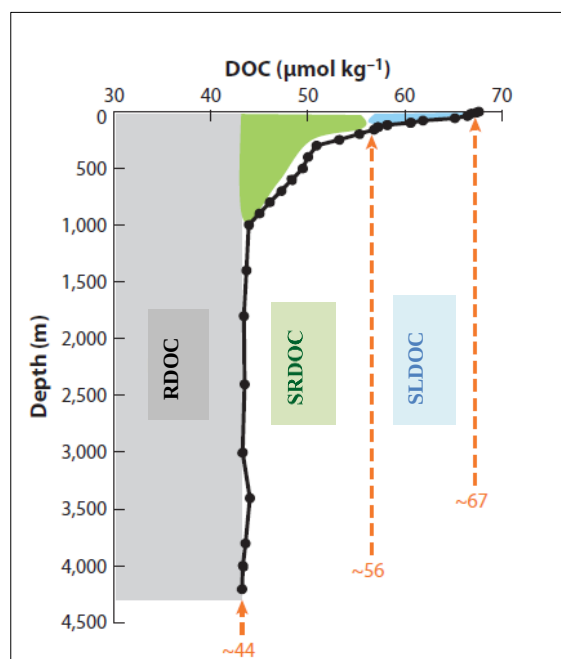


Figure I. 6: Distribution verticale de carbone organique dissous (DOC) suivant son degré de réactivité : carbone organique dissous semi-labile (SLDOC), carbone organique dissous semi réfractaire (SRDOC) et carbone organique dissous réfractaire (RDOC) (adapté de Hansell *et al.*, 2013).

Le LDOC contribue faiblement à la séquestration de carbone puisque, en raison de son temps de résidence relativement court, les produits composants ce réservoir sont à terme rapidement reminéralisés dans les eaux de surface. Le SLDOC se caractérise par une réactivité intermédiaire, ayant un temps de résidence variant sur une échelle de temps mensuelle à annuelle, il résiste à la dégradation microbienne et est à l'origine de la variabilité saisonnière du DOC.

La variabilité saisonnière du DOC est particulièrement marquée dans les régions subtropicales et tempérées de l'océan global (Carlson *et al.*, 1994 ; Santinelli *et al.*, 2013). Un déséquilibre temporel et/ou spatial s'opère entre les mécanismes de production et de consommation de DOC, induisant son accumulation dans les eaux de surface, au-dessus de la pycnocline (Carlson *et al.*, 1994 ; Thingstad *et al.*, 1997 ; Santinelli *et al.*, 2013). Une partie du DOC accumulé dans la couche de surface est exportée au fond des océans par diffusion et/ou convection (formation d'eau profonde et/ou mélange vertical) constituant, quantitativement, la voie la plus importante d'export de carbone à l'échelle de l'océan global ($1,5 \text{ Pg C an}^{-1}$; Hansell *et al.*, 2012).

Le SRDOC ne s'accumule en surface qu'en situation de pycnocline permanente. Il contribue de manière secondaire à l'export de carbone, $0,34 \text{ Pg C an}^{-1}$ à l'échelle de l'océan global (Hansell *et al.*, 2012), seulement ce dernier peut être potentiellement important en termes de séquestration de carbone puisque son temps de résidence varie sur une échelle de temps décennale à centenaire.

Les réservoirs de RDOC et URDOC présentent des temps de résidences variant entre 4 000 et 6 000 ans. Ils dominent cette répartition en termes d'inventaires globaux puisqu'ils comptent à eux deux 642 Pg C (Hansel *et al.*, 2013).

A l'échelle de l'océan global, l'export de carbone *via* le réservoir de DOM, a été estimé entre 20 et 25% de l'export total (Hansell *et al.*, 2009). Dans l'océan oligotrophe, cette voie représente un important puits de carbone puisqu'elle peut atteindre 50% de l'export total de C (Carlson, 1994). Néanmoins, l'export de carbone est inextricablement lié à celui du N et du P (Hopkinson and Vallino, 2005). Une quantification de l'efficacité d'export de carbone requiert une investigation couplée des trois composantes du réservoir de DOM, et passe donc par une étude de la stoechiométrie de ce dernier, terme désignant le rapport C:N:P.

I.4.2. Le rapport C:N:P du réservoir de matière organique dissoute

La stoechiométrie du réservoir de DOM, contrairement à celle du réservoir de POM, est très peu connue. Le peu d'études effectuées sur le sujet rapportent un rapport C:N:P qui s'éloignent largement de celui de la POM dans les régions étudiées ([Tableau I. 2](#)), suggérant un export de carbone *via* le réservoir de DOM plus efficace en comparaison au réservoir de POM, pour une même quantité de N et P nouveau introduits à l'océan de surface (i.e. Loh and Bauer, 2000 ; Hopkinson et Vallino, 2005).

Les facteurs contrôlant la stoechiométrie du réservoir de DOM restent faiblement contraints de nos jours. Néanmoins, l'appauvrissement en DON et DOP de ce réservoir en fonction de la profondeur, suggère une possible reminéralisation préférentielle du DOP et DON durant la reminéralisation microbienne (Loh and Bauer, 2000 ; Aminot and Kerouel, 2004 ; Hopkinson and Vallino, 2005). Se basant sur une compilation des données en DOM disponibles au niveau de l'océan ouvert (plus de 55 000 observations), Letscher and Moore (2015) examinent la stoechiométrie du réservoir de DOM afin de mieux comprendre cette reminéralisation préférentielle. A l'échelle de l'océan global, ces auteurs ont montré que le DOP est reminéralisé en

moyenne deux fois plus vite relativement aux DOC et DON dans tous les bassins océaniques sur une couche d'eau allant de la surface à 1 000 m. Cette reminéralisation préférentielle du DOP est d'autant plus forte au niveau de l'Atlantique Nord, allant de 2 à 3 fois en comparaison au DON et au DOC, suggérant une stimulation de la reminéralisation préférentielle du DOP en condition de limitation en P et de ce fait, une déviation plus prononcée du rapport C:N:P de la DOM relativement au rapport de Redfield (Letscher and Moore, 2015 et références y figurant). Seulement, en soustrayant la part réfractaire de ce réservoir à celui de surface, il a été observé un rapport C:N:P (317:39:1) de 200% et 145% plus enrichi en DOC et DON relativement au DOP, respectivement (Letscher and Moore, 2015). Donc, outre le processus de reminéralisation préférentielle, la stœchiométrie de la DOM observée peut dépendre des sources de DOC, DON et DOP. En effet, une DOM appauvrie en P peut résulter de la production biologique dans l'océan de surface (Bertilsson *et al.*, 2003 ; White *et al.*, 2006). En plus de cette production biologique, la DOM peut être introduite à l'océan suite à des apports allochtones, englobant les apports par les rivières (Meybeck, 1982 ; Cauwet, 2002) et les apports atmosphériques (Willey *et al.*, 2000 ; Safieddine and Heald, 2017).

Tableau I. 2 : Stœchiométrie de la matière organique dissoute au niveau des eaux de surface.

	Profondeur [m]	DOC:DON	DON:DOP	C:N:P	Références
Pacifique Nord Est	0 -100 m	15 - 17	17 - 20	296 :19 :1	Loh and Bauer (2000)
Pacifique Nord	Couche de mélange	15 ± 0.5	19 ± 0,4	285 :19 :1	Hopkinson and Vallino (2005)
Atlantique Nord-Ouest	Couche de mélange	14 ± 0.6	26 ± 0,9	364 :26 :1	Hopkinson and Vallino (2005)
Atlantique Nord Est	0 – 200 m	13 - 14	31 - 62	626 :48 :1	Aminot and Kerouel (2004)
Mer Méditerranée	0 – 100 m	13	84 - 120	1326 :102 :1	Pujo-Pay <i>et al.</i> (2011)
Mer du Japon	0 – 100 m	17 ± 3	22 ± 5	374 :22 :1	Kim and Kim (2013)
Océan global	Océan de surface	14	44	640 :44 :1	Letscher and Moore (2015)

I.4.3. Sources de la matière organique dissoute

I.4.3.1. Les sources autochtones

La production de DOM au niveau de l'océan ouvert est essentiellement régulée par l'intensité de la production primaire et du réseau trophique qui en découle. Des mécanismes tels que (a) l'exsudation par le phytoplancton, (b) un contrôle *top down* par le zooplancton (prédation, excrétion, *sloppy feeding*), (c) la lyse virale, (d) et la solubilisation de particules suite à une activité microbienne peuvent constituer des sources de DOM dans la colonne d'eau (Hansell and Carlson, 2015 et références y figurant). La contribution de ces différentes sources au réservoir de DOM de surface est faiblement contrainte, d'autant plus que ces différents processus varient dans l'espace et le temps.

- (a) L'exsudation correspond à un relargage extracellulaire de DOM par le phytoplancton. La contribution de ce processus au réservoir de DOM de surface est importante mais fortement variable (Collos *et al.*, 1992). En effet, la proportion du C₁₄ et du N₁₅ fixée qui est relarguée sous forme DOC et DON suite à l'exsudation par le phytoplancton varie entre 3 et 32% (Baines and Pace, 1991 ; Vernet *et al.*, 1998) et entre 4 et 100% par rapport au carbone et à l'azote total fixé (Slawyk and Raimbault, 1995 ; Bronk, 2002), respectivement.
- (b) Le contrôle *top down* par le zooplancton est une source non négligeable de DOC, DON et DOP notamment *via* l'excrétion, le relargage de vacuoles digestives et le *sloppy feeding* (Storm *et al.*, 1997 ; Nagata *et al.*, 2000). La contribution de ce processus au réservoir total de carbone et d'azote est comprise entre 0,2 et 10% pour C et entre 1 et 14% pour N (Carlson, 2002).
- (c) La lyse virale est le processus à l'origine d'une mortalité bactérienne suite à une infection virale. L'éclatement des cellules qui s'en suit est à l'origine d'une production de DOM dans la colonne d'eau. Un pourcentage allant de 10 à 50% de la communauté bactérienne subit une lyse virale (Proctor and Fuhrman, 1990, Suttle, 1994). Ce processus affecte également la production primaire. Suttle (1994) a estimé qu'environ 2 à 3% de la production primaire globale est perdu suite à ce processus.

- (d) La solubilisation des particules est le processus par lequel la POM est hydrolysée, sous l'action d'une large variété d'ectoenzymes et/ou d'une solubilisation abiotique (Carlson and Hansell, 2015 et références y figurant).

I.4.3.2. Les sources allochtones

a. Les apports par les rivières

Les rivières constituent une voie de transport de DOM terrestre du continent à l'océan. L'apport en DOC par les rivières varie entre 170 et 360 Tg C an⁻¹ (Meybeck, 1982 ; Aitkenhead and McDowell, 2000 ; Mayorga *et al.*, 2010). Les flux et la composition chimique de la DOM arrivant à l'océan dépendent principalement des conditions hydrographiques des bassins versants, notamment des flux d'eau conditionnant son transport. Seulement, le long de son transport, la DOM terrestre subit des réactions biogéochimiques incluant la floculation, la photo-dégradation et la dégradation microbienne, entre autres (Hernes and Benner, 2003 ; Shank *et al.*, 2005). Les pertes de DOM terrestre suite à la photo-oxydation et à la dégradation microbienne restent faiblement connues. Néanmoins, des études ont estimé que seulement la moitié du DOC issu des rivières résiste aux processus de dégradation estuariens et côtiers et atteint l'océan ouvert (Smith and Hollibaugh, 1993 ; Ludwig *et al.*, 1996).

b. Le dépôt atmosphérique

Encore peu étudié, le dépôt atmosphérique de matière organique pourrait également être important au niveau de l'océan global. Le peu d'études effectuées montrent des flux atmosphériques en C, N et P organique pouvant contribuer de manière significative au dépôt atmosphérique total (Duce *et al.*, 2008 ; Kanakidou *et al.*, 2012).

Le dépôt atmosphérique de DOC à l'océan est du même ordre de grandeur que les apports de DOC par les rivières, 90 - 245 Tg C an⁻¹ (Willey *et al.*, 2000 ; Jurado *et al.*, 2008). La contribution de l'azote organique au dépôt total est de 30% avec une importante fraction d'origine anthropique (Duce *et al.*, 2008 et références y figurant). Les données de dépôt atmosphérique en phosphate organique sont rares. La contribution moyenne de cette fraction au dépôt total de phosphate est de 36% (Migon and Sandroni, 1999 ; Markaki *et al.*, 2010).

Le dépôt atmosphérique de matière organique peut contribuer au réservoir océanique de DOM et influencer sa stoechiométrie, soit directement soit par le biais d'une stimulation de l'activité des bactéries hétérotrophes. Seulement, le rôle biogéochimique du dépôt atmosphérique de matière organique va dépendre, entre autres, de sa biodisponibilité. Le peu d'études ayant examiné la biodisponibilité des dépôts atmosphériques de matière organique se sont focalisées sur le réservoir de DON, montrant des pourcentages d'azote organique biodisponible variants entre 20 et 70% (Timperley *et al.*, 1985 ; Peierls and Paerl, 1997 ; Seitzinger *et al.*, 2002).

Dans un contexte de changement global, d'une part, l'augmentation des températures induirait une désertification des sols intensifiant la charge en aérosols naturels présents dans l'atmosphère (IPCC, 2014) et d'autre part, les émissions liées à la croissance démographique et à l'intensification des activités industrielles et agricoles seraient à l'origine d'une augmentation de la charge en aérosols anthropiques (Galloway *et al.*, 2004). Dans ce contexte d'intensification des émissions anthropiques, incluant les composés organiques, il est donc important de quantifier les flux atmosphériques en matière organique et d'évaluer leur influence sur la biogéochimie du réservoir de DOM océanique particulièrement dans l'océan oligotrophe où, comme il a été dit précédemment, la DOM contribue significativement à l'export de carbone.

I.5. La Mer Méditerranée

I.5.1. Biogéochimie de la mer Méditerranée

La mer Méditerranée est un bassin semi clos représentatif d'un mini-océan oligotrophe. En effet, à l'échelle de l'océan global, la mer Méditerranée est la plus vaste mer semi fermée. Elle se caractérise par une circulation thermohaline unique avec différentes zones de convection profonde, une importante activité sub-méso échelle, une ventilation et un temps de résidence des masses d'eau rapide (entre 20 et 126 ans) (Figure I. 7) (Milot and Taupier-Letage, 2005), la rendant hautement réactive aux forçages externes en particulier les flux de matières aux interfaces (Mermex group, 2011 et références y figurant).

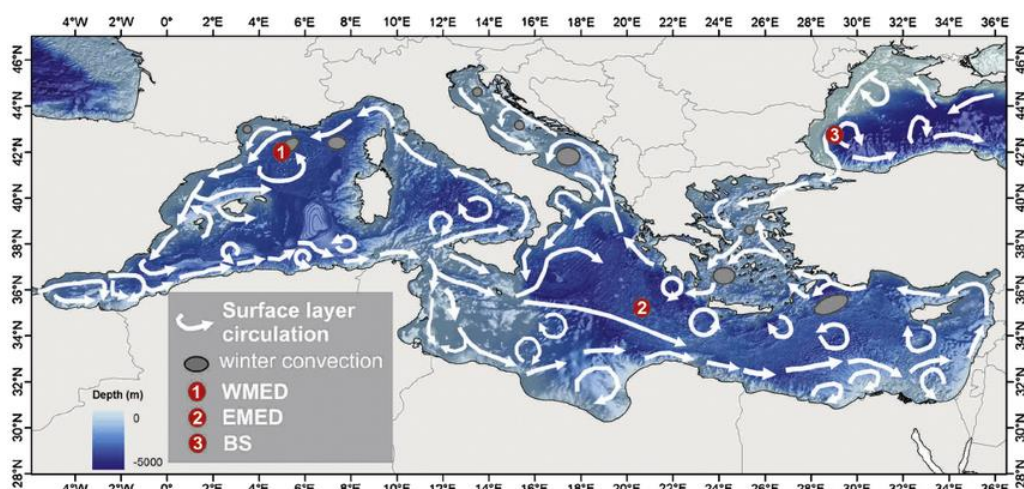


Figure I. 7: Schéma représentatif de la circulation thermohaline en mer Méditerranée (Gogou *et al.*, 2014).

Sur le plan biogéochimique, les eaux Méditerranéennes sont dites oligotrophes, les concentrations en chlorophylle sont inférieures à 4 mg m^{-3} (Mermex group, 2011 et références y figurant). Ce caractère oligotrophe est lié, entre autres, à une importante stratification de la colonne d'eau ayant lieu particulièrement en période estivale. L'installation d'une pycnocline durant cette période de l'année délimite des eaux chaudes en surface appauvries en N et P, définissant ainsi des eaux dites oligotrophes au niveau du bassin occidental et ultra oligotrophes au niveau du bassin oriental (Moutin and Raimbault, 2002). Les concentrations en P au niveau des eaux de surface Méditerranéennes sont de l'ordre du nano-molaire (Moutin *et al.*, 2002 ; Pulido-Villena *et al.*, 2010), indétectables par les techniques de mesure classiques (Pujo-Pay *et al.*, 2011 ; Cea *et al.*, 2014). **En conséquence, le réservoir de phosphate dissous incluant le DIP et le DOP, ainsi que les rapports N:P sont faiblement contraints dans les eaux de surface, faisant de leur dynamique l'une des pièces manquantes pour une meilleure compréhension de la biogéochimie de surface en mer Méditerranée.**

En mer Méditerranée, le P est l'élément limitant de l'activité autotrophe et hétérotrophe la majeure partie de l'année (Thingstad *et al.*, 1998 ; Cea *et al.*, 2014). En période de stratification, les faibles concentrations en N et P limitent à eux deux l'activité des organismes hétérotrophes dans les eaux de surface (Thingstad *et al.*, 1998 ; Tanaka *et al.*, 2011), induisant une accumulation du DOC semi labile (SLDOC, pour *semi labile dissolved organic carbon*) (Figure I. 8). En période hivernale, suite à un brassage vertical, le DOC accumulé est advecté vers les couches profondes

constituant une voie importante d'export de carbone (Copin Montegut *et al.*, 1993 ; Avril, 2002 ; Ramondenec *et al.*, 2016). Les estimations *in situ* de l'export de DOC sont supérieures ou égales à l'export de POC (Avril, 2002 ; Santinelli, 2015 et références y figurant). De même, une étude de modélisation, se basant sur une variation du rapport C:P des quotas cellulaires du plancton, estime cet export de DOC à 64% et à 90% de l'export total de carbone en Méditerranée occidentale et orientale, respectivement (Guyennon *et al.*, 2015).

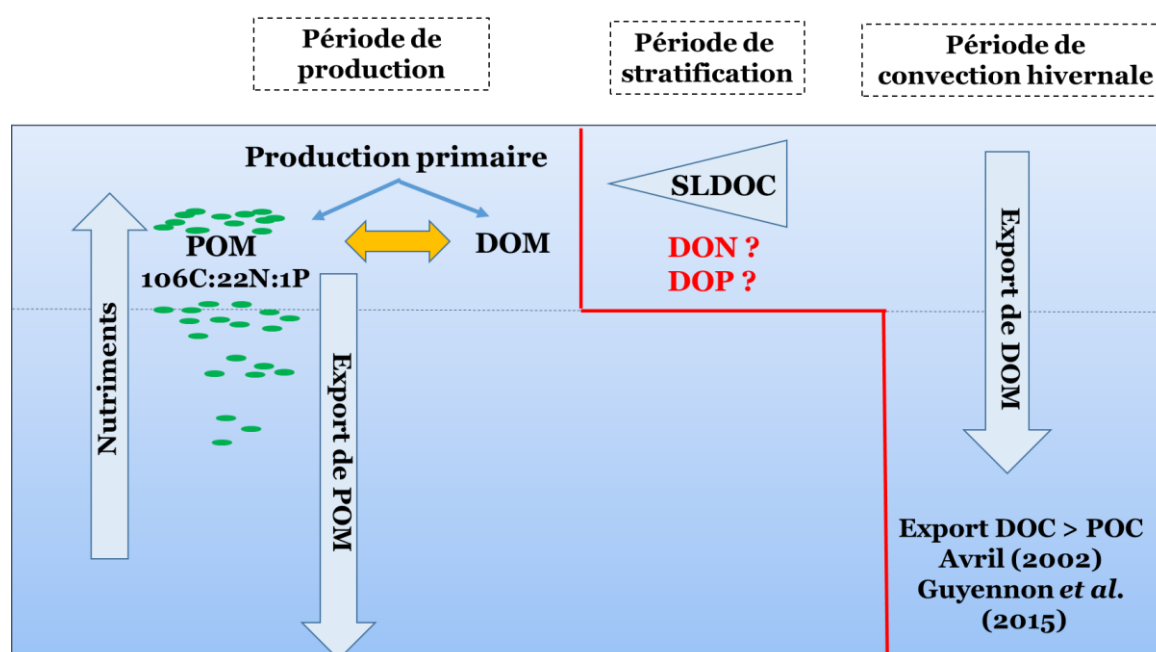


Figure I. 8: Schéma représentatif de l'évolution saisonnière de la matière organique dissoute de surface. POM se réfère à la matière organique particulaire, DOM se réfère à la matière organique dissoute, SLDOC se réfère au carbone organique dissous labile, DON se réfère à l'azote organique dissous, DOP se réfère au phosphate organique dissous, DOC se réfère au carbone organique dissous et le POC se réfère au carbone organique particulaire. La courbe rouge schématise le profil de température durant la période de stratification.

I.5.2. Dépôt atmosphérique en mer Méditerranée

Durant la période de stratification, allant généralement de fin mai au mois de septembre, le dépôt atmosphérique constitue une source majeure d'approvisionnement en nutriments dans les eaux de surface en mer Méditerranée (Guerzoni *et al.*, 1999 ; Herut *et al.*, 2001).

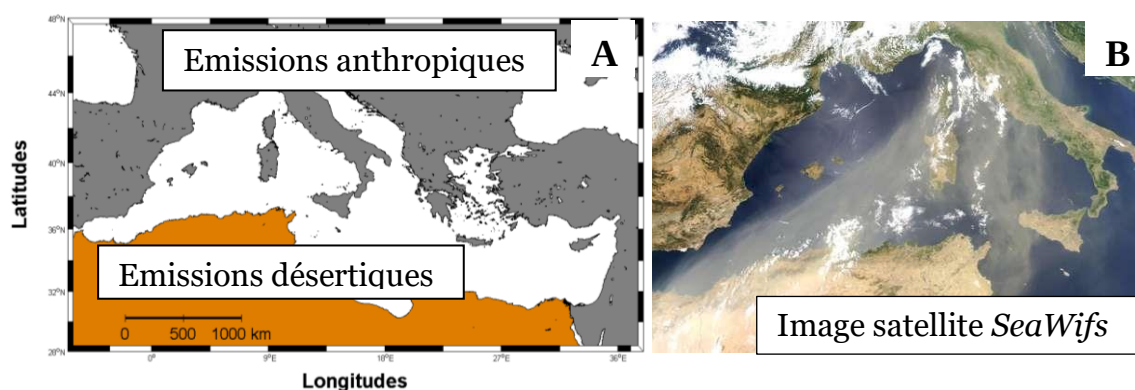


Figure I. 9: A. Apports en poussière d'origine anthropiques et désertiques depuis l'Europe et les régions arides de l'Afrique du nord, respectivement. B. Image satellite d'un transport de poussières sahariennes en Méditerranée Nord Occidentale.

En effet, les eaux méditerranéennes sont sujettes à des flux atmosphériques de matière d'origine anthropique de façon continue provenant de l'Europe (Figure I. 9A), et des flux épisodiques en poussières désertiques provenant des régions arides du continent Africain (Figure I. 9B). D'Almeida (1986) estime qu'environ 10% de la production annuelle en ces poussières est transporté en mer Méditerranée.

Le dépôt de poussières sahariennes en mer Méditerranée constitue une source importante en N, P et Fe, pouvant avoir un impact important sur les cycles biogéochimiques (Guieu *et al.*, 2002 ; Pulido-Villena *et al.*, 2008 ; Markaki *et al.*, 2010). Durant les dernières années, des efforts ont été consentis dans le but de comprendre l'impact biogéochimique des dépôts en poussières désertiques. Se basant sur des expériences *in situ* et/ou en laboratoire (mésocosmes et microcosmes), ces études ont montré qu'un dépôt de poussières désertiques peut induire une stimulation de la fixation d'azote (Bonnet *et al.*, 2005), un accroissement de la biomasse phytoplanctonique (Ridame et Guieu *et al.*, 2002 ; Ridame *et al.*, 2014) et des bactéries hétérotrophes en mer Méditerranée (Pulido-Villena *et al.*, 2008 ; Laghdass *et al.*, 2011).

Récemment, certaines études ont tenté de comprendre l'impact des dépôts anthropiques sur la biogéochimie en mer Méditerranée (Ternon *et al.*, 2011 ; Herut *et al.*, 2016 ; Sanchez-Perez *et al.*, 2016). En effet, en examinant en concomitance l'impact d'un aérosol saharien pur et d'un aérosol saharien pollué en Méditerranée orientale, Herut *et al.* (2016) concluent que ce dernier induit une plus large réponse biologique par rapport à l'aérosol saharien pur, notamment en termes de production primaire et de production bactérienne. Ayant évalué l'impact des aérosols sahariens et

anthropiques sur le réservoir de DOM et son utilisation subséquente par les bactéries hétérotrophes, Sanchez Perez *et al.* (2011) observent une modification dans la qualité de la DOM marine après ajouts d'aérosols, modification s'étant manifestée par une augmentation de la quantité de la DOM fluorescente ayant la particularité d'être réfractaire. La modification du réservoir de DOM observée ne s'est pas accompagnée de réponses significatives dans l'activité des bactéries hétérotrophes. Néanmoins, cette étude suggère une influence de l'aérosol anthropique sur le réservoir océanique de DOM.

En mer Méditerranée, très peu d'études ont quantifié les flux atmosphériques en matière organique (Migon and Sandroni, 1999 ; Pulido-Villena *et al.*, 2008 ; Markaki *et al.*, 2010). Les flux atmosphériques de DOC mesurés en Méditerranée Nord Occidentale varient entre 0,04 et 1,2 mmol C m⁻² j⁻¹ avec des flux maximums observés en période d'approvisionnement en poussières désertiques (Pulido-Villena *et al.*, 2008). Les flux atmosphériques de DON et DOP, mesurés par Markaki *et al.* (2010) à différents endroits en mer Méditerranée, soulignent l'importante contribution des composés organiques au réservoir total avec des pourcentages respectifs de 32% et 38% pour N et P. Ces flux atmosphériques de matière organique peuvent constituer un substrat alimentant l'activité des bactéries hétérotrophes dans les eaux de surface. Or, aucune donnée relative à la biodisponibilité de la matière organique atmosphérique n'existe en mer Méditerranée. **Le manque de données relatives à la fois aux flux atmosphériques de matière organique et à leur potentiel biodisponibilité entrave l'évaluation du rôle biogéochimique que peuvent avoir ces dépôts atmosphériques sur la biogéochimie de l'océan de surface, tant sur le réservoir de DOM mais aussi sur l'export de carbone.**

6. Objectifs de la thèse

Le caractère non Redfieldien du réservoir de matière organique dissoute océanique suscite depuis quelques décennies l'intérêt de la communauté scientifique en raison de sa contribution significative à l'export de carbone, particulièrement dans l'océan oligotrophe. Cependant, une meilleure compréhension du réservoir de matière organique dissoute au niveau de ces régions requiert des informations quant aux sources externes de matière organique à l'océan, notamment le dépôt atmosphérique. **Ce travail de thèse vise à quantifier les flux de matière organique, incluant C, N et P, provenant des dépôts atmosphériques dans le but d'évaluer leur contribution au réservoir de la matière organique dissoute de surface en mer Méditerranée.**

Pour ce faire, la première partie de cette thèse (**chapitre III**) est consacrée à la quantification du phosphate organique dissous de surface, peu connu en raison des faibles concentrations en phosphate inorganique dissous qui contraignent sa quantification. Cette étude s'appuie sur deux campagnes océanographiques, les campagnes MOOSE-Ge et BioargoMed ayant eu lieu en mer Méditerranée Occidentale et Orientale, respectivement, et vise à :

- Elargir la couverture spatiale des données de phosphate inorganique dissous et phosphate organique dissous *via* l'utilisation d'une méthode d'analyse sensible, le *Liquide Waveguide Capillary Cell (LWCC)*.
- Contraindre la variabilité verticale du phosphate inorganique dissous et du phosphate organique dissous.
- Revisiter le rapport N:P à la fois dans le réservoir inorganique et organique.

La seconde partie de cette thèse (**chapitre IV**) vise à évaluer le rôle potentiel des apports atmosphériques en matière organique sur la biogéochimie du réservoir de matière organique dissoute. Pour y répondre, un suivi simultané des flux atmosphériques et des stocks océaniques de matière organique dissoute est mis en place dans le but de :

- Quantifier les flux atmosphériques en carbone organique dissous, azote organique dissous et phosphate organique dissous.

- Quantifier parallèlement les stocks océaniques en carbone organique dissous, azote organique dissous et phosphate organique dissous ainsi que l'activité des bactéries hétérotrophes, organismes jouant un rôle principal dans le contrôle du réservoir de matière organique dissoute dans les eaux de surface.
- Evaluer la contribution potentielle de la matière organique atmosphérique au cycle de la matière organique dissoute océanique.

La troisième partie de cette thèse (**chapitre V**) vise à examiner le devenir de la matière organique atmosphérique au niveau océanique. Pour ce faire, deux expériences en microcosmes ont été réalisées au laboratoire pour quantifier la disponibilité potentielle pour les bactéries hétérotrophes marines du carbone organique dissous contenu (1) dans une pluie saharienne et (2) deux types d'aérosols, anthropique et desertique.

La dernière partie de cette étude (**chapitre VI**) consiste en une synthèse des principaux résultats ainsi qu'une ouverture à la réflexion sur de nouvelles voies, pouvant permettre une meilleure compréhension de l'impact du dépôt atmosphérique sur l'export de carbone océanique.

I.7. Cadre programmatique de la thèse

AIOLOS (Atmospheric input of terrestrial organic matter to the surface Mediterranean Sea: origin, fluxes and fate in the water column)

Durée du projet : 2014-2017

Responsables du projet : Elvira Pulido-Villena et Christos Pangiotopoulos.

Financement (10K euros et la bourse de thèse de K. Djaoudi) : Labex OT-Med (<http://www.otmed.fr/>)

Laboratoires impliqués : Institut Méditerranéen d'océanologie (MIO, C. Panagiotopoulos et E. Pulido). Collaboration : Instituto de biofisica-CNR (C. Santinelli).

Objectifs du projet : Le projet AIOLOS vise à explorer la composante organique des aérosols en termes de flux, de source et de devenir en mer Méditerranée et a pour objectif d'apporter des éléments de réponse quant aux questions suivantes : (1). Qu'elles sont les flux atmosphériques en matière organique en termes de carbone, d'azote et de phosphate mais également en termes de composés spécifiques (i.e. sucres et lipides) en mer Méditerranée et comment ces flux varient-ils saisonnièrement ? (2). Quelle sont les sources de cette matière organique atmosphérique et qu'elle est la contribution relative de chacune d'elles aux flux de matière observés en mer Méditerranée ? Est-il possible de combiner différents traceurs isotopiques afin d'évaluer l'origine des composants issus des feux de biomasses ? (3). Quel est le devenir de la matière organique atmosphérique au niveau des eaux de surface Méditerranéenne ? Comment et à quel degré peut-elle être dégradé et quelles sont les conséquences sur le cycle du carbone ? La stratégie de recherche adoptée dans le cadre du projet AIOLOS, pour répondre à ces objectifs, combine une approche observation incluant un suivi atmosphérique et marin et une approche expérimentale regroupant un ensemble d'expériences en microcosmes réalisées au laboratoire. Dans le cadre de cette thèse, les volets 1 et 3 ont été explorés.

BATO (Dissolution and Bioavailability of Aerosol-derived Terrestrial Organic matter at the ocean- atmosphere interface).

Durée du projet : 2016-2017

Responsable du projet : Elvira-Pulido Villena

Financement (25 K euros) : LEFE-Cyber

Laboratoires impliqués : Institut Méditerranéen d'Océanologie (MIO), Laboratoire Interuniversitaire des Systèmes atmosphériques (LISA).

Objectifs du projet : L'objectif principal du projet BATO est d'apporter de nouvelles informations quant à la contribution des dépôts en aérosols au stock et au cycle de la matière organique dissoute et ceci en évaluant : (1). L'influence de la source de l'aérosol et de son mode de dépôt sur le relargage de la matière organique terrestre dans de l'eau de mer et (2). La biodisponibilité de la matière organique issue de l'aérosol au niveau de l'eau de mer de surface. La stratégie adoptée dans le cadre du projet BATO repose sur des expériences d'ajout d'aérosols naturels et anthropiques dans de l'eau de pluie et dans de l'eau de mer artificielle sous des conditions abiotiques et biotiques. Le plan de recherche implique 3 volets : (1). La collection des aérosols, (2). L'étude de la dissolution de la matière organique issue des aérosols dans de l'eau de pluie et dans de l'eau de mer artificielle et (3). L'étude de la biodisponibilité de la matière organique issue des aérosols. Les activités de recherches proposées dans le cadre du projet LEFE-BATO ont été accomplies par une équipe interdisciplinaire regroupant des atmosphériciens (LISA, K. Desboeufs), des chimistes (MIO, M. Tedetti et C. Panagiotopoulos), des biogéochimistes (MIO, E. Pulido-Villena et D. Lefèvre) et des microbiologistes (MIO, F. Van Wambeke). Dans le cadre de ce travail de thèse, les volets 1 et 3 ont été explorés.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Sommaire

II.1. Sites d'étude	32
II.2. Techniques de prélèvement	34
II.2.1. Prélèvements marins	34
II.2.2. Prélèvements atmosphériques.....	36
II.3. Approche expérimentale	38
II.3.1. Biodégradabilité de la matière organique soluble contenue dans une pluie ayant une signature désertique.....	38
II.3.2. Biodisponibilité de la matière organique soluble contenue dans des aérosols désertiques et anthropiques.	40
II.4. Techniques de mesure et protocoles d'analyse	45
II.4.1. Paramètres hydrologiques.....	45
II.4.2. Carbone organique dissous.....	46
II.4.3. Analyse de l'azote et du phosphate dissous.....	47
II.4.4. Abondance bactérienne	56
II.4.5. Respiration bactérienne.....	56
II.4.6. Production bactérienne.....	58
II.5. Traitement des données	59

II. Matériel et Méthodes

II.1. Sites d'étude

Le réservoir de surface de phosphate dissous, incluant le phosphate inorganique dissous (DIP) et le phosphate organique dissous (DOP), a été étudié au cours de deux campagnes océanographiques en période de stratification, les campagnes MOOSE-GE et BioargoMed. Les objectifs de cette étude sont : (1) élargir la couverture spatiale des données valides de DIP et de DOP pour une meilleure compréhension de la dynamique biogéochimique du P dans la couche de surface et (2) revisiter le rapport N:P autant dans le réservoir inorganique qu'organique dans la couche de surface.

La campagne MOOSE-GE, composante du programme MOOSE (*Mediterranean Ocean Observing System on Environment*, <http://doi.org/10.18142/235>) a eu lieu en Méditerranée Nord Occidentale à bord du R/V *Le Suroît*, entre le 10 et 26 Juillet 2015. Des prélèvements ont été effectués entre la surface et 100 m à 25 stations, entre 6°E et 10°E et entre 42°N et 44°N (Figure II. 1).

La campagne BioArgomed a été réalisée dans le cadre du programme NAOS (*Novel Argo observing Ocean System*, <http://doi.org/10.17882/51678>) à bord du R/V *Téthys II*, entre le 16 et 31 Mai 2015. Des prélèvements ont été effectués entre la surface et 120 m à 6 stations, entre 11°E et 30°E et entre 33°N et 40°N (Figure II. 1).

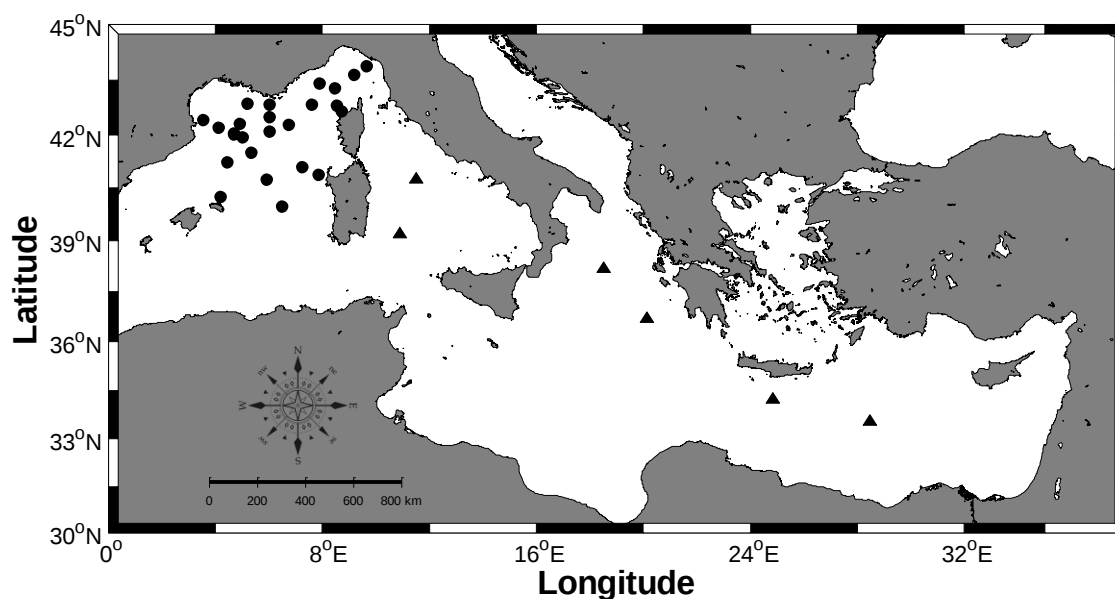


Figure II. 1: Stations prélevées durant les campagnes MOOSE-GE (10-26 Juillet 2015, cercles) et BioArgoMed (16-31 Mai 2015, triangles).

La variabilité temporelle du réservoir de surface de matière organique dissoute (DOM) en mer Méditerranée a été étudiée à bord du *R/V Téthys II* au niveau de la station permanente d'observation, MOOSE-Antares (<http://campagnes.flotteoceanographique.fr/campagnes/10450170/fr/>) (Figure II. 2), station fixe située au large de Toulon (42,81° N et 06,00° E). L'abondance, la respiration et la production des bactéries hétérotrophes ainsi que les concentrations de carbone organique dissous (DOC), d'azote organique dissous (DON), de DOP et de phosphate organique dissous labile (LDOP) ont été quantifiées entre la surface et 200 m une fois par mois, durant la période allant du mois d'avril 2015 au mois de juin 2016. En raison de conditions météorologiques défavorables, les prélèvements du mois de novembre 2015 et ceux entre les mois de janvier et mars 2016 n'ont pas été effectués.

Parallèlement au suivi de la variabilité temporelle du réservoir de DOM de surface, un suivi du dépôt atmosphérique total (sec et humide) de matière organique dissoute a été mis en place sur l'île du Frioul au niveau du sémaphore, se situant à une altitude de 87 m par rapport au niveau de la mer. L'île du Frioul est située à 7 km au large de Marseille (43°15'59,85" ; 5°17'38,06") (Figure II. 2), c'est un des sites d'observation de dépôt atmosphérique du programme MOOSE (http://www.moose-network.fr/?page_id=699). Au cours de ce suivi, les flux atmosphériques en DOC, DON, DOP et LDOP ont été quantifiés. Un prélèvement a été réalisé tous les 15 jours durant la période allant du 18 Mars 2015 au 27 Juillet 2016. En situation d'événement humide, l'échantillon a été récupéré juste après la pluie.

L'objectif du suivi simultané du dépôt atmosphérique et de la couche de surface est d'évaluer la contribution du dépôt atmosphérique de matière organique au cycle de la DOM en mer Méditerranée Nord Occidentale de surface.

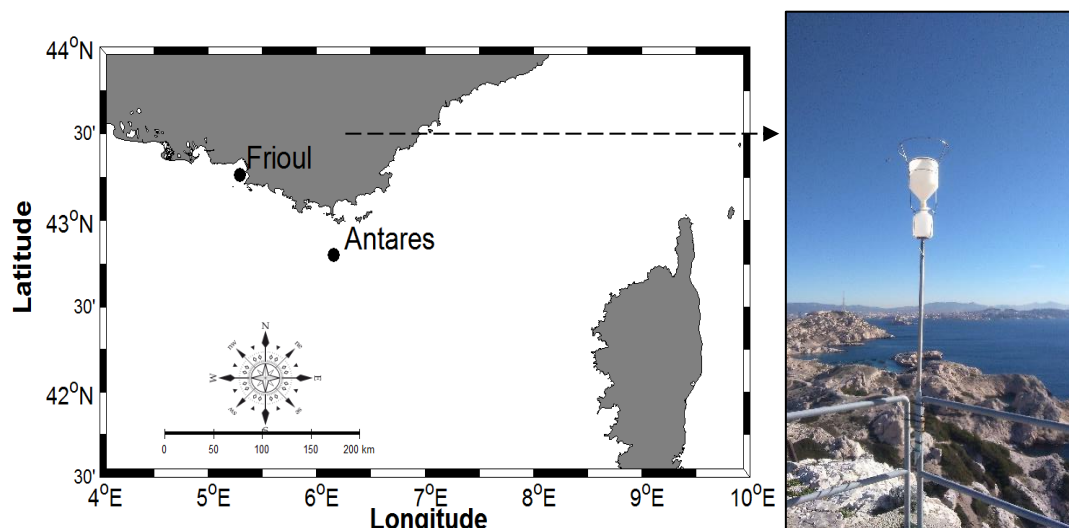


Figure II. 2: Stations fixes d'observation des flux atmosphériques de matière organique dissoute (île du Frioul) et des stocks océaniques de matière organique dissoute (MOOSE-Antares). B. Collecteur de dépôt atmosphérique total mis en place sur l'île Frioul, au niveau du sémaphore à hauteur de 2 m par rapport au sol.

II.2. Techniques de prélèvement

II.2.1. Prélèvements marins

Les prélèvements dans la colonne d'eau ont été réalisés à l'aide de 12 bouteilles Niskin montées sur une rosette équipée d'une CTD Seabird® (SBE 911 + CTD).

Au cours des campagnes océanographiques MOOSE-GE et BioargoMed, des prélèvements ont été effectués pour l'analyse des paramètres suivants : phosphate inorganique dissous (DIP), phosphate total dissous (TDP, pour *total dissolved phosphate*), azote inorganique dissous (DIN, pour *dissolved inorganic nitrogen*), azote total dissous (TDN, pour *total dissolved nitrogen*) et carbone organique dissous (DOC). Les données de DOC obtenues dans le cadre de ces deux campagnes n'ont pas été exploitées en raison d'un nombre important d'échantillons contaminés. Pendant la campagne MOOSE-GE, 4 profondeurs ont été prélevées en duplicat. Les profondeurs ont été choisies à partir des profils verticaux d'anomalie de densité et de fluorescence (Figure II. 3). Les profils d'anomalie de densité permettent de définir la profondeur de la couche de mélange (MLD, pour *mixed layer depth*). Ainsi, au niveau de cette MLD, un point de prélèvement a été défini (profondeur 1, Figure II. 3). A partir des profils de fluorescence, caractérisés par un maximum de subsurface en période de stratification (voir par exemple : Lavigne *et al.*, 2015), 3 points de prélèvement ont été définis : un point au maximum de fluorescence (profondeur 3, Figure II. 3) et deux points aux

bases supérieure et inférieure du gradient de fluorescence (profondeurs 2 et 4, Figure II. 3).

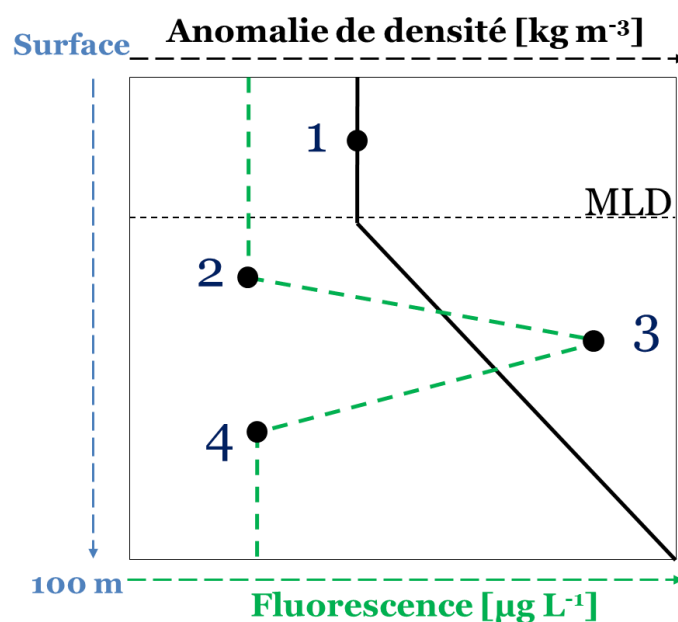


Figure II. 3: Schéma représentant les profondeurs de prélèvement lors de la campagne MOOSE- GE, choisies à partir des profils d'anomalie de densité (courbe noire en trait plein) et de fluorescence (courbe verte en tirets). La ligne noire horizontale en tirets représente la profondeur de la couche de mélange (MLD).

Pendant la campagne BioargoMed, 6 profondeurs ont été prélevées entre la surface et 120 m en duplicat.

Au cours des deux campagnes, un volume de 60 mL a été prélevé pour chaque paramètre, a été filtré à l'aide de filtres seringues 0,2 µm préalablement rincés à l'eau ultrapure et a été disposé dans des flacons HDPE (pour *high density polyethylene*) propres¹.

La concentration de DIN et de DIP des blancs de filtration a été obtenue en filtrant 60 mL d'eau ultrapure sur les filtres seringues 0,2 µm. La concentration de DIN dans les blancs de filtration a été inférieure à la limite de détection de la méthode de mesure classique. La concentration de DIP dans les blancs de filtration a été de $2,8 \pm 0,6$ nM ($n = 5$), concentration non significativement différente de celle obtenue pour de l'eau ultrapure non filtrée ($2,2 \pm 0,3$ nM, $n=5$). Les échantillons ont été par la suite conservés dans un congélateur (-20°C) en attendant l'analyse.

¹ Le terme propre fait référence à un lavage à l'acide chlorydrique 10% et à l'eau ultrapure.

Lors du suivi temporel du réservoir de surface de DOM au niveau de la station fixe MOOSE-Antares, des prélèvements ont été effectués pour l'analyse des paramètres suivants : DOC, DIN, TDN, DIP, TDP, le phosphate organique dissous labile (LDOP, pour *labile dissolved organic phosphate*), l'abondance bactérienne, (BA, pour *bacterial abundance*), la production bactérienne hétérotrophe (BP, pour *bacterial production*) et la respiration communautaire (CR, pour *community respiration*). Quatre à sept profondeurs entre la surface et 200 m ont été prélevées au cours de ce suivi.

Pour les mesures de DOC, DIN/TDN, DIP/TDP et LDOP, les échantillons ont été prélevés en duplicat pour chaque paramètre et disposés dans des flacons HDPE propres¹ après avoir été filtrés sur des filtres en polycarbonate 0,2 µm propres¹, préalablement rincés avec 500 mL d'eau ultrapure. Les échantillons ont été congelés (-20°C) en attendant l'analyse.

Pour les mesures de l'abondance bactérienne (BA, pour *bacterial abundance*), les échantillons ont été prélevés en duplicat (volume prélevé : 1,8 mL) et disposés dans des cryotubes où un volume de 200 µL de paraformaldéhyde (20%) a préalablement été disposé. Les échantillons ont été laissés 15 minutes à température ambiante et puis ont été placés dans un congélateur (-20°C) disponible à bord du *R/V Téthys II*. Au retour au laboratoire, les échantillons ont été conservés à -80°C en attendant l'analyse.

Les mesures de BP et BR sont discutées dans la section (II.4.5.1 et II.4.6)

II.2.2. Prélèvements atmosphériques

Le prélèvement atmosphérique s'est effectué à l'aide d'un collecteur de dépôt atmosphérique total (Figure II. 2). Le collecteur consiste en une bouteille (HDPE) de 2 L surplombée d'un entonnoir (HDPE), où entre les deux, une maille de 40 µm propre a été disposée afin d'éviter une introduction de débris et/ou d'insectes. Le collecteur a été mis en place au niveau du sémaphore sur l'île du Frioul, à une hauteur de 2 m par rapport au sol (Figure II. 2).

Avant chaque prélèvement, le collecteur a été lavé à l'HCl (10%) et à l'eau ultrapure. Après prélèvement, le collecteur a été ramené au laboratoire. Sous une hotte à flux laminaire, les parois internes de l'entonnoir ont été rincées avec un volume de 100 mL d'eau ultrapure de manière à lessiver les poussières et les particules s'y étant déposées. En cas d'événement sec ou de faibles pluies, le volume collecté a été complété

avec de l'eau ultrapure pour atteindre 600 mL, volume nécessaire pour effectuer les analyses prévues. Quatre cents mL du volume collecté ont été filtrés à travers un filtre en polycarbonate 0,2 µm propre¹ en vue des analyses des concentrations en DOC, DON, DOP, LDOP et ont été disposés dans des flacons HDPE propres. Les échantillons ont été congelés (-20 °C) en attendant l'analyse.

Le matériel particulaire (PM, pour *particulate matter*) du dépôt atmosphérique a également été quantifié (Eq II. 1). Pour ce faire, un volume de 200 mL a été filtré à travers un filtre GF/F (préalablement séché et pesé). Le filtre a par la suite été remis dans une étuve (60°C) et a été pesé une nouvelle fois 48 h après. La concentration en PM est déterminée de la façon suivante :

$$\text{Eq II.1} \quad PM(mg L^{-1}) = (PM_{\text{avant filtration}} - PM_{\text{après filtration}}) / \text{volume filtré}$$

Des blancs de prélèvement atmosphérique ont été effectués au cours de la période du suivi, dans le but de quantifier une éventuelle contamination provenant du collecteur. Pour ce faire, un dépôt humide a été simulé en utilisant de l'eau ultrapure et a été laissé en contact avec les parois du collecteur pendant 15 jours (temps correspondant aux périodes de prélèvement). Les concentrations de DOC, DOP et DON ont par la suite été analysées (Tableau II. 1).

Encadré II. 3 : soluble versus dissous

La fraction organique des dépôts atmosphériques quantifiés dans le cadre de cette thèse correspond à la fraction qui s'est solubilisée dans de l'eau de pluie, dans de l'eau ultrapure ou bien dans de l'eau de mer artificielle tel que nous le verrons dans la section qui suit (II.3). Néanmoins, ayant procédé à une filtration, ce qui est analysé correspond à la fraction dissoute. De ce fait, dans le manuscrit nous utiliserons le terme dissous pour nous référer à cette fraction soluble.

La contribution de ces valeurs de blancs aux plus faibles concentrations mesurées a été inférieure à 5% pour N et P et à 15% pour le carbone (Tableau II. 1).

Tableau II. 1: Concentrations en DOC, DIP, TDP, DIN et TDN obtenues après analyse des blancs de prélèvement atmosphériques. Les pourcentages de contribution aux plus faibles concentrations mesurées sont présentés entre parenthèses.

27/02/2015		<LD	<LD	0,13 (1,5%)	0,28 (2,1%)
02/06/2015	7 (14%)	<LD	<LD	0,15 (1,8%)	0,53 (4,0%)
04/02/2016	8 (16%)	<LD	<LD	0,14 (1,7%)	0,41(3,1%)

II.3. Approche expérimentale

Pour une compréhension du devenir de la DOM provenant du dépôt atmosphérique, sa biodisponibilité pour les bactéries hétérotrophes de surface a été évaluée. Pour ce faire, deux expériences de biodégradation ont été réalisées dans le cadre de cette thèse. La première a été effectuée sur la DOM contenue dans une pluie ayant une signature saharienne (II.3.1) et la seconde a été effectuée sur la DOM contenue dans des aérosols désertiques et anthropiques (II.3.2).

II.3.1. Biodégradabilité de la matière organique soluble contenue dans une pluie ayant une signature désertique.

La biodégradabilité potentielle de la DOM atmosphérique a été suivie, pendant 11 jours, dans une eau de pluie saharienne. L'eau de pluie a été collectée le 7 avril 2016 et a englobé un événement de poussières sahariennes ayant eu lieu le 02 avril 2016 (voir section : II.5).

Design de l'expérience

La salinité de l'eau de pluie collectée (volume collecté = 600 mL) a été réajustée à 35 g L⁻¹ en introduisant du NaCl préalablement calciné (6 heures, 450°C). Cette eau de pluie a par la suite été répartie, sous une hotte à flux laminaire, en triplicat dans des bouteilles en polycarbonate propres préalablement stérilisées au four à micro-ondes (10 mn, 700 watts) selon le protocole de Keller *et al.* (1988). Un assemblage de bactéries marines hétérotrophes a été introduit dans chacun des triplicats (Figure II. 4). Un contrôle a été lancé parallèlement et a consisté en un volume de 600 mL d'eau ultrapure précédemment réajusté à une salinité de 35 g L⁻¹ où un assemblage de bactéries marines hétérotrophes a également été introduit (Figure II. 4). Ces bio-essais n'ont pas été enrichis en azote ni en phosphate car l'eau de pluie collectée présentait des concentrations de DIN et DIP de 26 µM et de 271 nM, respectivement.

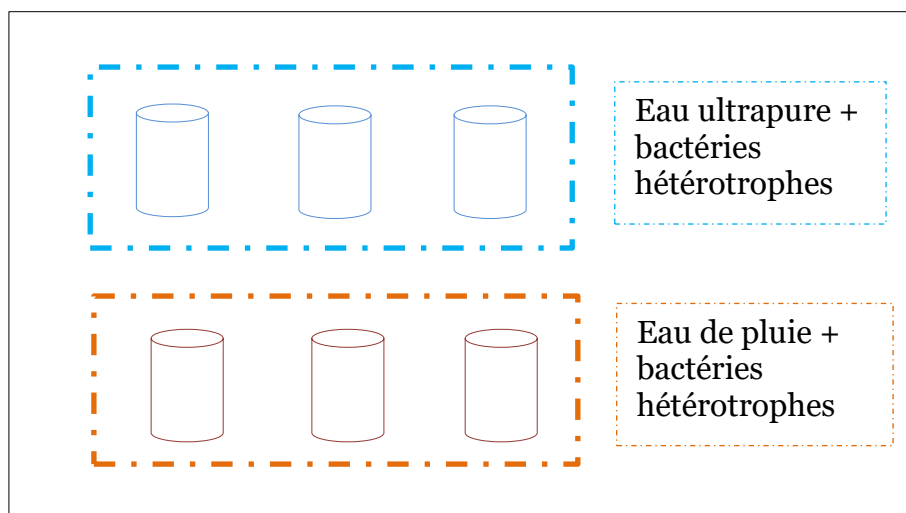


Figure II. 4: Représentation schématisée de l'expérience visant à étudier la biodégradabilité du DOC contenu dans une pluie saharienne.

Ces bio-essais ont été incubés 11 jours dans un incubateur au noir à une température de 18°C. Au cours de cette période, un suivi de la concentration de DOC, BA et BP a été effectué. Le récapitulatif des volumes prélevés et des pas de temps de prélèvement pour ces trois paramètres est présenté dans le [Tableau II. 2](#).

Tableau II. 2: Volumes prélevés et pas de temps de prélèvements effectués pour l'analyse de DOC, BA et BP lors de l'étude de la biodisponibilité du DOC contenu dans une pluie ayant une signature saharienne.

Paramètres*		DOC	BA	BP
Volume prélevé [mL]		15	1,8	1,5
Temps de prélèvements (jours)	0	X	X	X
	0,5	X	X	X
	1	X	X	X
	2			X
	3			X
	7	X	X	X
	8	X	X	X
	11	X	X	X

*Le procédé de filtration, le flaconnage utilisé, le conditionnement et la conservation des échantillons de DOC, BP et BA ont été les mêmes que ceux utilisés pour les échantillons marins lors du suivi temporel du réservoir de DOM de surface au niveau de la station fixe d'observation MOOSE-Antares.

• Préparation de l'assemblage de bactéries hétérotrophes

L'assemblage de bactéries marines hétérotrophes a été obtenu en concentrant de l'eau de mer de surface. Le procédé de concentration de l'eau de mer permet d'avoir

une abondance cellulaire de bactéries hétérotrophes représentative du milieu naturel dans le volume à incuber tout en minimisant la quantité de DOM d'origine marine introduite (i.e. Lechtenfeld *et al.*, 2015). Ce procédé de concentration présente un avantage particulier pour notre étude puisqu'en minimisant la concentration de DOC marin introduit dans les bouteilles, la DOM atmosphérique reste la source principale de carbone disponible pour les bactéries hétérotrophes.

Ainsi un volume de 10 L d'eau de mer, prélevé en surface (5 m) sur le site MOOSE- Antares en avril 2016, a immédiatement été filtré à travers une maille de 40 μm propre¹ afin d'éliminer les plus grosses particules. Ensuite, un volume de 2 L de l'eau de mer < 40 μm a été filtré avant le début de l'expérience à travers un filtre en polycarbonate 0,8 μm propre (lavés à l'HCl 10% et ricés abondamment à l'eau ultrapure). Cette eau de mer < 0,8 μm a par la suite été concentrée sur un filtre en polycarbonate 0,2 μm propre (lavés à l'HCl 10% et ricés abondamment à l'eau ultrapure). A la fin de la filtration, un volume de 100 mL du surnageant décanté a été récupéré avec le filtre en polycarbonate 0,2 μm et a été traité aux ultrasons pendant 5 mn pour détacher les bactéries hétérotrophes attachées sur le filtre. Un volume de 10 mL du concentré de bactéries hétérotrophes obtenu a finalement été introduit dans les bouteilles d'incubation sous une hotte à flux laminaire. Dans le cadre de cette première expérience, pour un volume total incubé de 1 200 mL (200 mL x 6), un volume de 1,5 L d'eau de mer < 0,8 μm a été concentré. Le volume non utilisé (40 mL) a été conservé pour une analyse de DOC, BA et BP dans cet inoculum dans le but de vérifier la concentration du DOC marin éventuellement introduit d'une part, et la viabilité des bactéries hétérotrophes marines, d'autre part (Tableau II. 3).

Tableau II. 3: Concentration en DOC, BA et BP dans l'inoculum.

	Inoculum (10 mL)
DOC [μM]	82 ± 2
BA [cellules mL^{-1}]	$1,6 \times 10^6$
BP [$\text{ng C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$]	126

II.3.2. Biodisponibilité de la matière organique soluble contenue dans des aérosols désertiques et anthropiques.

La biodisponibilité potentielle de la DOM atmosphérique contenue dans des aérosols désertiques et anthropiques a été étudiée dans le cadre du projet LEFE-BATO. L'expérience a consisté à incuber un assemblage de bactéries hétérotrophes marines

dans de l'eau de mer artificielle enrichie en azote et phosphate, dans laquelle des aérosols désertiques et anthropiques ont par la suite été introduits.

• Collecte des aérosols

Les aérosols désertiques et anthropiques ont été collectés à l'aide d'échantillonneurs à grand volume, sur des filtres Pall Flex® en quartz préalablement calcinés (10 h, 450°C) de dimension 203 x 254 mm².

La collecte de l'aérosol désertique a été effectuée à l'institut des régions arides de Médenine au Sud-Est de la Tunisie, source majeure de poussières désertiques pour la mer Méditerranée (Prospero *et al.*, 2012). Cinq filtres ont été collectés entre le 6 et le 30 juin 2016 grâce à la participation de M. Tedetti (MIO), de Jean Louis Rajot (IRD-LISA) et de Mohamed Labiadh (IRA, Médenine) (Tableau II. 4).

La collecte de l'aérosol anthropique a été effectuée à Marseille sur le toit de la station marine d'Endoume grâce à la collaboration d'A. Nouara. Le prélèvement a été effectué de manière continue entre le 10 et 17 mars 2016 (Tableau II. 4). Tous les filtres ont été congelés (-20 °C) en attendant le début de l'expérience.

Tableau II. 4: Récapitulatif des dates de collecte des aérosols désertiques et anthropiques, de la durée de la collecte, du débit moyen de l'échantillonneur et de la masse d'aérosols collectée.

	Date début collecte	Durée collecte ; [h]	Débit moyen ; [m ³ mn ⁻¹]	Masse collectée ; [g]
Med_1	06/06/2016	72	39,9	0,24
Med_2	12/06/2016	24	25,2	0,31
Med_3	16/06/2016	24	26,1	0,72
Med_4	19/06/2016	24	24,8	0,12
Med_5	30/06/2016	24	25,6	0,41
Anthropique	10/03/2016	168	1,42	0,54

• Design de l'expérience

Dans le cadre de cette expérience, 3 différentes sources de carbone à la même concentration ont été introduites dans chaque traitement : (1) le glucose (G), comme source de carbone facilement utilisable par les bactéries marines, (2) l'aérosol désertique (D) et (3) l'aérosol anthropique (A) (Figure II. 5). Un quatrième traitement fait office de contrôle (C) (Figure II. 5).

L'expérience a été réalisée dans de l'eau de mer artificielle pour n'avoir comme seule source de carbone que celle introduite par les traitements. L'eau de mer artificielle a été préparée en ajoutant du NaCl calciné (6 heures, 450°C) dans 7L d'eau ultrapure de manière à avoir une salinité de 36 g L⁻¹. Un enrichissement en N et P a été effectué, *via* l'ajout de 1 µM de NH₄Cl, 1 µM de NaNO₃ et 0,3 µM de KH₂PO₄, de manière à éviter une limitation des bactéries hétérotrophes par les nutriments, notamment dans le traitement glucose.

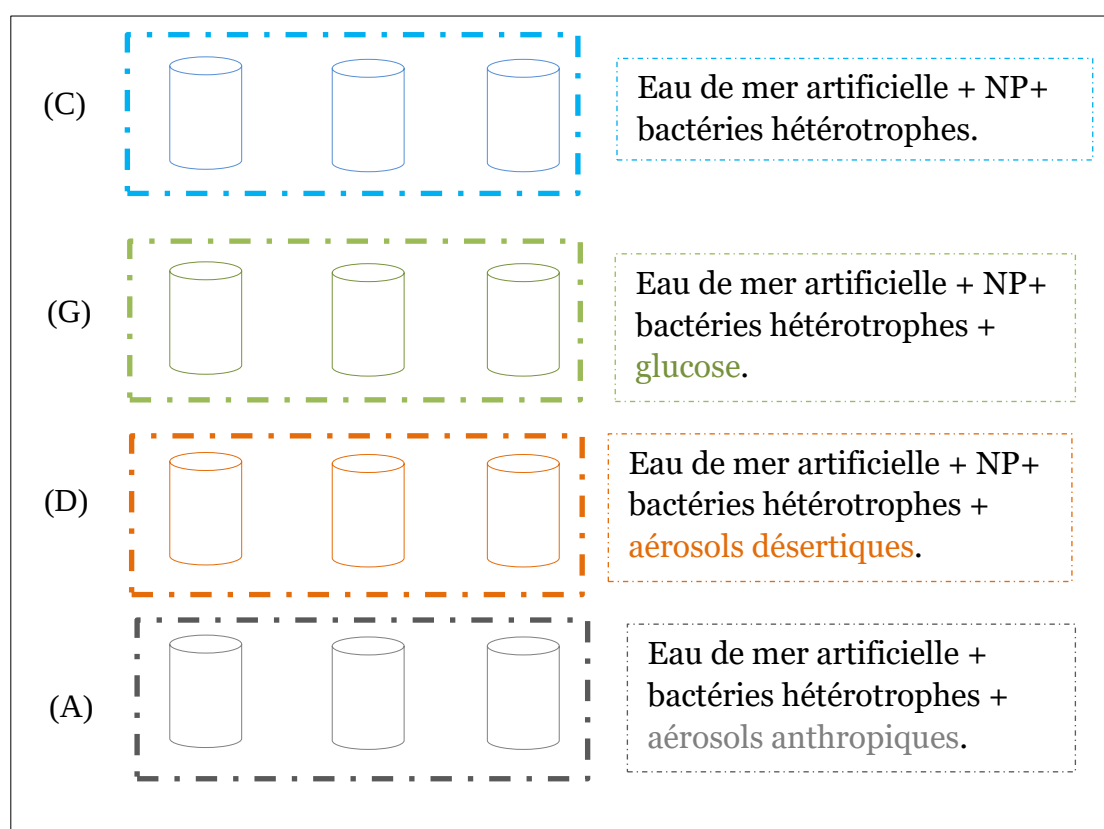


Figure II. 5: Représentation schématique de l'expérience visant à étudier la biodisponibilité de la SOM de différentes origines. (C) représente le traitement contrôle, (G) le traitement glucose, (D) le traitement en aérosols désertiques et le traitement en aérosols anthropiques.

Un des principaux objectifs du design expérimental a été de démarrer les incubations avec la même concentration de DOC dans les différents traitements. Pour déterminer cette concentration, le DOC contenu dans les aérosols désertiques (Med 3) et anthropiques a été quantifié. Pour ce faire, une surface de 1 cm² de chaque filtre a été lixiviée pendant 40 minutes dans un volume de 20 mL. La concentration de DOC a été analysée après filtration des *lechates* à travers un filtre GF/F calciné (450°C, 6

heures) (Tableau II. 5). Un pourcentage de solubilité a été calculé pour les deux types d'aérosols en divisant la quantité de DOC sur la quantité de carbone totale (TOC, pour *total organic carbon*). La teneur en TOC a été analysée par Karine Desboeufs (LISA) à l'aide d'une méthode thermo-optique (analyseur OC/EC, Sunset Laboratories Inc) (http://www.lisa.u-pec.fr/~formenti/Tools/Manuals/SUNSET_ec_oc_monitor_lab_version.pdf) (Tableau II. 5). Du fait de la faible quantité de DOC contenue dans le filtre désertique en comparaison au filtre anthropique (Tableau II. 5), la concentration du DOC dans le volume à incuber (7 L x 3) pour chaque traitement a été fixée à 31 µM. De ce fait, les deux filtres contenant l'aérosol désertique collecté les 16 et 30 juin-2016 (Med-3 et Med-5) et une surface de 79 x 79 mm² du filtre anthropique ont été lixiviés dans de l'eau ultrapure. Les filtres ont en premier lieu été prédécoupés en petits morceaux, introduits dans des volumes de 650 mL d'eau ultrapure, traités aux ultrasons pendant 40 mn et ont finalement été filtrés à travers un filtre GF/F calciné (450°C, 6 heures). Le filtrat obtenu est par la suite réparti dans les bouteilles associées aux traitements correspondants.

Tableau II. 5 : Quantité de carbone organique dissous (DOC) contenu dans les filtres désertiques et anthropiques et pourcentage de solubilité obtenue en divisant le DOC sur la carbone organique total (TOC) contenu dans chaque filtre.

1 cm ² → 20 mL	DOC [µM]	DOC /filtre [µmol C]	TOC/filtre [µmol C]	Pourcentage de solubilité [%]
Med 3	48	494	3 800	13
Anthropique	221	2 280	7008	32

L'inoculum bactérien a été obtenu à partir d'une eau de mer de surface prélevée au niveau du site MOOSE-Antares en octobre-2016. La préparation de l'inoculum de bactéries hétérotrophes s'est effectuée de la même façon que pour l'expérience précédente. Néanmoins, en raison des importants volumes incubés (7 L), un volume d'eau de mer de 10 L < 0,8 µm est concentré sur un filtre polycarbonate 0,2 µm propre. Un volume de 15 mL d'inoculum a été introduit dans chaque bouteille d'incubation. Le volume non utilisé a été conservé pour une analyse du DOC, BA et BP dans cet inoculum dans le but de vérifier la concentration du DOC marin éventuellement introduit d'une part, et de vérifier la viabilité des bactéries hétérotrophes, d'autre part (Tableau II. 6).

Tableau II. 6: Concentration en DOC, BA et BP dans l'inoculum.

	Inoculum
DOC [μM]	120
BA [cellules mL^{-1}]	$39,6 \times 10^5$
BP [$\text{ng C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$]	264

Toutes les bouteilles ont été incubées dans une chambre thermostatée (plateforme cultures expérimentales, MIO) au noir à une température de 18°C pendant 15,7 jours. Pendant la période d'incubation, un suivi de la BP, BA, DOC, DON et DOP a été effectué (Tableau II. 7).

Tableau II. 7: Volumes prélevés et temps de prélèvements effectués pour l'analyse du DOC, DON, DOP, BA et BP au cours de l'étude de la biodisponibilité d'un aérosol désertique et anthropique.

Paramètres		DOC	DON	DOP	BA	BP
Volume prélevé [mL]		15	30	30	1,8	1,5
Temps de prélèvement [jours]	0	X	X	X	X	X
	0,7	X	X	X	X	X
	1,7	X			X	X
	2,7	X			X	X
	3,7	X			X	X
	4,7	X			X	X
	5,7	X			X	X
	6,7	X	X	X	X	X
	7,7	X			X	X
	8,7	X			X	X
	11,7	X			X	X
	13,7	X	X	X	X	X
	15,7	X	X	X	X	X

Pour chaque pas de temps, les prélèvements ont été effectués par siphonage à l'aide de tuyaux en PVC propres¹ mis en place dans chaque bonbonne afin d'éviter les risques de contamination des milieux de culture et des échantillons. Pour les échantillons nécessitant une filtration préalable (DOC, DON, DOP), un porte filtre propre a été placé au bout du tuyau. Un filtre GF/F calciné (450°C , 6 heures) est utilisé pour la filtration des échantillons de DOC et un filtre polycarbonate $0,2 \mu\text{m}$ propre est utilisé pour la filtration des échantillons de DON et de DOP. Le récapitulatif des

volumes prélevés et des pas de temps de prélèvement pour les différents paramètres est présenté dans le [Tableau II. 7](#).

Les échantillons de DOC ont été prélevés dans des ampoules en verre préalablement calcinées (6 h, 450°C). Un volume de 50 µL d'acide phosphorique (H₃PO₄, 85%) a par la suite été introduit dans chacune des ampoules en verre avant de les sceller à la flamme. Les échantillons ont été conservés au réfrigérateur (4°C) en attendant l'analyse. Les échantillons destinés à l'analyse de DON et DOP ont été prélevés dans des flacons HDPE propres¹ et ont été congelés (-20°C) en attendant l'analyse. Les échantillons de BA ont été prélevés dans des cryotubes et ont été fixés avec ajout d'un volume de 18 µL d'une solution de glutaraldéhyde. Le prélèvement et l'incubation des échantillons destinés à une mesure de BP ont été les mêmes que ceux utilisés lors des suivis in situ (méthode détaillée en [II.4](#)). Néanmoins, au cours des premiers pas de prélèvement, le temps d'incubation des échantillons de BP a été de 6 heures.

II.4. Techniques de mesure et protocoles d'analyse

Le [Tableau II. 8](#) fait un inventaire des paramètres analysés dans le cadre de cette thèse.

II.4.1. Paramètres hydrologiques

Au cours des campagnes océanographiques MOOSE-GE et BioArgoMed ainsi qu'au cours du suivi marin au niveau de la station fixe MOOSE-Antares, les mesures de conductivité, de température et de profondeur ont été obtenues à l'aide d'une CTD Seabird®. Des données d'oxygène et de fluorescence ont également été fournies par des capteurs implémentés sur la CTD Seabird®.

Tableau II. 8: Récapitulatif des différents paramètres analysés, instruments utilisés, et personnes en charge des analyses.

Paramètres	Instrument de mesure	Analystes
Paramètres hydrologiques	CTDO SBE	Nagib Bhairy Kahina Djaoudi Joris Guittoneau
DOC	TOC-VCSH- SHIMADZU Analyzer®	Kahina Djaoudi Christos Panagiotopoulos
DIN/TDN et DIP/TDP (Compartiment atmosphérique et marin)	Technicon Autoanalyzer®	Kahina Djaoudi Sandra Hélias-Nunige Elvira Pulido-Villena
DIP/TDP nano-molaire	LWCC-spéctrophotomètre	Kahina Djaoudi
LDOP	LWCC-spéctrophotomètre Technicon Autoanalyzer®	Kahina Djaoudi
BA	Cytométrie en Flux FacsCalibur	Kahina Djaoudi Emilie Pasero
BP	Liquid Scintillation Analyzer Packard-2100 TR®	Kahina Djaoudi France Van Wambeke
BR CR	Optodes Presens® Winkler	Kahina Djaoudi Dominique Lefèvre

II.4.2. Carbone organique dissous

La concentration de DOC dans les échantillons marins et atmosphériques a été analysé par la méthode HTCO (*High Temperature Catalytic Oxidation*) en utilisant un auto-analyseur par combustion haute température (TOC-VCSH- SHIMADZU) du plateau technique 'Chimie Organique et traceurs géochimiques' du MIO. Une droite d'étalonnage a été réalisée avant chaque série d'analyses, avec une solution mère de phtalate à 1 000 ng C L⁻¹. Quatre points de calibration entre 0 et 150 µM ont été mesurés pour les échantillons d'eau de mer. Un point de calibration à 300 µM a été rajouté pour les échantillons atmosphériques. La mesure consiste en des injections répétées, de 3 à 5 fois, de 100 µL du standard de calibration et/ou de l'échantillon. Le nombre d'injections dépend de l'écart type de la mesure. Si au bout de 3 injections l'écart type est inférieur à 2%, la mesure s'arrête sinon l'appareil réinjecte jusqu'à 5 fois. La précision de l'instrument a été déterminée en analysant un standard de référence (DSR, pour *deep sea water reference* ; D. Hansell, Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, Miami, USA), la moyenne obtenue pour le DSR est de 45 ± 2 µM C (n=24). Le DSR est mesuré dans le cadre de cette étude tous les 6 échantillons et

permet de corriger la concentration du DOC de la dérive de l'appareil au cours de la période d'analyse.

II.4.3. Analyse de l'azote et du phosphate dissous

L'analyse de l'azote (N) et du phosphate (P) (voir : Encadré II. 4 : Nomenclature du réservoir de phosphate dissous) repose sur des méthodes établies par Wood *et al.* (1967) et Murphy and Riley (1962), respectivement. Ces méthodes sont basées sur la formation de complexes colorés, dont l'extinction est mesurée par spectrophotométrie d'absorption. L'analyse des fractions inorganiques en N et P, azote inorganique dissous (DIN) et phosphate inorganique dissous (DIP), ne nécessite aucun traitement préalable. L'analyse des fractions totales en N et P, azote total dissous (TDN) et phosphate total dissous (TDP), requiert une oxydation (voir section : II.4.3.3). Les fractions organiques de N et P, l'azote organique dissous (DON) et le phosphate organique dissous (DOP), sont obtenues en soustrayant la fraction inorganique de la fraction totale.

$$\text{Eq. II. 2A} \quad \text{DON} = \text{TDN} - \text{DIN}$$

$$\text{Eq. II. 2B} \quad \text{DOP} = \text{TDP} - \text{DIP}$$

Encadré II. 4 : Nomenclature du réservoir de phosphate dissous

La méthode de Murphy and Riley (1962) pour le dosage du DIP repose sur la formation d'un complexe phospho-molybdique suite à la complexation des ions phosphates avec le molybdate d'ammonium et de sa réduction subséquente avec de l'acide ascorbique, réaction possible en présence de potassium antimonyl tartrate et d'acide sulfurique. La mesure de DIP selon cette méthode induit une hydrolyse d'une fraction du réservoir de DOP en raison de l'importante acidité du milieu, surestimant et sous-estimant les concentrations de DIP et DOP, respectivement. Pour cette raison, les termes phosphate soluble réactif (SRP, pour *soluble reactive phosphate*) et phosphate soluble non réactif (SNP, pour *soluble non reactive phosphate*) introduits par Strickland and Parsons (1972) sont mieux adaptés pour se référer au DIP et au DOP. Cependant, pour la clarté du manuscrit nous conservons les termes DIP et DOP.

II.4.3.1. Analyse classique de l'azote inorganique dissous et du phosphate inorganique dissous

L'analyse spectrophotométrique du DIN et du DIP dans les échantillons marins et atmosphériques a été réalisée par colorimétrie automatisée selon le protocole d'Aminot and Kerouel (2007), présentant une limite de détection de 50 nM et 20 nM pour N et P, respectivement. La calibration de chaque voie d'analyse est réalisée à l'aide de solutions standards, couvrant la gamme des concentrations rencontrées pour chaque élément. Selon l'échantillon à analyser, les solutions standards ont été préparées dans de l'eau de mer (échantillons marins) ou dans de l'eau ultrapure (échantillons atmosphériques) à partir de nitrate de potassium (KNO_3) et de dihydrogène-phosphate de potassium (KH_2PO_4).

II.4.3.2. Analyse sensible du phosphate inorganique dissous

Comme préalablement énoncé dans l'introduction, l'utilisation de la méthode classique ne permet pas de détecter et de mesurer les faibles concentrations de phosphate dans les eaux de surface de la mer Méditerranée (Encadré II. 5 : Méthodes de mesures des concentrations traces de DIP). De ce fait, une méthode plus sensible, impliquant l'utilisation du *Liquid Waveguide Capillary Cell (LWCC)* est appliquée dans cette thèse. Cette méthode repose sur le même principe spectrophotométrique que la méthode classique et sur le même dosage phosphomolybdique, mais un capillaire de 2,5 m remplace la cuve de 1 cm.

Encadré II. 5 : Méthodes de mesures des concentrations traces de DIP

La colorimétrie automatisée est la méthode communément utilisée pour l'analyse des concentrations des sels nutritifs. La limite de détection de cette méthode pour l'analyse du DIP est de 20 nM dans le meilleur des cas, contraignant l'analyse des concentrations en cet élément dans les eaux de surface des régions appauvries en P. Récemment, de nouveaux protocoles d'analyses et de nouveaux instruments ont été développés dans le but d'améliorer la limite de détection et la précision des mesures environnementales du DIP (revue des méthodes dans Patey *et al.*, 2008 ; Ma *et al.*, 2014). Ces méthodes se basent sur trois approches afin d'augmenter la sensibilité de la mesure : (1) En optimisant la chimie, (2) en concentrant l'analyte et (3) en utilisant un instrument de mesure plus sensible. Les méthodes les plus utilisées pour l'analyse nano-molaire du DIP répondent aux deux derniers cas de configuration.

La méthode visant à concentrer le phosphate, plus connu sous le nom MAGIC (pour *magnesium induced co-precipitation*), a été mise au point par Karl et Tien (1992) et optimisée par Rimmelin and Moutin (2005). Cette méthode implique l'addition d'hydroxyde de sodium dans l'échantillon à analyser pour induire une précipitation du brucite (MgOH_2). Le phosphate présent dans l'échantillon s'adsorbe sur le précipité formé qui par la suite est collecté par centrifugation et est remis en dissolution dans un petit volume d'acide. L'utilisation de cette méthode a permis de révéler des concentrations allant jusqu'à 0,2 nM dans le gyre subtropical de l'Atlantique Nord (Wu *et al.*, 2000). Cependant, cette méthode est laborieuse. Elle nécessite plusieurs étapes ce qui implique un risque de contamination élevé et elle n'est pas favorable pour un nombre important d'échantillons.

Une des méthodes utilisées pour augmenter la sensibilité de la mesure spectrophotométrique du phosphate repose sur l'augmentation du trajet optique (Zhang and Chi, 2002). Cette méthode implique l'utilisation d'un *Liquid Waveguide Capillary Cell* (LWCC) qui consiste en un capillaire en quartz présentant une longueur allant de 1 m à 2,5 m, pouvant remplacer la cuve de 1 cm utilisé dans la méthode classique.

Le LWCC est en quartz et est enroulé dans un boîtier en métal de 900 cm² de surface (Figure II. 6). Deux connexions optiques sont disponibles au niveau du boîtier et permettent la connexion du capillaire à la fois à une source lumineuse (entrée du capillaire) et à un spectrophotomètre (sortie du capillaire). Ces connexions sont établies à l'aide de fibres optiques.

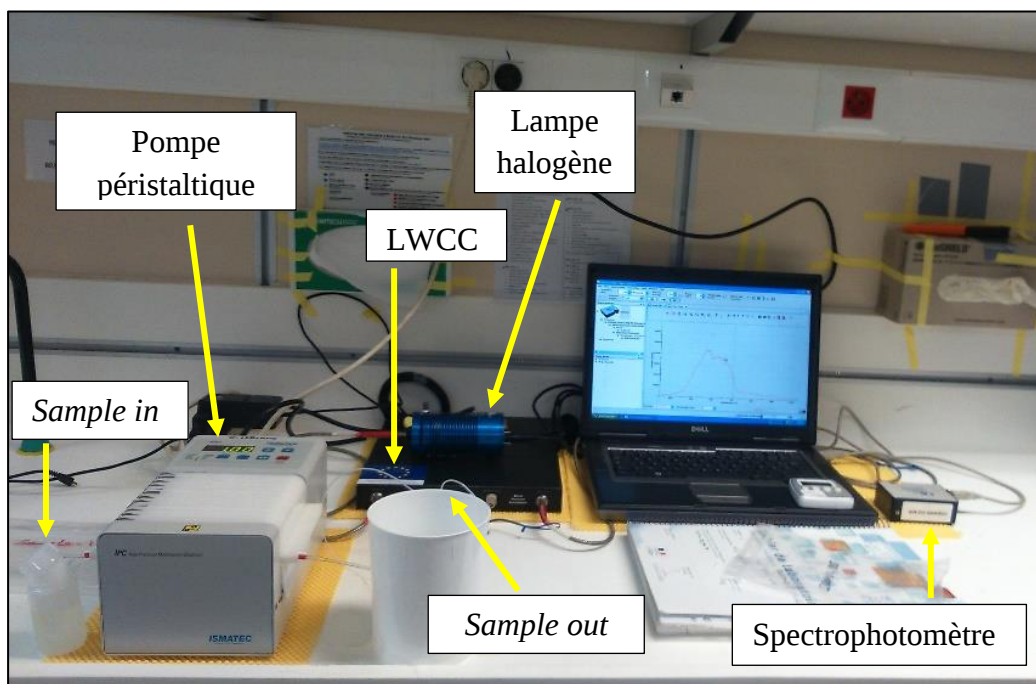


Figure II. 6: Photo représentant l'analyse nanomolaire du phosphate à l'aide du Liquid Waveguide Capillary Cell (LWCC).

L'ajout des réactifs (Encadré II. 6 : Protocole chimique de la mesure sensible du phosphate) à l'échantillon est effectué de façon manuelle sous une hotte à flux laminaire. Après 15 minutes de réaction, l'échantillon est pompé jusqu'au capillaire à l'aide d'une pompe péristaltique réglée à un débit de 1 mL min⁻¹ (Figure II. 6). La précaution à prendre lors du pompage de l'échantillon est d'éviter toute introduction de bulles d'air et/ ou de bulles engendrées par l'ajout de sodium docedyl phosphate (SDS), le SDS jouant le rôle de surfactant. Un faisceau lumineux traverse l'échantillon à l'intérieur du capillaire et une mesure d'absorbance du complexe phosphomolybdique s'effectue à l'aide du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 710 nm (Figure II. 6). Le temps requis pour que l'échantillon traverse l'intégralité du capillaire et que le spectrophotomètre affiche une valeur d'absorbance stable est de 2,5 minutes. Entre chaque échantillon, un temps de rinçage de 10 minutes est essentiel pour permettre le retour du signal d'absorbance à 0 et pour avoir une ligne de base

stable. Les variations de la ligne de base pouvant masquer la concentration de l'échantillon, son maintien à une valeur stable nécessite l'utilisation d'une solution de rinçage ayant le même indice de réfraction que l'échantillon à analyser. Ainsi, lors de l'analyse des blancs réactifs (eau ultrapure + réactifs) et des solutions étalons préparées dans de l'eau ultrapure, le rinçage est effectué avec de l'eau ultrapure. En revanche, pour une analyse d'échantillons d'eau de mer et/ou des solutions étalons préparées dans de l'eau de mer, le rinçage est effectué avec de l'eau de mer de surface (5 m), prélevée sur le site MOOSE-Antares et filtrée sur un filtre polycarbonate 0,2 μm propre avant chaque série d'analyse. Dans le cas d'une ligne de base instable et/ ou d'une perte de signal, des séries de rinçage alternant une solution contenant un agent surfactant (5 mn), de l'HCl 10% (5 mn) et de l'eau ultrapure (5 mn) ont été effectuées.

La mesure de la concentration de DIP des blancs réactifs est effectuée avant chaque série d'analyse d'échantillons. Dans le cadre de cette thèse, la concentration moyenne de DIP obtenue pour les blancs réactifs a été de $2,5 \pm 1,3$ nM ($n = 134$).

La limite de détection (3 x écart-type entre 10 mesures de blancs réactifs) obtenue pour cette méthode est de 0,8 nM. La précision de la mesure (écart-type entre la mesure de 10 répliqués à 10 nM) est de $\pm 0,5$ nM. Une courbe d'étalonnage a été établie quotidiennement avec des solutions étalons allant de 2 à 150 nM préparées, sous une hotte à flux laminaire, à partir de Na_2HPO_4 à 1 g L^{-1} . Après avoir vérifié que les pentes des courbes d'étalonnage ne soient pas significativement différentes ($p > 0,05$) lorsqu'elles sont préparées dans de l'eau ultrapure ou dans de l'eau de mer (Figure II. 7A), les solutions étalons ont été préparées quotidiennement dans de l'eau ultrapure. Les courbes d'étalonnage obtenues dans le cadre de cette étude sont résumées dans la Figure II. 7B (les courbes d'étalonnages individuelles sont représentées en annexe I). La pente moyenne obtenue est de 0,0028 ($n = 43$).

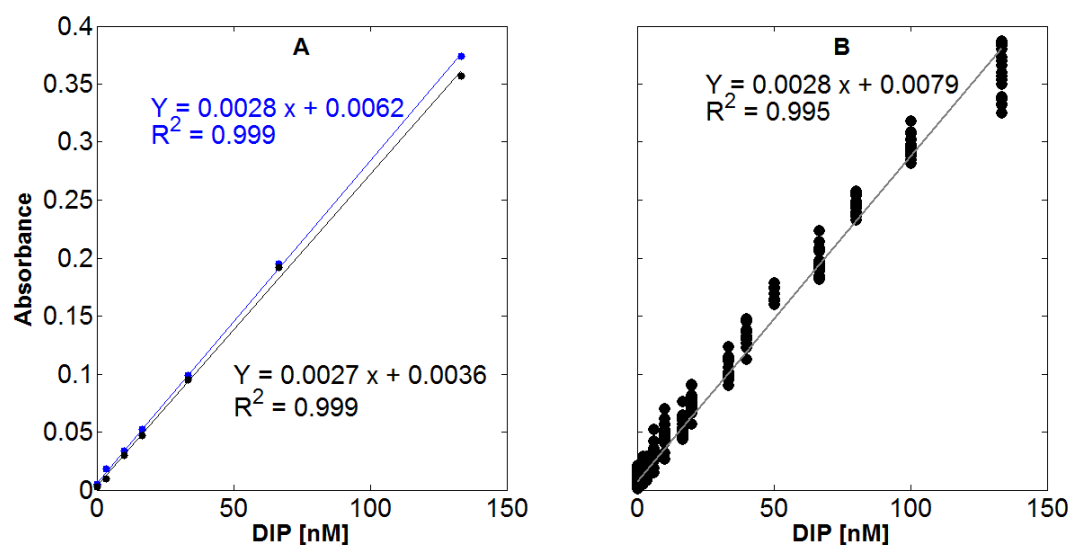


Figure II. 7: (A) Droite de régression pour des solutions étalons préparées dans de l'eau de mer (couleur bleue) et dans de l'eau ultrapure (couleur noire). (B). Figure regroupant les courbes d'étalonnages obtenues dans le cadre de cette thèse (n=43).

La linéarité de l'absorption *versus* la concentration du DIP mesurée à l'aide du LWCC a été évaluée et a été fixée en dessous de 150 nM (Figure II. 8). Pour une mesure du DIP au LWCC supérieure à 150 nM, la mesure par la méthode classique a été utilisée puisque dans la gamme de détection des deux méthodes, les concentrations de DIP tendent vers un modèle linéaire ($r = 0,96$; $n=80$) avec une pente de $1,14 \pm 0,04$, non significativement différente de 1 ($p > 0,05$).

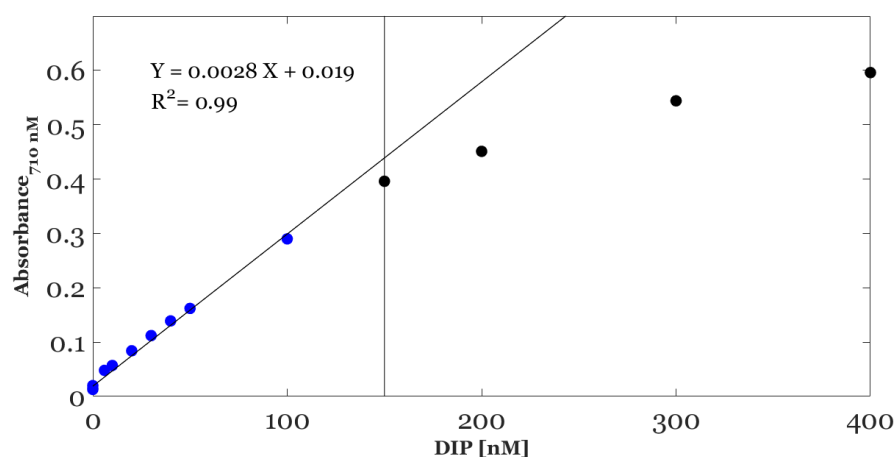


Figure II. 8: Absorbance en fonction de la concentration du phosphate inorganique dissous.

Le LWCC est rincé à la fin de chaque journée d'analyse avec une solution contenant un agent surfactant à 10% pendant 10 mn, une solution d'HCl 10% pendant 10 mn et

enfin avec de l'eau ultrapure pendant 10 mn. Les tubes connectant l'échantillon au LWCC sont changés toutes les semaines.

Encadré II. 6 : Protocole chimique de la mesure sensible du phosphate

Le protocole chimique utilisé dans le cadre de cette méthode a été décrit par Zhang and Chi (2002) pour une analyse automatisée et adapté par Pulido-Villena *et al.* (2010) pour une mesure discrète. Il consiste à introduire dans 30 mL d'échantillon un volume de 2,1 mL d'un mélange de réactif composé de : 15 mL de phosphomolybdate d'ammonium (40 g L^{-1}), 50 mL d'acide sulfurique (5 N) et 5 mL d'antimonyl tartrate de potassium (3 g L^{-1}). Un volume de 0,9 mL d'une solution d'acide ascorbique (obtenue en faisant dissoudre 1,8 g d'acide ascorbique dans 40 mL d'eau ultrapure + 20 mL solution de sodium dodecyl sulfate 10 g L^{-1}) est par la suite rajouté.

II.4.3.3. Analyse de l'azote organique dissous et du phosphate organique dissous

L'analyse de DON et de DOP passe tout d'abord par leur conversion en DIN et DIP, respectivement. Deux méthodes de digestion ont été utilisées selon la méthode d'analyse effectuée.

Pour une analyse par colorimétrie automatisée, une oxydation humide (Pujo-Pay *et al.*, 1997) est appliquée aux échantillons. Pour une analyse au LWCC, en raison de la sensibilité de la méthode, une digestion UV (Armstrong *et al.* 1966) est appliquée aux échantillons. Ne faisant intervenir aucun réactif, cette dernière est préférable pour une analyse des faibles concentrations puisqu'elle réduit considérablement la concentration des blanc réactifs par rapport aux autres méthodes d'oxydation.

- **L'oxydation humide**

L'oxydation humide présente l'avantage de permettre une hydrolyse simultanée du DON et du DOP (Pujo-Pay *et al.*, 1997). Cette méthode consiste (1) à l'ajout d'un volume de 2,5 mL d'un réactif oxydant à 20 mL d'échantillon disposé dans des flacons en téflons et (2) à l'autoclavage des échantillons pendant 30 mn sous une température de 120°C .

Le réactif oxydant se prépare sous une hotte aspirante avant chaque série d'oxydation. Il se compose de 70 mL de soude (NaOH, 60 g L⁻¹) diluée jusqu' à un volume de 250 mL dans de l'eau ultrapure sous agitation sur une plaque chauffante (50°C). Une masse de 7,5 g d'acide borique est par la suite introduite dans la solution tout en maintenant l'agitation. Ensuite, 15 g de peroxosulfate de potassium sont introduits au mélange (agitation jusqu'à dissolution complète).

Le rendement de cette méthode est évalué pour chaque série d'oxydation humide sur des solutions contenant des substrats synthétiques traités de la même façon que les échantillons, la phosphocoline chloride de calcium tetrahydratée (CaO₃POCH₂CH₂N(Cl)(CH₃)₃) et l'urée. Les rendements obtenus sur des concentrations de 1,5 et 15 µM en pécholine et urée sont de 95 ± 4% et 110 ± 4% (n=10), respectivement.

- **Digestion UV**

La digestion UV des échantillons est réalisée à l'aide du 705 *Digester-Metrohm* selon le protocole établi pour la station HOT (<http://hahana.soest.hawaii.edu/hot/protocols/chap8.html>). Cette méthode, proposée pour la première fois par Armstrong *et al.* (1966), démontre que l'exposition de l'eau de mer aux irradiations UV pour une période de 2 heures libère le DOP sous sa forme inorganique sans ajout de réactif oxydant. De ce fait, la digestion UV a été utilisée dans de nombreuses études notamment dans des stations fixes d'observation telque la station Aloha (Karl *et al.*, 2001).

Au cours de cette étude, l'efficacité de conversion du DOP en DIP par la méthode de digestin UV a été testée sur deux substrats synthétiques, le glycérol phosphate et l'adénosine triphosphate. Les rendements obtenus sur une concentration de 1 µM en glycérol phosphate et en adénosine tri phosphate sont de 81 ± 2% et 96 ± 2% (n=6), respectivement.

II.4.3.4. Phosphate organique dissous labile

La concentration en phosphate organique dissous labile (LDOP) a été quantifiée au cours des suivis temporels marin et atmosphérique. La concentration de LDOP est obtenue après hydrolyse enzymatique à la phosphatase alcaline (AP, pour *Alkaline Phosphatase*) provenant d'*Escherichia Coli* (EC.3.1.3.1, Sigma Aldrich P-4252, 100 UN). Rappelons que cette enzyme, libérée notamment par des bactéries hétérotrophes

dans le milieu marin, hydrolyse les liaisons esters du DOP afin de libérer le phosphate sous sa forme inorganique (DIP) (voir section I.4.1.1, paragraphe 4).

En laboratoire, la détermination de la concentration de LDOP dans l'eau de mer de surface suite à l'action d'AP, a reposé sur une mesure sensible au LWCC de la concentration de DIP avant et après hydrolyse enzymatique. Pour ce faire, des volumes égaux (0,6 mL) d'AP (0,2 U mL⁻¹) et de tampon Tris (0,5 M) ont été introduits dans 30 mL d'échantillon selon le protocole de Hashihama *et al.* (2013). La solution de AP (0,2 U mL⁻¹) a été préparée avant chaque série d'hydrolyse enzymatique, sous une hotte à flux laminaire, en diluant 10,4 µL de la solution stock de AP (270,3 U mL⁻¹) dans 14 mL d'eau ultrapure. Le tampon Tris (0,5 M) est préparé en faisant dissoudre 12 g de Tris (C₄H₁₁NO₃) dans 200 mL d'eau ultrapure. Ce volume est complété à 250 mL avec une solution de HCl à 1,2 M (5 mL d'HCl 37% dans 12,5 mL d'eau ultrapure et complété à 50 mL) afin de réajuster le pH à 8 (cette solution de tampon Tris se conserve à 4°C).

Les échantillons ont été incubés pendant 3 heures dans l'obscurité à une température de 30°C. La durée de l'incubation a été vérifiée sur une concentration saturante en glucose phosphate (1 µM) (Figure II. 9). La courbe montre un plateau atteint au bout de 3 heures.

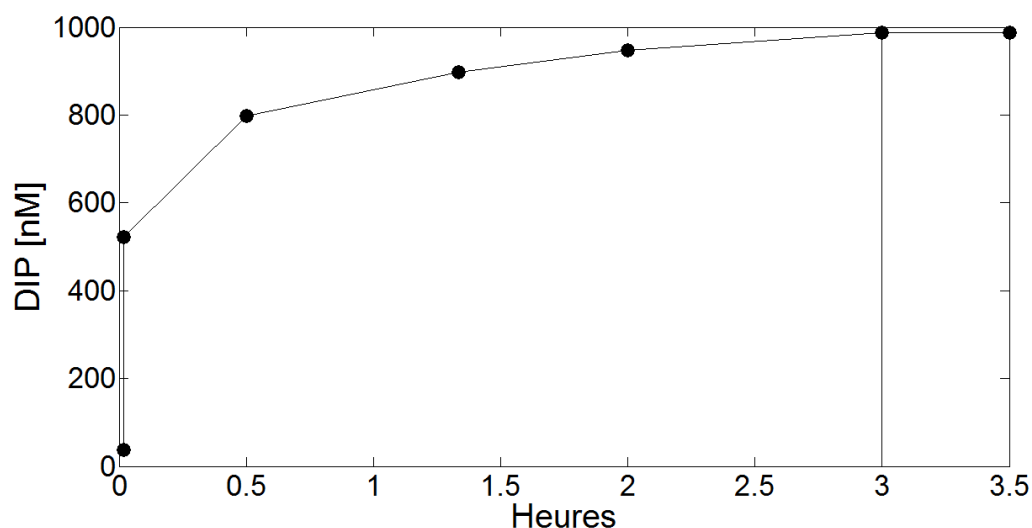


Figure II. 9: Cinétique temps d'hydrolyse enzymatique en présence de phosphatase alcaline (AP) d'une concentration saturante en glucose phosphate à 1 000 nM, la ligne verticale correspond à un pas de temps égal à 3 heures.

Pour évaluer toute contamination, la concentration de DIP a été mesurée dans 30 ml d'eau milli-Q dans laquelle ont été introduits 0,6 ml de tampon tris et de l'AP

(0,2 U mL⁻¹). Les blancs réactifs associés à l'action de AP et du tampon tris sont de 5,8 ± 0,8 nM (n=10).

II.4.4. Abondance bactérienne

Le dénombrement des bactéries hétérotrophes a été effectué à l'aide du Cytomètre en flux FacsCalibur de la plateforme PRECYM (<http://precym.com.univ-amu.fr>). Après décongélation des échantillons, un volume de 300 µL d'échantillon auquel a été introduit 50 µL de billes de trucounts, 2 µL de billes 2 µm et 2 µL de SYBR Green II (dilué au dixième) a été introduit dans le conduit du cytomètre à l'aide d'une seringue, après 15 mn d'incubation au noir. L'acquisition des données se fait pendant 3 mn pour chaque échantillon. Une pesée de l'échantillon avant et après aspiration a été effectuée après chaque série d'analyse dans le but de vérifier le débit lors de la mesure. Le traitement des données a été effectué à l'aide du logiciel SUMMIT. Ce dernier permet une représentation multiparamétrique des particules à l'aide de cytogrammes.

L'abondance des bactéries est calculée *via* l'équation suivante :

$$\text{Eq II. 3} \quad BA [\text{cell mL}^{-1}] = \frac{\text{nombre total des bactéries hétérotrophes}}{\text{temps d'acquisition} * \frac{V_{\text{incubé}} + V_{TC} + V_{SY}}{V_{\text{incubé}}} * \frac{V_{\text{prélevé}} + V_{\text{paraformaldehyde}}}{V_{\text{prélevé}}} * \text{débit}}$$

Ou $V_{\text{incubé}}$, le volume de l'échantillon incubé (300 µL). V_{TC} , le volume des billes trucounts introduites (2 µL). V_{SY} , volume de SYBR Green II utilisé pour fixer les échantillons (10 µL). $V_{\text{prélevé}}$, volume de l'échantillon prélevé (1,8 mL). $V_{\text{paraformaldehyde}}$, volume de paraformaldéhyde utilisé pour fixer les échantillons (200 µL).

II.4.5. Respiration bactérienne

II.4.5.1. Méthode de Winkler

Dans le cadre du suivi temporel sur le site MOOSE-Antares, la respiration communautaire (CR, pour *community respiration*) a été estimée à partir d'une mesure de la concentration d'oxygène (O₂) suivant la méthode de Winkler (Carrit and Carpenter, 1966). Pour ce faire, l'eau de mer a été siphonnée sans introduction de bulles d'air dans des flacons en verre borosilicatés. Huit flacons ont été prélevés pour chaque profondeur, les 4 premiers flacons ont directement été fixés aux réactifs Winkler (RI : NaOH et RII : MnCl₂) et les quatre autres après 24 heures d'incubation dans le noir à

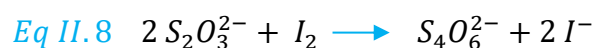
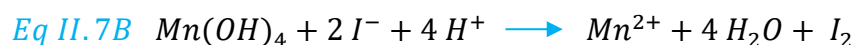
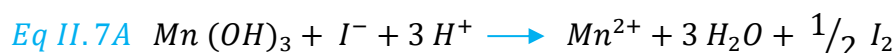
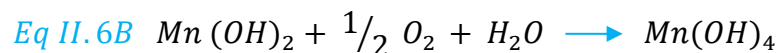
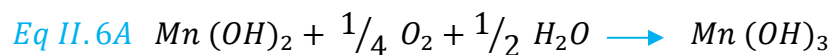
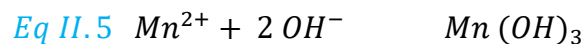
la température de l'eau de mer de surface (Eq II. 4). Le pourcentage de reproductibilité est de 98% (n=12).

$$\text{Eq II.4 } RC = \frac{(O_2)_{\text{après 24 h}} - (O_2)_{\text{initial}}}{24}$$

Un quotient respiratoire de 1 (Del Giorgio and Cole, 1998) est appliqué pour convertir l'oxygène consommé en unités de carbone. La respiration des bactéries hétérotrophes (BR, pour *bacterial respiration*) a été estimée en multipliant CR par 33% et 78%, pourcentages représentant le minimum et le maximum de la contribution de la respiration bactérienne à la respiration communautaire observés en Méditerranée Nord Occidentale (Lemée *et al.*, 2002).

• Principe de la méthode

Le dosage de l'oxygène par la méthode de Winkler consiste à ajouter à l'échantillon une base forte en excès (NaOH ; réactif RI) et une solution de manganèse divalent ($MnCl_2$, réactif RII), induisant une précipitation quantitative d'hydroxyde de manganèse ($Mn(OH)_2$; Eq II. 5). L'oxygène présent dans l'échantillon oxyde une quantité équivalente d'hydroxyde de manganèse en hydroxyde d'état de valence supérieur ($Mn(OH)_3$; Eq II. 6A et $Mn(OH)_4$; Eq II. 6B). La déstabilisation de ce complexe par de l'acide sulfurique (RIII) et l'ajout de KIO_3 entraîne une réduction du manganèse par l'iodure (Eq II. 7A et Eq II. 7B). L'iode est ensuite dosé avec une solution de thiosulfate de sodium ($Na_2S_2O_3$). Sachant qu'une mole de $Na_2S_2O_3$ est équivalent à $1/4$ moles d'oxygène, la concentration d'oxygène dans l'échantillon est aisément calculée (Eq II. 8).



II.4.6. Production bactérienne

La production bactérienne (BP) a été estimée par incorporation de la ^3H -leucine (Kirchman *et al.*, 1993) dans les macromolécules extraites, selon la méthode de centrifugation (Smith and azam, 1992). Pour ce faire, les échantillons ont été prélevés en triplicat (volume prélevée : 1,5 mL) dans des tubes Eppendorf-2 mL. Un témoin est également prélevé pour chaque profondeur. Dans ce dernier, un volume de 200 μL d'acide trichloracétique (TCA, concentration finale 5%) a préalablement été disposé. Un volume de 50 μL d'un mélange de leucine froide et de ^3H -Leucine (concentration finale 14 nM de leucine L-(^3H) leucine [Perkin Elmer® ; activité spécifique 106 Ci mmol^{-1}] et 6 nM de leucine froide) a été introduit dans les échantillons et le témoin. Les échantillons ont été incubés 2 heures au noir au cours du suivi marin à la station fixe d'observation MOOSE-Antares (à la température de l'eau de surface) et entre 2 et 6 heures au cours des expériences d'enrichissement (dans un incubateur réglé à 18°C). L'incorporation de la leucine est arrêtée avec ajout d'acide trichloracétique (TCA, 5% concentration finale). Les échantillons sont conservés à 4°C en attendant l'analyse.

L'analyse des échantillons de BP consiste en trois séries de centrifugations (10 mn, 16 000 g), accompagnée d'une aspiration du surnageant. La première série est effectuée avec les échantillons fixés au TCA, la seconde avec le culot suspendu dans du TCA 5% et la dernière avec le culot suspendu dans de l'éthanol 80%. Une remise en suspension est finalement effectuée dans un liquide à scintillation (Ultimagold MV). Le taux d'incorporation de la leucine est converti en termes de production bactérienne en utilisant le facteur 1,5 kg C mol Leu $^{-1}$ (Kirchman *et al.*, 1993 ; Eq II. 9A et 9B), supposant aucune dilution isotopique. Ceci a été vérifié occasionnellement au moyen de cinétique concentration (ajout de leucine de 5 à 80 nM).

Eq II. 9A $Leu\ inc\ [nmol\ leu\ L^{-1}h^{-1}]$

$$= \frac{(dpm_{moyen} - dpm_t) \times 1000}{22 \times 10^5 \times As_{leu} \times 1,5 \times \Delta t_{incubation}} \times \frac{[leu]_{froide} + [^3H - Leu]}{[^3H - Leu]}$$

Eq II. 9B $BP\ [nmol\ C\ L^{-1}h^{-1}] = \frac{Leuc\ inc \times 131,2 \times 0,86}{0,073 \times 12 \times 1000}$

Avec, dpm le temps de désintégration par minute (dpm_{moyen} : la moyenne obtenue sur les triplicats de mesure, dpm_t : la valeur du témoin). As_{leu} , l'activité spécifique de la leucine exprimée en $\mu\text{Ci nmol}^{-1}$. $\Delta t_{incubation}$, le temps d'incubation exprimé en heures. Leu_{froide} et ^3H -

Leu, les concentrations en leucine froide et leucine tritiée introduites dans l'échantillon. Les valeurs 131,2 ; 0,86 et 0,073 font références au poids molaire de la leucine ; au ratio carbone bactérien : poids des protéines et à la fraction de leucine dans les protéines, respectivement.

II.5. Traitement des données

Les rétro-trajectoires des masses d'air arrivant sur le site de prélèvement atmosphérique pendant 5 jours ont été calculées pour chaque prélèvement à des altitudes de 500, 3 000 et 5 000 m en utilisant le modèle *Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectories (HYSPLIT)* (Draxler and Rolph, 2003, NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, Maryland) disponible sur <http://www.arl.noaa.gov/ready/hysplit4.html>). L'exemple donné ci-dessous (Figure II. 10) correspond à un événement saharien ayant eu lieu le 02-04-2016. Cet événement a été accompagné d'une pluie avec un flux de particules déposé de 5,23 mg m⁻²j⁻¹. Cette eau de pluie a été utilisée dans la première expérience de biodégradation.

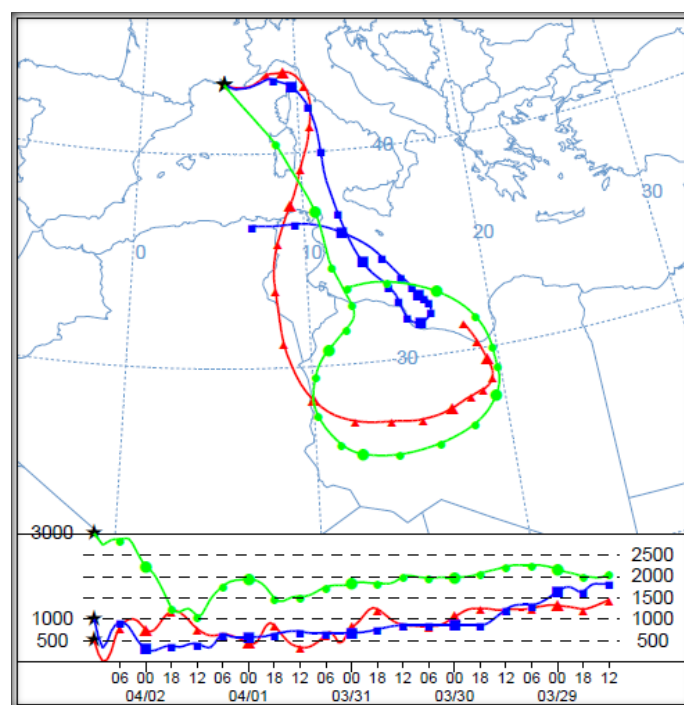
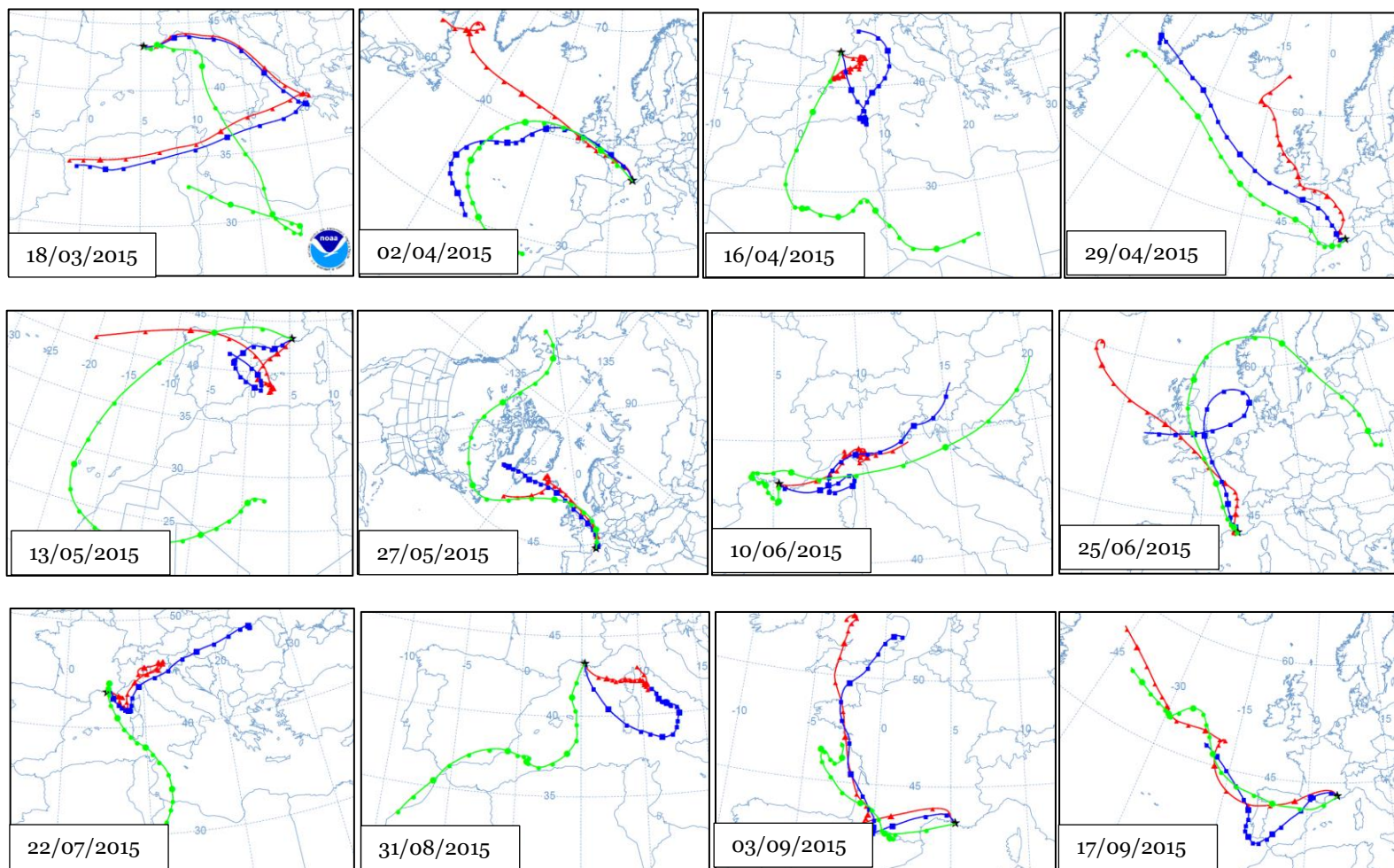
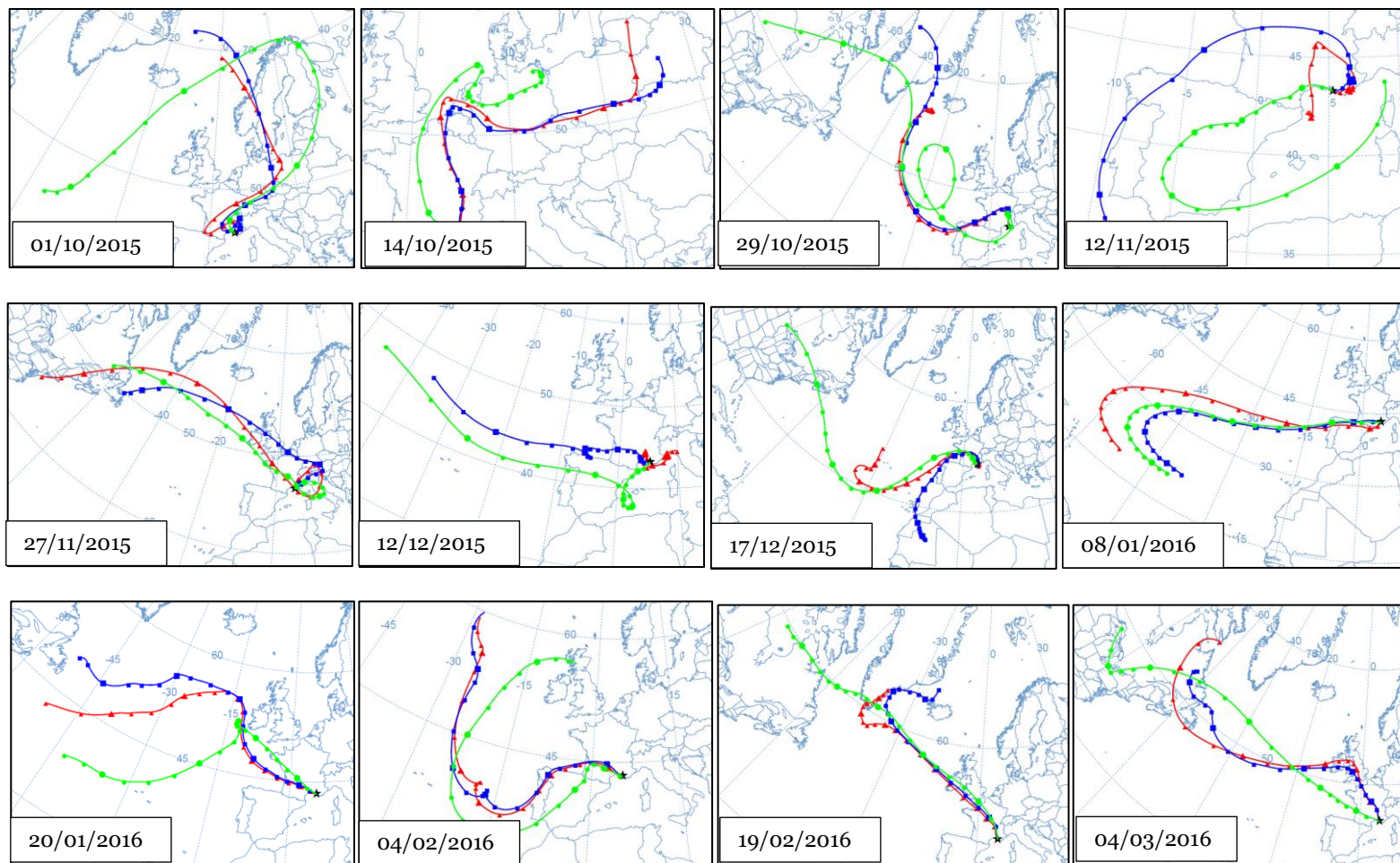


Figure II. 10: Rétro-trajectoire des masses d'air calculées, à partir du modèle *Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectories (HYSPLIT)*, le 02-04-2016 au niveau du site Frioul (site de prélèvement atmosphérique), à des altitudes de 3 000 m (courbe verte), 1000 m (courbe bleue) et 500 m (courbe rouge).

Le reste des rétro-trajectoires des masses d'air calculées aux dates de prélèvements du dépôt atmosphérique sont présentées dans la Figure II. 11.

Dans le cadre de cette thèse, les données ont été traitées à l'aide du logiciel Matlab®. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel Statistica®.





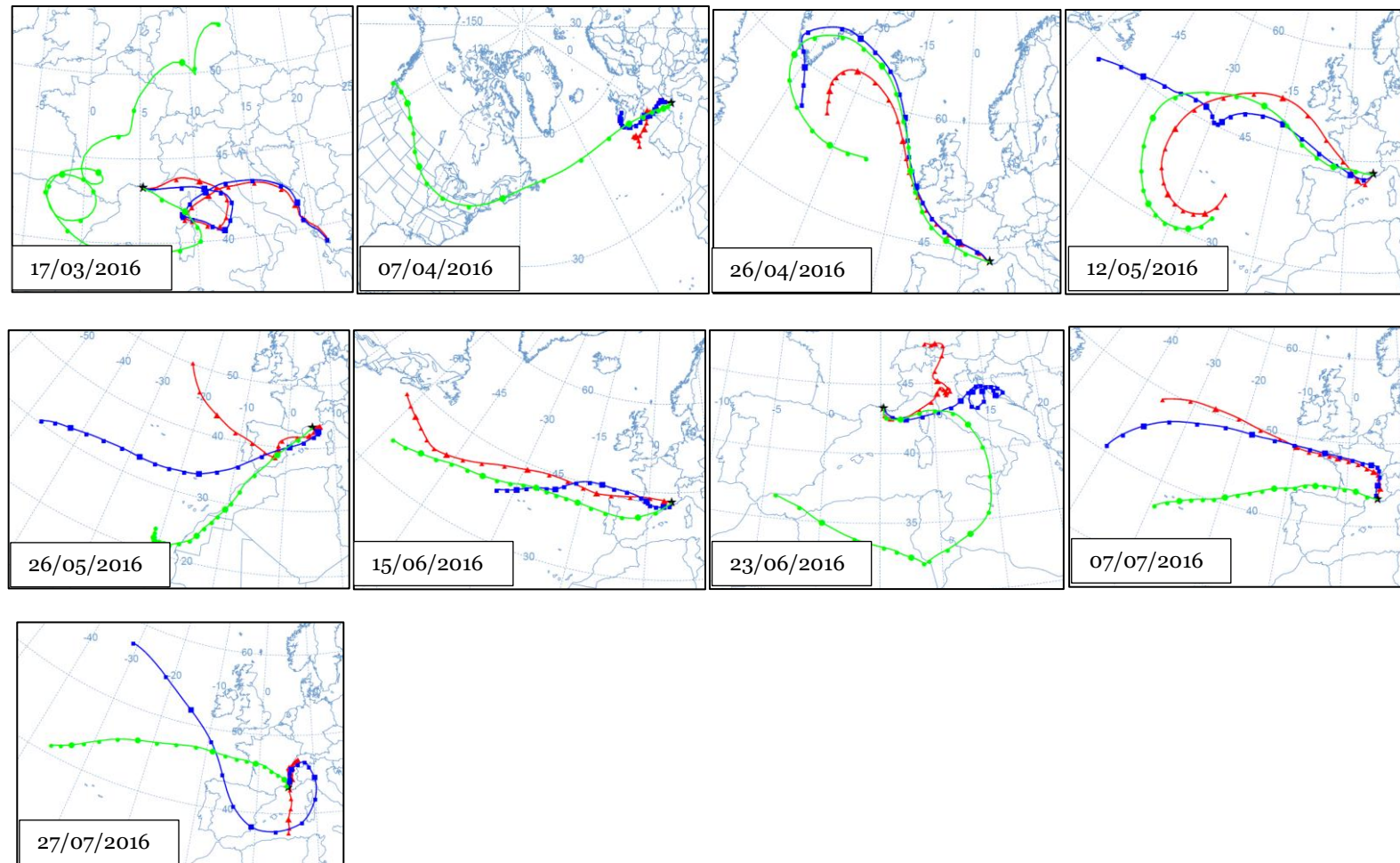


Figure II. 11: Rétro-trajectoires des masses d'air calculées, à partir du modèle *Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectories* (HYSPLIT), aux dates de prélèvements atmosphériques au site Frioul à des altitudes de 3 000 m (courbe verte), 1 000 m (courbe bleue) et 500 m (courbe rouge).

Chapitre III. Détermination sensible du réservoir de surface de phosphate dissous pour une meilleure résolution de sa variabilité verticale : cas de la mer Méditerranée

Sommaire

III.1. Introduction.....	62
III.2. Quantification du phosphate organique dissous : comparaison de deux méthodes d'oxydation : oxydation humide <i>versus</i> digestion UV.....	63
III.3. Résumé.....	66
III.4. Article: Sensitive determination of the dissolved phosphate pool for an improved resolution of its vertical variability: New views in the P-depleted Mediterranean upper waters.....	67
III.5. Conclusion.....	88

III.1. Introduction

L'azote (N) et le phosphate (P) sont des nutriments essentiels à la croissance des organismes marins (Redfield, 1958). Cependant, la détermination des concentrations en phosphate est rendue difficile dans 40% des eaux de surface de l'océan global, où ces dernières sont indétectables *via* l'utilisation des méthodes de mesure conventionnelles (Patey *et al.*, 2008). Avec l'avènement de méthodes de mesures plus sensibles (revue des méthodes dans : Patey *et al.*, 2008 ; Ma *et al.*, 2014), il a été montré qu'au niveau de ces régions oligotrophes, la concentration de DIP ainsi que sa variabilité spatio-temporelle était de l'ordre du nano-molaire (Wu *et al.*, 2000 ; Moutin *et al.*, 2002 ; Lomas *et al.*, 2010). Malgré la prise de conscience de l'importance de la mesure sensible du DIP, peu de données sont disponibles à l'échelle de l'océan global, contraignant la compréhension de sa dynamique biogéochimique et d'autre part la quantification des concentrations de phosphate organique dissous (DOP, pour *dissolved organic phosphate*), puisque ces dernières reposent sur une mesure du DIP avant et après oxydation. En effet, bien que la mesure du phosphate dissous ait été au cœur des mesures effectuées lors du suivi de la colonne d'eau dans le bassin Atlantique (McGill, 1963), dans le cadre du programme '*the International Geophysical Year (IGY)*', aucun des programmes océanographiques actuels, incluant '*Geochemical Ocean Sections*' (GEOSECS), '*World Ocean Circulation experiment (WOCE)*' et '*Climate hydrography program*', n'a inclue la mesure du phosphate dissous. En conséquence, à l'échelle de l'océan global, les données couplées DIP et DOP sont rare, contraignant la compréhension de la biogéochimie du P dans l'océan en générale et dans les eaux de surface en particulier.

Outre la biogéochimie de l'océan de surface, Guieu *et al.* (2014) ont montré, qu'à l'échelle de l'océan global, le manque critique des données nano-molaires de DIP contraignait l'évaluation de la contribution du dépôt atmosphérique en P au réservoir océanique. De ce fait, il conviendra que pour une meilleure compréhension de la dynamique biogéochimique du phosphate à l'interface océan-atmosphère, un effort international doit être consentis dans la mesure sensible des concentrations nano-molaires de DIP particulièrement dans l'océan oligotrophe.

La mer Méditerranée fait partie de ces régions où les concentrations en DIP sont de l'ordre du nano-molaire (Berland *et al.*, 1980 ; Pulido-Villena *et al.*, 2010). Dans le cadre de cette étude, une mesure sensible du DIP a été appliquée au cours de deux

campagnes océanographiques ayant eu lieu en Méditerranée Nord Occidentale et le long d'un transect allant de la mer Ionienne à la mer Tyrrhénienne. A l'aide de cette mesure sensible du DIP, les concentrations de DOP ont été quantifiées au niveau des eaux de surface en période de stratification. Le rapport N:P a également été revisité dans les eaux de surface, à la fois dans les réservoirs inorganique (DIN:DIP) et organique (DON:DOP).

III.2. Quantification du phosphate organique dissous : comparaison de deux méthodes d'oxydation : oxydation humide *versus* digestion UV.

La mesure du phosphate organique dissous (DOP) repose sur une mesure couplée du phosphate inorganique dissous (DIP) et du phosphate total dissous (TDP), le TDP étant obtenu après conversion des formes organiques du phosphate en formes inorganiques. De ce fait, une quantification précise du DOP requiert une oxydation et/ou hydrolyse complète des formes organique du phosphate. Dans l'eau de mer, de nombreuses méthodes ont été appliquées pour l'hydrolyse du DOP (revue des méthodes : Worsfold *et al.*, 2008 ; Karl and Bjorkman, 2015 et références y figurant). Parmi ces méthodes, la digestion UV et l'oxydation humide ont été intensément utilisées à l'échelle de l'océan global (i.e. Menzel and Corwin, 1965 ; Karl *et al.*, 2001).

Les études ayant porté sur la comparaison de la digestion UV aux autres méthodes d'oxydation ont rapporté les rendements les plus faibles pour cette méthode à la fois pour une mesure de DOP et DON (i.e. Ridale and Moore, 1992 ; Ormaza-Gonzalez and Statham, 1996 ; Bronk *et al.*, 2000). Comme exemple, dans le Pacifique Sub-Arctique, Ridale and Moore (1992) ont quantifié la concentration de DOP suivant deux méthodes d'oxydation, la digestion UV et l'oxydation humide. En comparant la concentration de DOP obtenue à la suite de ces deux méthodes d'oxydation à celle obtenue en procédant à une oxydation combinée, impliquant une digestion UV et une oxydation humide. Ces deux auteurs ont montré que la digestion UV recouvre $71 \pm 9\%$ (*versus* $83 \pm 9\%$ pour l'oxydation au persulfate) de la concentration du DOP obtenu en combinant les deux méthodes (Ridale and Moore, 1992).

Cette différence dans le rendement entre les deux méthodes peut être également liée à la présence de polyphosphates (Karl and Bjorkman, 2015). En effet, en présence de polyphosphates, l'oxydation humide peut induire une surestimation de la concentration du DOP. Par opposition, les polyphosphates n'interfèrent pas dans le

cas d'une digestion UV, induisant cette fois ci une sousestimation de la concentration de DOP.

Néanmoins, outre les différences résultantes de la méthode d'oxydation, il a été montré dans la littérature que l'efficacité des méthodes de digestion variaient considérablement suivant les variations régionales de la composition chimique du réservoir de DOP (Karl and Bjorkman., 2015 et références y figurant), suggérant une spécificité des méthodes d'oxydation et/ ou d'hydrolyse aux sites d'étude.

Dans le cadre de cette étude, la concentration de phosphate organique dissous (DOP) a été obtenu en soustrayant le DIP nano-molaire au phosphate total dissous obtenu à la fois après digestion UV (DOP-UV) et oxydation humide (DOP-OH). L'analyse des concentrations de DOP-UV et DOP-OH ont été effectuées respectivement *via* l'utilisation d'une méthode sensible et d'une méthode classique. En raison de l'utilisation de deux méthodes d'analyses différentes, seule la variabilité verticale (et non les valeurs absolues) a été comparée.

Les profils de DOP obtenus entre la surface et 100 m en mer Méditerranée ont montré des différences dans la distribution verticale selon la méthode d'oxydation utilisée. En effet, le profil moyen de DOP est quasi-constant en fonction de la profondeur dans le cas d'une digestion UV tandis qu'il présente un minimum dans les eaux de subsurface (vers 60 m) dans le cas d'une oxydation humide (Figure III. 1).

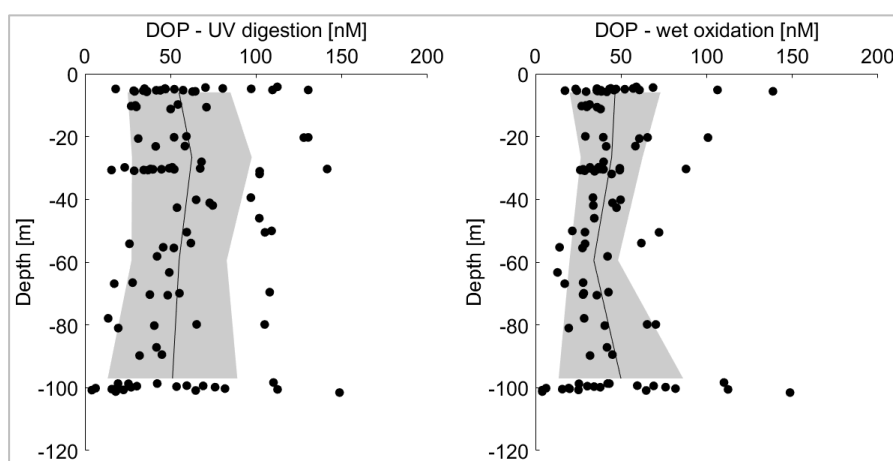


Figure III. 1: Comparaison des profils verticaux de phosphate organique dissous (DOP) obtenus après digestion UV (gauche) et oxydation humide (droite).

Nous verrons plus loin, que ce minimum observé vers 60 m dans le cas du DOP - OH correspond au maximum de chlorophylle. En conséquence, pour mieux

contraindre la variabilité verticale du DOP dans les eaux de surface en mer Méditerranée, la mesure nano-molaire du DIP est essentielle mais il semblerait que la digestion humide soit plus précise. Ce résultat mériterait d'être approfondi et impliquerait bien évidemment l'utilisation d'un même appareil de mesure des concentrations de phosphate total dissous.

III.3. Résumé

Une meilleure compréhension de la biogéochimie du réservoir de phosphate dissous de surface en mer Méditerranée est contrainte par la faible sensibilité des mesures classiques de phosphate. Dans le cadre de cette étude, en utilisant le *Liquid Waveguide Capillary Cell* (LWCC), la couverture spatiale des données valides de phosphate inorganique dissous (DIP) a été augmentée de 75% en comparaison à la mesure conventionnelle. Les données collectées révèlent de nouvelles évidences quant à la variabilité verticale des réservoirs de phosphate dissous en mer Méditerranée, durant la période de stratification, aussi bien pour le DIP que pour le phosphate organique dissous (DOP). Concernant le DIP, un gradient nano-molaire positif a été détecté au-dessus de la profondeur de la phosphacline, suggérant une diffusion potentielle de phosphate nouveau vers les eaux de subsurface. En mer Méditerranée Nord Occidentale, le gradient positif du DIP nano-molaire a été observé entre la profondeur de la couche de mélange (MLD) et le DCM, variant entre 0,04 nM m⁻¹ et 3,2 nM m⁻¹. Le long du transect E-W, allant de la mer Ionienne à la mer Tyrrhénienne, le gradient positif du DIP nano-molaire a été plus profond, variant entre 0,2 nM m⁻¹ et 3,6 nM m⁻¹. Une importante dynamique biogéochimique du DOP a également été mise en évidence au niveau des eaux de surface, avec des distributions verticales types. En effet, le DOP augmente légèrement avec la profondeur au niveau de 6/30 stations, diminue légèrement avec la profondeur au niveau de 5/30 des stations et présente une diminution dans la couche d'eau entre la MLD et la profondeur du DCM au niveau de 19 sur 30 stations. Ce dernier profile type suggère une biodisponibilité potentielle du réservoir de DOP et son utilisation au niveau des eaux de surface Méditerranéennes. La diminution du DOP observée varie entre 0,05 nM m⁻¹ et 2,7 nM m⁻¹ en Méditerranée Nord occidentale et entre 0,05 nM m⁻¹ et 0,5 nM m⁻¹ le long du transect E-W. Les rapports DIN:DIP exhibent une importante variabilité au niveau des eaux de surface, variant entre 2 et 165 et entre 10 et 289 le long du transect E-W. Les rapports DON:DOP sont plus élevés que les rapports DIN:DIP correspondants, variants entre 55 et 525 en mer Méditerranée Nord Occidentale et entre 67 et 252 le long du transect E-W. Une augmentation des rapports DIN:DIP et DON:DOP a été observée dans les eaux de subsurface, en mer Méditerranée Nord occidentale, variant entre 0,2 m⁻¹ et 5,7 m⁻¹ et entre 0,2 m⁻¹ et 9,3 m⁻¹ pour le DIN:DIP et DON:DOP, respectivement.

Mots clés : Mer Méditerranée ; phosphate inorganique dissous ; phosphate organique dissous ; rapports N:P ; *Liquid Waveguide Capillary Cell*.

III.4. Article: Sensitive determination of the dissolved phosphate pool for an improved resolution of its vertical variability: New views in the P-depleted Mediterranean upper waters

*Djaoudi, K¹, Van Wambeke, F¹, Coppola, L², D'ortenzio, F², Helias-Nunige, S., Raimbault, P¹, Taillandier, V², Testor, P³, Wagener, T¹, Pulido-Villena, E¹.

¹Aix Marseille Univ, Université de Toulon, CNRS, IRD, MIO UM 110, 13288, Marseille, France.

²Sorbonne Université, UPMC, Université Paris 06, CNRS, Laboratoire d'Océanographie de Villefranche, Villefranche-sur-Mer, France.

³Sorbonne Université, UPMC, Université Paris 06, CNRS, IRD, MNH, Laboratoire d'Océanographie et de Climatologie, IPSL, Paris, France.

*Corresponding author. Tel: +334 860 905 367

*E-mail address: kahina.djaoudi@mio.osupytheas.fr

Ready for submission to Frontiers in marine sciences

Date of submission: 1st February 2018

Abstract

An accurate understanding of the biogeochemistry of dissolved phosphate pool in the upper waters of P-depleted oceanic regions is constrained by the low sensitivity of phosphate measurements. In this study, by using the sensitive Liquid Waveguide Capillary Cell (LWCC) method, the coverage of valid dissolved inorganic phosphate (DIP) data was increased up of 75% compared to the conventional automated colorimetric procedure. The data collected in this study, revealed new vertical variability patterns of dissolved phosphate pools in surface waters of the P-depleted Mediterranean Sea, during the stratification period, for DIP as well as for dissolved organic phosphate (DOP). Regarding DIP, a nano-molar positive gradient was detected above the phosphacline depths, suggesting a potential diffusion of new phosphate to near surface waters. In the NW Mediterranean Sea (NWMS), the nano-molar DIP positive gradient was observed between the mixed layer depth (MLD) and the deep chlorophyll maximum (DCM) and ranged between 0.04 and 3.2 nM m⁻¹. Along an E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas, the nano-molar DIP positive gradient was somewhat deeper and ranged between 0.2 and 3.6 nM m⁻¹. An important biogeochemical dynamic of DOP was also revealed in surface waters, with types of vertical patterns. Indeed, over the studied area, DOP increased slightly with depth in 5 out of 30 stations, decreased with depth in 6 out of 30 stations and exhibited a decrease between the MLD and the DCM depth in 19 out of 30 stations. This latest profile type provides direct evidences on the potential bioavailability of DOP and its utilization in the surface water of the Mediterranean Sea. The decrease of DOP in this layer ranged between 0.05 and 2.7 nM m⁻¹ and between 0.05 and 0.5 nM m⁻¹, in the NWMS and along the E-W transect, respectively. DIN:DIP ratios exhibited an important variability in surface waters ranging between 2 and 165 in the NWMS and between 10 and 289 along the E-W transect. DON:DOP ratios were somewhat higher than the corresponding DIN:DIP ratios, ranging between 55 and 525 in the NWMS and between 67 and 252 along the E-W transect. An increase in both DIN:DIP and DON:DOP molar ratios was observed in subsurface waters of the NWMS and ranged between 0.2 and 5.7 m⁻¹ for the DIN:DIP ratios and between 0.2 and 9.3 m⁻¹ for the DON:DOP ratios.

Key words: The Mediterranean Sea; dissolved inorganic phosphate; dissolved organic phosphate; N:P ratios; Liquid Waveguide Capillary Cell.

Introduction

Nitrogen (N) and phosphate (P) are essential macronutrients for sustaining marine organisms (Redfield, 1958). By controlling the efficiency of the biological pump, N and P determine the strength of the oceanic carbon uptake (Balino *et al.*, 2001). Over the vast oligotrophic ocean, upper waters are often subjected to N and P exhaustion due to a strong vertical stratification and an active drawdown by biological activity (Tyrell, 1999). Nitrogen has traditionally been viewed as the limiting nutrient of primary production in marine waters (Ryther and Dunstan, 1971). However, with an increased understanding of the nitrogen cycling in the ocean, there is a growing awareness that phosphate also has the potential to limit primary production in certain regions of the oligotrophic ocean (i.e. Wu *et al.*, 2000; Moutin *et al.*, 2008; Lomas *et al.*, 2010).

The Redfield N:P ratio of 16:1 has been considered as a fundamental tenet in marine biogeochemistry. Deviations from this canonical ratio have been used to provide insights on nutrient limitations of primary production, among others (i.e. Falkowski and Raven, 1979; Moore *et al.*, 2013). In certain oligotrophic areas such as the North Atlantic ocean, in the context of this proxy, N:P ratios in near surface waters were higher than 16:1, suggesting a depletion of phosphate before that of nitrogen (Wu *et al.*, 2000; Ammerman *et al.*, 2003). In P-depleted oligotrophic areas, the quantification of dissolved inorganic phosphate (DIP) is a challenging task because DIP concentrations drop to nano-molar (nM) levels, so unquantifiable using the conventional automated colorimetric procedure which present a limit of detection of 20 nM, at best cases. Recently, new analytical procedures have been introduced to improve the LOD and precision of DIP analysis (Patey *et al.*, 2008; Ma *et al.*, 2014). The pre-concentration by magnesium-induced co-precipitation (MAGIC) method has proven useful since it substantially improved the amount of DIP data at nM levels (Karl and Tien, 1992; Rimmelin and Moutin, 2005). Indeed, low imite of detection and high precision of this method, combined with a requirement for only basic laboratory instrumentation, have resulted in the widespread adoption of the technique. Nonetheless, the MAGIC procedure comprises several manual steps and is therefore susceptible to contamination, time consuming and inconvenient for the analyses of large numbers of samples at sea (Patey *et al.*, 2010). During the last decade, the liquid waveguide Capillary Cell (LWCC) method, have gained foothold as reliable method for nM DIP measurements (i.e. Zhang and chi, 2002; Patey *et al.*, 2008).

By using these high sensitive methods, studies in both the North Pacific (Karl *et al.*, 2001 and references therein) and North Atlantic (Ammerman *et al.*, 2003; Lomas *et al.*, 2010) subtropical gyres have revealed DIP concentrations as low as 0.2 nM (Wu *et al.*, 2000). However, despite cited efforts, DIP data at nano-molar level remains scarce, that the pattern in phosphate biogeochemistry passed unobserved.

Because of the critical lack of P data within the upper water of the oligotrophic areas, P concentrations have been considered as close to zero and invariant in surface waters. Consequently, standing inventories of P including the inorganic (dissolved inorganic phosphate, DIP) and organic (dissolved organic phosphate, DOP) fractions as well as N:P ratios still poorly resolved in oligotrophic areas.

The Mediterranean Sea is one of the world's most oligotrophic regions where DIP concentrations have been shown to limit primary production, nitrogen fixation and heterotrophic bacterial activity (Van Wambeke *et al.*, 2002; Thingstad *et al.*, 2005). These findings are supported by nM DIP concentrations in the upper waters (Moutin *et al.*, 2002; Pulido-Villena *et al.*, 2010), a N:P ratio of 21 to 23 in the Western basin (Béthoux *et al.*, 1992) and even higher in the Eastern basin (Krom *et al.*, 1991), and high activities of alkaline phosphatase (Thingstad and Mantoura, 2005; Van Wambeke *et al.*, 2002; 2009). Under P deficient conditions, both some phytoplankton and heterotrophic prokaryotes are known to produce alkaline phosphatase (AP) that splits phosphate-ester bounds, releasing DIP (Karl and Bjorkman, 2015 and references therein). However, since both bulk DOP and its hydrolysable pool relies on the measurement of nM DIP, the biogeochemical pattern of surface DOP still poorly resolved in the upper waters of the P-depleted Mediterranean Sea (Krom *et al.*, 2005; Djaoudi *et al.*, 2017).

In this study, by using the sensitive LWCC, we measured nM DIP concentrations in the P-depleted upper waters of the Mediterranean Sea in order to: (1) enlarge the data coverage of both DIP and DOP, (2) resolve the vertical pattern of the dissolved phosphate pools within the surface layer (3) better constrain the DIN:DIP and DON:DOP ratios in the upper waters.

Materials and methods

Study area and sampling

This study was performed in the framework of two research cruises carried out on 2015 in the Mediterranean Sea during the stratification period, MOOSE-GE

(<http://doi.org/10.18142/235>) and BioArgoMed (<http://doi.org/10.17882/51678>) (Figure III. 2). The MOOSE-GE (Mediterranean Ocean Observing System for the Environment– Grande Echelle) cruise took place on board the R/V *Le Suroit* between 10 and 26 July in the NW Mediterranean Sea. The BioArgoMed cruise took place on board the R/V *Tethys* between 13 May and 03 June along an E-W transect from the Levantine basin to the NW Mediterranean Sea. During the two cruises, conductivity, temperature and depth measurements were recorded using a conductivity-temperature-depth profiling system (CTD Seabird®). Fluorescence data were provided by sensors implemented on the CTD Seabird®.

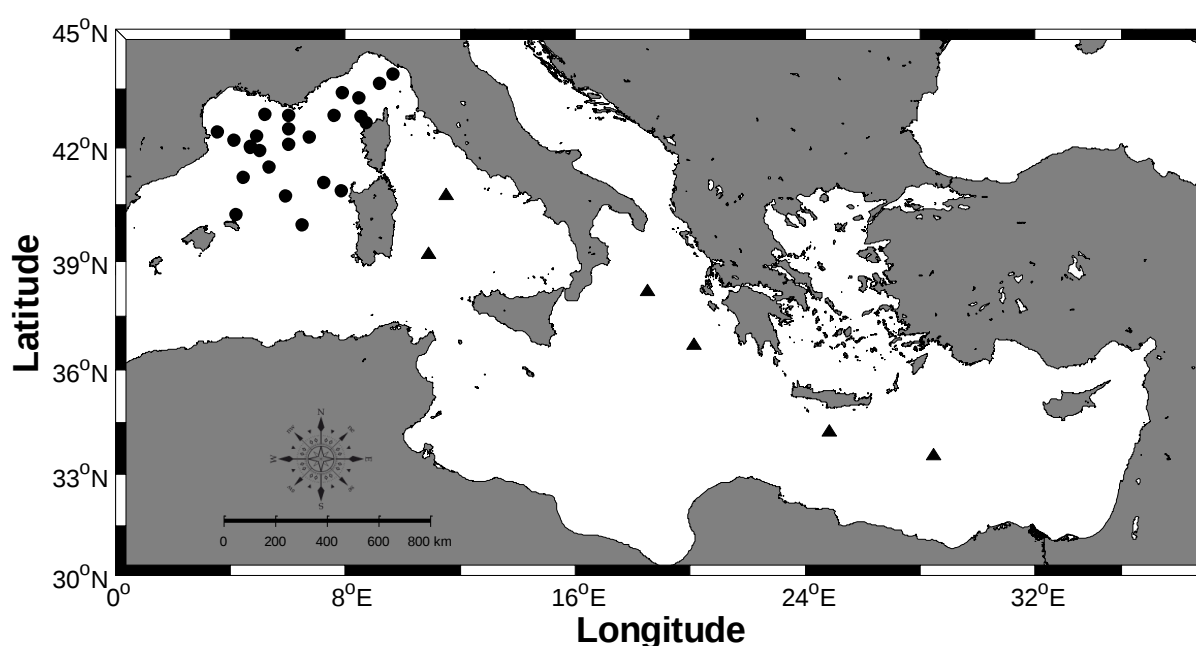


Figure III. 2: Station locations in the North Western Mediterranean Sea (MOOSE-GE cruise: 10 - 26 July-2015, circles) and along an E-W transect (BioArgoMed cruise: 16 - 31 May-2015, triangles).

Sea water samples were collected from the Niskin bottles mounted on a CTD Seabird® rosette system for both dissolved phosphate (dissolved inorganic phosphate, DIP; total dissolved phosphate, TDP) and nitrogen (dissolved inorganic nitrogen, DIN; total dissolved nitrogen, TDN) analyses. Samples were collected in duplicate, they were filtered on board through a pre-cleaned (500 mL of ultrapure water) 0.2 µm pore size syringe filter. To check N and P contaminations following the filtration, DIP and DIN concentration were analyzed on ultrapure water filtered the same as samples. DIN and DIP concentrations were below the limit of detection and on 2.8 ± 0.6 nM ($n = 5$), respectively with DIP concentrations not significantly different from the reagent

blanks (2.2 ± 0.3 nM, $n=5$). Samples were then disposed into acid washed HDPE-60 mL bottles and were finally frozen (-20°C) until analysis.

Seawater samples were collected from the Niskin bottles mounted on a CTD Seabird® rosette system for both dissolved phosphate (dissolved inorganic phosphate, DIP; total dissolved phosphate, TDP) and nitrogen (dissolved inorganic nitrogen, DIN; total dissolved nitrogen, TDN) analyses. Samples were collected in duplicate, they were filtered on board through a pre-cleaned (500 mL of ultrapure water) $0.2\ \mu\text{m}$ pore size syringe filter. Samples were then disposed into acid washed HDPE-60 mL bottles and were finally frozen (-20°C) until analysis. To check N and P contaminations following the filtration, DIP and DIN concentration were analyzed on ultrapure water filtered the same way as samples. DIN concentration in such blanks was below the limit of detection. DIP concentrations in the blanks was on 2.8 ± 0.6 nM ($n = 5$), not significantly different from the reagent blanks (2.2 ± 0.3 nM, $n=5$).

During MOOSE-GE, seawater samples were collected at 25 stations (Figure III. 2), between the surface and 100 m, from 4 different depths. Sampling depths were chosen according to both the density and fluorescence depth profiles. Density profiles were used to determine the depth of the mixed layer, in which a sampling point was defined (depth 1, Figure III. 3). From the fluorescence depth profiles, which were characterized by a subsurface maximum as previously reported by Lavigne *et al.* (2015), 3 sampling points were defined: one point at the DCM (depth 3, Figure III. 3) and two points surrounding the DCM (depths 2 and 4, Figure III. 3). During the BioArgoMed cruise, seawater samples were collected, between the surface and 120 m, from six stations at 6 different depths (Figure III. 2).

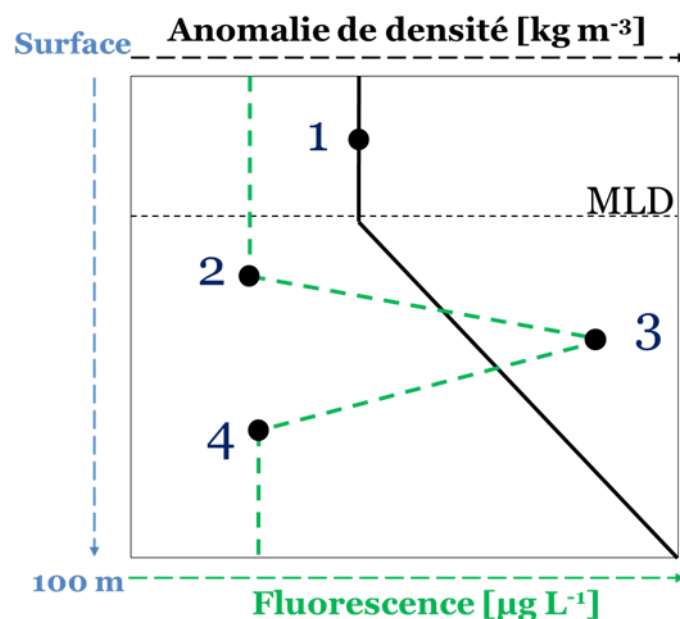


Figure III. 3: Schematic representation of the sampling depth determination in the NWMS, basing on both density and fluorescence depth profiles. The vertical profiles of density and fluorescence were schematized by the black plot and the dashed green plot, respectively.

Dissolved nutrients analysis

Dissolved inorganic phosphate (DIP) concentrations were determined by using both the conventional automated colorimetric procedure (CACP) (Aminot and Kerouel, 2007) and the liquid waveguide capillary cell (LWCC, 2.5 m length path) method (Zhang and Chi, 2002). For both methods, concentrations were determined colorimetrically using a spectrophotometer based on the molybdenum blue reaction, described by Murphy and Riley (1962). The limit of detection (LOD), estimated as three times the standard deviation of ten measurements of the blank, was 20 nM and 0.8 nM for the CACP and the LWCC methods, respectively.

For the LWCC, the linearity of absorption *versus* DIP concentration was assessed, and the working range of the calibration curve was determined to be below 150 nM. Therefore, for DIP concentrations higher than 150 nM, the DIP value provided by the CACP was used. Between 20 nM and 150 nM, the relation between the two methods followed a linear model ($r = 0.96$; $n = 80$) with a slope of 1.14 ± 0.04 , not significantly different from 1 ($p > 0.05$).

Total dissolved phosphate (TDP) concentrations were analyzed by using the CACP after processing by the wet oxidation method (Valderrama, 1981). Dissolved organic phosphate (DOP) concentrations were then estimated by subtracting nano-molar DIP from TDP concentrations.

Dissolved inorganic nitrogen (DIN) and total dissolved nitrogen (TDN) concentrations were measured by using the CACP with a detection of limit of 50 nM for nitrogen analysis. As for TDP, samples for TDN were processed according to the wet oxidation method (Valderrama, 1981). Dissolved organic nitrogen (DON) concentrations were then estimated by subtracting DIN from TDN concentrations.

Calculations

The Mixed layer depth (MLD) was calculated according to the density and temperature along depth profiles, following De Boyer Montegut *et al.* (2004).

The depth of both the phosphacline and the nitracline were calculated from an average of 4 values on different criterions. The phosphacline and the nitracline depths were defined as the shallowest depth where DIP and DIN concentrations exceeded the mixed layer value by a prescribed difference in cocentration. We used the following thresholds: 10 and 50 nM for DIP and 100 and 1,000 nM for DIN (Van Wambeke *et al.*, 2009). In addition, the phosphacline and the nitracline depths were defined for the depth where the difference in concentration between two successive depths exceeded 20 and 100 nM for DIP and 50 and 1,000 nM for DIN (Van Wambeke *et al.*, 2009; Pujo-Pay *et al.*, 2011).

Results

Over the study area, a strong stratification of the water column was observed. The MLD ranged between 6 and 30 m with an average of 13 ± 5 m ($n = 25$) during the MOOSE-GE cruise (hereafter, the NWMS: for the NW Mediterranean Sea) and between 14 and 20 m with an average of 17 ± 3 m ($n = 6$) during the BioArgomed cruise (hereafter, the E-W transect). The MLD observed being not significantly different between the NWMS and the E-W transect ($p > 0.05$) the collected datasets were compared in this study.

Dissolved phosphate pools

By using the sensitive Liquid Waveguide Capillary Cell (LWCC), all dissolved inorganic phosphate (DIP) concentrations in the upper water of the P-depleted Mediterranean Sea were detected. Compared to the conventional automated colorimetric procedure, the sensitive LWCC method resulted in a 75% increase of valid DIP and therefore of dissolved organic phosphate (DOP) data in the study area.

Surface (0-100 m) DIP concentrations in the NWMS ranged over two orders of magnitude, between 3.6 nM and 251 nM with an average of 39.4 ± 58 nM ($n = 100$) (Figure III. 4). Surface (0-120 m) DIP concentrations along the E-W transect were significantly lower ($p < 0.05$), ranging between 0.9 nM and 14.6 nM with an average of 7.2 ± 4.0 nM ($n = 35$) except for one single value at 127.5 nM which corresponded to the station offshore Corsica.

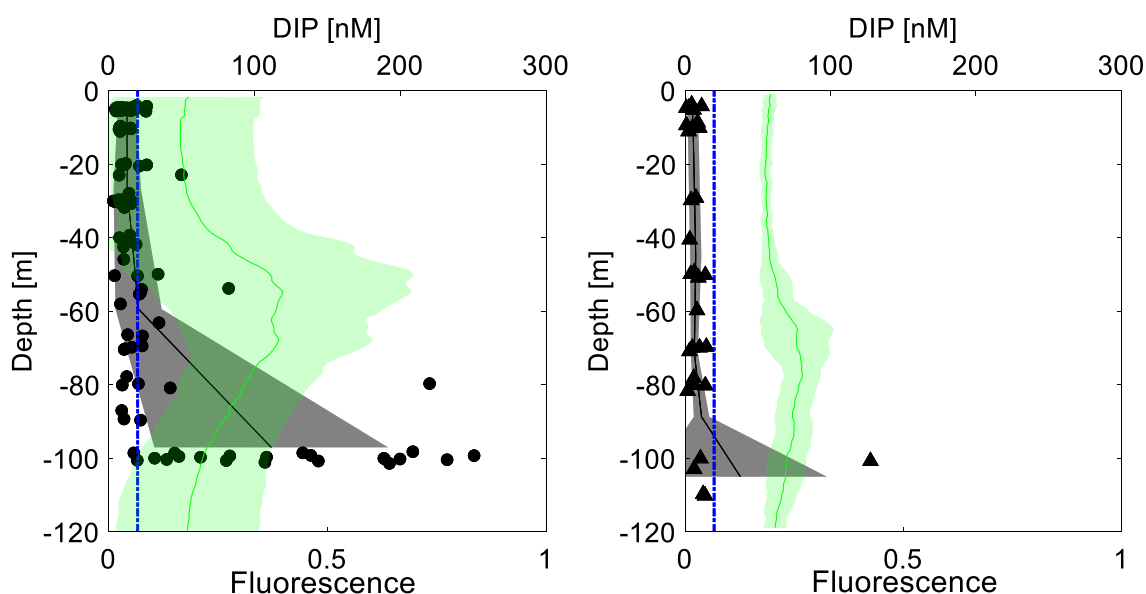


Figure III. 4: Dissolved inorganic phosphate (DIP) concentration between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The black plot represents the mean profile of DIP concentration and the bounded line the standard deviation from the mean. The blue dashed line corresponds to the limit of detection (LOD) of the conventional automated colorimetric procedure (20 nM). The green plot represents the fluorescence profile (mean $\pm$ standard of deviation).

DIP vertical profiles exhibited strongly depleted concentrations within the mixed layer, ranging between 4.9 and 26.5 with an average of 12.8 ± 6.8 ($n = 28$) in the NWMS and between 0.9 and 11.4 nM with an average of 5.5 ± 3.6 nM ($n = 11$) along the E-W transect. Overall, in the NWMS, DIP concentrations increased slightly between the mixed layer depth (MLD) and the DCM depth and then more sharply between the DCM depth and 100 m (Figure III. 4). Along the E-W transect, except for the station offshore Corsica which follow the same trend as DIP vertical profiles observed in the NWMS, DIP depth profiles were quasi-constant between the surface and the DCM depth and increased slightly below (Figure III. 4).

In order to get a deeper insight on the DIP vertical profiles, the increase in DIP concentrations between the MLD and the DCM and between DCM and 100 m was calculated by dividing the difference in DIP concentration by the corresponding depth difference. In the NWMS, between the MLD and the DCM depth, the increase in DIP concentrations was observed for 20 out of 25 stations (Figure III.S. 1), ranging between 0.04 and 3.2 nM m⁻¹ with an average of 0.4 ± 0.7 nM m⁻¹. Between the DCM depth and 100 m, the increase in DIP concentrations was observed for 21/25 stations, ranging between 0.03 nM m⁻¹ and 5.7 nM m⁻¹ with an average of 2.6 ± 1.6 nM m⁻¹. Along the E-W transect, the increase of DIP concentrations was recorded only between the DCM and 120 m. It was observed for 4 out of 5 stations (Figure III.S. 1), ranging between 0.2 and 3.6 nM m⁻¹ with an average of 1.0 ± 1.7 nM m⁻¹. In the NWMS, the phosphacline depth ranged between 30 m and 89 m with an average of 56 ± 14 m for 21 stations and was higher than 100 m for the remaining 4 stations (Figure III.S. 1). Along the E-W transect, the phosphacline depths were higher than 120 m except for one single value at 70 m which corresponded to the station offshore Corsica (Figure III.S. 1).

Surface dissolved organic phosphate (DOP) concentrations in the NWMS ranged between 4 nM and 149 nM with an average of 44 ± 25 nM ($n = 100$) (Figure III. 5). As for DIP, DOP concentrations were lower ($p < 0.05$) along the E-W transect, ranging between 15 nM and 64 nM with an average of 33 ± 12 nM ($n = 36$) (Figure III. 5). The DOP vertical profiles showed three different types (Figure III.S. 2): (1) DOP decrease between the MLD and the DCM depth (19 out of 30 profiles), (2) Slight DOP increase with depth (5 out of 30 profiles) and (3) Slight DOP decreased with depth (6 out of 30 profiles) (Fig. S2). When present, the decrease in DOP concentrations was calculated between the MLD and the DCM depth, as for DIP. The decrease in DOP concentrations ranged between 0.05 and 2.7 nM m⁻¹ with an average of 0.6 ± 0.7 nM m⁻¹ ($n = 16$) in the NWMS, and between 0.05 and 0.5 with an average of 0.3 ± 0.2 nM m⁻¹ ($n = 3$) along the E-W transect, respectively.

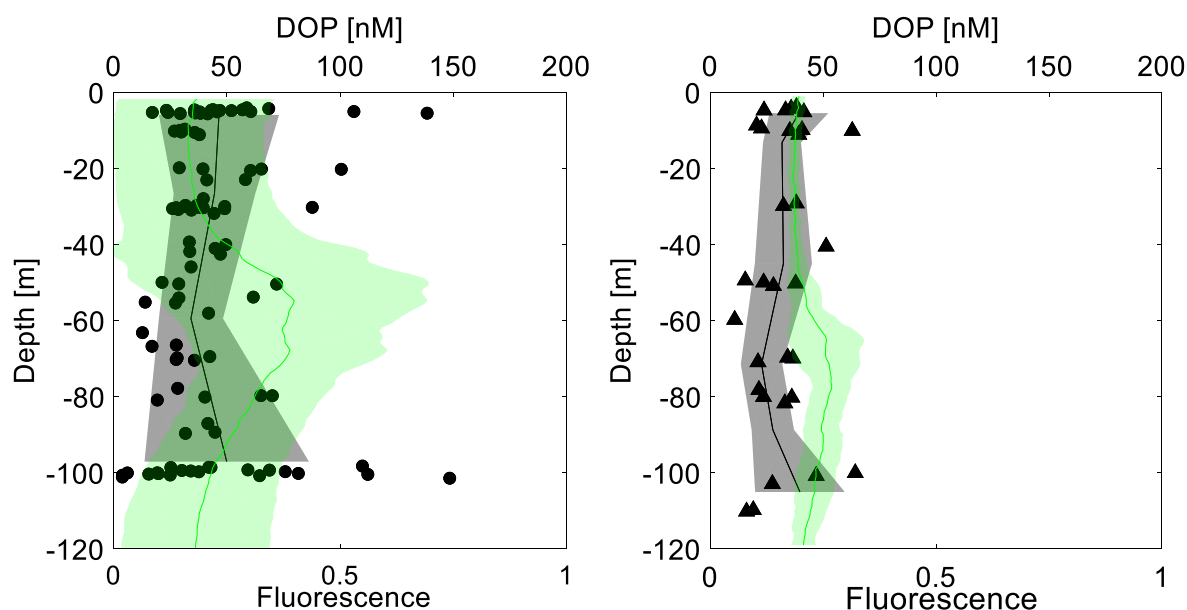


Figure III. 5: Dissolved organic phosphate (DOP) concentration in the North Western Mediterranean Sea (circles) and Along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The black plot represents the mean depth profile of DOP concentrations and the bounded line the deviation from the mean. The green plot represents the fluorescence profile (mean $\pm$ standard of deviation).

N:P molar ratios in the upper Mediterranean Sea

In the NWMS, surface (0-100 m) DIN:DIP ratios ranged between 2 and 165 with an average of 39 ± 33 ($n = 83$) (Figure III. 6) and DON:DOP ratios ranged between 55 and 525 with an average of 182 ± 83 ($n = 86$) (Figure III. 7). Along the E-W transect, surface (0 – 120 m) DIN:DIP ratios ranged between 10 and 289 with an average of 93 ± 90 ($n = 15$) (Figure III. 6) and DON:DOP ratios ranged between 67 and 252 with an average of 148 ± 57 ($n = 15$) (Figure III. 7).

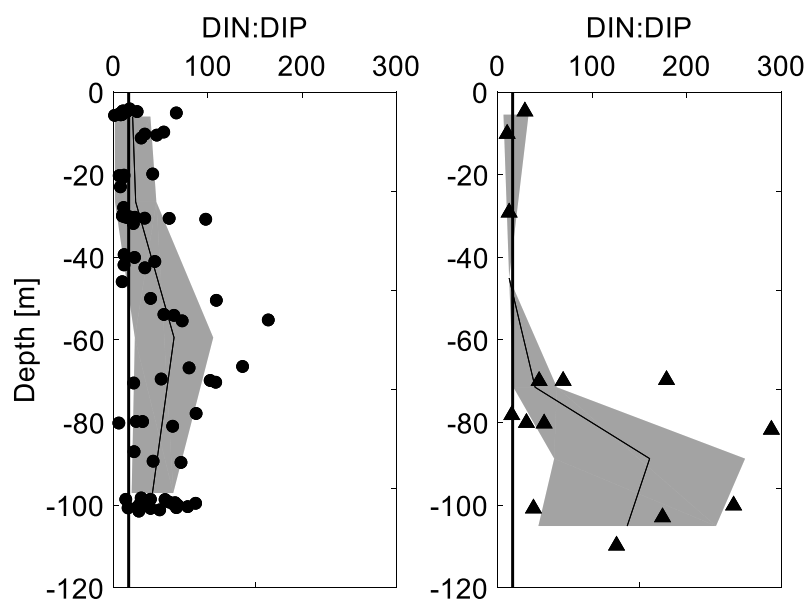


Figure III. 6: DIN:DIP molar ratios between the surface and 100 m in the NWMS (circles) and DIN:DIP ratios between the surface and 120 m along the E-W transect (triangles). The black plot represents the mean depth profile of the DIN:DIP ratio, the bounded line the standard deviation from the mean and the dark vertical line the Redfield molar ratio of 16:1.

Overall, the profiles of both the DIN:DIP and DON:DOP ratios exhibited an increase in subsurface waters, between the MLD and the DCM depth (Figure III. 6 and Figure III. 7). In the NWMS, the increase in the DIN:DIP ratio was observed for 15 out of 21 stations (Figure III.S. 3) and ranged between 0.2 and 5.7 m^{-1} with an average of $1.7 \pm 1.3 \text{ m}^{-1}$. Similarly, the increase in the DON:DOP ratio within this layer was observed for 12 out of 15 stations (Figure III.S. 4) and ranged between 0.2 and 9.3 m^{-1} with an average of $3 \pm 3.4 \text{ m}^{-1}$ ($n = 8$). Along the E-W transect, this calculation cannot be done since 50% of nitrogen concentration were below the limit of detection of the conventional automated colorimetric procedure.

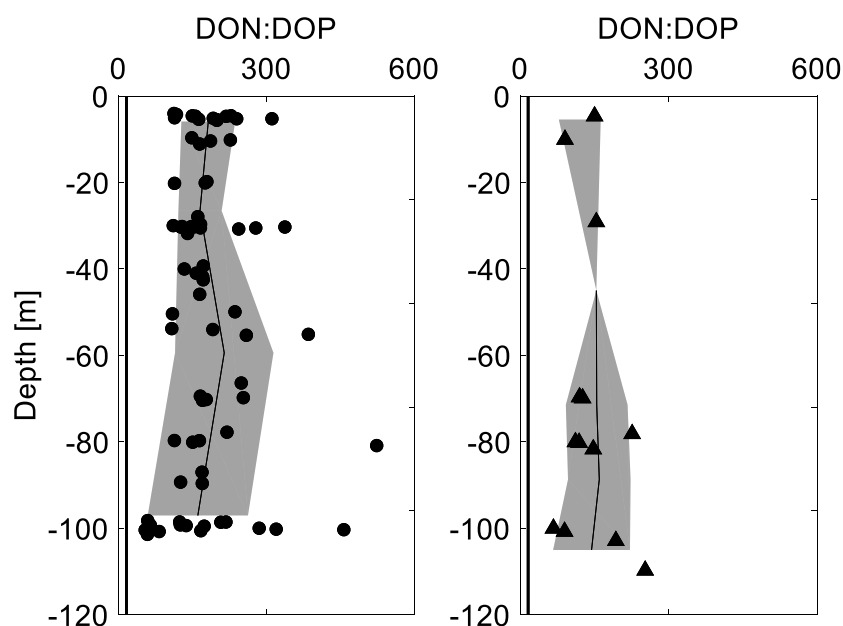


Figure III. 7: DON:DOP ratios between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles). DON:DOP molar ratios between the surface and 120 m along the E-W transect (triangles) crossing Ionian and Tyrrhenian seas. The black plot represents the mean depth profile of the DON:DOP ratio, the bounded line the standard deviation from the mean and the black vertical line the Redfield molar ratio of 16:1.

Discussion

The collected data as part of this study, relying upon a sensitive determination of dissolved inorganic phosphate (DIP), revealed for the first-time different vertical pattern in phosphate biogeochemistry in upper waters of the P-depleted Mediterranean Sea, during a stratification period. Our results may add new evidence against the traditional view of an entirely depleted and invariant dissolved phosphate pool in the upper waters of a number of oligotrophic oceanic regions.

Regarding nano-molar DIP profiles in surface waters, different trends were observed in the NWMS *versus* the E-W transect. Indeed, in the NWMS, nano-molar DIP concentrations increased with depth while they were quasi constant along the E-W transect (Figure III. 4). These two different trends are in agreement with a deeper phosphacline in the eastern basin in comparison to the western one, such as previously reported (i.e. Moutin and Raimbault., 2002; Pujo-Pay *et al.*, 2011). Indeed, over the study area, the phosphacline depth was deeper than the mixed layer depth (MLD) and was in good agreement with previously reported studies (Van Wambeke *et al.*, 2009; Pujo-Pay *et al.*, 2011). However, the use of the LWCC method revealed a nano-molar

increase in both the NWMS and along the E-W transect areas, questioning the criteria established for the phosphacline depth determination. This nano-molar increase observed in these layers could arise from a vertical phosphate diffusion from deep layers, suggesting the potential ability of new DIP to reach the upper waters even under stratification conditions.

In the NW Mediterranean Sea, the nano-molar positive gradient in DIP concentrations appeared in the same layer as the fluorescence gradient, which confirms the lack of phosphate limitation in this layer as previously reported by Van Wambeke *et al.* (2002) by measuring alkaline phosphatase turnover times and highlighting the role of the biological uptake in maintaining DIP concentrations at nano-molar levels. In the Mediterranean surface water, phosphate uptake is dominated by the small size fraction (Moutin *et al.*, 2002; Tanaka *et al.*, 2003). Along the E-W transect, the nano-molar positive DIP gradient appeared below the DCM depth, suggesting a less efficient DIP diffusion from deeper layers.

The biological uptake of P does not rely exclusively on available DIP inventories, since different phosphate acquisition mechanisms exist to satisfy the biological requirements of phosphate (Karl and Bjorkman, 2015 and references therein). Indeed, dissolved organic phosphate (DOP) hydrolysis induced by ectoenzymes can be a significant source of phosphate to marine organisms, particularly in the P-depleted regions (Wu *et al.*, 2002; Lomas *et al.*, 2010; Duhamel *et al.*, 2011; 2017). For example, up to 30% of primary production in the North Atlantic gyre is supported by dissolved organic phosphate (Mather *et al.*, 2008). In the Mediterranean Sea, the coverage of documented DOP in the surface waters of the Mediterranean Sea is very limited (Moutin and Raimbault, 2002; Krom *et al.*, 2005; Djaoudi *et al.*, 2017), precluding an accurate understanding of its biogeochemical patterns. In this study, by using a sensitive determination of DIP coupled with a wet oxidation for the determination of the total fraction of P, the coverage of valid DOP data in the upper water of the P-depleted Mediterranean Sea was increased (up to 75% in comparison to the conventional automated colorimetric procedure), revealing an important biogeochemical dynamic in surface waters. Indeed, in the studied area, DOP depth profiles in the surface water showed different trends (increasing/decreasing with depth, a minimum in subsurface water), suggesting a complex interaction between this pool with both microbial community and physical conditions, among others.

Nevertheless, for most of stations, DOP decreased in the layer between the MLD and the DCM depth (av. $0.6 \pm 0.7 \text{ nM m}^{-1}$ in the NWMS and av. $0.3 \pm 0.2 \text{ nM m}^{-1}$ along the E-W transect), providing for the first-time *in-situ* observations on its potential bioavailability.

The decrease in DOP concentrations could be linked to a DOP utilization in order to alleviate an eventual DIP stress at this layer, due to an important biological uptake. Indeed, a possible limitation of the bacterioplankton by phosphate was observed by Sala *et al.* (2002) in an open sea station, on an enrichment experiment on water sampled around the DCM. However, as reported above, a positive nano-molar DIP gradient was observed in the same layer. Therefore, in our study, even with nano-molar available DIP in the water column, DOP decreased. On the one hand, these finding suggests a possible use of both DIP and DOP pools in this layer. Indeed, recent studies showed that DIP and DOP could be taken simultaneously at the organism level (Beversdorf *et al.*, 2010; White *et al.*, 2010), or as shown in the North Pacific subtropical gyre, some microorganisms may be adapted for use of DOP, whereas others use DIP regardless of P concentrations (Bjorkman and Karl, 2003). The relative difference in DOP gradients observed during the two cruises could reflect differences in DOP utilization. However, the DOP utilization depends on nitrogen availability (Thingstad *et al.*, 1998). In our study, nitrogen concentrations were higher in the NWMS compared to the E-W transect and could explain differences observed in DOP utilization. The DOP utilization was usually estimated by characterizing the alkaline phosphatase activity (APA) (Hoppe, 2003; Duhamel *et al.*, 2011; Karl, 2014). In the Mediterranean Sea, previously APA reported were higher in the NW basin ($V_{\text{max. } 12 - 28 \text{ nmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}}$) than the eastern one ($V_{\text{max. } 2 - 5 \text{ nmol L}^{-1} \text{ h}^{-1}}$) (Thingstad *et al.*, 1998; Thingstad and Mantoura, 2005; Van Wambeke *et al.*, 2002; 2009), which could explain the DOP utilization observed in our study. On the other hand, DOP gradient observed could be the result of dissolved organic matter remineralization to meet the bacterial carbon demand since at this layer, Van Wambeke *et al.* (2002) showed that the system switched toward a carbon limitation instead of that of P. This mineralization process of DOP could have contributed to the nano-molar DIP positive gradient observed.

N:P ratios

In contrast to the deep waters of the Mediterranean Sea in which N:P molar ratios are between 21 and 22 in the Western basin and somewhat higher in the Eastern basin (Krom *et al.*, 1991; Béthoux *et al.*, 1992), N:P ratios in the upper waters showed a high variability in both inorganic and organic pools. The DIN:DIP ratio exhibited the classical shape of vertical distribution determined in the Mediterranean Sea surface waters, during the stratification period, with a marked increase of the DIN:DIP ratio in subsurface water (Diaz *et al.*, 2001; Moutin and Raimbault, 2002; Van Wambeke *et al.*, 2009). Based on the definition of nutriclines as established for the conventional DIN and DIP analysis, this increase is due to a nitracline (av. 34 ± 15 m) shallower than the phosphacline (av. 58 ± 15), as previously reported (Moutin and Raimbault, 2002; Van Wambeke *et al.*, 2009; Pujo-Pay *et al.*, 2011). In our study, by using the LWCC method, this increase in the DIN:DIP ratio (av. 1.7 ± 1.3 m⁻¹ in the NWMS) was recorded shallower, between the MLD and DCM highlighting that processes occurring in this layer could promote nitrogen enrichment relative to phosphate, during the stratification period.

This DIN:DIP increase could be linked to an important uptake of DIP maintaining its gradient at nano-molar levels, not sufficient to compensate the DIN gradient. Nevertheless, several hypotheses have been proposed to explain the high nitrate *versus* phosphate ratio such as a biological nitrogen fixation (Béthoux and Copin Montégut, 1986), the removal of phosphate by adsorption on iron rich dust particles (Krom *et al.*, 1991) and an upload by diffusion of nutrients depleted on P relative to N, leading theoretically to an enrichment of N if these nutrients were taken in surface water in a constant Redfield ratio (Diaz *et al.*, 2001).

The DON:DOP molar ratios in the surface waters of both the NWMS (av. 155 ± 103) and along the E-W transect (av. 191 ± 120) were significantly higher than the corresponding DIN:DIP ratios ($p < 0.05$). These high DON:DOP ratios could be primarily attributed to the depletion in DOP relative to DON in deep waters, as a result of a preferential remineralization of the DOP as function of depth such as reported by Aminot et Kerouel (2004) in the Mediterranean Sea and by Letscher and Moore (2015) at the scale of the global ocean. External sources may also contribute to such high ratios. Indeed, Djaoudi *et al.* (2017) showed that, during the stratification period, atmospheric dissolved organic nitrogen fluxes were 241 times higher than those of

dissolved organic phosphate. Similarly to the DIN:DIP molar ratios, an increase of the DON:DOP (av. $3 \pm 3.4 \text{ m}^{-1}$) was observed between the MLD and the DCM. This finding could to be related to a biological utilization of DOP, since in this layer DOP concentration decreased for most stations, leading to a DON enrichment relative to DOP.

Conclusion

By using the sensitive Liquid Waveguide Capillary cell (LWCC) method, this study enhanced the coverage of both dissolved inorganic phosphate (DIP) and dissolved organic phosphate (DOP) data, providing new insights regarding the vertical variability of the dissolved phosphate pools biogeochemistry in the upper waters, one of the missing pieces of the P-depleted Mediterranean Sea. Indeed, this study revealed: (1) A nano-molar positive gradient of dissolved inorganic phosphate concentrations in subsurface water, suggesting the potential of new phosphate to reach the near surface waters by diffusion. (2) An active biogeochemical dynamic of dissolved organic phosphate in surface water, with in-situ observations on its potential bioavailability. (3) A high variability in N:P molar ratios in both inorganic and organic pools, with maximums in subsurface waters related to the nano-molar P gradient in subsurface waters which is not sufficient to counteract the N gradient and a potential DOP utilization, respectively.

Acknowledgments

The authors would like to thank both the MOOSE and NAOS project in the framework of which this study was done, captains and crews of both the R/V le Suroit and the R/V le Tethys II for their cooperative work at sea. The project leading to this publication has received funding from European FEDER Fund under project 1166-39417. This work is a contribution to the Labex OT-Med (n° ANR-11-LABX-0061) funded by the French Government «Investissements d'Avenir» program of the French National Research Agency (ANR) through the A*MIDEX project (n° ANR-11-IDEX-0001-02).

Supplementary figures

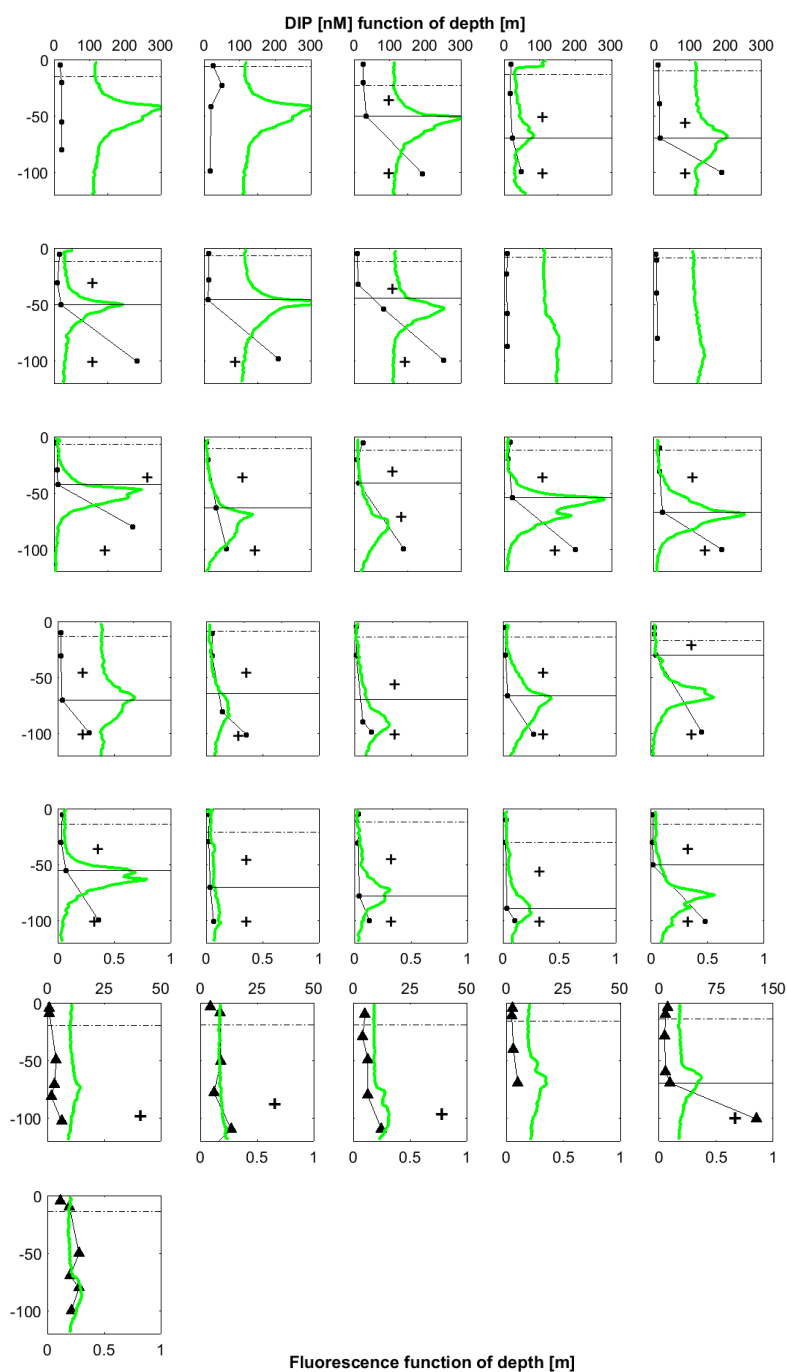


Figure III.S. 1: Individual vertical profiles of dissolved inorganic phosphate (DIP) between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The green plots represent the fluorescence profiles. The horizontal lines represent the mixed layer depth (MLD, dashed lines) and the phosphacline depth (full line), respectively. For DIP, the symbol '+' indicates DIP depth profiles where an increase in DIP concentrations was observed in the layers between the MLD and the deep chlorophyll maximum (DCM) depth and between the DCM depth and 100 m.

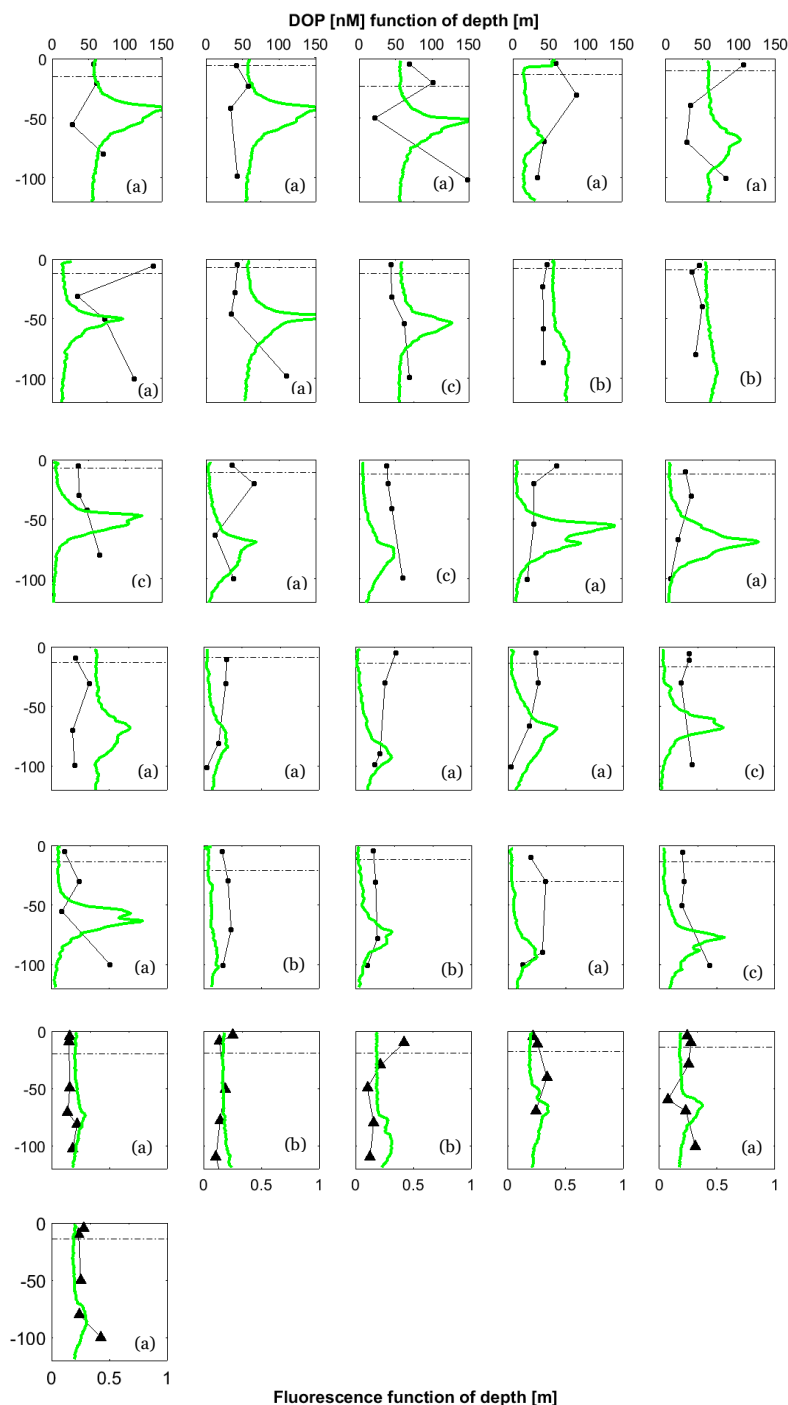


Figure III.S. 2 : Individual vertical profiles of dissolved organic phosphate (DOP) between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The green plots represent the fluorescence profiles. The horizontal dashed lines represent the mixed layer depth (MLD). The letters a, b, and c discriminate the three types of DOP profiles as described in the text. (a) DOP decrease between the MLD and the deep chlorophyll maximum (DCM) depth. (b) Slight decrease of DOP with depth and (c) slight increase of DOP with depths.

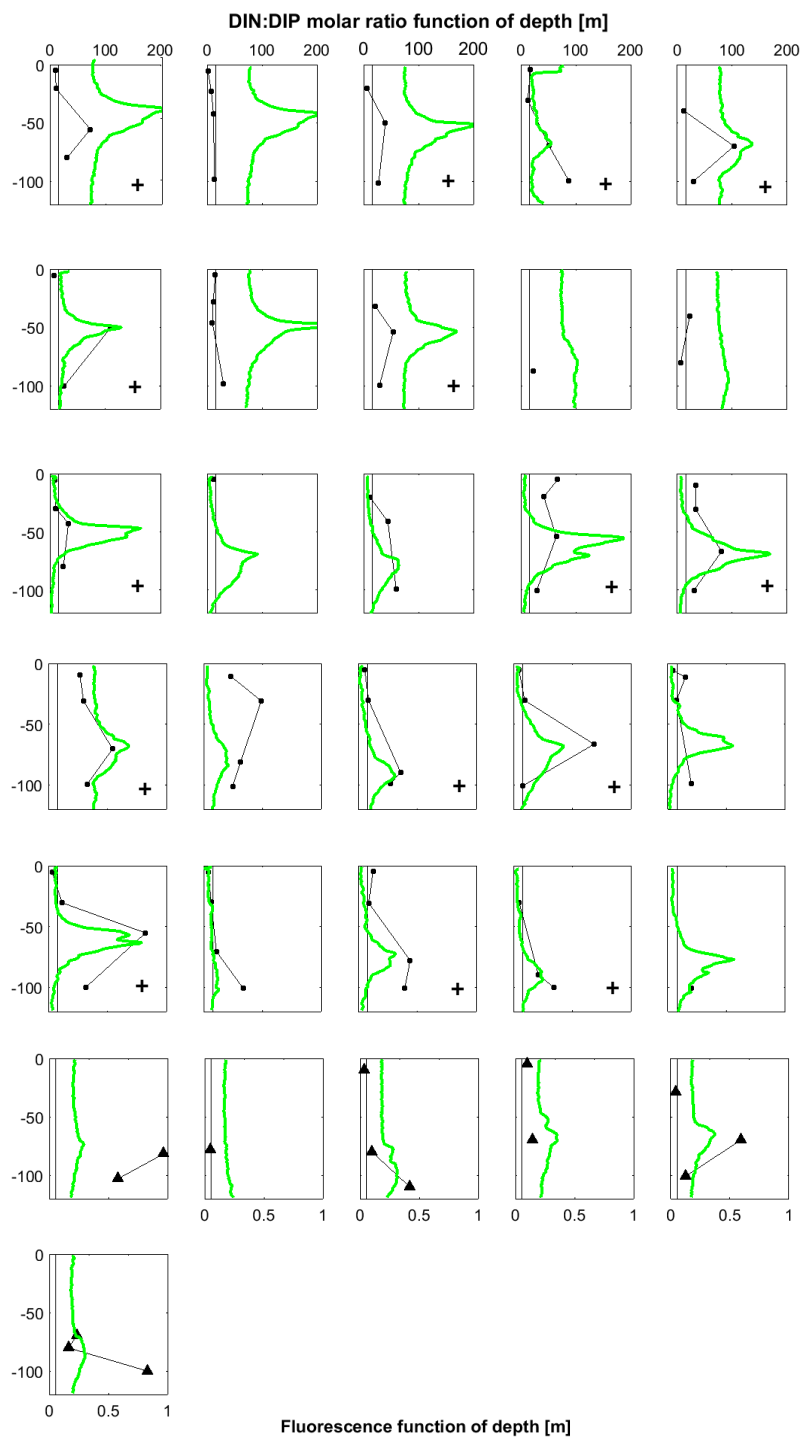


Figure III.S. 3: Individual vertical profiles of the DIN:DIP molar ratio between the surface and 100 in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The green plots represent the fluorescence profiles. The vertical full lines represent the Redfield N:P molar ratio of 16:1. The symbol '+' indicates profiles in which an increase of the DIN:DIP ratio was observed at the deep chlorophyll maximum.

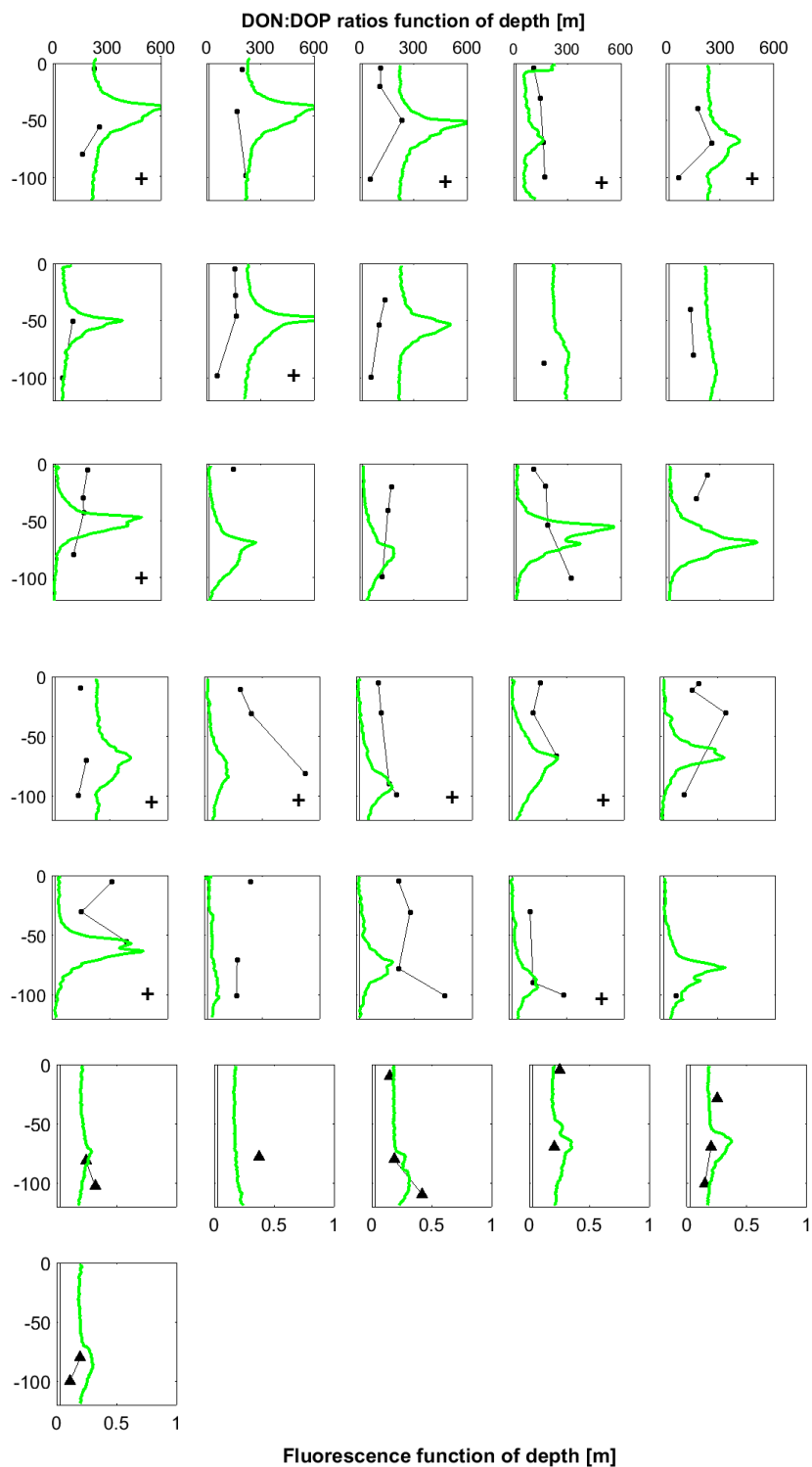


Figure III.S. 4: Individual vertical profiles of the DON:DOP molar ratio between the surface and 100 m in the North Western Mediterranean Sea (circles) and between the surface and 120 m along the E-W transect crossing Ionian and Tyrrhenian seas (triangles). The green plots represent the fluorescence profiles. The vertical full lines represent the Redfield N:P molar ratio of 16:1. The symbol '+' indicates profiles in which an increase of the DON:DOP ratio was observed at the deep chlorophyll maximum.

III.5. Conclusion

A travers une mesure sensible du phosphate, impliquant l'utilisation du *Liquid Waveguide Capillary Cell (LWCC)*, de cette étude résulte une augmentation du recouvrement des données valides en phosphate inorganique dissous (DIP, pour *dissolved inorganic phosphate*) et phosphate organique dissous (DOP pour, *dissolved organic phosphate*). Dans les eaux de surface de la mer Méditerranée, une nouvelle vision est apportée quant à la variabilité verticale des réservoirs de phosphate dissous, une des pièces manquantes à la compréhension de la biogéochimie de surface en mer Méditerranée. En effet, cette étude révèle : (1) Un gradient nano-molaire positif du DIP au-dessus de la phosphacline, suggérant un apport en phosphate nouveau par la diffusion, atteignant les eaux de subsurface. (2) Une importante dynamique biogéochimique du réservoir de DOP, avec des évidences quant à sa biodisponibilité. (3) Une importante variabilité des rapports N:P dans les réservoirs inorganiques et organiques, avec des maximums dans les eaux de subsurface probablement liés à un gradient nano-molaire du DIP non suffisant pour contrebalancer le gradient en N et à l'utilisation potentielle du DOP.

Ces résultats soulignent l'intérêt de l'utilisation d'une méthode sensible pour l'analyse des concentrations en phosphate, notamment pour une meilleure appréhension du lien entre la disponibilité des nutriments et le fonctionnement des régions océaniques oligotrophes. Ces résultats suscitent également le besoin d'élargir la mesure sensible à celle de l'azote.

Chapitre IV : Flux atmosphériques de carbone, azote et phosphate organique dissous en mer Méditerranée : potentielles implications biogéochimiques au niveau des eaux de surface

Sommaire

IV.1. Introduction	89
IV.2. Résumé	91
IV.3. Article 2: Atmospheric fluxes of soluble organic C, N, and P to the Mediterranean Sea: potential biogeochemical implications in the surface layer	92
IV.4. Conclusion	123

IV.1. Introduction

A l'échelle de l'océan global, le réservoir de matière organique dissoute (DOM, pour *dissolved organic matter*) contribue significativement à l'export de carbone, 20% de l'export total (Hansell *et al.*, 2009). Au niveau des régions oligotrophes, cette voie est d'autant plus importante puisque l'export de carbone via la DOM est égal voir supérieur à l'export de carbone particulaire (Carlson, 1994 ; Letscher and Moore, 2015). Cette importante contribution à l'export de carbone au niveau de ces régions résulte, entre autres, d'un découplage entre les processus de production et de consommation de carbone, induisant une accumulation du carbone organique dissous semi labile (SLDOC, pour *semi labile dissolved organic carbon*) au niveau des eaux de surface. Le SLDOC ainsi accumulé, est exporté au fond des océans suite à des mécanismes de diffusion et ou de convection profonde (formation d'eaux profondes et/ou mélange hivernal).

L'export de carbone est inextricablement lié à l'export d'azote et de phosphate. Néanmoins, si la variabilité saisonnière du DOC de surface est aujourd'hui connue au niveau des régions oligotrophes en général et en mer Méditerranée en particulier, celle de l'azote organique dissous (DON, pour *dissolved organic nitrogen*) et du phosphate organique dissous (DOP, pour *dissolved organic phosphate*) reste incertaine, particulièrement en période de stratification en raison des faibles concentrations en azote et phosphate inorganiques dissous contraignant leurs quantifications.

Au cours de cette période de stratification, l'atmosphère constitue une source d'approvisionnement importante en macro et micro-nutriments pour la couche de mélange de surface. Les flux atmosphériques en nutriments inorganiques, englobant l'azote, le phosphate et le fer ont largement été étudiés (Jickells *et al.*, 2005 ; Guieu *et al.*, 2014). En revanche, une moindre attention a été accordée à la fraction organique de ces dépôts atmosphériques (Duce *et al.*, 1991 ; Kanakidou *et al.*, 2012). Pour une meilleure quantification de l'export de carbone et une compréhension du cycle de la DOM au niveau des eaux de surface, il est essentiel de contraindre ces flux atmosphériques en matière organique.

Dans le cadre de cette étude, un suivi simultané des flux atmosphériques de matière organique englobant le carbone, l'azote et le phosphate et des stocks océaniques de DOC, DON et DOP est réalisé en mer Méditerranée Nord Occidentale. De plus, au cours de cette étude, la fraction labile du phosphate dans les compartiments

marin et atmosphérique a également été quantifiée. Le suivi atmosphérique a été mis en place sur l'île du Frioul entre le mois de Février 2015 jusqu'au mois de Juillet 2016 où un prélèvement tous les 15 jours est effectué. Le suivi marin a eu lieu sur le site MOOSE-Antares entre le mois d'avril 2015 et le mois de Juin 2016. Le couplage de ces deux approches a permis pour la première fois, dans le cadre de cette étude, d'évaluer la contribution potentielle des flux atmosphériques de matière organique au réservoir de surface.

IV.2. Résumé

Etablir un lien entre le dépôt atmosphérique et les cycles marins de carbone et de nutriments est rendu difficile en raison d'un manque critique de données relatives aux flux atmosphériques de matière organique. Pour pallier à ce manque, cette étude quantifie pour la première fois les flux atmosphériques en carbone organique soluble (SOC), azote organique soluble (SON) et phosphate organique soluble (SOP) en Méditerranée Nord Occidentale. Une mesure simultanée du carbone organique dissous (DOC), azote organique dissous (DON) et phosphate organique dissous (DOP) dans la couche de mélange de surface a permis une estimation de la contribution potentielle des flux atmosphériques aux réservoirs marins de DOC, DON et DOP. Des flux atmosphériques annuels de $59 \text{ mmol C m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ pour le SOC, $16,4 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ pour le SON et de $23,6 \text{ } \mu\text{mol P m}^{-2}$ pour le SOP ont été quantifiés avec des contributions du SON et SOP aux réservoirs totaux d'azote et de phosphate de 40% et 25%, respectivement. Assumant ces flux annuels valide à l'échelle du bassin occidental, les flux atmosphériques peuvent être de 6, 17 et 2 fois plus importantes que les flux en DOC, DON et DOP issus du Rhône, respectivement. Les inventaires océaniques en DOC, DON et DOP au niveau de la couche de mélange de surface ont montré une tendance similaire durant la période d'étude avec un maximum observé à la fin de la période de stratification. La contribution du DOP au réservoir total de phosphate dissous (TDP) est de $85 \pm 11\%$ et exhibe une fraction labile de $27 \pm 19\%$. La contribution des dépôts atmosphériques aux réservoirs de DOC, DON et DOP au niveau de la couche de mélange de surface, estimée pour la période de stratification, est faible pour C (3%) et P (4,5) et est modérée pour N (12%). La fraction labile des flux atmosphériques en SOP (LSOP) a été quantifiée durant la période d'étude et a présenté une importante variabilité, entre 0 et 97%. Durant la période de stratification, les flux atmosphériques en LSOP contribuent de 7% au réservoir de LDOP et peut soutenir jusqu'à 8% de l'activité des bactéries hétérotrophes au niveau de la couche de mélange de surface. Les résultats obtenus suite à cette étude soulignent l'importance d'inclure les flux atmosphériques de matière organique dans les modèles biogéochimiques pour une meilleure compréhension du cycle du carbone et des nutriments en mer Méditerranée.

Mots clés : dépôts atmosphériques ; carbone organique ; azote organique ; phosphate organique ; rapports C:N:P ; matière organique dissoute ; Mer Méditerranée.

IV.3. Article 2: Atmospheric fluxes of soluble organic C, N, and P to the Mediterranean Sea: potential biogeochemical implications in the surface layer

Djaoudi, K., Van Wambeke, F., Barani, A., Hélias-Nunige, S., Sempéré, R., Pulido-Villena, E.

Aix-Marseille Université, Mediterranean Institute of Oceanography (MIO) UMR 7294, Université de Toulon, CNRS, IRD, France.

Corresponding author

Kahina.djaoudi@mio.osupytheas.fr

In Press in Progress in Oceanography

Available on line: <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2017.07.008>

Abstract

Linking atmospheric deposition to marine carbon and nutrient cycle is hampered by the lack of data on atmospheric fluxes of organic matter. To fill this gap, this study reports the first quantification of atmospheric fluxes of soluble organic carbon (SOC), nitrogen (SON) and phosphate (SOP) to the NW Mediterranean Sea. Simultaneous measurements of dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic phosphate (DOP) in the surface mixed layer (SML) allowed estimating the potential contribution of atmospheric fluxes to marine DOC, DON and DOP inventories. We found an annual atmospheric flux of $59 \text{ mmol C m}^{-2} \text{ year}^{-1}$ for SOC, $16.4 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ year}^{-1}$ for SON and $23.6 \text{ } \mu\text{mol P m}^{-2} \text{ year}^{-1}$ for SOP, with proportions of SON and SOP to total soluble nitrogen and phosphate of 40% and 25%, respectively. Assuming these annual fluxes valid for the entire western Mediterranean basin, atmospheric fluxes would be higher than DOC, DON and DOP fluxes from the Rhône River by a factor of 6, 17 and 2, for C, N and P, respectively. Inventories of DOC, DON and DOP in the surface mixed layer displayed similar trends over the study period with maximum values at the end of the stratification period. DOP contributed by $85 \pm 11\%$ to total dissolved phosphate (TDP) pool and exhibited a labile fraction (LDOP) of $27 \pm 19\%$. The contribution of atmospheric deposition to the DOC, DON and DOP pools in the SML, estimated for the stratification period, was low for C (3%) and P (4.5%) and moderate for N (12%). The labile fraction of atmospheric SOP (LSOP) was quantified throughout the sampling period and showed a high variability ranging from 0 to 97%. Atmospheric fluxes of LSOP contributed by 7% to marine LDOP pool and could sustain up to 8% of the heterotrophic prokaryotic phosphate demand in the SML of the NW Mediterranean Sea during the stratification period.

The results obtained in this study stress the need to include atmospheric fluxes of organic matter in marine biogeochemical models to achieve a more complete picture of carbon and nutrient cycle in the Mediterranean Sea.

Keywords: atmospheric deposition; organic carbon; organic nitrogen; organic phosphate; C:N:P ratios, dissolved organic matter; Mediterranean Sea.

Introduction

The oligotrophic regions cover a significant portion (60%) of the global ocean (Eppley and Peterson, 1979). These areas are characterized by low concentrations of surface nutrients because of strong stratification and low upward supply of nutrients. In the surface layer, the pool of dissolved organic matter (DOM) plays a key role in maintaining the biological activity being an important source of energy and nutrients (Sandberg *et al.*, 2004). The concentrations of dissolved organic nitrogen (DON) and phosphate (DOP) exceed those of inorganic nutrients by an order of magnitude (Bronk, 2002; Lomas *et al.*, 2010) and can serve as nitrogen and phosphate source for microbial growth (Sipler and Bronk, 2015 and references therein; Karl and Björkman, 2015 and references therein). The seasonal variability of dissolved organic carbon (DOC) in the euphotic zone has been recorded in the subtropical and temperate areas of the ocean (Carlson *et al.*, 1994; Santinelli *et al.*, 2013). The lag time between DOC production and consumption causes DOC accumulation in the upper layers (Carlson *et al.*, 1994; Thingstad *et al.*, 1997; Santinelli *et al.*, 2013). Part of the DOC which is accumulated in the surface layer is exported to the deep by diffusion and/or due to both deep water formation and winter vertical mixing constituting an important pathway for the export of carbon from the surface to the deep ocean (Letscher and Moore, 2015). In addition, the elemental ratios of the DOM pool deviate widely from the Redfield ratio being enriched on C in comparison to N and P which suggests a higher carbon export efficiency compared to particulate organic matter (Church and Ducklow, 2002; Hopkinson and Vallino, 2005).

Accurate quantification of DOM sources is needed to achieve a complete picture of C and nutrient cycling in the oligotrophic ocean. In the open ocean, DOM pool is produced mainly by the biological activity in the euphotic layer (Carlson and Hansell, 2015 and references therein). The microbial activity has been identified to be involved in recalcitrant DOM (RDOM) generation (Taylor *et al.*, 1985; Brophy and Carlson, 1989; Jiao *et al.*, 2010), which can persist in the ocean for millennia constituting a reservoir for carbon storage in the ocean (Jiao *et al.*, 2010, 2014). Besides local production, external sources may contribute significantly to the DOM pool. River flux from land to ocean is an important source of DOM to marine environments at the scale of the global ocean (Meybeck, 1982). In the open ocean, where there is little riverine input, groundwater discharge or sediment resuspension, atmospheric deposition becomes a significant source of elements to the surface layer (Jickells *et al.*, 2005).

Furthermore, in a context of global change where anthropogenic emissions to the atmosphere are constantly increasing. The global atmospheric deposition including inorganic and organic compounds have been enhanced greatly and were predicted to increase further (Galloway *et al.*, 2004), emphasizing the role of atmospheric deposition for supplying the present and the future ocean. To date, most studies on atmospheric deposition to the open ocean have focused on the inorganic fraction (e.g. Duce *et al.*, 1991; Guieu *et al.*, 2014) and data on atmospheric fluxes of organic matter are scarce (e.g. Willey *et al.*, 2000) biasing our knowledge on the biogeochemical role of atmospheric deposition in the surface ocean and its consequences on carbon export.

The Mediterranean Sea is an oceanic basin representative of an enclosed mini-ocean. Its own conveyor belt and fast circulation times compared to open ocean make it highly reactive to external forcing particularly matter fluxes at the interfaces (Mermex group, 2011 and references therein). The Mediterranean Sea is of oligotrophic character due, among others, to a pronounced thermal stratification occurring especially during the summer period which delimits a nutrient-depleted surface layer from the deeper (Moutin and Raimbault, 2002; Pulido-Villena *et al.*, 2010). During the stratification period, both autotrophic and heterotrophic prokaryotic activities are P-limited or co-limited by N and P (Thingstad *et al.*, 1998; Van Wambeke *et al.*, 2002; Tanaka *et al.*, 2011). Nutrient limitation has been hypothesized to enhance DOC accumulation during the stratification period in the Mediterranean Sea (Thingstad *et al.*, 1997). In this oceanic region, DOC fluxes play a crucial role in the supply of fresh carbon to the deep water (Ramondenc *et al.*, 2016) both through vertical winter mixing and deep-water formation. In situ measurements estimate that DOC export fluxes are greater or similar than the mean export of POC (Santinelli, 2015 and references therein). Similarly, a recent modelling study based on varying C:P quotas of planktonic cells estimated that DOC is responsible of 64% and 90% of the carbon export in the western and eastern Mediterranean basin, respectively (Guyennon *et al.*, 2015).

The Mediterranean Sea is under the influence of riverine and atmospheric inputs. River fluxes constitute an important pathway delivering material to marine waters (Ludwig *et al.*, 2009; Panagiotopoulos *et al.*, 2012; Ferreto *et al.*, 2017). Atmospheric fluxes from anthropogenic sources are deposited continuously to the surface waters of the Mediterranean Sea. In addition, a noticeable atmospheric flux of dust from arid

regions of North Africa, in the form of strong pulses (Guerzoni *et al.*, 1999), as well as seasonal inputs from biomass burning (Mermex group, 2011 and references therein), are introduced to the Mediterranean upper waters. The supply of new nutrients to the Mediterranean Sea from atmospheric deposition and their impact on the activity of phytoplankton and heterotrophic prokaryotes have been extensively addressed (Ridame and Guieu, 2002; Pulido-Villena *et al.*, 2008; Marin *et al.*, 2017). In contrast, little attention has been paid to the organic fraction of atmospheric deposition precluding the evaluation of its biogeochemical role in the Mediterranean Sea (e.g. Pulido-Villena *et al.*, 2008; Markaki *et al.*, 2010; Sanchez-Pérez *et al.*, 2016).

The aims of this study were to quantify atmospheric fluxes of soluble organic carbon (SOC), nitrogen (SON), and phosphate (SOP) and to estimate the relative contribution of this external source to the surface DOC, DON and DOP pools in the NW Mediterranean Sea during the stratification period. For this purpose, we coupled field observations of atmospheric deposition of SOC, SON, and SOP and of DOC, DON and DOP dynamics in the marine surface layer.

Material and Methods

Atmospheric deposition sampling

Bulk atmospheric deposition (dry plus wet deposition) was sampled twice a month at Frioul Island (43.26° N 05.29° E) in the Marseille Bay in the NW Mediterranean Sea (Figure IV. 1) from February 2015 to July 2016. The collector was set up on a cliff at 40 m above sea level and consisted on an open funnel (314 cm²) connected to a sampling HDPE bottle (2 L) with a nylon membrane (40 µm) in the neck of the funnel preventing contamination from plants, debris and insects. The height of the collector was 2 m above the ground level. Prior to sampling, the collector was cleaned with 10% hydrochloric acid solution and ultrapure water. Every sampling day, the collector was recovered and transferred to the laboratory in a clean plastic bag. Under a laminar flow hood, the inner walls of the funnel were rinsed with 100 mL of ultrapure water after having removed debris deposited on the nylon membrane by means of a plastic clamp. The volume of the rainfall was then determined by the difference in the weight of the sampling bottle before and after sampling to which the volume of ultrapure water added to rinse the funnel was subtracted. If the sample volume collected was less than 600 mL (volume needed to perform all analyses), it was made up to 600 mL with ultrapure water. Two hundred mL were filtered through a

pre-weighed GF/F filter for the determination of particulate matter content as dry weight (60°C, 24h). The remaining volume (400 mL) was filtered through a pre-cleaned (10% HCl + ultrapure water) 0.2 µm polycarbonate filter for chemical analyses.

Seawater sampling

Seawater was sampled monthly between April 2015 to June 2016 on board the *R / V Tethys II* at the permanent time series MOOSE ANTARES offshore station (42.81° N, 6.79° E) (Figure IV. 1). Due to unfavorable weather conditions, samplings on November 2015 and between January and March 2016 could not be conducted. Seawater samples were collected at 4 to 7 depths between the surface and 200 m from the Niskin bottles for dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON), dissolved organic phosphate (DOP), labile dissolved organic phosphorus (LDOP), heterotrophic prokaryotic abundance (HPA), heterotrophic prokaryotic production (HPP), and community respiration (CR). Data on in situ temperature, salinity, oxygen concentrations, and fluorescence were also collected from a SeaBird CTD. For DOM measurements, seawater samples were filtered on board through pre-cleaned (10 % HCl + ultrapure water) 0.2 µm pore size polycarbonate filters and were kept frozen until analysis. Samples were collected in duplicate into acid washed HDPE 60 mL bottles.

For heterotrophic prokaryotic abundance (HPA), heterotrophic prokaryotic production (HPP) and community respiration (CR) unfiltered seawater was sampled. For HPA, duplicate subsamples (1.8 mL) were collected, fixed with 200 µl of paraformaldehyde (20%), kept at ambient temperature for 15 min, placed in the freezer (-20 °C) available on board, and then stored at -80 °C in the laboratory until analysis. For CR, samples were siphoned directly from the Niskin bottle into eight oxygen bottles. Four bottles were immediately fixed with Winkler reagents, and the remaining bottles were incubated 24 h in the dark in a tap water bath to minimize temperature variations.

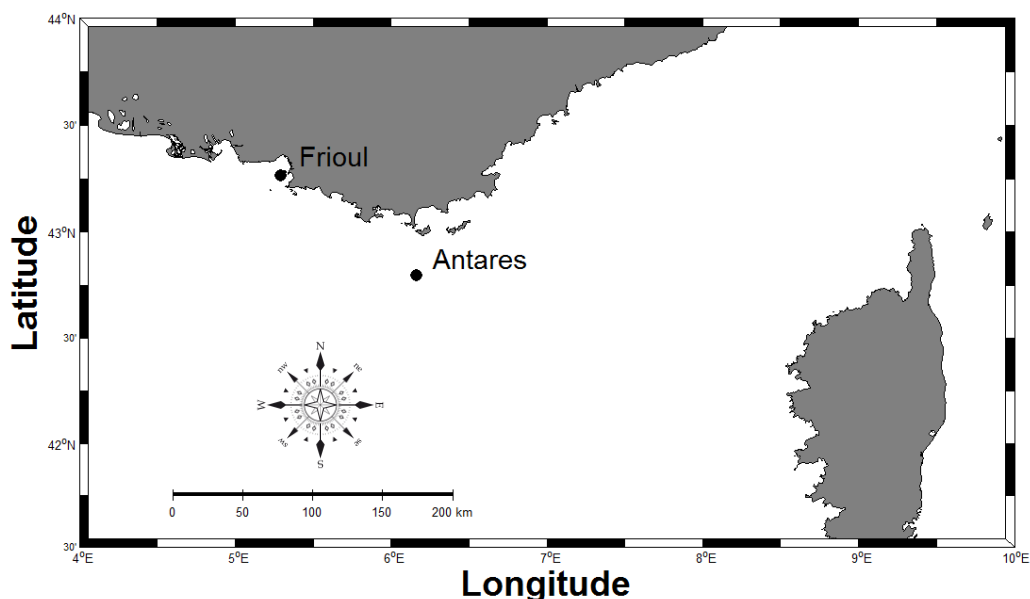


Figure IV. 1: Location of the sampling sites: atmospheric deposition at the Frioul Island and sea water sampling at the ANTARES site. Both sampling sites are included in the MOOSE observation network (<http://www.moose-network.fr/>).

Analytical methods

DOC was measured using a Shimadzu (Model TOC-V total) carbon analyzer with a quartz combustion column filled with 1.2% Pt on silica pillows (Sempéré *et al.*, 2008). Prior to analysis, samples were acidified with a few drops of orthophosphoric acid (H_3PO_4 , 85%). The daily calibration curve was based on 5 (0, 50, 100, 150 and 300 μM) and 4 (0, 50, 100 and 150 μM) standard solutions of potassium acid phthalate (1 000 ng L^{-1}) for atmospheric SOC and marine DOC, respectively. One hundred μl of sample were injected between 3 and 5 times for each sample and standard. The analytical precision of the procedure, based on 3 to 5 injections and analyses of the same sample, was 1.5% on average. The accuracy of the instrument and the system blank were determined by analyzing reference materials (D. Hansell, Rosenstiel School of Marine and Atmospheric Science, Miami, USA), including the Deep Seawater reference (DSR) and low carbon water (LCW) reference materials. The average DOC concentrations in the DSR and LCW reference standards were $45 \pm 2 \mu\text{M C}$, $n = 24$ and $1 \pm 0.3 \mu\text{M C}$, $n = 24$, respectively. Batch number references were Batch#15, Lot#01-15 for DSR and Lot#12-01-B2 for LCW.

DON and DOP concentrations were estimated from the difference between two determinations of dissolved inorganic nitrogen (DIN) and phosphate (SRP for soluble

reactive phosphate). The first determination took place after sample hydrolysis (total dissolved nitrogen and phosphate, TDN and TDP) and the second one on non-hydrolyzed sample (DIN and SRP). DIN and TDN in both atmospheric and marine samples were analyzed by continuous flow according to Aminot and Kerouel (2007) using the conventional automated colrimetric procedure with an estimated limit of detection of 20 nM. TDN was analyzed after persulfate wet-oxidation (Pujo-Pay *et al.*, 1997). For atmospheric samples, SRP and TDP were analyzed spectrophotometrically on a 10-cm cell after Murphy and Riley (1962) method. TDP was obtained after UV digestion (Armstrong *et al.*, 1966). For marine samples, due to low concentrations expected, SRP and TDP were analyzed spectrophotometrically by using a long waveguide capillary cell (LWCC) according to Pulido-Villena *et al.* (2010). The LWCC was 2.5 m long and the limit of detection, estimated as three times the standard deviation of 10 measurements of the blank was 0.8 nM. The labile fraction of DOP in marine (LDOP) and atmospheric samples (LSOP) was obtained after an enzymatic hydrolysis with alkaline phosphatase (AP) from *Escherichia Coli* (Feuillade and Dorioz, 1992; Suzumura *et al.*, 2012; Hashihama *et al.*, 2013). The AP was diluted with pure water to prepare a working AP solution of 0.2 U mL⁻¹. Equal volumes (0.6 mL) of AP working solution and Tris buffer (0.5 M) were added to 30 mL of the sample. Samples were incubated during 3 hours in the dark at a temperature between 25 and 30 °C before phosphate concentration analysis. The duration of the incubation was checked with glucose 6-phosphate in the same conditions of the sample to determine if this duration was sufficient to achieve the whole DOP hydrolysis. To assess any contamination, phosphate concentration was measured in 30 mL of milli-Q water in which 0.6 mL of working AP and Tris buffer were introduced.

Heterotrophic prokaryotic abundance (HPA) counts were performed by cytometry with a FACSCalibur at the MIO-PRECYM flow cytometry platform. Heterotrophic prokaryotic cells were stained with 1:10 diluted SYBR Green II (Molecular Probes) for 15 minutes in the dark at ambient temperature and were detected by their signature in a plot of side scatter (SCC) versus FLI (green fluorescence). Cells were characterized by 2 main optical signals collected from the 488nm laser: side scatter (SSC, related to cell structure) and green fluorescence (530/488 nm), related to nucleic acids staining. Regions were established on the SSC versus green fluorescence plot in order to discriminate cells with high nucleic acid

(HNA) content from cells with low nucleic acid (LNA) content. Abundance of heterotrophic prokaryotic cells were determined for each subgroup.

Heterotrophic prokaryotic production (HPP) was estimated using the ^3H -leucine incorporation method (Kirchman *et al.*, 1993), adapted with the centrifuge method (Smith and Azam, 1992). Triplicate aliquots of 1.5 mL were taken for each depth plus one trichloacetic acid (TCA, 5% final) control. A volume of 50 μL of the leucine tracer (20 nM), obtained by mixing of 14 nM hot leucine (L- ^3H) leucine, Perkin Elmer® specific activity 106 Ci mmol^{-1}) and 6 nM cold leucine, was added to samples which were then incubated 2 hours in the dark. The incorporation of leucine was stopped with the addition of TCA (5% final concentration) to the samples which were then kept at -4°C until analysis (within few days). After three runs of centrifugation/aspiration of the supernatant (once with the fixed sea water sample, once with a 5 % TCA rinse, once with an 80 % ethanol rinse), the pellet was re-suspended in scintillation liquid. We used the standard conversion factors of 1.5 kg C mol Leu $^{-1}$ (Kirchman *et al.*, 1993), assuming no isotopic dilution as checked occasionally from concentration kinetics.

Community respiration (CR) was determined from the decrease in oxygen concentration before and after incubation. O_2 concentrations were measured following the Winkler method (Carrit and Carpenter, 1966) and a respiratory quotient of 1 (Del Giorgio and Cole, 1998) was applied to convert to C units. A minimum and maximum value of heterotrophic prokaryotic respiration (HPR) was estimated by multiplying the CR by 33% and 78% which represent the range of the contribution of HPR to CR in the NW Mediterranean Sea (Lemée *et al.*, 2002).

Experimental assessment of atmospheric SOC bioavailability

The bioavailability of atmospheric SOC was experimentally assessed on one sample of atmospheric deposition collected on April 2016 during a Saharan dust event. The rainwater sample was filtered through 0.2 μm and adjusted to a marine salinity of 35 using precombusted (450°C , 6 hours) NaCl. A natural inoculum of marine heterotrophic prokaryotes was added to the filtered rainwater. The inoculum was prepared using surface marine water (5 m) collected at the MOOSE ANTARES offshore site, which was subsequently filtered on board through a 40 μm mesh plankton and then by a 0.8 μm Nuclepore polycarbonate filter. Finally, the heterotrophic prokaryotes were concentrated 15 times from 1.5 L of the $< 0.8 \mu\text{m}$ filtrate using a 0.2 μm Nuclepore polycarbonate filter. At the end of the filtration, a volume of 100 mL of the supernatant

was recovered with the 0.2 µm filter and was sonicated during 5 mn in order to recover heterotrophic prokaryotes attached to the filter. The objective of this concentration approach was to limit the amount of DOC added with the inoculum which allowed setting the DOC contained in rainwater as the main C source in the incubations. HPA and HPP of the inoculum were 1.6×10^6 cells mL⁻¹ and 126 ng C L⁻¹ h⁻¹, respectively, indicating that the procedure did not affect the vitality of the heterotrophic prokaryote community. Controls consisted of ultrapure water adjusted to a salinity of 35 in which the same inoculum of heterotrophic prokaryotes were added. The experimental bottles were incubated in the dark at controlled temperature during 11 days. The experiment was run in triplicate. Subsamples were taken at selected times during the incubation for the determination of HPA, HPP and DOC.

The percentage of the labile SOC (LSOC) was calculated as:

$$LSOC (\%) = \frac{[SOC]_{initial} - [SOC]_{final}}{[SOC]_{initial}} \times 100.$$

Calculations

Air-mass back trajectories

Five-day air-mass back trajectories were calculated at 500, 1 000 and 3 000 m for each sampling date using the Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectories (HYSPLIT) model (Draxler and G. Rolph, 2003, NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, Maryland, available at <http://www.arl.noaa.gov/ready/hysplit4.html>) provided by the NOAA Air Resources Laboratory (ARL).

Heterotrophic prokaryotic phosphate demand (HPPD)

HPPD, i.e. the phosphate channeled through the heterotrophic prokaryotes, was estimated by dividing the heterotrophic prokaryotic production (HPP) by the C:P ratio of heterotrophic prokaryotic biomass provided in the literature for natural environments. A conservative range of C:P ratios, between 29 and 106 (minimum and maximum values reported for oceanic bacteria in nature, Cotner et al. (1997) and references therein) was used for this calculation.

For sampling dates lacking HPP measurements (between April and August 2015), HPP was estimated from HPR (derived from CR) and heterotrophic prokaryotic growth efficiency (HPGE). HPGE (%) was calculated for each sampling date where

both HPP and HPR data were available (Sep., Oct. and Dec. 2015, and from Apr. to Jun. 2016) as, $HPP/(HPP + HPR) \times 100$. For each sampling date, a minimum and maximum value of HPGE was estimated corresponding to the minimum and maximum HPR calculated from measured CR. Average $HPGE_{min}$ was $4.7 \pm 3.3\%$ and average $HPGE_{max}$ was $10.2 \pm 6.5\%$.

Inventories in the surface mixed layer

The mixed layer depth for the marine sampling dates (running from April 2015 to June 2016) was determined following De Boyer Montegut *et al.* (2004) according to the depth profiles of potential density and temperature. DOC, DON, DOP and biological inventories were calculated for depth intervals in the MLD by vertical trapezoidal integration assuming that the concentration at 0 m is the same as at 5 m:

$$\int_{z1}^{z2} f(x) dz = (z2 - z1) ((f(z1) + f(z2))/2)$$

Results

Atmospheric fluxes of soluble organic matter (SOM)

Between April 2015 and July 2016, atmospheric fluxes of soluble organic carbon (SOC) ranged between 32 and 588 $\mu\text{mol C m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ (

Figure IV. 2A). Atmospheric fluxes of soluble organic nitrogen (SON) ranged between 7 and 367 $\mu\text{mol N m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ (

Figure IV. 2B) and of soluble organic phosphate (SOP) between 0.01 and 0.59 $\mu\text{mol P m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ (

Figure IV. 2C).

The contribution of the organic fraction to the total soluble fluxes of nitrogen and phosphate ranged between 12 and 83% ($41 \pm 14\%$) and between 4 and 57% ($25 \pm 14\%$), respectively. The maximum atmospheric flux of soluble organic matter (SOM) was recorded during April and May 2015 when 23% of both SOC and SON and 39% of SOP were deposited. During the rest of the time-series, atmospheric fluxes of SOM were more homogeneous. Considering the entire study period ($n = 33$), atmospheric fluxes of SOM were significantly related to precipitation rates ($r = 0.43$, $p < 0.01$ for SOC, $r = 0.66$, $p < 0.001$ for SON and $r = 0.38$, $p < 0.05$ for SOP). No significant correlations were observed between atmospheric fluxes of SOM and the atmospheric flux of particulate matter.

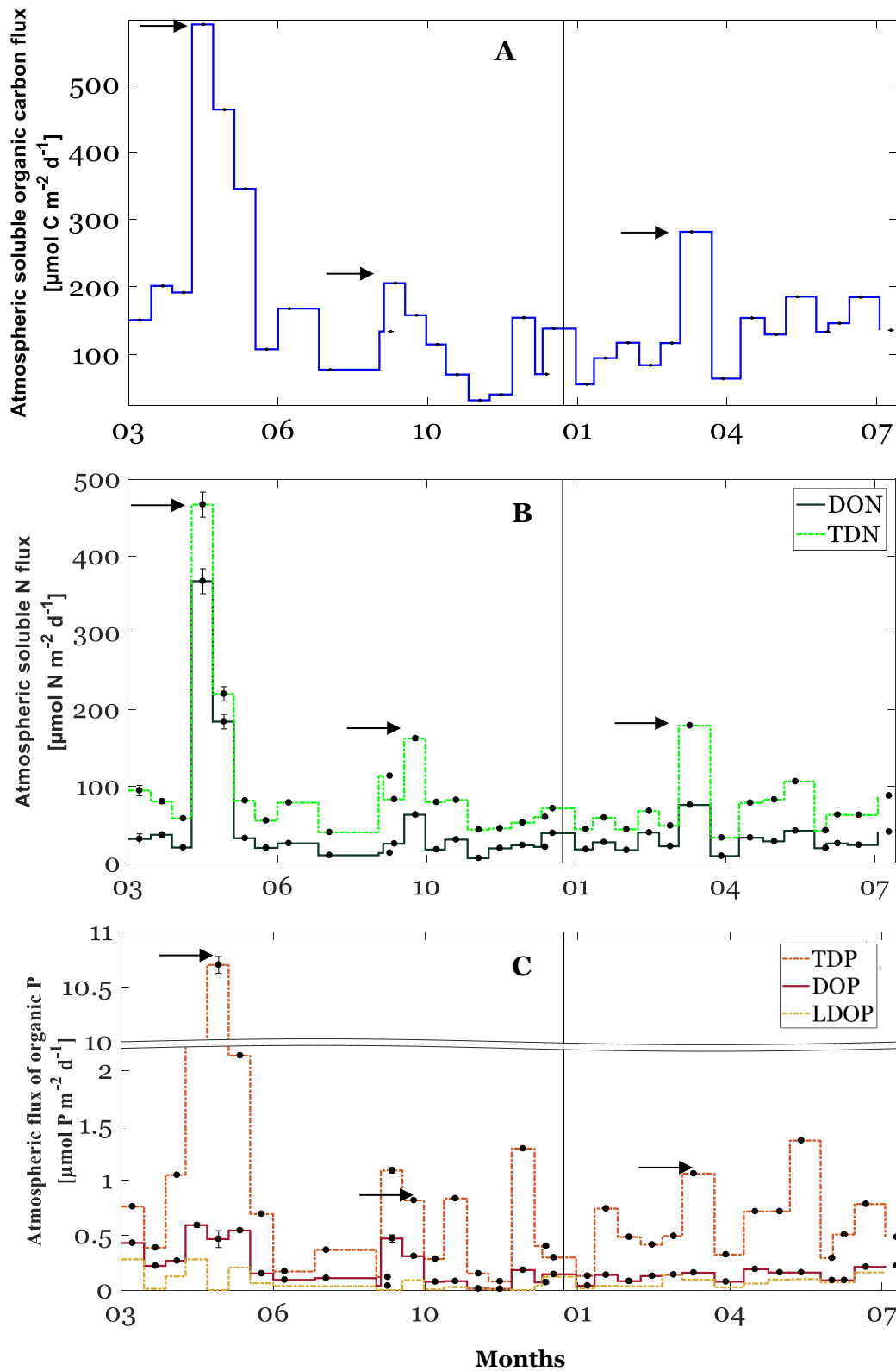


Figure IV. 2: Temporal evolution of atmospheric fluxes ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{day}^{-1}$) of soluble organic carbon (SOC; panel A), total soluble and soluble organic nitrogen (TSN, SON; panel B), total soluble, soluble organic and labile soluble organic phosphate (TSP, SOP, LSOP; panel C), for each 2-week sample collected at the Frioul Island between March 2015 and July 2016. Arrows point to rain events higher than 30 mm. The vertical line differentiates the year 2015 from the year 2016.

Bioavailability of soluble organic phosphate and carbon in atmospheric deposition

The atmospheric flux of labile soluble organic phosphate (LSOP) ranged from 0 to $0.28 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ over the study period. The contribution of LSOP to the atmospheric flux of SOP showed an important variation during the study period, ranging from 0 to 97% ($44 \pm 27\%$).

The labile fraction of soluble organic carbon (LSOC) in atmospheric deposition was estimated only once, through a biodegradation experiment made on a rainwater sample collected in April 2016 (see Material and Methods). In the control treatment, the concentration of DOC at the beginning of the incubations was $7 \mu\text{M}$ and it remained constant during the 11-day incubation. The heterotrophic prokaryote abundance (HPA) decreased over the experiment and heterotrophic prokaryotic production (HPP) did not exceed $0.35 \text{ ng C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$. In the rainwater treatment, the concentration of DOC at the beginning of the incubations was $62 \mu\text{M}$ and it decreased by $18 \pm 3 \mu\text{M}$ in eleven days which leads to a labile fraction of 29% at this time-scale. During the incubation period, HPA and HPP in the rainwater treatment increased by $6.6 \pm 3.3 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ and $221 \pm 17 \text{ ng C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, respectively.

Dissolved organic matter (DOM) and heterotrophic prokaryotes in the surface layer

Depth profiles

Vertical profiles of DOC, dissolved organic nutrients (DON, DOP and LDOP), dissolved inorganic nutrients (DIN and SRP) and biological activity (HPA, HPP and CR) for all sampling dates are reported in [Figure IV.S 1](#) to [Figure IV.S 6](#). DOC concentration ranged between $39 \mu\text{M}$ (June 2015 at 200 m) to $86 \mu\text{M}$ (June 2015 at 5 m). Overall, the depth profiles of DOC were similar during the study period, presenting a slight decrease from the surface to 200 m ([Figure IV.S 1](#)). The depth profiles of DON and DOP presented quasi-constant concentrations between the surface and 200 m. DON concentration ranged from $1 \mu\text{M}$ (August 2015 at 200 m) to a maximum of $10 \mu\text{M}$ (July 2015) ([Figure IV.S 2](#)). DOP concentration ranged between 24 nM (April 2016 at 5 m) to 130 nM (August 2015 at 200 m) ([Figure IV.S 3](#)). LDOP ranged between 0 and 34 nM with maximum values observed above the pycnocline decreasing with depth to reach minimal values at 200 m ([Figure IV.S 3](#)). In contrast to DON and DOP, DIN and soluble reactive phosphate (SRP) were low above the pycnocline, ranging from the

detection limit to $0.34 \mu\text{M}$ for DIN and between 2 and 47 nM for SRP. Concentrations increased with depth and reached the highest values ($8 \mu\text{M}$ for DIN and 300 nM for SRP) at 200 m (Figure IV.S 4).

The abundance of heterotrophic prokaryotes (HPA) ranged between 3 and $18 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ throughout the study period (Figure IV.S 5). The community respiration (CR) ranged from undetectable values to $0.5 \mu\text{mol O}_2 \text{ Kg}^{-1} \text{ day}^{-1}$ (Figure IV.S 5). Heterotrophic prokaryotic production (HPP) data are available only from September 2015 and ranged from undetectable values to $46 \text{ ng C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Figure IV.S 6). Both HPA, HPP and CR showed higher values in surface waters and a general decrease with depth.

Depth-integrated inventories

The integrated inventories of DOC (mol m^{-2}), DON (mol m^{-2}), DOP and LDOP (mmol m^{-2}) in the surface mixed layer (SML) displayed similar trends during the marine sampling period with maximum inventories observed in December 2015 (Figure IV. 3). Over the study period, SML inventories of DOC ranged between 1.0 and 2.3 mol m^{-2} (Figure IV. 3A). SML inventories of DON and DOP ranged between 0 and 0.2 mol m^{-2} (Figure IV. 3B) and between 0.5 and 2.1 mmol m^{-2} (Figure IV. 3C), respectively. DON and DOP contributed of $98 \pm 2\%$ and of $85 \pm 11\%$ for TDN and TDP in the SML over the study period, respectively. Inventories of LDOP ranged 0.1 and 1.0 mmol m^{-2} in the SML (Fig. 3C) and, on average, contributed by $27 \pm 19\%$ to the DOP pool.

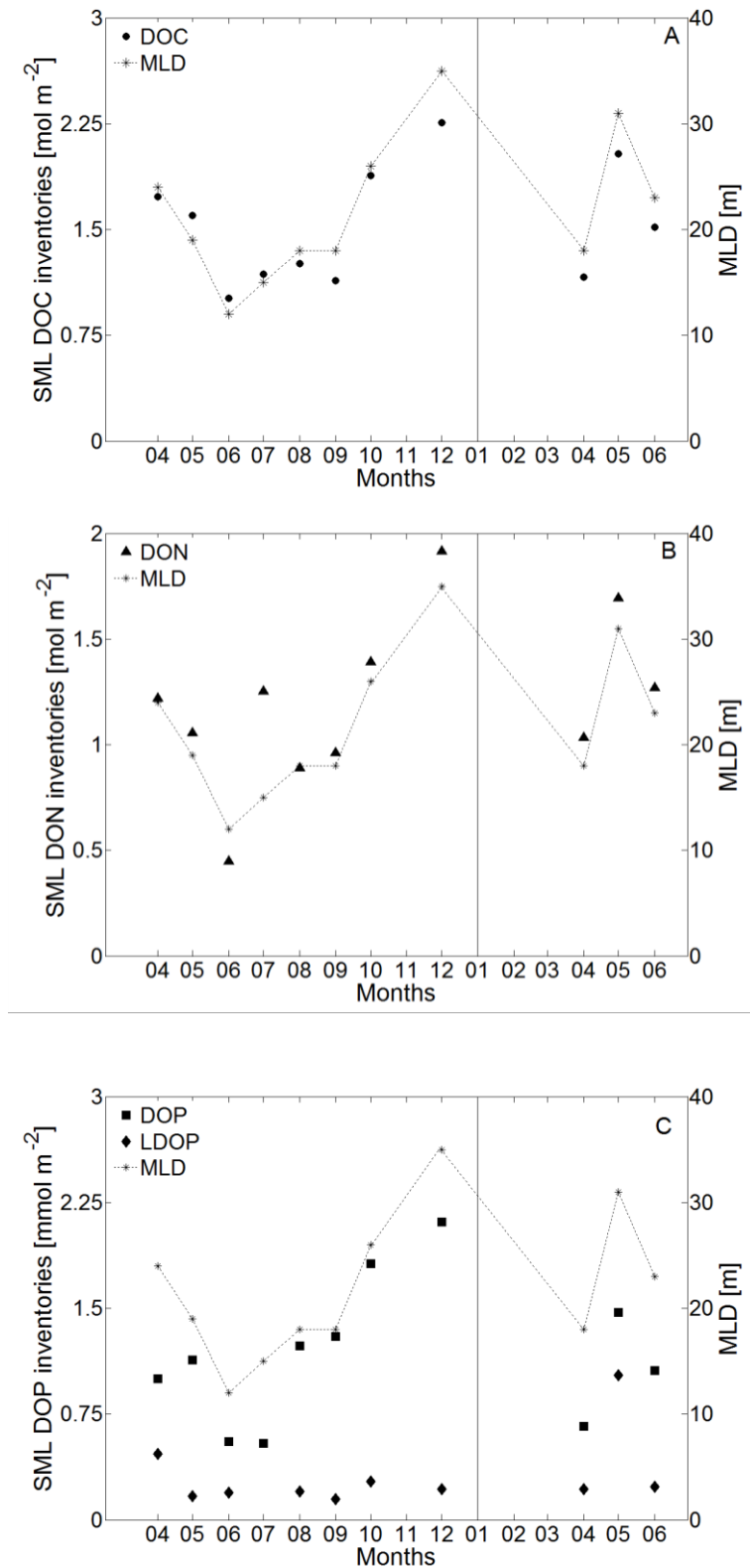
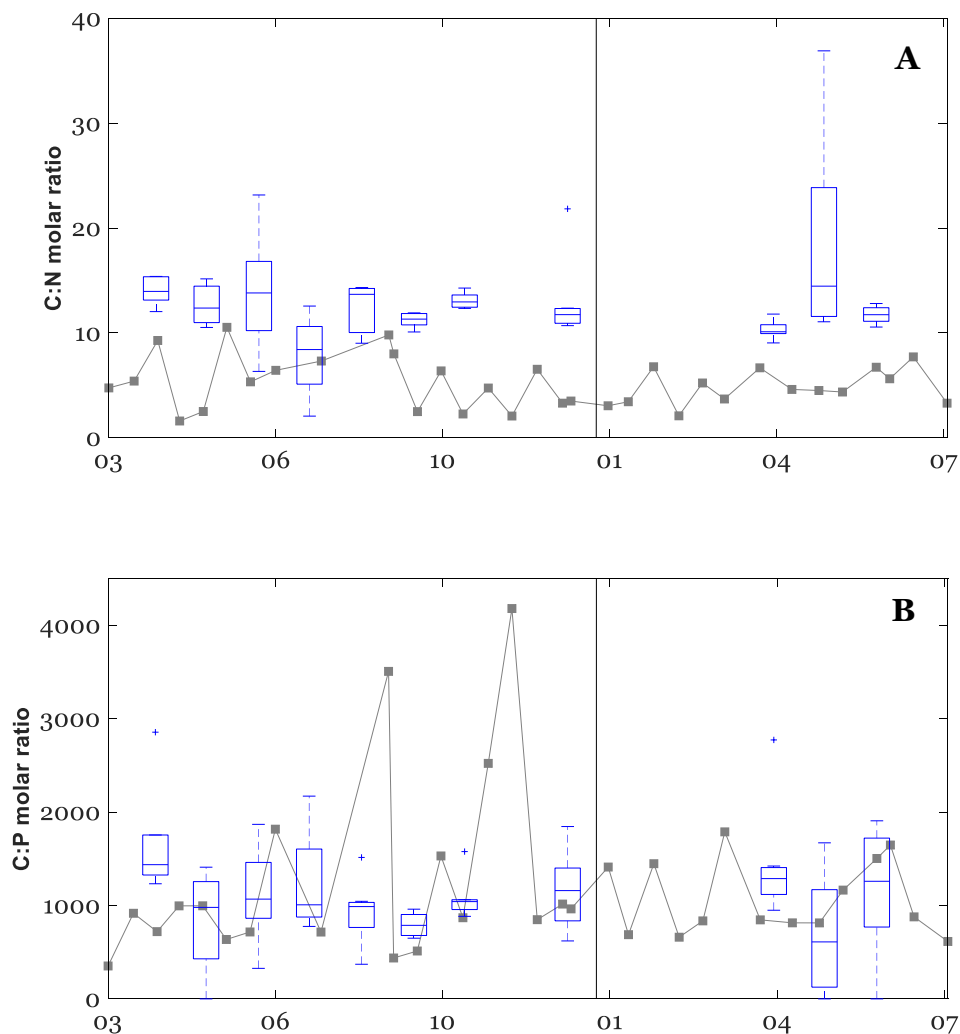


Figure IV. 3: Integrated inventories of dissolved organic carbon (DOC; panel A), dissolved organic nitrogen (DON; panel B), dissolved organic phosphate and labile dissolved organic phosphate (DOP and LDOP; panel C) in the surface mixed layer over the study period. The vertical line differentiates the year 2015 from the year 2016.

C:N:P molar ratios in atmospheric SOM and marine DOM

C:N molar ratios in atmospheric soluble organic matter (SOM) ranged between 1.6 and 10.5 (Figure IV. 4A) with an average value of 5.2 ± 2.3 . Marine DOM showed higher C:N ratios, ranging from 2 to 43 with an average of 13.8 ± 6.5 . C:P ratios in atmospheric SOM ranged between 352 and 4 200 with an average of $1\,228 \pm 849$. Marine DOM C:P ratios were generally of the same order of magnitude ranging from 326 to 2 850 with an average of $1\,227 \pm 538$ except for August and December 2015 when the C:P ratio was higher in atmospheric deposition (Figure IV. 4B). N:P ratios in atmospheric SOM ranged between 55 to 2 013 with an average value of 308 ± 349 and a maximum observed during October 2015. Marine DOM N:P ratios were generally lower than in atmospheric SOM and evolved between 9 and 376 with an average value of 100 ± 55 (Figure IV. 4C).



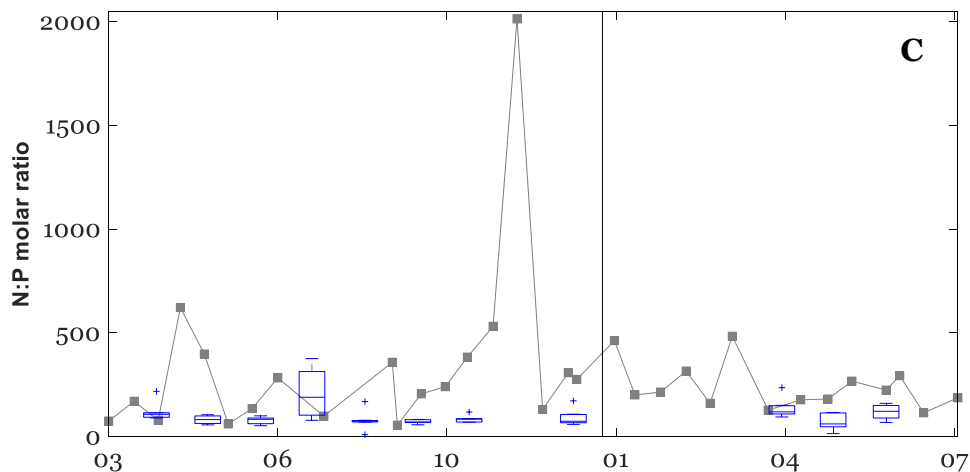


Figure IV. 4: C:N (panel A), C:P (panel B) and N:P (panel C) molar ratios of soluble organic matter in atmospheric deposition (line with squares) and of marine dissolved organic matter between the surface and 200 m depth (box plots: the central mark represents the mean value for all depths, the edges of the box are the 25th and 75th percentiles, the whiskers extend data points to the minimum and the maximum, and the outliers are plotted individually).

Discussion

Atmospheric fluxes

Very few data on atmospheric fluxes of SOC have been reported for the Mediterranean Sea, in particular using frequent deposition data collected over at least one year (Pulido-Villena *et al.*, 2008; De Vicente *et al.*, 2012). The annual atmospheric flux of SOC obtained in this study ($59 \text{ mmol m}^{-2} \text{ year}^{-1}$) is slightly lower than reported in the Ligurian Sea (Cap Ferrat site $129 \text{ mmol m}^{-2} \text{ year}^{-1}$) (Pulido-Villena *et al.*, 2008) and in southern Spain (De Vicente *et al.*, 2012). Annual atmospheric flux of SOC in our study is higher than the atmospheric flux (through dry deposition) estimated from the concentration of organic carbon in aerosols collected in the Eastern Mediterranean Sea ($15 \text{ mmol m}^{-2} \text{ year}^{-1}$) (Theodosi *et al.*, this issue). The literature on atmospheric fluxes of SON and SOP to the Mediterranean basin is also very limited. The annual atmospheric flux of SOP obtained in this study ($69 \text{ } \mu\text{mol P m}^{-2} \text{ year}^{-1}$) is slightly higher than that reported by Migon and Sandroni (1999) ($32 \text{ } \mu\text{mol P m}^{-2} \text{ year}^{-1}$) and lower than reported by Violaki *et al.* (this issue) (160 and $940 \text{ } \mu\text{mol P m}^{-2} \text{ year}^{-1}$ for the western and eastern basin, respectively). The average contributions of SON and SOP to the total soluble nitrogen and phosphate (TSN, TSP) over the study period were 40% and 25%, respectively. The contribution of SON to TSN in our study was higher than that previously observed by Markaki *et al.* (2010) while the contribution of SOP to TSP was

lower than those reported in the Mediterranean basin (Markaki *et al.*, 2010; Violaki *et al.*, this issue). Anyhow, given the few existing data, it is difficult to conclude if the observed differences reflect a spatial or inter-annual variability or if they are caused by differences in the sampling protocols and analytical methods.

To our knowledge, there are no reported measurements of atmospheric fluxes of SOC, SON and SOP simultaneously, a single modelling study quantified these atmospheric fluxes at the global ocean scale (Kanakidou *et al.*, 2012). For the first time, in this study, coupled atmospheric fluxes of SOC, SON and SOP were quantified in the NW Mediterranean Sea. Over the study period, atmospheric fluxes of SOC, SON and SOP were significantly inter-correlated suggesting a common source and similar transport patterns. The atmospheric fluxes of SOC, SON and SOP were significantly correlated with precipitation rates indicating a high efficiency in atmospheric deposition of SOM via rain events in the NW Mediterranean Sea. These rain events occurred in 80% of our sampling dates and showed important amplitude of variability (between 0.4 and 47 mm). Hereafter, to get further insight on factors controlling the observed atmospheric fluxes of SOM, we have discriminated sampling dates presenting precipitation rates higher than 10 mm from the rest of sampling. Precipitation rates higher than 10 mm were recorded in 8 out of 33 sampling dates. In these samples, differences in SOM atmospheric fluxes observed may be attributable to the differences in rain amount. The maximum atmospheric flux of soluble organic matter was observed during the rain event of April 2015 (Fig. 2) and coincided with a maximum precipitation rate (47 mm during 15 days). This agrees with the observations by Pan *et al.* (2010) who reported high atmospheric fluxes of SOC coinciding with important rain events in Northern China. However, two other rainfall events of the same magnitude (32 and 37 mm during 15 days) were not accompanied by such a significant atmospheric flux of SOM, suggesting that other factors than rain amount controlled the magnitude of atmospheric flux of SOM in the study area. Back trajectories showed air masses coming from the North for the rain event of April 2015 whereas they came from the West and East during the rainfall of September 2015 and from the South with a Saharan influence for the rainfall of April 2016. These observations suggest that the maximum atmospheric fluxes of SOC, SON and SOP in the NW Mediterranean Sea results from a combination of an anthropogenic influence and an important precipitation rate. Indeed, anthropogenic emissions are known to enhance the presence of organic aerosols in the atmosphere (Kanakidou *et al.*, 2000; 2005;

Sempéré and Kawamura, 2003). In the opposite, the minimum atmospheric flux of SOC, SON and SOP coincided with the Saharan rain event of April 2016, suggesting that atmospheric fluxes with a desert signature are poorly enriched in soluble organic matter. This observation contrasts with Pulido-Villena *et al.* (2008) who reported a maximum atmospheric flux of dissolved organic carbon coinciding with a Saharan dust event. The Saharan dust event reported in Pulido-Villena *et al.* (2008) delivered a much higher particle flux ($215 \text{ mg m}^{-2} \text{ day}^{-1}$) than that reported in our study ($5.2 \text{ mg m}^{-2} \text{ day}^{-1}$). The high SOC flux observed by Pulido-Villena *et al.* (2008) was hence perhaps a result of heterogeneous reactions between organic compounds and mineral dust in the troposphere (Usher *et al.*, 2003 and references therein).

Marine dissolved organic matter

To date, technical limitations have dramatically constrained the data coverage on DOP concentration in surface waters of the Mediterranean Sea. Indeed, the quantitative estimation of DOP relies upon an accurate measurement of SRP concentration, which is below the detection limit given by the conventional colorimetric method (20 nM) in the surface layer during most part of the year (Moutin and Raimbault, 2002; Pulido-Villena *et al.*, 2010). In this study, an alternative high sensitive SRP analysis method, involving the Long Wave Guide Capillary Cell (LWCC), was applied allowing to get accurate measurements of SRP concentration and, thus, of DOP in the NW Mediterranean area. Therefore, this study provides the first complete dataset on the temporal variation of DOC, DON, DOP and LDOP concentrations in surface waters of the NW Mediterranean Sea.

DOC concentrations obtained over the study period are consistent with values reported for surface waters of the NW Mediterranean Sea (Avril, 2002; Pujo-Pay *et al.*, 2011) as well as for the other parts of the Mediterranean Sea (Sempéré *et al.*, 2002; 2003; Pujo-Pay *et al.*, 2011; Santinelli *et al.*, 2012). Likewise, DON concentrations reported in this study are in good agreement with previously reported data in the Mediterranean Sea (Diaz *et al.*, 2001; Pujo-Pay *et al.*, 2011). DOP concentrations above the pycnocline ranged between 25 and 78 nM with an average of 52 nM compared to few nanomoles per liter of SRP. These concentrations compare well with DOP concentrations measured in the Eastern Mediterranean Sea using the same technology (Krom *et al.*, 2005). LDOP concentrations were in the same range as SRP concentrations in upper waters. However, the increase of SRP concentration below the

pycnocline was not accompanied by an increase of the LDOP concentration in agreement with the observations by Hashihama *et al.* (2013) in the oligotrophic western North Pacific and East China Sea. This suggests that LDOP was still actively hydrolyzed below the pycnocline despite the high concentration of SRP. The elevated DOC concentrations in the upper waters and the slight decrease observed with increasing depth could suggest a net accumulation of carbon in the surface layer. The net accumulation of organic carbon is the difference between sources and sinks which are mainly attributed to biological processes in the marine environments. Phytoplankton activity and their grazer's or viruses activity are considered as the main primary DOM sources in the euphotic layer (Carlson and Hansell, 2015 and reference therein)). The quasi-constant DON and DOP profiles between the surface and 200 m observed in our study, could suggest a balance between production/consumption and import/export processes of both DON and DOP.

Concerning the integrated DOM inventories in the SML (Fig. 3), DOC, DON and DOP followed the same trend over the study period suggesting a control through common processes. The maximum integrated inventories were observed during December 2015 which suggests an accumulation at the end of the stratification period (Fig. 3A, B and C). DON and DOP contributions to the TDN and TDP are important in the SML over the study period and are in good agreement with reported literature data in the Mediterranean Sea (Moutin and Raimbault, 2002; Santinelli *et al.*, 2012). The labile fraction of DOP (LDOP) also contributed significantly ($27 \pm 19\%$) to the SML DOP pool over the study period. This contribution was higher than that observed in the oligotrophic Western Pacific and Eastern China ($12 \pm 7\%$) (Hashihama *et al.*, 2013). Contrarily to DOP, LDOP did not accumulate at the end of the stratification period and could therefore have sustained the autotrophic and heterotrophic activity in the P-depleted upper waters of the NW Mediterranean Sea.

Elemental ratios in both atmospheric SOM and marine DOM

C:N:P ratios of SOM in atmospheric deposition did not show any seasonal pattern, but seemed to be related to a punctual dominance of the atmospheric flux of one of the three elements. Except for a few sampling dates, C:N:P ratios displayed relatively constant values. For instance, the average C:N ratio was higher between April and September (2015) (Figure IV. 4A), linked to high SOC fluxes. C:N ratios obtained in this study are in good agreement with C:N ratios of water soluble fraction of aerosols

reported in both northern and southern Pacific (Sempéré and Kawamura, 2003). Low atmospheric fluxes of SOP were responsible for the two C:P and N:P ratios values deviating from the mean during the study period (Figure IV. 4B and Figure IV. 4C). The N:P ratios were, on average, higher in the organic fraction (308 ± 349) than in the inorganic fraction (175 ± 234) and were of the same order of magnitude as previously reported (Krom *et al.*, 2004; Markaki *et al.*, 2010).

The precise quantification of DOP concentration above 2 nM using the LWCC technique, allowed assessing for the first time the temporal variability in elemental C:N:P ratios of DOM above the pycnocline in the NW Mediterranean Sea. C:N, C:P and N:P ratios showed average values over the study period of 13 ± 3 , 1430 ± 410 and 112 ± 47 , respectively, without any seasonal trend. Elemental ratios of marine DOM showed different values than atmospheric deposition of SOM, on average. Indeed, C:N ratios of marine DOM were somewhat higher than in atmospheric SOM while N:P ratios were higher in atmospheric deposition due mainly to high atmospheric fluxes of SON. The lack of signature of atmospheric deposition in C:N:P ratios of marine DOM could suggest a quick transformation of atmospheric SOM in the upper waters. C:N:P ratios in atmospheric deposition may thus affect C:N:P ratios in DOM above the pycnocline, but it is difficult to establish a direct link on one year of data. The incorporation of the data obtained in this study into ocean biogeochemical models would certainly help to get further insight on the contribution of atmospheric deposition on elemental ratios of DOM.

Potential biogeochemical implications of atmospheric fluxes of SOM

Assuming atmospheric fluxes obtained in this study valid for the whole western Mediterranean Sea, annual atmospheric fluxes of SOC, SON and SOP would represent 0.2%, 1.2% and 0.5% of the modelled atmospheric flux of SOM at the global ocean scale (Kanakidou *et al.*, 2012, Tableau IV. 1). A comparison with the major input fluxes of DOM to the Western Mediterranean Sea (rivers and straits) highlights that annual atmospheric flux of SOC and SOP is lower than the net input through Gibraltar and Sicily straits while annual atmospheric flux of SON is in the same order of magnitude (Table 1). In comparison to the Rhône river, which is the most affluent river in the Mediterranean Sea, atmospheric fluxes of SOC, SON and SOP are higher than DOC, DON and DOP riverine inputs by a factor of 6, 17 and 2 respectively (Tableau IV. 1). These results highlight the need of accounting for atmospheric inputs, particularly in

biogeochemical models, in order to achieve a balanced budget of DOM in the Mediterranean Sea.

Tableau IV. 1 : Annual atmospheric fluxes of soluble organic carbon (SOC), soluble organic nitrogen (SON) and soluble organic phosphate (SOP) extrapolated to the western Mediterranean basin compared to dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic phosphate (DOP) fluxes from the Rhône River and net inputs from Sicily and Gibraltar straits.

	Atmospheric flux ^a	Rhône flux ^b	Global modeled atmospheric flux ^c	Straits net inputs
DOC (x 10 ¹² g C yr ⁻¹)	0.595	0.104	230	2.4 - 3.1 ^d
DON (x 10 ¹² g N yr ⁻¹)	0.193	0.011	16	0.01 - 0.56 ^{e,f}
DOP (x 10 ¹² g P y ⁻¹)	0.002	0.001	0.35	0.07 - 0.16 ^{e,f}

^aThis study, annual atmospheric flux extrapolated to the whole western Mediterranean Sea area (0.84 x 10⁶ km²)

^bAnnual integrated flux (between December 2014 and December 2015) (data courtesy of the MOOSE network: <https://doi.org/10.6096/MISTRALS-MOOSE.767>)

^c From Kanakidou et al. (2012)

^d From Santinelli. (2015)

^e From Pujó-Pay *et al.* (2011)

^f From Coste *et al.* (1987)

One of the key points of our study is the simultaneous survey of atmospheric SOM fluxes and marine DOM inventories which provides a direct quantification of the contribution of the atmospheric SOM deposition to surface DOM pool. In this study, we choose to estimate this contribution over the period from April 2015 to October 2015 which corresponds to the stratification period, when the surface mixed layer (SML) is isolated from the deep layers making the atmospheric deposition a major source. The contribution of atmospheric SOM to the DOM pool in the SML was calculated by dividing the atmospheric cumulative integrated flux (Tableau IV. 3) by the surface mixed layer DOM inventories (Tableau IV. 2) during that period. The contribution of atmospheric deposition of SOM to the DOM pool in the surface layer of the NW Mediterranean Sea appears to be low for both SOC (3%) and SOP (4.5%) and moderate for both LSOP (7%) and SON (12%) (Tableau IV. 3).

Tableau IV. 2: Depth-integrated inventories (means $\pm$ standard deviation) within the surface mixed layer calculated between April and October 2015 (mmol m⁻²). DOM-related inventories: DOC: dissolved organic carbon, DON: dissolved organic nitrogen, DOP: dissolved organic phosphate, LDOP: labile dissolved organic phosphate. Biological activity-related inventories: HPA: heterotrophic prokaryotic abundance, HPP: heterotrophic prokaryotic production, HPR: heterotrophic prokaryotic respiration, HPPD: Heterotrophic prokaryotic phosphate demand. Details on the estimation of HPR and HPPD can be found on the text (sections 2.3 and 2.5, respectively).

DOM inventories; [mmol m ⁻²]	
DOC	$(1.4 \pm 0.3) \times 10^3$
DON	$(1 \pm 0.3) \times 10^2$
DOP	1.1 ± 0.4
LDOP	0.2 ± 0.1
Molar ratio	
C:N:P	1360:102:1
Biology inventories	
HPA; [cells m ⁻²]	$(2.4 \pm 1.2) \times 10^{13}$
HPP; [mmol C m ⁻² day ⁻¹]	$2.2 \pm 1.5 - 2.3 \pm 1.5$
HPR; [mmol C m ⁻² day ⁻¹]	$(19.8 \pm 15.1) \times 10^3 - (46.7 \pm 35.6) \times 10^3$
HPPD; [mmol P m ⁻² day ⁻¹]	$(11.4 \pm 8.9) \times 10^{-3} - (55.7 \pm 43.7) \times 10^{-3}$

The biogeochemical role of atmospheric deposition of SOM will depend, among others, on its bioavailability. Previous studies examining the effects of atmospheric inputs have focused on the inorganic fraction (Maranon *et al.*, 2010; Pulido-Villena *et al.*, 2014; Herut *et al.*, 2016). The few reported studies on the bioavailability of atmospheric organic matter concerned organic nitrogen (Timperley *et al.*, 1985; Peierls and Paerl, 1997, Seitzinger and Sanders, 1999; Seitzinger *et al.*, 2002) and none of these studies took place in the Mediterranean Sea. This study presents the first examination of the bioavailability of atmospheric SOC and SOP to marine heterotrophic prokaryotes and suggests that a substantial fraction of atmospheric SOC (29% over 11-days period) and SOP ($44 \pm 27\%$) would be bioavailable. The obtained data on the labile fraction of SOP (LSOP) from atmospheric deposition can have important consequences in the P-depleted Mediterranean surface waters since marine heterotrophic prokaryotes can hydrolyze labile DOP to alleviate P stress. Atmospheric LSOP being quantified over the study period, we have assessed its potential

contribution to the heterotrophic prokaryotic phosphate demand (HPPD, [Tableau IV. 3](#)), in the SML during the period between April and October 2015.

Tableau IV. 3: Cumulative integration of atmospheric fluxes (mmol m⁻²) and molar ratios of soluble organic matter (SOM) for the period between April-02 and October-29 (2015). SOC: soluble organic carbon, SON: soluble organic nitrogen, SOP: soluble organic phosphate, LSOP: labile soluble organic phosphate. Contributions (%) of atmospheric fluxes of SOM to marine surface pool of dissolved organic matter (DOM) and to heterotrophic prokaryotic C and P demand in the mixed layer depth during that period.

April-2 to October-29 (2015) cumulative atmospheric flux; [mmol m ⁻²]	
SOC	41.6
SON	11.9
SOP	49.2 x 10 ⁻³
LSOP	13.6 x 10 ⁻³
Molar ratio	
C:N:P	841:241:1
Contributions to surface DOM pool; (%)*	
C _{DOC}	3
C _{DON}	12
C _{DOP}	4.5
C _{LDOP}	6.8
Contribution to heterotrophic phosphate demand; (%)**	
C _{HPPD}	0 - 8.6

*Contributions - related to DOM pool: C_{DOC}; contribution of atmospheric SOC to DOC pool, C_{DON}; contribution of atmospheric SON to DON pool, C_{DOP}; contribution of atmospheric SOP to DOP pool and C_{LDOP}; contribution of atmospheric LSOP to LDOP pool.

**Contributions - related to marine heterotrophic prokaryotes: C_{HPPD}; contribution of atmospheric LSOP to heterotrophic prokaryotic phosphate demand. Contribution related to marine heterotrophic prokaryotes demand were calculated by using the minimum and the maximum flux of atmospheric labile SOC and SOP observed for each period.

The LSOP:HPPD ratio was calculated by dividing minimal and maximal atmospheric fluxes by minimal and maximal HPPD and suggested low to moderate contributions of LSOP to the HPPD (Table 3). The results obtained from the biodegradation experiment suggest that atmospheric LSOC may contribute also to the heterotrophic prokaryotic carbon demand. However, to accurately estimate this contribution, atmospheric samples of different origins collected at different periods should be investigated.

Concluding Remarks

This work provides a unique data set of simultaneous atmospheric fluxes of soluble organic matter (SOM) and marine dissolved organic matter (DOM) inventories in the NW Mediterranean Sea and leads to the following major conclusions: (1) A substantial fraction of atmospheric deposition of nitrogen and phosphate to the Mediterranean Sea is in the form of soluble organic matter accounting of 40% and 25%, respectively. (2) In the surface mixed layer, DOP contributes by $85 \pm 11\%$ to TDP with $27 \pm 19\%$ of the DOP pool as LDOP. (3) Atmospheric deposition is a significant source of soluble organic matter to upper waters of the western Mediterranean Sea, greater than river input. (4) The direct contribution of atmospheric deposition of SOM to surface DOM pool is low to moderate although further research on its bioavailability is needed to understand its biogeochemical role in the NW Mediterranean Sea. Overall, the results obtained in this study highlight the need of incorporating atmospheric fluxes of SOM into biogeochemical models to better constrain the DOM cycle in upper waters in oligotrophic regions such as the Mediterranean Sea.

Acknowledgments

This work is a contribution to the Labex OT-Med (n° ANR-11-LABX-0061) funded by the French Government «Investissements d'Avenir» program of the French National Research Agency (ANR) through the A*MIDEX project (n° ANR-11-IDEX-0001-02). This study was conducted as part of the WP4 MERMEX/MISTRALS project and is a contribution to the international SOLAS, IMBER and LOICZ programs. We would like to thank the MOOSE project for the help in accessing the atmospheric and marine sampling sites, the captain and the crew of R/V Tethys II for their cooperative work at sea, PRECYM flow cytometry platform and Michel Fournier for the valuable assistance provided during the installation of the collector of atmospheric bulk deposition. Two anonymous reviewers, the Guest Editors and the Co-Editor in Chief are acknowledged for their relevant comments and suggestions on the manuscript.

Supplementary figures

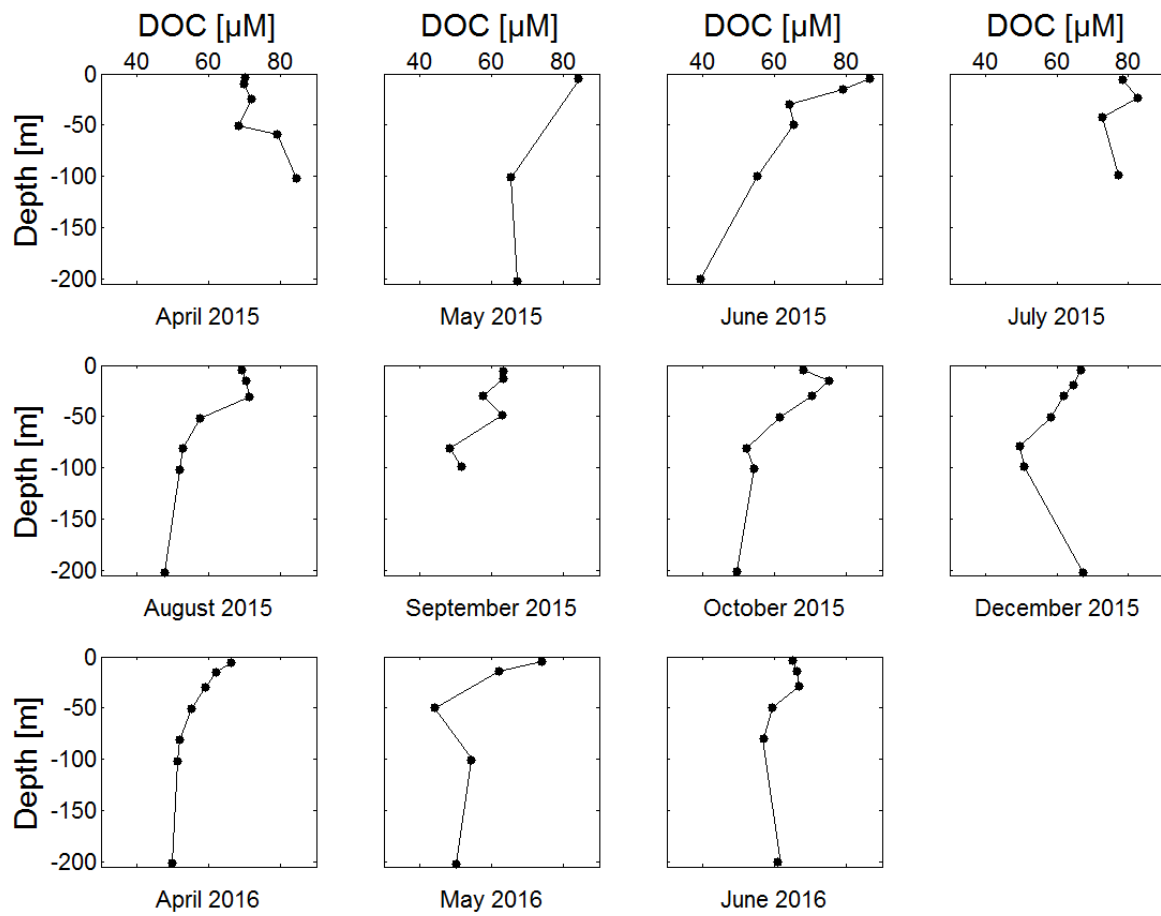


Figure IV.S1: Dissolved organic carbon (DOC) vertical depth profiles between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.

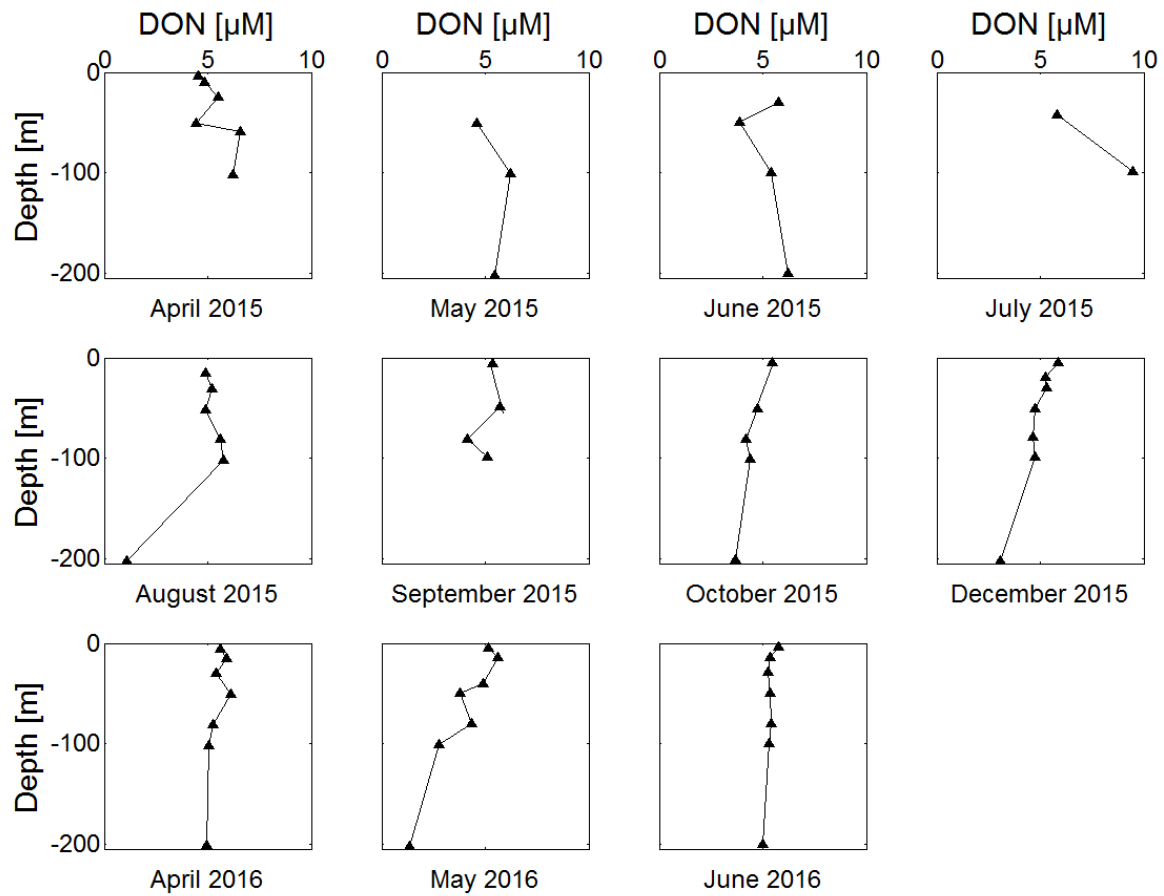


Figure IV.S 2: Dissolved organic nitrogen (DON) vertical depth profiles between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.

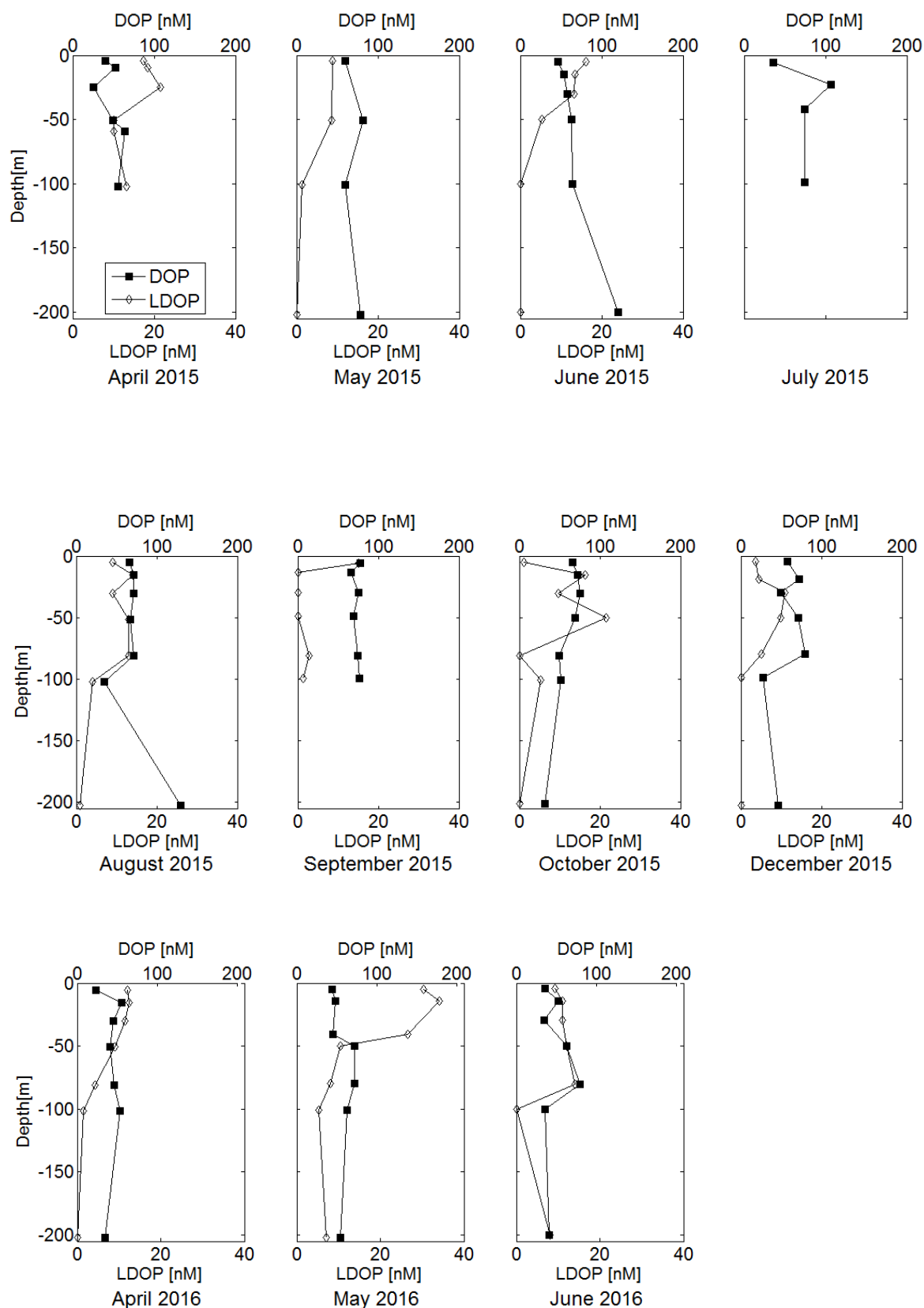


Figure IV.S 3: Dissolved organic phosphate (DOP) and labile dissolved organic phosphate (LDOP) vertical depth profiles between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.

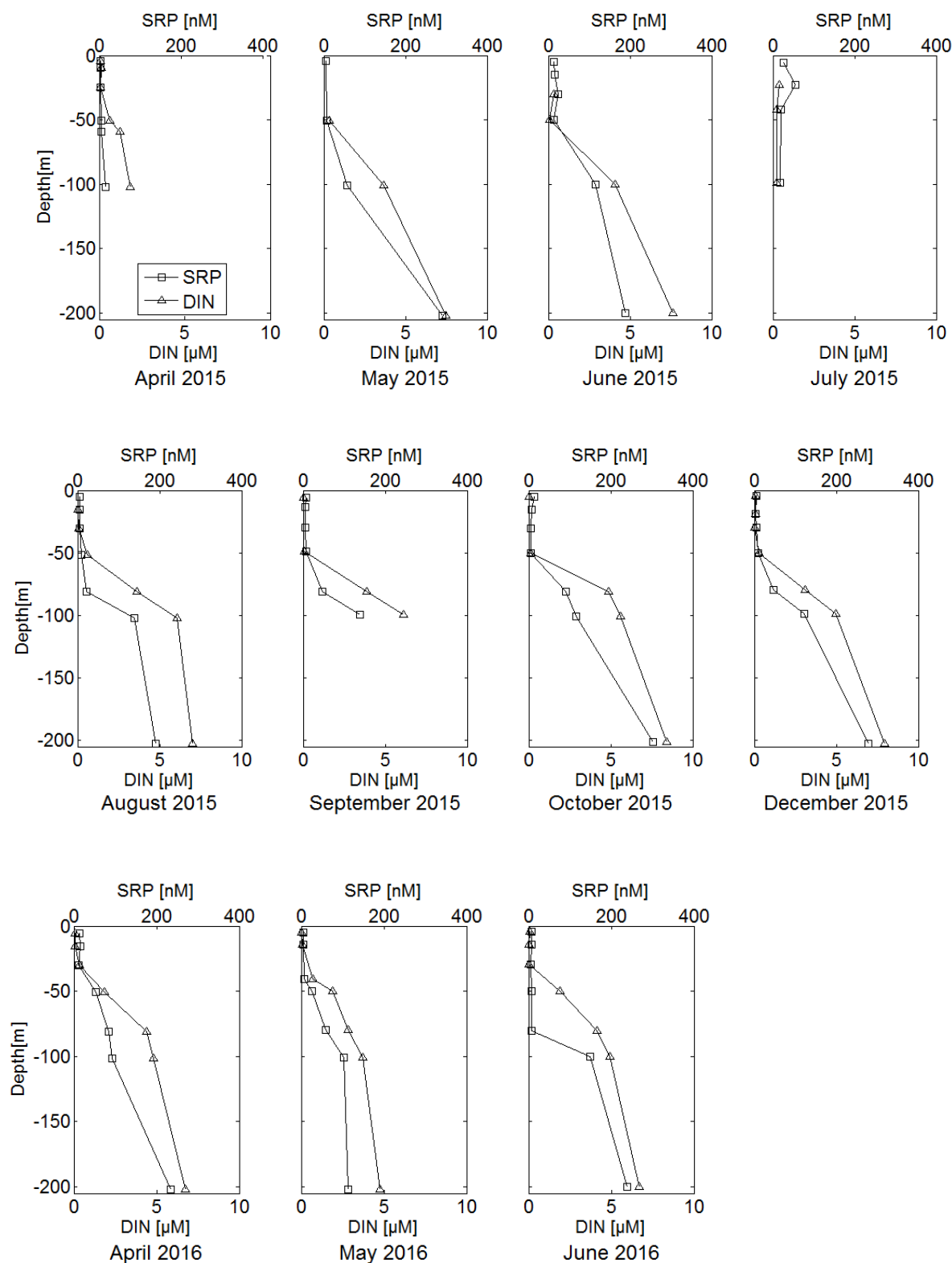


Figure IV.S 4: Soluble reactive phosphate (SRP) and dissolved inorganic nitrogen (DIN) vertical depth profiles between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.

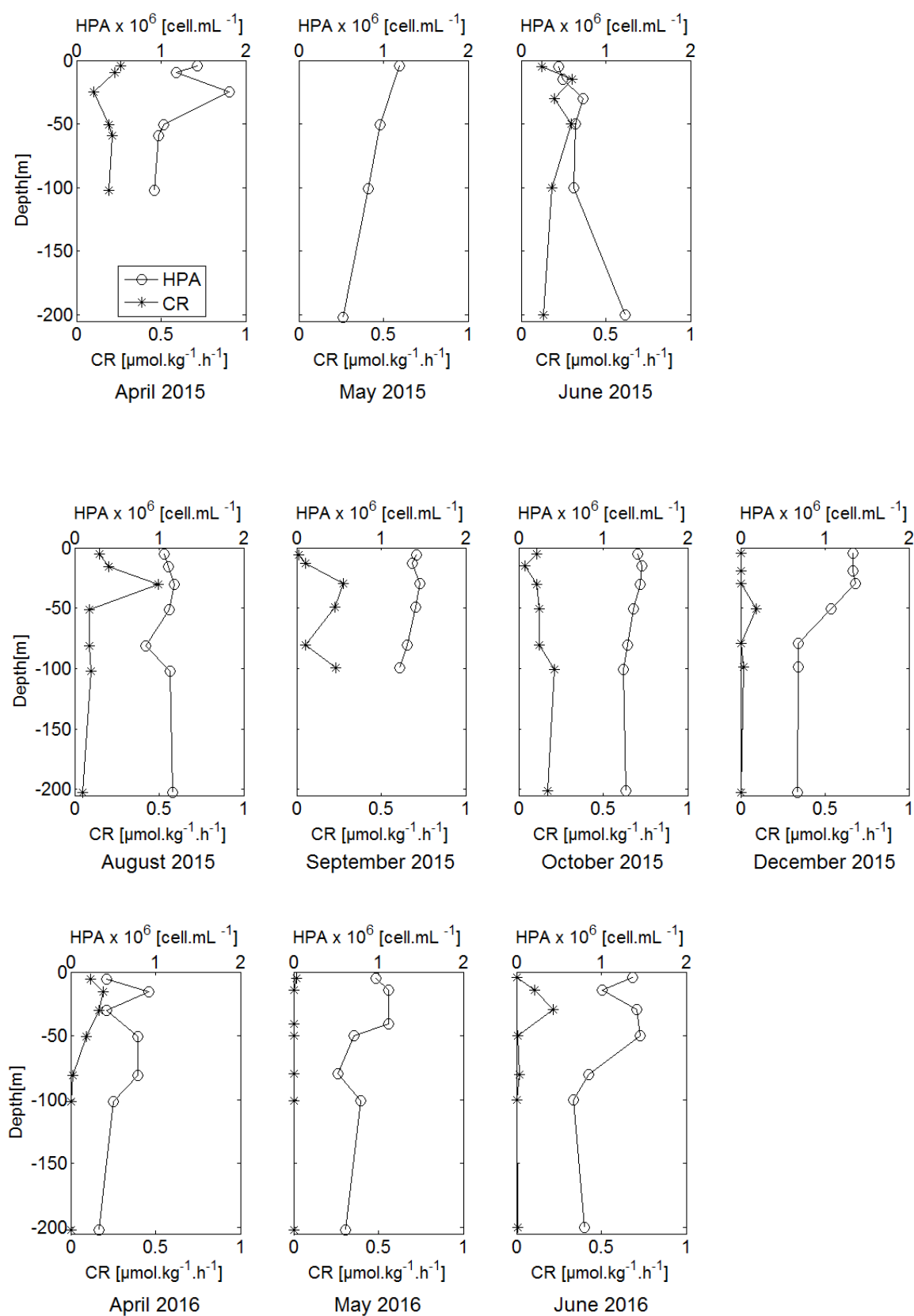


Figure IV.S 5: Heterotrophic prokaryotic abundance (HPA) and community respiration (CR) between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.

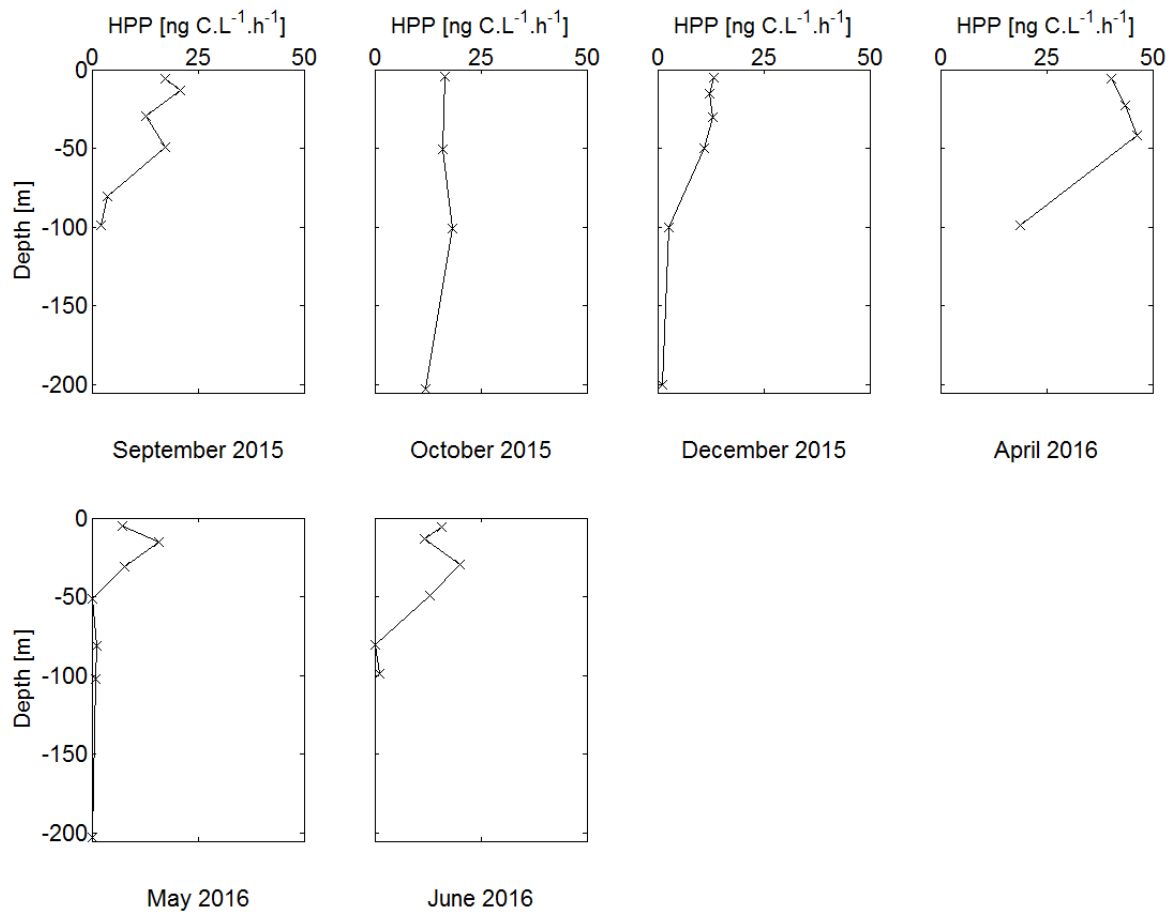


Figure IV.S 6: Heterotrophic prokaryotic production (HPP) between the surface and 200 m at the ANTARES station during the study period.

IV.4. Conclusion

Cette étude apporte un jeu de données unique des flux atmosphériques de matière organique soluble et des stocks de surface de matière organique dissoute en mer Méditerranée Nord Occidentale. Les conclusions majeures de cette étude sont : (1) Une fraction importante des dépôts atmosphériques en azote et phosphate en mer Méditerranée est sous forme de matière organique soluble, 40% et 25%, respectivement. (2) dans la couche de mélange de surface le phosphate organique dissous contribue de $85 \pm 11\%$ au phosphate total dissous avec $27 \pm 19\%$ du phosphate organique dissous sous forme labile. (3). Le dépôt atmosphérique peut être une source non négligeable de matière organique soluble pour les eaux de surface en Méditerranée Occidentale, supérieur aux apports par le Rhône. (4) la contribution directe de la matière organique soluble au réservoir de surface de matière organique dissoute est faible à modérée. Néanmoins, des études sur la biodisponibilité de la matière organique atmosphérique sont nécessaires pour comprendre son rôle biogéochimique en mer Méditerranée Nord Occidentale.

Globalement, les résultats obtenus dans le cadre de cette étude soulignent l'importance d'incorporer les flux atmosphériques en matière organique soluble dans les modèles biogéochimiques pour mieux comprendre le cycle de la DOM au niveau des eaux de surface des régions oligotrophes tel que la mer Méditerranée.

Chapitre V. Évidences expérimentales de la biodisponibilité potentielle de la matière organique contenue dans des aérosols sahariens et anthropiques pour les bactéries hétérotrophes marines

Sommaire

V.1. Introduction	124
V.2. Résumé.....	125
V.3. Article 3. Experimental evidence of the potential bioavailability for marine heterotrophic bacteria of organic matter from Saharan and anthropogenic aerosols	126
V.4. Conclusion.....	144

V.1. Introduction

Dans l'océan oligotrophe, les bactéries hétérotrophes sont à l'origine d'une large variété de processus biogéochimiques importants pour les cycles du carbone et des nutriments (Azam *et al.*, 1983). Au niveau de ces écosystèmes oligotrophes, la biomasse bactérienne est comparable à celle du phytoplancton, conférant aux bactéries hétérotrophes un rôle primordial au niveau de ces régions, où la consommation de matière organique dissoute par ces organismes peut représenter environ un tiers ou plus de la production primaire (Fuhrman, 1992 ; Azam, 1998). La matière organique dissoute océanique résulte principalement de la production primaire (Hansell *et al.*, 2015 et références y figurant). Néanmoins, un déséquilibre spatio-temporel existe entre les mécanismes de production et de consommation de la matière organique dissoute et est à l'origine de son accumulation dans les eaux de surface. Une fraction du carbone accumulée est injecté au fond des océans à travers des processus de diffusion et de convection profonde (Doval and Hansell, 2000 ; Carlson *et al.*, 2010).

Dans le chapitre précédent, l'importance du dépôt atmosphérique comme source de matière organique incluant le carbone, l'azote et le phosphate a été mise en évidence en mer Méditerranée. Ce dépôt atmosphérique pourrait contribuer à l'export de carbone dans cette région océanique. Cependant, la quantification de cette contribution requiert une étude de son devenir dans la colonne d'eau. Dans l'étude précédente, il a été montré qu'une fraction importante (29%) du carbone organique dissous contenu dans une eau de pluie saharienne était disponible pour les bactéries hétérotrophes. Dans l'étude qui suit, à travers des expériences d'enrichissement réalisées dans de l'eau de mer artificielle, nous évaluons la solubilité et la biodisponibilité pour les bactéries hétérotrophes de la matière organique provenant de deux types contrastés d'aérosols, anthropique et désertique. Bien que cette étude s'éloigne des conditions naturelles, elle permet dans un premier temps une paramétrisation du devenir du dépôt atmosphérique dans la colonne d'eau, pour ensuite permettre d'établir des bilans biogéochimiques de matière organique dissoute mieux contraints.

V.2. Résumé

Il est récemment admis qu'une fraction importante du dépôt atmosphérique arrive sous forme organique. A l'échelle de l'océan global, la quantification de la fraction labile de ces dépôts atmosphériques est un aspect important pouvant permettre d'établir un lien entre le dépôt atmosphérique et le cycle du carbone. Dans cette étude, basée sur une expérience d'enrichissement en matière organique atmosphérique dans de l'eau de mer artificielle, la biodisponibilité potentielle pour les bactéries marines hétérotrophes du carbone organique dissous (DOC, pour *dissolved organic carbon*) provenant d'aérosols désertiques (traitement D) et anthropiques (traitement A) a été quantifiée. Un traitement enrichi en glucose (traitement G) ainsi qu'un témoin sans source de carbone ajoutée (traitement C) ont été lancés en parallèle. A la fin de la phase de croissance exponentielle, l'augmentation de l'abondance bactérienne (BA) était du même ordre de grandeur dans les traitements G et D avec des maximums de $7,3 \pm 3,9 \times 10^5$ et $7,4 \pm 0,7 \times 10^5$ cellules mL^{-1} , respectivement. Dans le traitement A, le maximum atteint était plus faible, $5,4 \pm 1,7 \times 10^5$ cellules mL^{-1} . Le taux de croissance calculé à partir de la phase exponentielle de l'évolution temporelle de la production bactérienne (μBP) était plus élevé dans le traitement G, suivi du traitement D, puis du traitement A. Les maximums de BP atteints à la fin de la phase de croissance exponentielle ont été de 648 ± 156 , $1\,174 \pm 404$ et 248 ± 41 $\text{ng C L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, dans les traitements G, D et A, respectivement. Au cours de la période d'incubation, la diminution du DOC était plus élevée dans le traitement G ($46 \pm 7\%$) en comparaison des traitements enrichis en aérosols (D, $26 \pm 2\%$ et A, $15 \pm 5\%$), suggérant un degré de biodégradabilité plus élevé dans le traitement G, suivi du traitement D puis du traitement A. Dans les conditions de l'expérience, le rendement de croissance bactérien (BGE) dans le traitement D ($13 \pm 4\%$) a été similaire au traitement G ($9 \pm 3\%$), ce qui suggère que l'utilisation métabolique de la fraction labile du DOC dans les deux traitements était énergétiquement équivalente. En revanche, le BGE dans le traitement A a montré une plus faible valeur ($2 \pm 1\%$), suggérant que la majeure partie du DOC labile utilisé a été catabolisé. Les résultats obtenus dans cette étude mettent en évidence la disponibilité potentielle pour les bactéries marines hétérotrophes du dépôt atmosphérique en matière organique et soulignent ainsi l'importance de l'inclure dans les bilans biogéochimiques de carbone.

Mots clés : dépôt atmosphérique ; carbone organique ; poussières désertiques ; aérosols anthropiques ; biodisponibilité.

V.3. Article 3. Experimental evidence of the potential bioavailability for marine heterotrophic bacteria of organic matter from Saharan and anthropogenic aerosols

¹Djaoudi, K., ¹Van Wambeke, F., ¹Barani, A., ¹Hélias-Nunige, S., ¹Lefèvre, D., ¹Nouara, A., ¹Panagiotopoulos, C., ¹Tedetti, M., ²Desboeufs, K., ¹Pulido-Villena, E.

¹Aix-Marseille Université, Mediterranean Institute of Oceanography (M I O) UMR 7294, Université de Toulon, CNRS, IRD, France.

²Laboratoire interuniversitaire des systèmes atmosphériques (LISA), université Paris 7 et Paris 12, F 94010 Créteil Cedex, France.

This article is in preparation

Abstract

There is increasing evidence that a significant fraction of atmospheric deposition occurs as organic forms. Understanding the controls on atmospheric organic matter lability is an important goal given its role in the marine carbon cycle. In this study, based on atmospheric organic matter addition bioassay experiments in artificial sea water, the potential availability of both desert dust and anthropogenic dissolved organic carbon (DOC) to marine heterotrophic bacteria was investigated. In order to assess the importance of the potential bioavailability of DOC in these two kinds of aerosols, an amended glucose (G) treatment and a control (C) were run in parallel. Over the incubation period (15.7 days), an increase in both bacterial production (BP) and bacterial abundance (BA) was observed following dust (D) anthropogenic (A) and glucose (G) amendments. At the end of the exponential phase of growth, the increase in BA was in the same order of magnitude in both the G and D-amended treatments, with maximum of $7.3 \pm 3.9 \times 10^5$, $7.4 \pm 0.7 \times 10^5$ cells mL⁻¹, respectively. In the A-amended treatment, the maximum reached was lower, $5.4 \pm 1.7 \times 10^5$ cells mL⁻¹. The bacterial production rate (μ BP) was higher in the G-amended treatment, followed by the D-amended treatment and then the A-amended treatment. Maximums of BP reached at the end of the exponential growth of bacteria were 648 ± 156 , $1,174 \pm 404$ and 248 ± 41 ng C L⁻¹ h⁻¹, in the G, D and A-amended treatments, respectively. Over the incubation period, the DOC decrease was higher in G-amended treatment ($46 \pm 7\%$) than both the D-amended treatment ($26 \pm 2\%$) and the A-amended treatment ($15 \pm 5\%$), suggesting a higher degree of lability in the G-treatment, followed by the D-treatment and then the A-treatment. In the condition of the experiment, the bacterial growth efficiency (BGE) in the D-amended treatment ($13 \pm 4\%$) was similar to that of the G-treatment ($9 \pm 3\%$), suggesting that the metabolic use of the labile DOC fraction in both treatment was energetically equivalent. In contrast, the BGE in the A-amended treatment was lower (2 ± 1), suggesting that the most part of the labile DOC used was catabolized. The result obtained in this study highlight the potential availability of atmospheric organic matter to sustain the metabolism of marine heterotrophs bacteria and stress the need to include atmospheric deposition into biogeochemical models, for a better constraining of the carbon budget.

Key words: atmospheric deposition; organic carbon; desert dust; anthropogenic aerosols; bioavailability.

Introduction

Marine dissolved organic matter (DOM) is the largest reservoir of reduced carbon in the ocean. Estimated at 662 P g C, which is equivalent to that present as atmospheric CO₂, DOM plays a key role in the ocean carbon cycle as it is an important pathway of carbon export, through advective and diffusion processes (Hansell *et al.*, 2009). At the global scale, dissolved organic carbon (DOC) export from the surface to the deep ocean contributes to 20% of the total organic carbon flux (Hansell *et al.*, 2009). This percentage reaches 50% in the oligotrophic regions (Carlson *et al.*, 1994; Avril, 2002). In the open ocean, DOM is produced mainly by biological activity in the euphotic layer (Carlson and Hansell, 2015 and references therein). Besides this autochthonous production, allochthonous sources can also contribute to the surface ocean DOM pool. The relative contribution of autochthonous and allochthonous sources to the surface DOM pool, together with marine microbial processes could alter the chemical composition of the DOM pool and thereby influence the residence time of the carbon in the ocean (Microbial carbon pump, Jiao *et al.*, 2010). Heterotrophic bacteria drive a wide range of biogeochemical processes that are important for the carbon and nutrient cycles in the ocean (Azam *et al.*, 1983). These organisms are an especially important component of oligotrophic ecosystems in which bacterial biomass is comparable to that of phytoplankton, and that bacterial consumption of organic matter can be much as a third or more of primary production (Fuhrman, 1992; Azam, 1998).

The open ocean receives from the atmosphere a continuous flux of anthropogenic particles, resulting from both industrial and agricultural activities as well as pulsed fluxes of natural origin such as desert dust (De Leew *et al.*, 2014 and references therein). During their transport to the ocean, dust particles frequently mix with anthropogenic aerosols (De Leew *et al.*, 2014 and references therein), supplying the water column with a wide variety of compounds including macro and micro-nutrients (N, P, Fe...) (Duce *et al.*, 1991; Jickells *et al.*, 2005) as well as potentially toxic elements (Paytan *et al.*, 2009; Jordi *et al.*, 2012). By bringing new nutrients to the upper waters, atmospheric deposition is strongly suspected of playing a key role in the stratified oligotrophic regions (Guieu *et al.*, 2014). Many studies have attempted to explore the impact of atmospheric deposition on marine organisms in these regions (i.e. Ridame *et al.*, 2014; Herut *et al.*, 2016). These studies have demonstrated that atmospheric nutrient inputs strengthen nitrogen fixation such as observed in both the

Eastern Tropical North Atlantic Ocean and the Mediterranean Sea (i.e. Mills *et al.*, 2004; Bonnet *et al.*, 2005), stimulates both phytoplankton and heterotrophic bacteria activities (Mills *et al.*, 2004; Pulido-Villena *et al.*, 2008), and could potentially enhance the carbon sequestration by the biological carbon pump (i.e. Mills *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2013). The relative response of both phytoplankton and heterotrophic bacteria to dust deposition has been showed to depend on the nutritional status of the environment in which they develop. Indeed, the reported positive effect of dust deposition on the primary production in the central Atlantic Ocean decreased with increasing oligotrophy of the seawater (Maranon *et al.*, 2010), suggesting a competitive advantage of marine heterotrophic bacteria in the oligotrophic ocean.

Most of the above cited studies on the biogeochemical role of atmospheric deposition have focused on the potential of inorganic compounds to relieve nutrient limitation (i.e. Duce *et al.*, 1991; Guieu *et al.*, 2014). Recently, there is increasing evidence that a significant fraction of atmospheric deposition occurs as organic forms (Duce *et al.*, 2008; Kanakidou *et al.*, 2012; Djaoudi *et al.*, 2017). In the oligotrophic regions, atmospheric deposition of organic matter could therefore influence the activity of heterotrophic bacteria. Yet, there is a paucity of informations regarding the bioavailability of atmospheric organic matter (Setzinger and Sanders, 1999; Djaoudi *et al.*, 2017). In this study, we investigate the bioavailability to marine heterotrophic bacteria of aerosol-derived dissolved organic matter (DOM). To do so, we performed a set of in vitro biodegradation experiments in which a marine bacterial inoculum was exposed to a carbon source derived from anthropogenic and Saharan aerosols.

Material and Methods

Aerosol sampling

Anthropogenic and Saharan aerosols were collected on Pall Flex® tissue-quartz calcinated (450°C, 10 h) filters (203 x 254 mm²), by using high volume samplers. Anthropogenic aerosols were collected during 15 days with an average flow rate of 1.42 m³ min⁻¹ in March 2016. Anthropogenic aerosol sampling took place in Marseille (South East of France). Saharan aerosols were collected over periods of 24 hours with an average flow rate of 28.3 m³ min⁻¹ during June 2016. Dust aerosol sampling took place in the South East of Tunisia, a major source of mineral dust to the Mediterranean Sea (Prospero *et al.*, 2012).

Experimental design

Bioassay experiments were run in triplicates (7 L each) and consisted on 3 treatments differing on the carbon source at similar concentrations: One treatment was amended with the soluble fraction of Saharan dust (D), another one with the soluble fraction of anthropogenic (A) aerosols and a last one was amended with glucose (G) as easily utilizable carbon source. One unamended treatment was run in parallel and served as a control (C). The amount of carbon contained in both anthropogenic and dust aerosols was assessed prior to launching the experiments and the DOC concentration in all the carbon enriched treatments was fixed to 31 μM in order to have enough and equal material in all bottles. To get this concentration, a fraction (79 x 79 mm²) of the anthropogenic aerosol filter and two whole dust filters (203 x 254 mm²) were leached in 650 mL of ultrapure water using pre-cleaned (HCl 10% and ultrapure water) polycarbonate bottles. After being sonicated for 40 mn, the leachate was filtered on pre-combusted GF/F filters to recover the dissolved fraction. A volume of 200 mL of each leachate was finally introduced in triplicate in the corresponding incubation bottles (D, A). Glucose was also added to a final concentration of 31 μM in the corresponding incubation bottles (G).

The experiment was performed on artificial seawater in order to set the aerosol-derived organic matter as the only carbon source for marine heterotrophic bacteria. Artificial seawater was obtained by adding pre-combusted NaCl (450°C, 6 hours) in ultrapure water to get a salinity of 36 g L⁻¹. The DOC concentrations in the artificial seawater was 6 μM . To avoid nutrient limitation, artificial seawater was enriched with nitrogen and phosphate through the addition of 1 μM of both NH₄Cl and NaNO₃ and 0.3 μM of KH₂PO₄.

A microbial inoculum was introduced into all incubation bottles. To prepare the microbial inoculum, surface seawater was collected at the MOOSE-Antares offshore station in the Mediterranean Sea. Seawater was first filtered on board through a 40 μm mesh plankton and then through 0.8 μm pre-cleaned (10% HCl and ultrapure water) polycarbonate filter to remove larger particles and plankton. The microbial inoculum was further concentrated 30 times on a 0.2 μm pre-cleaned (10% HCl and ultrapure water) polycarbonate filter and the supernatant decanted. A volume of 15 mL of the bacterial inoculum was added in each experimental bottle. This approach minimizes the volume of seawater (and therefore the amount of DOM) added to the experimental bottles with the microbial inoculum (i.e. Lechtenfeld *et al.*, 2015). This allows setting

the aerosol-derived organic matter as the only carbon source for heterotrophic bacteria. The DOC concentration in the inoculum was 120 μM . Indeed, after dilution in the incubated volume (7 L), the contribution of marine DOC in the incubation bottles was < 0.3 μM . BA and BP in the inoculum were 3.9×10^6 cells mL^{-1} and 264 ng C $\text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$, respectively. All experimental bottles were incubated in a controlled temperature room at 18°C during 15.7 days in the dark. Throughout the experiment, treatments were gently mixed to avoid sedimentation.

Subsamples were collected from the experimental bottles before the amendments and at selected times (between 1 and 15.7 days) for dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON), dissolved organic phosphate (DOP), heterotrophic bacterial abundance (BA) and heterotrophic bacterial production (BP).

Subsampling and technical analysis

The total organic carbon (TOC) content in collected aerosols was analyzed using a thermos-optical method (Sunset Laboratories Inc.) (http://www.lisa-urope.fr/~formenti/Tools/Manuals/SUNSET-ec_oc_monitor_lab_version.pdf).

For dissolved organic carbon (DOC) analyses, samples (10 mL) were filtered online through pre-combusted (450°C, 6 h) 47-mm GF/F filters, then transferred into pre-combusted glass tubes, and finally poisoned with 50 μL of phosphoric acid (H_3PO_4 , 85%). The glass tubes were sealed and stored in the dark at 4°C until analysis. DOC was analyzed using the high temperature catalytic oxidation (HTCO) technique with a Shimadzu TOC-V analyzer (Sempéré *et al.*, 2008). The daily calibration curve was based on 4 (0, 50, 100 and 150 μM) standard solutions of potassium acid phthalate (1,000 ng L^{-1}). A volume of 100 μL was injected between 3 and 5 times for each sample and standard.

For dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic phosphate (DOP), samples (60 mL) were filtered on line through pre-cleaned (HCl 10% and ultrapure water) 47-mm 0.2 μm polycarbonate filters, then transferred into pre-cleaned (HCl 10% and ultrapure water) 60 mL-HDPE bottles. Samples were frozen (-20°C) until analysis. DON and DOP analysis were performed by using the conventional automated colorimetric procedure (Aminot and Kerouel, 2007) after a wet oxidation according to Pujo-Pay *et al.* (1997). The limit of detection of inorganic nitrogen and phosphate analysis was 0.02 μM and 0.05 μM , respectively.

For determining bacterial abundance (BA), samples (1.8 mL) were fixed with 18 μL of glutaraldehyde. Kept at ambient temperature for 15 mn and after at 4°C for 45 mn, samples were transferred to a -80°C freezer until analysis within few days. Frozen samples were thawed at room temperature and subsamples were stained with 1:10 diluted SYBR Green II (Molecular Probes) and incubated for 15 mn in the dark. Cells abundance were analyzed based on their auto-fluorescence signal by using a FACS Calibur flow cytometer and were detected on a plot of green fluorescence (530 - 488 nm) versus right angle light scatter (SSC), using the green fluorescence as threshold parameter. Flow cytometry data were acquired and counted with the Cell Quest Pro software.

Bacterial production (BP) was estimated by ^3H -leucine incorporation applying the centrifugation method (Smith and Azam, 1992). Samples (1.5 mL) were incubated in the dark between 1 and 6 hours at 18°C with a mixture of ^3H -leucine (Perkin Elmer® specific activity 106 Ci mmol⁻¹) and non- radioactive leucine to a final concentration of 20 nM (6 nM ^3H -leucine + 14 nM cold leucine) in 2 mL- Eppendorf tubes. Incorporations were stopped by addition of tichloroacetic acid (TCA) to a final concentration of 5%. One killed control was prepared for each treatment by the addition of TCA, before the addition of ^3H -leucine. Samples were then centrifuged for 10 mn at 16,000 g three times, first with the sample, second with TCA 5% and finally with ethanol 80%. After resuspension of the pellet in 1.5 scintillation liquid (Ultima-Gold), radioactivity was determined by a liquid scintillation counter. Leucine incorporation rates were converted into carbon production using the conversion factors of 1.5 kg C per mole of leucine incorporated (Kirchman, 1993).

Calculations

The percentage of the labile dissolved organic carbon (LDOC) was calculated as:

$$LDOC (\%) = \frac{[DOC]_{initial} - [DOC]_{minimum}}{[DOC]_{initial}} * 100$$

Where DOC initial was the DOC at the initial time of the experiment, DOC min the minimum values reached.

Bacterial growth efficiency (BGE, %) was calculated from the time integrated BP (Eq V.1) which was divided by the corresponding decrease of DOC.

$$\text{Eq V. 1} \quad BGE (\%) = \frac{\text{Time integrated BP}}{[DOC]_{\text{initial}} - DOC_{\text{minimum}}}$$

Results

Organic carbon in aerosols

The content of total organic carbon (TOC) was higher in anthropogenic aerosols than in Saharan dust (Tableau V. 1). Likewise, the dissolved fraction was higher in the anthropogenic aerosols (32%) than in Saharan dust (13%) (Tableau V. 1).

Tableau V. 1: Summary of the amount of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC) per aerosols mass contained in both anthropogenic and dust aerosols. The solubility of organic carbon was obtained by dividing the amount of TOC on that of DOC for both anthropogenic and dust aerosols.

Aerosols	TOC [g C/ g aerosols]	DOC [g C/ g aerosols]	Solubility [%]
Anthropogenic	0.155	0.05	32
Dust	0.063	0.008	13

Changes in bacterial production and abundance

In all the experimental bottles, an increase in both bacterial abundance (BA) and bacterial production (BP) was observed during the incubation time. One replicate from the anthropogenic (hereafter, A) amended treatment diverged completely from the other duplicates. It did not show any bacterial growth and BP fluxes collapsed suddenly on day 6 after starting to grow. Then it was excluded from the data processing.

At the beginning of the incubations, BA was similar in all treatments including the control treatment (Hereafter, C), with an average value of $2.3 \pm 0.1 \times 10^5$ cells mL⁻¹ (Figure V. 1). After 1.7 days of incubation, BA exhibited a 3-fold decrease in all treatments. Following this decrease, a lag time phase followed, lasting 6.7 days in the C-treatment, between 2.7 and 3.7 days in the glucose (hereafter, G) amended treatment, 5.7 days in the A-amended treatment and between 4.7 and 5.7 days in the dust (hereafter, D) amended treatment. During the lag time period, BA continued to decrease slowly in all treatments (Figure V. 1). After that period, BA increased following an exponential model. At the end of the exponential growth phase, BA reached maximums of $7.3 \pm 3.9 \times 10^5$, $5.4 \pm 1.7 \times 10^5$ and $7.4 \pm 0.7 \times 10^5$ cells mL⁻¹ in the G, A

and D treatments, respectively (Figure V. 1). After that period, BA continued to increase in all amended treatments and reached values of 13.8 ± 3.3 , 12.7 ± 2.7 and 14.3 ± 3.1 cells mL⁻¹ in A, D and G, respectively (Figure V. 1). In the control treatment, until $t = 6.7$ days, BA remained low, $< 0.6 \times 10^5$ cells mL⁻¹. During the exponential growth it reached $2.5 \pm 0.6 \times 10^5$ cells mL⁻¹ and increased up to $5.2 \pm 1.1 \times 10^5$ cells mL⁻¹ at the end of the incubation period.

BP was low in the beginning of the experiment and showed an average value of 0.042 ± 0.035 ng C L⁻¹ h⁻¹, at $t = 0$. In the carbon amended treatments, BP started to increase first in the G-treatment followed by the D-treatment and the A-treatment after 3 days (Tableau V. 2). Like BA, BP also exhibited an exponential growth phase, which started after a lag much shorter than that of BA (Tableau V. 2). During the exponential growth phase, BP growth rate was higher in the G-treatment, followed by both A and D treatments (Tableau V. 2). At the end of that period, maximum of BP reached was 648 ± 156 , $1,174 \pm 404$ and 248 ± 41 ng C L⁻¹ h⁻¹ in the G, D and A treatments, respectively (Figure V. 1). After the exponential growth phase, BP dropped down in the G and D treatments and then increased again at the end of the incubation period to reach values of 700 ± 63 and $1,015 \pm 150$ ng C L⁻¹ h⁻¹, respectively (Figure V. 1). In the A-treatment, BP increased progressively over the incubation period to reach a maximum of 750 ± 202 ng C L⁻¹ h⁻¹. In the C treatment, until $t = 7$ days, BP was low (< 2 ng C L⁻¹ h⁻¹). After $t = 7$ days, bacterial production increased to reach a maximum of 352 ± 59 ng C L⁻¹ h⁻¹ (Figure V. 1).

Over the incubation period, the increase in both BP and BA was significantly higher in all amended treatments than in the control ($p < 0.05$).

Tableau V. 2 : Bacterial abundance (μ BA) and bacterial production (μ BP) growth rates during the exponential growth phase.

	Exponential phase period for BA[days]	μ BA [d ⁻¹]	Exponential phase period for BP [days]	μ BP [d ⁻¹]
C1	6.7 - 8.7	1.41 $\pm$ 0.56	1.7 - 8.7	1.23 $\pm$ 0.19
C2	6.7 - 8.7	0.86 $\pm$ 0.4	1.7 - 8.7	0.94 $\pm$ 0.15
C3	6.7 - 8.7	0.94 $\pm$ 0.55	1.7 - 8.7	1 $\pm$ 0.13
Mean (+ std)		1.07 $\pm$ 0.39		1.05 $\pm$ 0.15
G1	3.7 - 5.7	1.21 $\pm$ 0.08	0 - 4.7	1.99 $\pm$ 0.32
G2	2.7 - 4.7	1.25 $\pm$ 0.49	0.7 - 3.7	3.44 $\pm$ 0.52
G3	2.7 - 4.7	1.3 $\pm$ 0.66	0 - 3.7	3 $\pm$ 0.41
Mean (+ std)		1.25 $\pm$ 0.05		2.81 $\pm$ 0.74
A1	5.7 - 7.7	1.14 $\pm$ 0.07	2.7 - 6.7	1.64 $\pm$ 0.21
A2	5.7 - 8.7	1.37 $\pm$ 0.15	2.7 - 6.7	1.62 $\pm$ 0.28
A3	7.7 - 8.7	0.8	2.7 - 5.7	1 $\pm$ 0.06
Mean (+ std)		1.25 $\pm$ 0.16		1.6 $\pm$ 0.01
D1	5.7 - 8.7	1.05 $\pm$ 0.19	2.7 - 7.7	1.74 $\pm$ 0.09
D2	5.7 - 8.7	1.01 $\pm$ 0.16	0.7 - 7.7	1.41 $\pm$ 0.10
D3	4.7 - 7.7	1.10 $\pm$ 0.49	1.7 - 5.7	1.80 $\pm$ 0.30
Mean (+ std)		1.05 $\pm$ 0.04		1.65 $\pm$ 0.20

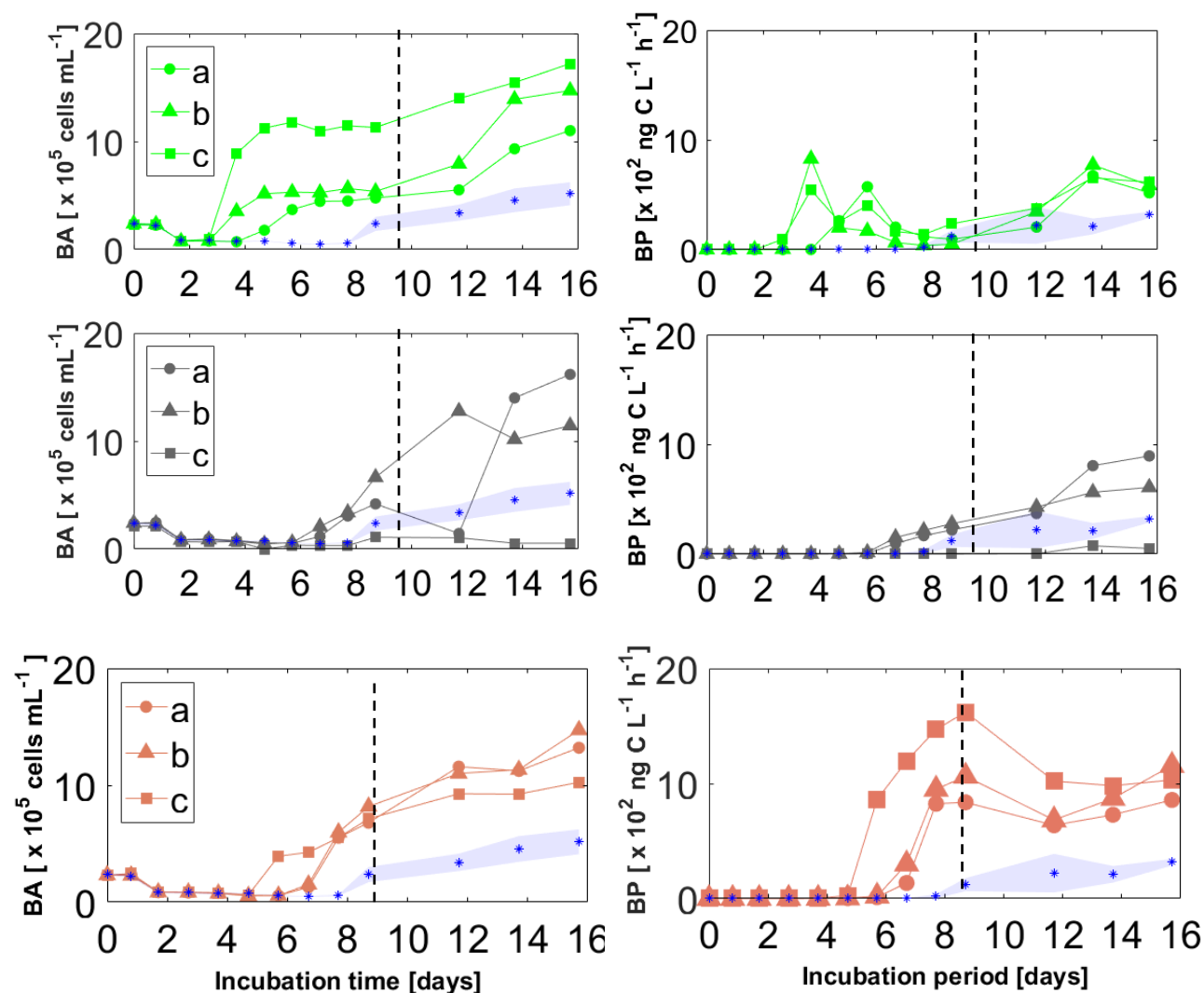


Figure V. 1 : Bacterial abundance (BA) and bacterial production (BP) in the glucose (green plot), anthropogenic (gray plot) and dust (orange plot) amended treatments over the incubation period. The control treatment is represented by the blue plot (blue points correspond to the average value among the triplicates and the bounded line the standard deviation).

Dissolved organic carbon

The initial concentration of dissolved organic carbon (DOC) was 41 ± 3 μM in the G-treatment, 39 ± 1 μM in the A-treatment and 36 ± 1 μM in the D-treatment. Over the incubation period, DOC concentration decreased in all amended treatments (Tableau V. 3). The DOC decrease was observed first in the G-treatment (at $t = 3.7$ days), then in the D-treatment (at $t = 4.7 - 6.7$ days) and finally in the A-treatment (at $t = 11.7$ days) (Figure V. 2). The decrease in DOC concentration was highest in the G-treatment (19 ± 4 μM), followed by both the D (9 ± 1 μM) and A (8 ± 1 μM) and the C-treatment (4 ± 1 μM) (Tableau V. 3).

Over the incubation period, the resulting labile fraction was highest in the G-treatment ($46 \pm 7\%$), followed by the D-treatment ($26 \pm 2\%$) and then by the A-treatment ($15 \pm 5\%$) (Tableau V. 3).

The bacterial growth efficiency (BGE) calculated for the exponential phase of BP in the D-treatment compares well with the G-treatment and both were significantly higher than that observed for the C-treatment (Tableau V. 3). The A-treatment showed the lowest BGE (Tableau V. 3).

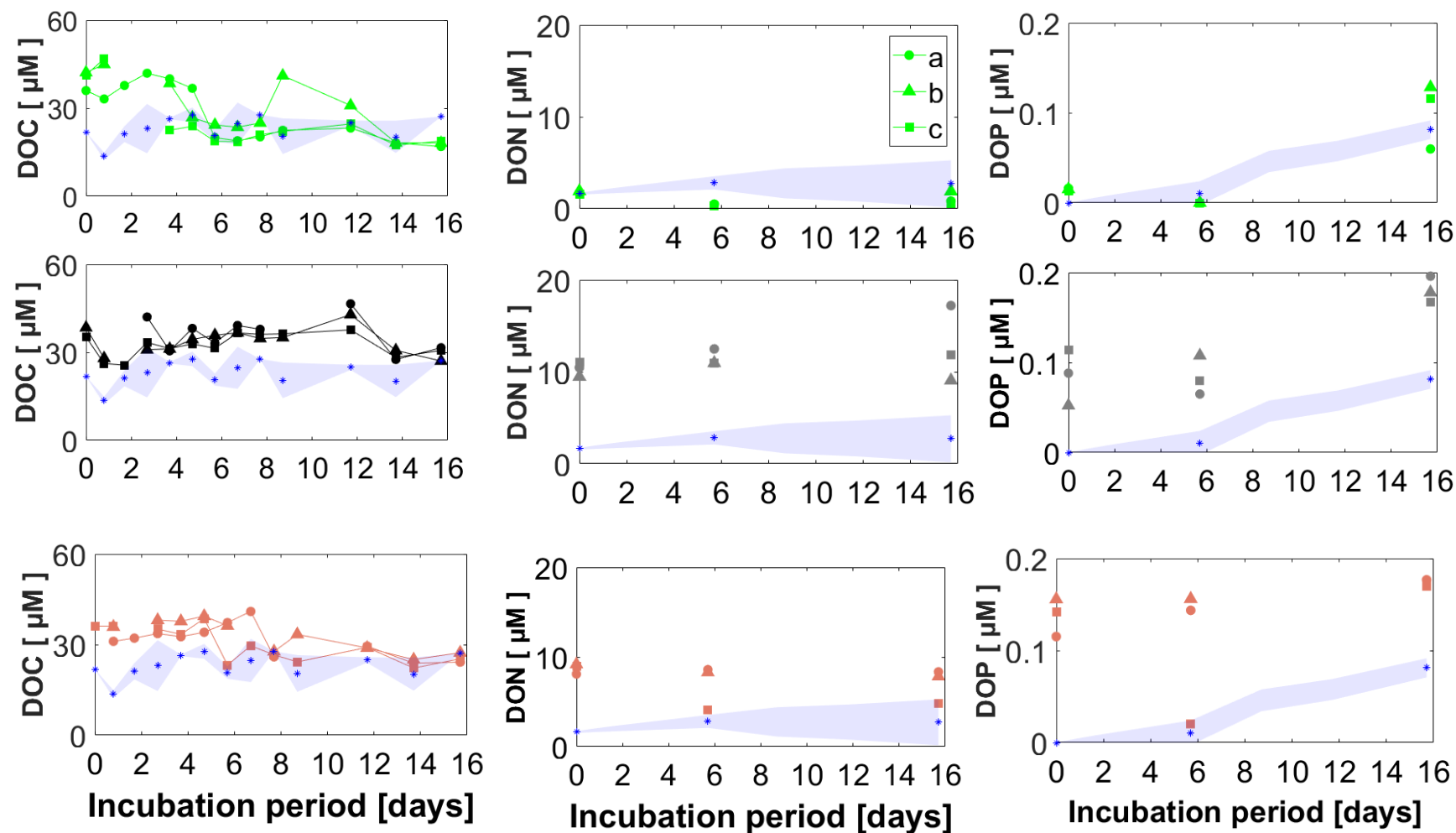


Figure V. 2 : Dissolved organic carbon (DOC), dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic phosphate (DOP) in the glucose (green plot), the anthropogenic (grey plot) and the dust (orange plot) amended treatments. The control treatment is represented by the blue plot (blue points correspond to the average value among the triplicates and the bounded line the standard deviation).

Tableau V. 3 : Summary of data related to the decrease in dissolved organic concentration (DOC) and the corresponding labile dissolved organic carbon, integrated bacterial production (BP) and the corresponding bacterial growth efficiency (BGE_{BP}).

	DOC ^(a) decrease, μmol C L ⁻¹	DOCL [%]	Time integrated BP ^(b) [μmol C L ⁻¹ dt]	BGE _{BP} [%]
C1	3	12	0.23	7
C2	5	29	0.11	2
C3	5	24	0.18	3
Mean (+ std)	4 ± 1	22 ± 9	0.17 ± 0.06	4 ± 2
G1	18	47	1.07	6
G2	16	38	1.87	12
G3	24	53	2.16	9
Mean (+ std)	19 ± 4	46 ± 7	1.7 ± 0.57	9 ± 3
A1	9	27	0.11	1
A2	7	19	0.19	2.5
^(c) A3	3	10	0	0.2
Mean (+ std)	8 ± 1	15 ± 5	0.15 ± 0.05	2 ± 1
D1	9	25	1.11	13
D2	9	24	1.58	18
D3	10	28	0.88	9
Mean (+std)	9 ± 1	26 ± 2	1.19 ± 0.36	13 ± 4

(a) Calculated over the incubation period

(b) Calculated for the exponential growth phase

(c) It was not taken into account in the calculation

Dissolved organic nitrogen and phosphate

The initial dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic phosphate (DOP) concentration in the C-treatment was 1.6 ± 0.1 μM and 0 μM, respectively. The G-treatment exhibited the same initial concentration as the C-treatment for both DON and DOP, 1.8 ± 0.9 μM and 0.01 ± 0.001 μM (Figure V. 2). In contrast, the concentration of both DON and DOP in the A and D-amended treatments increased immediately after aerosols additions. The DON concentration reached 10.3 ± 0.8 μM and 8.7 ± 0.6 in the A and D-treatments, respectively. The DOP concentration reached 0.08 ± 0.03 μM and 0.14 ± 0.02 μM in the A and D-treatments, respectively (Figure V. 2). Over the incubation period, DON concentrations were quasi-constant in all treatments. The DOP concentrations remained quasi constant during the first 5.7 days, and increased at the end of the incubations in all treatments (Figure V. 2).

Discussion

In this study, the dissolved organic carbon fraction in anthropogenic aerosols (32%) was higher than in Saharan dust (13%) as previously reported for inorganic nutrients, such as nitrogen, phosphate and iron (Schulz *et al.*, 2012, and references therein). Regarding inorganic nutrients, this difference in solubility between anthropogenic and dust aerosols has been associated, among others, to the presence of acid compounds (i.e. H_2SO_4 and HNO_3) (Desboeufs *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2011) in anthropogenic aerosols. The controlling factors of the solubility of atmospheric organic carbon remain unknown. As for inorganic nutrients, an eventual contribution of acids contained in anthropogenic aerosols in increasing the solubility of organic carbon could be suggested, enhancing their potentially bioavailable supply to the surface ocean.

Following aerosol-derived DOC addition, both bacterial abundance (BA) and bacterial production (BP) were stimulated. However, at the beginning of the experiment, a lag time period was observed. This lag time period was also observed in the glucose (G) treatment and it was shorter than in the aerosol amended treatments. During this period, BA dropped by 3 times of its initial value. This consistent decrease of BA in all experimental bottles may be attributed to the process used for the preparation of the inoculum and its addition to artificial seawater which could have stressed bacteria. Other factors including grazing (Simek *et al.*, 2003; Cottrell and Kirchman, 2004), viral lysis (Fuhrman, 2000) could have exerted a control on these organisms in the beginning of the experiment. After the lag phase, the increase in BA and BP was observed first in the G-treatment, followed by the dust (D) treatment and the anthropogenic (A) treatment. The increase in both BA and BP in the D-treatment compares well with that of the G-treatment and was higher than that of the A-treatment. This suggests that Saharan dust could have a stronger potential to stimulate bacterial growth in comparison to anthropogenic aerosols. Indeed, despite a higher solubility of the organic carbon contained in anthropogenic aerosols, the bioavailable fraction of DOC was higher in Saharan dust ($26 \pm 2\%$) than in anthropogenic aerosols ($15 \pm 5\%$), suggesting a more labile character of the carbon contained in Saharan dust over the incubation period. The percentage of the labile fraction of DOC (LDOC) obtained for Saharan dust in this study compares well with that previously reported for a Saharan rain (29%; Djaoudi *et al.*, 2017). Over the incubation period, the LDOC

fraction in both A and D amended treatments was lower than that of the glucose (G) amended treatment, in which the labile fraction was up to $46 \pm 7\%$.

Several hypotheses can be exposed to explain the observed differences in organic carbon lability among glucose, Saharan dust and anthropogenic aerosols. A number of variables were controlled at the beginning and/or during the incubations and can thus be reasonably excluded: temperature, initial microbial inoculum and N and P availability. The chemical composition of added organic matter as well as differences in the availability of micro-nutrients may explain the observed differences in bioavailability. Dissolved organic matter (DOM) composition or quality in seawater and rivers have been recognized as a controlling factor of its mineralization (i.e. Sook and Benner, 1997; Kirchman *et al.*, 2004; Goldberg *et al.*, 2011). Kirchman *et al.* (2004) pointed out that the source of DOM could affect the enzymatic activity of heterotrophic bacteria, which drives DOM hydrolysis, and the effect may be substantial when heterotrophic bacteria are limited by factors other than DOM.

On the other hand, dust deposition is known to be an important source of micro-nutrients, particularly of iron to surface waters (Jickells *et al.*, 2005). There is an increasing evidence regarding the role of iron as a cofactor of enzymatic activity (Wu *et al.*, 2000; Browning *et al.*, 2017). In this experiment, the differences observed in the LSOC fraction observed between the A and D-amended treatments could be explained by an eventual supply of micro-nutrients in the dust amended treatment, which could have stimulated the enzymatic activity. At the opposite, an eventual upload of toxic elements may have been brought following A-aerosols (Paytan *et al.*, 2009; Jordi *et al.*, 2012), constraining the utilization of DOC in the A-amended treatment.

The different experimental conditions assessed in this study induced also differences in the way the organic carbon was metabolised. The bacterial growth efficiency (BGE) in the D-amended treatment ($13 \pm 4\%$) compares well with that of the G-amended treatment ($9 \pm 3\%$) and both values were higher than that of the A-amended treatment ($2 \pm 2\%$). This result suggests that, in the experiment conditions of this study, the metabolic use of the labile DOC in both G and D-treatments was energetically equivalent. A fraction of the LDOC in the D-treatment was therefore used to sustain the anabolic needs of heterotrophic bacteria. In contrast, regarding the A-amended treatment, the carbon consumed was mainly catabolized. Figuring out which of these two fates of organic carbon respiration or biomass production is most important has been called the sink or link question (Pomeroy, 1974). The relative

contribution of natural or anthropogenic sources to the atmospheric deposition to the surface ocean can therefore influence the role of heterotrophic bacteria as a C sink or link within the carbon cycle in the oligotrophic ocean.

A significant amount of dissolved organic nitrogen (DON) and phosphate (DOP) was released by anthropogenic and dust aerosols just after aerosols addition, highlighting the important contribution of the organic fraction in atmospheric deposition such as previously reported through atmospheric flux quantification and modeling (Markaki *et al.*, 2010; Kanakidou *et al.*, 2012, Djaoudi *et al.* 2017). In this study, over the incubation period, the concentration of DON remained quasi-constant in all treatments. This suggests a lack of bioavailability of aerosol-derived DON in the time scale of the incubation period, in contrast to previously reported in rain water (Seitzinger and Sanders, 1999). Regarding DOP, an increase was observed over the incubation. This increase in DOP concentration was in the same order of magnitude as dissolved inorganic phosphate consumed over the incubation period suggesting a DIP conversion to DOP, promoting a DOP enrichment with respect to DOC and DON at the time scale of the incubation period. At the time scale of the incubation period, the increase in the DOP concentration while those of DOC and DON decreased and was constant, respectively induced a decrease in both DOC:DON and DON:DOP ratios.

Conclusion

This study provides the first experimental evidence of the bioavailability of the organic carbon contained in Saharan dust and anthropogenic aerosols to marine heterotrophic bacteria. The amount of total organic carbon contained in anthropogenic aerosols and its solubility was higher than that of the Saharan dust. The addition of dissolved organic matter from dust and anthropogenic aerosols stimulated bacterial abundance and production. Despite a higher solubility of organic carbon in anthropogenic aerosols, the increase in both BP and BA in the dust amended treatment was higher than that of the anthropogenic amended treatment, suggesting that dust aerosols have promoted more efficiently the bacterial growth. A substantial fraction of atmospheric dissolved organic carbon (DOC) was found to be available to marine heterotrophic bacteria in both anthropogenic ($15 \pm 5\%$) and dust ($26 \pm 2\%$) aerosols at the time scale of the incubation period. In the conditions of the experiment, the bacterial growth efficiency (BGE) in the dust amended treatment ($13 \pm 4\%$) was higher than that of the anthropogenic amended treatment ($2 \pm 1\%$), suggesting differences in the metabolic response depending on the aerosol source.

The parametrizations obtained in this study may reveal a new link between atmospheric deposition and the oceanic carbon cycle, particularly in the oligotrophic ocean.

V.4. Conclusion

Cette étude apporte les premières paramétrisations expérimentales quant à la biodisponibilité pour les bactéries hétérotrophes marines du carbone organique soluble contenu dans des aérosols d'origine anthropique et désertique. La quantité de carbone organique total contenu dans les aérosols anthropiques ainsi que sa solubilité a été supérieure à celle des aérosols désertiques. Les fractions dissoutes du carbone organique ont induit une stimulation de l'abondance bactérienne (BA) et de la production bactérienne (BP) pendant la période d'incubation. L'augmentation de BP et de BA dans le traitement enrichi en aérosols désertiques a été similaire à l'augmentation observée dans le traitement enrichi en glucose et a été plus élevée que l'augmentation observée dans le traitement enrichi en aérosols anthropiques. En dépit d'une solubilité de carbone plus importante dans l'aérosol anthropique, la fraction labile biodisponible pour les bactéries marines a été plus importante dans le traitement enrichi en aérosols désertiques. Dans les conditions de l'expérience, le rendement de croissance bactérien (BGE) dans le traitement enrichi en aérosols désertiques ($13 \pm 4\%$) a été supérieur à celui observé dans le traitement enrichi en aérosols anthropiques ($2 \pm 1\%$), suggérant des différences dans la réponse métabolique des bactéries hétérotrophes, différences dépendantes de la source d'aérosol.

Cette étude permet à l'aide de ces nouvelles paramétrisations, d'établir les bases d'un nouveau lien entre le dépôt atmosphérique et le cycle du carbone océanique, particulièrement dans les régions oligotrophes. Cependant, il est évident que ces paramétrisations doivent être affinées. Par exemple, élargir de tels expériences à d'autres sites ou d'autres situations saisonnières, ou déterminer quels seraient les effets conjugués de la matière organique naturelle et de celle apportée par les aérosols sur leur utilisation respective par les bactéries hétérotrophes marines.

Synthèse et conclusions générales

VI. Synthèse et conclusions générales

Dans l'océan oligotrophe, le réservoir de matière organique dissoute (DOM) joue un rôle primordial puisqu'il contribue de manière importante à l'export de carbone (Hansell *et al.*, 2009) et à la disponibilité des nutriments, à travers ses réservoirs d'azote et de phosphate organique dissous. En mer Méditerranée, l'export de carbone à travers le réservoir de DOM est supérieur à celui résultant de l'export de la matière organique particulaire (Avril, 2002 ; Guyennon *et al.*, 2015). Cette importante contribution à l'export de carbone est liée à un découplage spatio-temporel entre les processus de production et de consommation de DOM en raison, entre autres, d'une limitation en phosphate (P) de la production primaire et de l'activité des bactéries hétérotrophes (Berland *et al.*, 1980 ; Thingstad *et al.*, 1998 ; Van Wambeke *et al.*, 2002).

Aujourd'hui, l'importance du dépôt atmosphérique en matière organique est mise en évidence à l'échelle de l'océan global (Duce *et al.*, 2008 ; Kanakidou *et al.*, 2012) et en mer Méditerranée (Pulido-Villena *et al.*, 2008 ; Markaki *et al.*, 2010). Ce dépôt atmosphérique ne pourrait-il pas contribuer à l'export de carbone *via* le réservoir de DOM ? Quelle serait l'amplitude de cette contribution et quelles conséquences aurait la prise en compte de ce dépôt dans les bilans biogéochimiques actuels ? Ces interrogations, non résolues à ce jour, font partie des priorités de recherche actuelles dans le domaine des interactions océan - atmosphère comme décrit dans les prospectives du programme international SOLAS (Brévière *et al.*, 2016).

Au niveau de l'océan oligotrophe, de vastes étendues océaniques sont soumises à l'influence de masses d'air transportées depuis les régions désertiques et semi-arides. Il conviendra donc qu'une estimation du dépôt atmosphérique en carbone dans ces régions requiert une connaissance de la quantité de carbone contenu dans ces poussières désertiques. Dans le cadre de cette thèse, à partir d'aérosols sahariens collectés au Sud-Est de la Tunisie, source majeure d'approvisionnement en poussières en mer Méditerranée (Prospero *et al.*, 2012), la teneur en carbone organique total a été quantifiée et est de $5 \pm 2\%$. La fraction dissoute de ce carbone présente un pourcentage de contribution au carbone organique total de **13%**. Ces nouvelles paramétrisations pourraient dans un premier temps, à partir de modèles de dépôts atmosphériques de poussières désertiques, simuler le dépôt en carbone organique total et dissous en mer Méditerranée. De même, à partir d'un aérosol anthropique, la teneur en carbone

organique total est de 15%. La fraction dissoute représente cette fois-ci **32%** du carbone organique total. Toutefois, rappelons que dans cette thèse, la fraction dissoute du carbone a été quantifiée dans de l'eau ultrapure. De ce fait, la paramétrisation de la solubilité du carbone organique contenu dans les aérosols désertiques et anthropiques mériterait d'être approfondie, à travers notamment une exploration des processus pouvant contrôler la solubilisation du carbone dans l'eau de mer.

Les flux en carbone organique dissous quantifiés en mer Méditerranée Nord Occidentale ont été de $59 \text{ mmol m}^{-2} \text{ an}^{-1}$. En supposant ces flux valides à l'échelle du bassin occidental, le dépôt atmosphérique de carbone peut être 6 fois supérieur aux apports par le Rhône, le Rhône étant le fleuve ayant le débit le plus élevé en mer Méditerranée Occidentale. Bien entendu, cette estimation est à prendre avec précaution, puisqu'elle ne prend pas en compte la variabilité spatiale du dépôt atmosphérique à l'échelle du bassin, mais elle souligne au moins le caractère non négligeable du dépôt atmosphérique de carbone organique. Pour affiner ces estimations, des quantifications plus systématiques du dépôt atmosphérique en carbone organique sont encouragées et ce sur de larges échelles spatiales. Cependant, il conviendra que pour contraindre la variabilité spatiale du dépôt atmosphérique, il serait primordial de procéder préalablement à une homogénéisation des protocoles d'échantillonnage et des méthodes d'analyse.

Une évaluation plus complète du bilan de carbone en mer Méditerranée requiert donc d'inclure le dépôt atmosphérique de carbone organique dans les modèles biogéochimiques existants, mais pas seulement. De nombreux processus doivent encore être pris en compte, notamment le devenir dans la colonne d'eau de ce carbone organique au sein du réseau trophique microbien. **Les résultats obtenus dans cette thèse montrent qu'une fraction substantielle du carbone organique contenu dans le dépôt atmosphérique est biodisponible.** Expérimentalement, cette fraction représente **27% quand il s'agit du dépôt d'origine désertique (aérosols désertiques et pluie saharienne)** et **15% quand il s'agit de dépôt d'origine anthropique.** En supposant une fraction de carbone organique dissous biodisponible de 21% (moyenne entre dépôt anthropique et dépôt désertique) à l'échelle du bassin occidental, le flux atmosphérique en carbone organique dissous réfractaire pouvant être séquestré en mer Méditerranée Occidentale sur de longues échelles de temps, serait de $0,5 \text{ Tg C an}^{-1}$ ce qui correspondrait à 4% de l'export de

carbone organique dissous, ce dernier étant égal à $12,7 \text{ Tg C an}^{-1}$ en mer Méditerranée Nord Occidentale (Guyennon *et al.*, 2015). De même, le rendement de croissance des bactéries n'est pas le même selon que le dépôt est d'origine anthropique (**2%**) ou désertique (**13%**). Ainsi, le type de transfert du carbone organique d'origine atmosphérique à travers le réseau microbien marin pourrait dépendre de la source d'aérosols arrivant à la surface de l'océan. Cependant, n'oublions pas que ces paramétrisations sont issues d'expériences en laboratoire et que l'interaction dépôt atmosphérique-matière organique dissoute océanique, entre autres, peut modifier la biodisponibilité du carbone organique atmosphérique. Par ailleurs, des études ont montré que des millions de bactéries sont échangées quotidiennement entre l'atmosphère et la couche de surface de l'océan (Mayol *et al.*, 2014) et que ces microorganismes se révèlent viables après dépôt à la surface de l'océan (i.e. Eyal *et al.*, 2016). Le rôle biologique de ces organismes au niveau de l'océan est aujourd'hui incertain. Cependant, ces bactéries atmosphériques peuvent influencer les populations microbiennes autochtones et leur activité dans les eaux de surface, pouvant *in fine* exercer un contrôle sur la biodisponibilité du carbone. De ce fait, l'amélioration des paramétrisations obtenue dans le cadre de cette thèse implique également la considération de l'influence de ces bactéries atmosphériques notamment sur l'activité ecto-enzymatique des assemblages bactériens autochtones.

Dans le cadre de cette thèse nous nous sommes intéressés à la fraction dissoute du dépôt atmosphérique en matière organique, mais qu'en est-il de la fraction particulaire ? Le dépôt atmosphérique en matière organique particulaire peut jouer un rôle de ballast pouvant favoriser la sédimentation de carbone. Une amélioration des bilans biogéochimiques de carbone requiert donc de quantifier les flux atmosphériques en matière organique particulaire et d'en explorer le devenir dans la colonne d'eau.

Outre le carbone, le dépôt atmosphérique en N et P organique, quantifié dans le cadre de cette thèse, est non négligeable, $16,4 \text{ mmol N m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ et $23,4 \text{ } \mu\text{mol P m}^{-2} \text{ an}^{-1}$. A l'échelle du bassin Occidental, ces dépôts atmosphériques en N et P organique sont respectivement 17 et 2 fois supérieurs aux apports d'azote et de phosphate organique dissous par le Rhône. Dans un contexte de changement global, le dépôt atmosphérique en matière organique est amené à être augmenté en raison, de l'émission croissante de différents polluants dans l'atmosphère. Par ailleurs, l'augmentation des températures favoriserait la

désertification des sols et donc une intensification des émissions en aérosols naturels (Galloway *et al.*, 2004). De ce fait, une meilleure connaissance des processus qui déterminent le devenir du dépôt atmosphérique dans la colonne d'eau est primordial, notamment les conséquences sur la disponibilité des nutriments inorganiques à travers la reminéralisation et *in fine* sur l'export de carbone. Ceci implique d'approfondir les connaissances à la fois sur la stœchiométrie du dépôt atmosphérique en matière organique et sur la biodisponibilité de ces nutriments organiques. **Le rapport N:P de la fraction organique des flux atmosphériques observé dans le cadre de cette thèse (308:1), en mer Méditerranée Nord Occidentale, est supérieur au rapport N:P de la matière organique dissoute océanique (100:1).** Le dépôt atmosphérique tendrait alors vers un enrichissement relatif en N (par rapport au P) de la matière organique dissoute océanique de surface. Ce dépôt atmosphérique pourrait donc à terme accentuer encore plus la limitation en P en mer Méditerranée avec les conséquences que cela peut avoir sur la pompe biologique de carbone. Contraindre l'impact de ce dépôt atmosphérique sur la stœchiométrie du réservoir de DOM est crucial pour prédire l'efficacité de la pompe biologique future. Par exemple, Letscher and Moore (2015) ont montré que la pompe biologique de carbone était sous-estimée de 9% dans les modèles biogéochimiques n'ayant pas considéré le caractère non Redfieldien du rapport C:N:P de la DOM. **Maintenant, supposons que le rapport C:N:P de la DOM peut être modifié par le dépôt atmosphérique. Dans ce cas, quelles répercussions cela pourrait avoir sur l'export de carbone ?** Pour répondre à cette question, un effort doit être consenti dans le but de contraindre, entre autres, la variabilité du rapport C:N:P du dépôt atmosphérique sur de larges échelles spatio-temporelles ainsi que le devenir de la matière organique issue du dépôt atmosphérique dans la colonne d'eau. Pour ce faire, des expériences de terrain et en laboratoire impliquant des atmosphériciens et des océanographes sont nécessaires pour aborder correctement les nombreux processus complexes et interdépendants impliqués dans la caractérisation du rôle du dépôt atmosphérique.

Guieu *et al.* (2014) ont récemment introduit un terme théorique qui permet d'estimer la contribution du dépôt atmosphérique à la couche de mélange de surface, le TTAD pour *turnover time relative to atmospheric deposition*. Le TTAD est le temps nécessaire à ce que le dépôt atmosphérique remplace le réservoir océanique dans la couche de mélange de surface. En effet à travers ce calcul, Guieu *et al.* (2014) ont estimé

un TTDA à l'échelle globale pouvant aller jusqu'à 500 ans pour le phosphate alors que ceux relatifs au fer et à l'azote ont été inférieurs à 1 an et 1 mois, respectivement. Cette même étude suggère qu'au niveau de l'océan oligotrophe le TTAD peut avoir été surestimé en raison du fait que les concentrations en P sont faiblement contraintes dans les eaux de surface. Les résultats obtenus dans cette thèse, avec une analyse sensible du phosphate inorganique dissous (DIP), permettent de revisiter le TTAD du dépôt atmosphérique en P en mer Méditerranée et suggèrent une valeur moyenne inférieure à 1 année, soulignant l'importance du dépôt atmosphérique en P inorganique dans la région. **Cependant, qu'en est-il de la fraction labile du dépôt atmosphérique en phosphate organique ?**

L'hydrolyse enzymatique du réservoir de DOP atmosphérique a permis de quantifier pour la première fois sa fraction labile. **Celle-ci a montré une importante variabilité sur la période étudiée, allant de 0 à 97%.** Ce résultat mériterait d'être approfondi en considérant à la fois la source du dépôt mais également en améliorant la résolution temporelle des prélèvements, pour mieux contraindre la variabilité de ce réservoir et sa biodisponibilité. Contraindre les sources labiles du dépôt de phosphate organique implique leur description d'un point de vue qualitatif et quantitatif, ainsi que leur modélisation afin de documenter les échelles spatiales et temporelles qui leur sont associés, leur variabilité et interaction. **Durant la période de stratification, la contribution du dépôt atmosphérique en P organique labile au réservoir de DOP labile océanique est modérée (7%), pouvant alléger la limitation en P des bactéries hétérotrophes et soutenir jusqu'à 8% de leur demande phosphorée.**

Dans le cadre de cette thèse, l'analyse sensible du réservoir de DIP en mer Méditerranée nous a amené à une amélioration de nos connaissances sur sa distribution verticale et sur celle du DOP. Cette contribution s'est traduite **par la mise en évidence d'un gradient nano-molaire positif du DIP au-dessus de la phosphacline.** La phosphacline a jusqu'à maintenant été définie comme une différence de concentration fixée arbitrairement et basée sur des seuils de détection élevés. Dans le cadre de cette thèse, de nouvelles hypothèses peuvent émerger quant à cette définition. En effet, la phosphacline apparaît comme un gradient net résultant de deux différents processus, la diffusion de phosphate depuis les couches profondes et sa consommation au niveau de la couche de surface. Néanmoins, d'autres processus

peuvent également intervenir dans ce bilan, à savoir l'advection horizontale, le dépôt atmosphérique, mais pas seulement. Les processus de reminéralisation du phosphate organique dissous et particulaire peuvent également contribuer au gradient nanomolaire de DIP en surface. Dans le cadre de cette thèse, **une diminution des concentrations en DOP a été observée dans la couche de subsurface**, suggérant un bilan négatif entre ses sources et sa biodisponibilité.

Les résultats et les hypothèses qui émergent de cette thèse conduisent à une complexification du modèle de base, avec des dépôts atmosphériques de matière organique qu'il faudrait désormais considérer. Pour des bilans de DOM plus aboutis, les paramétrisations de la solubilité et de la biodisponibilité du dépôt atmosphérique de matière organique sont également à prendre en compte mais certainement à préciser sur de plus larges échelles spatio-temporelles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Achterberg, E.P., Moore, C.M., Henson, S.A., Steigenberger, S., Stohl, A., Eckhardt, S., Avendano, L.C., Cassidy, M., Hembury, D., Klar, J.K., 2013. Natural iron fertilization by the Eyjafjallajökull volcanic eruption. *Geophysical Research Letters*, 40, 921-926.
- Aitkenhead, J.A., McDowell, W.H., 2000. Soil C:N ratio as a predictor of annual riverine DOC flux at local and global scales. *Global Biogeochemical Cycles*, 14, 127-138.
- Aminot, A., Kérouel, R., 2004. Dissolved organic carbon, nitrogen and phosphorus in the N-E Atlantic and the N-W Mediterranean with particular reference to non-refractory fractions and degradation. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 51, 1975-1999.
- Aminot, A., Kerouel, R., 2007. Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines : méthodes en flux continu. *Ed. Ifremer, méthode d'analyse en milieu marin*, 188 p.
- Ammerman, J.W., Hood, R.R., Case, D.A., Cotner, J.B., 2003. Phosphorus deficiency in the Atlantic: An emerging paradigm in oceanography. *Eos, Transactions American Geophysical Union*, 84, 165-170.
- Anderson, J.M., Chow, W.S., Park, Y.I., 1995. The grand design of photosynthesis: acclimation of the photosynthetic apparatus to environmental cues. *Photosynthesis Research*, 46, 129-139.
- Armstrong, F.A.J., Williams, P.M., Strickland, J.D.H., 1966. Photo-oxidation of organic matter in sea water by ultra-violet radiation, analytical and other applications. *Nature*, 211, 481-483.
- Arrieta, J.M., Mayol, E., Hansman, R.L., Herndl, G.J., Dittmar, T., Duarte, C.M., 2015. Response to Comment on "Dilution limits dissolved organic carbon utilization in the deep ocean". *Science*, 350, 2.

- Avril, B., 2002. DOC dynamics in the northwestern Mediterranean Sea (DYFAMED site). *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography*, 49, 2163-2182.
- Azam, F., 1998. Microbial Control of Oceanic Carbon Flux: The Plot Thickens. *Science*, 280, 694-696.
- Azam, F., Fenchel, T., Field, J.G., Gray, J., Meyer-Reil, L., Thingstad, F., 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*, 257-263.
- Baines, S.B., Pace, M.L., 1991. The production of dissolved organic-matter by phytoplankton and its importance to bacteria - patterns across marine and fresh-water systems. *Limnology and Oceanography*, 36, 1078-1090.
- Baker, A., Lesworth, T., Adams, C., Jickells, T., Ganzeveld, L., 2010. Estimation of atmospheric nutrient inputs to the Atlantic Ocean from 50 N to 50 S based on large-scale field sampling: Fixed nitrogen and dry deposition of phosphorus. *Global Biogeochemical Cycles*, 24.
- Balino, B., Fasham, M., and Bowles, M., 2001. Ocean biogeochemistry and global change: JGOFS research highlightings 1988-2000, *IGBP Science* 2, 1-32.
- Becquevort, S., Menon, P., Lancelot, C., 2000. Differences of the protozoan biomass and grazing during spring and summer in the Indian sector of the Southern Ocean. *Polar biology*, 23, 309-320.
- Benner, R., 2002. Chemical composition and reactivity. *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*, 3, 56-90.
- Berger, C., 1989. In situ primary production, biomass and light regime in the wolderwijd, the most stable oscillatoria-agardhii lake in the Netherlands. *Hydrobiologia*, 185, 233-244.
- Berland, B., Bonin, D., Maestrini, S., 1980. Azote ou phosphore ? Considérations sur le paradoxe nutritionnel de la mer Méditerranée. *Oceanologica Acta*, 3, 135-141.

- Bertilsson, S., Berglund, O., Karl, D.M., Chisholm, S.W., 2003. Elemental composition of marine Prochlorococcus and Synechococcus: Implications for the ecological stoichiometry of the sea. *Limnology and Oceanography*, 48, 1721-1731.
- Bethoux, J.P., Copinmontegut, G., 1986. Biological fixation of atmospheric nitrogen in the Mediterranean-sea. *Limnology and Oceanography*, 31, 1353-1358.
- Bethoux, J.P., Morin, P., Madec, C., Gentili, B., 1992. Phosphorus and nitrogen behavior in the Mediterranean Sea. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 39, 1641-1654.
- Beyersdorf, L.J., White, A.E., Bjorkman, K.M., Letelier, R.M., Karl, D.M., 2010. Phosphonate metabolism of Trichodesmium IMS101 and the production of greenhouse gases. *Limnology and Oceanography*, 55, 1768-1778.
- Bigg, G.R., Jickells, T.D., Liss, P.S., Osborn, T.J., 2003. The role of the oceans in climate. *International Journal of Climatology*, 23, 1127-1159.
- Bjorkman, K., Karl, D.M., 1994. Bioavailability of inorganic and organic phosphorus-compounds to natural assemblages of microorganisms in Hawaiian coastal waters. *Marine Ecology Progress Series*, 111, 265-273.
- Bjorkman, K.M., Karl, D.M., 2003. Bioavailability of dissolved organic phosphorus in the euphotic zone at station ALOHA, North Pacific Subtropical Gyre. *Limnology and Oceanography*, 48, 1049-1057.
- Bonnet, S., Guieu, U., Chiaverini, J., Ras, J., Stock, A., 2005. Effect of atmospheric nutrients on the autotrophic communities in a low nutrient, low chlorophyll system. *Limnology and Oceanography*, 50, 1810-1819.
- Brévière, E. and the SOLAS Scientific Steering Committee (eds.) (2016): SOLAS 2015-2025: Science Plan and Organisation. SOLAS International Project Office, GEOMAR Helmholtz Centre for Ocean Research Kiel, Kiel, 76 pp.
- Bronk, D.A., 2002. Dynamics of DON, In: Dennis A. Hansell and Craig A. Carlson. (Eds.) Biogeochemistry of marine dissolved organic, *Academic Press*, San Diego, CA, 153-247.

- Bronk, D.A., Lomas, M.W., Glibert, P.M., Schukert, K.J., Sanderson, M.P., 2000. Total dissolved nitrogen analysis: comparisons between the persulfate, UV and high temperature oxidation methods. *Marine Chemistry*, 69, 163-178.
- Brophy, J.E., Carlson, D.J., 1989. Production of biologically refractory dissolved organic-carbon by natural seawater microbial-populations. *Deep-Sea Research Part a-Oceanographic Research Papers*, 36, 497-507.
- Browning, T.J., Achterberg, E.P., Yong, J.C., Rapp, I., Utermann, C., Engel, A., Moore, C.M., 2017. Iron limitation of microbial phosphorus acquisition in the tropical North Atlantic. *Nature Communications*, 8, 7.
- Bruland, K.W., Donat, J.R., Hutchins, D.A., 1991. Interactive influences of bioactive trace-metals on biological production in oceanic waters. *Limnology and Oceanography*, 36, 1555-1577.
- Carlson, C.A., 2002. Production and removal processes. *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*, 91-151.
- Carlson, C.A., Ducklow, H.W., Michaels, A.F., 1994. Annual flux of dissolved organic-carbon from the euphotic zone in the Northwestern Sargasso Sea. *Nature*, 371, 405-408.
- Carlson, C.A., Hansell, D.A., 2015. DOM sources, sinks, reactivity, and budgets. In: Dennis A. Hansell and Craig A. Carlson. (Eds.). *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*. Academic Press. 66-109.
- Carritt, D.E., Carpenter, J., 1966. Comparison and evaluation of currently employed modifications of Winkler method for determining dissolved oxygen in seawater-a NASCO Report. *Journal of Marine Research*, 24.
- Cauwet, G., Deliat, G., Krastev, A., Shtereva, G., Becquevort, S., Lancelot, C., Momzikoff, A., Saliot, A., Cociasu, A., Popa, L., 2002. Seasonal DOC accumulation in the Black Sea: a regional explanation for a general mechanism. *Marine Chemistry*, 79, 193-205.
- Céa, B., Lefèvre, D., Chirurgien, L., Raimbault, P., Garcia, N., Charrière, B., Grégori, G., Ghiglione, J., Barani, A., Lafont, M., 2015. An annual survey of bacterial

- production, respiration and ectoenzyme activity in coastal NW Mediterranean waters: temperature and resource controls. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 13654-13668.
- Chen, H., Navea, J.G., Young, M.A., Grassian, V.H., 2011. Heterogeneous photochemistry of trace atmospheric gases with components of mineral dust aerosol. *The Journal of Physical Chemistry A*, 115, 490-499.
- Cho, B.C., Azam, F., 1988. Major role of bacteria in biogeochemical fluxes in the ocean's interior. *Nature*, 332, 441-443.
- Chróst, R.J., 1990. Microbial ectoenzymes in aquatic environments. *Aquatic Microbial Ecology* (pp. 47-78): Springer.
- Chróst, R.J., 1991. Environmental control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes. *Microbial enzymes in aquatic environments* (pp. 29-59): Springer.
- Church, M.J., DeLong, E.F., Ducklow, H.W., Karner, M.B., Preston, C.M., Karl, D.M., 2003. Abundance and distribution of planktonic Archaea and Bacteria in the waters west of the Antarctic Peninsula. *Limnology and Oceanography*, 48, 1893-1902.
- Church, M.J., Ducklow, H.W., Karl, D.M., 2002. Multiyear increases in dissolved organic matter inventories at station ALOHA in the North Pacific Subtropical Gyre. *Limnology and Oceanography*, 47, 1-10.
- Cole, J.J., Findlay, S., Pace, M.L., 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. *Marine Ecology Progress Series*, 1-10.
- Collos, Y., Döhler, G., Biermann, I., 1992. Production of dissolved organic nitrogen during uptake of nitrate by *Synedra planctonica*: implications for estimates of new production in the oceans. *Journal of Plankton Research*, 14, 1025-1029.
- Copin-Montegut, G., Avril, B., 1993. Vertical-distribution and temporal variation of dissolved organic-carbon in the north-western Mediterranean-Sea. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*, 40, 1963-1972.

- Coste, B., Corre, P.L., Minas, H.J., 1988. Re-evaluation of the nutrient exchanges in the strait of Gibraltar. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 35, 767-775.
- Cotner, J.B., Ammerman, J.W., Peele, E.R., Bentzen, E., 1997. Phosphorus-limited bacterioplankton growth in the Sargasso Sea, *Aquatic Microbial Ecology*, 13 (2), 141-149.
- Cottrell, M.T., Kirchman, D.L., 2004. Single-cell analysis of bacterial growth, cell size, and community structure in the Delaware estuary. *Aquatic Microbial Ecology*, 34, 139-149.
- d'Almeida, G.A., 1986. A model for Saharan dust transport. *Journal of climate and applied meteorology*, 25, 903-916.
- De Boyer Montégut, C., 2004. Mixed layer depth over the global ocean: An examination of profile data and a profile-based climatology. *Journal of Geophysical Research*, 109, 1-20.
- De Boyer Montégut, C., Madec, G., Fischer, A.S., Lazar, A., Iudicone, D., 2004. Mixed layer depth over the global ocean: An examination of profile data and a profile-based climatology. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 109, 1-20.
- De Leeuw, G., Guieu, C., Arneth, A., Bellouin, N., Bopp, L., Boyd, P.W., Denier van der Gon, H.A.C., Desboeufs, K.V., Dulac, F., Facchini, M.C., Gantt, B., Langmann, B., Mahowald, N.M., Marañón, E., O'Dowd, C., Olgun, N., Pulido-Villena, E., Rinaldi, M., Stephanou, E.G., Wagener, T., 2014. Ocean-atmosphere interactions of particles. In: Peter S. Liss and Martin T. Johnson. (Eds.) Ocean-Atmosphere interactions of gases and particles. 171-246.
- De Vicente, I., Ortega-Retuerta, E., Morales-Baquero, R., Reche, I., 2012. Contribution of dust inputs to dissolved organic carbon and water transparency in Mediterranean reservoirs. *Biogeosciences*, 9, 5049-5060.
- Del Giorgio, P.A., Cole, J.J., 1998. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 29, 503-541.

- Del Giorgio, P.A., Duarte, C.M., 2002. Respiration in the open ocean. *Nature*, 420, 379-384.
- Del Giorgio, P.A., Williams, P.J.I.B., 2005. *Respiration in aquatic ecosystems*: Oxford University Press, USA.
- D'Elia, C.F., Sanders, J.G., Boynton, W.R., 1986. Nutrient enrichment studies in a coastal plain estuary: phytoplankton growth in large-scale, continuous cultures. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 43, 397-406.
- Desboeufs, K., Losno, R., Colin, J.-L., 2001. Factors influencing aerosol solubility during cloud processes. *Atmospheric Environment*, 35, 3529-3537.
- Diaz, F., Raimbault, P., Boudjellal, B., Garcia, N., Moutin, T., 2001. Early spring phosphorus limitation of primary productivity in a NW Mediterranean coastal zone (Gulf of Lions). *Marine Ecology Progress Series*, 211, 51-62.
- Djaoudi, K., Van Wambeke, F., Barani, A., Hélias-Nunige, S., Sempéré, R., Pulido-Villena, E., 2017. Atmospheric fluxes of soluble organic C, N and P to the Mediterranean Sea: potential biogeochemical implications in the surface layer. *Progress in Oceanography*. In press. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2017.07.008>
- Draxler, R., Rolph, G., 2003. HYSPLIT (HYbrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory). NOAA Air Resources Laboratory, Silver Spring, MD. Model access via NOAA ARL READY Website.
- Duarte, C.M., Regaudie-de-Gioux, A., Arrieta, J.M., Delgado-Huertas, A., Agustí, S., 2013. The oligotrophic ocean is heterotrophic.
- Duce, R.A., LaRoche, J., Altieri, K., Arrigo, K.R., Baker, A.R., Capone, D.G., Cornell, S., Dentener, F., Galloway, J., Ganeshram, R.S., Geider, R.J., Jickells, T., Kuypers, M.M., Langlois, R., Liss, P.S., Liu, S.M., Middelburg, J.J., Moore, C.M., Nickovic, S., Oschlies, A., Pedersen, T., Prospero, J., Schlitzer, R., Seitzinger, S., Sorensen, L.L., Uematsu, M., Ulloa, O., Voss, M., Ward, B., Zamora, L., 2008. Impacts of atmospheric anthropogenic nitrogen on the open ocean. *Science*, 320, 893-897.

- Duce, R.A., Liss, P.S., Merrill, J.T., Atlas, E.L., Buat-Menard, P., Hicks, B.B., Miller, J.M., Prospero, J.M., Arimoto, R., Church, T.M., Ellis, W., Galloway, J.N., Hansen, L., Jickells, T.D., Knap, A.H., Reinhardt, K.H., Schneider, B., Soudine, A., Tokos, J.J., Tsunogai, S., Wollast, R., Zhou, M., 1991. The atmospheric input of trace species to the world ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 5, 193-259.
- Ducklow, H., 2000. Bacterial production and biomass in the oceans. *Microbial ecology of the oceans*, 1, 85-120.
- Ducklow, H.W., Doney, S.C., 2013. What is the metabolic state of the oligotrophic ocean? A debate. *Annual Review of Marine Science*, 5, 525-533.
- Duhamel, S., Bjorkman, K.M., Van Wambeke, F., Moutin, T., Karl, D.M., 2011. Characterization of alkaline phosphatase activity in the North and South Pacific Subtropical Gyres: Implications for phosphorus cycling. *Limnology and Oceanography*, 56, 1244-1254.
- Duhamel, S., Nogaro, G., Steinman, A.D., 2017. Effects of water level fluctuation and sediment-water nutrient exchange on phosphorus biogeochemistry in two coastal wetlands. *Aquatic Sciences*, 79, 57-72.
- Eppley, R.W., Peterson, B.J., 1979. Particulate organic-matter flux and planktonic new production in the deep ocean. *Nature*, 282, 677-680.
- Eppley, R.W., Renger, E.H., Venrick, E.L., Mullin, M.M., 1973. A study of plankton dynamics and nutrient cycling in the central gyre of the North Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography*, 18, 534-551.
- Eugster, O., Gruber, N., 2012. A probabilistic estimate of global marine N-fixation and denitrification. *Global Biogeochemical Cycles*, 26, 15.
- Falkowski, P. G., Raven, J. A., 1997. Aquatic photosynthesis, Blackwell Science, Oxford, UK.
- Ferretto, N., Tedetti, M., Guigue, C., Mounier, S., Raimbault, P., Goutx, M., 2017. Spatio-temporal variability of fluorescent dissolved organic matter in the Rhône River delta and the Fos-Marseille marine area (NW Mediterranean Sea, France). *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 4973-4989.

- Feuillade, M., Dorioz, J.M., 1992. Enzymatic release of phosphate in sediments of various origins. *Water Research*, 26, 1195-1201.
- Field, C.B., Behrenfeld, M.J., Randerson, J.T., Falkowski, P., 1998. Primary production of the biosphere: integrating terrestrial and oceanic components. *Science*, 281, 237-240.
- Fuhrman, J., 2000. Impact of viruses on bacterial processes. *Microbial ecology of the oceans*, 327-350.
- Fuhrman, J.A., 1992. Novel major archaeobacterial group from marine plankton. *Nature*, 356, 148-149.
- Gaiero, D.M., Probst, J.-L., Depetris, P.J., Bidart, S.M., Leleyter, L., 2003. Iron and other transition metals in Patagonian riverborne and windborne materials: geochemical control and transport to the southern South Atlantic Ocean. *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 67, 3603-3623.
- Galloway, J.N., Dentener, F.J., Capone, D.G., Boyer, E.W., Howarth, R.W., Seitzinger, S.P., Asner, G.P., Cleveland, C.C., Green, P.A., Holland, E.A., Karl, D.M., Michaels, A.F., Porter, J.H., Townsend, A.R., Vöosmarty, C.J., 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*, 70, 153-226.
- Gogou, A., Sanchez-Vidal, A., Durrieu de Madron, X., Stavrakakis, S., Calafat, A.M., Stabholz, M., Psarra, S., Canals, M., Heussner, S., Stavrakaki, I., Papathanassiou, E., 2014. Carbon flux to the deep in three open sites of the Southern European Seas (SES). *Journal of Marine Systems*, 129, 224-233.
- Goldberg, S.J., Carlson, C.A., Brzezinski, M., Nelson, N.B., Siegel, D.A., 2011. Systematic removal of neutral sugars within dissolved organic matter across ocean basins. *Geophysical Research Letters*, 38.
- Goldman, J.C., McCarthy, J.J., Peavey, D.G., 1979. Growth rate influence on the chemical composition of phytoplankton in oceanic waters. *Nature*, 279, 210-215.
- Grousset, F.E., Biscaye, P.E., 2005. Tracing dust sources and transport patterns using Sr, Nd and Pb isotopes. *Chemical Geology*, 222, 149-167.

- Gruber, N., 2008. The marine nitrogen cycle: overview and challenges. *Nitrogen in the marine environment*, 2, 1-50.
- Guerzoni, S., Chester, R., Dulac, F., Herut, B., Loye-Pilot, M.D., Measures, C., Migon, C., Molinaroli, E., Moulin, C., Rossini, P., Saydam, C., Soudine, A., Ziveri, P., 1999. The role of atmospheric deposition in the biogeochemistry of the Mediterranean Sea. *Progress in Oceanography*, 44, 147-190.
- Guieu, C., Aumont, O., Paytan, A., Bopp, L., Law, C.S., Mahowald, N., Achterberg, E.P., Maranon, E., Salihoglu, B., Crise, A., Wagener, T., Herut, B., Desboeufs, K., Kanakidou, M., Olgun, N., Peters, F., Pulido-Villena, E., Tovar-Sanchez, A., Volker, C., 2014. The significance of the episodic nature of atmospheric deposition to Low Nutrient Low Chlorophyll regions. *Global Biogeochemical Cycles*, 28, 1179-1198.
- Guieu, C., Bozec, Y., Blain, S., Ridame, C., Sarthou, G., Leblond, N., 2002. Impact of high Saharan dust inputs on dissolved iron concentrations in the Mediterranean Sea. *Geophysical Research Letters*, 29, 4.
- Guyennon, A., Baklouti, M., Diaz, F., Palmieri, J., Beuvier, J., Lebaupin-Brossier, C., Arsouze, T., Beranger, K., Dutay, J.C., Moutin, T., 2015. New insights into the organic carbon export in the Mediterranean Sea from 3-D modeling. *Biogeosciences*, 12, 7025-7046.
- Hansell, D.A., 2013. Recalcitrant dissolved organic carbon fractions. In C.A. Carlson, S.J. Giovannoni (Eds.), *Annual Review of Marine Science*, Vol 5, Vol. 5 (pp. 421-445). Palo Alto: Annual Reviews.
- Hansell, D.A., Carlson, C.A., Repeta, D.J., Schlitzer, R., 2009. Dissolved organic matter in the ocean a controversy stimulates new insights. *Oceanography*, 22, 202-211.
- Hansell, D.A., Carlson, C.A., Schlitzer, R., 2012. Net removal of major marine dissolved organic carbon fractions in the subsurface ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 26, 9.
- Hashihama, F., Kinouchi, S., Suwa, S., Suzumura, M., Kanda, J., 2013. Sensitive determination of enzymatically labile dissolved organic phosphorus and its

- vertical profiles in the oligotrophic western North Pacific and East China Sea. *Journal of Oceanography*, 69, 357-367.
- Hedges, J.I., 2002. Why dissolved organics matter. *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*, 1-33.
- Herndl, G.J., Reinthaler, T., Teira, E., van Aken, H., Veth, C., Pernthaler, A., Pernthaler, J., 2005. Contribution of archaea to total prokaryotic production in the deep Atlantic Ocean. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 2303-2309.
- Hernes, P.J., Benner, R., 2003. Photochemical and microbial degradation of dissolved lignin phenols: Implications for the fate of terrigenous dissolved organic matter in marine environments. *Journal of Geophysical Research-Oceans*, 108, 9.
- Herut, B., Nimmo, M., Medway, A., Chester, R., Krom, M.D., 2001. Dry atmospheric inputs of trace metals at the Mediterranean coast of Israel (SE Mediterranean): sources and fluxes. *Atmospheric Environment*, 35, 803-813.
- Herut, B., Rahav, E., Tsagaraki, T.M., Giannakourou, A., Tsiola, A., Psarra, S., Lagaria, A., Papageorgiou, N., Mihalopoulos, N., Theodosi, C.N., Violaki, K., Stathopoulou, E., Scoullou, M., Krom, M.D., Stockdale, A., Shi, Z., Berman-Frank, I., Meador, T.B., Tanaka, T., Paraskevi, P., 2016. The potential impact of Saharan dust and polluted aerosols on microbial populations in the east Mediterranean Sea, an overview of a mesocosm experimental approach. *Frontiers in Marine Science*, 3.
- Hopkinson, C.S., Vallino, J.J., 2005. Efficient export of carbon to the deep ocean through dissolved organic matter. *Nature*, 433, 142-145.
- Hoppe, H.G., 2003. Phosphatase activity in the sea. *Hydrobiologia*, 493, 187-200.
- Jiao, N., Herndl, G.J., Hansell, D.A., Benner, R., Kattner, G., Wilhelm, S.W., Kirchman, D.L., Weinbauer, M.G., Luo, T.W., Chen, F., Azam, F., 2010. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: long-term carbon storage in the global ocean. *Nature Reviews Microbiology*, 8, 593-599.

- Jiao, N., Robinson, C., Azam, F., Thomas, H., Baltar, F., Dang, H., Hardman-Mountford, N.J., Johnson, M., Kirchman, D.L., Koch, B.P., Legendre, L., Li, C., Liu, J., Luo, T., Luo, Y.W., Mitra, A., Romanou, A., Tang, K., Wang, X., Zhang, C., Zhang, R., 2014. Mechanisms of microbial carbon sequestration in the ocean - future research directions. *Biogeosciences*, 11, 5285-5306.
- Jickells, T.D., An, Z.S., Andersen, K.K., Baker, A.R., Bergametti, G., Brooks, N., Cao, J.J., Boyd, P.W., Duce, R.A., Hunter, K.A., Kawahata, H., Kubilay, N., laRoche, J., Liss, P.S., Mahowald, N., Prospero, J.M., Ridgwell, A.J., Tegen, I., Torres, R., 2005. Global iron connections between desert dust, ocean biogeochemistry, and climate. *Science*, 308, 67-71.
- Jordi, A., Basterretxea, G., Tovar-Sanchez, A., Alastuey, A., Querol, X., 2012. Copper aerosols inhibit phytoplankton growth in the Mediterranean Sea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109, 21246-21249.
- Jurado, E., Dachs, J., Duarte, C.M., Simo, R., 2008. Atmospheric deposition of organic and black carbon to the global oceans. *Atmospheric Environment*, 42, 7931-7939.
- Kanakidou, M., Duce, R.A., Prospero, J.M., Baker, A.R., Benitez-Nelson, C., Dentener, F.J., Hunter, K.A., Liss, P.S., Mahowald, N., Okin, G.S., Sarin, M., Tsigaridis, K., Uematsu, M., Zamora, L.M., Zhu, T., 2012. Atmospheric fluxes of organic N and P to the global ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 26.
- Kanakidou, M., Seinfeld, J.H., Pandis, S.N., Barnes, I., Dentener, F.J., Facchini, M.C., Van Dingenen, R., Ervens, B., Nenes, A., Nielsen, C.J., Swietlicki, E., Putaud, J.P., Balkanski, Y., Fuzzi, S., Horth, J., Moortgat, G.K., Winterhalter, R., Myhre, C.E.L., Tsigaridis, K., Vignati, E., Stephanou, E.G., Wilson, J., 2005. Organic aerosol and global climate modelling: a review. *Atmos. Chem. Phys.*, 5, 1053-1123.
- Kanakidou, M., Tsigaridis, K., Dentener, F.J., Crutzen, P.J., 2000. Human-activity-enhanced formation of organic aerosols by biogenic hydrocarbon oxidation. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 105, 9243-9354.

- Karl, D.M., 2014. Microbially Mediated Transformations of Phosphorus in the Sea: New Views of an Old Cycle. In C.A. Carlson, S.J. Giovannoni (Eds.), *Annual Review of Marine Science*, Vol 6, Vol. 6 (pp. 279-337). Palo Alto: Annual Reviews.
- Karl, D.M., Björkman, K.M. 2015. Dynamics of dissolved organic Phosphorus. In: Dennis A. Hansell and Craig A. Carlson. (Eds.). *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*. Academic Press. 234-318.
- Karl, D.M., Bjorkman, K.M., Dore, J.E., Fujieki, L., Hebel, D.V., Houlihan, T., Letelier, R.M., Tupas, L.M., 2001. Ecological nitrogen-to-phosphorus stoichiometry at station ALOHA. *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography*, 48, 1529-1566.
- Karl, D.M., Tien, G., 1992. MAGIC - A sensitive and precise method for measuring dissolved phosphorus in aquatic environments. *Limnology and Oceanography*, 37, 105-116.
- Karl, DM and Björkman, KM., 2015. Dynamics of dissolved organic phosphorus. In: Dennis A. Hansell and Craig A. Carlson. (Eds.) *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*. Academic Press. 234-318.
- Karner, M., Herndl, G.J., 1992. Extracellular enzymatic-activity and secondary production in free-living and marine-snow-associated bacteria. *Marine Biology*, 113, 341-347.
- Keller, M.D., Bellows, W.K., Guillard, R.R., 1988. Microwave treatment for sterilization of phytoplankton culture media. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 117, 279-283.
- Kester, D., Pytkowicz, R., 1967. Relative calcium phosphate saturation in two regions of the North Pacific Ocean. *Limnology and Oceanography*, 12, 714-718.
- Kirchman, D., K'nees, E., Hodson, R., 1985. Leucine incorporation and its potential as a measure of protein synthesis by bacteria in natural aquatic systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 49, 599-607.

- Kirchman, D.L., Dittel, A.I., Findlay, S.E., Fischer, D., 2004. Changes in bacterial activity and community structure in response to dissolved organic matter in the Hudson River, New York. *Aquatic Microbial Ecology*, 35, 243-257
- Kirchman, D.L., Keil, R.G., Simon, M., Welschmeyer, N.A., 1993. Biomass and production of heterotrophic bacterioplankton in the oceanic Sub-Arctic Pacific. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*, 40, 967-988.
- Krom, M.D., Herut, B., Mantoura, R.F.C., 2004. Nutrient budget for the Eastern Mediterranean: Implications for phosphorus limitation. *Limnology and Oceanography*, 49, 1582-1592.
- Krom, M.D., Kress, N., Brenner, S., Gordon, L.I., 1991. Phosphorus limitation of primary productivity Along the E-W transect. *Limnology and Oceanography*, 36, 424-432.
- Krom, M.D., Woodward, E.M.S., Herut, B., Kress, N., Carbo, P., Mantoura, R.F.C., Spyres, G., Thingstad, T.F., Wassmann, P., Wexels-Riser, C., Kitidis, V., Law, C.S., Zodiatis, G., 2005. Nutrient cycling in the south-east Levantine basin of the eastern Mediterranean: Results from a phosphorus starved system. *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography*, 52, 2879-2896.
- Laghdass, M., Blain, S., Besseling, M., Catala, P., Guieu, C., Obernosterer, I., 2011. Effects of Saharan dust on the microbial community during a large in situ mesocosm experiment in the NW Mediterranean Sea. *Aquatic Microbial Ecology*, 62, 201-213.
- Lavigne, H., D'Ortenzio, F., D'Alcala, M.R., Claustre, H., Sauzede, R., Gacic, M., 2015. On the vertical distribution of the chlorophyll a concentration in the Mediterranean Sea: a basin-scale and seasonal approach. *Biogeosciences*, 12, 5021-5039.
- Lechtenfeld, O.J., Hertkorn, N., Shen, Y., Witt, M., Benner, R., 2015. Marine sequestration of carbon in bacterial metabolites. *Nature Communications*, 6, 8.
- Lekunberri, I., Lefort, T., Romero, E., Vázquez-Domínguez, E., Romera-Castillo, C., Marrasé, C., Peters, F., Weinbauer, M., Gasol, J.M., 2010. Effects of a dust

- deposition event on coastal marine microbial abundance and activity, bacterial community structure and ecosystem function. *Journal of Plankton Research*, 32, 381-396.
- Lemee, R., Rochelle-Newall, E., Van Wambeke, F., Pizay, M.D., Rinaldi, P., Gattuso, J.P., 2002. Seasonal variation of bacterial production, respiration and growth efficiency in the open NW Mediterranean Sea, 29, 227-2002. *Aquatic Microbial Ecology*, 30, 102-102.
- Letscher, R.T., Hansell, D.A., Carlson, C.A., Lumpkin, R., Knapp, A.N., 2013. Dissolved organic nitrogen in the global surface ocean: Distribution and fate. *Global Biogeochemical Cycles*, 27, 141-153.
- Letscher, R.T., Moore, J.K., 2015. Preferential remineralization of dissolved organic phosphorus and non-Redfield DOM dynamics in the global ocean: Impacts on marine productivity, nitrogen fixation, and carbon export. *Global Biogeochemical Cycles*, 29, 325-340.
- Liu, Y., Zhang, T.R., Shi, J.H., Gao, H.W., Yao, X.H., 2013. Responses of chlorophyll a to added nutrients, Asian dust, and rainwater in an oligotrophic zone of the Yellow Sea: Implications for promotion and inhibition effects in an incubation experiment. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 118, 1763-1772.
- Loh, A.N., Bauer, J.E., 2000. Distribution, partitioning and fluxes of dissolved and particulate organic C, N and P in the eastern North Pacific and Southern Oceans. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*, 47, 2287-2316.
- Lomas, M.W., Steinberg, D.K., Dickey, T., Carlson, C.A., Nelson, N.B., Condon, R.H., Bates, N.R., 2010. Increased ocean carbon export in the Sargasso Sea linked to climate variability is countered by its enhanced mesopelagic attenuation. *Biogeosciences*, 7, 57-70.
- Longhurst, A., Sathyendranath, S., Platt, T., Caverhill, C., 1995. An estimate of global primary production in the ocean from satellite radiometer data. *Journal of Plankton Research*, 17, 1245-1271.

- Ludwig, W., Amiotte-Suchet, P., Probst, J.L., 1996. River discharges of carbon to the world's oceans: Determining local inputs of alkalinity and of dissolved and particulate organic carbon. *Comptes Rendus De L Academie Des Sciences Serie Ii Fascicule a-Sciences De La Terre Et Des Planetes*, 323, 1007-1014.
- Ludwig, W., Dumont, E., Meybeck, M., Heussner, S., 2009. River discharges of water and nutrients to the Mediterranean and Black Sea: major drivers for ecosystem changes during past and future decades? *Progress in Oceanography*, 80, 199-217.
- Luo, C., Mahowald, N., Bond, T., Chuang, P.Y., Artaxo, P., Siefert, R., Chen, Y., Schauer, J., 2008. Combustion iron distribution and deposition. *Global Biogeochemical Cycles*, 22, 17.
- Ma, J., Adornato, L., Byrne, R.H., Yuan, D., 2014. Determination of nanomolar levels of nutrients in seawater. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 60, 1-15.
- Mahowald, N., Jickells, T.D., Baker, A.R., Artaxo, P., Benitez-Nelson, C.R., Bergametti, G., Bond, T.C., Chen, Y., Cohen, D.D., Herut, B., Kubilay, N., Losno, R., Luo, C., Maenhaut, W., McGee, K.A., Okin, G.S., Siefert, R.L., Tsukuda, S., 2008. Global distribution of atmospheric phosphorus sources, concentrations and deposition rates, and anthropogenic impacts. *Global Biogeochemical Cycles*, 22.
- Mahowald, N.M., Baker, A.R., Bergametti, G., Brooks, N., Duce, R.A., Jickells, T.D., Kubilay, N., Prospero, J.M., Tegen, I., 2005. Atmospheric global dust cycle and iron inputs to the ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 19, 17.
- Mahowald, N.M., Engelstaedter, S., Luo, C., Sealy, A., Artaxo, P., Benitez-Nelson, C., Bonnet, S., Chen, Y., Chuang, P.Y., Cohen, D.D., 2009. Atmospheric iron deposition: global distribution, variability, and human perturbations. *Annual Review of Marine Science*, 1, 245-278.
- Mara  n, E., Fern  ndez, A., Mouri  o-Carballido, B., Mart  nez-Garc  a, S., Teira, E., Cerme  o, P., Chouci  o, P., Huete-Ortega, M., Fern  ndez, E., Calvo-D  az, A., Mor  n, X.A.G., Bode, A., Moreno-Ostos, E., Varela, M.M., Patey, M.D., Achterberg, E.P., 2010. Degree of oligotrophy controls the response of microbial plankton to Saharan dust. *Limnology and Oceanography*, 55, 2339-2352.

- Marín, I., Nunes, S., Sánchez-Pérez, E.D., Aparicio, F.L., Estrada, M., Marrasé, C., Moreno, T., Wagener, T., Querol, X., Peters, F., 2017. Anthropogenic versus mineral aerosols in the stimulation of microbial planktonic communities in coastal waters of the northwestern Mediterranean Sea. *Science of The Total Environment*, 574, 553-568.
- Markaki, Z., Loye-Pilot, M.D., Violaki, K., Benyahya, L., Mihalopoulos, N., 2010. Variability of atmospheric deposition of dissolved nitrogen and phosphorus in the Mediterranean and possible link to the anomalous seawater N/P ratio. *Marine Chemistry*, 120, 187-194.
- Mather, R.L., Reynolds, S.E., Wolff, G.A., Williams, R.G., Torres-Valdes, S., Woodward, E.M.S., Landolfi, A., Pan, X., Sanders, R., Achterberg, E.P., 2008. Phosphorus cycling in the North and South Atlantic Ocean subtropical gyres. *Nature Geoscience*, 1, 439-443.
- Mayol, E., Jiménez, M.A., Herndl, G.J., Duarte, C.M., Arrieta, J.M., 2014. Resolving the abundance and air-sea fluxes of airborne microorganisms in the North Atlantic Ocean. *Frontiers in Microbiology*, 5.
- Mayorga, E., Seitzinger, S.P., Harrison, J.A., Dumont, E., Beusen, A.H.W., Bouwman, A.F., Fekete, B.M., Kroeze, C., Van Drecht, G., 2010. Global Nutrient Export from WaterSheds 2 (NEWS 2): Model development and implementation. *Environmental Modelling & Software*, 25, 837-853.
- McGill, D.A., 1964. The distribution of phosphorus and oxygen in the Atlantic Ocean, as observed during the I.G.Y., 1957–1958. *Progress in Oceanography*, 2, 127-211.
- Menzel, D.W., Corwin, N., 1965. The measurement of total phosphorus in seawater based on the liberation of organically bound fractions by persulfate oxidation. *Limnology and Oceanography*, 10, 280-282.
- Meybeck, M., 1982. Carbon, nitrogen, and phosphorus transport by World Rivers. *American Journal of Science*, 282, 401-450.

- Migon, C., Sandroni, V., 1999. Phosphorus in rainwater: Partitioning inputs and impact on the surface coastal ocean. *Limnology and Oceanography*, 44, 1160-1165.
- Millot, C., Taupier-Letage, I., 2005. Circulation in the Mediterranean Sea. *The Mediterranean Sea*, 323-334.
- Mills, M.M., Ridame, C., Davey, M., La Roche, J., Geider, R.J., 2004. Iron and phosphorus co-limit nitrogen fixation in the eastern tropical North Atlantic. *Nature*, 429, 292-294.
- Moore, C.M., Mills, M.M., Arrigo, K.R., Berman-Frank, I., Bopp, L., Boyd, P.W., Galbraith, E.D., Geider, R.J., Guieu, C., Jaccard, S.L., Jickells, T.D., La Roche, J., Lenton, T.M., Mahowald, N.M., Maranon, E., Marinov, I., Moore, J.K., Nakatsuka, T., Oschlies, A., Saito, M.A., Thingstad, T.F., Tsuda, A., Ulloa, O., 2013. Processes and patterns of oceanic nutrient limitation. *Nature Geoscience*, 6, 701-710.
- Moulin, C., Lambert, C.E., Dulac, F., Dayan, U., 1997. Control of atmospheric export of dust from North Africa by the North Atlantic oscillation. *Nature*, 387, 691-694.
- Moutin, T., Karl, D.M., Duhamel, S., Rimmelin, P., Raimbault, P., Van Mooy, B.A.S., Claustre, H., 2008. Phosphate availability and the ultimate control of new nitrogen input by nitrogen fixation in the tropical Pacific Ocean. *Biogeosciences*, 5, 95-109.
- Moutin, T., Karl, D.M., Duhamel, S., Rimmelin, P., Raimbault, P., Van Mooy, B.A.S., Claustre, H., 2008. Phosphate availability and the ultimate control of new nitrogen input by nitrogen fixation in the tropical Pacific Ocean. *Biogeosciences*, 5, 95-109.
- Moutin, T., Raimbault, P., 2002. Primary production, carbon export and nutrients availability in western and eastern Mediterranean Sea in early summer 1996 (MINOS cruise). *Journal of Marine Systems*, 33, 273-288.
- Moutin, T., Thingstad, T.F., Van Wambeke, F., Marie, D., Slawyk, G., Raimbault, P., Claustre, H., 2002. Does competition for nano-molar phosphate supply explain

- the predominance of the cyanobacterium *Synechococcus*? *Limnology and Oceanography*, 47, 1562-1567.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination
- Nagata, T., Fukuda, H., Fukuda, R., Koike, I., 2000. Bacterioplankton distribution and production in deep Pacific waters: Large-scale geographic variations and possible coupling with sinking particle fluxes. *Limnology and Oceanography*, 45, 426-435.
- Nenes, A., Krom, M.D., Mihalopoulos, N., Cappellen, P.V., Shi, Z., Bougiatioti, A., Zampas, P., Herut, B., 2011. Atmospheric acidification of mineral aerosols: a source of bioavailable phosphorus for the oceans. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 11, 6265-6272.
- Okin, G.S., Baker, A.R., Tegen, I., Mahowald, N.M., Dentener, F.J., Duce, R.A., Galloway, J.N., Hunter, K., Kanakidou, M., Kubilay, N., Prospero, J.M., Sarin, M., Surapipith, V., Uematsu, M., Zhu, T., 2011. Impacts of atmospheric nutrient deposition on marine productivity: Roles of nitrogen, phosphorus, and iron. *Global Biogeochemical Cycles*, 25.
- Pachauri, R.K., Allen, M.R., Barros, V.R., Broome, J., Cramer, W., Christ, R., Church, J.A., Clarke, L., Dahe, Q., Dasgupta, P., 2014. *Climate change 2014: synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*: IPCC.
- Pan, Y., Wang, Y., Xin, J., Tang, G., Song, T., Wang, Y., Li, X., Wu, F., 2010. Study on dissolved organic carbon in precipitation in Northern China. *Atmospheric Environment*, 44, 2350-2357.
- Panagiotopoulos, C., Sempere, R., Para, J., Raimbault, P., Rabouille, C., Charriere, B., 2012. The composition and flux of particulate and dissolved carbohydrates from the Rhône River into the Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 9, 1827-1844.
- Patey, M.D., Rijkenberg, M.J.A., Statham, P.J., Stinchcombe, M.C., Achterberg, E.P., Mowlem, M., 2008. Determination of nitrate and phosphate in seawater at nanomolar concentrations. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 27, 169-182.

- Paytan, A., Mackey, K.R.M., Chen, Y., Lima, I.D., Doney, S.C., Mahowald, N., Labiosa, R., Postf, A.F., 2009. Toxicity of atmospheric aerosols on marine phytoplankton. *proceedings of the national academy of sciences of the united states of america*, 106, 4601-4605.
- Peierls, B.L., Paerl, H.W., 1997. Bioavailability of atmospheric organic nitrogen deposition to coastal phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 42, 1819-1823.
- Pomeroy, L.R., 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. *Bioscience*, 24, 499-504.
- Proctor, L.M., Fuhrman, J.A., 1992. Mortality of marine-bacteria in response to enrichments of the virus size fraction from seawater. *Marine Ecology Progress Series*, 87, 283-293.
- Prospero, J.M., Barrett, K., Church, T., Dentener, F., Duce, R.A., Galloway, J.N., Levy, H., Moody, J., Quinn, P., 1996. Atmospheric deposition of nutrients to the North Atlantic Basin. *Biogeochemistry*, 35, 27-73.
- Prospero, J.M., Bullard, J.E., Hodgkins, R., 2012. High-Latitude Dust Over the North Atlantic: Inputs from Icelandic Proglacial Dust Storms. *Science*, 335, 1078-1082.
- Pujo-Pay, M., Conan, P., Oriol, L., Cornet-Barthaux, V., Falco, C., Ghiglione, J.F., Goyet, C., Moutin, T., Prieur, L., 2011. Integrated survey of elemental stoichiometry (C, N, P) from the western to eastern Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 8, 883-899.
- Pujo-Pay, M., Conan, P., Raimbault, P., 1997. Excretion of dissolved organic nitrogen by phytoplankton assessed by wet oxidation and N-15 tracer procedures. *Marine Ecology Progress Series*, 153, 99-111.
- Pulido-Villena, E., Baudoux, A.C., Obernosterer, I., Landa, M., Caparros, J., Catala, P., Georges, C., Harmand, J., Guieu, C., 2014. Microbial food web dynamics in response to a Saharan dust event: results from a mesocosm study in the oligotrophic Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 11, 5607-5619.

- Pulido-Villena, E., Rerolle, V., Guieu, C., 2010. Transient fertilizing effect of dust in P-deficient LNLC surface ocean. *Geophysical Research Letters*, 37, 1-5.
- Pulido-Villena, E., Wagener, T., Guieu, C., 2008. Bacterial response to dust pulses in the western Mediterranean: implications for carbon cycling in the oligotrophic ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 22, 1-5.
- Quigg, A., Finkel, Z.V., Irwin, A.J., Rosenthal, Y., Ho, T.-Y., Reinfelder, J.R., Schofield, O., Morel, F.M., Falkowski, P.G., 2003. The evolutionary inheritance of elemental stoichiometry in marine phytoplankton. *Nature*, 425, 291-294.
- Rahav, E., Paytan, A., Chien, C.-T., Ovadia, G., Katz, T., Herut, B., 2016. The impact of atmospheric dry deposition associated microbes on the Southeastern Mediterranean Sea surface water following an intense dust storm. *Frontiers in Marine Science*, 3, 127.
- Ramondenc, S., MadeleineGoutx, Lombard, F., Santinelli, C., Stemmann, L., Gorsky, G., Guidi, L., 2016. An initial carbon export assessment in the Mediterranean Sea based on drifting sediment traps and the Underwater Vision Profiler data sets. *Deep-Sea Research Part I-Oceanographic Research Papers*, 117, 107-119.
- Raven, J., Falkowski, P., 1999. Oceanic sinks for atmospheric CO₂. *Plant, Cell & Environment*, 22, 741-755.
- Rea, D.K., 1994. The paleoclimatic record provided by aeolian deposition in the deep-sea - the geologic history of wind. *Reviews of Geophysics*, 32, 159-195.
- Redfield, A.C., 1934. On the proportions of organic derivatives in a sea water and their relation to the composition of plankton. *James Johnstone memorial volume*, 177-192.
- Redfield, A.C., 1958. The biological control of chemical factors in the environment. *American scientist*, 46, 230A-221.
- Ridal, J.J., Moore, R.M., 1990. A re-examination of the measurement of dissolved organic phosphorus in seawater. *Marine Chemistry*, 29, 19-31.

- Ridame, C., Dekaezemacker, J., Guieu, C., Bonnet, S., L'Helguen, S., Malien, F., 2014. Contrasted Saharan dust events in LNLC environments: impact on nutrient dynamics and primary production. *Biogeosciences*, 11, 4783-4800.
- Ridame, C., Guieu, C., 2002. Saharan input of phosphate to the oligotrophic water of the open Western Mediterranean Sea. *Limnology and Oceanography*, 47, 856-869.
- Rimmelin, P., Moutin, T., 2005. Re-examination of the MAGIC method to determine low orthophosphate concentration in seawater. *Analytica Chimica Acta*, 548, 174-182.
- Robinson, C., 2008. Heterotrophic bacterial respiration. In: Kirchman, DLEd., Microbial ecology of the oceans. Wiley-Blackwell, New Jersey, pp. 299-334
- Ryther, J.H., 1969. Photosynthesis and fish production in the sea. *Science*, 166, 72-76.
- Ryther, J.H., Dunstan, W.M., 1971. Nitrogen, phosphorus, and eutrophication in the coastal marine environment. *Science*, 171, 1008-1013.
- Sabine, C.L., Feely, R.A., Gruber, N., Key, R.M., Lee, K., Bullister, J.L., Wanninkhof, R., Wong, C.S., Wallace, D.W.R., Tilbrook, B., Millero, F.J., Peng, T.H., Kozyr, A., Ono, T., Rios, A.F., 2004. The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science*, 305, 367-371.
- Safieddine, S.A., Heald, C.L., 2017. A global assessment of dissolved organic carbon in precipitation. *Geophysical Research Letters*. DOI: 10.1002/2017GL075270
- Sala, M.M., Peters, F., Gasol, J.M., Pedros-Alio, C., Marrase, C., Vaque, D., 2002. Seasonal and spatial variations in the nutrient limitation of bacterioplankton growth in the northwestern Mediterranean. *Aquatic Microbial Ecology*, 27, 47-56.
- Sanchez-Perez, E.D., Marín, I., Nunes, S., Aparicio, F.L., Fernández-González, L., Peters, F., Pujo-Pay, M., Conan, P., Marrasé, C., 2016. Aerosol inputs affect the optical signatures of dissolved organic matter in NW Mediterranean coastal waters. *Scientia Marina*, 80, 437-446.

- Sandberg, J., Andersson, A., Johansson, S., Wikner, J., 2004. Pelagic food web structure and carbon budget in the northern Baltic Sea: potential importance of terrigenous carbon. *Marine Ecology Progress Series*, 268, 13-29.
- Santinelli, C., 2015. DOC in the Mediterranean Sea. In: Dennis A. Hansell and Craig A. Carlson (Eds.) Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter. *Academic Press*. 579-605.
- Santinelli, C., Hansell, D. A., d'Alcala M. R., 2013. Influence of stratification on marine dissolved organic carbon (DOC) dynamics: the Mediterranean Sea case, *Prog. Oceanogr*, 119, 68–77.
- Santinelli, C., Ibello, V., Lavezza, R., Civitarese, G., Seritti, A., 2012. New insights into C, N and P stoichiometry in the Mediterranean Sea: The Adriatic Sea case. *Continental Shelf Research*, 44, 83-93.
- Sarmiento, J.L., Dunne, J., Gnanadesikan, A., Key, R.M., Matsumoto, K., Slater, R., 2002. A new estimate of the CaCO₃ to organic carbon export ratio. *Global Biogeochemical Cycles*, 16, 12.
- Sarmiento, J.L., Gruber, N., 2006. Ocean biogeochemical dynamics. *Princeton University Press*, 503 p.
- Schulz, M., Prospero, J.M., Baker, A.R., Dentener, F., Ickes, L., Liss, P.S., Mahowald, N.M., Nickovic, S., García-Pando, C.P.r., Rodríguez, S., 2012. Atmospheric transport and deposition of mineral dust to the ocean: implications for research needs. *Environmental science & technology*, 46, 10390-10404.
- Seitzinger, S.P., Sanders, R.W., 1999. Atmospheric inputs of dissolved organic nitrogen stimulate estuarine bacteria and phytoplankton. *Limnology and Oceanography*, 44, 721-730.
- Seitzinger, S.P., Sanders, R.W., Styles, R., 2002. Bioavailability of DON from natural and anthropogenic sources to estuarine plankton. *Limnology and Oceanography*, 47, 353-366.
- Sempéré, R., Dafner, E., Van Wambeke, F., Lefèvre, D., Magen, C., Allègre, S., Bruyant, F., Bianchi, M., Prieur, L., 2003. Distribution and cycling of total organic carbon

- across the Almeria Oran Front. ^[L]_{SEP}Biogeochemical implications. *Journal of Geophysical Research*, 108.
- Sempéré, R., Kawamura, K., 2003. Trans-hemispheric contribution of C₂–C₁₀ α, ω-dicarboxylic acids, and related polar compounds to water-soluble organic carbon in the western Pacific aerosols in relation to photochemical oxidation reactions. *Global Biogeochemical Cycles*, 17, 1-14.
- Sempéré, R., Panagiotopoulos, C., Lafont, R., Marroni, B., Van Wambeke, F., 2002. Total organic carbon dynamics in the Aegean Sea. *Journal of Marine Systems*, 33, 355-364.
- Sempéré, R., Tedetti, M., Panagiotopoulos, C., Charrière, B., Van Wambeke, F., 2008. Distribution and bacterial availability of dissolved neutral sugars in the South-East Pacific. *Biogeosciences Discuss.* 5, 725–750.
- Shank, G.C., Zepp, R.G., Whitehead, R.F., Moran, M.A., 2005. Variations in the spectral properties of freshwater and estuarine CDOM caused by partitioning onto river and estuarine sediments. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 65, 289-301.
- Sigman, D.M., Boyle, E.A., 2000. Glacial/interglacial variations in atmospheric carbon dioxide. *Nature*, 407, 859-869.
- Simek, K., Hornák, K., Masín, M., Christaki, U., Nedoma, J., Weinbauer, M.G., Dolan, J.R., 2003. Comparing the effects of resource enrichment and grazing on a bacterioplankton community of a meso-eutrophic reservoir. *Aquatic Microbial Ecology*, 31, 123-135.
- Sipler, R.E., Bronk, D.A. 2015. Dynamics of dissolved organic nitrogen. In: Dennis A. Hansell and Craig A. Carlson. (Eds.). *Biogeochemistry of marine dissolved organic matter*. Academic Press. 128-213.
- Skoog, A., Benner, R., 1997. Aldoses in various size fractions of marine organic matter: Implications for carbon cycling. *Limnology and Oceanography*, 42, 1803-1813.
- Slawyk, G., Raimbault, P., 1995. Simple procedure for simultaneous recovery of dissolved inorganic and organic nitrogen in n-15-tracer experiments and

- improving the isotopic mass-balance. *Marine Ecology Progress Series*, 124, 289-299.
- Smith, D.C., Azam, F., 1992. A simple economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using ^3H -leucine. *Mar. Microb. Food Webs*, 6, 107-114.
- Smith, D.C., Simon, M., Alldredge, A.L., Azam, F., 1992. Intense hydrolytic enzyme-activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution. *Nature*, 359, 139-142.
- Smith, S.V., Hollibaugh, J.T., 1993. Coastal metabolism and the oceanic organic-carbon balance. *Reviews of Geophysics*, 31, 75-89.
- Solmon, F., Chuang, P., Meskhidze, N., Chen, Y., 2009. Acidic processing of mineral dust iron by anthropogenic compounds over the north Pacific Ocean. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 114.
- Strickland, J.D., Parsons, T.R., 1972. A practical handbook of seawater analysis.
- Strom, S.L., Benner, R., Ziegler, S., Dagg, M.J., 1997. Planktonic grazers are a potentially important source of marine dissolved organic carbon. *Limnology and Oceanography*, 42, 1364-1374.
- Suttle, C.A., 1994. The significance of viruses to mortality in aquatic microbial communities. *Microbial Ecology*, 28, 237-243.
- Suzumura, M., Hashihama, F., Yamada, N., Kinouchi, S., 2012. Dissolved phosphorus pools and alkaline phosphatase activity in the euphotic zone of the western North Pacific Ocean. *Frontiers in Microbiology*, 3.
- Takahashi, T., Sutherland, S.C., Sweeney, C., Poisson, A., Metzl, N., Tilbrook, B., Bates, N., Wanninkhof, R., Feely, R.A., Sabine, C., Olafsson, J., Nojiri, Y., 2002. Global sea-air CO_2 flux based on climatological surface ocean pCO_2 and seasonal biological and temperature effects. *Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography*, 49, 1601-1622.

- Tanaka, T., Rassoulzadegan, F., Thingstad, T.F., 2003. Measurements of phosphate affinity constants and phosphorus release rates from the microbial food web in Villefranche Bay, northwestern Mediterranean. *Limnology and Oceanography*, 48, 1150-1160.
- Tanaka, T., Thingstad, T.F., Christaki, U., Colombet, J., Cornet-Barthaux, V., Courties, C., Grattepanche, J.D., Lagaria, A., Nedoma, J., Oriol, L., Psarra, S., Pujo-Pay, M., Van Wambeke, F., 2011. Lack of P-limitation of phytoplankton and heterotrophic prokaryotes in surface waters of three anticyclonic eddies in the stratified Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 8, 525-538.
- Taylor, G.T., Iturriaga, R., Sullivan, C.W., 1985. Interactions of bacterivorous, grazers and heterotrophic bacteria with dissolved organic-matter. *Marine Ecology Progress Series*, 23, 129-141.
- Ternon, E., Guieu, C., Ridame, C., L'Helguen, S., Catala, P., 2011. Longitudinal variability of the biogeochemical role of Mediterranean aerosols in the Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 8, 1067-1080.
- The MERMEX group: Durrieu de Madron, X.D., Guieu, C., Sempere, R., Conan, P., Cossa, D., D'Ortenzio, F., Estournel, C., Gazeau, F., Rabouille, C., Stemann, L., Bonnet, S., Diaz, F., Koubbi, P., Radakovitch, O., Babin, M., Baklouti, M., Bancon-Montigny, C., Belviso, S., Bensoussan, N., Bonsang, B., Bouloubassi, I., Brunet, C., Cadiou, J.F., Carlotti, F., Chami, M., Charmasson, S., Charriere, B., Dachs, J., Doxaran, D., Dutay, J.C., Elbaz-Poulichet, F., Eleaume, M., Eyrolles, F., Fernandez, C., Fowler, S., Francour, P., Gaertner, J.C., Galzin, R., Gasparini, S., Ghiglione, J.F., Gonzalez, J.L., Goyet, C., Guidi, L., Guizien, K., Heimbürger, L.E., Jacquet, S.H.M., Jeffrey, W.H., Joux, F., Le Hir, P., Leblanc, K., Lefevre, D., Lejeusne, C., Leme, R., Loye-Pilot, M.D., Mallet, M., Mejanelle, L., Melin, F., Mellon, C., Merigot, B., Merle, P.L., Migon, C., Miller, W.L., Mortier, L., Mostajir, B., Mousseau, L., Moutin, T., Para, J., Perez, T., Petrenko, A., Poggiale, J.C., Prieur, L., Pujo-Pay, M., Pulido, V., Raimbault, P., Rees, A.P., Ridame, C., Rontani, J.F., Pino, D.R., Sicre, M.A., Taillandier, V., Tamburini, C., Tanaka, T., Taupier-Letage, I., Tedetti, M., Testor, P., Thebault, H., Thouvenin, B., Touratier, F., Tronczynski, J., Ulses, C., Van Wambeke, F., Vantrepotte, V., Vaz, S., Verney, R., 2011. Marine ecosystems responses to climatic and

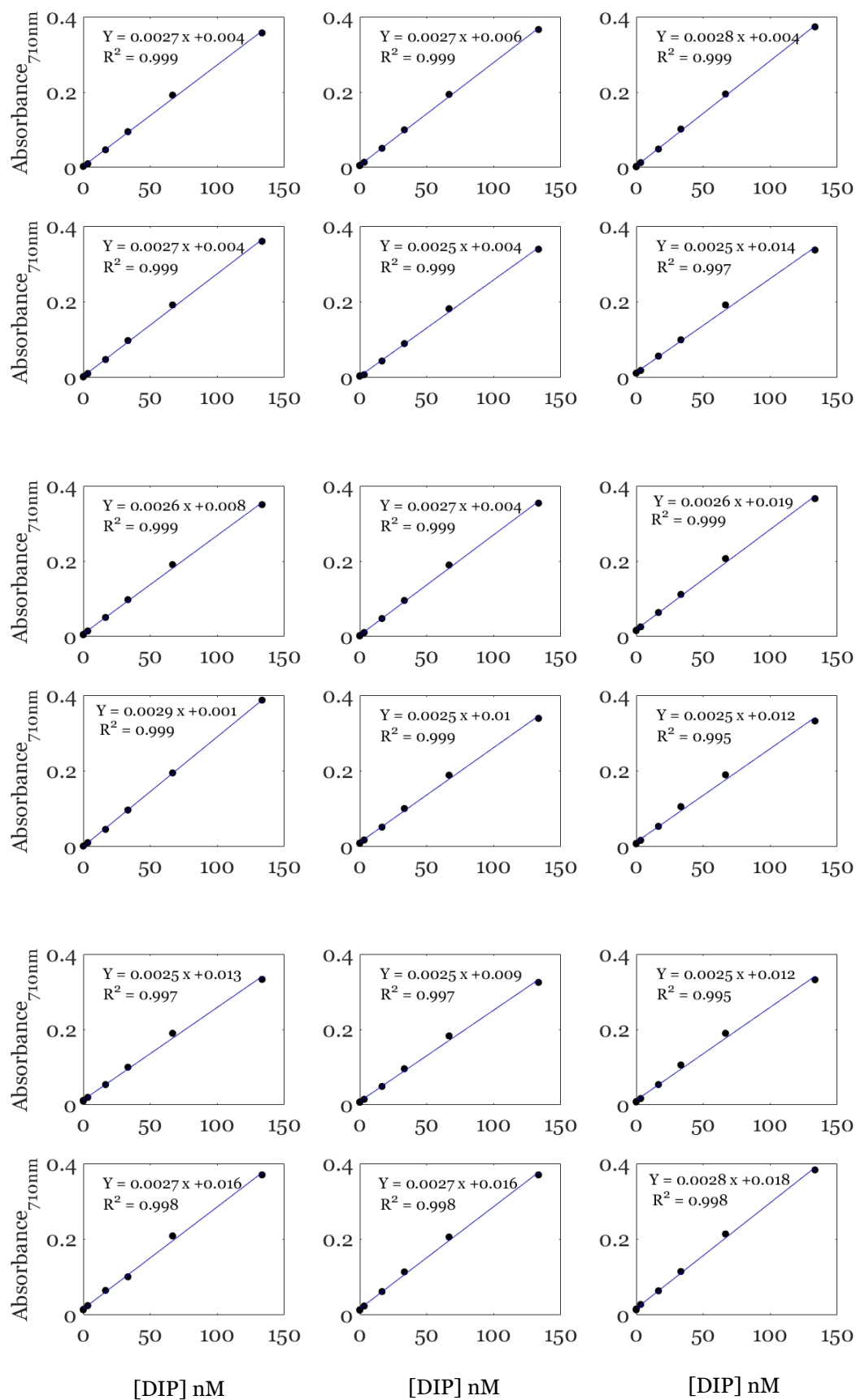
- anthropogenic forcings in the Mediterranean. *Progress in Oceanography*, 91, 97-166.
- Theodosi, C., Panagiotopoulos, C., Nouara, A., Zampas, P., Nicolaou, P., Violaki, K., Kanakidou, M., Sempéré, R., Mihalopoulos, N., 2017. Sugars in atmospheric aerosols over the Eastern Mediterranean. *Progress in Oceanography*.
- Thingstad, T. F., Zweifel, U.L., Rassoulzadegan, F., 1998. P limitation of heterotrophic bacteria and phytoplankton in the Northwest Mediterranean, *Limnology and Oceanography*, 43, 88– 94.
- Thingstad, T.F., Hagstrom, A., Rassoulzadegan, F., 1997. Accumulation of degradable DOC in surface waters: is it caused by a malfunctioning microbial loop? *Limnology and Oceanography*, 42, 398-404.
- Thingstad, T.F., Krom, M.D., Mantoura, R.F.C., Flaten, G.A.F., Groom, S., Herut, B., Kress, N., Law, C.S., Pasternak, A., Pitta, P., Psarra, S., Rassoulzadegan, F., Tanaka, T., Tselepides, A., Wassmann, P., Woodward, E.M.S., Riser, C.W., Zodiatis, G., Zohary, T., 2005. Nature of phosphorus limitation in the ultraoligotrophic eastern Mediterranean. *Science*, 309, 1068-1071.
- Thingstad, T.F., Mantoura, R.F.C., 2005. Titrating excess nitrogen content of phosphorous-deficient eastern Mediterranean surface water using alkaline phosphatase activity as a bio-indicator. *Limnology and Oceanography-Methods*, 3, 94-100.
- Thingstad, T.F., Zweifel, U.L., Rassoulzadegan, F., 1998. P limitation of heterotrophic bacteria and phytoplankton in the northwest Mediterranean. *Limnology and Oceanography*, 43, 88-94.
- Timperley, M.H., Vigorbrown, R.J., Kawashima, M., Ishigami, M., 1985. Organic nitrogen-compounds in atmospheric precipitation - their chemistry and availability to phytoplankton. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 42, 1171-1177.
- Tyrrell, T., 1999. The relative influences of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production. *Nature*, 400, 525-531.

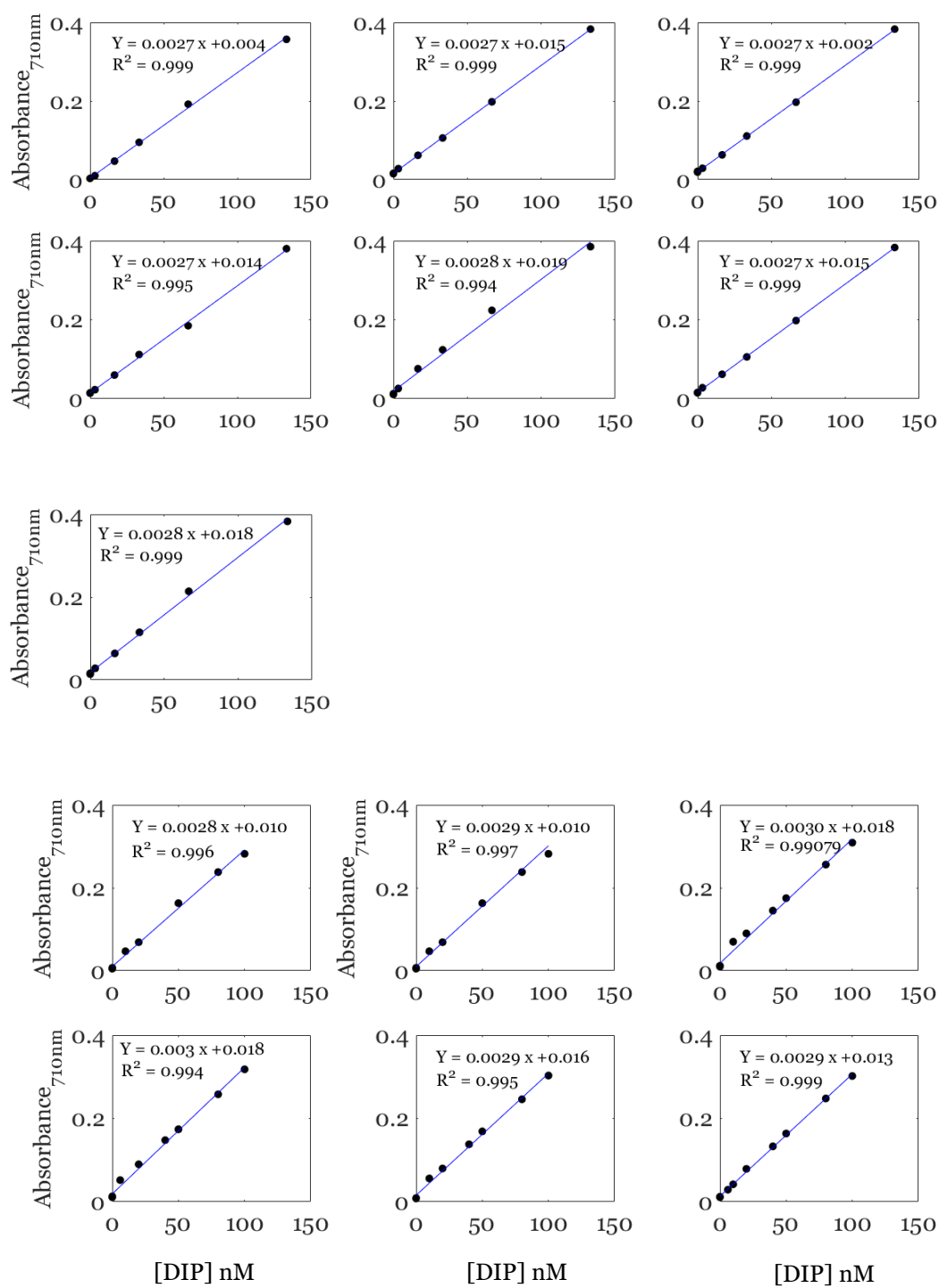
- Usher, C.R., Michel, A.E., Grassian, V.H., 2003. Reactions on mineral dust. *Chem. Rev.* 2003, 103, 4883-4939
- Van Wambeke, F., Christaki, U., Giannokourou, A., Moutin, T., Souvemerzoglou, K., 2002. Longitudinal and vertical trends of bacterial limitation by phosphorus and carbon in the Mediterranean Sea. *Microbial Ecology*, 43, 119-133.
- Van Wambeke, F., Ghiglione, J.-F., Nedoma, J., Mével, G., Raimbault, P., 2009. Bottom up effects on bacterioplankton growth and composition during summer-autumn transition in the open NW Mediterranean Sea. *Biogeosciences*, 6, 705-720.
- Vernet, M., Matrai, P.A., Andreassen, I., 1998. Synthesis of particulate and extracellular carbon by phytoplankton at the marginal ice zone in the Barents Sea. *Journal of Geophysical Research-Oceans*, 103, 1023-1037.
- Violaki, K., Bourrin, F., Aubert, D., Kouvarakis, G., Delsaut, N., Mihalopoulos, N., 2017. Organic Phosphorus in atmospheric deposition over Mediterranean Sea: An important missing piece of the P cycle. *Progress in Oceanography*.
- White, A.E., Karl, D.M., Bjorkman, K.M., Beversdorf, L.J., Letelier, R.M., 2010. Production of organic matter by *Trichodesmium* IMS101 as a function of phosphorus source. *Limnology and Oceanography*, 55, 1755-1767.
- White, A.E., Spitz, Y.H., Karl, D.M., Letelier, R.M., 2006. Flexible elemental stoichiometry in *Trichodesmium* spp. and its ecological implications. *Limnology and Oceanography*, 51, 1777-1790.
- Whitman, W.B., Coleman, D.C., Wiebe, W.J., 1998. Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 6578-6583.
- Willey, J.D., Kieber, R.J., Eyman, M.S., Avery, G.B., 2000. Rainwater dissolved organic carbon: concentrations and global flux. *Global Biogeochemical Cycles*, 14, 139-148.
- Williams, P.B., 2000. Heterotrophic bacteria and the dynamics of dissolved organic material. *Microbial ecology of the oceans*. (D.L Kirchman, Ed.). 153-200.

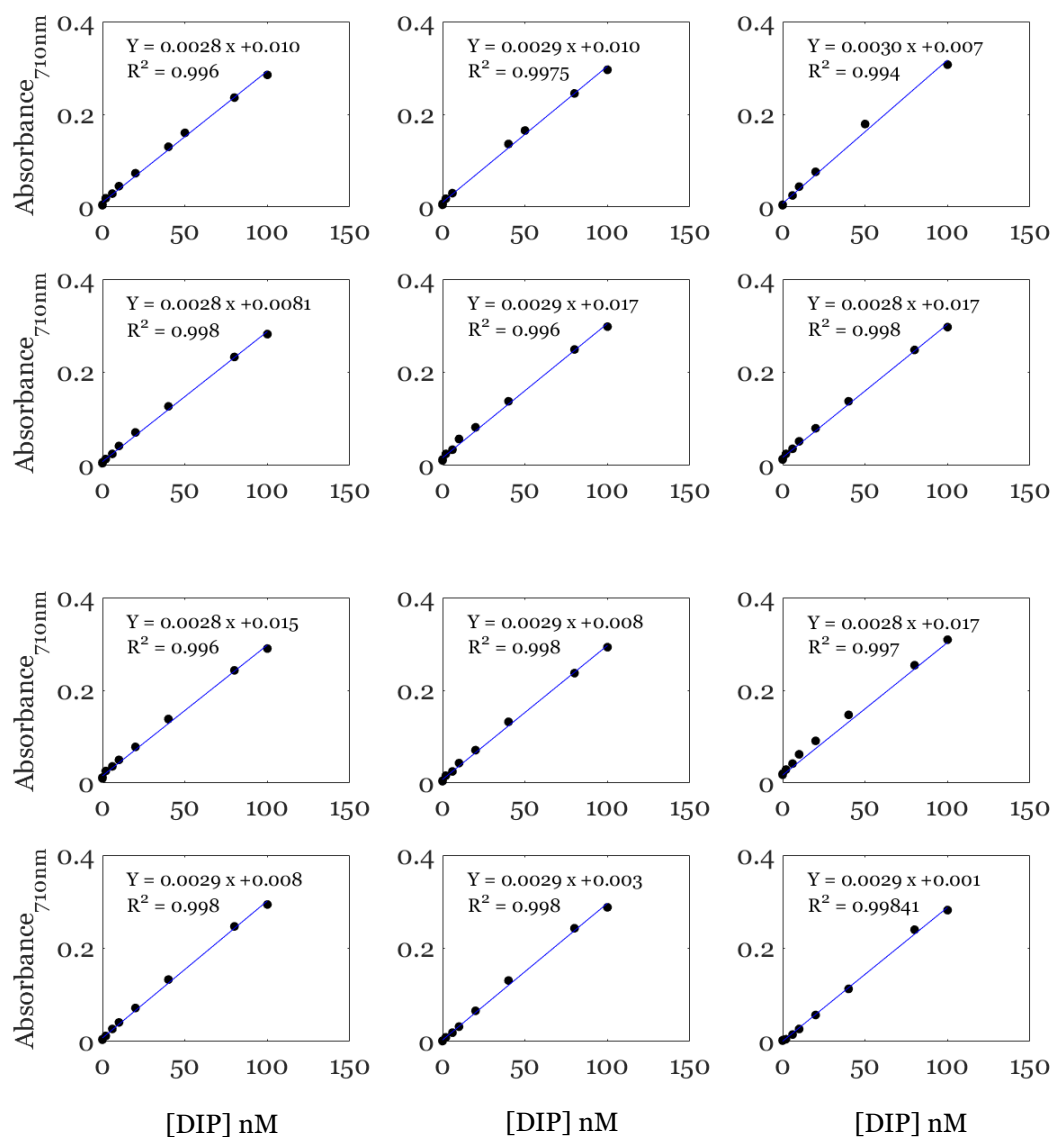
- Williams, P.J.I.B., Quay, P.D., Westberry, T.K., Behrenfeld, M.J., 2013. The oligotrophic ocean is autotrophic. *Annual Review of Marine Science*, 5, 535-549.
- Wood, E.D., Armstrong, F., Richards, F.A., 1967. Determination of nitrate in sea water by cadmium-copper reduction to nitrite. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 47, 23-31.
- Worsfold, P.J., Monbet, P., Tappin, A.D., Fitzsimons, M.F., Stiles, D.A., McKelvie, I.D., 2008. Characterisation and quantification of organic phosphorus and organic nitrogen components in aquatic systems: A Review. *Analytica Chimica Acta*, 624, 37-58.
- Wu, J.F., Sunda, W., Boyle, E.A., Karl, D.M., 2000. Phosphate depletion in the western North Atlantic Ocean. *Science*, 289, 759-762.
- Zhang, J.Z., Chi, J., 2002. Automated analysis of nano-molar concentrations of phosphate in natural waters with liquid waveguide. *Environmental science & technology*, 36, 1048-1053.
- Zhuang, G., Yi, Z., Duce, R.A., Brown, P.R., 1992. Link between iron and sulphur cycles suggested by detection of Fe (n) in remote marine aerosols. *Nature*, 355, 537.

Annexes

Annexe







Annexe.1. Figure. 1: Courbes d'étalonnage individuelles tracées dans le cadre de cette thèse, l'absorbance à 710 nm est représentée sur l'axe des ordonnées et la concentration de phosphate inorganique dissous (DIP) nano-molaire sur l'axe des abscisses.

Memories turn to dust