

Table des matières

Chapitre I : Introduction générale

1. Les cycles biogéochimiques dans l'océan.....	2
1.1. Le cycle du carbone.....	2
1.2. Le cycle de l'azote.....	5
1.3. Le cycle du phosphore.....	8
1.4. Le cycle du fer.....	10
2. Le climat et l'océan.....	14
2.1. Climat d'aujourd'hui, climat du futur	14
2.2. Zoom sur l'acidification des océans.....	17
3. La Méditerranée, une zone Low Nutrient Low Chlorophyll (LNLC) sous pressions naturelles et anthropiques.....	19
3.1. La Méditerranée, une zone LNLC.....	19
3.2. Les apports atmosphériques	22
3.3. Un bassin sous pression anthropique	26
4. Objectifs de la thèse.....	27

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Introduction	30
2. Conditions ultra-propres pour l'analyse des éléments au niveau nanomolaire.....	31
2.1. Prérequis des conditions de travail en salle blanche	31
2.2. Du prélèvement à l'échantillonnage.....	31
2.2.1. Prélèvement à l'aide de pompe à soufflet en Teflon®.....	31
2.2.2. Prélèvement à l'aide de l'IWS III « Integrating Water Sampler »	32
2.2.3. Prélèvement à l'aide de bouteilles GO-FLO.....	32
2.2.4. Filtration et échantillonnage	33
3. Simulation de forçages atmosphériques	35
3.1. Acidification de l'océan : augmentation de la pression partielle en dioxyde de carbone ($p\text{CO}_2$)	35
3.2. Ensemencement artificiel de poussière saharienne	36
3.2.1. Production d'un analogue d'aérosol saharien	36
3.2.2. Caractéristiques de l'analogue	36
3.2.3. Simulation d'un dépôt humide de poussières sahariennes.....	37

4. Méthodologie pour les expériences de simulation de forçages atmosphériques	38
4.1. En condition biotique : expériences en mésocosme (projet MedSea).....	38
4.1.1. Objectif et site d'étude	38
4.1.2. Caractéristiques et utilisation des mésocosmes	39
4.2. En condition abiotique : expériences en minicosme (projet CHIPIE)	40
4.2.1. Objectif et site d'étude	40
4.2.2. Caractéristiques du minicosme	41
4.2.3. Méthodologie de l'expérience (Figure II.13).....	42
5. Méthodes d'analyses.....	44
5.1. Analyse des éléments nutritifs sous forme inorganique dissoute.....	44
5.1.1. Analyse des phosphates (PO_4^{3-}) et des nitrates (NO_3^-)	44
5.1.2. Analyses du fer dissous (DFe)	47
5.2. Analyses de la matière organique dissoute	48
5.2.1. Analyses du phosphore et azote organique dissous	48
5.2.2. Analyse du carbone organique	49
5.3. Analyse de la matière colloïdale et particulaire	50
5.3.1. Analyse des particules exopolymériques transparentes (TEP)	50
5.3.2. Mesure de l'export de carbone.....	51

Chapitre III : Dynamique des nutriments à la suite d'un forçage atmosphérique : l'acidification des océans

1. Introduction.....	54
2. Dynamique des nutriments sous différents scénarios d'acidification de l'océan dans un système oligotrophe (projet MedSeA)	56
2.1. Résumé.....	56
2.2. Article.....	57
3. Conclusions et perspectives.....	89
3.1. Conclusions et perspectives vers des études multi-facteurs.....	89
3.2. Effet de la température et de l'acidification sur la dynamique des nutriments après un bloom printanier en baie de Villefranche sur mer	90

Chapitre IV : Dynamique des nutriments à la suite de deux forçages atmosphériques : Acidification et Evènement Saharien

1. Introduction	95
2. Le devenir des nutriments inorganiques à la suite d'un dépôt de poussières sahariennes	97
2.1. Résumé.....	97

2.2. Article.....	98
2.3. Conclusion.....	110
3. Impact de l'acidification sur la biodisponibilité des nutriments après un évènement saharien (projet CHIPIE).....	111
3.1. Résumé.....	111
3.2. Article.....	112
4. Conclusion générale.....	142

Chapitre V : Dynamique de la matière organique à la suite de deux forçages atmosphériques : Acidification et Evènement Saharien

1. Introduction	145
2. Le devenir de la matière organique après un évènement saharien sous $p\text{CO}_2$ élevée... ..	148
2.1. Résumé.....	148
2.2. Article.....	148
3. Conclusion	164

Conclusions générales et perspectives

1. Synthèse	169
1.1. Quel impact l'acidification a-t-elle sur les cycles des éléments nutritifs en Méditerranée ?	169
1.2. Quel impact l'acidification de l'océan a-t-elle sur les processus de dissolution et de scavenging des nutriments après un évènement saharien ?	170
1.3. Quel impact l'acidification de l'océan a-t-elle sur la pompe lithogénique du carbone ?	172
2. Conclusion	172
3. Perspectives	176
3.1. Vers une meilleure estimation de la biodisponibilité des nutriments atmosphériques	176
3.2. Vers une meilleure compréhension du cycle de la matière organique.....	176
3.3. Etudier la réponse de l'écosystème face au changement climatique : quelle méthode à utiliser ?	179

Bibliographie

Annexes

Liste des figures

Chapitre I : Introduction générale

Figure I.1 : Schéma de la pompe physico-chimique et biologique du carbone dans l'océan (adapté de Ducklow et al., 2001 ; Williams et Follows, 2011).....	4
Figure I.2 : Schéma du cycle de l'azote marin (adapté de Capone et al., 2008).	6
Figure I.3 : Schéma du cycle de P en milieu marin.	8
Figure I.4 : schéma simplifié du cycle du fer dans l'océan.	13
Figure I.5 : Anomalie globale de la température de surface du sol et de l'océan sur la période de 1850-2012 selon trois jeux de données (anomalie relative à la température moyenne entre 1986-2005). schéma simplifié du cycle du fer dans l'océan.	14
Figure I.6 : Forçages radiatifs ($W\ m^{-2}$) sur le système climatique des facteurs naturels et anthropiques. Source : ICPP 2007.	14
Figure I.7 : a) Evolution de la concentration des gaz à effet de serre (CO_2 , CH_4 , N_2O) depuis 1750 jusqu'à aujourd'hui. b) Contributions des différentes sources aux émissions anthropiques de CO_2 (d'après IPCC 2014).	15
Figure I.8 : Evolution de la concentration en CO_2 atmosphérique (ppm) d'après 4 modèles de prédiction (d'après Ciais et al., 2013).....	16
Figure I.9 : Evolution du pH à la surface des océans selon deux modèles de prédictions. D'après Ciais et al., 2013.....	17
Figure I.10 : Diagramme de Bjerrum concernant la contribution relative du CO_2 , HCO_3^- et CO_3^{2-} au pool de carbone inorganique dissous (DIC) dans l'eau de mer selon le pH. D'après Baker et al., 2003	18
Figure I.11 : Concentrations mensuelles de la chlorophylle a d'après les données SeaWiFS au cours de l'année 1999 (Bosc et al., 2004).....	20
Figure I.12 : Localisation du site Dyfamed a) et séries temporelles des concentrations en NO_3^- b) (d'après Bégovic et Copin-Montégut, 2002) et PO_4^{3-} c) (d'après Pulido-Villena et al., 2010) à Dyfamed.....	21

Chapitre II : Matériels et méthodes

Figure II.1 : Image des pompes en Teflon® lors d'un prélèvement dans le cadre du projet CHIPIE.....	32
Figure II.2 : Image de l'ISW III (Hydro-Bios©) pour le prélèvement automatique sur une profondeur intégrée.....	32
Figure II.3 : Images de la rosette "TMC" (gauche) et des bouteilles GO-FLO installées dans le conteneur propre à bord de l'Alatante dans le cadre de la mission OUTPACE.....	33
Figure II.4 : Images de filtration sur cartouche Sartorius™ (0,2µm) en sortie de pompe en Teflon® (à gauche) et en sortie de bouteille GO-FLO (à droite).	33
Figure II.5 : Image des cocottes de filtration sous hotte à flux laminaire lors du projet CHIPIE.....	34
Figure II.6 : système de diffusion de l'eau de mer saturée en CO ₂ dans le mésocosme dans le cadre du projet Medsea (A). Agitation horizontale par une hélice dans le minicosme (B) et saturation en CO ₂ pure d'eau de mer filtrée (C) dans le cadre du projet CHIPIE.....	35
Figure II.7 : Trajectoires des masses d'air transportant des poussières sahariennes provenant de trois régions (1, 2 et 3), entre février 1985 et avril 1986. (D'après Bergametti et al., 1989)	36
Figure II.8 : Analogue de poussières sahariennes (A). Dilution de l'analogue dans l'eau ultra pure (B), (C) et pulvérisation à la surface de minicosme (D), (E).....	37
Figure II.9 : Comparaison de la concentration en chlorophylle a (mg m ⁻³) mesurée par satellite MODIS aux deux sites d'études marquées par une étoile (baie de Calvi à gauche, baie de Villefranche sur mer à droite)	38
Figure II.10 : Vue de dessous des mesocosmes (A). Vue de dessus des mesocosmes (B).....	39
Figure II.11 : Schéma d'installation des groupes de mésocosmes (A). Vue dans la baie de Calvi (B). Vue dans la baie de Villefranche sur mer (C).....	40
Figure II.12 : Vue d'un minicosme installé en salle blanche, équipé d'un piège à sédiment et d'un système de turbulence.....	41
Figure II.13 : Méthodologie des expériences en minicosmes dans le cadre du projet CHIPIE	42
Figure II.14 : Echantillonnage et suivi automatique de différents paramètres au cours des expériences CHIPIE.....	43
Figure II.15 : Schéma d'installation des mesures discrètes par LWCC	45
Figure II.16 : principe de la réaction de Griess (modifiée d'après Chen et al., 2008).....	46
Figure II.17 : vue du digesteur UV 705 chez Metrohm	48
Figure II.18 : distribution de taille des TEP en échelle logarithmique.....	51

Chapitre III : Dynamique des nutriments à la suite d'un forçage atmosphérique : l'acidification des océans

Figure III.1 : Spéciation chimique du silicate, du phosphate, de l'ammonium et du fer (Fe III) dans l'eau de mer en fonction du pH. D'après Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001 (A) et Millero, 1998 (B).	54
Figure III.2 : Hypothèse sur les impacts de l'élévation de la $p\text{CO}_2$ en milieu marin sur le cycle de l'azote et du fer (Nitrific. : nitrification ; Fix- N_2 : diazotrophes)	55
Figure III. 3 : Evolution de la $p\text{CO}_2$ (μatm) pour les 4 traitements (C: contrôle ; OA : acidification ; OW : réchauffement ; G : acidification + réchauffement) (A) et de la température dans les deux incubateurs (modifié d'après Maugendre et al., 2014) (B) au cours de l'expérience.....	91
Figure III.4 : concentrations en phosphate (A) et NO_x (B) pour les 4 traitements (C : contrôle ; OA : ocean acidification ; OW : ocean warming ; G : greenhouse) au cours de l'expérience. Les symboles correspondent aux trois replicats pour chaque traitement. Les lignes représentent les concentrations moyennes (modifié d'après Maugendre et al., 2014).	93
Figure 1 : Evolution of the concentration in chlorophyll a (Chla) and the abundance of heterotrophic prokaryotes (hetero. prokaryotes) along the course of the experiments in the Bay of Calvi (summer 2012) and Villefranche (winter 2013) outside and inside all mesocosms. The period between day -4 and day 0 corresponds to the acidification phase.	69
Figure 2 : Evolution of the concentrations of inorganic and organic nutrients (nitrate + nitrite: NO_x , phosphate: PO_4^{3-} , dissolved organic nitrogen: DON and dissolved organic phosphorus: DOP) outside ('OUT') and inside all mesocosms along the course of the experiment in the Bay of Calvi in summer 2012.	70
Figure 3 : Evolution of the concentrations of inorganic and organic nutrients (dissolved iron: DFe, nitrate + nitrite: NO_x , phosphate: PO_4^{3-} , dissolved organic nitrogen: DON and dissolved organic phosphorus: DOP) outside ('OUT') and inside all mesocosms along the course of the experiment in the Bay of Villefranche in winter 2013. The period between day -4 and day 0 corresponds to the acidification phase.	71
Figure 4 : Box-plots of nutrient concentrations (dissolved iron: DFe, nitrate + nitrite: NO_x , phosphate: PO_4^{3-} , dissolved organic nitrogen: DON and dissolved organic phosphorus: DOP) measured during the experiments in the Bay of Calvi (BC) and in the Bay of Villefranche (BV). The statistical profile for "Control" was obtained as the daily mean value of the 3 controlmesocosms (C1, C2 and C3). The box-plot corresponds to 90% of data and the straight dark line represents the median value. The circles are the values considered statistically as outliers.....	74
Figure 5 : Relative mean deviation (MD; in %) of the concentrations of inorganic and organic nutrients as a function of delta $p\text{CO}_2$ (μatm) for each mesocosm at each time-point along the course of both experiments in the Bay of Calvi (BC) and in the Bay of Villefranche (BV). For each sampling date, the measured concentration in each perturbed mesocosm was subtracted from the arithmetic mean of concentrations in the 3 controls. The relative MD was estimated the ratio of this value to the mean concentration in the 3 control and expressed as a percentage. Delta $p\text{CO}_2$ represents the difference in $p\text{CO}_2$ level between the various treatments and the 3 controls for each time-point. Horizontal red lines correspond to the mean relative standard deviation of the 3 controls for each parameter over the duration of each experiment.....	75

Figure 6 : Average (all mesocosms) concentrations of chlorophyll *a* (Chl*a*; green line), nitrate + nitrite (NO_x; red line), phosphate (PO₄³⁻; orange line) and heterotrophic prokaryotes (hetero. prokaryotes, grey line) along the course of the both experiments in the Bay of Calvi (BC) and in the Bay of Villefranche (BV). The color areas correspond to the range from minimum to maximum of [Chl*a*], [NO_x], [PO₄³⁻] and hetero. prokaryotes measured. The period between day -4 and day 0 corresponds to the acidification phase.83

Figure 7 : Comparison of the evolution of the concentration of dissolved organic phosphorus (DOP) and the alkaline phosphate activity (APA) halfway through the experiment in the Bay of Calvi (BC). Sampling and analytical protocol for APA are described in Celussi et al. (in press, this issue).84

Figure 8 : Nitrate + nitrite ([NO_x]) vs dissolved organic nitrogen ([DON]) (a), [NO_x] vs ammonium ([NH₄⁺]) (b), and [NO_x] vs particulate organic carbon ([POC]) (c) during the experiment in the Bay of Villefranche (BV). Points represent all mesocosms data between day 3 and day 10. The red line corresponds to the linear regression between [NO_x] and [POC] ($r^2 = 0.72$, $p_{\text{value}} < 0.001$).86

Figure 9 : Box-plot of the dissolved iron concentrations ([DFe]) for all mesocosms along the course of the experiment conducted in the Bay of Villefranche in winter 2013. The red line represents the linear regression of [DFe] (without outlier values) as a function of time between day 3 and day 7 ($r^2 = 0.62$ and $p_{\text{value}} < 0.001$) (a). Regression linear between [DFe] and the concentration of chlorophyll *a* ([Chl*a*]) between day 3 and day 7 ($r^2 = 0.24$ and $p_{\text{value}} = 0.001$) (b).86

Chapitre IV : Dynamique des nutriments à la suite de deux forçages atmosphériques : Acidification et Evènement Saharien

Figure 1 : Follow-up of the seawater temperature (°C) and pH_T by Consort D230 datalogger in both minicosms. The circles represent pH_T calculated from the discrete measurements of total alkalinity (A_T) and dissolved inorganic carbon (C_T).121

Figure 2 : Evolution of the particle concentration (# mL⁻¹) and the average diameter (μm) in the minicosm non-acidified “NA” (grey line) and the minicosm acidified “A” (green line) over CHIPIE 2 and 3.122

Figure 3 : Comparison of the abundance of TEP (# mL⁻¹) at T_{initial} (mean value in both minicosms) (white bar), at T1.5 in CHIPIE 1, and T1 in CHIPIE 2 and 3 in the minicosm non-acidified “NA” (grey bar) and acidified “A” (green bar).123

Figure 4 : Evolution of the concentrations of dissolved inorganic nitrogen (NO_x = NO₂⁻ + NO₃⁻; μM) (a, b, c), phosphate (PO₄³⁻; nM) (d, e, f) and dissolved iron (DFe; nM) (g, h, i) for all CHIPIE experiments in the minicosm non-acidified “NA” (grey line) and acidified “A” (green line).126

Figure 5 : Comparison of the stock of N (NO_x + DON_{UV}; mmol m⁻²), P (PO₄³⁻ + DOP_{UV}; μmol m⁻²) and DFe (μmol m⁻²) at T_{initial} and T_{end}. By considering a dissolution percentage of 100 % and according the chemical composition in the dust analog, the dust flux of 10 g m⁻² should bring 8.2 mmol N m⁻², 0.2 mmol P m⁻² and 4.0 mmol Fe m⁻². The error bar at T_{initial} corresponds to the standard deviation on the mean stock from the samples at “C1” and “C2”. The error bar at T_{end} corresponds to the standard deviation on the mean stock from the samples at “T120” and “T144”.127

Figure 6 : Relative deviation (RD) for each paired-sample for the concentration of NO_x (a), PO_4^{3-} (b) and DFe (c) over CHIPIE 1 (orange fully circle), CHIPIE 2 (black star) and CHIPIE 3 (empty blue triangle). The analytical relative standard deviation (RSD) is of 0.1 and is represented by a dotted line.129

Figure 7 : Evolution of phosphate concentration [PO_4^{3-}] (empty circle) after reaching the maximum release in CHIPIE 3 in the non-acidified (left) and acidified (right) minicosms. The dark line corresponds to the power law model used to calculate the PO_4^{3-} loss rates by adsorption process.....137

Chapitre V : Dynamique de la matière organique à la suite de deux forçages atmosphériques : Acidification et Evènement Saharien

Figure V.1 : Image microscopique (x200) des TEP colorées au bleu d'Alcian. Exemple d'un échantillon de la rade de Villefranche sur mer le 28 janvier 2014145

Figure V.2 : Formation abiotique des TEP par assemblage et coagulation des polysaccharides exsudés par les microorganismes dans l'écosystème marin (modifié d'après Keplay, 1994 ; Verdugo et al. 2004, 2011)146

Figure V.3 : Stimulation de la formation des TEP après un évènement de poussières sahariennes. Exemples des expériences conduites en minicosmes (Louis et al. soumis) « CHIPIE 1 » et « CHIPIE 3 ».....165

Figure 1 : Abundance of transparent exopolymeric particles ([TEP] in $\# \text{ mL}^{-1}$) along the course of the three CHIPIE experiments in the two minicosms (non-acidified and acidified). "C1" and "C2" refer to samplings performed before and after acidification, respectively. The x-axis (in log-scale) represents the number of hours after the artificial dust deposition at the surface of both minicosms represented as a vertical dashed line.....157

Figure 2 : Evolution of the contribution of the particles size to the total TEP volume concentration (as in %) in percentage. The volume concentration at given size class of TEP (ppm) was standardized by the width of this size class ($\text{ppm } \mu\text{m}^{-1}$). The dark line corresponds to the evolution of the slope δ of the TEP size distribution. When δ decreases, the relative proportion (in number) of small particles increases. The x-axis, left y-axis and right y-axis represent respectively the number of hours after seeding, the equivalent spherical diameter (ESD in μm), and the slope δ . $dV/d\text{Ln}(D)$ represents the distribution of the TEP volume concentration, expressed as a percentage.....158

Figure 3 : Estimation of the organic carbon stock (in mmol C) in both minicosms in the 3 pools: dissolved and particulate organic carbon ($\text{DOC}_{\text{stock}}$ and $\text{POC}_{\text{stock}}$) and transparent expolymer particles ($\text{TEP-C}_{\text{stock}}$), while mineral particles were sinking. $\text{DOC}_{\text{stock}}$, $\text{TEP-C}_{\text{stock}}$ and $\text{POC}_{\text{stock}}$, have been estimated from the DOC concentration at the sampling "C1" ($\mu\text{mol L}^{-1}$), the carbon content in TEP at T1-1.5 and T12-14 ($\mu\text{g L}^{-1}$) and the mass of POC exported at the end of the experiments.162

Conclusions générales et perspectives

Figure 1 : Proportion du pool réfractaire (RDOM), semi-labile (SLDOM) et labile (LDOM) de la matière organique en fonction de la profondeur dans l'océan, contrôlée par la pompe microbienne de carbone (MCP). D'après Jiao et al., 2010.176

Liste des tables

Chapitre I : Introduction générale

Tableau 1 : Apports externes en N, P et Fe dans l'océan (Gmol.an^{-1}) en 1860 (préindustriel), 2000 et 2050 (prédiction). D'après Moore et al., 2013.....	7
--	---

Chapitre II : Matériels et méthodes

Tableau II.1 : composition massique (%) de fer (Fe), phosphore (P) et azote (N) dans l'analogie d'aérosol saharien avant et après le vieillissement artificielle (d'après Guieu et al., 2010b)	37
Tableau II.2 : Conditions initiales (jour 0) de la pression partielle de dioxyde de carbone (pCO_2 en μatm) et du pH à l'intérieur des 9 mésocosmes pour les deux expériences en baie de Calvi (été 2012) et baie de Villefranche sur mer (hiver 2013).	40
Tableau II.3 : Valeurs cibles et valeurs mesurées de la concentration en fer dissous dans les eaux de mer de référence	48
Tableau II.4 : pourcentage massique (%) du carbone, azote, calcium, aluminium et fer contenus dans l'analogie de poussières sahariennes évapocondensées	52

Chapitre III : Dynamique des nutriments à la suite d'un forçage atmosphérique : l'acidification des océans

Table 1 : Initial (day 0) pCO_2 (μatm) and pH_T (total scale) conditions inside the nine mesocosms during the experiments in the Bay of Calvi in summer 2012 and in the Bay of Villefranche in winter 2013.	67
Table 2 : Initial (day 0) nutrients (dissolved iron: DFe, nitrate + nitrite: NO_x , phosphate: PO_4^{3-} , dissolved organic nitrogen: DON and dissolved organic phosphorus: DOP) and chlorophyll a (Chla) concentrations inside the 3 'control' mesocosms (average and standard deviation calculated from the three independent measurements) for the Bay of Calvi (BC) and the Bay of Villefranche (BV) experiments. (*) When data on day 0 were not available, values have been measured on day 1.	68
Table 3 : Nitrate + nitrite (NO_x), phosphate (PO_4^{3-}), dissolved organic and total nitrogen (DON and TDN, respectively) and dissolved organic and total phosphorus (DOP and TDP, respectively) concentrations and their ratio reported in the literature for the Mediterranean Sea. Values measured in this study correspond to data outside mesocosms at the beginning of both experiments. Several methods were used to DOP and DON: a) photo-oxidation UV; b) high temperature combustion; c) persulfate wet oxidation; d) UV-peroxide oxidation.	80

Chapitre IV : Dynamique des nutriments à la suite de deux forçages atmosphériques : Acidification et Evènement Saharien

Table 1 : In situ conditions when collecting large volume of seawater at 5 m depth: heterotrophic prokaryotes abundance (unfiltered sample measured by flow cytometry), chlorophyll a concentration [Chla] (analyzed by HPLC), and nutrient concentrations (filtered sample: dissolved iron [DFe], nitrate + nitrite [NO_x], phosphate [PO₄³⁻]) for the three CHIPIE experiments. a: data from SOMLIT (<http://somlit.epoc.u-bordeaux1.fr/fr/>); b: [Chla] value linearly interpolated based on concentrations measured on September 24th 2013 ([Chla] = 0.12 µg L⁻¹) and October 8th 2013 ([Chla] = 0.18 µg L⁻¹).120

Table 2 : Average diameter (µm) of transparent exopolymeric particles (TEP) in both minicosms (NA for non-acidified and A for acidified) at T1.5 for CHIPIE 1, and at T1 for CHIPIE 2 and 3.123

Table 3 : Statistical results (p_{value}) of the Wilcoxon paired-sample test (bilateral) and Spearman paired-sample test for concentrations of dissolved iron (DFe), dissolved inorganic nitrogen and phosphate (NO_x and PO₄³⁻, respectively), measured in the two minicosms after seeding. Significant effects of pCO₂ were considered for a p_{value} < 0.05, and marked with “*”.128

Chapitre V : Dynamique de la matière organique à la suite de deux forçages atmosphériques : Acidification et Evènement Saharien

Table 1 : Initial conditions (before filtration noted “In situ”, and after filtration noted “C1”) of heterotrophic prokaryotes abundance (measured by flow cytometry), chlorophyll a concentration [Chla], transparent exopolymeric particles concentration [TEP] and dissolved organic carbon concentration [DOC] for the three CHIPIE experiments. “NA” and “A” correspond to the minicosms non-acidified and acidified respectively. ^a: data from SOMLIT; ^b: [Chla] linearly interpolated between September 24th, 2013 ([Chla] = 0.12 µg L⁻¹) and October 8th, 2013 ([Chla] = 0.18 µg L⁻¹).154

Table 2 : Statistical results (p_{value}) of the Wilcoxon paired-sample test for several parameters: dissolved organic carbon (DOC), the slope δ of transparent exopolymeric particles (TEP) size distribution, the TEP abundance, and the contribution (as a %) of particles of different range size (< 6 µm, 6-24 µm and ≥ 24 µm). n = number of observations. Significant effects are marked with “*” (p_{value} < 0.05).155

Liste des abréviations

« **A** » : acidifié – acidified

« **NA** » : non acidifié – non acidified

APA : activité de l'alcaline phosphatase – alkaline phosphatase activity

BC : baie de Calvi – bay of Calvi

BV : baie de Villefranche – bay of Villefranche

DFe : fer dissous – dissolved iron

DIN : azote inorganique dissous – dissolved inorganic nitrogen

DIP : phosphore inorganique dissous – dissolved inorganic phosphorus

DOC : carbone organique dissous – dissolved organic carbon

DOM : matière organique dissoute – dissolved organic matter

DON : azote organique dissous – dissolved organic nitrogen

DOP : phosphore organique dissous – dissolved organic phosphorus

FIA : analyse par injection en flux continu – flow injection analysis

HDPE : polyéthylène à haute densité – high density polyethylene

HMW : haut poids moléculaire – high molecular weight

HNLC : high nutrient low chlorophyll

LMW : faible poids moléculaire – low molecular weight

LNLC : low nutrient low chlorophyll

LWCC : liquid waveguide capillary cell

MD : mean deviation

NPP : production primaire nouvelle – new primary production

OA : ocean acidification

OM : matière organique – organic matter

OW : ocean warming

PIC : carbone inorganique particulaire – particulate inorganic carbon

POC : carbone organique particulaire – particulate organic carbon

PON : azote organique particulaire – particulate organic nitrogen

POP : phosphore organique particulaire – particulate organic phosphorus

PP : primary production

RD / RSD : relative deviation / relative standard deviation

TDN : azote total dissous – total dissolved nitrogen

TDP : phosphore total dissous – total dissolved phosphorus

TEP : particules exopolymériques transparentes – transparent exopolymeric transparent

Cette thèse a été financée par

l'Université Pierre et Marie Curie

Les travaux présentés dans cette thèse font partie intégrante des projets

MedSea (EC FP7)

CHPIE-EMERGENCE-UPMC

CHPIE-MISTRALS-MERMEX

Les cycles biogéochimiques océaniques

« The Big Beaker »

Vus par le Professeur Conrad Neumann (Université de Caroline du Nord)



Chapitre I

Introduction générale

*«La Méditerranée, un « hot spot » du
changement climatique »*

1. Les cycles biogéochimiques dans l'océan

- 1.1. Le cycle du carbone
- 1.2. Le cycle de l'azote
- 1.3. Le cycle du phosphore
- 1.4. Le cycle du fer

2. Le climat et l'océan

- 2.1. Climat d'aujourd'hui, climat du futur
- 2.2. Zoom sur l'acidification des océans

3. La Méditerranée, une zone LNLC sous pressions naturelles et anthropiques

- 3.1. La Méditerranée, une zone LNLC
- 3.2. Les apports atmosphériques
- 3.3. Un bassin sous pression anthropique

*«La considération de plusieurs forçages
sur les cycles biogéochimiques est
indispensable pour une meilleure vision
de l'océan et climat du futur. »*

Préambule

Dans le cadre de cette thèse, nous nous sommes focalisés sur le comportement des éléments d'intérêt biogéochimique, essentiels pour le fonctionnement de l'écosystème marin, face à des pressions naturelles et anthropiques. Environ 95 % de la matière organique est constituée de carbone (C), d'hydrogène (H), d'azote (N), de phosphore (P), d'oxygène (O) et de soufre (S). En complément, les microorganismes marins ont besoin d'ions inorganiques (Ca^{2+} , K^+ , Na^+) et de métaux traces (Fe, Mg, Co, Zn, Cu).

Les travaux réalisés au cours de cette thèse se sont portés plus particulièrement sur la dynamique de C, N, P et Fe, dont leurs cycles sont exposés préalablement lors de la première section de ce chapitre d'introduction générale. L'azote (N), le phosphore (P) et le fer (Fe) sont des éléments nutritifs pour les microorganismes marins, et leurs spéciations physico-chimiques ainsi que leurs abondances affectent la structure des communautés planctoniques et le cycle du carbone contrôlé en partie par la pompe biologique (section 1). **Une modification de la biodisponibilité des nutriments conduirait ainsi à une altération de la pompe biologique du carbone océanique, et *in fine* à une rétroaction sur le climat (via un changement de la concentration atmosphérique en dioxyde de carbone).**

Depuis l'ère industrielle, l'augmentation des émissions anthropiques en dioxyde de carbone (CO_2), autrement dit le changement climatique (section 2), a conduit à l'altération de multiples facteurs environnementaux tels que la température et le pH des océans. Ces changements environnementaux pourraient affecter la spéciation des nutriments, mais également leur assimilation, contrôlée par le statut physiologique et la nature de la communauté planctonique, et leur injection dans la zone euphotique via des processus physiques. Dans les zones où la productivité océanique est limitée par un ou plusieurs nutriments, les apports externes en nutriments jouent un rôle primordial. Dans un contexte de changement climatique, ces apports (atmosphériques et fluviaux) d'origine anthropique augmenteraient. Malgré le fait que l'intensification des événements de poussières atmosphériques dans le climat du futur n'a pas été établie, l'augmentation des dépôts de poussières observée au cours du siècle dernier impliquerait une augmentation des flux atmosphériques des nutriments d'origine crustale.

Afin d'étudier le comportement de C, N, P et Fe dans un contexte de changement climatique, les travaux présentés dans ce manuscrit ont été réalisés dans un environnement assimilable à un modèle de l'océan mondial et particulièrement soumis aux pressions naturelles et anthropiques : la Méditerranée. Cette région dite Low Nutrient Low Chlorophyll (LNLC) est une de celles les plus impactées par l'acidification de l'océan et recevant d'importants flux de poussières atmosphériques. Les caractéristiques du bassin méditerranéen sont détaillées dans la section 3 du présent chapitre.

1. Les cycles biogéochimiques dans l'océan

1.1. Le cycle du carbone

A l'échelle mondiale, l'océan est actuellement un puits de dioxyde de carbone (CO_2) atmosphérique, avec un flux global annuel net de l'atmosphère vers l'océan estimé à $-1,7$ gigatonnes an^{-1} (Gt an^{-1} ; Bigg, 2003 ; chapitre 3).

Flux de CO_2 à l'interface air-mer

Par convention, le flux net de CO_2 vers l'océan est exprimé en valeur négative, par l'équation suivante :

$$F = k \times K_o \times (p\text{CO}_{2w} - p\text{CO}_{2a})$$

avec k : la vitesse de transfert du gaz à l'interface air – mer ; K_o : la solubilité du CO_2 ; $p\text{CO}_{2w}$: la pression partielle en CO_2 à la surface de l'eau ; $p\text{CO}_{2a}$: la pression partielle en CO_2 dans l'air.

Wanninkhof et al., 2013

Les réservoirs de carbone de l'atmosphère et de l'océan échangent du CO_2 à l'interface air-eau, ces échanges étant contrôlés par des processus physico-chimiques et biologiques (Figure I.1). Les eaux froides aux hautes latitudes permettent une meilleure solubilité du CO_2 atmosphérique. La plongée de ces eaux en profondeur (convection) isole le CO_2 de l'atmosphère jusqu'à leur remontée en surface (upwelling) dans des zones plus chaudes favorisant le dégazage du CO_2 . C'est ce que l'on appelle la pompe physique ou pompe de solubilité. En complément, le CO_2 atmosphérique est extrait via l'activité photosynthétique du phytoplancton dans la zone euphotique de l'océan et converti en carbone organique particulaire (POC). Cette production de matière organique (50 Gt an^{-1} ; Fiel et al., 1998) est appelée la production primaire qui devient la base de la chaîne alimentaire marine. Comme l'a mentionné Falkowski (2012), le phytoplancton est moins visible que les arbres et plantes que nous observons durant notre vie quotidienne, mais son influence sur le cycle du carbone à

l'échelle planétaire ne doit pas être sous-évalué. L'activité phytoplanctonique contribue en effet à environ à la moitié de la production primaire totale mondiale.

Seulement 1-2 % du POC de la couche de surface est exporté dans les eaux profondes (Poulton et al., 2006) et potentiellement séquestré dans les sédiments. Le carbone fixé par le phytoplancton est soit transféré à des niveaux trophiques supérieurs (zooplancton), soit converti en débris organiques particulaires et dissous qui seront consommés par la suite par le zooplancton et les microorganismes hétérotrophes et minéralisés en CO_2 dans la zone euphotique. La fraction de matière organique exportée subit, à son tour, différentes transformations (dégradation bactérienne, respiration). L'ensemble de ces processus contrôle le cycle du carbone dans l'océan, et est appelé la pompe biologique. Alors que la pompe de solubilité du CO_2 ne permet qu'une faible augmentation de la concentration en carbone inorganique dissous (DIC) avec la profondeur, la pompe biologique, quant à elle, est responsable en majeure partie du gradient vertical de la distribution du DIC dans l'océan (Passow and Carlson, 2012). Ce gradient est contrôlé par 1) l'absorption biologique du CO_2 , 2) le flux vertical de la matière particulaire produite, et 3) la dégradation de ces particules lors de leur sédimentation.

Malgré le fait que la pompe biologique ne permet pas de séquestrer le carbone anthropique sur des échelles de temps décennale et séculaire, son absence impliquerait une augmentation de la concentration en CO_2 atmosphérique de 200 à 300 ppm (Heinze et al., 2015). L'intensité de la pompe biologique est fortement liée à la production primaire qui est elle-même contrôlée par différents facteurs : la température, la lumière et la biodisponibilité des nutriments. **L'azote (N), le phosphore (P) et le fer (Fe) et d'autres métaux sont des éléments nutritifs pour les microorganismes marins et leurs spéciations physico-chimiques ainsi que leurs abondances affectent la structure des communautés planctoniques et le cycle du carbone.**

1.2. Le cycle de l'azote

L'azote en milieu marin peut se trouver sous différentes formes. On distingue le DIN (azote inorganique dissous), le DON (azote organique dissous) et le PON (azote organique particulaire). Le DIN est composé de nitrate (NO_3^-), nitrite (NO_2^-), ammonium (NH_4^+) et diazote (N_2). La production primaire est alimentée par le DIN, et les variations d'abondance, de distribution et de temps de résidence de ces composés azotés affectent leur biodisponibilité. Introduit par Dugdale et Goering (1967), le modèle de production nouvelle et régénérée était basé sur les deux formes azotées, NO_3^- et NH_4^+ , dont leur contribution était considérée comme dominante dans la production primaire à l'échelle de l'océan global. Les formes NO_2^- avec des faibles concentrations et N_2 biologiquement inerte, supposaient être faiblement biodisponibles pour le phytoplancton. Alors que NO_3^- alimentait la production nouvelle, on considérait NH_4^+ comme la source principale d'azote régénéré. L'injection de NO_3^- dans la zone euphotique est contrôlée par les apports atmosphériques et fluviaux et les remontées d'eaux profondes riches en NO_3^- produit par nitrification (Figure I.2).

Concept de la production nouvelle et régénérée

- production nouvelle : production primaire alimentée par des apports d'azote extérieurs à la zone euphotique, *via* les apports atmosphériques et fluviaux, le mélange vertical.
- production régénérée : production primaire alimentée par le recyclage interne de l'azote dans la zone euphotique, *via* la reminéralisation de la matière organique, les composés excrétés.

Au cours des deux dernières décennies, la vision du cycle de l'azote en milieu marin s'est élargie (Figure I.2), et la production primaire basée sur la fixation du N_2 et l'absorption du DON a été reconnue. Dans les environnements oligotrophes, la fixation d'azote soutient jusqu'à 50 % de la production primaire nouvelle (Capone et al., 2005 ; Bonnet et al., 2009 ; Bonnet et al., 2015). Alors que le pool de DON semblait être uniquement utilisable par les bactéries hétérotrophes, il est désormais considéré qu'une fraction labile du DON, composée entre autres d'urée et d'acides aminés, peut être une source importante pour les autotrophes (Bronk et al., 2007).

En complément de la fixation du N_2 atmosphérique, les dépôts atmosphériques et les apports par les fleuves sont considérés comme des sources externes majeures d'azote pour l'océan global. Les apports fluviaux en azote sont estimés à $\sim 29 \text{ Tg N.an}^{-1}$ (Seitzinger et al., 2010 ; Tableau I.1). Duce et al. 2008 ses collaborateurs soulignent l'importance des apports atmosphériques d'azote anthropique (NO_x et NH_3) dans l'océan mondial. Entre 1860 et 2000, les dépôts atmosphériques en azote ont triplé (aujourd'hui $\sim 67 \text{ Tg N.an}^{-1}$) dont 80 % sont d'origine anthropique avec une accentuation pour les années à venir liée à une augmentation des émissions d'azote anthropique (4 fois plus élevée en 2030 selon des estimations). En considérant une assimilation biologique totale de cet azote nouveau, les dépôts atmosphériques d'azote anthropique actuels pourraient soutenir plus de 3 % de la production nouvelle dans l'océan mondial, et jusqu'à 20 % dans les régions où l'apport en azote par l'upwelling¹ est limité.

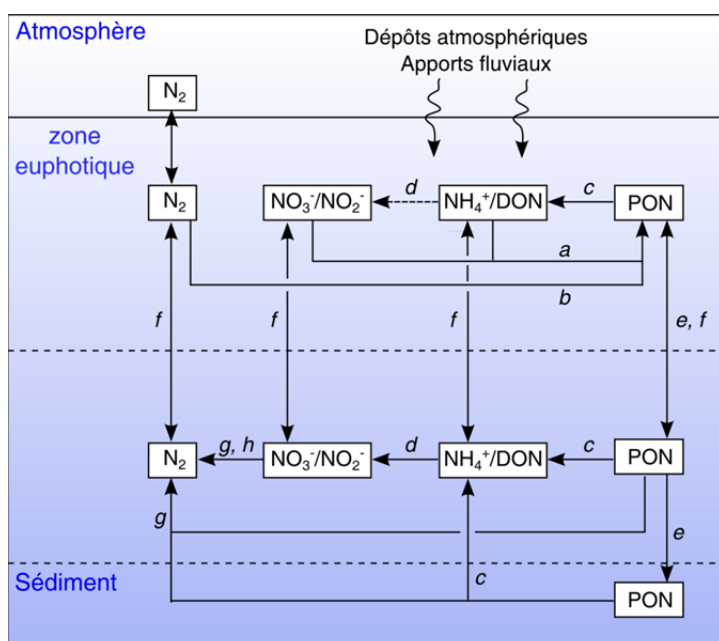
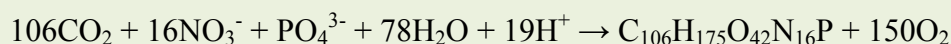


Figure I.2 : Schéma du cycle de l'azote marin (adapté de Capone et al., 2008). Par absorption (a) des formes azotées dissoutes (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ et DON) par le phytoplancton et fixation du N_2 (b) par les diazotrophes, l'azote est sous forme organique particulaire (PON) à travers la chaîne trophique. Une fraction du PON est exportée vers les eaux profondes (e), tandis que le reste est régénéré en DON et NH_4^+ (c) via l'excrétion, l'exsudation et l'ammonification de la matière détritique par les microorganismes. Grâce à des bactéries chimioautotrophes, NO_3^- est régénéré via la nitrification (d) de NH_4^+ et NO_2^- . Ce processus est sensible à la lumière et peut être inhibé dans les eaux de surface. Dans un milieu anaérobie, l'oxydation de NH_4^+ avec NO_2^- (anammox) (h) par les bactéries chimioautotrophes, et la dénitrification de la matière organique avec NO_3^- comme oxydant par les bactéries hétérotrophes (g) forment du N_2 . Le cycle de l'azote est également contrôlé par le transport physique (f) via la convection, l'upwelling, la diffusion.

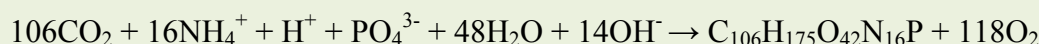
¹ L'upwelling : remontée des eaux profondes

Photosynthèse

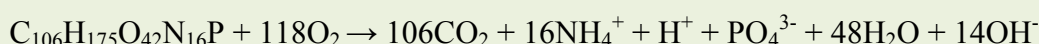
- Assimilation NO_3^- :



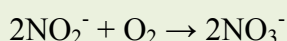
- Assimilation NH_4^+ :



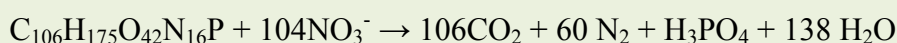
Ammonification



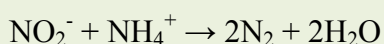
Nitrification



Dénitrification



Anammox



Fixation N_2



	Date	Fluvial	Atmospheric	Glacial	Totals as percentage of annual ^a		
					Primary production (%)	Export production (%)	Total inventory (%)
Total N	~1860	1,000 ^b (ref. 79)	1,000 (ref. 12)	11 (refs 96,97)	0.3	1.5	0.005
	2000	2,100 ^b (ref. 79)	4,800 (ref. 12)	11 (ref. 96)	1.2	5.3	0.017
	2050	2,300 ^b (ref. 79)	5,500 (ref. 12)	11 (ref. 96)	1.3	5.9	0.019
Total P	~1860	23 ^b (ref. 79)	16 ^c	48 (ref. 98)	0.2	1.1	0.003
	2000	65 ^b (ref. 79)	21 ^c	48 (ref. 98)	0.4	1.6	0.005
	2050	87 ^b (ref. 79)	21 ^c	48 (ref. 98)	0.4	1.9	0.006
Dissolved Fe^d	~1860	2 ^d (ref. 96)	4.3 ^c	0.02 ^d (ref. 81)	2	10	0.8
	2000	2 ^d (ref. 96)	9.3 ^c	0.02 ^d (ref. 81)	4	20	1.5
	2050	2 ^d (ref. 96)	8.8 ^c	0.02 ^d (ref. 81)	4	20	1.4
N:P	~1860	44:1	62:1	0.2:1			
	2000	33:1	228:1	0.2:1			
	2050	26:1	258:1	0.2:1			
		Total inputs	Mean biological				
N:P	~1860	23:1	16:1				
	2000	52:1					
	2050	50:1					

^aPrimary and export production are around 4.2 and 0.9 Pmol C yr⁻¹ respectively²². Percentages of upper-ocean productivity supported by external nutrient inputs are calculated by scaling to representative biological ratios (Fig. 1), with estimates for iron in particular considered to be order of magnitude at best, owing to known stoichiometric plasticity (Fig. 1). Cumulative anthropogenic inputs over century timescales are thus potentially equivalent in magnitude to 100%, 1-2% and <0.5% of the oceanic iron, nitrogen and phosphorus inventories, respectively.

^bDissolved only. Particulate nitrogen and phosphorus (respectively estimated to be 960 and 210 Gmol yr⁻¹ in 2000) are likely to be trapped in the near-coastal zone. Total nitrogen and phosphorus analysis for 1860 is based on reanalysis of output from ref. 79 (Seltzinger, S. P., personal communication).

^cSee Supplementary Information.

^dOwing to uncertainty over the bioavailability of particulate iron^{81,82,84}, we primarily consider dissolved inputs. For all glacial flows we assume no change in water flows, which in reality are likely to increase with future warming. Total (reactive particulate and dissolved) inputs are much higher, but most of the fluvial particulate iron input of around 627 Gmol yr⁻¹ is probably trapped on the shelf⁸², although much of the glacial reactive particulate Fe supply of 140 Gmol yr⁻¹ may reach the ocean⁸⁶. We do not attempt to estimate the magnitude of potential changes in other dissolved iron inputs to the water column⁸⁶, including increases in the important sedimentary source as a result of decreasing oxygen levels^{84,85}. Iceberg-associated fluxes are also an important contributor, particularly in the Southern Ocean⁸⁶.

Tableau I.1 : Apports externes en N, P et Fe dans l'océan (Gmol.an⁻¹) en 1860 (préindustriel), 2000 et 2050 (prédiction). D'après Moore et al., 2013.

1.3. Le cycle du phosphore

Le phosphore dans l'océan existe dans le pool particulaire et dissous. Dans chacune des deux fractions, P peut être sous forme inorganique et organique. Contrairement aux autres éléments biogéochimiques composant l'essentiel de la matière vivante (C, N, S, O, H), les réactions d'oxydo-réduction jouent un rôle très mineur dans le cycle de P, et sa forme dissoute inorganique (DIP) est majoritairement à l'état d'oxydation V (Jahnke, 1992). **Ainsi pour désigner le DIP, nous utiliserons la forme phosphate (PO_4^{3-}) dans le cycle de P (Figure I.3) et dans la suite du manuscrit.**

Le cycle de P est régi par des processus abiotiques et biotiques (Alongi et al., 1992). Tandis que le PO_4^{3-} est facilement assimilé par le phytoplancton, la matière organique phosphorée peut être hydrolysée par des enzymes synthétisées par les bactéries et le phytoplancton (e.g. la phosphatase alcaline), et assimilée ultérieurement (Paytan et McLaughlin, 2007). Le phosphore dissous est donc converti en phosphore organique particulaire (POP). A travers la précipitation et l'adsorption sur les particules argileuses riches en oxyde de fer et manganèse, PO_4^{3-} peut être immobilisé sous forme particulaire appelé le PIP (phosphore inorganique particulaire ; Alongi et al., 1992). La sédimentation du phosphore particulaire participe ainsi à l'export de P de la colonne d'eau. Néanmoins, un faible pourcentage de P est séquestré dans les sédiments (moins de 1 % ; Benitez-Nelson, 2000) dû à la régénération de PO_4^{3-} dans la colonne d'eau via sa dissolution/désorption sur la matière particulaire et l'hydrolyse de la matière organique dans la colonne d'eau.

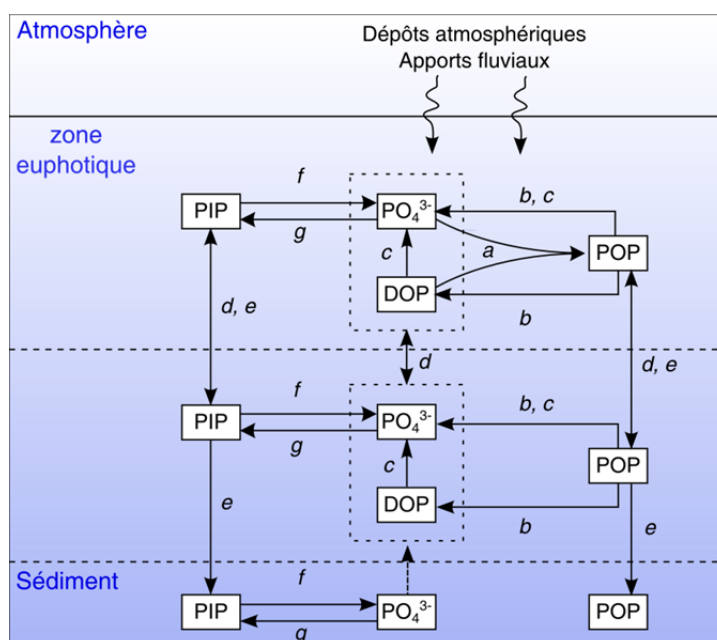


Figure I.3 : Schéma du cycle de P en milieu marin. D'origine naturelle et anthropique, les apports fluviaux et atmosphériques sont une source de P pour l'océan. Le phosphore dissous (PO_4^{3-} et DON) est absorbé par le phytoplancton dans la zone euphotique (a). Dans la colonne d'eau, PO_4^{3-} et DON sont régénérés via l'excrétion / exsudation (b) par les organismes, et l'hydrolyse des composés organiques (c). Par voie abiotique, le phosphore inorganique est transféré du pool dissous vers le pool particulaire, et inversement, via la désorption / dissolution (f) et l'adsorption / précipitation (g) selon les conditions oxydantes et de salinité. La distribution verticale de P est également contrôlée par le transport physique : sédimentation (e), convection / upwelling / diffusion (d).

A ce jour dans la communauté océanographique, un débat persiste concernant l'élément nutritif dit limitant pour la production primaire à l'échelle de l'océan global. Les concentrations en phosphore et azote inorganique dans les eaux de surface sont largement appauvries dans la plupart des océans à faibles latitudes (Moore et al., 2013). Du point de vue des géochimistes, la production primaire serait limitée par la biodisponibilité en P (suite aux mesures des rapports atomiques C:N:P du plancton et de l'eau de mer), alors qu'elle serait limitée par N selon les biologistes (selon des expériences d'enrichissement de culture de phytoplancton) (Karl et al., 2014). D'après le model de Tyrrell (1999), P serait le facteur limitant ultime de la production océanique à une échelle de temps géologique, alors qu'à une échelle de temps beaucoup plus courte, N serait le facteur limitant comme défini par la loi du minimum de Liebig². Le concept de co-limitation est également établi lorsque deux ou plusieurs nutriments limitent simultanément, ou de manière dépendante, la productivité océanique. Ce serait notamment le cas en Méditerranée et en Atlantique nord subtropical (zones oligotrophes) avec une productivité co-limitée par N et P, particulièrement lors de la période de stratification (Moore et al., 2003). Finalement, le cycle de P est fortement lié à celui de N. La fixation du N₂ par les diazotrophes peut 1) être limitée par des faibles concentrations en P en complément de la température et du fer, et 2) engendrer une limitation en P (Moutin et al., 2008).

Les apports fluviaux et atmosphériques sont considérés comme les principales sources externes de P à l'océan, alors que les sédiments représentent un puit dans le cycle océanique de P (Ni et al., 2015). Globalement, les rivières apportent aux eaux côtières une plus grande quantité de P (11 Tg.an⁻¹) que les dépôts atmosphériques. Néanmoins, on estime qu'environ ¼ du phosphore biodisponible pour les microorganismes apporté par les rivières, serait piégé dans les estuaires (*e.g.* Paytan and McLaughlin, 2007 ; Mahowald et al., 2008). Ainsi les apports atmosphériques auraient une significativité plus importante pour l'océan ouvert, et particulièrement dans les eaux oligotrophes.

² Loi du minimum de Liebig : La loi du minimum ou loi des facteurs limitants est un principe clef en agronomie. Cette loi établit qu'un nutriment dit limitant est un nutriment dont l'absence ou la faible concentration empêche la croissance d'une population ou d'un organisme malgré une forte abondance des autres éléments nutritifs.

Contrairement au carbone et à l'azote, le phosphore ne présente pas de forme stable à l'état gazeux dans l'atmosphère ; le phosphore atmosphérique est ainsi limité aux aérosols. La biodisponibilité du P atmosphérique pour les microorganismes marins dépend essentiellement de sa fraction soluble issue de l'aérosol, variant selon le type d'aérosol considéré. Selon l'étude de Mahowald et al., (2008), les émissions de poussières sont la source dominante de P atmosphérique à l'échelle planétaire (82 %). Dans les régions peu soumises aux émissions de poussières atmosphériques, d'autres sources naturelles en P peuvent dominer telles que les embruns marins et les cendres volcaniques (70 % dans les régions de l'océan Austral et Pacifique). Sur l'ensemble du globe, les émissions anthropiques contribuent à 10-50 % de la concentration en P atmosphérique, et peuvent excéder 50 % dans les régions industrialisées et soumises aux émissions de combustion de biomasse.

1.4. Le cycle du fer

Au-delà de la limitation de la production phytoplanctonique par la biodisponibilité des macro-nutriments (N et P), la communauté scientifique s'est intéressée au rôle du fer dans la production primaire. Ces études ont été particulièrement nombreuses dans les zones que l'on appelle HNLC³, domaines caractérisés par de faible biomasse phytoplanctonique malgré de fortes concentrations en macro-nutriments. Au cours de ces vingt dernières années, des expériences de fertilisation en fer dans ces régions HNLC ont permis de démontrer l'importance du fer en tant que micronutriment pour la production primaire. Un enrichissement des eaux de surface en fer a conduit à une augmentation de la concentration en chlorophylle *a* et à une consommation des macro-nutriments, et une diminution de la concentration en CO₂ atmosphérique (e.g. Martin et al., 1994 ; Coale et al., 1996 ; Cooper et al., 1996 ; Boyd et al., 2000). Les réponses à ces fertilisations artificielles en Fe varient selon les expériences, qui dépendent des conditions environnementales (température, lumière, profondeur de la couche de mélange, dilution du patch de fer par advection) de la zone HNLC ciblée, et des artéfacts expérimentaux (de Baar et al., 2005 ; Jin et al., 2008). D'une manière générale, les diatomées sont favorisées lors de la fertilisation en fer des eaux de surface (de

³ HNLC : High Nutrient Low Chlorophyll

Baar et al., 2008 et les références cités), et moins affectées par la pression de broutage (Boyd et al., 2007). Cette fertilisation de l'océan par l'apport en fer peut ainsi modifier les cycles biogéochimiques des macro-nutriments et du carbone, et ainsi avoir un effet sur le climat par l'intensification de la pompe biologique et du puits océanique de CO₂ (Jickells et al., 2005). Ce mécanisme soutiendrait l'hypothèse du fer « Iron Hypothesis » émis par Martin et al. (1990), fondée sur l'observation d'une augmentation du flux d'export de carbone associée à celle de la concentration en fer atmosphérique au cours du dernier maximum glaciaire. Néanmoins, les expériences de fertilisation artificielle précédentes n'ont pas permis d'établir de conclusions claires de l'impact du fer sur l'export de carbone dans les zones HNLC, dû à des difficultés pour évaluer le budget du carbone (de Baar et al., 2008 ; Boyd, 2013). Comme ce qui a été observé à des sites naturellement fertilisés en fer (Blain et al., 2007 ; Pollard et al., 2009), les expériences de fertilisation artificielle conduites dans un tourbillon dans le front polaire antarctique (Smetacek et al., 2010) et dans la mer de Ross (Sarmiento et al., 2012) suggèrent une stimulation de l'export de carbone et de sa séquestration dans les sédiments, sous des conditions où 1) l'absence d'advection permet une cohérence verticale entre les eaux de surface et profondes, et 2) la circulation océanique favorise l'export du carbone. En plus d'une stimulation de la croissance des diatomées dans les zones HNLC suite à un apport en fer, Somes et al. (2012) montrent l'importance des apports atmosphériques en fer pour la fixation du N₂ par les diazotrophes. On estime que la carence en fer limite environ 40 % de la productivité et l'export de carbone dans l'océan mondial (Moore et al., 2001).

La Figure I.4 présente un schéma simplifié du cycle du fer en milieu marin particulièrement complexe lors des processus de reminéralisation (Boyd et al., 2010) et du transfert du fer du pool soluble ($< 0.02 \mu\text{m}$) au pool particulaire ($> 0.2 - 0.4 \mu\text{m}$) via la phase colloïdale (Honeyman et Santschi, 1989). Sur le schéma ci-dessous (Figure I.4) uniquement les pools dissous (soluble + colloïdal) et particuliers sont représentés.

Le fer dissous peut être sous deux formes d'oxydation notée Fe (II) et Fe (III). Dans un océan majoritairement oxique, la forme Fe (III) est thermodynamiquement la plus stable du fait de l'oxydation rapide de Fe (II) (de l'ordre de 2 minutes ; Millero et al., 1987). Néanmoins, Fe (III) est très peu soluble au pH actuel de l'eau de mer (pH $\approx 8,1$) et sa complexation avec des ligands organiques permet d'augmenter sa solubilité (Kuma et al., 1996 ; Liu et Millero, 2002). Ainsi, plus de 99,9 % du fer dissous est organiquement complexé dans l'eau de mer

avec une grande variété de ligands organiques (taille et nature) contrôlant la biodisponibilité du fer (van den Berg, 1995 ; Rue et Bruland, 1995 ; Gledhill and Buck, 2012). Le transfert du fer dissous au pool particulaire est contrôlé par différents processus tels que l'absorption biologique, la précipitation, l'aggrégation et l'adsorption sur les particules (Boyd et Ellwood, 2010).

La faible significativité des apports autochtones en fer dissous biodisponible via la reminéralisation et le transport physique (upwelling, diffusion, advection), nécessite des apports allochtones, dits externes, en fer pour la production océanique. Les sédiments des plateaux continentaux et les dépôts de poussières atmosphériques sont deux sources clefs en fer dissous pour l'océan global. Longtemps les dépôts atmosphériques ont été considérés comme une source externe majeure en fer à la surface des océans (Jickells et al., 2005), alors que les apports en fer d'origine sédimentaire sont aussi significatifs que ceux provenant des aérosols, et doivent être inclus dans les modèles biogéochimiques (Elrod et al., 2004 ; Moore et Braucher, 2008). L'étude récente de Tagliabue et al. (2010) inclue pour la première fois la source hydrothermale en fer dans les modèles océaniques, et souligne l'importance de l'hydrothermalisme dans le stock océanique du fer dissous sur une échelle de temps de l'ordre du millénaire (à l'inverse des dépôts de poussières affectant le cycle du fer à court terme). Selon la ventilation des eaux profondes, l'activité hydrothermale modifie les concentrations en fer dissous des eaux de surface et la productivité dans les régions HNLC. Elle contribuerait à 5-15 % de l'export de carbone dans l'océan austral.

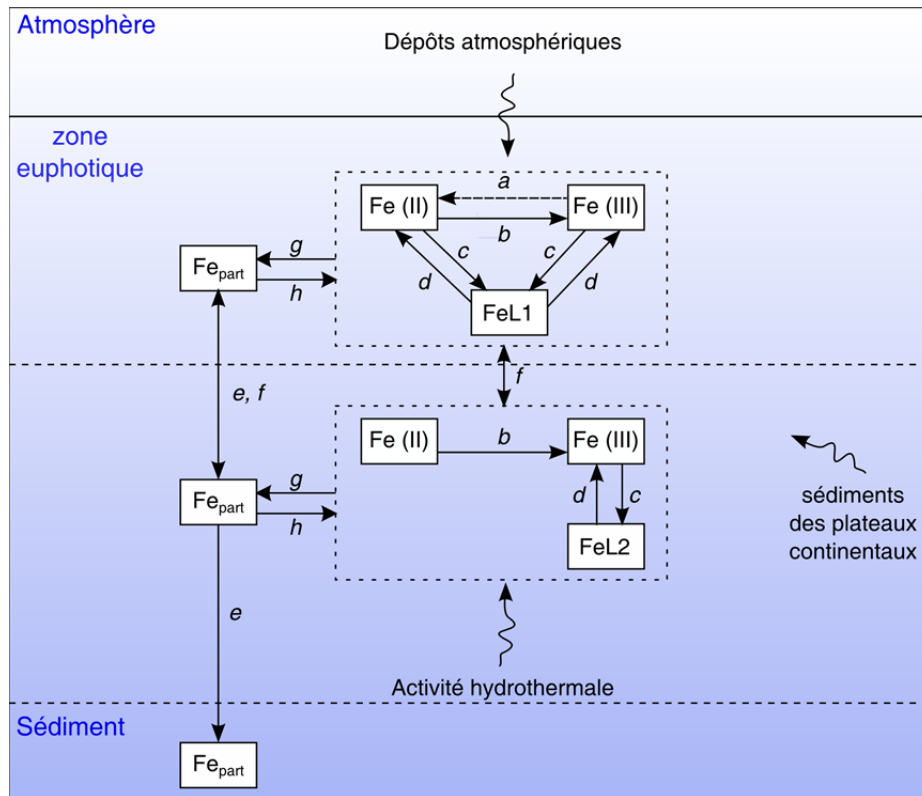


Figure I.4 : schéma simplifié du cycle du fer dans l'océan. Fe(II) et Fe(III) correspondent au fer dissous libre. FeL1 et FeL2 correspondent au fer dissous complexé avec des ligands organiques. L1 représente des ligands « forts » et L2 les ligands « faibles ». On nomme Fe_{part} le fer dans le pool particulaire. a : photoréduction ; b : oxydation ; c : complexation organique ; d : dissociation ; e : sédimentation ; f : transport physique ; g : assimilation / précipitation / adsorption / agrégation ; h : reminéralisation

2. Le climat et l'océan

2.1. Climat d'aujourd'hui, climat du futur

L'histoire de la terre est régie par des fluctuations climatiques à différentes échelles, conduites par des forçages naturels tels que l'activité solaire, l'activité volcanique, etc. Ce qu'aujourd'hui la communauté scientifique appelle « changement climatique » est attribué à un dérèglement du système atmosphérique associé à l'activité humaine, et notamment à un réchauffement planétaire de l'atmosphère et de l'océan. De 1880 à 2012, une augmentation de la température de surface globale de la Terre (terrestre et océanique) autour de 0,85 °C a été observée (Figure I.5).

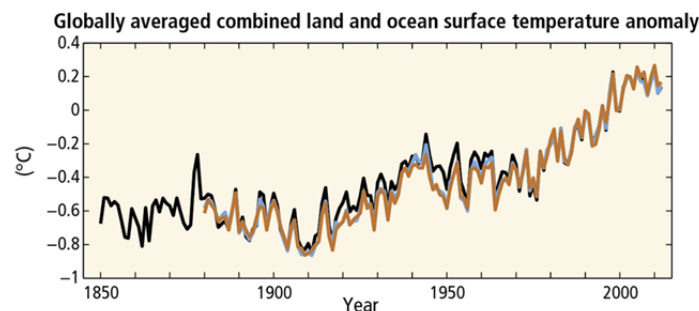


Figure I.5 : Anomalie globale de la température de surface du sol et de l'océan sur la période de 1850 à 2012 selon trois jeux de données (anomalie relative à la température moyenne entre 1986-2005). Source : IPCC 2014

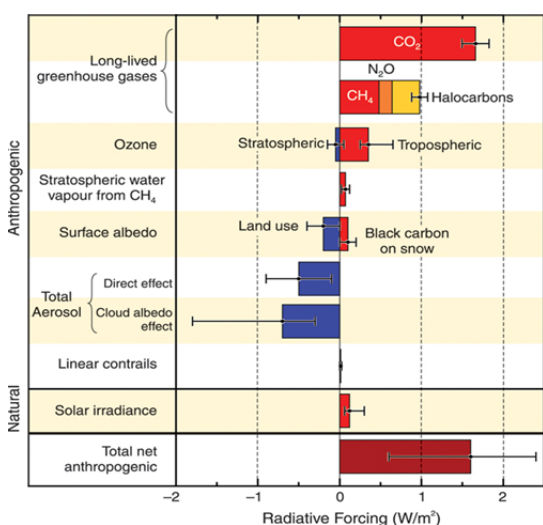


Figure I.6: Forçages radiatifs ($W m^{-2}$) sur le système climatique des facteurs naturels et anthropiques. Source : IPCC 2007

Bien que plusieurs facteurs puissent contribuer à un changement climatique, il s'avère que les gaz à effet de serre aient un forçage radiatif significativement positif qui tend à réchauffer le système (Figure I.6). Hormis la vapeur d'eau extrêmement variable dans le temps et l'espace, les concentrations en gaz à effet de serre (dioxyde de carbone : CO_2 ; méthane : CH_4 ; protoxyde d'azote : N_2O) ont augmenté depuis 1750, particulièrement au cours du dernier siècle (Figure I.7, a).

Etant donné que le CO_2 a une contribution majeure à l'effet de serre après la vapeur d'eau (Bigg, 2003), il est très fortement probable que le réchauffement planétaire observé soit dû principalement à l'augmentation de la concentration en CO_2 atmosphérique. Depuis la révolution industrielle, le niveau de CO_2 dans l'atmosphère s'est élevé de 280 à 390 ppm soit une augmentation de $\sim 40\%$ (Hartmann et al., 2013). La moitié des émissions de CO_2 anthropique cumulées dans l'atmosphère entre 1750 et aujourd'hui, a eu lieu au cours de ces 40 dernières années, bien évidemment en fort lien avec l'augmentation des émissions des combustibles fossiles (charbon, pétrole, gaz ; IPCC 2014, Figure I.7, b).

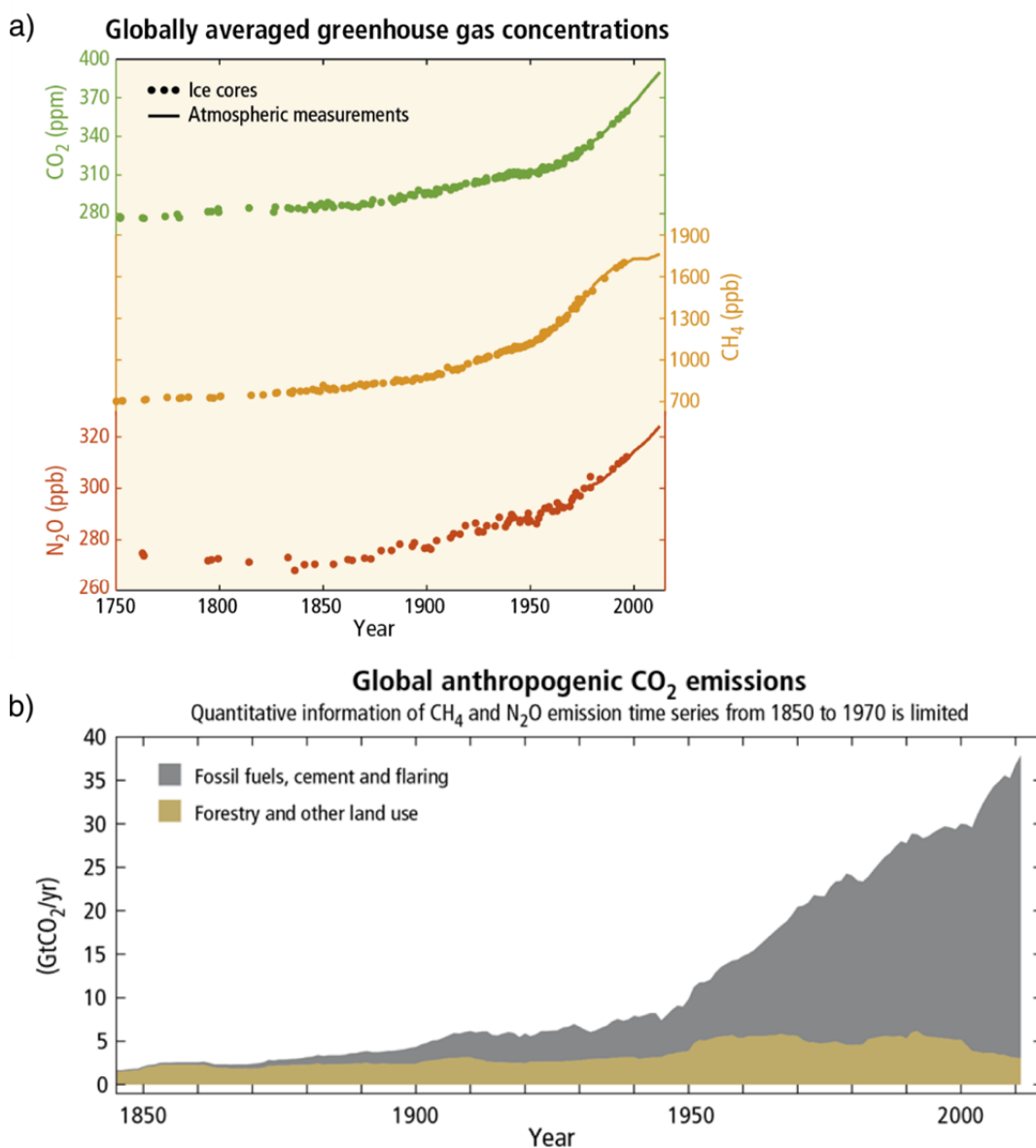


Figure I.7 : a) Evolution de la concentration des gaz à effet de serre (CO_2 , CH_4 , N_2O) depuis 1750 jusqu'à aujourd'hui. b) Contributions des différentes sources aux émissions anthropiques de CO_2 (d'après IPCC 2014).

L'effet de serre

Les gaz présents dans l'atmosphère, tels que H_2O , CO_2 , CH_4 , N_2O et CFCs, absorbent les radiations émises par la surface de la terre et réémettent l'énergie vers le sol. Ceci participe au réchauffement de la troposphère, ce que l'on appelle l'effet de serre.

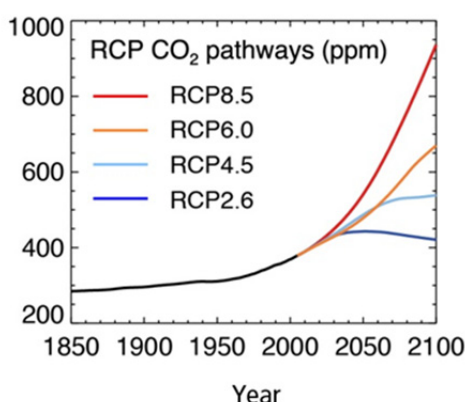


Figure I.8 : Evolution de la concentration en CO_2 atmosphérique (ppm) d'après 4 modèles de prédiction (d'après Ciais et al., 2013)

Selon 4 modèles de prédiction « RCP⁴ », la concentration en CO_2 atmosphérique en 2100 pourrait atteindre entre ~ 450 et 1000 ppm (Ciais et al., 2013 ; Figure I.8).

Jusqu'à présent, environ $\frac{1}{4}$ des émissions anthropiques de CO_2 est absorbé par l'océan (Le Quéré et al., 2014) grâce à l'efficacité de la pompe de solubilité (voir section 1.1). L'excès de CO_2 dans l'atmosphère se traduit ainsi par un flux net de carbone vers l'océan.

Face à l'augmentation de la concentration en CO_2 atmosphérique prédite par les modèles (Figure I.8), une des questions majeures est de savoir quel est le devenir de ce puit de carbone océanique. Une diminution de l'efficacité de la pompe de solubilité pourrait survenir en réponse à une forte augmentation en CO_2 dans l'océan suite à une modification des équilibres au niveau de la chimie des carbonates (voir section 2.2). En plus d'une diminution de la solubilité du CO_2 , le réchauffement des eaux de surface induirait une baisse du mélange vertical résultant d'un accroissement de la stratification de la colonne d'eau. L'homogénéisation des eaux superficielles et profondes serait ainsi mise en défaut.

L'étude d'une rétroaction sur le système climatique engendrée par une altération de la pompe biologique est également au cœur des recherches actuelles. La production primaire étant le pilier de cette pompe, une stimulation ou un ralentissement de l'activité photosynthétique

⁴ RCP : Representative Concentration Pathway

pourrait conduire à une rétroaction négative ou positive à l'augmentation du CO_2 atmosphérique.

Le devenir de la pompe biologique reste encore incertain, et l'étude de sa réponse à la modification de facteurs tels que la température, la lumière et le pH, est devenue une des priorités de la recherche scientifique du 21^{ème} siècle.

2.2. Zoom sur l'acidification des océans

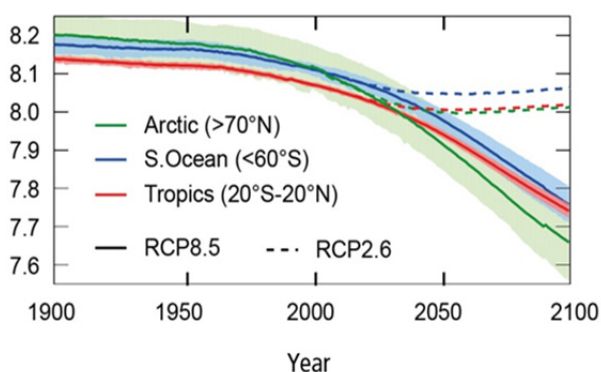


Figure I.9 : Evolution du pH à la surface des océans selon deux modèles de prédictions. D'après Ciais et al., 2013

Depuis le début de l'ère industrielle, le pH de la surface des océans a diminué d'environ 0,1 unité (Orr et al., 2005), et une baisse supplémentaire de 0,06 à 0,32 unités est projetée pour la fin du siècle selon divers scénarios (Ciais et al., 2013 ; Figure I.9).

Il s'agit de « l'acidification des océans », mais à quoi cela est-il dû ?

La dissolution du CO_2 atmosphérique conduit à la formation d'acide carbonique (H_2CO_3) se dissociant en ions bicarbonate (HCO_3^-) et ions carbonate (CO_3^{2-}) et libérant des protons H^+ . L'équation I.1 représente le système de la chimie des carbonates de l'eau de mer à l'équilibre selon des conditions spécifiques de température, de salinité et de pression.



Équation I.1 : Système de la chimie des carbonates à l'équilibre dans l'eau de mer

La contribution des formes du carbone inorganique dissous ($\text{DIC} = \text{CO}_2 + \text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$) dans l'eau de mer est représentée sur la figure I.10. Au pH actuel de l'eau de mer d'environ 8,1, 90 % du DIC est sous forme HCO_3^- , 9 % sous forme CO_3^{2-} et seulement 1 % correspond au CO_2 dissous (Doney et al., 2009).

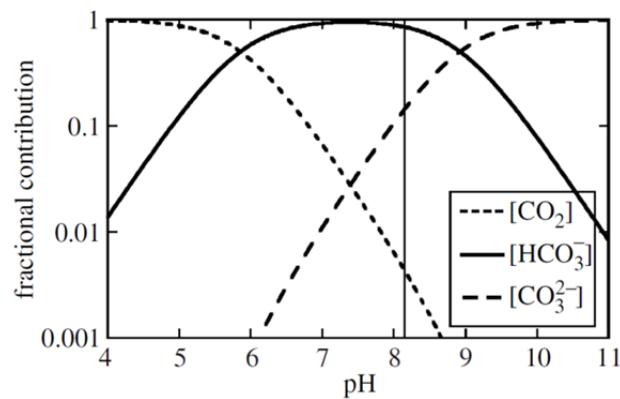


Figure I.10 : Diagramme de Bjerrum concernant la contribution relative du CO_2 , HCO_3^- et CO_3^{2-} au pool de carbone inorganique dissous (DIC) dans l'eau de mer selon le pH. D'après Baker et al., 2003

Lorsque le CO_2 pénètre dans l'océan, les concentrations en CO_2 et HCO_3^- s'élèvent alors que la concentration en CO_3^{2-} et le pH déclinent. En absorbant d'avantage de CO_2 , le pH des eaux de surface tend à diminuer, et c'est ce phénomène que l'on nomme « acidification des océans » (Gattuso et Hansson, 2011).

3. La Méditerranée, une zone Low Nutrient Low Chlorophyll (LNLC) sous pressions naturelles et anthropiques

Dans le cadre de ma thèse, je me suis intéressée à **étudier le comportement de certains éléments biogéochimiques dans le milieu marin (carbone, azote, phosphore, fer) dans un contexte de changement climatique dans un environnement assimilable à un modèle de l'océan mondial et particulièrement soumis aux pressions anthropiques : la Méditerranée.**

3.1. La Méditerranée, une zone LNLC

Les eaux oligotrophes représentent 75 % de l'océan global et la mer Méditerranée est considérée comme telle. C'est une zone dite LNLC⁵ caractérisée par de faibles concentrations en macro-nutriments et en chlorophylle *a*.

A l'échelle de l'ensemble du bassin méditerranéen, la biomasse phytoplanctonique atteint des valeurs maximales en hiver (de décembre à mars) entre 0,25 et 0,40 $\mu\text{g chl}a \text{ L}^{-1}$, et décline autour de 0,07 $\mu\text{g chl}a \text{ L}^{-1}$ en été (de juin à septembre ; Figure I.11). Les plus fortes biomasses ont été mesurées à l'embouchure des rivières et à la marge des quelques plateaux continentaux. Durant la période estivale, caractérisée par une forte stratification thermique de la colonne d'eau, la production primaire est faible et l'ensemble des données satellites et *in situ* révèle une augmentation de l'oligotrophie d'ouest en est variant de 150 à 59 $\text{g C m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ (Moutin and Raimbault, 2002 ; Bosc et al., 2004 ; Siokou-Frangou et al., 2010).

⁵LNLC : Low Nutrient, Low Chlorophyll

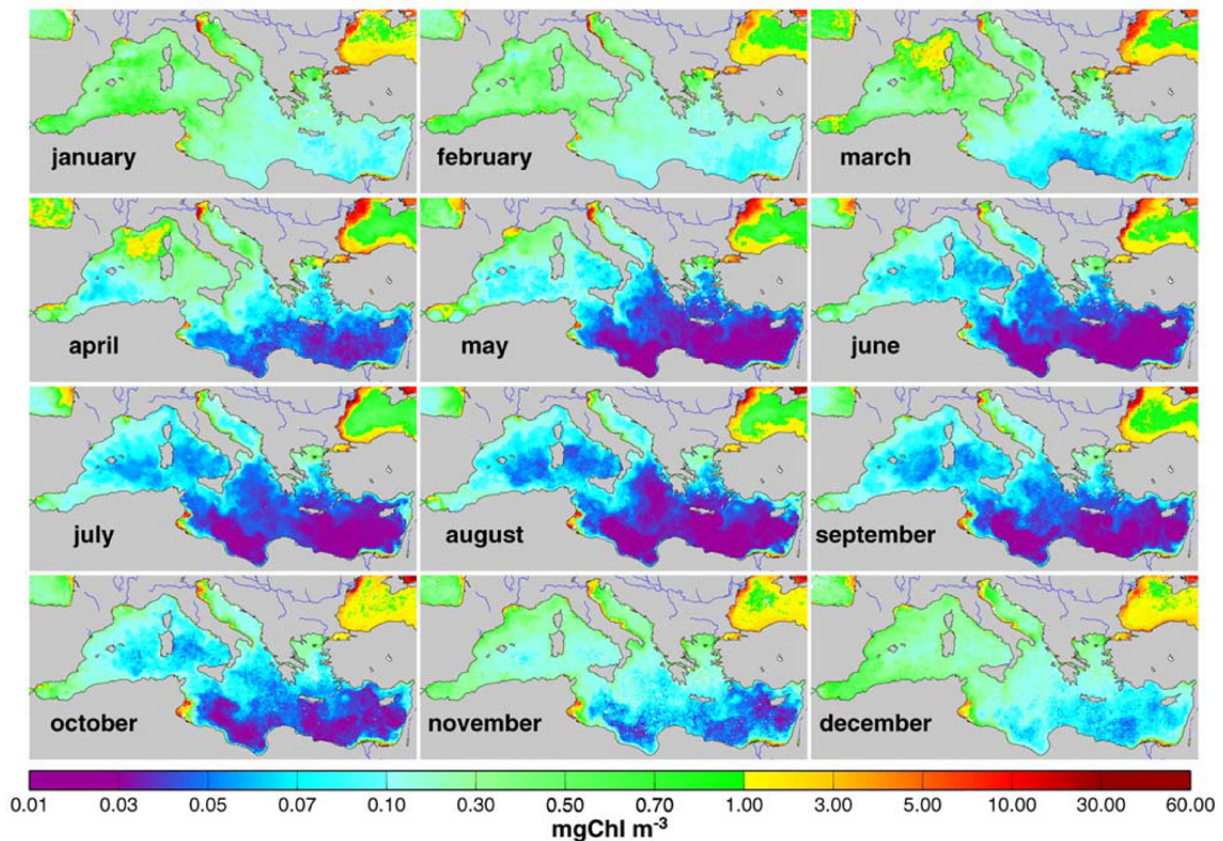


Figure I.11 : Concentrations mensuelles de la chlorophylle a d'après les données SeaWiFS au cours de l'année 1999 (Bosc et al., 2004)

Le tableau 3 présent dans le manuscrit Louis et al. (en révision) du chapitre III permet d'avoir une revue bibliographique des données en nutriments dans la zone euphotique des bassins ouest et est. En lien avec la production primaire, la disponibilité des macro-nutriments (N et P) diminue selon le gradient ouest-est avec un appauvrissement dans les eaux de surface au cours de la période estivale. Les concentrations en NO_3^- et PO_4^{3-} y sont tellement faibles qu'elles sont généralement en dessous des limites de détection des méthodes analytiques conventionnelles (0,02 et 0,05 μM pour PO_4^{3-} et NO_3^- respectivement ; Moutin et Raimbault, 2002 ; Pujo-Pay et al., 2011).

A la vue des expériences menées au cours de cette thèse, focalisons-nous sur le bassin nord-ouest méditerranéen. Selon les séries temporelles au site Dyfamed (42°25'N, 07°52'E ; Figure I.12, a), les concentrations en NO_3^- et PO_4^{3-} atteignent respectivement 2-3 μM et 0,15-0,2 μM lors du mélange hivernal, et deviennent inférieures à 0,05 μM lors de la période de stratification (Marty et al., 2002 ; de Fommervault et al., 2014 ; Figure I.12, b). Grâce à une méthode analytique non conventionnelle permettant d'analyser PO_4^{3-} au niveau nanomolaire, Pulido-Villena et al. (2010) ont montré la première série temporelle du PO_4^{3-} dans les eaux de

surface à Dyfamed (Figure I.12, c). Cette étude souligne le caractère oligotrophe de la Méditerranée avec des concentrations en PO_4^{3-} variant entre 1 et 6 nM dans la couche 0- 20 m en période de stratification. Les faibles productions primaires lors de la période estivale sont attribuées à une co-limitation de N et P (Tanaka et al., 2011 ; Ridame et al., 2014).

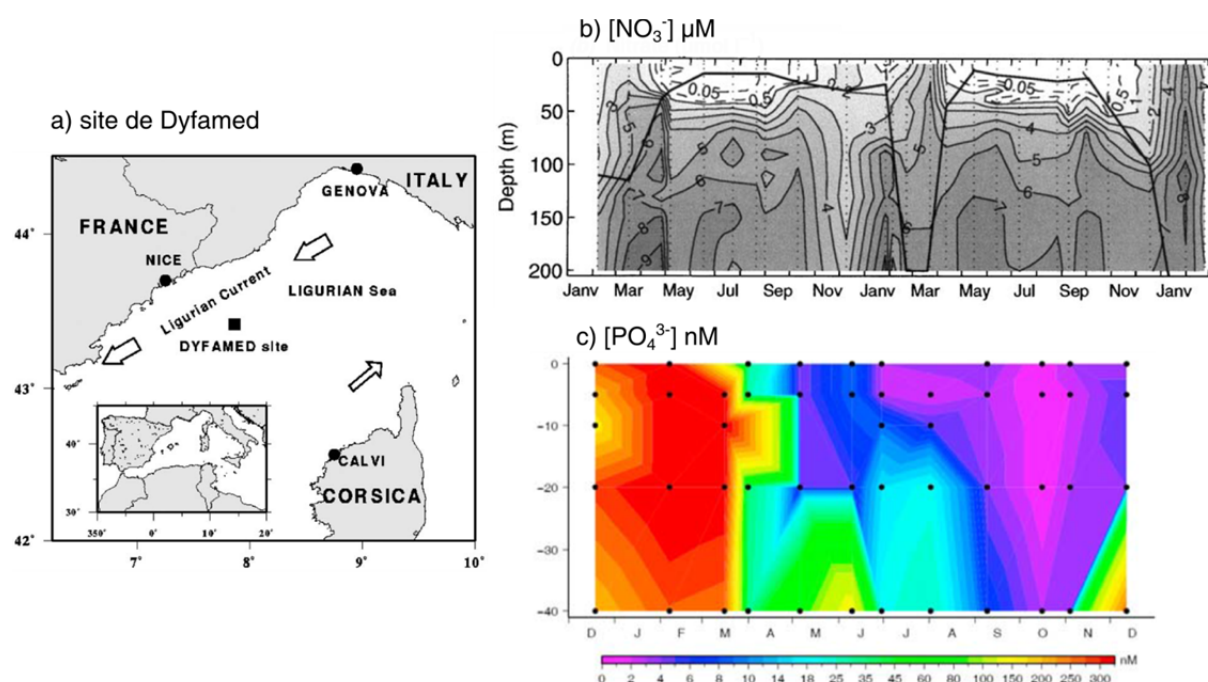


Figure I.12 : Localisation du site Dyfamed a) et séries temporelles des concentrations en NO_3^- b) (d'après Bégovic et Copin-Montégut, 2002) et PO_4^{3-} c) (d'après Pulido-Villena et al., 2010) à Dyfamed.

Contrairement aux formes inorganiques de N et P appauvries dans les eaux de surface, les nutriments organiques dissous, DON et DOP, s'accumulent dans la zone euphotique et représentent une large fraction du pool nutritif dissous (% $\text{DON}/\text{TDN}^6 = 70-90\%$ et % $\text{DOP}/\text{TDP}^7 = 50-70\%$; Coste et al., 1988 ; Diaz et al., 2001 ; Moutin et Raimbault, 2002 ; Pujo-Pay et al., 2011). Leurs fractions labiles (5-20 % du DON et 75 % du DOP) peuvent avoir un rôle majeur dans l'activité biologique des eaux oligotrophes méditerranéennes par cette capacité des microorganismes à absorber les molécules à faible poids moléculaire (LMW). Les composés organiques azotés et phosphorés à haut poids moléculaire (HMW) peuvent être ultérieurement assimilés par le phytoplancton après l'oxydation et l'hydrolyse

⁶ TDN : Total Dissolved Nitrogen

⁷ TDP : Total Dissolved Phosphorus

enzymatique, la photodégradation et la capacité de phagocytose et pinocytose pour certaines espèces (Jackson et Williams, 1985 ; Karl et Bjorkman, 2002 ; Bronk et al., 2007 ; Lomas et al., 2010).

En ce qui concerne le fer dissous (DFe) dans le bassin nord-ouest méditerranéen, la série temporelle de la concentration en DFe au site Dyfamed réalisée par Bonnet et Guieu (2006) a montré des valeurs oscillant entre 0,2 et 1,2 nM. Les concentrations minimales en DFe coïncident avec la fin du bloom printanier et résultent de l'absorption biologique, de l'aggrégation des colloïdes et de l'adsorption sur les particules. Les faibles concentrations typiques de l'océan ouvert de l'ordre de 0,2 nM mesurées au printemps pourraient être limitantes pour la production primaire. Néanmoins, des enrichissements importants liés à une accumulation du DFe d'origine atmosphérique dans les eaux de surface ont été reportés (Sarhou et Jeandel, 2001 ; Bonnet et Guieu 2006).

3.2. Les apports atmosphériques

Les concentrations en macro-nutriments dans le bassin semi-clos méditerranéen sont fortement contrôlées par les apports fluviaux et atmosphériques d'origine naturelle et anthropique (e.g. Bethoux et al., 1992, Mermex Group, 2011). Lors de la stratification de la colonne d'eau, les apports autochtones des nutriments en surface via l'upwelling des eaux riches, deviennent négligeables dus à la thermocline impliquant une diffusion très faible. Ainsi, les apports allochtones en nutriments deviennent des sources prédominantes pour les eaux de surface appauvries.

Une des régions les plus productives en Méditerranée est le golfe du Lion influencé par les décharges du Rhône riches en NO_3^- et PO_4^{3-} (Lefèvre et al., 1997) permettant d'assurer ~ 50 % de la production primaire annuelle (Mermex Group, 2011). Du fait de l'activité biologique dans les estuaires et zones côtières, l'apport de nutriments biodisponibles via les dépôts atmosphériques aurait un rôle prépondérant dans les eaux du large (Martin et al., 1989 ; Guerzoni et al., 1999). L'atmosphère est donc une excellente voie pour transporter du matériel naturel et anthropique tel que N, P et Fe au domaine hauturier peu influencé par les apports fluviaux. On estime des flux atmosphériques pour DFe, PO_4^{3-} , NO_3^- dans le bassin nord-ouest méditerranéen de $32\text{-}140 \mu\text{mol m}^{-2} \text{an}^{-1}$, $243\text{-}608 \mu\text{mol m}^{-2} \text{an}^{-1}$ et $18.1\text{-}47.7 \text{mmol m}^{-2} \text{an}^{-1}$, respectivement (Guieu et al., 1997 ; Markaki et al., 2010). Alors que 90 % des flux de NO_3^- et

70 % des flux de PO_4^{3-} sont d'origine anthropique, 89 % des flux de Fe proviennent de sources naturelles (Guieu et al., 2010b). La composition des dépôts atmosphériques est contrôlée par 1) les masses d'air provenant des pays européens industrialisés entourant le bassin méditerranéen occidental, et 2) les événements de poussières sahariennes dont les flux sont les plus importants dans cette région du globe (Guerzoni et al., 1999 ; Guieu and Shevchenko, 2015). En moyenne, le flux annuel de dépôts de poussières sahariennes dans le bassin nord-ouest méditerranéen est de l'ordre de $12 \text{ g m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ (Löye-Pilot et Martin, 1996 ; TERNON et al., 2010). Toutefois, les dépôts de poussières sahariennes présentent une forte variabilité intra et inter annuelle. Selon deux suivis temporels (1985-2002 : Guieu et al., 2010b et 1984-1994 : Löye-Pilot et Martin, 1996), les flux de poussières oscillent entre 2,5 et $27 \text{ g m}^{-2} \text{ an}^{-1}$, ponctués par des événements sahariens pouvant atteindre des flux de 22 g m^{-2} (sur 1 à 2 jours). L'intensité et la fréquence de ces événements sont majoritairement maximales au printemps-été, et minimales en hiver dont 95 % sont des dépôts humides.

Les dépôts atmosphériques

Dépôts humides : ils sont définis comme le transfert de matière de l'atmosphère à la surface de la Terre via les précipitations (pluie, neige ...).

Dépôts secs : ils sont définis comme le transfert de matière de l'atmosphère à la surface de la Terre autre que par précipitation (sédimentation, diffusion).

En plus d'influencer largement les flux atmosphériques de P et Fe (Bergametti et al., 1992 ; Guieu et al., 2002 ; Bonnet et Guieu, 2006 ; Guieu et al., 2010b), les événements sahariens peuvent être une source d'azote anthropique. Via le mélange des masses d'air provenant d'Afrique du Nord et du nord-est de l'Europe, les gaz anthropiques tels que l'acide nitrique (HNO_3) réagissent avec les particules lithogéniques riches en carbonate de calcium (CaCO_3), et leurs surfaces deviennent enrichies en NO_3^- lors des processus d'évapo-condensation dans l'atmosphère (Usher et al., 2003 ; de Leeuw et al., 2004 ; Krueger et al., 2004 ; Laskin et al., 2005 ; Formenti et al., 2011). **L'apport de ces « nouveaux » nutriments dans des eaux de surface particulièrement oligotrophes lors de la période estivale en Méditerranée, via des événements sahariens, peut avoir des conséquences sur la pompe biologique du carbone.**

Lors d'expériences d'ensemencement en larges mésocosmes dans le cadre du projet DUNE en période oligotrophe (Guieu et al., 2010a, 2014a), le dépôt humide de poussières sahariennes évapo-condensées artificiellement (voir chapitre II, section 2.2) a permis une stimulation de la production primaire et de la respiration bactérienne (Pulido-Villena et al., 2014 ; Ridame et al., 2014). Alors qu'une augmentation de la concentration en NO_3^- et PO_4^{3-} est observée après l'ensemencement, les particules lithogéniques s'avèrent être une source ou un puits en DFe selon les conditions biogéochimiques (e.g. abondance et qualité des ligands organiques ; (Wagener et al., 2010 ; Ye et al., 2011 ; Wuttig et al., 2013). Afin de modéliser les apports nutritifs lors d'un événement saharien, il est nécessaire de déconvoluer les processus abiotiques des processus biotiques lors du dépôt des poussières à la surface de la Méditerranée.

La solubilité des éléments nutritifs atmosphériques dépend de nombreux processus atmosphériques et océaniques. La solubilité des éléments nutritifs est contrôlée par la nature, l'origine, la taille et la minéralogie des particules lithogéniques, ainsi que toutes les réactions hétérogènes que les particules subissent lors de leur transport dans l'atmosphère. **Une fois les poussières déposées à la surface de l'océan, leur impact sur le cycle des éléments nutritifs dans l'eau de mer est contrôlé par les processus de dissolution et de « scavenging »** (de Leeuw et al., 2014).

Qu'est-ce que le « scavenging » ?

C'est un terme anglo-saxon permettant de désigner l'ensemble des processus liant les éléments dissous à la matière particulaire. Le scavenging est donc considéré comme un puit pour l'élément considéré.

Au cours de ces dix dernières années, de nombreuses études se sont intéressées à ces processus « post-dépôts » des particules atmosphériques d'origine lithogénique à la surface des océans, via des expériences dites de dissolution en bouteille. Après une phase de contact de 7 jours entre des particules sahariennes et de l'eau de mer, Bonnet et Guieu (2004) ont montré un pourcentage de dissolution de DFe dans l'eau de mer variant entre 0,001 à 1,6 % pour des concentrations en poussières sahariennes de 0,01 à 10 mg L^{-1} . Avec un temps de contact de seulement 6 heures, 10 à 35 % de PO_4^{3-} sont relargués pour une concentration

particulaire de 1,2 à 5 mg L⁻¹ (Ridame et Guieu, 2002 ; Pulido-Villena et al., 2010). Alors que les pourcentages de dissolution de DFe et PO₄³⁻ sont inversement proportionnels à la concentration en poussières, la dissolution instantanée de NO₃⁻ atmosphérique est de 100 % pour les concentrations particulières supérieures à 0,5 mg L⁻¹ (Ridame et al., 2014). L'étude du processus de scavenging du fer atmosphérique reste encore très conceptuelle malgré son rôle clef dans le cycle biogéochimique de fer en milieu marin (Baker et Croot, 2010). En ce qui concerne le phosphore atmosphérique, des mesures de capacité d'adsorption des poussières sahariennes ont permis à Ridame et al. (2003) d'en déduire que le processus de scavenging du PO₄³⁻ est négligeable par rapport au processus de dissolution dans l'eau de mer. Néanmoins, il est important de noter que **les échanges entre le pool dissous et particulaire dépendent des propriétés physico-chimiques de l'eau de mer (pH, charge ionique), des conditions biogéochimiques du milieu dans lequel se fait l'apport (qualité et quantité de la DOM) et de la dynamique particulaire (sédimentation des particules)**. Or, ces précédentes expériences ne prennent en compte ni la dimension verticale (concentration particulaire constante et homogène), ni la variabilité saisonnière des conditions biogéochimiques de l'eau de mer. **Un des challenges des futures investigations est donc de considérer de nouvelles méthodologies afin d'avoir une vision plus réaliste des processus post-dépôt des poussières sahariennes à la surface de l'eau de mer et de prédire leur impact sur les cycles biogéochimiques des éléments nutritifs (N, P, Fe) et sur la pompe biologique du carbone.**

Les dépôts atmosphériques de poussières sahariennes ne sont pas uniquement qu'une source potentielle de nutriments, ils participent également à l'export de carbone par des processus abiotiques. C'est ce que Bressac et al. (2014) appellent **la pompe lithogénique du carbone**. TERNON et al. (2010) et Bressac et al. (2014) ont montré que, **selon les conditions biogéochimiques, un évènement saharien stimulait l'export de POC via des interactions entre les particules lithogéniques et le carbone organique**. Les particules lithogéniques-OM⁸ formées avec une vitesse de sédimentation de 24-86 m j⁻¹ (Bressac et al., 2012) expliquaient 85 % de la variance des flux de POC observés lors d'un évènement saharien

⁸ OM : matière organique

(Bressac et al., 2014). Cette pompe lithogénique peut avoir une efficacité significative dans l'export de carbone : par exemple, en février 2014, à la suite d'un fort évènement saharien, le flux de POC exporté ($0,8 \text{ g C m}^{-1}$) en quelques jours correspondait à $\sim 45 \%$ du flux de POC annuel mesuré la même année. Le flux mesuré pendant la période de bloom phytoplanctonique ne représentait seulement que 25% du flux annuel (Ternon et al., 2010).

3.3. Un bassin sous pression anthropique

L'explosion démographique autour du bassin méditerranéen, qui a lieu durant le 20^{ème} siècle, a conduit à une élévation de l'urbanisation, de l'industrialisation, du tourisme, de l'agriculture et la pêche intensive, et des apports anthropiques atmosphériques et fluviaux (Groupe Mermex, 2011). Cette forte pression anthropique que subit la mer Méditerranée, l'a menée à être considérée comme **un « hot spot » du changement climatique** (Giorgi, 2006, IPCC), c'est-à-dire une région particulièrement sensible aux forçages naturels et anthropiques. Selon des modèles de prédiction, le climat de la région ouest méditerranéenne deviendrait plus chaud et plus sec (Giorgi et Lionello, 2008 ; Somot et al., 2008).

D'un point de vue théorique, l'alcalinité plus élevée en Méditerranée que dans le reste de l'océan mondial, la conduirait à être un puits de CO_2 atmosphérique et une source de DIC pour l'océan Atlantique (Ait-Ameur et Goyet, 2006). Cette capacité à absorber relativement plus de CO_2 atmosphérique expliquerait pourquoi **la mer Méditerranée apparaît comme une des régions les plus impactées par l'acidification**. En effet, d'après les estimations de Touratier et Goyet (2011), le pH des eaux de surface du bassin ouest méditerranéen aurait déjà diminué de 0.15 unités depuis l'ère industrielle (comparé à une diminution moyenne dans l'océan mondiale de 0.1 unités, voir section 2.2).

4. Objectifs de la thèse

L'étude de la réponse de l'écosystème méditerranéen face à des changements climatiques et environnementaux s'avère être une priorité dans la communauté scientifique, d'une part parce que cet écosystème est particulièrement sensible aux forçages naturels et anthropiques, et d'autre part parce que ses caractéristiques oligotrophes sont représentatives d'une large part de l'océan mondial.

Dans le cadre de ma thèse, je me suis focalisée sur l'impact des changements climatiques et anthropiques sur les cycles biogéochimiques dans le bassin ouest méditerranéen. Pour cela, je me suis intéressée à un forçage naturel, les dépôts atmosphériques des événements sahariens, et un forçage anthropique, l'acidification. Ce manuscrit s'articule selon trois grands axes :

- ① **Quel impact l'acidification a-t-elle sur les cycles des éléments nutritifs en Méditerranée (Chapitre III) ?**
- ② **Quel impact le dépôt de poussières sahariennes a-t-il sur le cycle des éléments nutritifs, via la compréhension des processus post-dépôt en conditions abiotiques (Chapitre IV-section 2) ? Quel impact l'acidification a-t-elle sur les processus post-dépôt en conditions abiotiques après un événement saharien (Chapitre IV-section 3) ?**
- ③ **Quels sont les processus abiotiques liant les particules lithogéniques et le carbone organique ? Quel impact l'acidification a-t-elle sur la pompe lithogénique (Chapitre V) ?**

Un changement de comportement des éléments N, P, Fe peut avoir des conséquences non négligeables dans un écosystème oligotrophe. En modifiant leurs spéciations (chimique ou physique) et donc leurs biodisponibilités pour les microorganismes marins, la production primaire ou la respiration bactérienne peuvent être impactées. De tels changements pourraient modifier la capacité de l'océan à séquestrer du carbone, et *in fine* conduire à des rétroactions

sur le climat. Une altération de la pompe lithogénique pourrait également conduire à une potentielle rétroaction sur le système climatique. Des modifications de cette pompe pourraient résulter d'une altération des processus abiotiques qui la gouvernent, et/ou d'une altération de la pompe biologique étant donné que la pompe lithogénique est liée à la DOM présente.

A travers les projets CHIPIE (EMERGENCE-UPMC) et EC FP7 MedSeA (<http://medsea-project.eu/>), **l'originalité de cette thèse repose sur sa méthodologie utilisant des moyens analytiques au niveau nanomolaire, et des alternatives aux expériences en microcosmes en laboratoire** (voir Chapitre II). Des expériences en mésocosmes (Chapitre III) et minicosmes (Chapitres IV et V) à différentes périodes de l'année ont été menées afin d'avoir un système à une dimension (verticale). **L'effet biogéochimique du couplage de deux forçages est également un point clef de cette thèse, et un premier pas vers des études multi-facteurs** (pH, température, UV, particules lithogéniques) indispensable pour une meilleure vision de l'océan et du climat du futur.

A l'échelle nationale, les thématiques de cette thèse font parties intégrantes des enjeux du programme MERMeX (Marine Ecosystems Response in the Mediterranean Experiment ; <http://mermex.pytheas.univ-amu.fr/>) dont le défi est de comprendre comment le changement climatique couplé aux pressions anthropiques peut affecter le fonctionnement de la mer Méditerranée. Cette thèse est également au cœur des préoccupations de plusieurs grands programmes internationaux de biogéochimie marine et atmosphérique : SOLAS (Surface Ocean Lower Atmosphere Study ; <http://www.solas-int.org/>), LOICZ (Land-Ocean Interactions in the Coastal Zone ; <http://www.loicz.org/>), IMBER (Integrated Marine Biogeochemistry and Ecosystem Research ; <http://www.imber.info/>) et GEOTRACES (<http://www.geotraces.org/>).

Chapitre II

Matériels et Méthodes

1. Introduction

2. Conditions ultra-propres pour l'analyse des éléments au niveau nanomolaire

- 2.1. Prérequis des conditions de travail en salle blanche
- 2.2. Du prélèvement à l'échantillonnage

3. Simulation de forçages atmosphériques

- 3.1. Acidification de l'océan : diminution de la pression partielle en dioxyde de carbone ($p\text{CO}_2$)
- 3.2. Ensemencement artificiel de poussières sahariennes

4. Méthodologie pour les expériences de simulation de forçages atmosphériques

- 4.1. En condition biotique : expériences en mésocosme (projet MedSea)
- 4.2. En condition abiotique : expériences en minicosme (projet CHIPIE)

5. Méthodes d'analyses

- 5.1. Analyse des éléments nutritifs sous forme inorganique dissoute
- 5.2. Analyses de la matière organique dissoute
- 5.3. Analyse de la matière colloïdale et particulaire

1. Introduction

Ce chapitre expose la méthodologie des expériences réalisées ainsi que les différentes techniques d'analyses utilisées au cours de cette thèse. Il s'articule selon cinq parties :

- un prérequis sur les conditions dites « ultra-propres » pour le travail expérimental en salle blanche
- la méthodologie pour simuler deux forçages atmosphériques en mer Méditerranée : l'acidification de l'océan et le dépôt atmosphérique de poussières sahariennes
- les outils alternatifs aux expériences « en batch » en laboratoire : les mini et méso-cosmes
- les techniques d'analyse des différents paramètres mesurés étant les objets des chapitres de cette thèse
- une inter-calibration des mesures des nutriments lors de la mission OUTPACE avec une technique automatique et conventionnelle au « TECHNICON » et une seconde technique manuelle avec une fibre optique « Liquid Waveguide Capillary Cell » (LWCC).

2. Conditions ultra-propres pour l'analyse des éléments au niveau nanomolaire

2.1. Prérequis des conditions de travail en salle blanche

Au cours de cette thèse, nous nous sommes intéressés à des éléments d'intérêt biogéochimique (tel que le fer, l'azote et le phosphore) au niveau nanomolaire (10^{-9} mol L⁻¹) en mer Méditerranée. L'intérêt de travailler en salle blanche est de s'affranchir de potentielles contaminations et d'avoir des conditions de températures contrôlées (20°C).

Le fer, l'azote et le phosphore : des éléments qui nous « entourent ».

Le fer est le 4^{ème} élément le plus abondant dans la croûte terrestre (62 000 ppm soit 6,2 % en poids) et le phosphore est le 11^{ème} élément le plus abondant avec 1120 ppm. Malgré que la croûte terrestre soit peu riche en azote (19 ppm), l'atmosphère constitue un stock d'azote important avec 78,1 % en volume.

Greenwood, N. N., and A. Earnshaw. Chemistry of the Elements. Elsevier, 2012.

Une grande partie du travail expérimental et analytique a été réalisée dans une salle blanche de classe 100 (concentration maximale de 100 particules ($\geq 0,1 \mu\text{m}$) par m³ d'air) à l'aide de hotte à flux laminaire (classe 100). Le manipulateur reste encore une source de contamination et cela nécessite le port de blouse, charlotte, gants et sabots utilisés exclusivement dans le cadre de manipulation en salle blanche.

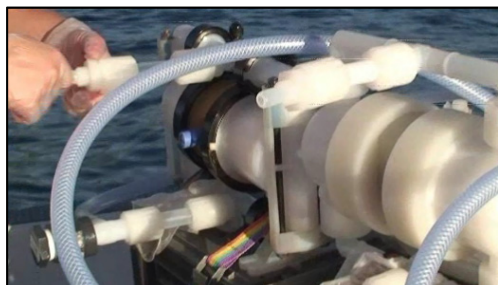
2.2. Du prélèvement à l'échantillonnage

En plus des conditions « ultra-propres » en salle blanche, de nombreuses précautions doivent être prises au moment du prélèvement et de l'échantillonnage.

2.2.1. Prélèvement à l'aide de pompe à soufflet en Teflon®

Afin de prélever de l'eau de surface, nous avons utilisé une pompe en *Teflon*® (Figure II.) actionnée par de l'air comprimé, et reliée par un tuyau *Nalgene*™ en polyéthylène tressé avec

à son bout un lest téflonné. Avant le prélèvement, la pompe, et le tuyau sont rigoureusement rincés à l'eau de mer.



Le prélèvement par la pompe en *Teflon*® a été réalisé dans le cadre des expériences en minicosme (voir section 4.2)

Figure II.1 : Image des pompes en Teflon® lors d'un prélèvement dans le cadre du projet CHIPIE

2.2.2. Prélèvement à l'aide de l'IWS III « Integrating Water Sampler »



Dans le cadre du projet MedSea (voir section 4.1), les prélèvements ont été réalisés grâce à l'IWS III (Hydro-Bios©) (Figure II.). Un moteur, alimenté par une batterie rechargeable en lithium, actionne un piston et permet un prélèvement automatique sur une profondeur intégrée de 10 mètres. Avant chaque prélèvement, l'ISW III est rincé à l'eau de mer.

Figure II.2 : Image de l'ISW III (Hydro-Bios©) pour le prélèvement automatique sur une profondeur intégrée

2.2.3. Prélèvement à l'aide de bouteilles GO-FLO

Afin de réaliser des profils d'éléments à l'état de traces tels que le fer (campagne OUTPACE), une rosette « TMC » (Trace Metal Clean) dite « rosette propre » est équipée de bouteilles GO-FLO (Figure II.). Contrairement aux bouteilles Niskin, l'intérieur des bouteilles GO-FLO est recouvert de téflon, l'accastillage est en matière plastique, et les bouteilles sont mises à l'eau fermée (pour éviter des contaminations en surface). Le treuil de la rosette « TMC » est équipé d'un câble en Kevlar® (fil gainé en polyester).

Les bouteilles GO-FLO sont ensuite installées dans un conteneur propre à bord du navire et mises sous pression par de l'azote filtré pour effectuer les prélèvements (Figure II.).



Figure II.3: Images de la rosette "TMC" (gauche) et des bouteilles GO-FLO installées dans le container propre à bord de l'Alatante dans le cadre de la mission OUTPACE

2.2.4. Filtration et échantillonnage

Des filtrations sont nécessaires pour certains paramètres à la forme dissoute tels que les nutriments. Elles peuvent être faites soit directement lors du prélèvement, soit de retour au laboratoire sous hotte à flux laminaire.

- filtration directe :

Une cartouche de filtration en acétate de cellulose *Sartorius*TM *Sartobran* de 0,2 μm de porosité (avec un pré-filtre à 0,45 μm) est placée à la sortie de la pompe en *Teflon*[®] ou de la bouteille GO-FLO (Figure II.). La cartouche est préalablement rincée pendant plusieurs minutes à l'eau de mer avant l'échantillonnage.



Figure II.4: Images de filtration sur cartouche SartoriusTM (0,2 μm) en sortie de pompe en Teflon[®] (à gauche) et en sortie de bouteille GO-FLO (à droite).

- filtration sous hotte à flux laminaire :

Les filtrations en laboratoire sont effectuées sous hotte à la flux laminaire (classe 100) à l'aide de cocottes de filtration *Nalgene*TM en polyéthylène (Figure II.5), préalablement lavées à l'acide chlorhydrique *Merck*TM *Suprapur*[®] à 1% et rincées à l'eau ultra-pure (résistivité = **18.2 MΩ.cm⁻¹**). Les échantillons sont filtrés sur des filtres en polycarbonate 0.2 µm (*Whatman*TM, *Nucleopore*[®]) de diamètre 47 mm. Ils sont rigoureusement lavés à l'acide chlorhydrique *Merck*TM *Suprapur*[®] à 5% pendant 30 minutes, puis abondamment rincés à l'eau ultra-pure puis laissés pendant 24h dans l'acide chlorhydrique *Merck*TM *Suprapur*[®] à 1%. Après rinçage avec l'eau ultra-pure, ils sont conservés dans un flacon en *Teflon*[®] avant leur utilisation. Lors de chaque filtration, 50-100 ml d'eau de mer passe à travers le filtre afin de rincer le système de filtration (cocotte et filtre).



Figure II.5: Image des cocottes de filtration sous hotte à flux laminaire lors du projet CHIPIE

Dans le cadre de la thèse

Filtres 0.2 µm en polycarbonate, pour quels paramètres ?

- nutriments inorganiques sous forme dissoute : fer, nitrate, phosphate
- nutriments organiques sous forme dissoute, azotés et phosphorés

Pour les mesures nanomolaires des nutriments, les échantillons ont été récoltés dans des flacons *Nalgene*TM en polyéthylène de haute densité (HDPE), préalablement lavés selon la procédure suivante :

- 1 semaine dans une solution à 2% de surfactant (*Decon*[®] *Neutracon*TM)
- rinçage à l'eau ultra-pure
- 1 semaine dans une solution à 10% d'acide chlorhydrique
- rinçage à l'eau ultra-pure

- 1 semaine dans une solution à 1% d'acide chlorhydrique *Merck™ Suprapur®*
- rinçage à l'eau ultra-pure et séchage sous hotte à flux laminaire

Les flacons ont été ensuite conservés avec de l'acide chlorhydrique *Merck™ Suprapur®* à 1% rempli au $\frac{1}{4}$ du flacon.

3. Simulation de forçages atmosphériques

3.1. Acidification de l'océan : augmentation de la pression partielle en dioxyde de carbone ($p\text{CO}_2$)

Afin d'étudier l'effet de l'acidification de l'océan, des expériences ont simulé des scénarios de $p\text{CO}_2$ perturbée, via des minicosmes (projet CHIPIE, section 4.2) et via des mésocosmes (projet MedSea, section 4.1). Pour diminuer le pH de l'eau de mer, ou autrement-dit augmenter la $p\text{CO}_2$, un volume d'eau de mer filtrée et saturée en CO_2 (bullage pendant plusieurs minutes) a été ajouté dans le milieu (Figure II, C). Selon les caractéristiques physico-chimiques du milieu et la perturbation souhaitée, le volume d'eau de mer saturée en CO_2 à ajouter a été déterminé avec le « package » Seacarb du logiciel R (Lavigne et al., 2014). Afin d'homogénéiser, un système de diffusion a été utilisé pour l'addition d'eau de mer saturée en CO_2 sur toute la profondeur du mésocosme (Projet MedSea) (Figure II, A). Dans le cadre du projet CHIPIE, le minicosme était équipé d'une hélice motorisée permettant une légère agitation horizontale (Figure II, B).

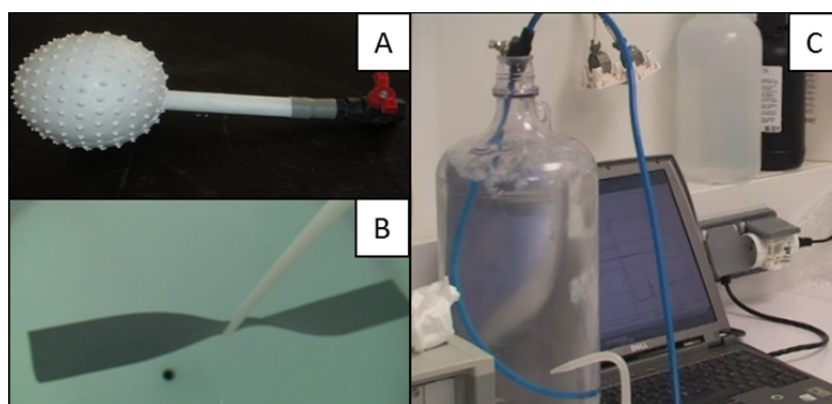


Figure II.6 : système de diffusion de l'eau de mer saturée en CO_2 dans le mésocosme dans le cadre du projet Medsea (A). Agitation horizontale par une hélice dans le minicosme (B) et saturation en CO_2 pure d'eau de mer filtrée (C) dans le cadre du projet CHIPIE

3.2. Ensemencement artificiel de poussière saharienne

3.2.1. Production d'un analogue d'aérosol saharien

D'après Bergametti et al. (1989), les dépôts de poussières sahariennes dans le bassin nord-est méditerranéen proviennent de trois régions :

- région 1 : est de l'Algérie / Tunisie/ ouest de la Lybie (Figure II. , A)
- région 2 : Maroc / ouest de l'Algérie (Figure II., B)
- région 3 : au sud de 30°N (Figure II., C)

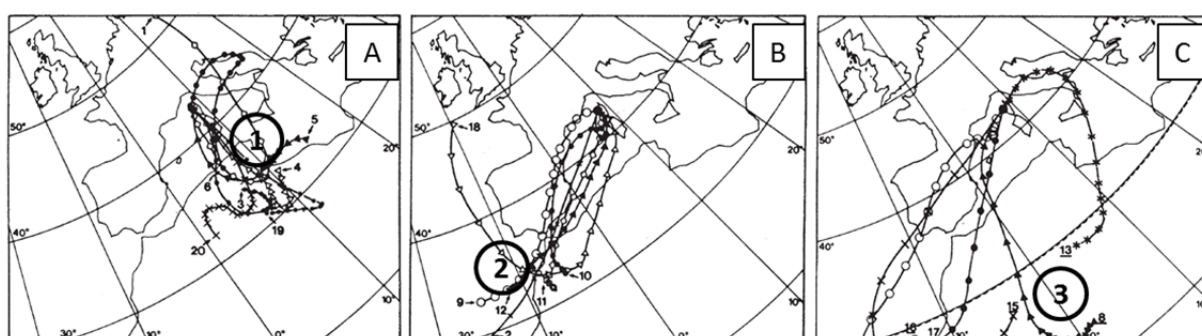


Figure II.7 : Trajectoires des masses d'air transportant des poussières sahariennes provenant de trois régions (1, 2 et 3), entre février 1985 et avril 1986. (D'après Bergametti et al., 1989)

La méthodologie détaillée pour la production d'un analogue d'aérosol saharien a été publiée dans Guieu et al. (2010a). Brièvement, les expériences d'ensemencement artificiel de poussières sahariennes ont été réalisées à partir du sol collecté au sud de la Tunisie (33°25'38"N, 9°02'08"E), séché et tamisé à 20 μm . Afin d'imiter les processus d'évapo-condensation dans les nuages que subissent les aérosols sahariens lors de leur transport dans l'atmosphère, on a réalisé un « vieillissement » artificiel du sol collecté, basé sur l'étude de Desboeufs et al. (2001). La première étape de condensation a été simulée par le mélange de poussières sahariennes et d'eau ultra-pure acidifiée contenant de l'acide sulfurique, nitrique et oxalique. La seconde étape d'évaporation a consisté à sécher le mélange sous un flux d'air propre. Ce cycle condensation-évaporation a été répété plusieurs fois.

3.2.2. Caractéristiques de l'analogue

La distribution de taille des particules a montré que 99 % (en nombre) des particules minérales avaient un diamètre inférieur à 1 μm . Cet analogue était composé majoritairement de quartz (40 %), de calcite (30 %) et d'argile (25%). Les pourcentages massiques de

phosphore et de fer de l'aérosol « vieilli » étaient semblables à ceux de l'aérosol non évapo-condensé (0.05 et 2.31 % en P et Fe respectivement). En revanche, le vieillissement de l'aérosol avec l'acide nitrique a permis un enrichissement d'azote d'un facteur 10 (Tableau II.1).

	Aérosol « non vieilli »	Aérosol « vieilli »
Fe	$2,28 \pm 0,19$ %	$2,31 \pm 0,04$ %
P	$0,04 \pm 0,01$ %	$0,05 \pm 0,01$ %
N	$0,11 \pm 0,01$ %	$1,15 \pm 0,03$ %

Tableau II.1: composition massique (%) de fer (Fe), phosphore (P) et azote (N) dans l'analogue d'aérosol saharien avant et après le vieillissement artificielle (d'après Guieu et al., 2010b)

3.2.3. Simulation d'un dépôt humide de poussières sahariennes

Dans le bassin nord-ouest méditerranéen, le flux annuel moyen de dépôt de poussières sahariennes a été estimé à $12,5 \text{ g m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ sur une série temporelle de 11 ans (Loÿe Pilot and Martin, 1996) et $11,4 \text{ g m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ sur 4 années (Ternon et al., 2010). Les expériences d'ensemencements artificiels de poussières sahariennes conduites en minicosme (section 4.2) ont simulé un dépôt humide de 10 g m^{-2} . Avec une surface de $0,36 \text{ m}^2$, $3,6 \text{ g}$ d'analogue d'aérosol saharien « vieilli » dilués dans 2 L d'eau ultra-pure, ont été pulvérisés à la surface du minicosme (Figure II.8).

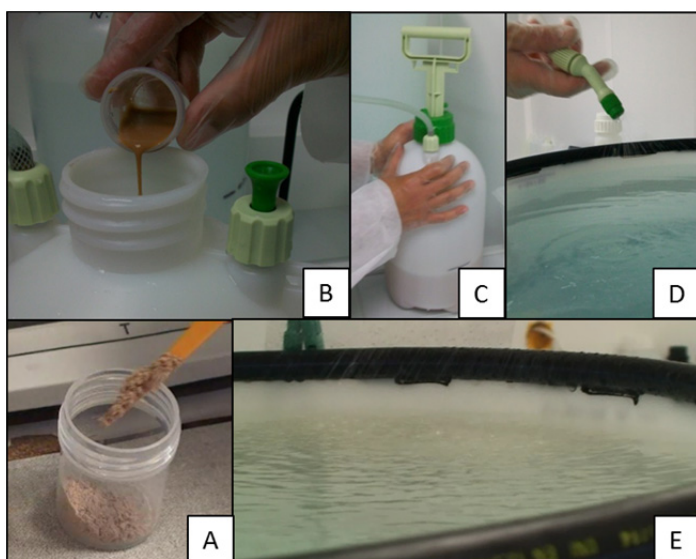


Figure II.8 : Analogie de poussières sahariennes (A). Dilution de l'analogue dans l'eau ultra pure (B), (C) et pulvérisation à la surface de minicosme (D), (E).

4. Méthodologie pour les expériences de simulation de forçages atmosphériques

4.1. En condition biotique : expériences en mésocosme (projet MedSea)

La méthodologie détaillée du projet Européen « **Mediterranean Sea Acidification in a Changing Climate project (MedSea** ; www.medsea-project.eu) a été décrite dans Gazeau et al. (soumis-a).

4.1.1. Objectif et site d'étude

Un des objectifs du projet européen MedSea (EC FP7⁹) a été d'étudier l'effet de l'acidification sur l'écosystème pélagique Méditerranéen via des expériences en mésocosmes. Deux expériences ont été réalisées dans des conditions biogéochimiques contrastées (Figure II.9). Une première expérience a été conduite dans la baie de Calvi notée « BC » (Corse, France) durant l'été (juin-juillet 2012), et une seconde expérience dans la baie de Villefranche sur mer notée « BV » (France) au cours de l'hiver (février-mars 2013).

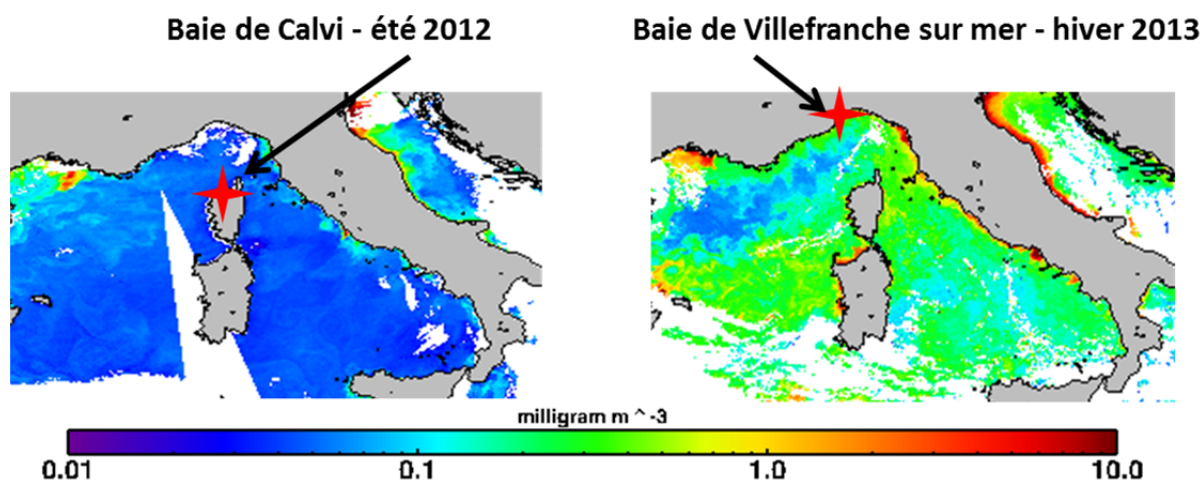


Figure II.9 : Comparaison de la concentration en chlorophylle a (mg m^{-3}) mesurée par satellite MODIS aux deux sites d'études marquées par une étoile (baie de Calvi à gauche, baie de Villefranche sur mer à droite)

⁹ EC FP7 : European commission's framework programme 7th

4.1.2. Caractéristiques et utilisation des mésocosmes

Afin de simuler des scénarios d'acidification dans des conditions *insitu*, des mésocosmes « propres » conçus dans le cadre du projet ANR DUNE (<http://www.obs-vlfr.fr/LOV/DUNE/>) ont été utilisés. Ils ont été fabriqués à partir de matériaux plastiques uniquement afin d'éviter toutes contaminations métalliques. Avec un diamètre de 2,5 m et une hauteur de 12 m, ils ont permis de « piéger » un volume d'eau de mer de 52 m³. Afin de se protéger des apports atmosphériques, les mésocosmes ont été recouverts d'un toit en ETFE¹⁰ (Figure II.10, B) transparent ne modifiant pas le rayonnement solaire incident et surélevé de 10 cm. Un piège à particules a été installé à la base de chaque mésocosme (Figure II.10, A).

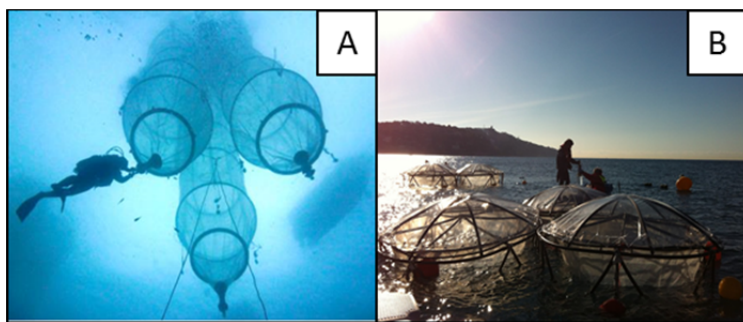


Figure II.10 : Vue de dessous des mésocosmes (A). Vue de dessus des mésocosmes (B)

Pour les deux expériences, 9 mésocosmes ont été déployés sur une période de 20 jours (BC) et de 11 jours (BV) permettant d'avoir 3 mésocosmes non perturbés utilisés comme contrôles (C1, C2 et C3) et 6 mésocosmes perturbés avec 6 niveaux différents de $p\text{CO}_2$ (P1 à P6) (Tableau II.2). L'acidification des mésocosmes s'est déroulée sur une période de 4 jours (méthodologie section 3.1). Lorsque les $p\text{CO}_2$ souhaitées ont été atteintes, nous avons noté « jour 0 » le début de chaque expérience (24 juin 2012 pour BC ; 21 février 2013 pour BV).

¹⁰ ETFE : éthylène tétrafluoroéthylène

Expériences		C1	C2	C3	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Baie de Calvi	$p\text{CO}_2$	474	465	462	609	731	790	920	1198	1353
	pH	8.01	8.02	8.02	7.92	7.85	7.82	7.76	7.66	7.61
Baie de Villefranche	$p\text{CO}_2$	378	347	350	494	622	690	743	932	1250
	pH	8.10	8.13	8.13	8.00	7.91	7.87	7.85	7.76	7.63

Tableau II.2 : Conditions initiales (jour 0) de la pression partielle de dioxyde de carbone ($p\text{CO}_2$ en μatm) et du pH à l'intérieur des 9 mésocosmes pour les deux expériences en baie de Calvi (été 2012) et baie de Villefranche sur mer (hiver 2013).

L'installation des 9 mésocosmes s'est organisée en 3 groupes. Chaque groupe était constitué d'un mésocosme contrôle, d'un faible et haut niveau de perturbation (Figure II.115).

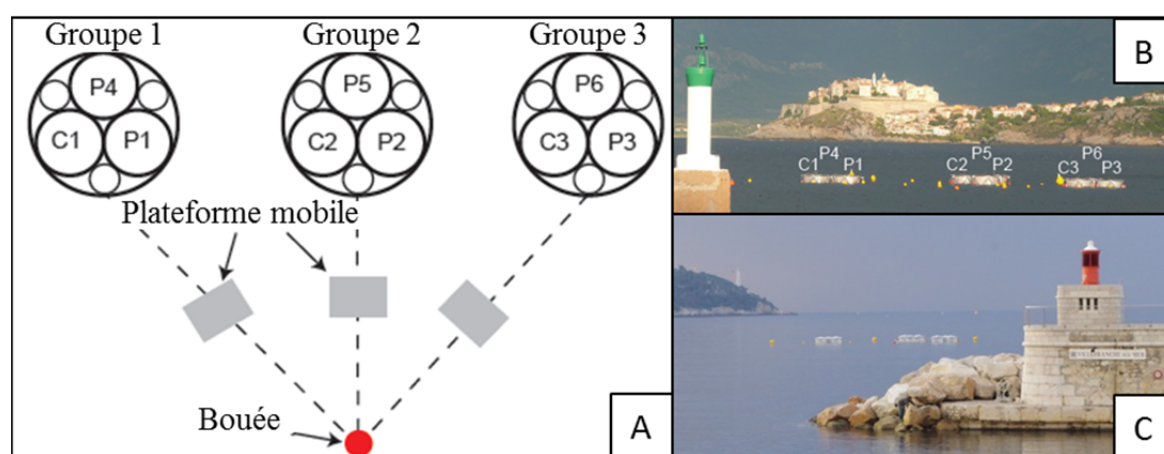


Figure II.115 : Schéma d'installation des groupes de mésocosmes (A). Vue dans la baie de Calvi (B). Vue dans la baie de Villefranche sur mer (C)

Quotidiennement des prélèvements ont été effectués grâce à l'IWS III (Hydro-Bios©) (voir section 2.2.2) à l'intérieur de chaque mésocosme et à l'extérieur noté « OUT ».

4.2. En condition abiotique : expériences en minicosme (projet CHIPIE)

4.2.1. Objectif et site d'étude

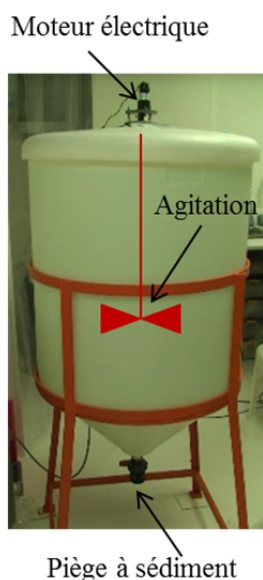
L'un des objectifs du projet CHIPIE (« Comportement des éléments d'intérêt biogéochimique et du carbone particulaire aux interfaces atmosphère-océan et continent-océan dans un contexte d'évolution des conditions environnementales ») était d'étudier les effets du couplage de deux forçages atmosphériques (dépôt de poussières sahariennes et acidification) sur la biodisponibilité des nutriments et la dynamique de la matière organique. Trois

expériences en laboratoire et plus précisément en salle blanche (voir section 2.1) ont été réalisées à 3 périodes biogéochimiquement distinctes : mai 2013, octobre 2013 et janvier 2014. Afin de s'affranchir des processus biologiques et de la matière particulaire, les expériences ont été réalisées en condition abiotique avec de l'eau de mer prélevée à 5 m de profondeur et filtrée directement à $0,2\ \mu\text{m}$ (voir sections 2.2.1 et 2.2.4) en baie de Villefranche sur mer.

4.2.2. Caractéristiques du minicosme

Une alternative aux expériences en bouteilles a été l'utilisation de minicosmes installés en salle blanche permettant d'avoir un système à une dimension (verticale). Il s'agit de cuves en polyéthylène (PE) préalablement lavés selon la procédure suivante :

- nettoyage des parois au *Decon*[®] *Neutracon*[™]
- rinçage à l'eau déminéralisée
- nettoyage avec de l'acide chlorhydrique *Merck*[™] *Emsure*[®] (32%) dilué à 10%.
- rinçage à l'eau ultra-pure
- nettoyage avec de l'acide chlorhydrique *Merck*[™] *Suprapur*[®] (30%) dilué à 10%
- rinçage abondant à l'eau ultra-pure



Le couvercle et la paroi non transparente du minicosme permet d'éviter la pénétration de la lumière (absence de processus photochimique). Avec un diamètre de 0,68 m, une hauteur de 1,09 m et une surface de $0,36\ \text{m}^2$, le minicosme a été rempli d'un volume de $0,31\ \text{m}^3$ d'eau de mer filtrée. La base conique du minicosme a été conçue pour installer un piège à particules. Une hélice a été installée à l'intérieur du minicosme, alimentée par un moteur fixé au-dessus du couvercle, dans le but de créer une légère turbulence (9 rpm) (Figure II.12).

Figure II.12 : Vue d'un minicosme installé en salle blanche, équipé d'un piège à sédiment et d'un système de turbulence

4.2.3. Méthodologie de l'expérience (Figure II.13)

Afin d'étudier l'effet de l'acidification sur les processus qui ont lieu après un dépôt de poussières sahariennes, 2 minicosmes ont été utilisés : un premier minicosme dit non acidifié « NA » dans lequel on a simulé un évènement saharien de 10 g m^{-2} ; et un second minicosme dit acidifié « A » dans lequel on a augmenté la $p\text{CO}_2$ ($1250 \text{ } \mu\text{atm}$, prédiction pour 2100 par l'IPCC, 2007) et simulé un évènement saharien de 10 g m^{-2} .

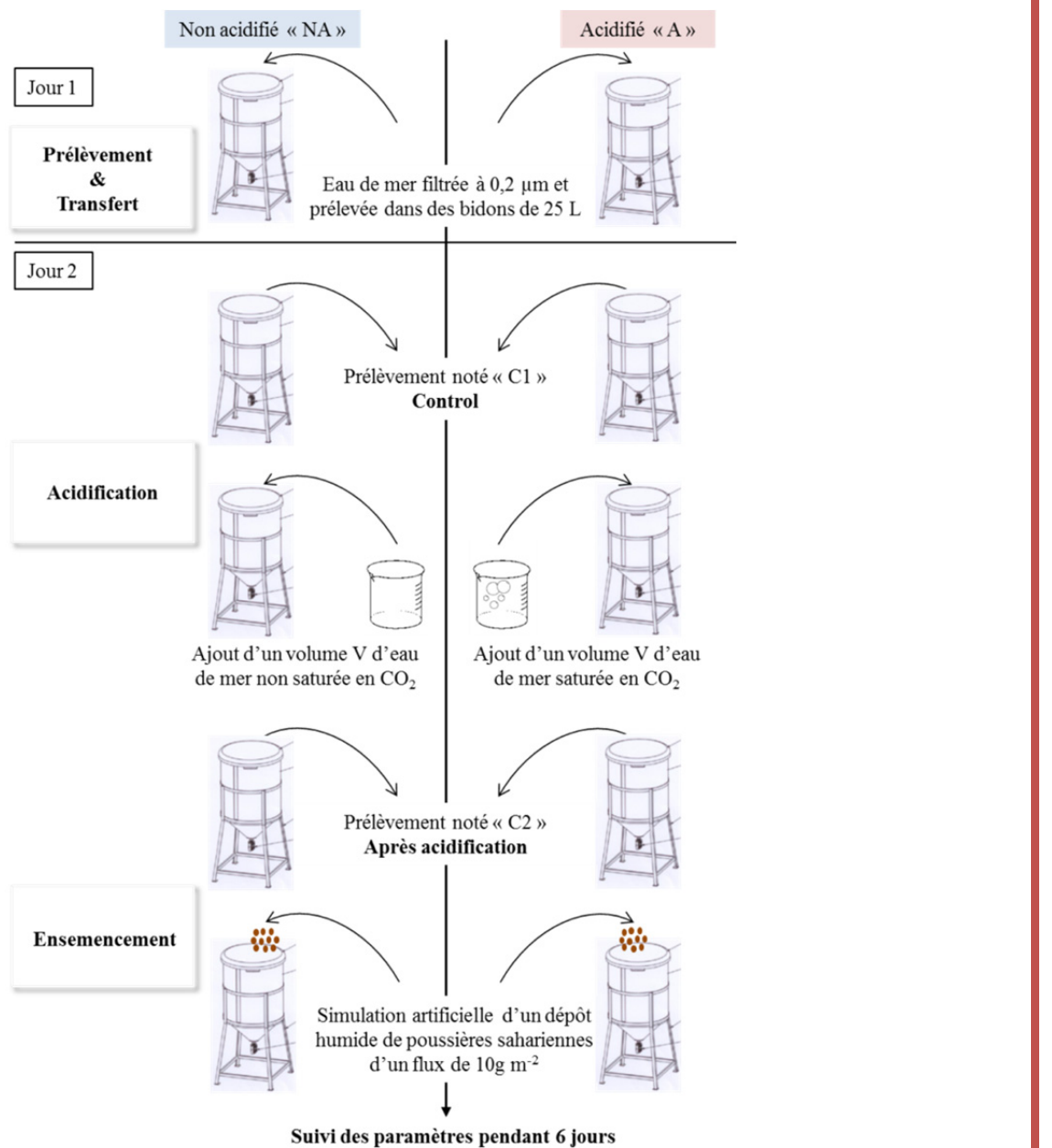


Figure II.13 : Méthodologie des expériences en minicosmes dans le cadre du projet CHIPIE

Après l'ensemencement artificiel dans les deux minicosmes, nous avons suivi pendant 6 jours différents paramètres (Figure II.14) :

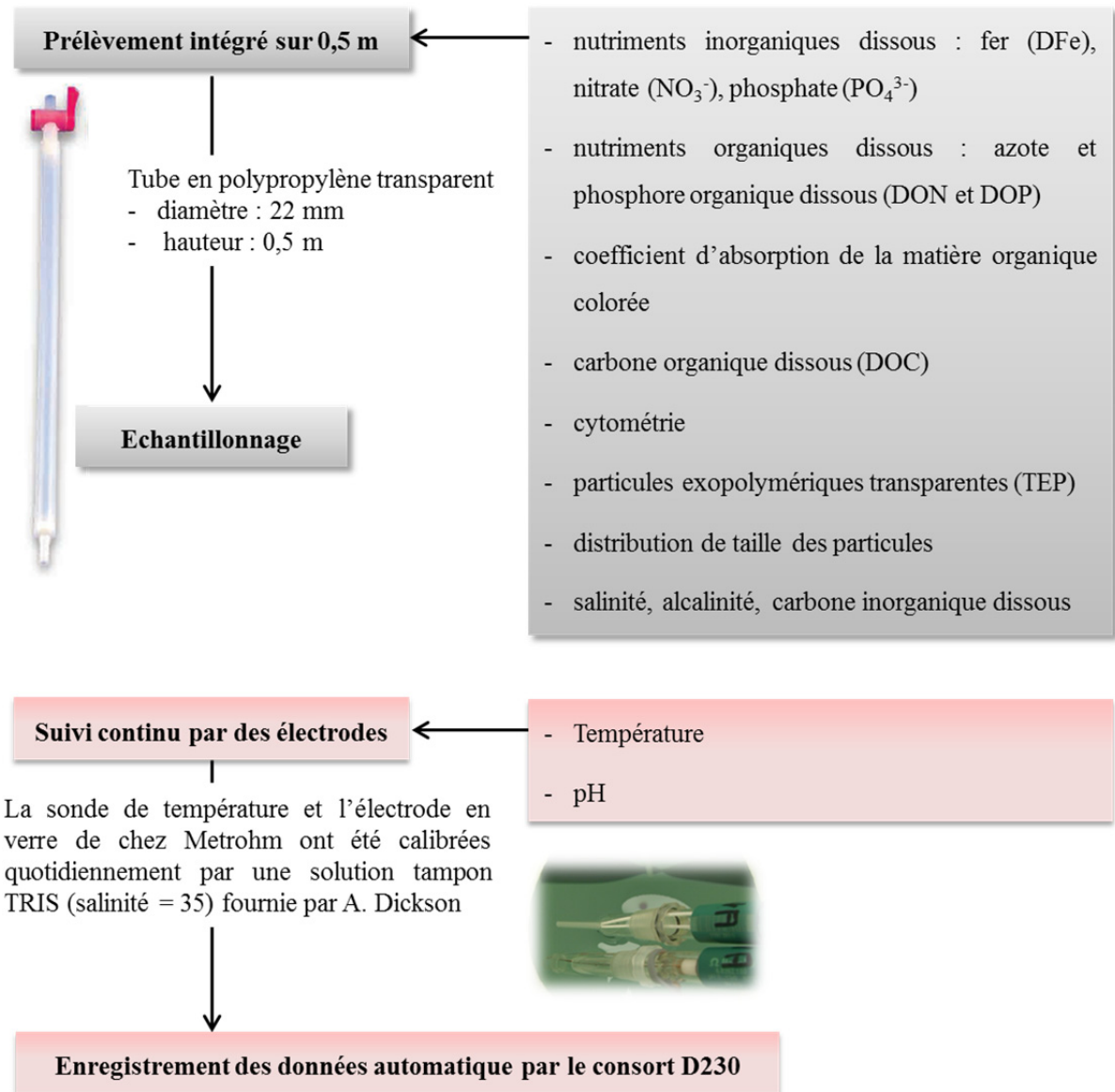


Figure II.14 : Echantillonnage et suivi automatique de différents paramètres au cours des expériences CHIPIE

5. Méthodes d'analyses

5.1. Analyse des éléments nutritifs sous forme inorganique dissoute

Pour l'analyse des nutriments inorganique dissous (fer, nitrate, phosphate), les échantillons sont préalablement **filtrés à 0,2 μm** sous hotte à flux laminaire (voir section 2.2.4), collectés dans des flacons *Nalgene*TM en HDPE de 60 ml, et **acidifiés avec 60 μl d'acide chlorhydrique *Merck*TM *Ultrapur*[®]**.

5.1.1. Analyse des phosphates (PO_4^{3-}) et des nitrates (NO_3^-)

- Une approche alternative : utilisation d'un capillaire optique appelé « LWCC¹¹ »

Typiquement les eaux de surfaces en mer Méditerranée sont appauvries en nutriments au cours de la période de stratification. Les concentrations en NO_3^- et PO_4^{3-} sont en dessous de 0,05 μM au cours de l'été (Marty et al., 2002). Elles sont donc difficilement mesurables avec des techniques traditionnelles comme les analyses automatiques par flux continu (CFA) avec des limites de détection de 0,1 et 0,03 μM pour NO_3^- et PO_4^{3-} respectivement (Patey et al., 2008). Dans le cadre de cette thèse, nous avons utilisé une technique alternative manuelle pour l'analyse de PO_4^{3-} et NO_3^- à niveau nanomolaire via un capillaire optique « LWCC » installé en salle blanche (Figure II.15). Les méthodes d'analyses pour PO_4^{3-} et NO_3^- étant spectrophotométriques, nous augmentons la sensibilité analytique via un chemin optique (longueur du capillaire) entre 1 et 2,5 m (avec le Technicon AutoAnalyser, la cellule optique est de 1 cm). Le capillaire fabriqué en quartz est rigoureusement nettoyé avec une solution diluée d'hydroxyde de sodium NaOH à 1M, de l'acide chlorhydrique *Merck*TM *Suprapur*[®] à 1% et de l'eau ultra-pure.

¹¹ LWCC : Liquid Waveguide Capillary Cell

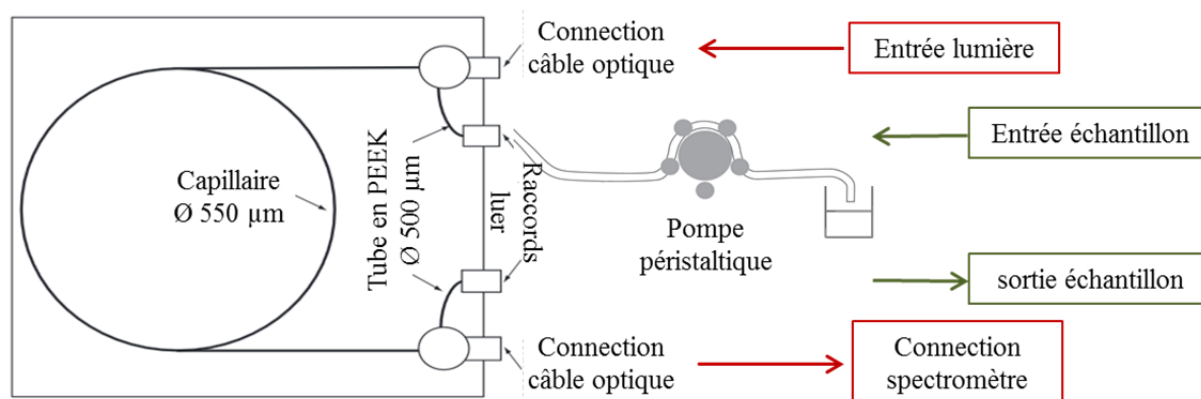


Figure II.15 : Schéma d'installation des mesures discrètes par LWCC

- Analyse des phosphates :

La mise au point de l'analyse de PO_4^{3-} par LWCC a été décrite dans Pulido-Villena et al., 2010. Elle repose sur la méthode colorimétrique de Murphy et Riley (1962) qui consiste à former un complexe bleu formé par la présence de PO_4^{3-} , de molybdate d'ammonium, de tartrate d'antimoine et d'acide ascorbique. Les mesures d'absorbance ont été effectuées à la longueur d'onde de 710 nm et sont proportionnelles à la concentration en phosphate [PO_4^{3-}] dans l'échantillon (Loi de Beer-Lambert). Les réactifs ont été préparés quotidiennement selon le protocole de Zhang et Chi (2002) et Zimmer et Cutter (2012) :

Réactif (1)

- molybdate d'ammonium (40 g L^{-1} dans l'eau ultra-pure)
- tartrate d'antimoine de potassium (3 g L^{-1} dans l'eau ultra-pure)
- d'acide sulfurique 5N

Réactif (2)

- acide ascorbique (27 g L^{-1} dans l'eau ultra-pure)
- solution surfactant SDS (10 g L^{-1} dans l'eau ultra-pure)

Toutes les calibrations ont été réalisées dans l'eau ultra-pure et un blanc optique d'eau de mer (sans réactif) a été effectué avant le passage des échantillons. Un chemin optique de 2,5 m et 1,0 m a été utilisé pour les projets MedSea et CHIPIE respectivement permettant d'avoir une limite de détection autour de 1 nM et un écart type relatif de moins de 10 % pour la répétabilité et la reproductibilité.

Analyse PO_4^{3-}

Pour un volume d'échantillon de 30 ml :

- 2,1 ml réactif 1
 - 0,9 ml réactif 2
- } Réaction complète après 15 minutes

- Analyse des nitrates :

La mise au point analytique de l'analyse des nitrates par LWCC (1-m) s'est basée sur les études précédentes de Yao et al. (1998), Zhang (2000), Adornato et al. (2007) et Li et al. (2008). Le principe d'analyse des nitrates repose sur la méthode spectrométrique de Griess qui permet de former un composé coloré azoïque en présence de nitrite (NO_2^-), de sulfanilamide (réactif 1 ; 10 g L^{-1} dans une solution diluée HCl Merck™ Suprapur® + solution surfactant Brij-35) et de NED (réactif 2 ; 1 g L^{-1} dans l'eau ultra-pure) en milieu acide ($\text{pH} < 2$). Le composé final est détecté à une longueur d'onde de 540 nm (Figure II.16).

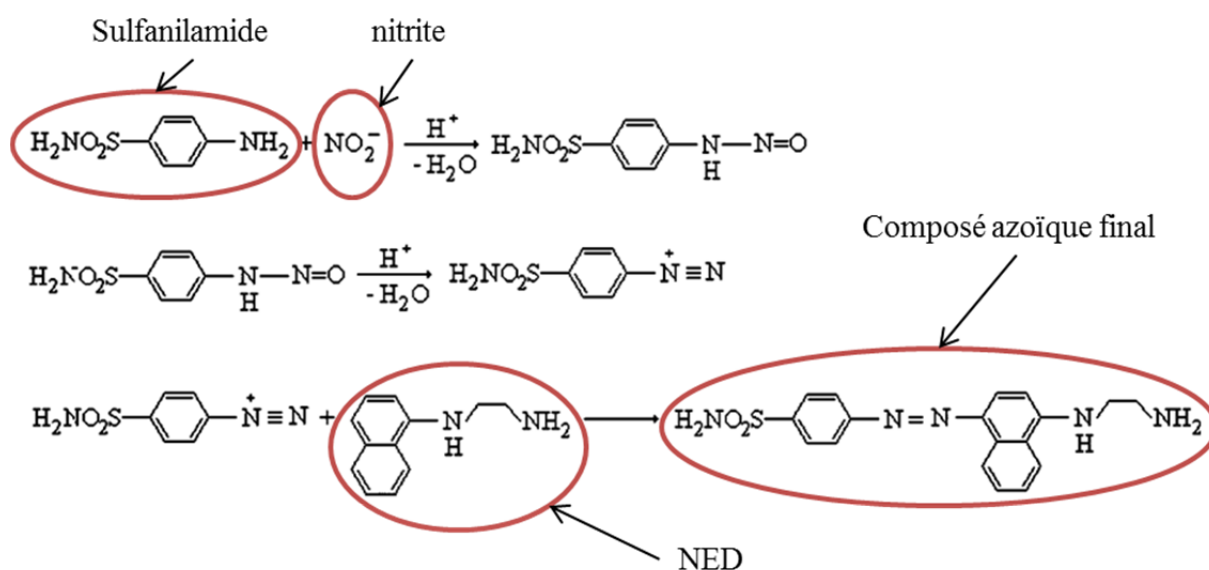
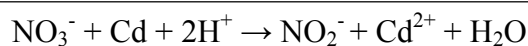


Figure II.16 : principe de la réaction de Griess (modifiée d'après Chen et al., 2008)

Pour l'analyse des nitrates, l'échantillon doit subir au préalable une étape de réduction via une colonne de cadmium (Cd) préalablement traitée avec une solution de sulfate de cuivre ($CuSO_4$) (Gal et al., 2004) (*annexe : protocole fabrication de la colonne*). Le passage de l'échantillon dans la colonne ($\text{pH} \sim 8$) permet de réduire NO_3^- en NO_2^- (Equation II.1). Après la réaction de colorimétrie, la somme NO_2^- (initial) + NO_2^- (après réduction de NO_3^-), **noté NO_x** , est quantifiée via les droites de calibration réalisées dans l'eau ultra pure. Avant le

passage des échantillons, nous effectuons un blanc optique d'eau de mer (sans réactif) afin de s'affranchir de sa matrice. Pour obtenir la concentration en NO_3^- , la concentration en NO_2^- est soustraite à la concentration en NO_x .



Équation II.1: équation de réduction des nitrates (NO_3^-) en nitrites (NO_2^-) via le cadmium (Cd)

Avec un chemin optique de 1 mètre (utilisé dans les projets MedSea et CHIPIE), nous obtenons une limite de détection de 2 et 9 nM pour l'analyse de NO_2^- et NO_3^- respectivement. La répétabilité et la reproductibilité analytique est de l'ordre de 3 et 6 % (testée avec une solution de référence *Merck™ Certipur®*). Les échantillons avec une concentration en nitrate supérieure à la gamme de linéarité ($[\text{NO}_3^-] > 500 \text{ nM}$) sont préalablement dilués avec une eau de mer appauvrie en nitrate, avant analyse.

Analyse NO_x

Pour un volume d'échantillon de 15 ml :

- 10 ml d'une solution de tampon d'imidazole lors du passage dans la colonne de cadmium
 - 2 ml réactif 1
 - 2 ml réactif 2
- } Réaction complète après 15 minutes

5.1.2. Analyses du fer dissous (DFe)

Les mesures de fer dissous à bas niveau ont été réalisées via les analyses par injection en flux continu et détection par chimiluminescence (FIA-CL). La méthode basée sur l'étude d'Obata et al. (1993) a été optimisée et décrite par Bonnet et Guieu (2006). Afin de quantifier des faibles concentrations de fer dissous [DFe], le pH des échantillons a été ajusté à 4,5 – 5,0 par l'ajout de tampon acétate d'ammonium (purifié) et d'ammoniac *Ultrapur®* avant l'étape de pré-concentration via une résine MAF-8HQ (à pH ~ 5, la résine collecte {Fe(II) + Fe(III)}_{dissous}). Après élution du fer dissous collecté sur la résine par une solution d'acide chlorhydrique (HCl) (0,4 M), l'éluant est mélangé avec une solution de luminol (0,74 M), une solution d'hydroxyde d'ammonium (NH_3OH) (1M) et une solution de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (0,7 M). Une réaction de luminescence a donc lieu entre le luminol et H_2O_2 , catalysée

par DFe en milieu alcalin. Cette réaction émet des photons qui sont ensuite détectés par un photomultiplicateur et proportionnels à la quantité de DFe dans l'échantillon.

Dans le cadre des projets MedSea et CHIPIE, les droites de calibration ont été réalisées dans de l'eau de mer prélevée au site DYFAMED. La limite de détection était autour de 20 pM ; la répétabilité et la reproductibilité étaient inférieures à 10 %. Afin de tester la justesse analytique, des eaux de mer de référence ont été utilisées (Tableau II.3) : NASS-5 (Eau de mer de surface en nord Atlantique), D1-508 et D2-77 (eau de mer de référence SAFe prélevée lors des campagnes GEOTRACES).

	Valeur de référence	Concentration mesurée
NASS-5	$3.763 \pm 0.001 \text{ nM}$	$3.74 \pm 0.19 \text{ nM}$
D1-508	$0.67 \pm 0.04 \text{ nM}$	$0.67 \pm 0.03 \text{ nM}$
D2 -77	$0.933 \pm 0.023 \text{ nM}$	$0.938 \pm 0.010 \text{ nM}$

Tableau II.3: Valeurs cibles et valeurs mesurées de la concentration en fer dissous dans les eaux de mer de référence

Analyse DFe

Pour un débit d'échantillon de 2 mL min^{-1} et un débit de réactifs de 1 mL min^{-1} :

- temps de pré-concentration : 120 secondes
- temps de rinçage de la colonne : 30 secondes
- temps d'acquisition : 150 secondes

5.2. Analyses de la matière organique dissoute

5.2.1. Analyses du phosphore et azote organique dissous



Figure II.17 : vue du digesteur UV 705 chez Metrohm

Pour l'analyse des nutriments organique dissous (DON et DOP), les échantillons sont préalablement **filtrés à $0,2 \mu\text{m}$** sous hotte à flux laminaire (voir section 2.2.4), collectés dans des flacons *Nalgene*TM en HDPE de 120 ml. Les échantillons sont ensuite transférés dans des tubes en quartz, préalablement lavés à l'acide chlorhydrique *Merck*TM *Suprapur*[®] (30%) et rincés à l'eau ultra pure.

Selon la méthode de photo-oxydation par la lumière ultra-violette (UV) décrite par Armstrong et Tibbits (1968), les échantillons sont irradiés pendant 90 minutes avec une lampe à vapeur de mercure, en utilisant le digesteur UV 705 (Metrohm) (Figure II.17).

En oxydant la matière organique, les concentrations en phosphore et azote dissous total (TDP et TDN) peuvent ainsi être mesurées par les mêmes techniques analytiques utilisées pour PO_4^{3-} et NO_x ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) (voir section 5.1.1). Ainsi, pour un même échantillon, les concentrations en DOP et DON sont déterminées en soustrayant la concentration en PO_4^{3-} de la concentration en TDP, et la concentration en NO_x de la concentration en TDN respectivement. En considérant que les concentrations en DON et DOP mesurées après photo-oxydation ne représentent que la fraction labile du pool total dissous d'azote et phosphore organique, nous utiliserons dans la suite du manuscrit les termes DON_{UV} et DOP_{UV} .

5.2.2. Analyse du carbone organique dissous

Les échantillons destinés à l'analyse du carbone organique dissous (DOC) sont filtrés sur des filtres GF/F préalablement grillés à 450 °C pendant 4 heures et stockés dans des flacons en verre (vials Wheaton 25 mL), lavés à l'acide chlorhydrique *Merck*TM *Suprapur*[®] (30%), rincés à l'eau ultra pure et séchés à 450 °C pendant 4 heures. Ces échantillons sont immédiatement congelés.

Avant analyse, les échantillons sont décongelés et acidifiés avec 18 µL d'acide phosphorique (H_3PO_4) à 85 %. L'analyse du DOC a été réalisée avec l'autoanalyseur Shimadzu TOC-VCPH équipé du passeur automatique d'échantillon ASI-V, basée sur une oxydation catalytique à haute température (680 °C) transformant les composés organiques en CO_2 . Le CO_2 est ensuite transporté par un gaz neutre vers un détecteur infrarouge (NDIR) et convertit en concentration de DOC ($\mu\text{mol L}^{-1}$) à partir d'une droite de calibration. La justesse analytique et le blanc machine sont déterminées via l'analyse de deux eaux de mer standards : « LCW¹² » ($1 \mu\text{mol C L}^{-1}$) et « DSW¹³ » ($45,5 \mu\text{mol C L}^{-1}$).

¹² LCW : Low Carbon Water

¹³ DSW : Deep SeaWater

5.3. Analyse de la matière colloïdale et particulaire

5.3.1. Analyse des particules exopolymériques transparentes (TEP)

Pour l'analyse des TEP, les échantillons ont été fixés avec une solution de formaldéhyde à 37 % et conservés à 4°C.

Une méthode microscopique pour l'énumération des TEP et la mesure de leur taille a été utilisée au cours de cette thèse, basée sur la méthode de Passow et Alldredge (1994) et modifiée par Pedrotti et al. (2010). A pression faible et constante (< 100 mbar), un aliquote de l'échantillon collecté (entre 15 et 50 mL selon l'abondance des TEP) passe à travers un filtre en polycarbonate (*Nucleopore*[®]) de porosité de 0,2 µm. Le matériel retenu sur le filtre est ensuite marqué par 500 µL d'une solution aqueuse de 0,06 % d'acide acétique et 0,02 % de bleu d'Alcian 8GX[™]. Les filtres sont ensuite montés sur une lame blanche dépolie (*Cyto-clear*[®]) afin d'être observé directement au microscope Axiophot-Zeiss.

Qu'est-ce que le bleu d'Alcian ?

C'est un colorant spécifique des polysaccharides chargés négativement, permettant ainsi de marquer les polysaccharides carboxylés et sulfatés étant les composés majoritaires des TEP.

La distribution de taille des TEP est obtenue de manière semi-automatique grâce à un logiciel de traitement d'image (Image Pro Plus 4) après avoir étudié 2 grossissements successifs (x200 et x400). Les TEP sont ensuite classées selon 15 classes de tailles logarithmiques de 1 à 135 µm et l'abondance total des TEP est donnée en nombre par millilitre (# mL⁻¹).

La distribution de taille des TEP suit une relation de puissance décrite par l'Équation II.2 suivante (McCave, 1984) :

$$dN/d(dp)=k \times dp^{\delta}$$

Équation II.2 : loi puissance de la distribution de taille des particules dans les océans. dN est le nombre de particules par unité de volume pour un diamètre compris entre dp et [dp + d(dp)], avec dp le diamètre de sphère équivalent.

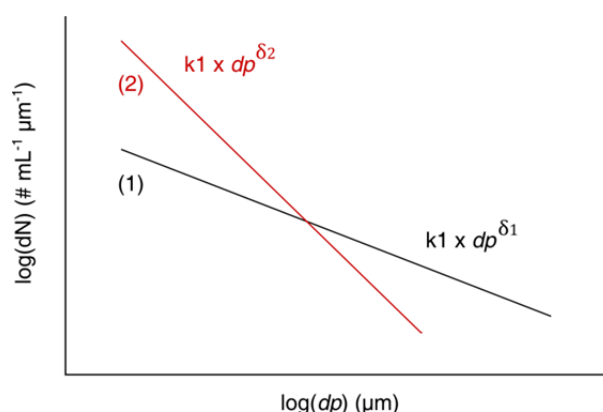


Figure II.18 : distribution de taille des TEP en échelle logarithmique

L'abondance des TEP à une classe de taille donnée est normalisée par l'étendue de la classe de taille ($\# \text{ mL}^{-1} \mu\text{m}^{-1}$). La constante k dépend de la concentration en particules et la pente spectrale δ donne une indication sur l'abondance des petites particules par rapport aux plus larges (Figure II.18).

5.3.2. Mesure de l'export de carbone

Via des pièges à particules, la matière particulaire exportée peut être récoltée et analysée. Au cours de cette thèse, nous nous sommes intéressés à l'export de carbone organique particulaire (POC).

La première étape (1) consiste à analyser le carbone total particulaire, qui correspond à la somme du carbone organique et inorganique (POC + PIC). La seconde étape (2) consiste à déterminer la teneur en PIC, afin de la soustraire à celle du carbone total pour déterminer la teneur en POC (**% POC = % carbone total - % PIC**).

(1) Le carbone total a été mesuré par l'analyseur CHN Perkin Elmer 2400. La méthode repose sur une combustion totale de l'échantillon (aliquote d'environ 15 mg) à une température de 940°C sous courant d'hélium et d'oxygène. Le carbone, l'hydrogène et l'azote présents dans l'échantillon sont transformés respectivement en CO_2 , H_2O et oxydes d'azote, séparés sur une colonne chromatographique et quantifiés par un détecteur à conductivité thermique.

(2) L'estimation de la concentration en PIC a été faite par l'analyse du calcium (Ca) par ICP-OES¹⁴ en considérant que le PIC est uniquement représenté par le carbonate de calcium (CaCO_3). Les échantillons (aliquotes d'environ 20 mg) subissent deux attaques d'acides afin de minéraliser toute la matière organique et siliceuse : une 1^{ère} attaque avec 1 mL d'acide

¹⁴ ICP-AES : Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectroscopy

nitrique (HNO₃) Merck™ Suprapur® 65%, et une 2^{nde} attaque avec 0,5 mL d'acide nitrique (HNO₃) Merck™ Suprapur® 65% et 0,5 mL d'acide fluorhydrique (HF) Merck™ Suprapur® 40 %. Le résidu de la minéralisation, après évaporation, a été repris dans 15 mL de HNO₃.

La teneur en PIC est déterminée selon l'Équation II.3 :

$$\% \text{ PIC} = \% \text{ Ca} \times \frac{12}{40}$$

Équation II.3 : calcul du pourcentage de carbone inorganique dissous à partir de la teneur en calcium estimée par ICP-AES. La valeur « 12 » et « 40 » correspondent aux masses molaires du carbone et du calcium respectivement.

Pour s'assurer de la justesse des analyses, l'analogue de poussières sahariennes a été analysé par CHN et ICP-AES (Tableau II.4), et un matériau de référence GBW-07313 a été mesuré par ICP-AES.

	Mesure	Référence (Guieu et al., 2010a)
carbone total	5,20 ± 0,07 %	5,35 ± 0,06
azote total	1,23 ± 0,04 %	1,15 ± 0,03
calcium	15,92	17,95 ± 1,22
aluminium	4,12	4,12 ± 0,39
fer	2,22	2,31 ± 0,04

Tableau II.4 : pourcentage massique (%) du carbone, azote, calcium, aluminium et fer contenus dans l'analogue de poussières sahariennes évapocondensées

Chapitre III

Dynamique des nutriments à la suite d'un forçage atmosphérique : L'acidification des océans

1. Introduction

2. Dynamique des nutriments sous différents scénarios d'acidification de l'océan dans un système oligotrophe (projet MedSea)

2.1. Résumé

2.2. Article

3. Conclusions et perspectives

3.1. Conclusions et perspectives vers des études multi-facteurs

3.2. Effet de la température et de l'acidification sur la dynamique des nutriments après un bloom printanier en baie de Villefranche sur mer

« On utilise le terme « acidification des océans » pour décrire la diminution du pH de l'eau de mer générée par l'absorption par l'océan du dioxyde de carbone (CO_2) anthropique émis dans l'atmosphère. »

« Le véritable enjeu scientifique serait d'élaborer des expériences à deux ou plusieurs facteurs environnementaux afin de mieux modéliser la réponse de l'écosystème marin dans un contexte de changement climatique. »

1. Introduction

Les pressions anthropiques que subit l'ensemble du bassin méditerranéen, ont conduit notamment à une acidification des eaux de surface plus importante que celle de l'océan mondial (Mermex Group, 2011). Etant donné son caractère oligotrophe, une altération dans la biodisponibilité des nutriments due à un changement de pH affecterait le fonctionnement de la pompe biologique en Méditerranée. Actuellement, peu d'études considèrent les effets de l'acidification sur la spéciation des nutriments qui théoriquement dépend du pH (Figure III.1).

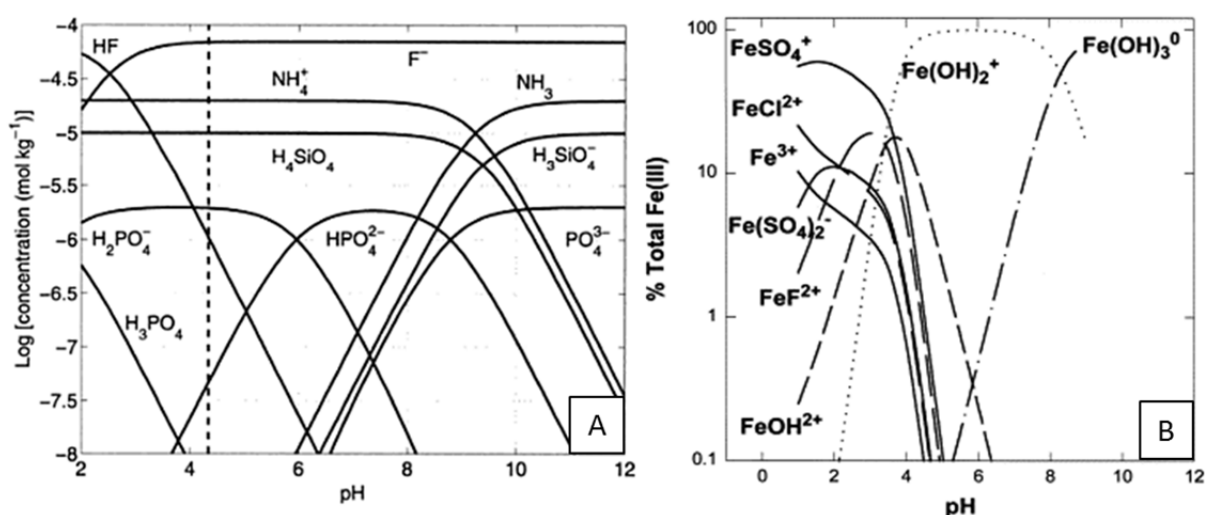


Figure III.1 : Spéciation chimique du silicate, du phosphate, de l'ammonium et du fer (Fe III) dans l'eau de mer en fonction du pH. D'après Zeebe et Wolf-Gladrow, 2001 (A) et Millero, 1998 (B).

Une diminution du pH de l'eau de mer (actuellement $\text{pH} \approx 8,1$) favoriserait la forme ammonium NH_4^+ au détriment de la forme ammoniac NH_3 , diminuerait la concentration en ion phosphate (PO_4^{3-} ; Figure III.1, A) et celle en oxyhydroxyde de fer (Fe(OH)_3 ; Figure III.1, B). Une diminution du pH favoriserait la complexation organique de fer, et permettrait ainsi une augmentation de la solubilité du Fe (III) de l'ordre de 40 % pour une diminution de pH de 8,1 à 7,4 (Millero et al., 2009). Ceci s'accompagnerait d'une diminution du taux d'oxydation de Fe (II) améliorant la biodisponibilité du fer (le temps de demi-vie augmentant de 1 à 24 minutes; Millero et al., 1987).

D'un point de vue autre que chimique, l'acidification impacterait des processus biologiques provoquant des changements dans les cycles des nutriments. Il s'agirait notamment de

l'augmentation de la fixation d'azote et de la diminution du processus de nitrification (e.g. Hutchins et al., 2009), provoquant ainsi une augmentation du rapport $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ et du caractère limitant en P dans les eaux de surface (e.g. CIESM, 2008).

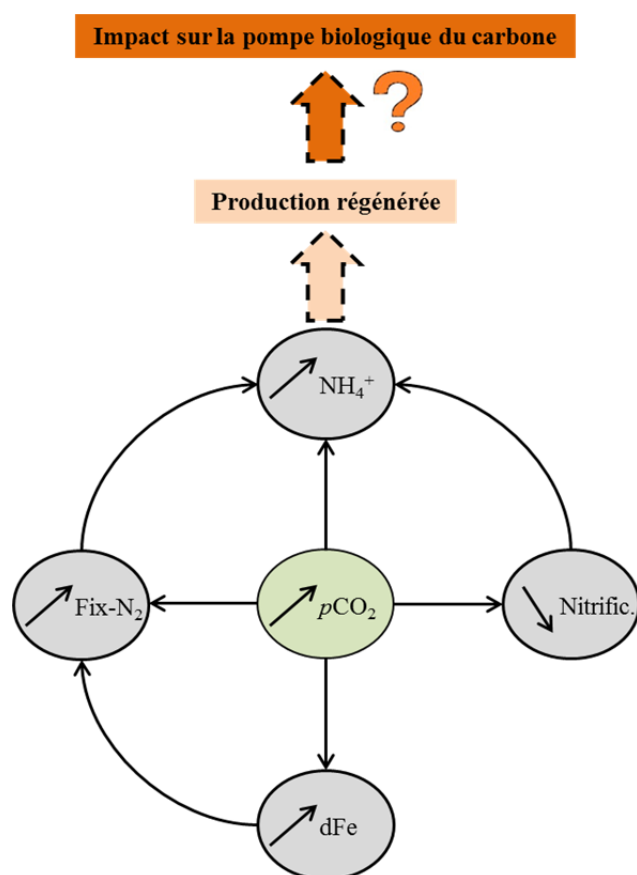


Figure III.2 : Hypothèse sur les impacts de l'élévation de la $p\text{CO}_2$ en milieu marin sur le cycle de l'azote et du fer (Nitrific. : nitrification ; Fix- N_2 : diazotrophes)

De tels effets de l'acidification sur la biodisponibilité des éléments nutritifs pourraient impacter la production et la composition de la communauté planctonique. Du fait d'une augmentation du processus amélioration de fixation d'azote atmosphérique (N_2), d'une diminution de la nitrification et d'une augmentation du ratio $\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$ induites par un niveau plus élevé de la $p\text{CO}_2$ de l'eau de mer dans un système non limitant en fer, le développement des petites espèces autotrophes et des bactéries hétérotrophes serait favorisé (Figure III.2).

Malgré le fait que l'effet du changement de spéciation du phosphore inorganique (DIP) sur sa biodisponibilité soit encore incertain, la stimulation de la fixation de N_2 augmenterait le caractère oligotrophe

de la Méditerranée avec une augmentation de la limitation en P. Dans ce contexte, l'absorption de sa forme organique dissoute (DOP) par les microorganismes en fonction du niveau de $p\text{CO}_2$ devient un sujet d'étude essentiel.

Dans le cadre du projet européen MedSeA, l'effet de l'acidification sur l'écosystème pélagique méditerranéen a été appréhendé au cours de deux expériences en larges mésocosmes pélagiques. L'intérêt était l'étude de cet effet sur un assemblage naturel en conditions environnementales contrastées (été et hiver) (la méthodologie des deux expériences MedSeA est décrite dans la section 4.1 du chapitre II).

Dans le présent chapitre, la dynamique des nutriments sous forme inorganique et organique dissoute selon un gradient de $p\text{CO}_2$ a été étudiée et rapportée dans un article en révision dans *Estuarine, Coastal and Shelf Science* (section 2). Une vision « multi-facteurs » conclut ce chapitre avec comme exemple une étude menée au sein du Laboratoire d'Océanographie de Villefranche à laquelle j'ai participé (section 3).

2. Dynamique des nutriments sous différents scénarios d'acidification de l'océan dans un système oligotrophe (projet MedSeA)

2.1. Résumé

On utilise le terme « acidification des océans » pour décrire la diminution du pH de l'eau de mer générée par l'absorption de l'océan du dioxyde de carbone (CO_2) anthropique émis dans l'atmosphère. Dans le cadre du projet européen MedSeA, deux expériences en mésocosmes ont été réalisées afin d'étudier l'impact de l'acidification sur les communautés planctoniques en milieu pélagique méditerranéen. Une première expérience a été menée au cours de l'été 2012 dans les eaux oligotrophes de la baie de Calvi (Corse, France), suivie par une seconde expérience durant l'hiver 2013 dans la baie de Villefranche-sur-mer (France) avant la floraison printanière. Pour chacune des expériences, neuf mésocosmes ont été déployés, dont trois utilisés comme contrôles et six acidifiés selon un gradient de $p\text{CO}_2$ de 450 à 1250 μatm . A l'aide de méthodes permettant l'analyse des concentrations en nutriments à un niveau nanomolaire, l'évolution des nutriments inorganiques et organiques dissous a été suivie. Le fer dissous, considéré comme un « micro-nutriment » a également été mesuré au cours de la seconde expérience. Les deux expériences étaient caractérisées par des conditions initiales (jour 0) *in situ* contrastées avec un rapport N/P de l'ordre de 1.7 en été et de 117 en hiver, et une fraction importante du stock total de phosphore dissous (40-83 %) et d'azote dissous (78-98 %) sous forme organique. Lors de l'expérience hivernale, une part importante du stock de nitrate a été rapidement consommée à l'intérieur de tous les mésocosmes au cours de l'étape d'acidification, conduisant ainsi à une forte diminution du rapport N/P à (de 117 à 13). Alors que les conditions dans la baie de Calvi sont représentatives des conditions estivales

oligotrophes en mer Méditerranée, en hiver dans la baie de Villefranche, l'artéfact expérimental a engendré une co-limitation de N et P inattendue à cette période de l'année. Ces premières expériences d'acidification en mésocosmes conduites dans une zone pauvre en nutriments et chlorophylle (appelée « LNLC »), ont montré que la dynamique des nutriments n'était pas sensible à une variation de la pression partielle en CO_2 ($p\text{CO}_2$) de l'eau de mer suivant des scénarios climatiques réalistes. Dans ces zones oligotrophes, la dynamique des éléments nutritifs est conditionnée par l'activité biologique. Nos résultats semblent donc indiquer que le pH de l'eau de mer n'est pas le facteur régissant la spéciation des nutriments et les processus biologiques mis en jeu.

2.2. Article

Nutrient dynamics under different ocean acidification scenarios in low nutrient low chlorophyll system: the Northwestern Mediterranean Sea

Louis Justine., Guieu Cécile. et Gazeau Frédéric.

Cet article a été soumis le 19 Février 2015 à *Estuarine, Coastal and Shelf Science*
dans le cadre de l'issue spéciale
« Ocean acidification in the Mediterranean Sea: pelagic mesocosm experiments »

L'article est actuellement en révision.

Nutrient dynamics under different ocean acidification scenarios in a low nutrient low chlorophyll system: the Northwestern Mediterranean Sea

Louis J.^{1}, Guieu C.¹ and Gazeau F.¹*

[1] Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, UMR 7093, LOV, Observatoire
océanologique, F-06230, Villefranche-sur-mer, France

*Corresponding author: justine.louis35@gmail.com

Highlights:

- Mesocosm experiments performed in two Mediterranean sites during two seasons
- Contrasted nutrient stoichiometry in surface waters in summer and winter
- Dissolved organic pool was a large stable fraction of N and P in summer and winter
- CO₂ had no effect on nutrient dynamics that was mostly biologically controlled

Keywords: ocean acidification; plankton community; mesocosm experiments; nutrient dynamics; nitrogen; phosphorus; iron; stoichiometry; Oligotrophy; Mediterranean Sea

Abstract

Two pelagic mesocosm experiments were conducted to study the impact of ocean acidification on Mediterranean plankton communities. A first experiment took place in summer 2012 in the Bay of Calvi (France) followed by an experiment in winter 2013 in the Bay of Villefranche (France) under pre-bloom conditions. Nine mesocosms were deployed: three served as controls and six were acidified in a targeted partial pressure of CO₂ ($p\text{CO}_2$) gradient from 450 to 1250 μatm . The evolution of dissolved organic and inorganic nutrient concentrations was observed using nanomolar techniques. The experiments were characterized by a large contribution of organic nutrients to nutrient pools and contrasting *in situ* conditions with an inorganic N / P ratio of 1.7 in summer and of 117 in winter. In the Bay of Calvi, initial conditions were representative of the summer oligotrophic Mediterranean Sea. While inorganic phosphate concentrations were depleted during both experiments, *in situ* inorganic nitrogen concentrations were higher in winter. However, nitrate was rapidly consumed in winter in all mesocosms during the acidification phase, leading to a decrease in N / P ratio to 13. During these first mesocosm experiments conducted in a low nutrient low chlorophyll area, nutrient dynamics were insensitive to CO₂ enrichment, indicating that nutrient speciation and related biological processes were likely not impacted. During both experiments, nitrate and phosphate dynamics were controlled by the activity of small species that are favored in low nutrient conditions. In contrast to the theoretical knowledge, no increase in iron solubility at high $p\text{CO}_2$ was observed.

1. Introduction

Since the beginning of the industrial era, the atmospheric carbon dioxide (CO₂) level has increased by nearly 40% (from ~280 to 390 ppm in 2011; Hartmann et al., 2013) and may reach between ~450 and ~1000 ppm by 2100 depending on the considered future emission scenario (Collins et al., 2013). As the ocean absorbs about a quarter of total anthropogenic CO₂ emissions (Le Quéré et al., 2014), the increase in CO₂ dissolved in seawater leads to an increase in seawater acidity (decrease in pH). Surface ocean pH has already declined by approximately 0.1 since the beginning of the industrial era (Orr, 2005) and is expected to decrease an additional 0.06 to 0.32 by the end of this century depending on the considered CO₂ emission scenario (Ciais et al., 2013). Although the chemical forms of compounds such

as macro- and micro-nutrients in the ocean are controlled by multiple environmental factors including pH, only a restricted number of studies have addressed the impact of ocean acidification on nutrient dynamics and its consequences on biological activity.

Following established theoretical equilibriums of dissolved inorganic phosphate and ammonium (NH_4^+) in seawater as a function of pH (i.e. Zeebe and Wolf-Gladrow, 2001), a decrease in surface ocean pH expected to occur this century will lead to a decrease of phosphate (PO_4^{3-}) concentrations by up to 80% (and increase in HPO_4^{2-}) and an alteration of the $\text{NH}_4^+ / \text{NH}_3$ equilibrium. Therefore, ocean acidification could directly affect the chemical speciation of phosphorus and nitrogen with impacts on their bioavailability and stoichiometry.

In addition to pH equilibrium reactions, ocean acidification can impact biological processes and indirectly shift nutrient cycles. In the case of nitrogen, an increase in the partial pressure of CO_2 ($p\text{CO}_2$) could (1) enhance nitrogen fixation (e.g. Hutchins et al., 2007) and (2) reduce the rate of marine nitrification (e.g. Beman et al., 2011). The alteration of the $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$ ratio and the increasing trend toward P-limitation could ultimately impact primary production and phytoplankton community structure (CIESM, 2008; Hutchins et al., 2009). For example, Romero et al. (2012) showed that waters rich in NH_4^+ favor the growth of small autotrophic species and heterotrophic bacteria while NO_3^- mostly favor diatom growth.

The organic fraction of dissolved nutrients (dissolved organic nitrogen: DON and dissolved organic phosphorus: DOP) can represent a large source of P and N for microorganisms in oligotrophic areas (e.g. Jackson and Williams, 1985; Karl and Bjorkman, 2002; Bronk, 2007). Regarding DOP, most of its compounds cannot be used by phytoplankton directly, unless specific enzymes (e.g. alkaline phosphatase) are produced to hydrolyze DOP into PO_4^{3-} (Holland et al., 2005; Dyhrman and Ruttenberg, 2006). These hydrolysis reactions are sensitive to pH with the consequence that a change in pH could alter the bioavailability of DOP in seawater (Doney et al., 2009).

Furthermore, decreases in ocean pH theoretically increase the proportion of free dissolved trace metals and increase metal solubility (Millero, 1998). This would lead to substantial increases in the total bioavailable fraction of many trace elements and result in toxic concentrations for marine microorganisms (Raven et al., 2005). Several studies have shown that a decrease in ocean pH enhances the solubility of Fe(III), a form of iron that is

bioavailable for phytoplankton (e.g. Liu and Millero, 2002; Millero et al., 2009). Iron speciation is largely controlled by organic complexation and photochemical processes (Breitbarth et al., 2010a and ref within). A decrease of pH below 8 favors the iron complexation with organic ligands against the precipitated form $\text{Fe}(\text{OH})_3$ (De Rijck and Schrevens, 1998). The effect of ocean acidification on Fe(III)-organic complexation needs further investigations (Hoffmann et al., 2012). Shi et al. (2010) have shown that depending on the nature of the chelating agent, a pH decrease could enhance the solubility of Fe by maintaining Fe(III) binding and affect the chemical speciation of Fe by favoring Fe chelated by organic compounds rather than its oxy-hydroxide form ($\text{Fe}(\text{OH})_3$).

Ligand production is facilitated by phytoplankton dissolved organic matter (DOM) production. Enhanced release of DOM with increasing $p\text{CO}_2$ (i.e. Engel, 2002) could, as a feedback, increase iron binding and make it more bioavailable for primary production. This has recently been shown in *in situ* mesocosm experiments conducted as part of the Pelagic Ecosystem CO_2 Enrichment project (PeECE) in Bergen, Norway (Breitbarth et al., 2010b).

Most studies investigating the impact of ocean acidification on pelagic ecosystems have been performed in laboratories but, during the last decade, several mesocosm experiments have been conducted, for instance as part of the PeECE project and the European Project on Ocean Acidification (EPOCA; i.e. Engel et al., 2005; Grossart et al., 2006; Schulz et al., 2008; Riebesell et al., 2013). Mesocosms offer the advantage to follow the response of pelagic communities to an environmental driver under close-to-natural environmental conditions. The above-mentioned mesocosm experiments have been mostly performed in nutrient-replete cold waters. However, a large portion of the open ocean is characterized by low-nutrient, low-chlorophyll (LNLC) conditions. To our knowledge, no ocean acidification mesocosm study has been conducted under these limiting conditions as observed in the Mediterranean Sea.

The Mediterranean Sea is one of the most nutrient-poor waters in the world with a trophic status varying from oligotrophic-mesotrophic in the Northwestern Mediterranean to extremely oligotrophic in the eastern basin (Moutin and Rimbault, 2002; Mermex Group, 2011 and references within). The Mediterranean Sea is in general a sink for atmospheric CO_2 (D'Ortenzio et al., 2008). As this region is relatively more alkaline than the open ocean, it absorbs relatively more anthropogenic CO_2 and is a significant source of CO_2 for the Atlantic ocean (Ait-Ameur and Goyet, 2006). Long-term data series of carbonate properties and ocean

acidification trends in the Mediterranean Sea are scarce. However, current interpolation suggests that pH may have already declined by 0.15 in some areas of the surface Mediterranean Sea (Touratier and Goyet, 2011).

The objective of the present study is to assess the effect of ocean acidification on nutrient (Fe, N and P) dynamics in a nutrient-depleted system, limited or co-limited by P and N availability (Tanaka et al., 2011): the Mediterranean Sea. Two mesocosm experiments have been conducted in the Northwestern Mediterranean Sea during contrasting periods in terms of biogeochemical conditions and trophic status. These experiments were conducted in the framework of European Mediterranean Sea Acidification in a Changing Climate project (MedSeA; www.medsea-project.eu). In the present manuscript, we report on the evolution of nutrient concentrations, under both dissolved inorganic and organic forms, and discuss on the future potential impact of ocean acidification on nutrient dynamics in LNLC ecosystems.

2. Material and methods

2.1. Experimental setup and sampling

The first mesocosm experiment was performed in the Bay of Calvi (BC; Corsica, France) during summer (June-July 2012), and the second experiment was conducted in the Bay of Villefranche (BV; France) during winter (February-March 2013). A complete description of the sites, experimental setup, initial conditions and evolution of the core parameters is given in Gazeau et al. (submitted, this issue-a). Briefly, for each experiment, nine mesocosms (2.5 m in diameter, 12 m depth and $\sim 50 \text{ m}^3$ in total volume) were deployed during 20 (BC) and 11 days (BV). Mesocosm bags were made of plastic material (polyethylene mixed with vinyl acetate) with nylon mesh to allow a maximum resistance and light penetration. In order to avoid atmospheric deposition, the top of the mesocosms were covered with UV-transparent ethylene tetrafluoroethylene (ETFE) roofs, except for periods of sampling during which the roofs were partially opened. Three unperturbed mesocosms were used as controls (C1, C2 and C3) and six mesocosms were enriched with CO_2 to obtain a gradient of $p\text{CO}_2$ levels (P1 to P6). Targeted $p\text{CO}_2$ levels were obtained via addition of 75 to $> 300 \text{ L}$ of CO_2 -saturated water into mesocosms. A diffusing system was used to ensure a perfect mixing of this CO_2 -saturated seawater inside the mesocosms. In order to minimize the stress induced by the addition of large quantities of acid water, the acidification of the mesocosms was performed over the

course of 4 days. Control mesocosms presented initial $p\text{CO}_2$ levels of 450 and 350 μatm in BC and BV, respectively. In BC, the six targeted elevated $p\text{CO}_2$ levels were P1: 550, P2: 650, P3: 750, P4: 850, P5: 1000 and P6: 1250 μatm . In BV, the targeted levels were P1: 450, P2: 550, P3: 750, P4: 850, P5: 1000 and P6: 1250 μatm . Mesocosms were anchored in clusters of 3, each cluster containing one control mesocosm accompanied by a medium and a high $p\text{CO}_2$ level (cluster 1: C1, P1, P4; cluster 2: C2, P2, P5 and cluster 3: C3, P3, P6). On June 24th 2012 (in BC) and on February 21st 2013 (in BV), the targeted $p\text{CO}_2$ levels were reached and the experiments started (day 0). Daily depth-integrated sampling (0 - 10 m) was performed using 5 L Hydro-Bios integrated water samples in the nine mesocosms and in the external environment (OUT) in order to follow the dynamics of each considered parameter in natural free waters.

Seawater samples for total alkalinity (A_T ; 500 mL) measurements were filtered on GF/F membranes while samples for total inorganic carbon (C_T ; 120 mL) measurements were immediately inoculated with 20 μL of a saturated solution of mercuric chloride (HgCl_2). Both parameters were analyzed within one day of collection. For pigments, 2 L of sampled seawater were filtered onto GF/F membranes. Filters were immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C pending analysis at the Laboratoire d'Océanographie de Villefranche (France). Samples for the determination of heterotrophic prokaryote abundances were collected every second day, immediately fixed with 0.2 μm pre-filtered 25% glutaraldehyde (0.5% final concentration), kept at 4°C for approximately 30 min, deep frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C until enumeration.

For dissolved inorganic and organic nutrients (NO_x , PO_4^{3-} , DFe, DON and DOP), bulk seawater samples were collected in 1 L bottles previously rinsed 3 times with sampled seawater. Shortly after sampling, samples were filtered onto 0.2 μm polycarbonate filters (Nucleopore, Whatman) under a laminar flow bench. Filters were cleaned with a 5% hydrochloric acid (HCl) suprapure solution for 30 min, rinsed 20 times with ultrapure water, cleaned again with 1% HCl suprapure solution for 24 h and finally rinsed and kept in ultrapure water in a Teflon vial. After filtration, samples for NO_x , PO_4^{3-} , DFe, were kept in 60 mL polyethylene bottles, previously cleaned following trace-metal clean procedures (Bruland et al., 1979), and then acidified to $\text{pH} < 2$ with HCl ultrapure, following the recommendations of Pulido-Villena et al. (2010). Samples for the determination of DON and DOP were not

acidified but directly irradiated (see section 2.2.2 and 2.2.3). Data for DON and DOP were not available at the end of both experiments due to an irradiation defect (BC) and bad weather conditions (BV).

2.2. Analytical method

2.2.1. Carbonate chemistry, chlorophyll *a* and heterotrophic prokaryote abundance

A_T was determined potentiometrically and C_T was determined using an inorganic carbon analyser (AIRICA, Marianda©, Kiel, Germany) coupled to an infrared gas analyser (LI-COR© 6262). More detailed analytical protocols are given in Gazeau et al. (submitted, this issue-a). All parameters of the carbonate chemistry were determined from C_T , A_T , temperature and salinity using the R package seacarb (Lavigne et al., 2014). Chlorophyll *a* (Chl*a*) measurements were performed by high performance liquid chromatography (HPLC, following the protocol described in Gazeau et al. (submitted, this issue-b). The abundance of free-living heterotrophic prokaryotes (HP) was estimated by flow cytometry as described in Celussi et al. (in press, this issue).

2.2.2. Dissolved inorganic phosphorus (PO_4^{3-}) and dissolved organic phosphorus (DOP)

A Liquid Waveguide Capillary Cell (LWCC), made of quartz capillary tubing, was used to manually analyze PO_4^{3-} . The LWCC was connected to a spectrophotometer and measurements were performed in the visible at 710 nm. This spectrometric method is based on Murphy and Riley's molybdenum blue method and uses two reagents: (1) a mixed reagent composed of an ammonium molybdate solution (40 g L^{-1} in ultrapure water) and an antimony potassium tartrate solution (3 g L^{-1} in ultrapure water) in 5N sulfuric acid solution, and (2) an ascorbic acid solution (18 g L^{-1} in 2/3 of ultrapure water and 1/3 of SDS surfactant solution; Zimmer and Cutter, 2012; Zhang and Chi, 2002). The LWCC was 2.5 m long in order to decrease the limit of detection to 1 nM. The repeatability and reproducibility standard deviations were around 4.8% and 7%, respectively. Phosphate concentrations ($[\text{PO}_4^{3-}]$) were calculated using a calibration method in ultrapure water, following the Beer-lambert's law, and validated by a standard addition method ($t_{\text{student}} = 0.988$, $n = 25$, $p_{\text{value}} = 0.30$, $\alpha = 0.05$).

To determine DOP concentrations ($[DOP]_{UV}$), samples were irradiated by ultra-violet light (UV) using the 705 UV Digester (Metrohm). Samples were transferred into 10 mL (a total of 20 mL was irradiated for each sample) quartz tubes and irradiated during 90 min with a mercury vapor lamp, according to the method UV light photooxidation described by Armstrong and Tibbitts (1968). With the standard molybdenum blue method of Murphy and Riley, the concentration of total dissolved phosphorus [TDP] was measured in irradiated samples. $[DOP]_{UV}$ was then determined by subtracting $[PO_4^{3-}]$ from [TDP].

2.2.3. Dissolved inorganic nitrogen (NO_x) and dissolved organic nitrogen (DON)

The exact same protocol (and equipment) as described by Louis et al. (2015) was used to determine dissolved inorganic nitrogen concentrations. Briefly, the analysis of NO_x ($= NO_3^- + NO_2^-$) was performed by a spectrometric method in the visible at 540 nm, with a 1 m LWCC. This method is based on the colored reaction between NO_2^- and 2 reagents (sulfanilamide and NED) to form a pink azo compound. Previously, samples were passed through a copperized cadmium column to reduce NO_3^- to NO_2^- and determine NO_x concentrations ($[NO_x]$) using a calibration curve in ultrapure water. The limit of detection was ~ 10 nM and the reproducibility was $\sim 6\%$ (tested using a reference solution, CertiPUR, Merck; $t_{student} = 0.263$, $n = 7$, $p_{value} = 0.80$, $\alpha = 0.05$).

Similar to DOP, DON concentrations ($[DON]_{UV}$) were determined by the irradiation UV method during which DON and all reduced inorganic ions, such as NO_2^- , are oxidized to NO_3^- . Using the same spectrometric method used to analyze NO_x (see section above), the concentration of total dissolved nitrogen [TDN] was measured, and $[DON]_{UV}$ was calculated by subtracting $[NO_x]$ from [TDN].

2.2.4. Dissolved iron (DFe)

DFe concentrations were measured by flow injection with online preconcentration and chemiluminescence detection using the exact protocol, instrument, and analytical parameters as described by Bonnet and Guieu (2006). Briefly, our flow injection analysis and chemiluminescence detection (FIA-CL) instrument is based on the method described by Obata et al. (1993). In order to quantify the low DFe concentration [DFe] in seawater, samples (with pH adjusted to ~ 5) were passed through MAF-8HQ (8-quinolinol-immobilized fluoride containing metal alkoxide glass) resin column to selectively collect and pre-

concentrate DFe. After elution of DFe by a HCl solution, the eluent was mixed with a luminol solution (0.74 M), an ammonium hydroxide solution (1 M) and a hydrogen peroxide (H_2O_2) solution (0.7 M). A luminescence reaction occurs between the luminol and H_2O_2 , catalyzed with DFe in alkaline conditions. Two distinct seawater reference materials were used to control for analytical accuracy: NASS-5 (North Atlantic Surface Seawater) and D1-508 (SAFe reference seawater) with measured [DFe] of 3.74 ± 0.19 nM and 0.65 ± 0.03 nM respectively in good agreement with consensus values (3.763 ± 0.001 and 0.67 ± 0.04 nM respectively). The repeatability and reproducibility were lower than 10%, and the detection limit was ~ 20 pM. Data of [DFe] are only available for the experiment in BV.

2.2.5. Data availability

Data collected during both experiments are freely available on Pangaea, Bay of Calvi (BC): <http://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.810331> and Bay of Villefranche (BV): <http://doi.pangaea.de/10.1594/PANGAEA.835117>.

2.2.6. Statistical analysis

In order to test for ocean acidification effects on $[\text{NO}_x]$, $[\text{PO}_4^{3-}]$, $[\text{DOP}]_{\text{UV}}$, $[\text{DON}]_{\text{UV}}$ and [DFe], the measured concentration in each perturbed mesocosm for each sampling date was subtracted from the average of concentrations in the 3 controls at that time-point. The relative mean deviation (MD, expressed as a %) for each treatment and time-point was obtained by dividing that value by the average concentration in the 3 controls. A simple linear regression model was used to test MD variations as a function of delta $p\text{CO}_2$, which corresponds to the difference of $p\text{CO}_2$ level between the treatments and the 3 controls at each time-point. A significant linear trend between MD and $p\text{CO}_2$ was considered when $p_{\text{value}} < 0.05$ (Fisher's test). Above this threshold, we assumed that acidification had no linear effect on nutrient dynamics. All regressions were conducted using the R software.

3. Results

3.1. Initial conditions

Table 1 presents the initial conditions (day 0) of $p\text{CO}_2$ and pH_T (on the total scale) in the nine mesocosms during both experiments. In BC, the initial $p\text{CO}_2$ in control mesocosms was $467 \pm 5 \mu\text{atm}$ corresponding to a pH_T of 8.02. At the start of the experiment, perturbed $p\text{CO}_2$ levels were close to the targeted levels and ranged from 609 to 1353 μatm (P1 to P6) corresponding to a pH_T gradient from 7.92 to 7.61. In BV, initial $p\text{CO}_2$ levels in control mesocosms were lower than in BC, with an average $p\text{CO}_2$ of $358 \pm 17 \mu\text{atm}$ corresponding to a pH_T of 8.12. Initial $p\text{CO}_2$ levels in perturbed mesocosms were close to the targeted levels and ranged from 494 μatm (P1) to 1250 μatm (P6) corresponding to a pH_T ranging from 8.0 to 7.63.

Mesocosm experiment		C1	C2	C3	P1	P2	P3	P4	P5	P6
Bay of Calvi	$p\text{CO}_2$	474	465	462	609	731	790	920	1198	1353
	pH_T	8.01	8.02	8.02	7.92	7.85	7.82	7.76	7.66	7.61
Bay of Villefranche	$p\text{CO}_2$	378	347	350	494	622	690	743	932	1250
	pH_T	8.10	8.13	8.13	8.00	7.91	7.87	7.85	7.76	7.63

Table 1. Initial (day 0) $p\text{CO}_2$ (μatm) and pH_T (total scale) conditions inside the nine mesocosms during the experiments in the Bay of Calvi in summer 2012 and in the Bay of Villefranche in winter 2013.

Initial nutrient and Chl a concentrations in BC and in BV inside control mesocosms and outside are presented in Table 2. In BC, [Chl a] was higher outside ($0.12 \mu\text{g L}^{-1}$) than inside mesocosms ($0.06 \pm 0.01 \mu\text{g.L}^{-1}$). The same holds true for $[\text{PO}_4^{3-}]$ (35 vs 22 ± 3 nM). In control mesocosms, $[\text{DOP}]_{\text{UV}}$ was similar to $[\text{PO}_4^{3-}]$ (23 ± 4 nM), while lower values were measured outside (~ 16 nM). DON_{UV} represented the largest dissolved N pool with concentrations of 2 and $3.6 \pm 2.1 \mu\text{M}$ inside and outside control mesocosms respectively, while $[\text{NO}_x]$ was lower with no difference between outside and inside control mesocosms ($0.05 \mu\text{M}$ vs $0.06 \pm 0.01 \mu\text{M}$).

In BV, [Chl a] was much higher than in BC with initial values of $1.15 \pm 0.06 \mu\text{g L}^{-1}$ inside control mesocosms and $0.95 \mu\text{g L}^{-1}$ outside. This was also the case for $[\text{DOP}]_{\text{UV}}$ with values of 45 ± 1 nM inside control mesocosms and 48 nM outside. Regarding $[\text{PO}_4^{3-}]$, values were lower in BV than in BC and were similar inside and outside control mesocosms (~ 10 nM). $[\text{DON}]_{\text{UV}}$ were also similar outside and inside control mesocoms at 4.0 and $3.6 \pm 0.7 \mu\text{M}$

respectively. In contrast, $[\text{NO}_x]$ was higher in BV than in BC and a difference between OUT and control mesocosms was observed (1.17 vs $0.13 \pm 0.03 \mu\text{M}$). $[\text{DFe}]$ was 1.2 nM inside and outside control mesocosms.

Mesocosm		$[\text{PO}_4^{3-}]$	$[\text{NO}_x]$	$[\text{DOP}]$	$[\text{DFe}]$	$[\text{DON}]$	$[\text{Chla}]$
Experiment		nM	μM	nM	nM	μM	$\mu\text{g L}^{-1}$
OUT	BC	35	0.05	16		2	0.12
	BV	10	1.17^*	48	1.2^*	4	0.95
Mean control	BC	22 ± 3	0.06 ± 0.01	23 ± 4		3.6 ± 2.1	0.06 ± 0.01
	BV	10 ± 2	0.13 ± 0.03	45 ± 1	1.2 ± 0.1	3.6 ± 0.7	1.15 ± 0.06

Table 2. Initial (day 0) nutrients (dissolved iron: DFe , nitrate + nitrite: NO_x , phosphate: PO_4^{3-} , dissolved organic nitrogen: DON and dissolved organic phosphorus: DOP) and chlorophyll a (Chla) concentrations inside the 3 'control' mesocosms (average and standard deviation calculated from the three independent measurements) for the Bay of Calvi (BC) and the Bay of Villefranche (BV) experiments. (*) When data on day 0 were not available, values have been measured on day 1.

3.2. Chlorophyll a , heterotrophic prokaryotes and nutrient evolution in the Bay of Calvi

In BC, in the perturbed mesocosms, as no further addition of CO_2 -saturated seawater was performed, $p\text{CO}_2$ levels slightly decreased after the acidification phase over the course of the experiment, especially for high CO_2 mesocosms (P5 and P6). During the experiment, mean $p\text{CO}_2$ levels were C1: 429, C2: 427, C3: 429, P1: 508, P2: 586, P3: 660, P4: 747, P5: 828, P6: 990 μatm . $[\text{Chla}]$ did not show any strong temporal trend, although levels slightly increased on day 10 to maximal concentrations of $0.09 \pm 0.003 \mu\text{g L}^{-1}$ on day 14 (Fig. 1). With regard to the heterotrophic prokaryotes, the initial average abundance (day 0) in all mesocosms was $5.0 \pm 0.3 \times 10^5 \text{ cell mL}^{-1}$. Their density remained relatively constant during the experiment, and ranged from 4.0×10^5 to $6.1 \times 10^5 \text{ cell mL}^{-1}$. The evolution of $[\text{PO}_4^{3-}]$, $[\text{NO}_x]$, $[\text{DOP}]_{\text{UV}}$ and $[\text{DON}]_{\text{UV}}$ in BC in all mesocosms and outside is shown in Figure 2. After an initial decrease in $[\text{PO}_4^{3-}]$ inside and outside mesocosms between day 0 and day 1, $[\text{PO}_4^{3-}]$ remained low and ranged from 3 to 12 nM inside all mesocosms, and from 7 to 13 nM outside until day 20. Regarding DOP, a decrease was also observed between day 0 and day 1 outside mesocosms and in control mesocosms (no data available for perturbed mesocosms at day 0 except for P2). From day 1 to day 13, $[\text{DOP}]_{\text{UV}}$ varied between 5 and 20 nM with no significant trend, except for P1 where an increase from 8 to 16 nM (linear regression: $r^2 = 0.89$, $n = 5$, $p_{\text{value}} = 0.02$) was observed.

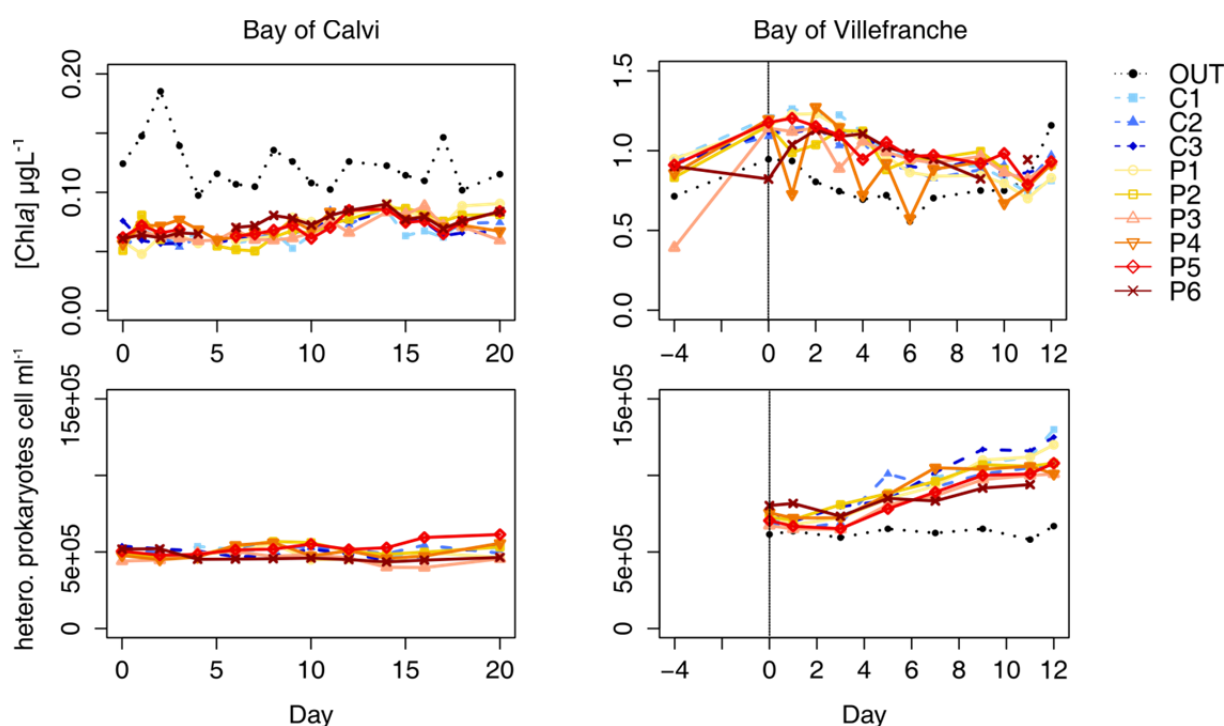


Figure 1: Evolution of the concentration in chlorophyll a (Chla) and the abundance of heterotrophic prokaryotes (hetero. prokaryotes) along the course of the experiments in the Bay of Calvi (summer 2012) and Villefranche (winter 2012) outside and inside all mesocosms. The period between day -4 and day 0 corresponds to the acidification phase.

$[\text{NO}_x]$ increased from 47 ± 14 nM to 97 ± 22 nM in all mesocosms between day 0 and day 1, followed by a decrease in both inside and outside mesocosms until day 8 (linear regression: $r^2 = 0.90$, $n = 8$, $p_{\text{value}} < 0.01$). Then $[\text{NO}_x]$ remained very low (8 ± 6 nM) until day 13 (except for P2 (28 ± 9 nM), and a peak (52 nM) observed for P1). While a gradual increase in $[\text{NO}_x]$ occurred for C2 and P6 from day 16 until the end of the experiment, two peaks were observed on day 16 in P1 and P4 (105 and 124 nM respectively), and a strong increase was observed on day 17 for C1, C3, P2, P3 and P5. At the end of the experiment, $[\text{NO}_x]$ averaged 60 ± 14 nM in all mesocosms. After a high variability of $[\text{DON}]_{\text{UV}}$ between mesocosms on day 0, the average $[\text{DON}]_{\text{UV}}$, inside all mesocosms, varied around 4.8 ± 0.3 μM over the course of experiment. A slight decrease between day 1 and day 13 could be observed in all mesocosms (linear regression: $r^2 = 0.83$, $n = 6$, $p_{\text{value}} = 0.01$).

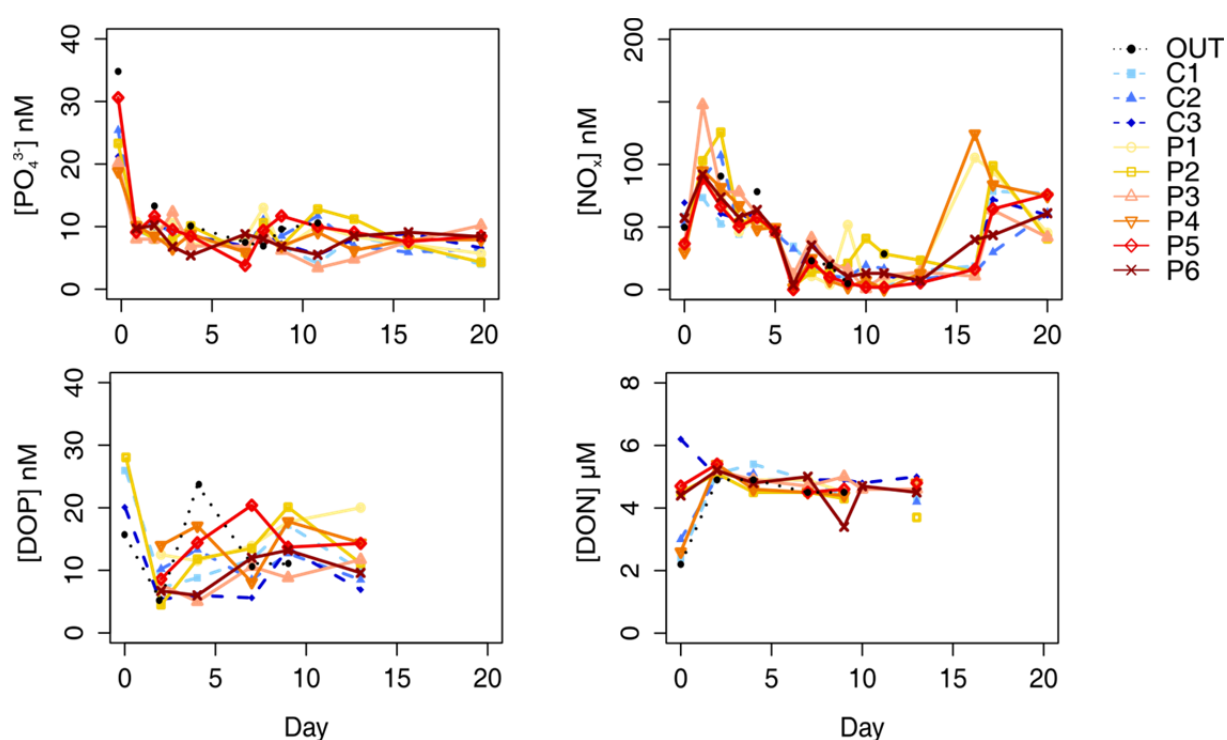


Figure 2: Evolution of the concentrations of inorganic and organic nutrients (nitrate + nitrite: NO_x , phosphate: PO_4^{3-} , dissolved organic nitrogen: DON and dissolved organic phosphorus: DOP) outside ('OUT') and inside all mesocosms along the course of the experiment in the Bay of Calvi in summer 2012.

3.3. Chlorophyll a , heterotrophic prokaryotes and nutrient evolution in the Bay of Villefranche

In BV, drops in $p\text{CO}_2$ levels were more important than in BC due to strong winds with mesocosms P1 to P4 showing very similar levels by the end of the experiment. Mean $p\text{CO}_2$ levels were C1: 357, C2: 356, C3: 352, P1: 456, P2: 486, P3: 544, P4: 545, P5: 719, P6: 941 μatm . $[\text{Chl}a]$ averaged $0.98 \pm 0.15 \mu\text{g L}^{-1}$ in the nine mesocosms along the 12-day experiment. Chlorophyll a remained slightly above levels in the surrounding waters for the entire experimental period, except for the last day (day 12) when concentrations increased abruptly outside the mesocosms. As one can see in Figure 1, $[\text{Chl}a]$ increased during the acidification phase, consuming a large proportion of available nutrients (see below), notably NO_x , before the start of the experimental phase (day 0). In all mesocosms, after this initial peak, $[\text{Chl}a]$ gradually decreased until the end of the experiment. While the abundance of the heterotrophic prokaryotes outside the mesocosms remained constant over the experiment ($6.3 \pm 0.3 \times 10^5 \text{ cell mL}^{-1}$), it increased from day 2 to day 12 to reach $1.1 \pm 0.1 \times 10^6 \text{ cell mL}^{-1}$.

inside all mesocosms. The initial average density of heterotrophic prokaryotes (day 0) was $7.3 \pm 0.4 \times 10^5 \text{ cell mL}^{-1}$.

$[\text{PO}_4^{3-}]$, $[\text{NO}_x]$, $[\text{DOP}]_{\text{UV}}$, $[\text{DON}]_{\text{UV}}$ and DFe evolution in BV in all mesocosms and outside are shown in Figure 3. During the acidification phase, the increase in $[\text{Chla}]$ outside and inside mesocosms was concomitant with the decrease in $[\text{PO}_4^{3-}]$ (from 15 ± 2 to $10 \pm 2 \text{ nM}$) and $[\text{NO}_x]$. At day 0, while $[\text{NO}_x]$ outside mesocosms remained high ($\sim 1 \mu\text{M}$), all mesocosms were depleted in NO_x with an average concentration of $129 \pm 30 \text{ nM}$.

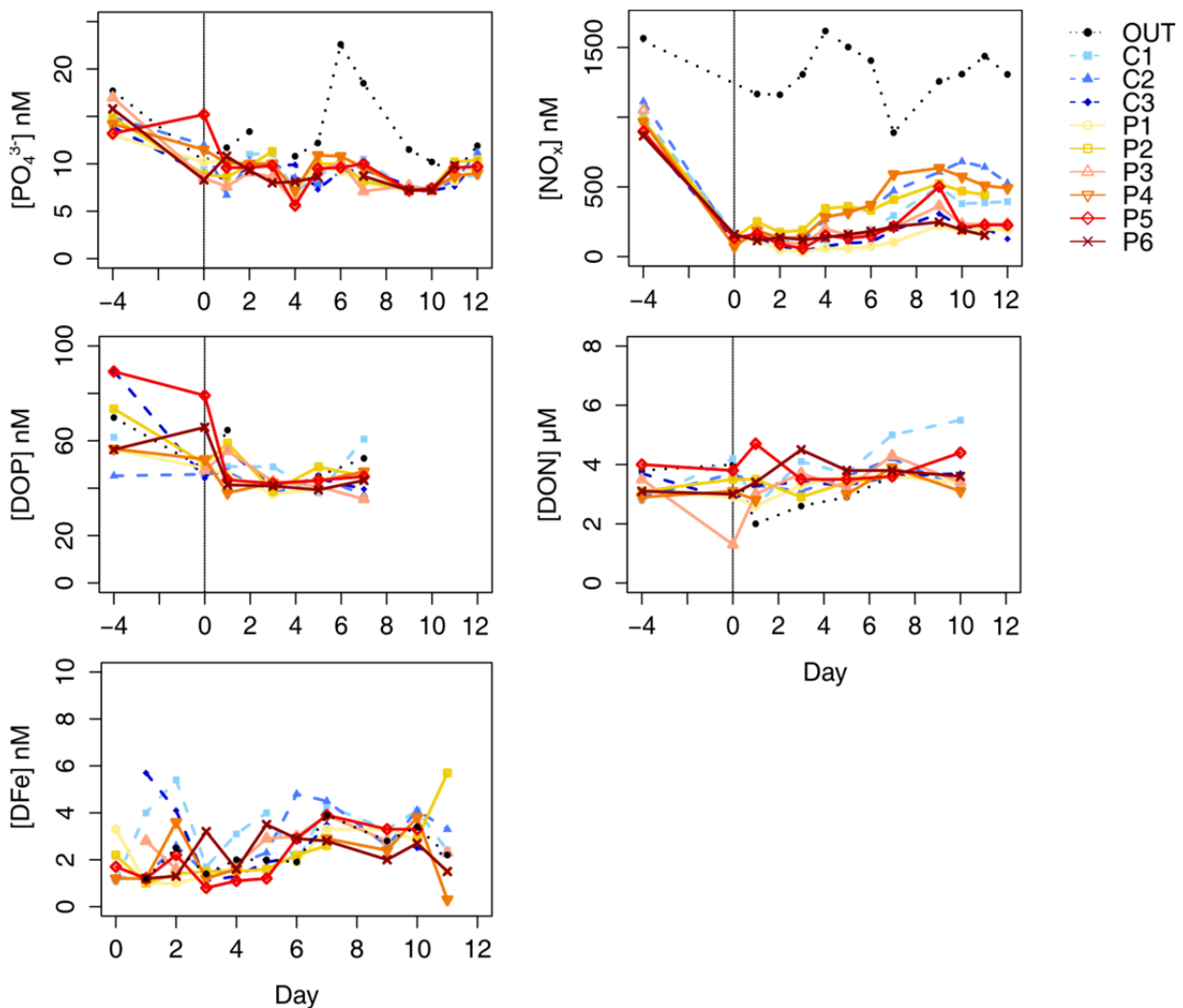


Figure 3: Evolution of the concentrations of inorganic and organic nutrients (dissolved iron: DFe , nitrate + nitrite: NO_x , phosphate: PO_4^{3-} , dissolved organic nitrogen: DON and dissolved organic phosphorus: DOP) outside ('OUT') and inside all mesocosms along the course of the experiment in the Bay of Villefranche in winter 2013. The period between day -4 and day 0 corresponds to the acidification phase.

No strong variations for $[\text{PO}_4^{3-}]$ were observed in the mesocosms over the course of the BV experiment (global average: $9 \pm 1 \text{ nM}$). $[\text{PO}_4^{3-}]$ was generally higher outside than inside

mesocosms and a peak of 23 nM was reached on day 6 followed by a decrease until the end of the experiment with similar inside and outside concentrations (12 nM at day 12). For the strongest perturbations (P4, P5 and P6), [DOP]_{UV} dropped between day 0 and day 1, while [DOP]_{UV} outside and in P2, P3 and control mesocosms tended to increase. [DOP]_{UV} then remained stable ($\sim 44 \pm 6$ nM) in all mesocosms and outside until the end of the experiment.

Over the course of the BV experiment, [NO_x] was much higher outside (range 889-1618 nM) than inside mesocosms (range 40-682 nM). Inside all mesocosms, [NO_x] was stable until day 3 with an average concentration of 121 ± 50 nM. A general increase in [NO_x] occurred between day 3 and day 9 (linear regression: $r^2 = 0.95$, $n = 6$, $p_{\text{value}} < 0.001$) with the largest rise observed in P4, P2 and C2. [NO_x] in those mesocosms was the highest measured during the BV experiment (Fig. 4). The lowest [NO_x] was measured in P1 and the standard deviation was the lowest in P6 indicating that [NO_x] in that mesocosm was more stable than elsewhere (Fig. 4).

With respect to DON, concentrations were around 3.5 ± 0.7 μM inside and outside mesocosms and no clear trend could be observed, except for C1 and outside mesocosms where [DON]_{UV} increased after day 1 until day 10 (linear regression C1: $r^2 = 0.86$, $n = 6$, $p_{\text{value}} = 0.02$; linear regression OUT: $r^2 = 0.82$, $n = 6$, $p_{\text{value}} = 0.03$).

In addition to NO_x, PO₄³⁻, DON and DOP, [DFe] data were documented during the experiment in BV. [DFe] were similar outside and inside mesocosms (2.3 ± 0.8 vs. 2.5 ± 1.2 nM, respectively). No clear trend was observed over the course of the experiment, although [DFe] slightly increased between day 3 and day 7 in all mesocosms.

3.4. Nutrient dynamics vs. $p\text{CO}_2$

Box-plots of inorganic and organic nutrient concentrations during both experiments are shown in Figure 4, and relative MD (see section 2.4) of each perturbed mesocosm during the entire experiments was plotted against delta $p\text{CO}_2$ for each perturbed mesocosm at each time-point, in Figure 5. During both experiments, [PO₄³⁻] dynamics were not significantly related to $p\text{CO}_2$ levels. In addition, there was no significant relationship between $p\text{CO}_2$ and relative MD for PO₄³⁻ (Fig. 5; BC: $p_{\text{value}} = 0.06$; BV: $p_{\text{value}} = 0.69$). The same holds true for [DOP]_{UV} (Fig. 5; BC: $p_{\text{value}} = 0.97$; BV: $p_{\text{value}} = 0.33$) and [DON]_{UV} in BC (Fig. 5; BC: $p_{\text{value}} = 0.35$). In

BV, despite the significant relationship between relative MD for $[\text{DON}]_{\text{UV}}$ and delta $p\text{CO}_2$ (p_{value} of 0.03), this relationship appears weak considering the large observed deviation between the 3 controls (Figs. 4 and 5). In BC, $p\text{CO}_2$ had no impact on $[\text{NO}_x]$ (Fig. 5; $p_{\text{value}} = 0.31$). In BV, although box-plots for $[\text{NO}_x]$ indicate a difference between controls, P2 and P4 on one side and P1, P3, P5 and P6 on the other side (Fig. 4), no significant effect of $p\text{CO}_2$ gradient on NO_x dynamics was observed (Fig. 5; $p_{\text{value}} = 0.36$). Despite the fact that $[\text{DFe}]$ was generally lower in CO_2 -enriched mesocosms compared to controls (Fig. 4), the $p\text{CO}_2$ gradient did not significantly affect the evolution of $[\text{DFe}]$ when considering the full duration of the experiment (Fig. 5; BV: $p_{\text{value}} = 0.91$).

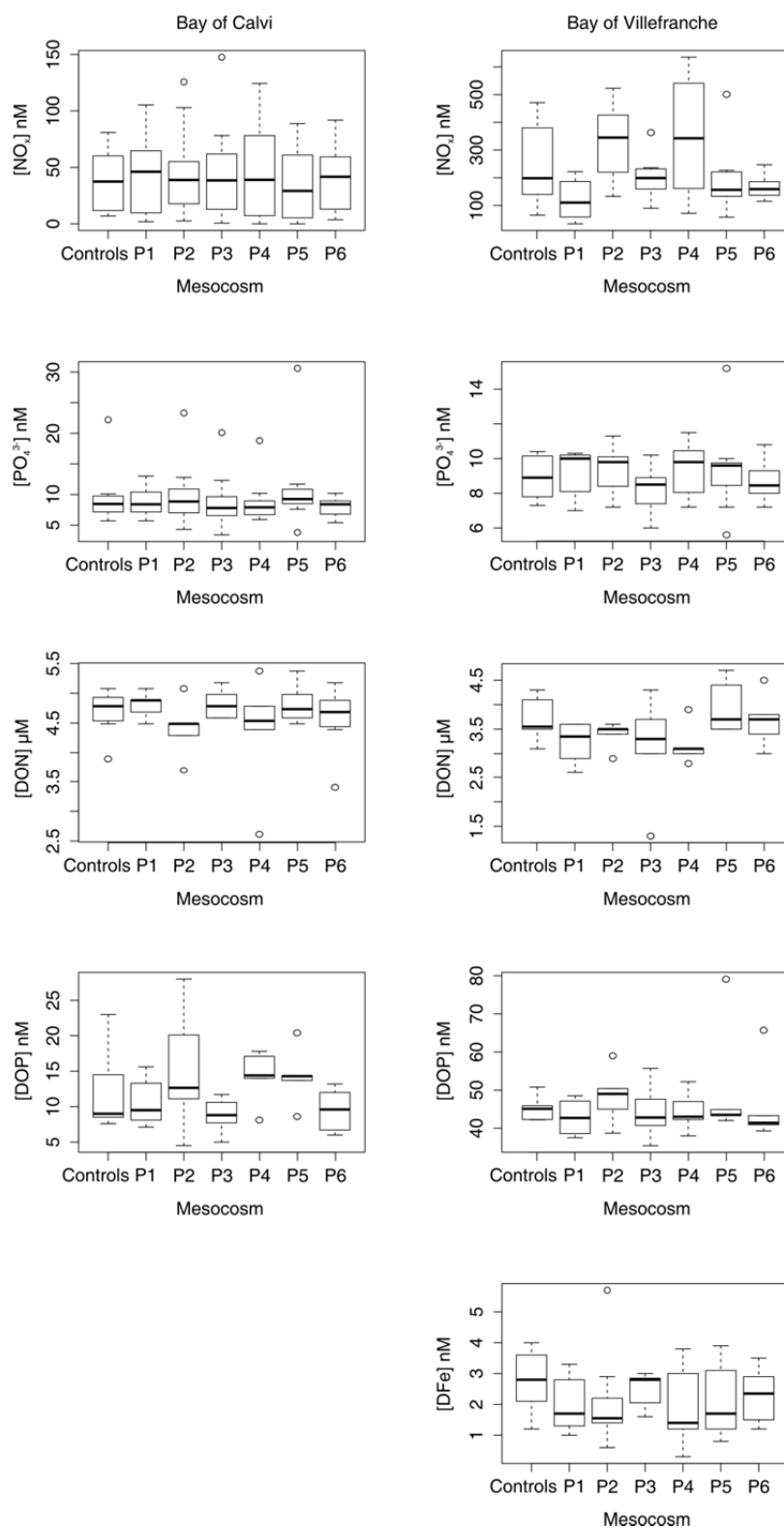


Figure 4: Box-plots of nutrient concentrations (dissolved iron: DFe, nitrate + nitrite: NO_x , phosphate: PO_4^{3-} , dissolved organic nitrogen: DON and dissolved organic phosphorus: DOP) measured during the experiments in the Bay of Calvi (BC) and in the Bay of Villefranche (BV). The statistical profile for “Control” was obtained as the daily mean value of the 3 control mesocosms (C1, C2 and C3). The box-plot corresponds to 90% of data and the straight dark line represents the median value. The circles are the values considered statistically as outliers.

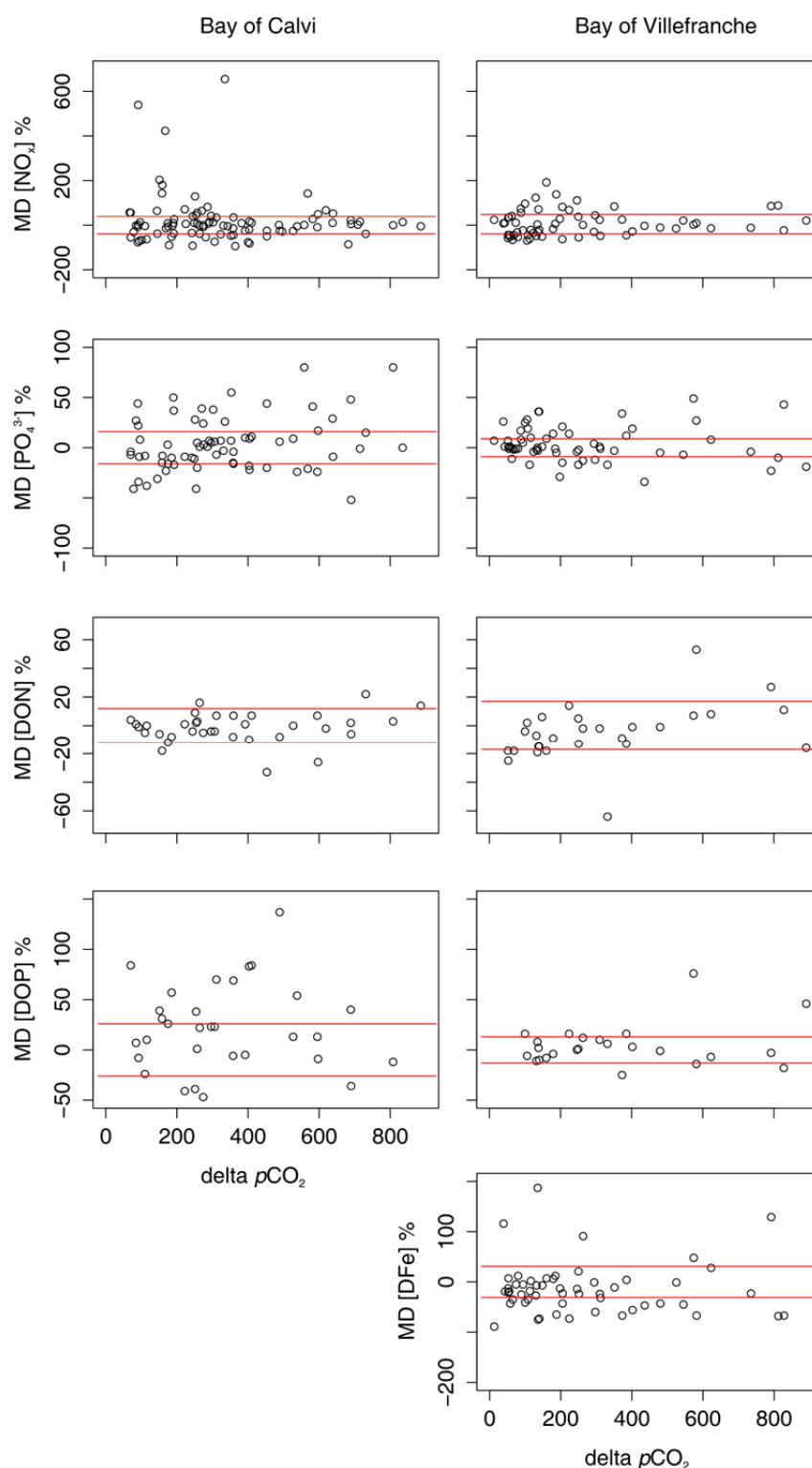


Figure 5: Relative mean deviation (MD; in %) of the concentrations of inorganic and organic nutrients as a function of $\Delta p\text{CO}_2$ (μatm) for each mesocosm at each time-point along the course of both experiments in the Bay of Calvi (BC) and in the Bay of Villefranche (BV). For each sampling date, the measured concentration in each perturbed mesocosm was subtracted from the arithmetic mean of concentrations in the 3 controls. The relative MD was estimated the ratio of this value to the mean concentration in the 3 control and expressed as a percentage. $\Delta p\text{CO}_2$ represents the difference in $p\text{CO}_2$ level between the various treatments and the 3 controls for each time-point. Horizontal red lines correspond to the mean relative standard deviation of the 3 controls for each parameter over the duration of each experiment.

4. Discussion

4.1. Representativeness of the environmental settings

The mesocosm experiments presented here focused on the impact of ocean acidification on plankton communities and are the first of such experiments to have been conducted in a low nutrient, low chlorophyll system. Our experimental protocol allowed for quantification of both inorganic and organic nutrient concentrations at nanomolar levels, and therefore allowed us to assess, in detail, temporal nutrient variability and contribution to the functioning of the community. Furthermore, this study provided the opportunity to compare nutrient levels measured at the two sites, with data compiled from the literature and obtained using both conventional (micromolar level) and nanomolar techniques (see Table 3). Finally, this compilation allowed us to put our results in a broader context of seasonal and spatial variability of nutrient levels in the Mediterranean Sea.

In the Bay of Calvi, the low initial *in situ* $[\text{NO}_x]$ (50 nM) was in agreement with $[\text{NO}_x] < 30$ nM measured during a mesocosm experiment conducted in summer 2008 and 2010 in coastal waters of Corsica (Ridame et al., 2014). The low initial *in situ* $[\text{PO}_4^{3-}]$ (35 nM) was consistent with data reported in previous studies conducted in the same season (Table 3; 5-20 nM in surface waters). These nitrate and phosphate depleted conditions, observed at the start of this experiment, are representative of summer oligotrophic conditions in the Mediterranean Sea.

In the Bay of Villefranche, the initial *in situ* $[\text{NO}_x]$ (1.17 μM) was very close to the concentration (1.25 μM) measured during the same week at a sampling site located at the entrance of the Bay (Service d'Observation en Milieu LITtoral; <http://somlit.epoc.u-bordeaux1.fr/fr/>). The same range $[\text{NO}_x = 0.7\text{-}2.3 \mu\text{M}]$ was also found at that site in surface waters in February 2012 (Thyssen et al., 2014). $[\text{PO}_4^{3-}]$ can be variable in winter in surface waters: ~10 nM in this study (but ~50 nM from SOMLIT, close to the detection limit using the conventional analytical method), from 25 to 92 nM using a conventional analytical method (Thyssen et al., 2014) and 7 nM using nanomolar techniques (Louis et al., 2015). Those concentrations were low compared to the ones measured at the open ocean DYFAMED site (43°25'N, 7°52'E): 200-300 nM during the winter-mixing period (January-February) followed by a decrease from 200 to 30 nM during the winter-spring transition (Pulido-Villena et al., 2010). While a NO_x -replete system outside mesocosms was in agreement with

conditions usually reported for the Mediterranean Sea in winter, it must be stressed that this was no longer the case at the start of the experiment inside all mesocosms. Instead, a rapid NO_x uptake by phytoplankton during the acidification phase (4 days before day 0; Gazeau et al., submitted, this issue-a) was concomitant with the increase in biomass in all mesocosms (Figs. 1 and 3). This led to a sharp drop in $[\text{NO}_x]$ from 0.96 to 0.13 μM . Although $[\text{NO}_x]$ outside mesocosms also slightly declined (from 1.6 to 1.2 μM) during that acidification period, $[\text{NO}_x]$ was maintained at a higher level due to a winter-mixing situation (the vertical profile of temperature from SOMLIT indicated a homogeneous water column over 200 m) and/or due to external input via atmospheric wet depositions (Migon, pers. comm.). Therefore, the conditions encountered at the start of the experimental phase were not fully representative of winter conditions for that area.

The stoichiometric nutrient balance $[\text{NO}_x] / [\text{PO}_4^{3-}]$ can be used to depict the P or/and N (co)-limitation(s) for phytoplankton carbon fixation. In the Mediterranean Sea, below the mixed layer, $[\text{NO}_x] / [\text{PO}_4^{3-}]$ is close to 22 (e.g. Mc Gill, 1965; Krom et al., 1991; Pujo-Pay et al., 2011) and higher than the Redfield ratio ($\text{N} / \text{P} = 16$). In deep waters, estimates are more robust as ratios are calculated based on $[\text{PO}_4^{3-}]$ and $[\text{NO}_x]$ well above the analytical detection limit (DL) of conventional analytical method (DL: $[\text{PO}_4^{3-}] \leq 20\text{-}50 \text{ nM}$ and $[\text{NO}_x] \leq 20 \text{ nM}$). In surface waters, reported ratios are much more variable: from 6 to 68 in the 0-150 m layer (Table 3). This reflects the difficulty to accurately measure nutrients with conventional methods in severely nutrient depleted waters, with concentrations often below DL during the stratification period (Pasqueron de Fommervault et al., 2015). Estimates of surface water ratios are thus questionable in terms of quality. In surface waters of the Bay of Calvi, using nanomolar techniques, we found an initial *in situ* $[\text{NO}_x] / [\text{PO}_4^{3-}]$ of 1.7 (Table 3), well below the Redfield ratio. Both low ratio and low nutrient concentrations suggest that this system experienced N and P co-limitation in summer, similarly to what was shown by Tanaka et al. (2011) in Svalbard. In winter in the Bay of Villefranche, initial *in situ* $[\text{NO}_x] / [\text{PO}_4^{3-}]$ was 177 due to high $[\text{NO}_x]$ and low $[\text{PO}_4^{3-}]$ at the start of the experiment. As mentioned above, NO_x uptake occurred during the acidification phase, causing $[\text{NO}_x]$ to decrease to $129 \pm 30 \text{ nM}$ and leading to an average $[\text{NO}_x] / [\text{PO}_4^{3-}] = 13$ in all mesocosms. These conditions suggest a potential N and P co-limitation for the plankton community.

During both summer and winter experiments, the contribution of dissolved organic nutrients to the total dissolved phosphate and nitrogen pool was high. This is in agreement with previous studies in the Mediterranean Sea ($[DON] / [TDN] = 60-100\%$ and $[DOP] / [TDP] = 30-100\%$; Table 3). Considering that organic forms of nutrients follow the same dynamics as DOM, which are known to accumulate in surface waters in the Northwestern Mediterranean Sea during the stratification period (Copin-Montegut and Avril, 1993), $[DON]$ and $[DOP]$ should peak in summer. In contrast, in our study, initial *in situ* $[DON]_{UV}$ and $[DOP]_{UV}$ were higher in winter than in summer. The large labile fraction of DOP (60-80%; Aminot and Kerouel, 2004; Lønborg and Alvarez-Salgado, 2012) and the oligotrophic nature of the Mediterranean Sea could explain a high turnover rate of DOP, thus preventing its accumulation in surface waters. Previous studies in the Sargasso Sea (Lomas et al., 2010), as well as in an oligotrophic subtropical gyre (Steinberg et al., 2001), showed that $[DOP]$ peaked during the winter/spring bloom and declined slowly throughout the summer resulting in enhanced P-stress. This was concomitant with an increase in the alkaline phosphatase activity (APA). Similarly, in the present study, APA was higher in summer than in winter (Celussi et al., in press, this issue), possibly explaining lower $[DOP]$ in summer than in winter. At the start of the experiment in the Bay of Villefranche, *in situ* $[DON]_{UV}$ and $[DOP]_{UV}$ were close to reported concentrations for the Mediterranean Sea in winter (Table 2; Raimbault et al., 1999; Santinelli et al., 2002). In the Bay of Calvi, *in situ* $[DOP]_{UV}$ was in the range (0.01 - 0.10 μM) of reported data in summer in surface waters of the Mediterranean Sea (Table 3). With respect to *in situ* $[DON]_{UV}$, the observed value of 2 μM was lower than concentrations reported previously for the western basin in winter (from 4.5 to 5.5 μM ; Raimbault et al., 1999; Table 3).

In the Bay of Villefranche, initial *in situ* $[DFe]$ (1.2 nM; Table 1) was lower than values reported in the Bay of Villefranche at the same season by Bressac and Guieu (2013; 3.8 nM at 5 m) and, instead, more similar to winter offshore concentrations (DYFAMED site, 0.81 ± 0.07 nM; Bonnet and Guieu, 2006). The annual $[DFe]$ dynamics in surface waters in the Northwestern Mediterranean Sea are controlled by several factors such as atmospheric deposition, winter mixing, phytoplankton uptake, and particle scavenging. Over an annual time scale, $[DFe]$ ranged from 0.2 to 1.2 nM at DYFAMED site (Bonnet and Guieu, 2006). Minimal values were measured when $[Chla]$ was the highest, as a consequence of biological

uptake and removal by the sinking particles. Under stratified conditions, atmospheric deposition results in an accumulation of [DFe] in surface waters that is isolated from deeper layers (Bonnet and Guieu, 2006; Guieu et al., 2010). Because atmospheric inputs, such as Saharan dust deposition, have high interannual variability (Guieu et al., 2014 and ref within), [DFe] concentrations in surface waters are likely also highly variable from one year to another. This could explain the different [DFe] observed in the Bay of Villefranche at similar season. At the start of the winter experiment in the Bay of Villefranche, [DFe] in surface waters was reflective of [DFe] found in the open western Mediterranean Sea in winter.

Area	Study	Period	Depth	[NO _x] μM	[PO ₄ ³⁻] μM	[DON] μM	[DOP] μM	$\frac{[NO_x]}{[PO_4^{3-}]}$	$\frac{[DON]}{[DOP]}$	$\frac{[DON]}{[TDN]}$ %	$\frac{[DOP]}{[TDP]}$ %
Western basin	This study	June 2012	0-10 m	0.05	0.03	2 ^a	0.02 ^a	1.7	100	98	40
		February 2013	0-10 m	1.17	0.01	4 ^a	0.05 ^a	117	80	78	83
	Coste et al. (1988)	Oct-Nov. 1981	5 m	0.8	0.08	6.3d	0.13 ^d	10	48	89	62
	Aminot and Kerouel (1999)	Sept. 1984	0-15 m	nd	nd	4.0-4.2 ^c	0.08 ^d	nd	55-57	nd	nd
	Rimbault et al. (1999)	Nov. 1997-March 1998	0-160 m	nd	nd	4.5-5.5 ^c	0.06-0.1 ^c	nd	43-88	nd	nd
	Diaz et al. (2001)	March-April 1998	0-150 m	0.50-1.80	< 0.04	4.32 ± 0.42	0.08 ± 0.02	68.4	75	70-90	> 70
	Moutin and Raimbault (2002a)	May-June 1996	0-100 m	1.2 ± 1.4	0.05 ± 0.05	4.6 ± 0.6 ^c	0.08 ± 0.02 ^c	~22	58	~80	62
			< 30 m	< 0.05	< 0.02	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Lucea et al. (2003)	Sept. 1996	0-50 m	< 0.5	< 0.05	5-6	0.02-0.1	6	66	nd	nd
	Pujo-Pay et al. (2011)	July 2008	0-100 m	0-5.84	0-0.17	4.1-5.5 ^c	0.02-0.09 ^c	29	84	~70	~50
			< 20 m	< 0.6	< 0.02						
	Ridame et al. (2014)	June 2008-2010	0-10 m	< 0.03	0.005 ± 0.003	nd	nd	< 6	nd	nd	nd
	Thyssen et al. (2014)	February 2012	1 m	0.7-2.3	0.025-0.092	nd	nd	15-63	nd	nd	nd
Eastern basin	Moutin and Raimbault (2002a)	May-June 1996	0-100 m	0.3 ± 0.7	0.01 ± 0.02	4.5 ± 0.5 ^c	0.06 ± 0.03 ^c	42	75	~94	~86
			< 80 m	< 0.05	< 0.02	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	Krom et al. (2005)	May 2002	0-120 m	< 0.001-0.01	< 0.002-0.004	3-11 ^b	0.05 ^a	21-23	100	~100	~100
	Pujo-Pay et al. (2011)	July 2008	0-100 m	0-3.45	0-0.11	3.5-6.3 ^c	0.01-0.10 ^c	40	120	~90	~80
			< 20 m	< 0.05	< 0.01						
	Santinelli et al. (2012)	Sept. 2007	0-75 m	0.01-1.47	0.01-0.11	2.5-6.9 ^a	0.03-0.07 ^a	23	92	~100	80-60
		Jan. 2008	0-200 m	0.2-1.2	0.02-0.16	2.3-7.2 ^a	0.02-0.06 ^a	25	82	80-60	50-30

Table 3. Nitrate + nitrite (NO_x), phosphate (PO₄³⁻), dissolved organic and total nitrogen (DON and TDN, respectively) and dissolved organic and total phosphorus (DOP and TDP, respectively) concentrations and their ratio reported in the literature for the Mediterranean Sea. Values measured in this study correspond to data outside mesocosms at the beginning of both experiments. Several methods were used to DOP and DON: a) photo-oxidation UV; b) high temperature combustion; c) persulfate wet oxidation; d) UV-peroxide oxidation.

4.2. Nutrient dynamics: Biological vs. Acidification effect

During both experiments, results showed that none of the parameters investigated in this study were linearly related to CO₂ enrichment (Fig. 5). These two experiments, conducted in waters depleted in PO₄³⁻, showed low variations in PO₄³⁻ over the experimental period and no significant differences in PO₄³⁻ dynamics over the different pCO₂ conditions. With respect to NO_x, concentrations followed the same temporal trend with no significant differences between control and perturbed mesocosms (Figs. 4 and 5). In the Bay of Villefranche, during the acidification phase, although targeted pCO₂ conditions were not yet reached, a drop in NO_x observed in all mesocosms suggested that NO_x uptake by phytoplankton was not impacted by an increase in pCO₂ in the perturbed mesocosms. During the summer and winter experiments, a trend in DON_{UV} and DOP_{UV} was now observed, and concentrations were not affected by acidification (Fig. 5). Although a decrease in pH would favor the solubility of DFe (Breitbarth et al., 2010a), DFe concentrations did not increase with increasing pCO₂ (Fig. 5). As such, it appears that both direct chemical and indirect biological processes (further discussed in this section) that controlled nutrient dynamics during these experiments were independent of pCO₂ conditions.

Previous mesocosm experiments, similar to the ones presented here, focused on the effect of ocean acidification on plankton communities but were performed under nutrient replete conditions using artificial nutrient addition. For instance, in the framework of the Pelagic Ecosystem CO₂ Enrichment (PeECE) project, three land-based mesocosm experiments were conducted in Bergen (Norway), in 2001, 2003 and 2005 (PeECE I, II and III, respectively). In 2001 and 2003, three treatments represented low (190 µatm), present-day (370-410 µatm) and high (700 µatm) pCO₂ conditions. In PeECE III, there was one present-day condition and two high pCO₂ levels (350, 700 and 1050 µatm). After nutrient addition, [NO_x]_{initial} and [PO₄³⁻]_{initial} were 15 and 0.5 µM respectively during PeECE I, 9 and 0.4 µM respectively during PeECE II, and 16 and 0.8 µM respectively during PeECE III. During all three experiments, and in agreement with our results, NO_x and PO₄³⁻ uptake were similar in all mesocosms, indicating that phytoplankton nutrient uptake was insensitive to changes in seawater pH (Engel et al., 2005 and 2008; Schulz et al., 2008; Bellerby et al., 2008). As similar increases in DOC, DON and DOP were observed in all PeECE mesocosms, this further suggests that acidification, as observed in our experiments, did not impact the production or consumption of dissolved organic nutrients. In contrast to the lack of pCO₂ effects on inorganic and organic

macronutrients, Breitbarth et al. (2010b) have shown, during the PeECE III experiment and in agreement with previous studies (e.g. Liu and Millero, 2002; Millero et al., 2009), that ocean acidification may lead to enhanced Fe-bioavailability due to (1) an increase in the organically complexed Fe (III) and (2) an increase in Fe(II) concentrations. This is not consistent with data acquired during our experiment in the Bay of Villefranche where [DFe] in high-CO₂ mesocosms were not significantly higher than in low-CO₂ mesocosms.

More recently, a large off-shore mesocosm experiment has been conducted in the Arctic ocean (Svalbard) following a *p*CO₂ gradient ranging from 185 to 1420 µatm. This study has shown that, before nutrient addition ([NO_x] = 0.1 µM and [PO₄³⁻] = 0.06-0.09 µM), in agreement with our results, organic and inorganic nutrient dynamics were similar in all *p*CO₂ treatments (Schulz et al., 2013). During the phytoplankton growth stimulated by nutrient addition (after day 13, [NO_x]_{d13} = 5.5 µM and [PO₄³⁻]_{d13} = 0.4 µM), while the same dynamics in DON and DOP were observed in all mesocosms, inorganic nutrient uptake (NO_x and PO₄³⁻) was faster at higher CO₂ levels indicating a shift in phytoplankton community composition (Schulz et al., 2013), a shift that was not observed during our experiments (Gazeau et al. submitted, this issue-b).

Among the very few bottle experiments focused on the effect of ocean acidification on planktonic communities under low nutrient conditions, results of Yoshimura et al. (2010; [NO_x]_{initial} = 0.05 ± 0.02 µM and [PO₄³⁻]_{initial} = 0.25 ± 0.01 µM) support our conclusion that under limiting conditions, nutrient dynamics are not dependent on *p*CO₂ levels.

In our study, nutrient measurements were performed at nanomolar levels providing greater detail to assess temporal dynamics. As nutrients dynamics did not differ between *p*CO₂ levels, the nine mesocosms can be considered as replicate measurements. As such, daily average nutrient concentrations were calculated (Figs. 6, 7 and 8) providing insight to the relationship between nutrient dynamics and major biological parameters (chlorophyll *a*, particulate organic carbon, organic matter) and processes (production and degradation, heterotrophic enzymatic activities, nitrification). Such stocks and fluxes, measured during the experiments, are presented and discussed in details in companion papers (Gazeau et al., submitted, this issue-b; Maugendre et al., in press, this issue-a; Celussi et al., in press, this issue).

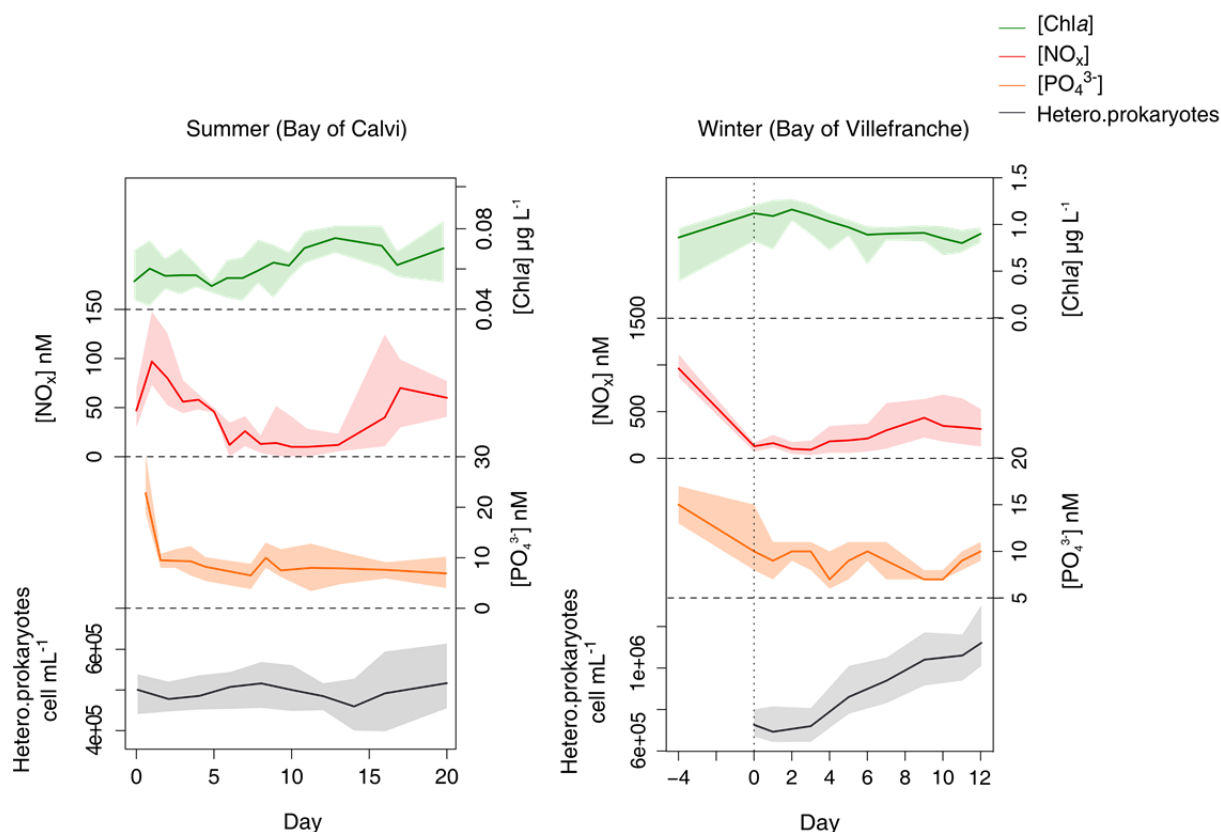


Figure 6: Average (all mesocosms) concentrations of chlorophyll a (Chla; green line), nitrate + nitrite (NO_x ; red line), phosphate (PO_4^{3-} ; orange line) and heterotrophic prokaryotes (hetero. prokaryotes, grey line) along the course of the both experiments in the Bay of Calvi (BC) and in the Bay of Villefranche (BV). The color areas correspond to the range from minimum to maximum of $[\text{Chla}]$, $[\text{NO}_x]$, $[\text{PO}_4^{3-}]$ and hetero. prokaryotes measured. The period between day -4 and day 0 corresponds to the acidification phase.

As a brief summary of the companion papers, during the summer experiment in the Bay of Calvi, CO_2 enrichment did not have any significant effect on primary production (Maugendre et al. in press, this issue-a), abundance and activity of heterotrophic prokaryotes (Celussi et al., in press, this issue), as well as Chla concentrations and phytoplankton community composition (Gazeau et al., submitted, this issue-b). The summer plankton community was mostly composed of small species such as haptophytes and cyanobacteria (Gazeau et al., submitted, this issue-b), dominated by mixotrophs or heterotrophs. While the carbon biomass of autotrophs was very low (from 0.009 ± 0.003 to $0.022 \pm 0.009 \mu\text{mol C L}^{-1}$; based on compound specific ^{13}C incorporation; Maugendre et al., in press, this issue-b), mixotrophs represented the most productive group with an increasing biomass over the experimental period (from 0.05 ± 0.01 to $0.08 \pm 0.03 \mu\text{mol C L}^{-1}$). The low biomass of autotrophs determined by Maugendre et al. (in press, this issue-b) was consistent with the low average $[\text{Chla}]$ measured in the Bay of Calvi (from 0.06 to $0.08 \mu\text{g L}^{-1}$; Fig. 6). Despite a low

autotrophic production, $[\text{NO}_x]$ decreased by 50% throughout the experiment and $[\text{PO}_4^{3-}]$ decreased during the first day and then slightly decreased until day 7 (Fig. 6). In such a nutrient-depleted system, haptophytes, considered as mixotrophic, are known to be good competitors for low nutrient resources (Sanders, 1991). The ratio between uptake rates of NO_x ($12.8 \text{ nmol N L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) and PO_4^{3-} ($0.5 \text{ nmol P L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), determined from the slope of NO_x and PO_4^{3-} decreases between day 1 and day 7, was around 25. This is close to the typical $[\text{NO}_x] / [\text{PO}_4^{3-}]$ in Mediterranean waters below the mixed layer (~ 22). Despite a slight decrease in $[\text{DON}]_{\text{UV}}$, an uptake of DOP was not observed (except between day 0 and day 1). This was unexpected since the gradual increase of the alkaline phosphatase activity (APA) observed until day 12 (on average 169 nM h^{-1} ; Celussi et al., in press, this issue) should be concomitant with a decrease in $[\text{DOP}]$ (i.e., Ruttenburg and Dyhrman, 2002; Mahaffey et al., 2014; Fig. 7). It could be due to either the low $[\text{DOP}]_{\text{UV}}$ during this experiment and/or a rapid turnover of DOP (Benitez-Nelson and Buesseler, 1999). Towards the end of the experiment, $[\text{NO}_x]$ raised while $[\text{PO}_4^{3-}]$ remained stable (Fig. 6). Excluding the external inputs in the mesocosms by UV-transparent roofs covering them, the release of NO_x would result from bacterial remineralization.

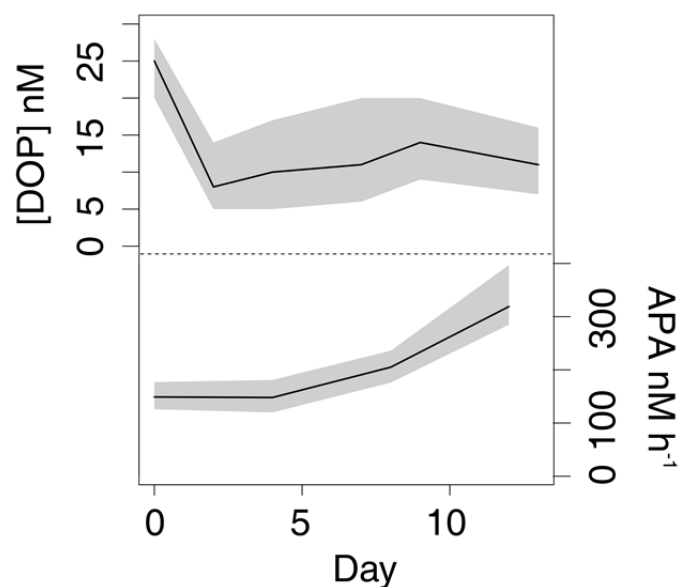


Figure 7: Comparison of the evolution of the concentration of dissolved organic phosphorus (DOP) and the alkaline phosphatase activity (APA) halfway through the experiment in the Bay of Calvi (BC). Sampling and analytical protocol for APA are described in Celussi et al. (2015, this issue).

In the Bay of Villefranche, as already mentioned, a rapid nutrient uptake by phytoplankton was observed during the acidification phase, concomitant with the increase in biomass (Fig. 6). After this [Chl*a*] increase (and [NO_x] drop) in all mesocosms, the biomass of the autotrophic community decreased (from 1.1 to 0.9 µg L⁻¹) while the abundance of heterotrophic prokaryotes increased in all mesocosms (from 7.3 x 10⁵ cell mL⁻¹ to 1.1 x 10⁶ cell mL⁻¹; Fig. 6). From day 3, an increase in [NO_x] occurred in all mesocosms that was likely linked to enhanced heterotrophic prokaryotes activity (Fig. 6). It is possible that the increase in [NO_x] of ~18 nmol N L⁻¹ d⁻¹ was induced by nitrification activity estimated to be ~19 nmol N L⁻¹ d⁻¹ (Al-Moosawi, pers. comm.) although no negative correlation between [NH₄⁺] and [NO_x] could be observed (Fig. 8b). Nitrification could have been preceded by ammonification of the DON pool produced from the degradation of particulate organic matter by heterotrophic prokaryotes. This could explain the negative correlation between particulate organic carbon concentrations ([POC]) and [NO_x] (Fig. 8c), while [DON] remained stable (Fig. 8a; sampling and analytical protocols for POC are described in Gazeau et al., submitted, this issue-b). The decrease in POC could also be due to the phytoplankton cell lysis under experimental stress (e.g. water column trapped in mesocosm). The large amount of released nutrient-rich organic matter resulted in an increase in bacterial abundance and heterotrophic activity. Ultimately, regenerated inorganic nutrients such as NH₄⁺ and NO_x by nitrification were produced (Al-Moosawi, pers. comm.). While the heterotrophic activity based on the regenerated production was usually higher in summer, the increase in phytoplankton biomass (mostly composed of small species such as cryptophyceae and haptophyceae; Gazeau et al. submitted, this issue-b) at the start of experiment in the Bay of Villefranche allowed an increase in the abundance and activity of heterotrophic prokaryotes (see Celussi et al., in press, this issue, for further details).

Finally, in the Bay of Villefranche, in relation to the increase in heterotrophic activity and nitrification, [DFe] increased significantly ($p_{\text{value}} < 0.001$) from day 3 to day 7 (Fig. 9a). This could be the result of either an enhancement of Fe solubility by organic ligands exuded by phytoplankton or the release of DFe in seawater after cell death (Witter et al., 2000) while [Chl*a*] decreased. A negative relationship between [DFe] and [Chl*a*] ($p_{\text{value}} = 0.001$) was indeed observed between day 3 and day 7 (Fig. 9b). Although [Chl*a*] continued to decline until day 11, [DFe] did not increase after day 7. Finally, other biotic and abiotic processes

such as scavenging and/or aggregation (Johnson et al., 1997), that were not explicitly studied here, could have explained this decrease in [DFe] observed at the end of the experiment.

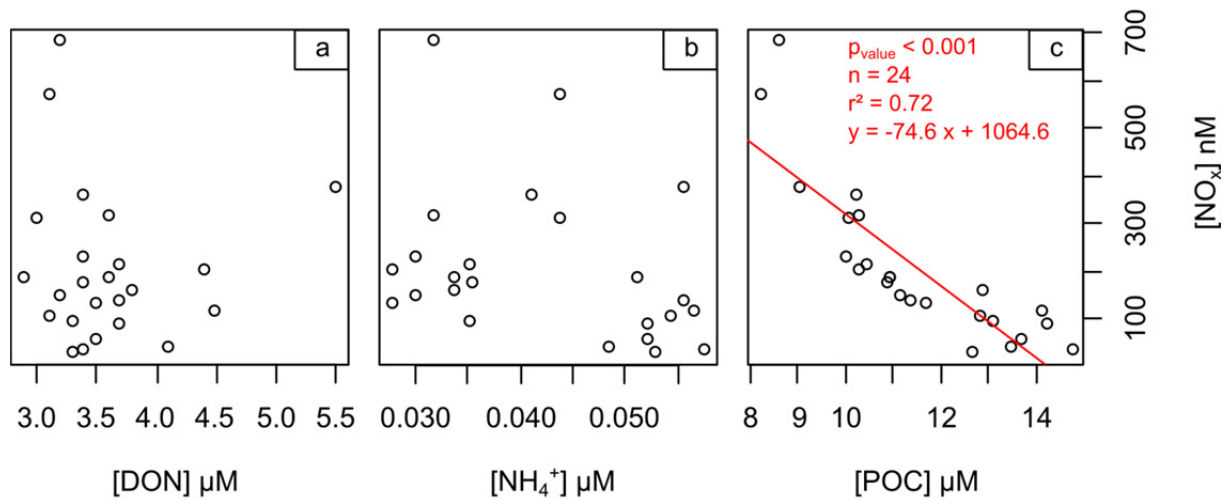


Figure 8: Nitrate + nitrite ([NO_x]) vs dissolved organic nitrogen ([DON]) (a), [NO_x] vs ammonium ([NH₄⁺]) (b), and [NO_x] vs particulate organic carbon ([POC]) (c) during the experiment in the Bay of Villefranche (BV). The red line corresponds to the linear regression between [NO_x] and [POC] ($r^2 = 0.72$, $p_{\text{value}} < 0.001$). Sampling and analytical protocols for ammonium and POC measurements are described in Al-Moosawi et al. (in preparation, this issue) and Gazeau et al. (in preparation, this issue-c).

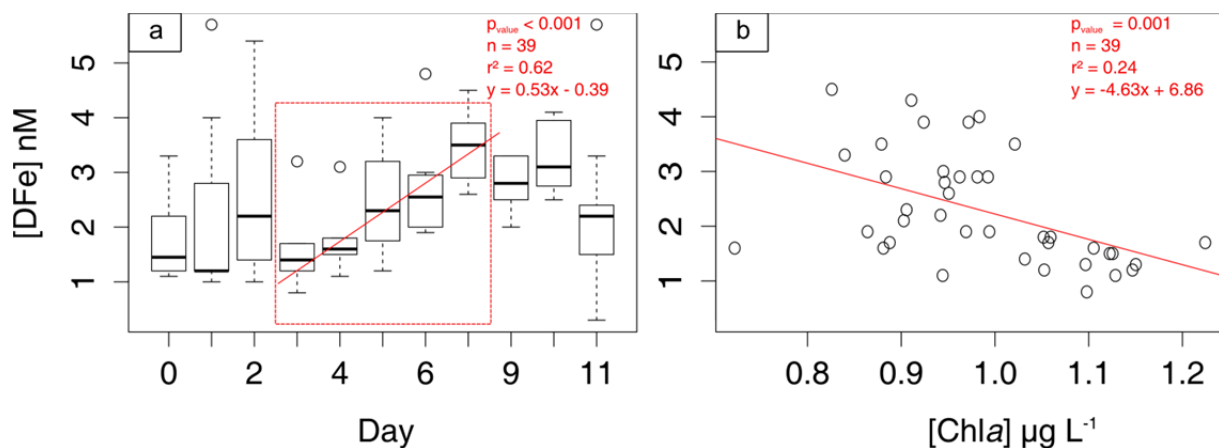


Figure 9: Box-plot of the dissolved iron concentrations ([DFe]) for all mesocosms along the course of the experiment conducted in the Bay of Villefranche in winter 2013. The red line represents the linear regression of [DFe] (without outlier values) as a function of time between day 3 and day 7 ($r^2 = 0.62$ and $p_{\text{value}} < 0.001$) (a). Regression linear between [DFe] and the concentration of chlorophyll a ([Chla]) between day 3 and day 7 ($r^2 = 0.24$ and $p_{\text{value}} = 0.001$) (b).

5. Conclusion

These first ocean acidification mesocosm experiments conducted in coastal LNLC areas allowed for investigation of the effect of ocean acidification on nutrient dynamics using nanomolar techniques. While the summer experiment was fully representative of oligotrophic summer conditions in the Mediterranean Sea, the winter experiment failed to reproduce the mesotrophic conditions typical of the winter time. Instead post-bloom conditions were also encountered, with high concentrations of phytoplankton exudates and low nutrient concentrations.

Based on these two experiments, ocean acidification did not affect the dynamics of nutrients both under inorganic and organic forms: (1) the concentration of dissolved organic nutrients remained stable regardless of $p\text{CO}_2$ conditions, (2) the expected increase in iron solubility at high $p\text{CO}_2$ was not observed and (3) the dynamics of NO_x and PO_4^{3-} were controlled by the biological processes independently of $p\text{CO}_2$ conditions.

Although the use of nanomolar techniques during these experiments facilitated documentation of nutrient dynamics with great precision, the direct measurement of the turnover times of P and N would provide a better view on these dynamics resulting from biological uptake. Such measurement would improve the assessment of ocean acidification impacts on plankton nutrient uptake, particularly in summer, when the turnover time of P is very low (1-2 h; Moutin et al., 2002b). As such, we recommend the measurement of nutrient turnover rates over nanomolar measurements in future mesocosm studies conducted in oligotrophic areas.

This absence of $p\text{CO}_2$ effects on the bioavailability of nutrients in low nutrient and low chlorophyll waters suggests that there will be no direct positive or negative feedback by the biological pump in response to the rise in atmospheric CO_2 . However, other changes projected with climate change, such as the increase in water column stratification, seawater temperature, extreme events occurrence, could induce shifts in the nutrient stoichiometry with important impacts on the diversity of the natural plankton assemblage. The response of marine ecosystems to on-going environmental changes in oligotrophic areas should be tackled using multi-stressor approaches (such as combining ocean acidification, warming and atmospheric deposition) in future investigations.

Acknowledgements

This work was funded by the EC FP7 project ‘Mediterranean Sea Acidification in a changing climate’ (MedSeA; grant agreement 265103), the project European Free Ocean Carbon Enrichment (eFOCE; BNP-Paribas foundation), the MISTRALS-MERMEX program (Institut des Sciences de l’Univers, INSU), the Corsican local authorities and the Rhone-Mediterranean and Corsica Water Agency (<http://www.eaurmc.fr>). It is a contribution to the Surface Ocean - Lower Atmosphere Study (SOLAS), the Integrated Marine Biogeochemistry and Ecosystem Research (IMBER) and the LOICZ projects. The STARESO marine station in Corsica is gratefully acknowledged for its assistance and boat support carried out within the framework of the STARECAPMED project funded by the Rhone-Mediterranean and Corsica Water Agency. A grant provided by the University of Paris 6 supported J.L. The staff of the Observatoire Océanologique de Villefranche is gratefully acknowledged for their assistance and boat support, colleagues of the Laboratoire d’Océanographie de Villefranche for providing laboratory space. J.-M. Grisoni, A. Sallon, G. Obolensky, S. Alliouane, B. Hesse, D. Luquet, D. Robin, P. Mahacek and E. Cox are acknowledged for assistance with diving operations.

3. Conclusions et perspectives

3.1. Conclusions et perspectives vers des études multi-facteurs

Dans le cadre du projet MedSeA, les deux expériences en mésocosme ont permis d'étudier l'effet de l'acidification sur les communautés planctoniques dans une zone LNLC tout en suivant la dynamique des nutriments au niveau nanomolaire. L'activité des hétérotrophes et des petites espèces autotrophes a dominé ces deux expériences, conduites sous des conditions estivales oligotrophes (baie de Calvi) et « post-bloom » (baie de Villefranche). Les résultats obtenus sur l'ensemble de ces deux expériences, nous incitent à conclure que la dynamique des nutriments, que ce soit sous forme inorganique ou organique dissoute, n'est pas sensible à l'augmentation de $p\text{CO}_2$ dans cette région limitée par la disponibilité en macro-nutriments. Alors que l'évolution des concentrations en nutriments inorganiques ($[\text{NO}_x]$, $[\text{PO}_4^{3-}]$) était contrôlée par des processus biologiques, les nutriments organiques (DON et DOP) ont montré très peu de variations au cours des deux expériences. Sous des conditions typiquement oligotrophes en baie de Calvi, la consommation de PO_4^{3-} et NO_x par le picoplancton n'a montré aucune différence significative selon le gradient de $p\text{CO}_2$. En baie de Villefranche, l'augmentation de $[\text{NO}_x]$ probablement due à un processus de nitrification, a été observée quel que soit le niveau de $p\text{CO}_2$, et enfin l'augmentation attendue de la solubilité de DFe *via* une diminution de pH n'a pas été confirmée au cours de nos expériences. L'absence d'effets significatifs sur la biodisponibilité des nutriments, les taux métaboliques et la communauté planctonique en zone LNLC ne suggère aucune rétroaction négative ou positive sur la concentration atmosphérique en CO_2 via l'activité biologique.

Au cours de cette dernière décennie, l'étude de l'influence d'un seul forçage, tel que l'acidification, sur les cycles biogéochimiques et les écosystèmes marins a fait l'objet de nombreuses recherches. Pourtant, l'océan ne sera pas contraint à un seul mais à de multiples changements dans le futur (Achterberg, 2014). Le véritable enjeu scientifique sera (ou est plutôt) d'élaborer des expériences à deux ou plusieurs facteurs environnementaux afin de mieux modéliser la réponse de l'écosystème marin dans un contexte de changement climatique. Autre que l'acidification, la Méditerranée doit faire face à un réchauffement des eaux de surface. Les observations satellites faites durant ces deux dernières décennies ont révélé une augmentation significative de la température des eaux de surface en Méditerranée

de 0,03 à 0,15 °C par an (Groupe Mermex, 2011). Malgré le fait que l'augmentation de température de l'eau de mer aurait tendance à accélérer la vitesse de développement du phytoplancton (Eppley, 1972), il est peu probable que cet effet soit significatif en Méditerranée étant donné son caractère oligotrophe. Au contraire, l'accentuation de la stratification de la colonne d'eau par le réchauffement océanique diminuerait l'apport en nutriment par convection et intensifierait l'oligotrophie en mer Méditerranée (Doney, 2006). Un changement dans la communauté phytoplanctonique pourrait privilégier les petites espèces (picophytoplancton et nanoflagellé) (*e.g.* Marty et al., 2002). Ainsi, une modification du niveau trophique ne serait pas sans conséquence sur l'export et la minéralisation de la matière organique, et sur les cycles des éléments nutritifs. Les études concernant les effets combinés du réchauffement et de l'acidification des eaux de surface en Méditerranée sur son écosystème pélagique restent rares et nécessitent de futures investigations.

3.2. Effet de la température et de l'acidification sur la dynamique des nutriments après un bloom printanier en baie de Villefranche sur mer

L'étude de l'effet individuel et combiné de la température et de l'acidification sur la communauté planctonique dans le bassin nord-ouest méditerranéen a été publiée dans *ICES Journal of Marine Science* (Maugendre, Gattuso, Louis et al., 2014). Dans le cadre de cette étude, mon travail a consisté à participer à l'ensemble de l'expérience, échantillonner et analyser les nutriments inorganiques (PO_4^{3-} et $\text{NO}_x : \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) au niveau nanomolaire.

De l'eau de mer prélevée à 5 m de profondeur et filtrée directement sur 200 μm dans la baie de Villefranche-sur-mer (France) en mars 2012 a fait l'objet de quatre traitements, chaque traitement comprend 3 réplicats conditionnés dans des bouteilles de 4 litres (voir section 2.2.1 du chapitre II).

Les traitements sont les suivant :

- Traitements
- *Control* noté « **C** » : température et $p\text{CO}_2$ ambiantes
 - *Ocean warming* noté « **OW**¹⁵ » : température élevée et $p\text{CO}_2$ ambiante
 - *Ocean acidification* noté « **OA**¹⁶ » : température ambiante et $p\text{CO}_2$ élevée
 - *Greenhouse* noté « **G**¹⁷ » : température et $p\text{CO}_2$ élevées

Ces bouteilles, placées dans deux incubateurs de 2 m³ alimentés en continu en eau de surface, sont installées à l'extérieur afin d'imiter des conditions de luminosité d'une profondeur d'environ 1 mètre. Les évolutions des nutriments inorganiques et de l'activité autotrophe et hétérotrophe ont été suivies sur une période de 12 jours pour chaque traitement. La température moyenne était de $14,3 \pm 0,3$ °C dans l'incubateur dit en condition naturelle, alors qu'elle était de $17,2 \pm 0,7$ °C dans l'incubateur à température élevée (Figure III.3, B). La $p\text{CO}_2$ moyenne dans les traitements C et OW était de 364 ± 14 μatm (pH de $8,12 \pm 0,02$ sur l'échelle totale) et 414 ± 12 μatm (pH de $8,07 \pm 0,01$) respectivement. Pour les traitements OA et G, le niveau élevé de $p\text{CO}_2$ a été obtenu par addition d'eau de mer saturée en CO_2 , et cela a permis d'obtenir des valeurs moyennes de 613 ± 22 μatm (pH de $7,92 \pm 0,01$) et 690 ± 28 μatm (pH de $7,88 \pm 0,02$) respectivement (Figure III.3, A).

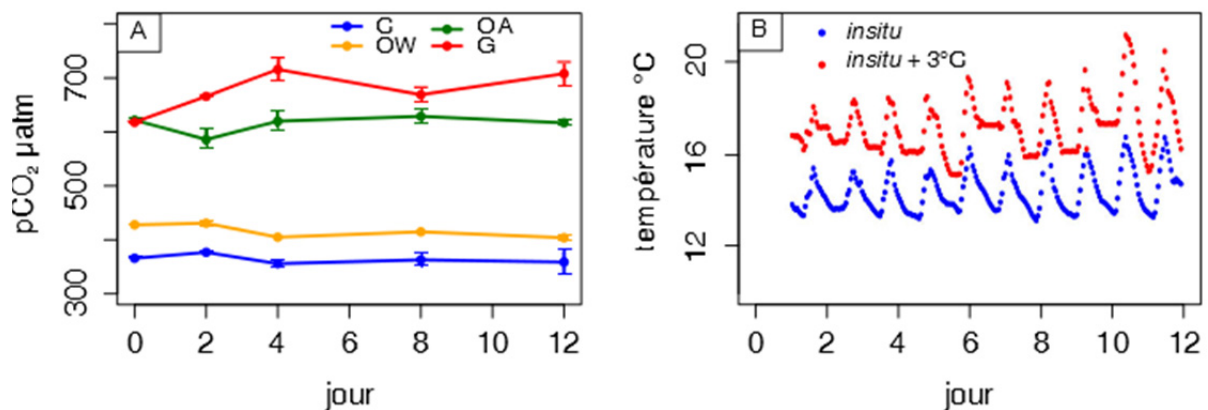


Figure III.3: Evolution de la $p\text{CO}_2$ (μatm) pour les 4 traitements (C: contrôle ; OA : acidification ; OW : réchauffement ; G : acidification + réchauffement) (A) et de la température dans les deux incubateurs (modifié d'après Maugendre et al., 2014) (B) au cours de l'expérience.

¹⁵ OW : ocean warming

¹⁶ OA : ocean acidification

¹⁷ G : greenhouse

A l'aide d'une analyse statistique PERMANOVA, nous avons montré que l'augmentation de la température et de la $p\text{CO}_2$ n'avait pas d'effets significatifs (indépendants ou combinés) sur la concentration en matière organique particulaire, sur la plupart des pigments photosynthétiques, et sur l'activité hétérotrophe. Toutefois, l'abondance du picophytoplancton, et plus particulièrement des cyanobactéries, semblait être stimulée avec une élévation seule de la température de l'eau de mer. Concernant la dynamique des nutriments, la concentration en NO_x ($[\text{NO}_x]$) n'a montré aucune différence significative entre les quatre traitements ($p_{\text{value}} > 0,05$), alors que la concentration en phosphate ($[\text{PO}_4^{3-}]$) serait affectée par une $p\text{CO}_2$ plus élevée ($p_{\text{value}} = 0,005$). La réalisation de 3 réplicats pour chaque traitement nous a permis de discuter de la significativité du test statistique sur $[\text{PO}_4^{3-}]$ qui sont faibles au cours de l'expérience (moyenne : 13 ± 1 nM). Avec une erreur moyenne entre les réplicats de même valeur que celle entre les deux traitements C et OA (± 1 nM), nous avons considéré que l'effet détecté de la $p\text{CO}_2$ était seulement dû à une incertitude analytique (Figure III.4, A).

L'expérience a été conduite dans des conditions dites de « post-bloom », avec de l'eau de mer prélevée une journée après la concentration en chlorophylle a $[\text{Chl}a]$ maximale mesurée en baie de Villefranche-sur-mer ($[\text{Chl}a] = 0,54 \mu\text{g L}^{-1}$). L'eau de mer est alors appauvrie en $[\text{PO}_4^{3-}]$ dès le début de l'expérience (14 ± 2 nM). Après deux jours d'incubation, le déclin en NO_x consommé par les diatomés (de 163 ± 42 nM à 80 ± 19 nM, Figure III.4, B) a été suivi par une diminution de la biomasse phytoplanctonique (baisse de $[\text{Chl}a]$ de $1,1 \pm 0,0 \mu\text{g L}^{-1}$ à $0,3 \pm 0,1 \mu\text{g L}^{-1}$) jusqu'à la fin de l'expérience. L'appauvrissement du système en nutriments après un bloom a été propice à l'efflorescence du picophytoplancton et plus particulièrement des cyanobactéries.

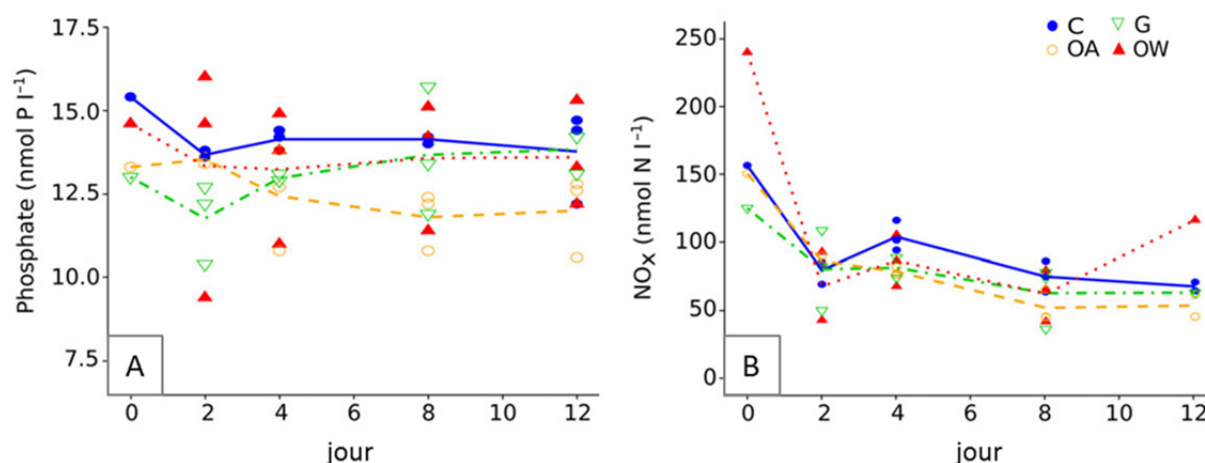


Figure III.4: concentrations en phosphate (A) et NO_x (B) pour les 4 traitements (C : contrôle ; OA : ocean acidification ; OW : ocean warming ; G : greenhouse) au cours de l'expérience. Les symboles correspondent aux trois replicats pour chaque traitement. Les lignes représentent les concentrations moyennes (modifié d'après Maugendre et al., 2014).

Comme observé lors des expériences en mésocosmes de MedSeA, les petites espèces planctoniques ainsi que la dynamique des nutriments à faibles concentrations, restent insensibles à une élévation de la $p\text{CO}_2$ de l'eau de mer. Il en est de même lorsque l'on combine température et $p\text{CO}_2$ élevée. Alors qu'un réchauffement de l'océan semblait bénéfique pour le nano et picoplancton en milieu oligotrophe (effet isolé), l'évolution des nutriments inorganiques (NO_x et PO₄³⁻) n'était pas affectée. La divergence des effets lorsque les facteurs (*e.g.* température et acidification) sont soit isolés ou combinés, renforce l'intérêt de conduire des études multi-forçages.

Ce type d'expérience via une incubation de bouteilles de petit volume présente néanmoins des limites. Premièrement, cette méthode ne permet pas d'étudier la réponse de l'ensemble de la communauté planctonique (uniquement < 200 μm). Des expériences en mésocosmes (50 m³), par exemple, permettrait de mieux appréhender les effets de la température et de la $p\text{CO}_2$ sur l'écosystème pélagique dans des conditions hydrologiques plus réalistes (*e.g.* turbulence). A noter, toutefois, que modifier la température de l'eau de mer *insitu* dans un mésocosme reste ardu. Deuxièmement, la durée des expériences, que ce soit au laboratoire ou en mésocosme, reste limitée. Elle ne permet pas donc pas d'étudier l'adaptation de l'écosystème face à différents forçages et ses répercussions sur les cycles biogéochimiques.

Chapitre IV

Dynamique des nutriments à la suite de deux forçages atmosphériques : Acidification et Evènement Saharien

- 1. Introduction**
- 2. Le devenir des nutriments inorganiques à la suite d'un dépôt de poussières sahariennes**
 - 2.1. Résumé
 - 2.2. Article
 - 2.3. Conclusion
- 3. Impact de l'acidification sur la biodisponibilité des nutriments après un évènement saharien (projet CHIPIE)**
 - 3.1. Résumé
 - 3.2. Article
- 4. Conclusion générale**

« Les processus post-dépôts des nutriments dépendent de la dynamique particulaire, intrinsèquement liée à la nature de la matière organique dissoute »

« Sous des conditions de $p\text{CO}_2$ élevée, le dépôt de poussières à la surface des eaux oligotrophes pourrait impacter la pompe biologique sur une courte échelle de temps. »

1. Introduction

Dans le chapitre précédent, je me suis focalisée sur l'étude d'un seul forçage, l'acidification, tout en soulignant l'importance de réaliser des études « multi-forçages » dans de futures investigations. Comme introduit dans le chapitre I, la Méditerranée est sensible à un forçage naturel en particulier : le dépôt de poussières sahariennes. Malgré de grandes incertitudes concernant le devenir des émissions de poussières désertiques et sahariennes en particulier (Mahowald et al., 2009), un climat méditerranéen potentiellement plus sec pourrait favoriser une fréquence plus élevée d'évènements sahariens (Mermex Group, 2011). L'objectif de la thèse est d'étudier la réponse biogéochimique du bassin méditerranéen face au couplage de forçages, qu'ils soient naturels ou anthropiques. Les études présentées dans ce chapitre se sont centrées sur le devenir des éléments nutritifs à la suite d'un dépôt de poussières sahariennes à la surface de l'eau de mer dans des conditions de $p\text{CO}_2$ actuelles et attendues pour la fin du siècle.

Avant d'évaluer l'effet du couplage de ces deux forçages, acidification et évènement saharien, sur la dynamique des nutriments dans les eaux de surface, il est nécessaire d'avoir une meilleure compréhension des processus abiotiques contrôlant la solubilité des éléments nutritifs associés aux poussières déposées à la surface de l'eau de mer. A l'aide de la production d'un analogue de poussières sahariennes (voir chapitre II-section 3.2) et l'utilisation d'un minicosme (voir chapitre II-section 4.2.2), des expériences de simulations de dépôts de poussières sahariennes (voir chapitre II-section 3.2.3) ont été réalisées en conditions abiotiques à trois périodes de l'année. En parallèle, la sédimentation des particules a pu être prise en compte lors du suivi des concentrations en nutriments. Ce premier type d'expérience a fait l'objet du travail de Bressac et Guieu (2013). Dans cet article, les auteurs montrent que la solubilité du fer contenu dans les poussières est contrôlée par la quantité et la qualité de la DOM. Lorsque la DOM est dite « fraîche », celle-ci est sujette à l'agrégation formant ainsi de

la matière organique colloïdale, appelée TEP¹⁸, dont ses propriétés physicochimiques lui confèrent un rôle de « colle » avec la matière particulaire présente dans l'eau de mer. Ainsi la formation d'agrégats entre la matière organique et les particules lithogéniques « bloque » les sites de désorption et inhibe la dissolution du fer présent dans les poussières (pourcentage de dissolution moyen de 0.4 %). Comme ce qui a été expliqué précédemment dans le chapitre I-section 1.4, la solubilité du fer est faible dans l'eau de mer et son maintien dans le pool dissous est principalement contrôlé par sa complexation avec des ligands organiques. Par conséquent le fer relargué par les poussières est rapidement transféré du pool dissous au pool particulaire via le processus d'agrégation. Lorsque la nature de la DOM ne favorise pas la formation d'agrégats, le pourcentage de dissolution augmente (une moyenne de 5.8 %) mais l'augmentation de [DFe] n'est que transitoire due à l'adsorption du DFe en excès sur les particules submicroniques.

Lors de ces mêmes expériences, le suivi des concentrations en NO_3^- et PO_4^{3-} a été réalisé, ce qui a fait l'objet de l'article Louis et al. (2015) présenté dans la section 2 de ce chapitre. L'objectif de cet article était de comprendre les processus contrôlant la solubilité de NO_3^- et PO_4^{3-} lors d'un dépôt de poussières sahariennes.

Ce chapitre s'articule donc autour deux grandes questions :

- 1^{ère} partie : Quel impact le dépôt de poussières sahariennes a-t-il sur le cycle des éléments nutritifs?
- 2^{ème} partie : Quel impact l'acidification a-t-elle sur la biodisponibilité des éléments nutritifs après un évènement saharien ?

¹⁸ TEP : Particules exopolymériques transparentes.

La définition des TEP est donnée en détail dans l'introduction du chapitre V.

2. Le devenir des nutriments inorganiques à la suite d'un dépôt de poussières sahariennes

2.1. Résumé

La dynamique de l'azote et du phosphore inorganique dissous dans l'eau de mer après un évènement de poussières sahariennes a été suivie dans le but de mieux comprendre l'impact des dépôts de poussières atmosphériques à la surface des eaux méditerranéennes appauvries en nutriments. Trois expériences en conditions abiotiques ont été réalisées à trois saisons (hier, printemps, fin de l'été) distinctes par leurs conditions biogéochimiques. Dans ces expériences conduites en condition 'trace', on a simulé un dépôt atmosphérique à la surface d'une cuve en polyéthylène (= minicosme) remplie d'eau de mer filtrée. Le dépôt était fait avec un analogue de poussières sahariennes évapocondensées. Les concentrations en phosphate ($[\text{PO}_4^{3-}]$) et nitrate ($[\text{NO}_3^-]$), la taille et le nombre de particules ont été mesurés sur une durée d'une semaine après l'ensemencement. Au cours des trois premières heures qui ont suivi le dépôt de poussières, une augmentation transitoire de $[\text{PO}_4^{3-}]$ a eu lieu, engendrant un apport maximal de 33, 9 et 39 nM en mai, octobre et février respectivement. Le transfert vers la phase particulaire de l'essentiel de la quantité de PO_4^{3-} initialement relarguée par les poussières, suggère un processus d'adsorption du PO_4^{3-} sur les particules riches en oxyde de fer, conduisant à des concentrations en fin d'expériences proches des valeurs initiales (7 nM en mai et octobre, et 6 nM en février). L'apport de NO_3^- par les poussières a été important, et particulièrement en mai et octobre (apport maximal de 23 et 11 μM respectivement). Ces forts apports ont été attribués à la dissolution de l'azote rapide et totale issue des petites particules ($< 1\mu\text{m}$) qui représentent en nombre l'essentiel des poussières évapocondensées. Jusqu'à la fin de l'expérience, $[\text{NO}_3^-]$ est restée élevée (16 μM en mai et 11 μM en octobre), suggérant que l'azote apporté lors d'un évènement saharien peut être biodisponible sur une longue période, contrairement au phosphore rapidement transféré abiotiquement du pool dissous au pool particulaire. La dissolution de PO_4^{3-} et NO_3^- était intrinsèquement liée à la dynamique particulaire, gouvernée par la qualité/quantité de la matière organique dissoute.

2.2. Article

Dissolved inorganic nitrogen and phosphorus dynamics in seawater following an artificial Saharan dust deposition event

Louis Justine, Bressac Matthieu, Pedrotti Maria-Luiza et Guieu Cécile

Cet article est publié dans *Frontiers in Marine Science*

Il a été soumis le 6 janvier 2015 et accepté pour publication le 6 mai 2015

Dissolved inorganic nitrogen and phosphorus dynamics in seawater following an artificial Saharan dust deposition event

Justine Louis^{1,2}, Matthieu Bressac^{1,2†}, Maria L. Pedrotti^{1,2} and Cécile Guieu^{1,2*}

OPEN ACCESS

Edited by:

Claire Mahaffey,
University of Liverpool, UK

Reviewed by:

Andrew King,
Norwegian Institute for Water
Research, Norway
Arvind Singh,
GEOMAR Helmholtz Centre for Ocean
Research Kiel, Germany

*Correspondence:

Cécile Guieu,
OOV-Centre National de la Recherche
Scientifique, UMR 7093, Observatoire
Océanologique de Villefranche,
Laboratoire d'Océanographie de
Villefranche/Mer, Bat. Jean Maetz,
Chemin du Lazaret, 06234
Villefranche/Mer, France
guieu@obs-vlfr.fr

†Present Address:

Matthieu Bressac,
Institute for Marine and Antarctic
Studies, University of Tasmania,
Hobart, TAS, Australia

Specialty section:

This article was submitted to
Marine Biogeochemistry,
a section of the journal
Frontiers in Marine Science

Received: 06 January 2015

Accepted: 06 May 2015

Published: 26 May 2015

Citation:

Louis J, Bressac M, Pedrotti ML and
Guieu C (2015) Dissolved inorganic
nitrogen and phosphorus dynamics in
seawater following an artificial
Saharan dust deposition event.
Front. Mar. Sci. 2:27.
doi: 10.3389/fmars.2015.00027

¹ Sorbonne Universités, Université Pierre et Marie Curie, UMR 7093, Observatoire Océanologique de Villefranche, Laboratoire d'Océanographie de Villefranche-sur-Mer, Villefranche-sur-Mer, France, ² Centre National de la Recherche Scientifique, UMR 7093, Observatoire Océanologique de Villefranche-sur-Mer, Laboratoire d'Océanographie de Villefranche-sur-Mer, Villefranche-sur-Mer, France

The dynamics of dissolved inorganic nitrogen and phosphorus in seawater after a dust event were followed to better understand the impact of dust deposition in low nutrient waters of the Mediterranean Sea. Three independent abiotic experiments were performed over three seasons (winter, spring, end of summer) characterized by contrasted biogeochemical conditions. Experiments consisted of seeding evapocondensed Saharan dust at the surface of a polyethylene tank filled with filtered surface seawater. Phosphate (PO_4^{3-}), nitrate (NO_3^-), size and number of particles and transparent exopolymeric particles production (TEP) were measured over the course of 1 week following seeding. Dust deposition was followed by a transient increase in $[\text{PO}_4^{3-}]$ during the first 3 h with a maximum input of 33, 9, and 39 nM, respectively in May, October and February. The removal of almost all the PO_4^{3-} initially released suggests a scavenging process of PO_4^{3-} back onto ferric oxide-rich particles leading to concentrations at the end of the experiment close to the initial values (7 nM in May and October, and 6 nM in February). NO_3^- released from dust was high especially in May and October (maximum input of 23 and 11 μM , respectively) and was attributed to nitrogen dissolution from the large amount of small particles ($<1 \mu\text{m}$) rich in nitrogen in the evapocondensed dust. $[\text{NO}_3^-]$ remained high until the end of the experiment (16 μM in May and 11 μM in October), indicating that NO_3^- from dust is likely to be bioavailable for a longer period compared to PO_4^{3-} from dust. The release of PO_4^{3-} and NO_3^- was intrinsically linked to particle dynamics, governed by the quality/quantity of dissolved organic matter.

Keywords: atmospheric nutrients, dissolution, adsorption, particle size distribution, TEP, dissolved organic matter, Saharan dust, Mediterranean Sea

Introduction

Studying the interactions between atmosphere and ocean is essential for better understanding biogeochemical cycles in the ocean, a critical step toward accurate modeling of ocean dynamics under climate and anthropogenic changes (e.g., Law et al., 2013; Liss and Johnson, 2014). With 500 Mt per year of dust deposited to the surface ocean (Law et al., 2013), the atmosphere is

a significant pathway for the transport of material from natural and anthropogenic sources to the coastal and open ocean. Atmospheric deposition is a source of external new nutrients to the ocean (i.e., Duce et al., 1991). Over the past decade, a number of studies have investigated post-depositional processes (dissolution, adsorption) of atmospheric nutrients in seawater and the impact of atmospheric deposition on biological activity (i.e., Guieu et al., 2014b). Most of the so-called “dissolution experiments” have been performed in bottles with a constant and homogeneous concentration of particles over the course of the experiment. As exchanges between dissolved and particulate phases occur while the atmospheric particles are sinking in the ocean, results from such “batch” approaches, that do not take into account the vertical dimension, could lead to incorrect quantifications of dissolution/scavenging processes involving atmospheric particles (de Leeuw et al., 2014). Additionally, most studies do not take into consideration the biogeochemical characteristics of the water used in experiments, such as the amount of dissolved organic matter.

Mineral aerosol particles are a dominant source of phosphorus (P) and iron (Fe) to the open ocean as they represent 83% of atmospheric total P and 95% of atmospheric total Fe globally (Jickells et al., 2005; Mahowald et al., 2008, 2009; Krishnamurthy et al., 2010; Liss and Johnson, 2014). Contrary to P and Fe, nitrogen (N) is dominated by anthropogenic emissions in gaseous form which represent 80% of the annual N deposition (67 Tg N yr^{-1} in 2000) to the global ocean (Duce et al., 2008). Such input could support up to 3% of all oceanic annual new production (Duce et al., 2008) and 20% in regional seas subject to high anthropogenic N deposition such as the South China Sea (Kim et al., 2014). During the transport of dust, in particular in the marine atmosphere where the relative humidity is high, the atmospheric gas HNO_3 reacts with mineral particles rich in carbonates and leads to coating of dust by nitrates (Krueger et al., 2004; Formenti et al., 2011). A strong mixing of dust in polluted air masses can allow an enrichment of anthropogenic N on mineral particles that may also become a significant source of N.

New nutrients from the atmosphere such as N, P, and Fe have the potential to impact marine biogeochemistry in Low Nutrient Low Chlorophyll waters (i.e., Guieu et al., 2014a); as is the case in tropical waters where N_2 fixation can be co-limited by Fe and P (Mills et al., 2004) and in the Mediterranean Sea where the pelagic community can be limited by the bioavailability of P and N during the stratified period (Tanaka et al., 2011; Ridame et al., 2014).

The Mediterranean Sea, an oligotrophic basin characterized by an unusual high N/P ratio [about 21–23 in Western basin, (Bethoux et al., 1992)] is subjected to high Saharan dust deposition, which can serve as a significant source of new P and Fe to this semi-enclosed basin. Additionally, a strong internal mixing of dust and nitrate from polluted European and North African air masses (e.g., Putaud et al., 2004) by cloud processes implies that Saharan dust events are likely a source of anthropogenic N.

A previous study taking into account the vertical dimension necessary for the study of the fate of atmospheric nutrients in the ocean was carried out in the framework of the DUNE

project. Dust seeding over large, clean *in situ* mesocosms (Guieu et al., 2010, 2014b) showed that a wet deposition event resulted in a strong increase in the N/P ratio in surface waters due to the higher input of NO_3^- relative to PO_4^{3-} in the evapocondensed dust used for the experiment (Ridame et al., 2014). Such dust input can either be a source or a sink of dissolved iron (DFe) depending on the biogeochemical conditions of the seawater (Wagener et al., 2010; Ye et al., 2011; Wuttig et al., 2013). Phosphate turnover time (TPPO_4^{3-}), which represents the ratio between natural concentration and uptake by plankton (Thingstad et al., 1993), are very short in the surface waters of the Mediterranean Sea (e.g., Thingstad et al., 1996; Moutin et al., 2002) making it difficult to observe and follow the fate of new nutrients and to deconvolute biological processes from post-deposition abiotic processes onto dust (i.e., dissolution/adsorption). Therefore, this previously overlooked differentiation is crucial for future modeling of atmospheric nutrients inputs.

A logical follow-up to the DUNE project was to study the fate of new nutrients after a dust deposition in abiotic conditions. As with the previous project, the strategy involved simulated dust depositions, but was performed on top of seawater volumes large enough to take into account the vertical dimension of particle sinking while also eliminating the processes involving living organisms. We performed three experiments in clean “minicosms” filled with 300 L filtered seawater ($<0.2 \mu\text{m}$). The seawater was collected in the bay of Villefranche-sur-mer during 3 contrasting seasonal scenarios: (1) during winter mixing, (2) immediately after the spring phytoplankton bloom, and (3) at the end of the stratification period during the end of summer. The behavior of the DFe in these experiments, conducted inside a clean room, have been previously presented in Bressac and Guieu (2013). This study revealed contrasted post-deposition processes affecting the DFe concentration [DFe]: during the spring and summer experiments, the rapid formation of aggregates induced a negative feedback on [DFe] through scavenging, while a fraction of DFe was likely organically complexed. During the winter experiment, the absence of aggregation processes led to a large transient increase in [DFe] before being removed by adsorption onto settling particles. These contrasting behaviors were attributed to differences in the quantity and quality of the dissolved organic matter (DOM) in the seawater utilized. This study confirmed that atmospheric iron dissolution in seawater is not controlled by similar processes throughout the year, as it depends on seasonal *in situ* conditions such as DOM concentration, an outcome previously shown by Wagener et al. (2008). Indeed, during the spring bloom, DOM is more abundant than during winter. It accumulates in the euphotic zone from spring to late summer following the increase in primary and secondary production (Copin-Montégut and Avril, 1993). This fresh DOM is assumed to be labile and mainly composed of acid polysaccharides and sugars thought to serve as precursors to transparent exopolymeric particles (TEP). TEP acts as an organic glue and is required for the formation of sinking aggregates (Kepkay, 2000; Passow, 2000; Beauvais et al., 2003). During summer in the study area, the increase in TEP concentration is consistent with the accumulation of

carbon-rich DOM (Avril, 2002), with TEP-C concentrations corresponding to 25% of the total organic carbon (Mari et al., 2001).

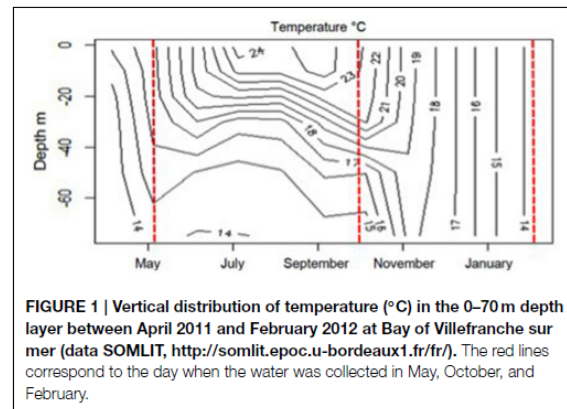
We measured the concentration of NO_3^- and PO_4^{3-} from samples collected during the same experiments as described in Bressac and Guieu (2013). The objectives of this study are (1) to present PO_4^{3-} and NO_3^- results using nanomolar sensitivity analytical techniques and (2) to link the dynamics of PO_4^{3-} and NO_3^- to the physical-chemical processes (dissolution, adsorption, and aggregation) (taking into consideration the DOM pool by measuring concentrations of TEP and absorption of the chromophoric DOM) occurring in low-nutrient waters after a dust event in contrasting biogeochemical conditions and, (3) to discuss the potential biogeochemical effect of such atmospheric input in LNLC waters.

Material and Method

Minicosm Experiment

The experimental setup is fully described in Bressac and Guieu (2013). A short summary is given here. A polyethylene (PE) tank (height = 1.09 m; diameter = 0.68 m; surface area = 0.36 m²; volume = 0.31 m³), hereafter called a “minicosm,” was installed in a clean room under controlled light and temperature settings (constant temperature of 20°C). A cover made of high density polyethylene (HDPE) was used to seal the minicosm tightly to avoid light penetration. The minicosm was conical at the bottom, and ended with a sediment trap from which exported material was collected at the end of each experiment. The minicosm was filled with filtered surface seawater collected at 5 m depth from the Bay of Villefranche (Mediterranean Sea) using three trace metal clean Teflon pumps connected to PE tubes. Inline filtration was performed using a 0.2 µm cartridge (Sartorius Sartobran-P-capsule with a 0.45 µm prefilter and a 0.2 µm final filter) and allowed to directly fill 25 L trace-metal clean HDPE containers that were kept in the dark until the seawater was transferred into the minicosm (less than 4 h for the entire operation). Seawater sampling and subsequent minicosm experiments were performed (1) in May 2011, at the beginning of the water column stratification while the phytoplankton bloom was ending (hereafter referred to as “May”), (2) in October 2011, at the end of the stratification period (“October”), and (3) in February 2012 during winter mixing (“February”) (Figure 1).

The same dust analog used during the DUNE experiments (see details in Guieu et al., 2010) was used to mimic a Saharan dust deposition at the surface of the minicosm. Briefly, the <20 µm fraction of soil collected in Tunisia was used after appropriate physico-chemical treatments in the laboratory, including dust processing with model cloud water to simulate processes during the atmospheric transport of aerosols. The particle number size distribution showed that 99% of particles had a size smaller than 1 µm. The dust analog, mostly made of quartz (40%), calcite (30%), and clay (25%), had the same P (and Fe) content with or without a chemical artificial aging, while concentration content of N was one order of magnitude higher after the dust was chemically processed due to the addition of HNO₃ in the



simulated cloud water. Fe, N, and P represented 2.31, 1.15, and 0.05% (w/w) of the dust analog (Guieu et al., 2010).

To mimic a Saharan dust wet deposition flux of 10 g m⁻² at the minicosm surface (the same flux as during the DUNE experiment), 3.6 g of dust analog was diluted into 2 L of ultrapure water and sprayed at the surface of the minicosm. Sampling was done prior to the seeding, and 1, 3, 6, 12, 16, 24, 31, 48, 72, 96, 120, and 144 h after the seeding. At the end of each experiment, less than 15% of the initial volume of the minicosm (300 L) had been removed for sampling over the course of the experiment. At each sampling time, samples were taken at 0.1, 0.3, and 0.6 m-depths through three sampling tubes with inlets at the center of the minicosm. A system of “float and weight” was linked to the three tubes to keep the sampling depths consistent throughout the experiment (Bressac and Guieu, 2013). Aliquots for the measurements of PO_4^{3-} and NO_3^- concentrations ($[\text{PO}_4^{3-}]$ and $[\text{NO}_3^-]$) were immediately filtered with acid-cleaned 0.2 µm polycarbonate membrane filters (Nucleopore, Whatman). Filtrates were stored in 60 mL HDPE bottles and acidified to pH 2 (quartz-distilled HCl). The evolution of the particle size distributions, absorption of the chromophoric dissolved organic matter (⁴CDOM), concentration of TEP [TEP] and [DFe] were also measured in the minicosm over the course of 1 week following seeding; in addition particulate organic carbon (POC) was measured in the material collected from the sediment trap of the minicosms. All those data are available in Bressac and Guieu (2013).

Nano-Molar Levels of Nutrients

PO_4^{3-} and NO_3^- were analyzed using two different Liquid Waveguide Capillary Cells (LWCC) made of quartz capillary tubing.

Dissolved Inorganic Phosphorus

We used the same protocol (and equipment), based on Murphy and Riley’s molybdenum blue method, as described by Pulido-Villena et al. (2010). Briefly LWCC was connected to a spectrophotometer and the measurements were performed in the visible spectrum at 710 nm. The 2-m length LWCC allowed for a detection limit of 1 nM and a relative standard deviation of

less than 10%. The reagents were prepared daily according to the same protocol as in Zhang and Chi (2002) and Zimmer and Cutter (2012).

Dissolved Inorganic Nitrogen

Dissolved inorganic nitrogen (DIN) in seawater is the sum of nitrate (NO_3^-) plus nitrite (NO_2^-) and was measured using a 1-m long LWCC. Here, we focus solely on $[\text{NO}_3^-]$ as $[\text{NO}_2^-]$ concentrations ($[\text{NO}_2^-]$) were close to the detection limit in May and October. The analytical setup used was based on several studies (Yao et al., 1998; Zhang, 2000; Adornato et al., 2007; Li et al., 2008). The analysis of $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ is based on the spectrophotometric Griess method (Chen et al., 2008). NO_2^- absorbance was measured at 540 nm. A further reduction of NO_3^- to NO_2^- by a copperized cadmium column (Gal et al., 2004) was necessary to quantify NO_3^- present in the sample.

The calibration curves were performed using standard solutions in ultrapure water diluting NaNO_2 and KNO_3 ("high purity" quality), which were previously dried at 60°C for 2 h. We obtained (1) a reduction efficiency between 90 and 96%, (2) a repeatability standard deviation (RSD) of 3% for the reduction process, (3) a detection limit for $[\text{NO}_2^-]$ and $[\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-]$ of 2 and 9 nmol L^{-1} after 10 blanks measurements, and (4) a $p < 0.01$ for T_{student} and ANOVA tests to verify the accuracy and the linear regression of this analytical method. Samples with $[\text{NO}_3^-] > 500\text{ nM}$ (outside of the linear range of the calibration curve) were diluted with low $[\text{NO}_3^-]$ seawater.

In the absence of reference seawater at nanomolar concentrations, the reproducibility and the repeatability of the analysis of PO_4^{3-} and NO_3^- were controlled by an internal standard (the seawater collected during the experiment of May in the bay of Villefranche sur mer with $[\text{PO}_4^{3-}] = 3\text{ nM}$ and $[\text{NO}_3^-] = 28\text{ nM}$).

Particle Size Distributions

Particle size distributions of the $0.7\text{--}18\text{ }\mu\text{m}$ size range were determined by Coulter Counter (Beckman) using a $30\text{ }\mu\text{m}$ aperture tube. The particle size distribution in number concentration $N(D)$ ($\text{part L}^{-1}\text{ }\mu\text{m}^{-1}$) was obtained after 5 replicate measurements and normalized using the extent of each size class as described by Bressac and Guieu (2013). To follow the size evolution of the particles settling, the average particle diameter D_{avg} (μm) was calculated as follows:

$$D_{\text{avg}} = \frac{\sum_i (N(D_i) \times D_i)}{n\text{Pc}}$$

where the symbol i corresponds to the different size classes over the $0.7\text{--}18\text{ }\mu\text{m}$ size range, D_i is the mid-point diameter of a given size class, and $n\text{Pc} = \sum_i N(D_i)$ is the total particle concentration over the $0.7\text{--}18\text{ }\mu\text{m}$ size range ($\text{part L}^{-1}\text{ }\mu\text{m}^{-1}$).

TEP Determination

Transparent exopolymeric particles (TEP) are acidic exopolysaccharides. This fraction can be quantified by spectrophotometry using Alcian blue stain. Samples (300 mL) were filtered through a $0.4\text{ }\mu\text{m}$ polycarbonate filter (Poretec) at low and constant vacuum ($<150\text{ mmHg}$) to preserve cells.

Material retained on the filter was stained with $500\text{ }\mu\text{L}$ of an aqueous solution of 0.06% acetic acid ($\text{pH } 2.5$) and 0.02% Alcian blue (Sigma, 8GX). After a few seconds, the filter was dried and rinsed with 1 mL milliQ water, and subsequently stored at -20°C until analysis. TEP concentration was measured according to the dye-binding assay (Passow and Alldredge, 1995), 6 mL of 80% sulfuric acid was added to samples, followed by immediate vortexing. Following incubation at room temperature for 20 h, absorption was measured at 787 nm . TEP values are expressed as xanthan gum weight equivalent (Xequival L^{-1}) calculated by means of a calibration curve. The carbon content of TEP (TEP-C) was estimated from colorimetric determinations according to Engel and Passow (2001).

TEP-C was measured *in situ* for the 3 experiments. The evolution of the TEP-C after dust addition in the minicosm was followed in samples collected at 0.3 m depth in October and February. No minicosm data is available for the May experiment.

Results

To better understand the relationship between the dynamics of the nutrients and the particles, we took the average values of the 3-depths for each parameter ($n\text{Pc}$, D_{avg} , $[\text{NO}_3^-]$, $[\text{PO}_4^{3-}]$, $\Delta[\text{NO}_3^-]$, $\Delta[\text{PO}_4^{3-}]$); these averages were used for clarity and consistency with Bressac and Guieu (2013). $\Delta[\text{NO}_3^-]$ and $\Delta[\text{PO}_4^{3-}]$ represent the release of NO_3^- (μM) and PO_4^{3-} (nM) from dust. In effect, these correspond to the difference between $[\text{NO}_3^-]$ and $[\text{PO}_4^{3-}]$ after dust addition and before dust addition. The 3-depth averages $[\text{NO}_3^-]$ and $[\text{PO}_4^{3-}]$ are hereafter referred to as $[\text{NO}_3^-]_{\text{avg}}$ and $[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg}}$.

Initial Conditions at the Three Different Seasons in the Bay of Villefranche

The evolution of the seawater temperature from April 2011 to February 2012 (Figure 1) clearly identifies the stratified period (May and October experiments) and winter mixing (February experiment). In May (Table 1), the seawater was typical of the post-bloom conditions with $[\text{Chla}] = 0.28\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, a nutrient depletion ($[\text{NO}_3^-] = 28\text{ nM}$; $[\text{PO}_4^{3-}] = 3\text{ nM}$) and a high value of [TEP-C] ($27.1\text{ }\mu\text{mol C L}^{-1}$). In October, $[\text{NO}_3^-]$ and $[\text{PO}_4^{3-}]$ remained very low whereas $[\text{Chla}]$ and [TEP-C] decreased ($0.13\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ and $15.4\text{ }\mu\text{mol C L}^{-1}$, respectively). In February when the whole water column was well-mixed, $[\text{NO}_3^-]$ was one order of magnitude higher compared to May and October (327 nM) whereas $[\text{PO}_4^{3-}]$ was still low (7 nM). In February, TEP-C had the lowest concentration ($2.7\text{ }\mu\text{mol C L}^{-1}$).

Particle Size Distribution

The evolution of $n\text{Pc}$ (Figures 2A,B,C) and D_{avg} (Figures 2D,E,F) are presented as the average of the values measured at the three sampling depths. Briefly, a maximum D_{avg} was observed during the first 3 h of the three experiments [$1.9\text{ }\mu\text{m}$ at T_3 (May), $1.4\text{ }\mu\text{m}$ at T_1 (October), and $1.8\text{ }\mu\text{m}$ at T_3 (February)], before decreasing and reaching the lowest values at T_{144} (0.98 , 0.95 , and $0.91\text{ }\mu\text{m}$ in May, October, and February, respectively). The decreases in D_{avg} were concomitant with marked increases in $n\text{Pc}$, which were observed particularly in

TABLE 1 | Initial conditions (unfiltered water: chlorophyll a, TEP-C; filtered water: nitrate, phosphate) for the three minicosm experiments in May, October and February (*in situ* values at 5-m depth).

	May	October	February
Chla ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0.28	0.13	0.17
NO_3^- (nmol L^{-1})	28	26	327
PO_4^{3-} (nmol L^{-1})	3	6	7
a_{CDOM} (320) m^{-1}	0.248	0.211	0.188
TEP-C ($\mu\text{mol C L}^{-1}$)	27.1	15.4	2.7

May and October (Figures 2A,B,D,E). In May between T_{12} and T_{31} , nPc increased from 6.4×10^8 to 1.9×10^{10} part $\text{L}^{-1} \mu\text{m}^{-1}$, and in October nPc increased from 2.9×10^9 to 3.7×10^{10} part $\text{L}^{-1} \mu\text{m}^{-1}$ between T_6 and T_{12} . After reaching a maximum, nPc decreased slightly but remained high until the end of both experiments (1.1×10^{10} and 1.5×10^{10} in May and October, respectively at T_{144}). In February, a one order of magnitude increase in nPc was observed at the end of the experiment between T_{96} and T_{144} (4.5×10^9 to 3.5×10^{10}) whereas D_{avg} was $\sim 1 \mu\text{m}$. This pool of submicron particles corresponding to the lower size range of the dust population, are numerically dominant (cf. Section Minicosm Experiment).

Evolution of Nitrate Concentrations

In May, $[\text{NO}_3^-]_{\text{avg}}$ increased from 0.03 to 0.12 μM between T_0 and $T_{0.5}$, and the largest increase was observed at T_{31} (Figure 2G) with $\Delta[\text{NO}_3^-]_{\text{max}}$ ($[\text{NO}_3^-]_{\text{avg max}} - [\text{NO}_3^-]_{\text{avg } T_0}$) reaching 23 μM . This increase was concomitant with the increase in nPc (Figure 2A). $[\text{NO}_3^-]_{\text{avg}}$ released from dust was high with $\Delta[\text{NO}_3^-]_{\text{end}}$ ($[\text{NO}_3^-]_{\text{avg } T_{144}} - [\text{NO}_3^-]_{\text{avg } T_0}$) = 16 μM . In October the release of NO_3^- was faster but lower than in May (Figure 2H), with a large increase in $[\text{NO}_3^-]_{\text{avg}}$ that started 1 h after dust addition and a $\Delta[\text{NO}_3^-]_{\text{max}}$ of 11 μM measured at T_{16} . Simultaneously, D_{avg} decreased between T_1 and T_{12} (Figure 2E). As in May, $[\text{NO}_3^-]_{\text{avg}}$ remained stable until the end of the experiment ($\Delta[\text{NO}_3^-]_{\text{end}} = 11 \mu\text{M}$). In February $\Delta[\text{NO}_3^-]_{\text{max}}$ was the lowest among the three experiments (1.4 μM) and occurred at the end of the experiment when nPc was maximum (Figures 2C,I).

The dust addition allowed a maximum change in NO_3^- stock of +19.2, +9.2, and +1.2 mmol m^{-2} in May, October, and February, respectively (Figure 3).

Evolution of Phosphate Concentrations

For all seasons, the release of PO_4^{3-} occurred mainly during the first 3 h after dust addition following the D_{avg} pattern (Figures 2D,E,F,J,K,L). $\Delta[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{max}}$ ($[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg max}} - [\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg } T_0}$) were 33, 9, and 39 nM in May ($T_{0.5}$), October (T_1), and February (T_3), respectively. In October and February, $[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg}}$ released from dust was totally removed since $[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg}}$ at the end of both experiments (7 and 6 nM, respectively) was close to the initial value (± 1 nM). In May, after a decrease in $[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg}}$ between $T_{0.5}$ and T_{12} (from 36 to 7 nM), a second increase in $[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg}}$ was observed at T_{31} (19 nM) and

then continually decreased until the end of the experiment when $\Delta[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{end}}$ ($[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg } T_{144}} - [\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg } T_0}$) was 4 nM.

The dust addition allowed a maximum change in PO_4^{3-} stock of +27.2, +7.5, and +32.5 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in May, October, and February, respectively (Figure 3). Six days after seeding, the PO_4^{3-} stock was +2.5 $\mu\text{mol m}^{-2}$ (May), +0.8 $\mu\text{mol m}^{-2}$ (October), and -0.8 $\mu\text{mol m}^{-2}$ (February) compared with the initial PO_4^{3-} stock (Figure 3).

Evolution of TEP-C Concentrations

In October, after the dust addition, the TEP-C concentration increased from 0.4 to 5.0 $\mu\text{mol C L}^{-1}$ between T_0 and $T_{0.5}$ and the largest increase (10.3 $\mu\text{mol C L}^{-1}$) was observed 24 h after, with concentrations close to the level of those observed *in situ* (15.4 $\mu\text{mol C L}^{-1}$). After TEP was completely removed by filtration, almost the same amount of TEP was formed by precursors 1 day after the dust addition. Afterward the TEP concentration decreased to $\sim 3.2 \mu\text{mol C L}^{-1}$ until the end of the experiment (Figure 4). In February, the rate of TEP formation was slower than in October with an increase in production (6.9 $\mu\text{mol C L}^{-1}$) 6 h after dust addition (Figure 4), then the TEP concentration decreased until the end of the experiment.

Discussion

Release of Phosphate and Nitrate Controlled by Particle Dynamics

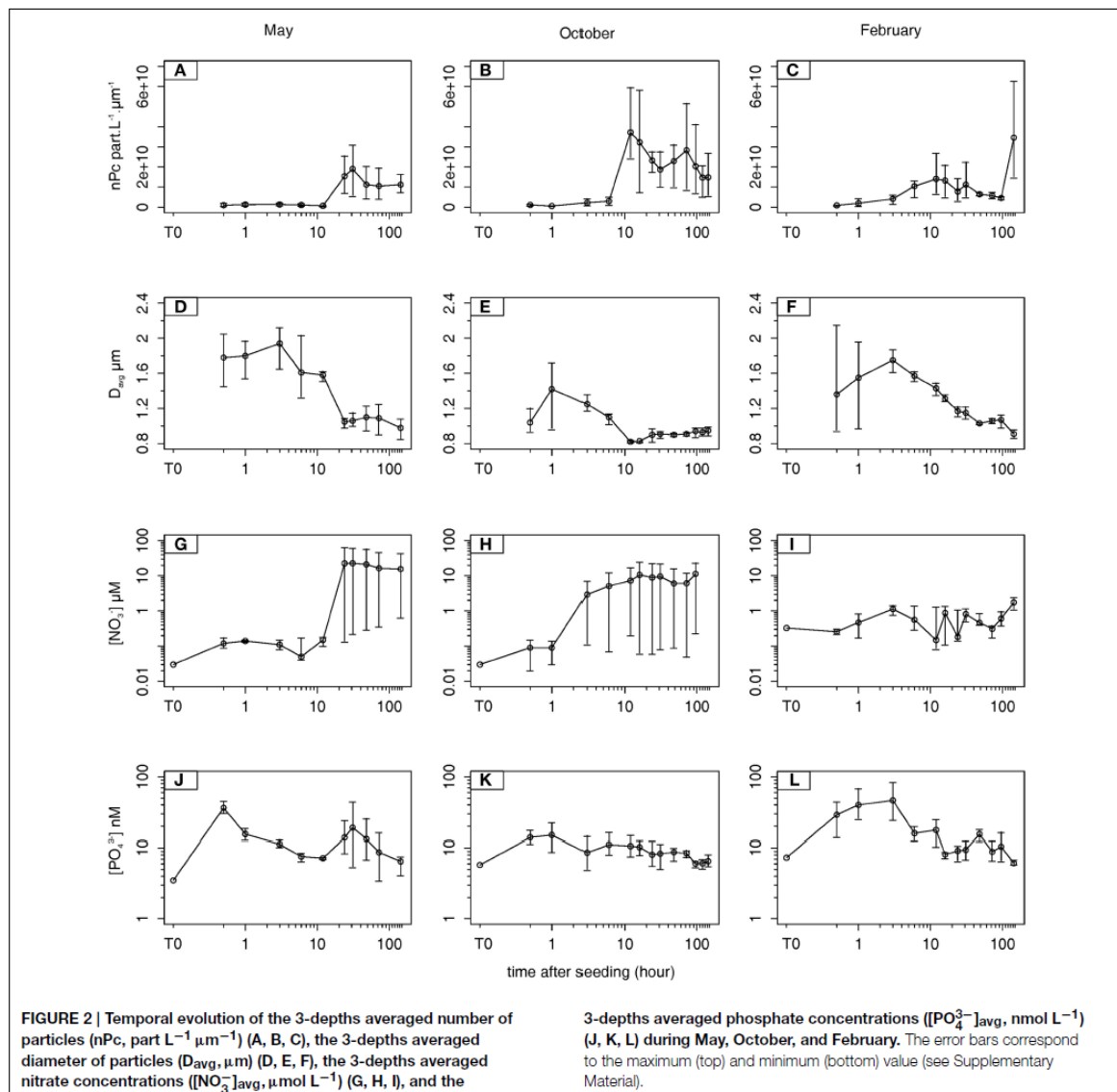
99% of the number of dust particles used to seed the minicosm were submicronic particles (Guieu et al., 2010). According to Stokes' law, the settling velocities of particles are a function of their diameter and we expected the settling of largest particles rapidly after dust addition, followed by a numerically dominant slowly settling particle population with a diameter smaller than 1 μm . This is illustrated by Figures 2A,B,C,D,E,F as an increase in D_{avg} during the first 3 h after dust addition, followed by a decrease in D_{avg} until the end of the three experiments, while a concomitant increase in nPc was also observed.

Nitrate vs. Particle Size Dynamics

For all seasons, $\Delta[\text{NO}_3^-]_{\text{max}}$ was measured when the submicron mineral particles were abundant, i.e., high nPc and D_{avg} smaller than 1 μm . This is in agreement with heterogeneous reactions on the surface of mineral particles in the atmosphere. Indeed, during the atmospheric transport of Saharan dust, heterogeneous reactions with compounds such as gaseous nitric acid occur on particle surfaces rich in calcium carbonate (Usher et al., 2003; de Leeuw et al., 2014). These reactions facilitate formation of nitrate coatings on particle surfaces (Laskin, 2005). The observed decrease in D_{avg} led to an increase in the overall surface area to volume ratio, and thus an increase in the relative amount of NO_3^- on the dust surface (Vlasenko et al., 2005).

Phosphate vs. Particle Size Dynamics

An increase in $[\text{PO}_4^{3-}]_{\text{avg}}$ occurred during the first 3 h after dust addition while the largest mineral particles were settling down. Such a fast release is in agreement with previous batch experiments indicating that 65% of the PO_4^{3-} release occurred



within the first 6 h (Ridame and Guieu, 2002). Despite a similar simulated dust flux of 10 g m⁻² for each experiment, the maximum increase in PO₄³⁻ stock was lower in October than in May and February (Figure 3). The lowest D_{avg} in October (Figure 2E) suggests that the non-homogeneous distribution of mineral particles controlled the release of PO₄³⁻ from dust.

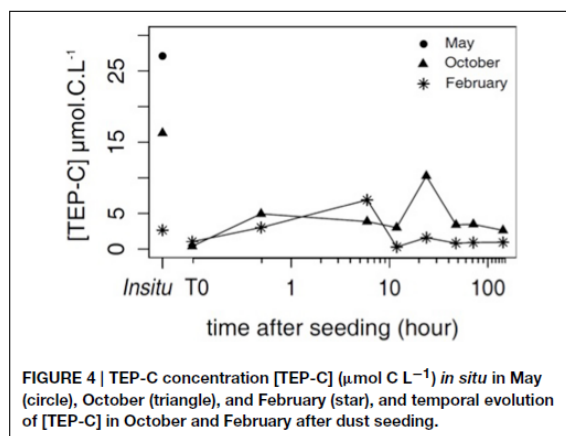
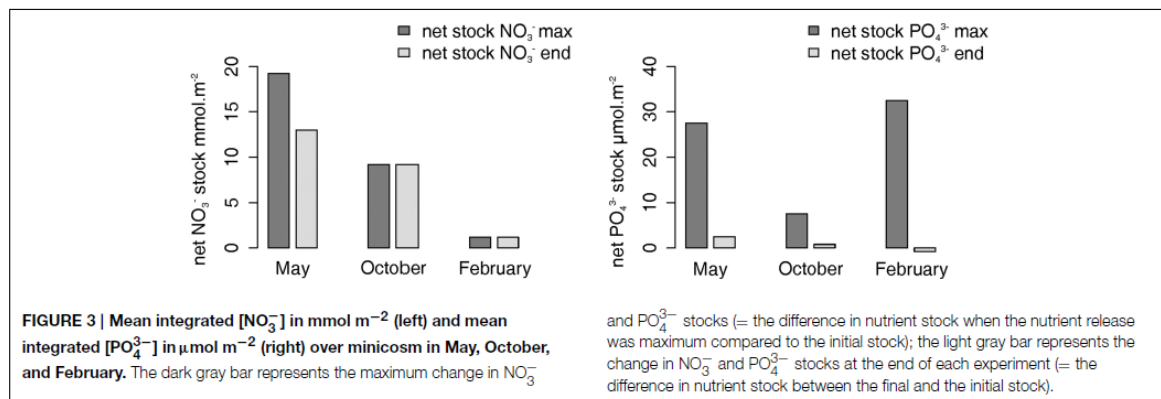
Adsorption of Phosphate onto Ferric Oxide-Rich Particles and Link between DFe and PO₄³⁻

After the dust addition, there was a sudden transient increase in [PO₄³⁻]_{avg} attributed to a release from the largest particles, followed by a decrease in [PO₄³⁻]_{avg} for the three experiments

corresponding to the decrease in D_{avg} (Figures 2D,E,F,K,L). In abiotic conditions, such a decrease can be attributed to the removal process of adsorption of freshly released PO₄³⁻ onto the submicron sinking particles. Almost all [PO₄³⁻] released from dust was scavenged-back onto sinking particles within few days.

Correlation between DFe and PO₄³⁻

When comparing the respective evolutions of [DFe] (Bressac and Guieu, 2013) and [PO₄³⁻] (Figure 5), a good correlation ($R^2 = 0.91$, $p < 0.001$) was observed in February indicating that the post-depositional processes (both dissolution and removal processes) could be similar for the two elements. In February,



DFe dissolution was very fast (occurring during the first 3 h after seeding) and was followed by DFe adsorption onto the submicron mineral particles (Bressac and Guieu, 2013). Strong correlation between DFe and PO_4^{3-} in February indicates that both DFe and PO_4^{3-} removal from seawater was due to their adsorption back onto the submicron mineral particles.

In May, a good linear relationship ($R^2 = 0.84$) between $[\text{DFe}]$ and $[\text{PO}_4^{3-}]$ was only observed at 0.3 and 0.6 m but not at 0.1 m-depth. At 0.1 m, DFe release in seawater was found to be controlled by a dust-DOM aggregation process (Bressac and Guieu, 2013). The aggregation process likely resulted in a decrease in accessibility to surface adsorption sites. While DFe, for which some dissolved organic compounds have a strong affinity (Van den Berg, 1995; Barbeau, 2006), was removed from the dissolved phase, PO_4^{3-} was likely not affected by the aggregation process. At 0.3 and 0.6 m, the positive linear correlation seems to indicate that the removal of both PO_4^{3-} and DFe from seawater was independent of dust-DOM aggregation but rather controlled by adsorption processes onto the submicron mineral particles, similar to what was hypothesized for February.

In October, the correlation between the two nutrients (at the 3-depths) was weaker than in February ($R^2 = 0.70$), but still

significant ($p < 0.001$). This could be explained by the dust-DOM aggregation process still present but weaker than in May (Bressac and Guieu, 2013).

Adsorption of PO_4^{3-} onto the Submicron Particles Rich in Iron Oxide

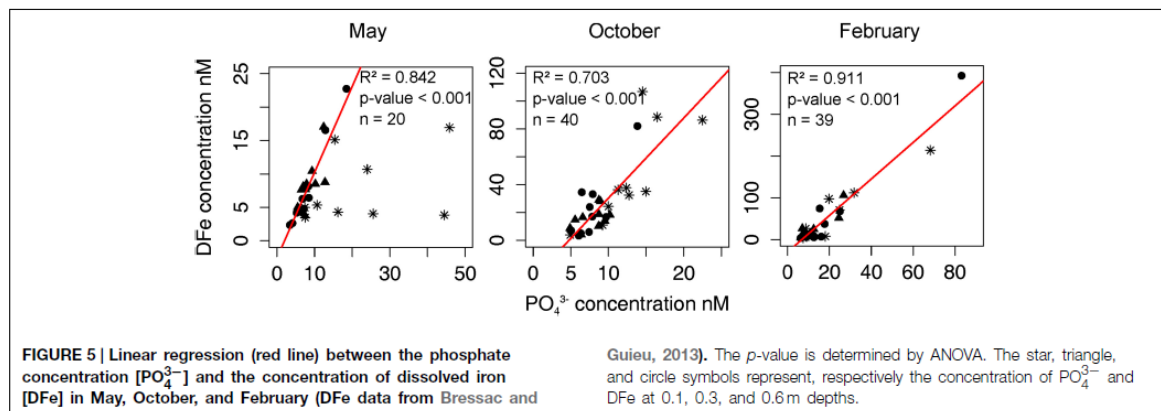
Based on previous studies of the interaction between iron oxides and PO_4^{3-} , the observed removal of PO_4^{3-} was likely due to the strong PO_4^{3-} adsorption capacity at the surface of the mineral particles rich in iron oxides. Berner (1973) focused on the PO_4^{3-} removal from seawater by the adsorption capacity of the volcanogenic iron oxides and suggested PO_4^{3-} can react with poorly crystallized hydrous iron oxides. Sei et al. (2002) showed the presence of iron oxides in kaolinite with a large specific surface area enhanced PO_4^{3-} adsorption, while Parfitt and Atkinson (1976) confirmed the complex involved in PO_4^{3-} adsorption on goethite was of the type Fe-O-P-O-Fe.

The dissolved-particulate exchanges of phosphorus from dust are controlled by iron oxide rich particles. We assume that the dust-DOM aggregation process, occurring particularly in May, could prevent the interaction between PO_4^{3-} and iron oxide at the surface of mineral particles, and could explain the second transient increase in $[\text{PO}_4^{3-}]$ (Figure 2J).

The Seasonal Variability of Nitrate Input from Saharan Dust: Does the DOM Matter?

By taking into account the vertical dimension and thus the temporal variability of the distribution of mineral particles, our minicosm approach showed that the release of NO_3^- was not instantaneous or total after dust addition. This differs from results presented by Ridame et al. (2014) who conducted a batch dissolution experiment using the same dust analog but in artificial DOM-free seawater. This study showed a complete dissolution of NO_x occurred within 3 h after dust addition (Ridame et al., 2014).

Here we found a strong variability of NO_3^- dissolution from dust at the 3 explored seasons (the difference between nutrient stock when NO_3^- release was maximum and initial stock were 19.2, 9.2, and 1.2 mmol m^{-2} in May, October, and February, respectively) (Figure 3). One possibility for the



observed variability could be a link between NO_3^- dissolution and the quantity and quality of DOM described by Bressac and Guieu (2013). Indeed, it was quite variable according to the season: in May (post-bloom condition), the seawater was characterized by an abundant and newly produced DOM, whereas in February (winter mixing), the DOM was less abundant and likely older (Table 1). Although to our knowledge such link has not been proposed in the ocean, some interesting hypotheses can be made. Bressac and Guieu (2013) showed that [DFe] resulted from contrasted post-deposition processes linked to the DOM pool. In May and October, with abundant and newly produced DOM conditions, the rapid formation of aggregates inducing a negative feedback on the [DFe] through scavenging, while a fraction of the DFe was likely organically complexed. In February, the low DOM content strongly limited aggregation allowing a strong iron dissolution that was followed by the (re)adsorption of DFe onto the submicron dust particles. This suggests that in February the submicron mineral particles would be richer in iron oxides than in May in the first few hours after seeding. The same particles would release 10–20 times less NO_3^- compared to any other season (see above Section). One possible explanation could be that some reactions involving iron and DOM could transform the chemical form of N following “the ferrous wheel hypothesis” as defined Davidson et al. (2003) to explain abiotic immobilization of N in mineral soils rich in iron. This would involve a reduction of NO_3^- to NO_2^- by a redox reaction with Fe(III) and a nitration reaction with DOM to transform NO_2^- to dissolved organic nitrogen (DON). This is speculative, however, because DON was not measured in our study. Nevertheless, the link between NO_3^- and DOM in the ocean still need further investigations to explore these potentially important dynamics.

Biogeochemical Effects

Bioavailability of Atmospheric Nutrients

At initial conditions, the $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ ratio suggests P-limitation conditions for phytoplankton activity in February ($\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-} \gg 16$) and a NP co-limitation in May and October ($\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-} \ll 16$ with low $[\text{PO}_4^{3-}]$) (Table 1). These results are in agreement with the results presented by Tanaka

et al. (2011) for summer conditions at “station A” ($39^\circ 5.96' \text{N}$, $5^\circ 21.00' \text{E}$) in the North Western Mediterranean basin.

A N or NP co-limitation with initial $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-} < 6$ and low $[\text{PO}_4^{3-}]$ was also found in June 2010 [DUNE 2 (R1), (Ridame et al., 2014)] and is comparable to our initial conditions in May and October. At the end of the DUNE 2 (R1) mesocosms experiment, the $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ ratio was > 150 which led to P limitation conditions. In the present study, we also observed a strong increase in the $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ ratio along the course of the experiments in May and October due to the higher input of NO_3^- relative to PO_4^{3-} in the evapocondensed dust used for the experiment.

This is in good agreement with higher $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ in atmospheric deposition compared to the classical Redfield Ratio (i.e., Herut et al., 1999, 2002; Baker et al., 2010; Markaki et al., 2010). In the Mediterranean Sea ratio up to 87 were found in seawater leachable dust samples (Herut et al., 2002) and ratio in total atmospheric deposition ranging 46–161 were found over the whole Mediterranean Sea (Markaki et al., 2010). Much higher ratio have even been found in the NW Mediterranean Sea for very intense anthropogenic episodes (soluble inorganic N/soluble inorganic P > 1000 ; Sandroni et al., 2007). Such unbalanced $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ in the atmospheric deposition, including dust deposition, likely contribute to the unusual $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ found in the Mediterranean Sea as hypothesized by many authors (i.e., Herut et al., 1999; Markaki et al., 2010).

The results obtained in this abiotic study along with those obtained from mesocosm experiments representing the natural environmental assemblage can facilitate a better understanding of the fate of atmospheric nutrients in LNLC waters. For example, our May experiment can be compared to *in situ* results obtained during the DUNE-1-P and DUNE-2 (R1) mesocosm experiments (Pulido-Villena et al., 2014; Ridame et al., 2014). This mesocosm experiment was conducted in a nutrient-depleted system during the stratification period. NO_3^- and PO_4^{3-} released from dust after the simulation of a wet deposition, was followed by an increase in bacteria respiration (Pulido-Villena et al., 2014) and primary production (Ridame et al., 2014). The phytoplankton PO_4^{3-} requirements estimated in DUNE-1-P and DUNE-2 (R1)

were +25 and +18 $\mu\text{mol m}^{-2}$, respectively (Ridame et al., 2014). The increase in PO_4^{3-} stock in May (+27 $\mu\text{mol m}^{-2}$, Figure 3) was of the same order of magnitude as for the transient increase observed in DUNE-1-P (+21 $\mu\text{mol m}^{-2}$) and DUNE-2 (R1) (+24 $\mu\text{mol m}^{-2}$) experiments (Ridame et al., 2014). This indicates first that PO_4^{3-} release from dust can fulfill the phytoplankton requirement. Second, the fast disappearance of the PO_4^{3-} following its release from dust in the mesocosm experiment was due to the rapid uptake (PO_4^{3-} turnover times were estimated to be ~ 1 h using a ^{33}P uptake technique on the upper stratified water of the Mediterranean sea, Moutin et al. 2002) resulting in a fast increase (within 2 days) in bacteria respiration and primary production by heterotroph/autotroph communities that characterize this oligotrophic system. This suggests that biological uptake was faster than the adsorption of PO_4^{3-} back onto the submicron particles rich in iron oxide observed in abiotic conditions (Section Adsorption of Phosphate onto Ferric Oxide-Rich Particles and Link between DFe and PO_4^{3-}). The large increase in NO_3^- stock after dust addition [+19.2 and +10.2 mmol m^{-2} , respectively in May and DUNE-2 (R1) experiments] was much higher than the phytoplankton NO_3^- requirement [0.7 and 0.8 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in DUNE-1-P and DUNE-2 (R1), respectively, (Ridame et al., 2014)] and this explains that a large amount of NO_3^- released from dust remained bioavailable until the end of the DUNE experiments.

In February, phytoplankton growth is primarily limited by the light availability (Bonilla-Findji et al., 2010), and PO_4^{3-} released from a dust event would rapidly be removed by the adsorption process onto sinking mineral particles. Nevertheless, with favorable weather conditions the rapid release of PO_4^{3-} and DFe (Bressac and Guieu, 2013) from dust could stimulate biological activity during months characterized by low irradiance.

Abiotic Formation of TEP

Owing to their surface-reactive nature, the abiotic formation of TEP is an important pathway to convert dissolved into POC (Figure 4) increasing the possibility to aggregate DOM. The organic aggregates can interact with the mineral particles and lead to "abiotic POC export" that influences carbon export to the deep ocean (Ternon et al., 2010). The highest flux of abiotic POC was found in May [20.0 $\text{mg m}^{-2}\text{d}^{-1}$, compared to 9.6 and 6.1 $\text{mg m}^{-2}\text{d}^{-1}$ in October and February, respectively (Bressac and Guieu, 2013)] and suggests that this month has the largest abiotic formation of TEP. The consequences of such strong aggregation and export, in particular on the microbial food web, are unknown.

Conclusion

Minicosm experiments mimicking artificial dust deposition in abiotic conditions were performed during three seasons representing contrasted biogeochemical conditions. Monitoring $[\text{NO}_3^-]$ and $[\text{PO}_4^{3-}]$ during particle settling highlighted the link between dissolved-particulate exchanges of P and N and particle dynamics. A transient increase in $[\text{PO}_4^{3-}]$ occurred during the first 3 h after dust addition while the larger particles were still settling. The maximum 3-depths averaged PO_4^{3-} release was 33, 9, and 39 nM in May, October, and February, respectively.

The maximum 3-depths averaged NO_3^- release was 23, 11, and 1.4 μM in May, October, and February experiments, respectively. $[\text{NO}_3^-]$ released from dust remained relatively stable and will be likely bioavailable over a 1 week scale at minimum in surface waters. This could be important because in May and October this represents 10–30 times the maximum $[\text{NO}_3^-]$ concentrations observed in the North Mediterranean Sea (2–3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ in winter) (Marty et al., 2002). The seasonal variability of $[\text{NO}_3^-]$ released from dust suggests that freshly produced DOM would enhance the dissolution process of NO_3^- (as is the case for the May experiment after the spring bloom). This link between atmospheric NO_3^- and DOM will require further exploration.

The adsorption back onto ferric oxide-rich particles of PO_4^{3-} released from dust leads to short-term bioavailability. The dust-DOM aggregation process could hinder the interaction between PO_4^{3-} and iron oxide at the surface of mineral particles. The input of new nutrients and the possible shift toward higher $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ ratios induced by a Saharan dust event mixed with anthropogenic nitrogen have a potential impact on the autotrophic and heterotrophic communities in Mediterranean Sea and other oligotrophic areas receiving such inputs.

This work demonstrates the importance of taking into account the settling of particles while the dissolved/particulate phase reactions occur, as these new nutrient dynamics are intrinsically linked to particle dynamics. Additionally, particle dynamics are conditioned by the quality/quantity of DOM, suggesting that the post-deposition processes of NO_3^- and PO_4^{3-} are likely indirectly linked to the quality/quantity of DOM. Consequently, the seasonality of the quality/quantity of DOM implies a non-constant potential impact of atmospheric new nutrients in the surface waters over the course of the year. The next step of this work will be to consider how on-going environmental changes (such as temperature increase and pH decrease) affect the release of atmospheric nutrients, including organic forms.

Acknowledgments

This work was funded by the MISTRALS/MERMEX project and the CHAPIE-EMERGENCE-UPMC project. A grant provided by the University of Paris 6 supported JL. A grant provided by the ACRI-ST company and the French National Association for Research and Technology (ANRT) supported MB. The authors thank K. Desboeufs and F. Dulac for providing the Saharan dust analog. J.-Y. Carval from the Observatoire d'Océanologie de Villefranche sur mer is acknowledged for his helpful work at sea. We thank our colleagues from SOMLIT (<http://somlit.epoc.u-bordeaux1.fr/fr/>) for providing the *in situ* temperature and Chla data. The authors thank C. Ridame for her constructive comments on a previous version of the manuscript and K. Frischkorn for kindly editing the manuscript.

Supplementary Material

The Supplementary Material for this article can be found online at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmars.2015.00027/abstract>



were +25 and +18 $\mu\text{mol m}^{-2}$, respectively (Ridame et al., 2014). The increase in PO_4^{3-} stock in May (+27 $\mu\text{mol m}^{-2}$, Figure 3) was of the same order of magnitude as for the transient increase observed in DUNE-1-P (+21 $\mu\text{mol m}^{-2}$) and DUNE-2 (R1) (+24 $\mu\text{mol m}^{-2}$) experiments (Ridame et al., 2014). This indicates first that PO_4^{3-} release from dust can fulfill the phytoplankton requirement. Second, the fast disappearance of the PO_4^{3-} following its release from dust in the mesocosm experiment was due to the rapid uptake (PO_4^{3-} turnover times were estimated to be ~ 1 h using a ^{33}P uptake technique on the upper stratified water of the Mediterranean sea, Moutin et al. 2002) resulting in a fast increase (within 2 days) in bacteria respiration and primary production by heterotroph/autotroph communities that characterize this oligotrophic system. This suggests that biological uptake was faster than the adsorption of PO_4^{3-} back onto the submicron particles rich in iron oxide observed in abiotic conditions (Section Adsorption of Phosphate onto Ferric Oxide-Rich Particles and Link between DFe and PO_4^{3-}). The large increase in NO_3^- stock after dust addition [+19.2 and +10.2 mmol m^{-2} , respectively in May and DUNE-2 (R1) experiments] was much higher than the phytoplankton NO_3^- requirement [0.7 and 0.8 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in DUNE-1-P and DUNE-2 (R1), respectively, (Ridame et al., 2014)] and this explains that a large amount of NO_3^- released from dust remained bioavailable until the end of the DUNE experiments.

In February, phytoplankton growth is primarily limited by the light availability (Bonilla-Findji et al., 2010), and PO_4^{3-} released from a dust event would rapidly be removed by the adsorption process onto sinking mineral particles. Nevertheless, with favorable weather conditions the rapid release of PO_4^{3-} and DFe (Bressac and Guieu, 2013) from dust could stimulate biological activity during months characterized by low irradiance.

Abiotic Formation of TEP

Owing to their surface-reactive nature, the abiotic formation of TEP is an important pathway to convert dissolved into POC (Figure 4) increasing the possibility to aggregate DOM. The organic aggregates can interact with the mineral particles and lead to "abiotic POC export" that influences carbon export to the deep ocean (Ternon et al., 2010). The highest flux of abiotic POC was found in May [20.0 $\text{mg m}^{-2}\text{d}^{-1}$, compared to 9.6 and 6.1 $\text{mg m}^{-2}\text{d}^{-1}$ in October and February, respectively (Bressac and Guieu, 2013)] and suggests that this month has the largest abiotic formation of TEP. The consequences of such strong aggregation and export, in particular on the microbial food web, are unknown.

Conclusion

Minicosm experiments mimicking artificial dust deposition in abiotic conditions were performed during three seasons representing contrasted biogeochemical conditions. Monitoring $[\text{NO}_3^-]$ and $[\text{PO}_4^{3-}]$ during particle settling highlighted the link between dissolved-particulate exchanges of P and N and particle dynamics. A transient increase in $[\text{PO}_4^{3-}]$ occurred during the first 3 h after dust addition while the larger particles were still settling. The maximum 3-depths averaged PO_4^{3-} release was 33, 9, and 39 nM in May, October, and February, respectively.

The maximum 3-depths averaged NO_3^- release was 23, 11, and 1.4 μM in May, October, and February experiments, respectively. $[\text{NO}_3^-]$ released from dust remained relatively stable and will be likely bioavailable over a 1 week scale at minimum in surface waters. This could be important because in May and October this represents 10–30 times the maximum $[\text{NO}_3^-]$ concentrations observed in the North Mediterranean Sea (2–3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ in winter) (Marty et al., 2002). The seasonal variability of $[\text{NO}_3^-]$ released from dust suggests that freshly produced DOM would enhance the dissolution process of NO_3^- (as is the case for the May experiment after the spring bloom). This link between atmospheric NO_3^- and DOM will require further exploration.

The adsorption back onto ferric oxide-rich particles of PO_4^{3-} released from dust leads to short-term bioavailability. The dust-DOM aggregation process could hinder the interaction between PO_4^{3-} and iron oxide at the surface of mineral particles. The input of new nutrients and the possible shift toward higher $\text{NO}_3^-/\text{PO}_4^{3-}$ ratios induced by a Saharan dust event mixed with anthropogenic nitrogen have a potential impact on the autotrophic and heterotrophic communities in Mediterranean Sea and other oligotrophic areas receiving such inputs.

This work demonstrates the importance of taking into account the settling of particles while the dissolved/particulate phase reactions occur, as these new nutrient dynamics are intrinsically linked to particle dynamics. Additionally, particle dynamics are conditioned by the quality/quantity of DOM, suggesting that the post-deposition processes of NO_3^- and PO_4^{3-} are likely indirectly linked to the quality/quantity of DOM. Consequently, the seasonality of the quality/quantity of DOM implies a non-constant potential impact of atmospheric new nutrients in the surface waters over the course of the year. The next step of this work will be to consider how on-going environmental changes (such as temperature increase and pH decrease) affect the release of atmospheric nutrients, including organic forms.

Acknowledgments

This work was funded by the MISTRALS/MERMEX project and the CHPIE-EMERGENCE-UPMC project. A grant provided by the University of Paris 6 supported JL. A grant provided by the ACRI-ST company and the French National Association for Research and Technology (ANRT) supported MB. The authors thank K. Desboeufs and F. Dulac for providing the Saharan dust analog. J.-Y. Carval from the Observatoire d'Océanologie de Villefranche sur mer is acknowledged for his helpful work at sea. We thank our colleagues from SOMLIT (<http://somlit.epoc.u-bordeaux1.fr/fr/>) for providing the *in situ* temperature and Chla data. The authors thank C. Ridame for her constructive comments on a previous version of the manuscript and K. Frischkorn for kindly editing the manuscript.

Supplementary Material

The Supplementary Material for this article can be found online at: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmars.2015.00027/abstract>

- Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr. 49, 1965–1985. doi: 10.1016/S0967-0645(02)00022-X
- Mills, M. M., Ridame, C., Davey, M., La Roche, J., and Geider, R. J. (2004). Iron and Phosphorus Co-Limit Nitrogen fixation in the Eastern Tropical North Atlantic. *Nature* 429, 292–294. doi: 10.1038/nature02550
- Moutin, T., Thingstad, T. F., Van Wambeke, F., Marie, D., Slawyk, G., et al. and Claustre, H. (2002). Does competition for nanomolar phosphate supply explain the predominance of the cyanobacterium *Synechococcus*? *Limnol. Oceanogr.* 47, 1562–1567. doi: 10.4319/lo.2002.47.5.1562
- Parfitt, R. L., and Atkinson, R. J. (1976). Phosphate Adsorption on Goethite (α -FeOOH). *Nature* 264, 740–742. doi: 10.1038/264740a0
- Passow, U. (2000). Formation of transparent exopolymer particles, TEP, from dissolved precursor material. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 192, 1–11. doi: 10.3354/meps192001
- Passow, U., and Alldredge, A. L. (1995). A dye-binding assay for the spectrophotometric measurement of transparent exopolymer particles (TEP). *Limnol. Oceanogr.* 40, 1326–1335. doi: 10.4319/lo.1995.40.7.1326
- Pulido-Villena, E., Baudoux, A.-C., Obernosterer, I., Landa, M., Caparros, J., Catala, P., et al. (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. doi: 10.5194/bg-11-5607-2014
- Pulido-Villena, E., Rérolle, V., and Guieu, C. (2010). Transient fertilizing effect of dust in P-deficient LNL surface ocean. *Geophys. Res. Lett.* 37, L01603. doi: 10.1029/2009GL041415
- Putaud, J.-P., van Dingenen, R., Dell'Acqua, A., Raes, F., Matta, E., Decesari, S., et al. (2004). Size-segregated aerosol mass closure and chemical composition in Monte Cimone (I) during MINATROC. *Atmos. Chem. Phys.* 4, 889–902. doi: 10.5194/acp-4-889-2004
- Ridame, C., Dekaezemacker, J., Guieu, C., Bonnet, S., L'Helguen, S., and Malien, F. (2014). Contrasted saharan dust events in LNL environments: impact on nutrient dynamics and primary production. *Biogeosciences* 11, 4783–4800. doi: 10.5194/bg-11-4783-2014
- Ridame, C., and Guieu, C. (2002). Saharan input of phosphate to the oligotrophic water of the open western Mediterranean Sea. *Limnol. Oceanogr.* 47, 856–869. doi: 10.4319/lo.2002.47.3.0856
- Sandroni, V., Raimbault, P., Migon, C., Garcia, N., and Gouze, E. (2007). Dry atmospheric deposition and diazotrophy as sources of new nitrogen to northwestern Mediterranean oligotrophic surface waters. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 54, 1859–1870. doi: 10.1016/j.dsr.2007.08.004
- Sei, J., Jumas, J. C., Olivier-Fourcade, J., Quinquampoix, H., and Staunton, S. (2002). Role of iron oxides in the phosphate adsorption properties of kaolinites from the Ivory Coast. *Clays Clay Miner.* 50, 217–222. doi: 10.1346/000986002760832810
- Tanaka, T., Thingstad, T. F., Christaki, U., Colombet, J., and Cornet-Barthaux, V., Courties, C., et al. (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. doi: 10.5194/bg-8-525-2011
- Ternon, E., Guieu, C., Loje-Pilot, M.-D., Leblond, N., Bosc, E., Gasser, B., et al. (2010). The impact of Saharan dust on the particulate export in the water column of the North Western Mediterranean Sea. *Biogeosciences* 7, 809–826. doi: 10.5194/bg-7-809-2010
- Thingstad, T. F., Dolan, J. R., and Fuhrman, J. A. (1996). Loss rate of an oligotrophic bacterial assemblage as measured by H-thymidine and PO₄: good agreement and near-balance with production. *Aquat. Microb. Ecol.* 10, 29–36. doi: 10.3354/ame010029
- Thingstad, T. F., Skjoldal, E. F., Böhne, R. A. (1993). Phosphorus cycling and algal-bacterial competition in Sandsfjord, western Norway. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 99, 239–239. doi: 10.3354/meps099239
- Usher, C. R., Michel, A. E., and Grassian, V. H. (2003). Reactions on mineral dust. *Chem. Rev.* 103, 4883–4940. doi: 10.1021/cr020657y
- Van den Berg, C. M. G. (1995). Evidence for organic complexation of iron in seawater. The chemistry of iron in seawater and its interaction with phytoplankton. *Mar. Chem.* 50, 139–157. doi: 10.1016/0304-4203(95)00032-M
- Vlasenko, A., Sjogren, S., Weingartner, E., Stemmeler, K., Gäggeler, H. W., and Ammann, M. (2005). Effect of humidity on nitric acid uptake to mineral dust aerosol particles. *Atmos. Chem. Phys. Discuss.* 5, 11821–11860. doi: 10.5194/acpd-5-11821-2005
- Wagener, T., Guieu, C., and Leblond, N. (2010). Effects of dust deposition on iron cycle in the surface mediterranean sea: results from a mesocosm seeding experiment. *Biogeosciences* 7, 3769–3781. doi: 10.5194/bg-7-3769-2010
- Wagener, T., Pulido-Villena, E., and Guieu, C. (2008). Dust iron dissolution in seawater: results from a one-year time-series in the Mediterranean Sea. *Geophys. Res. Lett.* 35, L16601. doi: 10.1029/2008GL034581
- Wuttig, K., Wagener, T., Bressac, M., Dammshäuser, A., Streu, P., Guieu, C., et al. (2013). Impacts of dust deposition on dissolved trace metal concentrations (Mn, Al and Fe) during a mesocosm experiment. *Biogeosciences* 10, 2583–2600. doi: 10.5194/bg-10-2583-2013
- Yao, W., Byrne, R. H., and Waterbury, R. D. (1998). Determination of nanomolar concentrations of nitrite and nitrate in natural waters using long path length absorbance spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* 32, 2646–2649. doi: 10.1021/es9709583
- Ye, Y., Wagener, T., Völker, C., Guieu, C., and Wolf-Gladrow, D. A. (2011). Dust Deposition: iron source or sink? a case study. *Biogeosciences* 8, 2107–2124. doi: 10.5194/bg-8-2107-2011
- Zhang, J.-Z. (2000). Shipboard automated determination of trace concentrations of nitrite and nitrate in oligotrophic water by gas-segmented continuous flow analysis with a liquid waveguide capillary flow cell. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 47, 1157–1171. doi: 10.1016/S0967-0637(99)00085-0
- Zhang, J. Z., and Chi, J. I. E. (2002). Automated analysis of nanomolar concentrations of phosphate in natural waters with liquid waveguide. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1048–1053.
- Zimmer, L. A., and Cutter, G. A. (2012). High resolution determination of nanomolar concentrations of dissolved reactive phosphate in ocean surface waters using long path liquid waveguide capillary cells (LWCC) and spectrometric detection. *Limnol. Oceanogr. Methods* 10, 568–580. doi: 10.4319/lom.2012.10.568

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2015 Louis, Bressac, Pedrotti and Guieu. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

2.3. Conclusion

A l'aide de stimulations d'évènements saharien via ces expériences en minicosme, nous avons montré que 1) une dissolution totale de NO_3^- contenu dans les particules lithogéniques submicroniques ($< 1 \mu\text{m}$) a permis d'augmenter le stock d'azote biodisponible dans les eaux de surface sur une durée d'une semaine minimum, et 2) la biodisponibilité de PO_4^{3-} relargué par les poussières était de courte durée due au processus d'absorption sur les particules lithogéniques riches en oxydes de fer. Le fait de prendre en compte la sédimentation des particules a permis de souligner le lien entre la dynamique particulaire et celle des nutriments atmosphériques. Etant donné que la dynamique particulaire est intrinsèquement liée à la qualité et quantité de la DOM (via des processus d'agrégation), nous suggérons un effet indirect de celle-ci sur les processus post-dépôts de NO_3^- et PO_4^{3-} . Par exemple, l'agrégation entre la matière organique et les poussières pourrait entraver l'interaction entre PO_4^{3-} et les oxydes de fer présents à la surface des particules lithogéniques.

Cette étude en complément de celle de Bressac et Guieu (2013) nous permet d'avoir une meilleure compréhension des processus contrôlant la solubilité de N, P et Fe apportés par les poussières sahariennes à la surface du bassin méditerranéen et dans d'autres systèmes oligotrophes. Dans un contexte de changement climatique, l'objectif est donc de savoir si ces processus sont altérés par des modifications des conditions environnementales. Etant donné que le bassin méditerranéen est considéré comme une des régions les plus impactées par l'acidification, et que la solubilité des éléments associés aux particules minérales est en théorie sensible au pH, l'étude présentée dans la section suivante s'est focalisée sur l'effet de la diminution du pH de l'eau de mer sur la biodisponibilité des nutriments après un évènement saharien. Selon les scénarios d'acidification pour la fin du siècle, une diminution du pH de l'eau de mer de $\sim 0,4$ unités a été réalisée (voir chapitre II-section 3.1). Ce travail s'inscrit dans le cadre du projet CHIPIE « Comportement des éléments d'intérêt biogéochimique et du carbone particulaire aux interfaces atmosphère-océan et continent-océan dans un contexte d'évolution des conditions environnementales) financé par EMERGENCE-UPMC. Ce travail a été réalisé à nouveau en minicosme. Le prototype utilisé dans les expériences précédentes a été amélioré (par ex. système de prélèvement intégré, système de turbulence (voir chapitre II-section 4.2)). La simulation du dépôt de poussières sahariennes a été réalisée avec le même analogue de poussières sahariennes et suivant la même méthode d'ensemencement.

3. Impact de l'acidification sur la biodisponibilité des nutriments après un évènement saharien (projet CHIPIE)

3.1. Résumé

En plus d'être parmi les régions de l'océan global recevant les plus importants flux de poussières, le bassin méditerranéen est une de celles les plus impactées par l'acidification. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de l'acidification sur la biodisponibilité des nutriments à la suite d'un dépôt humide de poussières. Trois expériences d'une durée d'une semaine conduites sous des conditions abiotiques, ont été réalisées à trois saisons distinctes : en mai après le bloom printanier avec une faible biomasse en autotrophes ; en septembre sous des conditions oligotrophes à la fin de période de stratification ; en janvier durant un bloom hivernal. Pour chaque expérience, un flux de poussières de 10 g m^{-2} a été simulé à la surface de deux minicosmes (cuves en HDPE d'environ $0,3 \text{ m}^3$) remplis d'eau de mer filtrée ($< 0,2 \mu\text{m}$) collectée en baie de Villefranche sur mer. Un des deux minicosmes a été acidifié selon une $p\text{CO}_2$ prédite pour la fin du siècle ($1250 \mu\text{atm}$). Pour imiter les processus atmosphériques, les poussières ont été mélangées avec des acides organiques et inorganiques (acide oxalique, H_2SO_4 , HNO_3) and ont subi plusieurs cycles d'évapo-condensation. Les résultats ont montré que 1) 100% de l'azote inorganique dissous ($\text{NO}_x = \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) contenu dans les poussières évapocondensées était rapidement relargué et restait à concentration élevée dans la colonne d'eau durant toute la période de l'expérience quel que soit le niveau de $p\text{CO}_2$ et la saison, 2) le relargage du phosphate (PO_4^{3-}) et fer dissous (DFe) était impacté à la fois par le processus d'agrégation et l'acidification sur une courte échelle de temps. L'acidification a conduit à une amélioration du processus de dissolution de DFe (quantité relarguée environ 2 à 3 fois supérieure), et à un ralentissement du processus de scavenging du PO_4^{3-} sur les particules selon la nature de la matière organique dissoute. Bien que la forme dissoute ($< 0,2 \mu\text{m}$) des nutriments ne soit seulement qu'un proxy de leur biodisponibilité pour les communautés planctoniques, un changement des processus post-dépôts des nutriments atmosphériques dans les eaux oligotrophes pourrait impacter la pompe biologique. L'étude de la réponse des espèces planctoniques après un dépôt de poussières sous des conditions de

$p\text{CO}_2$ élevée, devrait être l'objet d'investigations futures. En parallèle, le minicosme est un excellent outil pour réaliser des expériences sous des conditions contrôlées (pH, température ...), et devraient être développés dans une approche d'études multi facteurs.

3.2. Article

Nutrients dynamic from dust under high $p\text{CO}_2$ level

Louis Justine, Gazeau Frédéric et Guieu Cécile

Cet article est en préparation pour une soumission à *Biogeoscience*
Dans le cadre de l'issue spéciale MERMeX

Is nutrients bioavailability modified after a Saharan event under high $p\text{CO}_2$ condition?

Louis J.^{1}, Gazeau F.¹ and Guieu C.¹*

[1] Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSU-CNRS, Laboratoire d'Océanographie de Villefranche, 181 Chemin du Lazaret, 06230 Villefranche-sur-mer, France

*Corresponding author: justine.louis35@gmail.com

Abstract

In addition to receive among the highest dust fluxes in the world ocean, the Mediterranean basin appears to be one of the regions the most impacted by ocean acidification. The aim of this study was to evaluate the effect of ocean acidification on the bioavailability of nutrients following a wet dust deposition. Three one-week experiments, conducted under quasi-abiotic conditions, were performed at three distinct seasons: in May after the spring boom with low autotrophic biomass; in September at the end of stratification period very oligotrophic; in January during the winter bloom. Each time, a dust flux of 10 g m^{-2} was simulated at the surface of two minicosms (HDPE tanks of $\sim 0.3 \text{ m}^3$) filled with filtered seawater ($< 0.2 \text{ }\mu\text{m}$) collected in the Bay of Villefranche, with one minicom being acidified to reach a $p\text{CO}_2$ projected for the end of this century ($1250 \text{ }\mu\text{atm}$). To mimic the atmospheric aging, the dust was mixed with organic and inorganic acid (oxalic acid, H_2SO_4 , HNO_3) and had undergone several evapocondensed cycling. Results showed that 1) 100% of the dissolved inorganic nitrogen ($\text{NO}_x = \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$) contained in the evapocondensed dust was rapidly released and remained high during the whole experiment whatever the $p\text{CO}_2$ condition and the season, 2) the release of phosphate (PO_4^{3-}) and dissolved iron (DFe), at the hour time scale, was impacted by the combined forcing of the aggregation process and the acidification. The ocean acidification led to an enhancement of the dissolution process of DFe ($\sim 2\text{-}3\text{-fold}$ increase), and a slowdown of the scavenging of PO_4^{3-} onto particles according to the nature of the dissolved organic matter (DOM) was observed. Although the dissolved form ($< 0.2 \text{ }\mu\text{m}$) of nutrients is only a proxy of their bioavailability for the plankton communities, a change in the

post-depositional processes of atmospheric nutrients in the oligotrophic areas could impact the biological pump. The assessment of the response of the plankton species to ocean acidification after a dust deposition should be conducted in the future investigations. In parallel, the minicosms are a great tool to perform experiments under controlled conditions. In the context of climate change, the minicosms experiments should be thus developed to assess the “multi-stressors” effects on the abiotic processes.

1. Introduction

The Mediterranean Sea is a semi-enclosed basin particularly sensitive to atmospheric inputs (e.g. MERMEX Group 2011). In particular, this area receives among the highest dust fluxes in the world ocean (Guieu and Shevchenko 2015). In the northwestern Mediterranean area, the dust deposition flux is on average $12 \text{ g m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ usually punctuated by intense events. Such short events with fluxes higher than 10 g m^{-2} have been reported in recent studies (i.e. Löye-Pilot and Martin, 1996; Ternon et al., 2010; Guieu et al., 2010b). Deposition of mineral dusts on surface waters is a potential source of trace metals and nutrients, due to the chemical composition of the emitted desert soils and the subsequent atmospheric mixing with polluted air masses during transport (e.g. de Leeuw et al., 2014). Artificial Saharan dust deposition experiments using large pelagic mesocosms showed that the dissolution of evapocondensed Saharan dust can be a source of phosphate and nitrate (Pulido-Villena et al., 2014; Ridame et al., 2014), and a sink or a source of dissolved iron depending on the quality and quantity of dissolved organic matter (DOM) present in seawater at the time of atmospheric deposition (Wuttig et al., 2013). With the objective to discriminate abiotic from biotic post-depositional processes following dust inputs, minicosm (tank of 0.3 m^3) experiments were performed using filtered seawater to follow the fate of nutrients, under distinct biogeochemical conditions (Bressac and Guieu, 2013; Louis et al., 2015). While the dissolution of nitrate could be very high from the large fraction of submicron mineral particles and remained in solution over a one-week period, release of phosphorus and iron from dust were rather low, and mostly controlled by abiotic scavenging processes. Indeed, the well-known high affinity of phosphate for mineral particles (Paytan and McLaughlin, 2007) led to an adsorption of this element back onto the submicron particles. Due to its low solubility in seawater, iron was also rapidly scavenged-back or maintained in solution through organic complexation (Parekh et al., 2004). Because a large portion of organic ligands (such as polysaccharides related as TEP-

precursors) is subject to aggregation, it has been suggested that the role of the aggregates formation, between organic matter (OM) and the sinking particles, on the removal of iron from the dissolved pool should be included in biogeochemical models (e.g. Moore and Braucher, 2008). The previous minicoms experiences revealed, in addition to the particles dynamic, the importance of the nature of DOM on the post-deposition process of nutrient from dust.

Contrary to anthropogenic N coated onto dust, the soluble fraction of P and Fe naturally contained in the dust particles depends on several parameters such as the pH (i.e. Ridame and Guieu, 2002; Baker and Croot, 2010). Indeed, iron solubility in seawater was shown to be enhanced by a pH decrease (Liu and Millero, 2002; Breibarth et al., 2010). Also, the studies dealing with the adsorption/desorption of phosphate on mineral particles in natural waters have shown a strong pH-dependence of those processes (e.g. Edzwald et al., 1976). In the context of climate change, the ocean acidification is a result of the increase in atmospheric CO₂ concentration. Since the industrial era, the pH of surface waters of the world ocean has already decreased by ~ 0.1 units, and is expected to decrease by another 0.06 to 0.32 units by the end of this century (Ciais et al., 2013). With an estimated pH decrease higher than 0.1, the western Mediterranean basin appears to be particularly impacted by ocean acidification (Touratier and Goyet, 2011). The aim of the present study was to assess the effect of a realistic ocean acidification scenario on the post-depositional processes of nutrients after a Saharan dust event in the Mediterranean Sea. With minicosms experiments conducted at three distinct seasons under controlled and quasi abiotic conditions, this work presents the evolution of the concentrations of inorganic and organic nutrients (N, P, Fe) after an artificial dust deposition under two different *p*CO₂ conditions (present and future).

2. Materials and Methods

2.1. Experimental setup and sampling

Three experiments were conducted at three distinct seasons: “CHIPIE 1” (water sampling on May 21th 2013) at the beginning of the stratification period, “CHIPIE 2” (water sampling on September 30th 2013) at the end of the stratification period; “CHIPIE 3” (water sampling on January 28th 2014) during the winter mixing period. For each experiment, two minicosms (HDPE tanks with a height of 1.09 m, a diameter of 0.68 m, a surface area of 0.36 m² and a

volume of 0.31 m^3), previously cleaned (protocol described by Bressac and Guieu, 2013), were used and installed inside a clean room at constant temperature (20°C). Tanks being made of an opaque material and covered, the experiment didn't encounter any photooxidation process. A weak turbulence was generated by a rotating PVC blade (9 rpm) in order to mimic natural conditions. Minicosms were filled with seawater collected at 5-m depth in the Bay of Villefranche (France) using trace metal clean Teflon pumps and an inline filtration system with a $0.2 \mu\text{m}$ cartridge (Sartorius Sartobran-P-capsule). Dissolved iron (DFe), dissolved inorganic nitrogen ($\text{NO}_x = \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$), phosphate (PO_4^{3-}) and heterotrophic prokaryotes were determined from *in situ* water sampled for the experiments. The abundance of heterotrophic prokaryotes was determined in a 2 mL aliquot of seawater, preserved with 80 μL of glutaraldehyde, snap-frozen in liquid nitrogen and kept at -80°C before analysis.

One minicosm, referred as "NA" (non-acidified), was un-manipulated in terms of carbonate chemistry with ambient $p\text{CO}_2$ levels of $\sim 460 \mu\text{atm}$. The second minicosm, referred as "A" (acidified), was acidified to a $p\text{CO}_2$ of $1250 \mu\text{atm}$ by addition of CO_2 -saturated filtered ($0.2 \mu\text{m}$) seawater. This $p\text{CO}_2$ level is above the one projected for 2100 following RCP8.5 ($\sim 1000 \mu\text{atm}$; Ciais et al., 2013) and should be considered as an extreme scenario. After this acidification step, an artificial Saharan dust event was simulated at the surface of both minicosms. The protocol to obtain the dust analog is similar to the one described in Guieu et al. (2010a). Briefly, the $< 20 \mu\text{m}$ fraction of Tunisia soil have been collected, and undergone a chemical artificial aging by addition of HNO_3 and H_2SO_4 to mimic cloud processes during the atmospheric transport of aerosol with anthropogenic acid gases. To mimic a flux event of 10 g m^{-2} , 3.6 g of the analog dust was quickly diluted into 2 L of ultra-pure fresh water, and sprayed at the surface of the minicosms.

Over 6 days, DFe, NO_x , PO_4^{3-} , dissolved organic nitrogen and phosphorus (DON and DOP), dissolved inorganic and organic carbon (C_T and DOC), transparent exopolymeric particles (TEP), size distribution of particles in suspension, abundance of heterotrophic prokaryotes, salinity and total alkalinity (A_T) were followed by discrete sampling in both minicosms using a depth-integrated polypropylene sampler (0 - 0.5 m). Sampling times (in hours after the seeding) were T1.5, T5.5, T6.5, T12.5, T14, T15.5, T24, T31, T48, T72, T96, T120 and T144 during CHIPIE 1. The sampling schedule was modified for CHIPIE 2 and 3 as follows: T1, T3, T6, T12, T16, T24, T31, T48, T72, T96, T120 and T144. Two control samplings were performed in both minicosms before seeding: 1) before the acidification step, referred to as

“C1”, and 2) after the acidification step, referred to as “C2”. For a given parameter, the concentration at the beginning (T_{initial}) and at the end (T_{end}) of the experiment corresponded to the average concentration at “C1” and “C2”, and the average concentration at T120 and T144. Considering the sampling standard deviations, a better comparison between data obtained in the two $p\text{CO}_2$ conditions was provided.

Immediately after sampling in the minicosms, seawater for the measurements of A_T and dissolved nutrients was filtered onto 0.2 μm polycarbonate filters (Nucleopore, Whatman) under a laminar flow bench. All filters were previously cleaned with a 5% hydrochloric acid (HCl) suprapure solution during 30 min, rinsed 20 times with ultrapure water, cleaned again with 1% HCl suprapure solution during 24 h and finally rinsed and kept in ultrapure water in a Teflon vial. All samples for nutrient analyses were kept in polyethylene bottles previously cleaned following trace-metal clean procedures (Bruland et al., 1979) and, only for inorganic nutrients (DFe , PO_4^{3-} and NO_x), they were acidified with 1% HCl ultrapure. Samples for the analyses of A_T and C_T were poisoned with a saturated solution of mercury chloride (HgCl_2) and kept in the dark at room temperature. pH_T (on the total scale) and temperature were continuously monitored in both minicosms using, respectively, Metrohm glass electrodes calibrated daily using a TRIS buffer solution (salinity 38, corresponding to the salinity in the Bay of Villefranche) and thermometers (pt1000). Data were recorded every minute on a Consort D230 datalogger. The methodology and data for DOC and TEP are presented in a companion paper Louis et al., (submitted).

2.2. Carbonate chemistry

A_T was determined potentiometrically using a Metrohm® titrator (Titrand 888) and a glass electrode (Metrohm®, ecotrode plus). Triplicate titrations were performed on 50 mL subsamples at 22 °C and A_T was calculated as described by Dickson et al. (2007). C_T was determined on triplicate 1.2 mL subsamples using an inorganic carbon analyser (AIRICA, Marianda®, Kiel, Germany) coupled to an infrared gas analyser (LI-COR® 6262). All parameters of the carbonate chemistry were determined from C_T , A_T , temperature and salinity using the R package seacarb (Lavigne et al., 2014).

2.3. Heterotrophic prokaryotes, non-living particle size distribution and TEP

Samples for the enumeration of heterotrophic prokaryotes were stained with SYBR Green I, incubated for 10 min in the dark, and analyzed with the FACSCalibur flow cytometer according Marie et al. (1999).

The dynamics of suspended particulate matter was characterized by the particle size distributions of the 0.7 - 18 μm size range determined by a Coulter Counter (Beckman) in triplicate using a 30 μm aperture tube. The total abundance of suspended particles was calculated and expressed in $\# \text{ mL}^{-1}$. Furthermore, the average diameter D_{av} (μm) was calculated as follows:

$$D_{av} = \frac{\sum_i (N(D_i) \times D_i)}{\sum_i N(D_i)}$$

where the symbol i is the different size classes over the 0.7 - 18 μm size range, D_i (μm) and $N(D_i)$ ($\# \text{ mL}^{-1}$) are respectively the mid-point diameter and the particle concentration of a given size class. $\sum_i N(D_i)$ refers to the total particle concentration.

Due to technical issues with the probe, suspended particulate concentrations are not available for CHIPIE 1.

The enumeration of TEP was performed by a microscopy method, based on the method of Passow and Alldredge (1994), modified by Pedrotti et al. (2010), and fully described in Louis et al., submitted). The TEP size distribution was obtained over the 1 - 135 μm size range. The total TEP concentration ($\# \text{ mL}^{-1}$) and the average diameter (μm) were calculated in the same way as described above.

2.4. Dissolved iron: DFe

[DFe] were measured by flow injection with online preconcentration and chemiluminescence detection (FIA-CL). The analytical method is based on the one described by Obata et al. (1993) and optimized by Bonnet and Guieu (2006). Samples were adjusted to pH $\sim$ 5 before passing through MAF-8HQ (8-quinolinol-immobilized fluoride containing metal alkoxide glass) resin column to selectively collect and pre-concentrate DFe. For each sample, three triplicate measurements were performed. Our measurements of the seawater reference D2-77

(SAFe) indicate a good analytical accuracy: measured [DFe]: 0.938 ± 0.010 nM ($n = 3$) and consensus value: 0.933 ± 0.023 . The repeatability and reproducibility were lower than 10%, and the detection limit was ~ 20 pM.

2.5. Dissolved inorganic nitrogen and phosphorus: PO_4^{3-} and NO_x

A Liquid Waveguide Capillary Cell (LWCC), with a length of 1 m and made of quartz capillary tubing, was used to analyze manually PO_4^{3-} and NO_x . The LWCC was connected to a spectrophotometer and the measurements were performed in the visible at 710 and 540 nm for PO_4^{3-} and NO_x , respectively. For PO_4^{3-} , the spectrometric method is based on Murphy and Riley (1962) molybdenum blue method and optimized by Pulido-Villena et al. (2010). For NO_x , the protocol used is described in details in Louis et al. (2015). The relative standard deviation (RSD) was of 10% for PO_4^{3-} and 7% for NO_x , with a detection limit of 1 nM and 8 nM, respectively. An internal standard (the seawater collected during the experiments) was used to control the reproducibility and repeatability of the analysis.

2.6. Labile dissolved organic nitrogen and phosphorus: DON_{uv} and DOP_{uv}

Samples for labile DON and DOP were irradiated by ultra-violet (UV) using a 705 UV Digester (Metrohm) in quartz tubes during 90 min with a mercury vapor lamp, according to the UV light photooxidation method described by Armstrong and Tibbitts (1968). After UV-oxidizing the dissolved organic matter, concentrations of total dissolved phosphorus (TDP) and nitrogen (TDN) can be measured using the same analytical method as described for PO_4^{3-} and NO_x . Concentrations of DOP and DON were determined by subtracting $[\text{PO}_4^{3-}]$ from [TDP], and $[\text{NO}_x]$ from [TDN], respectively. We will thereafter refer to these concentrations as $[\text{DOP}]_{\text{uv}}$ and $[\text{DON}]_{\text{uv}}$ considering that they represented only the labile fraction of the DOP and DON pool (Krom et al., 2005).

2.7. Statistical analysis

A Wilcoxon paired-sample (bilateral) test was performed to evaluate the potential effects of $p\text{CO}_2$ on nutrient concentrations. In addition, a correlation Spearman test was performed to compare the pattern of nutrient concentrations between the two minicosms. A significant

effect of $p\text{CO}_2$ was considered when $p_{\text{value}} < 0.05$. The relative deviation (RD) was also calculated for each paired sample (X_A and X_{NA}), as follows:

$$\text{RD} = \frac{X_A - X_{NA}}{(X_A + X_{NA})} \times 2$$

3. Results

3.1. *In situ* conditions during the seawater collection

In addition to contrasted hydrological conditions, the three CHIPIE experiments differed by the phytoplanktonic biomasses encountered at the time of sampling (Table 1). [Chla] was the lowest for CHIPIE 1 ($0.04 \mu\text{g L}^{-1}$) and the highest for CHIPIE 3 ($0.97 \mu\text{g L}^{-1}$), mostly attributed to a winter bloom of diatoms (pigment analysis by HPLC, data not shown). Seawater sampling for CHIPIE 2 was performed under intermediate conditions with a [Chla] of $0.15 \mu\text{g L}^{-1}$. The maximum [Chla] observed for CHIPIE 3 corresponded to the minimum observed [DFe] with a concentration of 2.3 nM, while [DFe] was of 3.9 and 3.5 nM for CHIPIE 1 and 2, respectively. The minimum $[\text{NO}_x]$ ($0.05 \mu\text{M}$) and $[\text{PO}_4^{3-}]$ (3.4 nM) for CHIPIE 2 indicated that surface waters were nutrient-depleted at the end of the stratification period. While $[\text{PO}_4^{3-}]$ were also rather low for CHIPIE 1 (11.5 nM) and CHIPIE 3 (6.6 nM), $[\text{NO}_x]$ was $0.5 \mu\text{M}$ for CHIPIE 1, corresponding to values usually observed at the beginning of the stratification period, and was maximal ($1.1 \mu\text{M}$) for CHIPIE 3 due to the winter mixing of the water column.

	Heterotrophic prokaryotes cell mL^{-1}	[Chla] $\mu\text{g L}^{-1}$	[DFe] nM	$[\text{NO}_x]$ μM	$[\text{PO}_4^{3-}]$ nM
CHIPIE 1 (21 May 2013, start of stratification period)	9.14×10^5	0.04^a	3.9	0.5	11.5
CHIPIE 2 (30 sept. 2013, end of stratification period)	6.53×10^5	0.15^{ab}	3.5	0.05	3.4
CHIPIE 3 (Jan. 28, winter mixing and bloom)	$8.51 \times 10^5^a$	0.97^a	2.3	1.1	6.6

Table 1: *In situ* conditions when collecting large volume of seawater at 5 m depth: heterotrophic prokaryotes abundance (unfiltered sample measured by flow cytometry), chlorophyll a concentration [Chla] (analyzed by HPLC), and nutrient concentrations (filtered sample: dissolved iron [DFe], nitrate + nitrite $[\text{NO}_x]$, phosphate $[\text{PO}_4^{3-}]$) for the three CHIPIE experiments. ^a: data from SOMLIT (<http://somlit.epoc.u-bordeaux1.fr/fr/>); ^b: [Chla] value linearly interpolated based on concentrations measured on September 24th 2013 ($[\text{Chla}] = 0.12 \mu\text{g L}^{-1}$) and October 8th 2013 ($[\text{Chla}] = 0.18 \mu\text{g L}^{-1}$).

3.2. Minicosm experiments under controlled conditions

For the three experiments, the 0.2 μm filtered seawater used to fill the minicosms exhibits a decline in heterotrophic prokaryotes abundance of 70-95 %. This indicates that the experiments were conducted under quasi-abiotic conditions with heterotrophic prokaryotes abundance at “C1” being $1.95 \times 10^5 \text{ cell mL}^{-1}$ (CHIPIE 1), $4.05 \times 10^4 \text{ cell mL}^{-1}$ (CHIPIE 2) and $2.50 \times 10^5 \text{ cell mL}^{-1}$ (CHIPIE 3).

Along the experiments, average seawater temperature in both minicosms was of 20.3 ± 0.2 , 22.3 ± 0.2 and $19.4 \pm 0.4 \text{ }^\circ\text{C}$ for CHIPIE 1, 2 and 3, respectively (Fig. 1). The addition of CO_2 -saturated seawater in “A” led to an initial pH_T decrease of ~ 0.7 units for all experiments. Due to air-sea exchange, pH_T levels slowly increased in the acidified minicosm and average pH_T levels during each experiment in this minicosm were 7.6 ± 0.1 (CHIPIE 1), 7.6 ± 0.1 (CHIPIE 2) and 7.7 ± 0.1 (CHIPIE 3). In the NA minicosm, the pH remained stable and constant for the three experiments being 8.0 (Fig. 1).

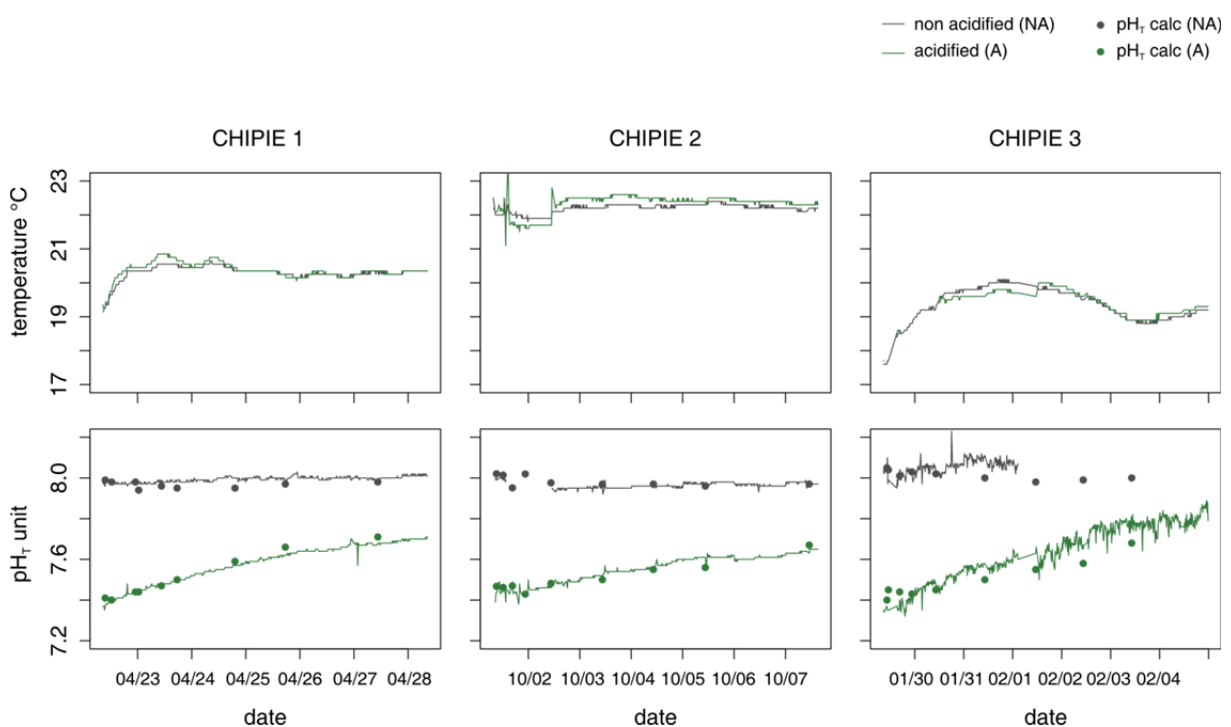


Figure 1: Follow-up of the seawater temperature ($^\circ\text{C}$) and pH_T by Consort D230 datalogger in both minicosms. The circles represent pH_T calculated from the discrete measurements of total alkalinity (A_T) and dissolved inorganic carbon (C_T)

3.3. Suspended particle dynamics

After seeding, a large increase in particle concentrations was observed at T1 in both minicoms (NA: 1.0×10^5 vs A: 1.3×10^5 # mL^{-1} during CHIPIE 2; NA: 2.0×10^5 vs A: 1.5×10^5 # mL^{-1} during CHIPIE 3; Fig. 2). At the two $p\text{CO}_2$ conditions, these concentrations remained nearly constant and high along the course of the experiments, except at the end of CHIPIE 2 where an increase was observed in both minicosms. The average diameter of suspended particles is presented in Fig. 2. During CHIPIE 2, after an increase in D_{av} from 1.45 to 1.54 μm in “NA”, and from 1.28 to 1.44 μm in “A” between T1 and T3, D_{av} decreased until the end of the experiment. During CHIPIE 3, D_{av} decreased from 1.68 to 0.94 μm in “A”. In “NA”, D_{av} increased at the start of the experiment, and then followed the same pattern as the one observed in “A”.

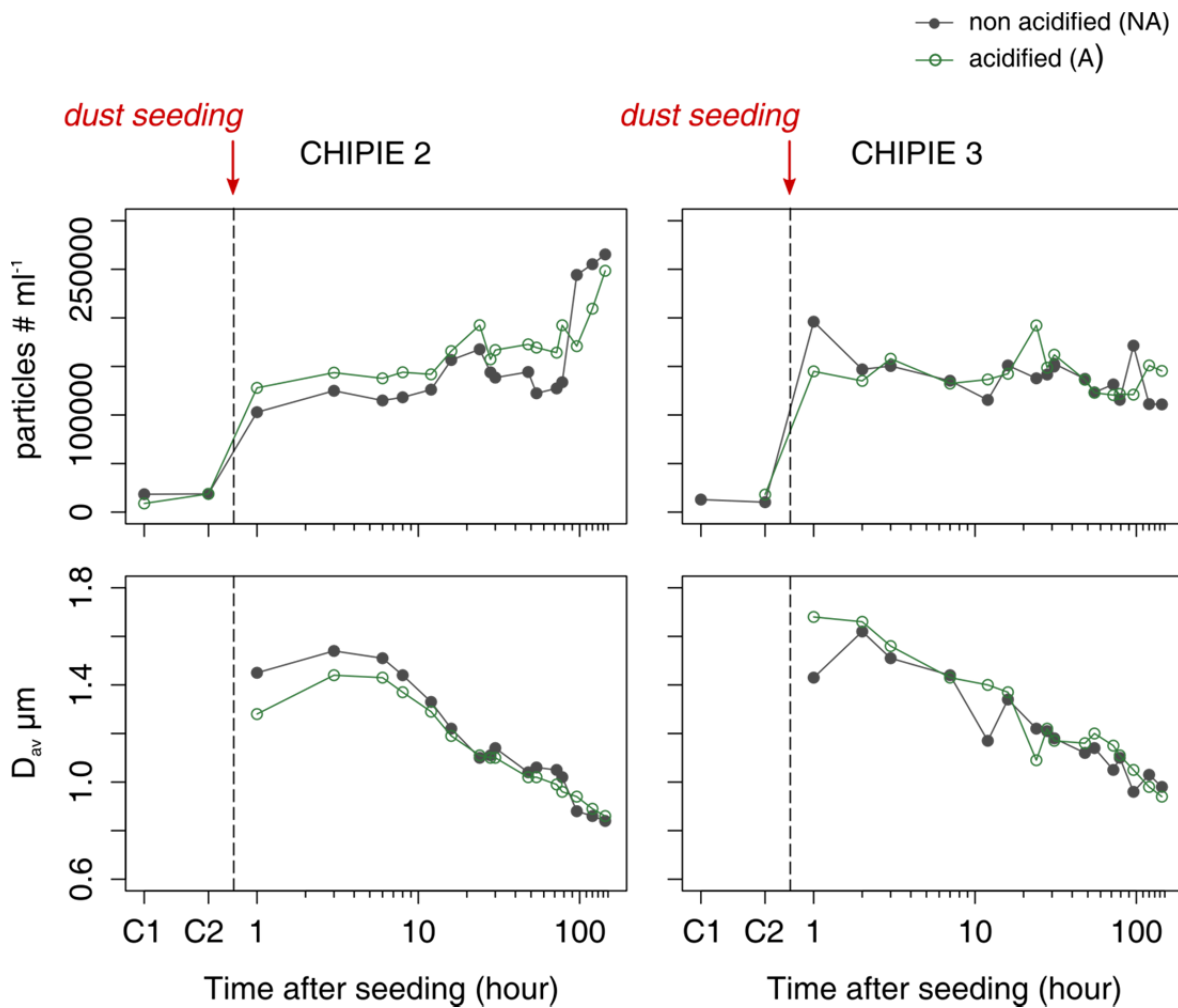


Figure 2: Evolution of the particle concentration (# mL^{-1}) and the average diameter (μm) in the minicosm non-acidified “NA” (grey line) and the minicosm acidified “A” (green line) over CHIPIE 2 and 3.

In addition to the input of lithogenic particles, a large formation of TEP was observed immediately after seeding for each experiment and in both minicosms (Fig. 3). At T1, the abundance of TEP (“NA” vs “A”) was of 14,449 vs 2,585 # mL⁻¹ for CHIPIE 1, 10,364 vs 8,011 # mL⁻¹ for CHIPIE 2, and 14,070 vs 9,125 # mL⁻¹ for CHIPIE 3. Average diameters of TEP for all experiments, as sampled at T1 (T1.5 for CHIPIE 1), are presented in Table 3. The average size of TEP was higher during CHIPIE 1 (6.9 and 8.0 µm in “NA” and “A” respectively) than during CHIPIE 2 and 3 (ranging from 4.3 to 5.0 µm).

	CHIPIE 1	CHIPIE 2	CHIPIE 3
	µm	µm	µm
“NA”	6.9	4.4	4.5
“A”	8.0	4.3	5.0

Table 2: Average diameter (µm) of transparent exopolymeric particles (TEP) in both minicosms (NA for non-acidified and A for acidified) at T1.5 for CHIPIE 1, and at T1 for CHIPIE 2 and 3.

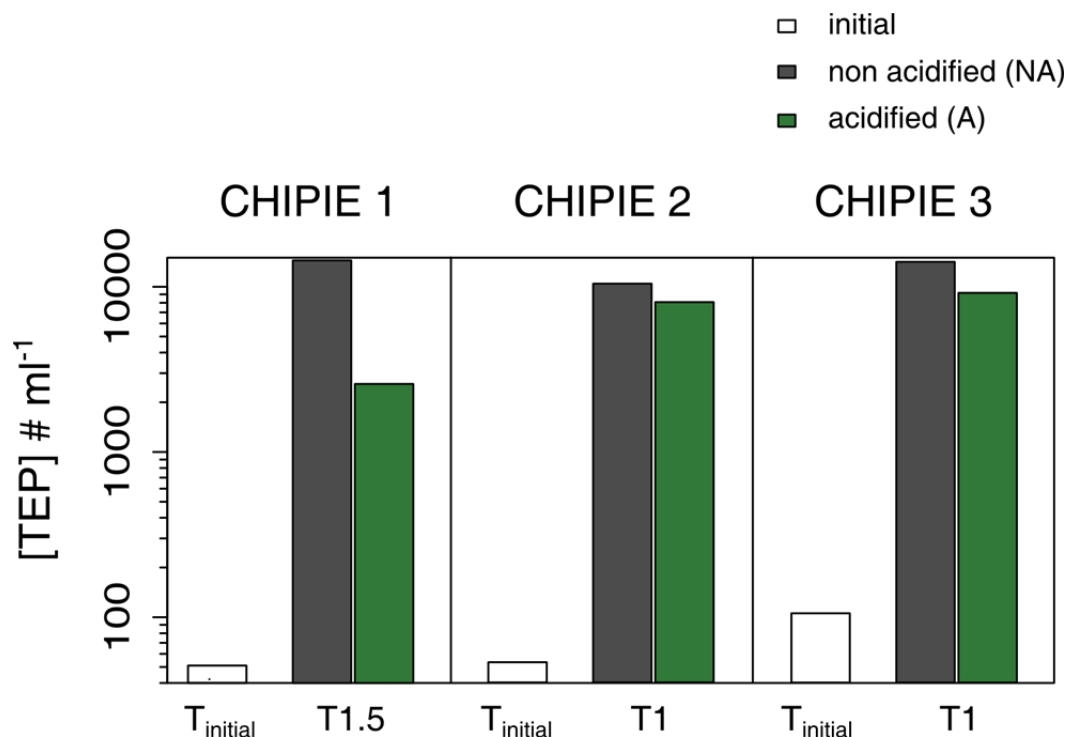


Figure 6: Comparison of the abundance of TEP (# mL⁻¹) at T_{initial} (mean value in both minicosms) (white bar), at T1.5 in CHIPIE 1, and T1 in CHIPIE 2 and 3 in the minicosm non-acidified “NA” (grey bar) and acidified “A” (green bar).

3.4. Dissolved inorganic and organic nitrogen

For the three CHIPIE experiments, a rapid and strong increase in $[\text{NO}_x]$ was observed immediately after seeding (T1-T1.5) in both minicosms (+ 9.3 μM for CHIPIE 1, + 9.9 μM for CHIPIE 2 and + 10.5 μM for CHIPIE 3; Fig. 4a, b, c). Thereafter, NO_x concentrations remained high along the course of the three experiments, with $[\text{NO}_x]$ (“NA” vs “A”) being 9.5 ± 1.2 vs 9.0 ± 1.3 μM (CHIPIE 1), 10.1 ± 0.4 vs 10.2 ± 0.3 μM (CHIPIE 2), and 11.8 ± 0.4 vs 11.2 ± 1.0 μM (CHIPIE 3). In “NA”, dust addition led to an increase in the NO_x stock from 0.5 ± 0.1 to 10.0 ± 0.4 mmol m^{-2} (CHIPIE 1), from 0.1 to 8.9 mmol m^{-2} (CHIPIE 2) and from 0.7 ± 0.1 to 10.2 ± 0.4 mmol m^{-2} (CHIPIE 3; Fig. 5). In “A”, the initial NO_x stock of 0.4 ± 0.1 , 0.1 , and 0.7 ± 0.1 increased to 9.8 ± 0.4 , 9.0 ± 0.3 and 10.2 mmol m^{-2} in CHIPIE 1, 2 and 3, respectively.

With respect to DON_{UV} , no strong variations were observed between the three experiments (see supplementary material for the whole data set). $[\text{DON}]_{\text{UV initial}}$ (“NA” vs “A”) was of 5.6 ± 0.5 vs 6.1 ± 0.5 μM (CHIPIE 1), 6.2 ± 0.5 vs 5.4 ± 0.8 μM (CHIPIE 2), and 4.8 ± 0.3 vs 5.2 ± 0.4 μM (CHIPIE 3). In both minicosms, DON_{UV} represented thus of 91 % (CHIPIE 1), 98 % (CHIPIE 2) and 85 % (CHIPIE 3) of total dissolved nitrogen. In “NA”, average $[\text{DON}]_{\text{UV}}$ were of 7.3 ± 1.1 , 6.2 ± 1.0 and 4.5 ± 0.9 μM during CHIPIE 1, 2 and 3, respectively. In “A”, $[\text{DON}]_{\text{UV}}$ followed the same pattern that in “NA” with values varying around 7.3 ± 1.5 , 7.0 ± 2.1 and 5.2 ± 0.7 μM for CHIPIE 1, 2 and 3, respectively. On average in both minicosms, the DON_{UV} stock did not drastically differ between T_{initial} and T_{end} (from 5.0 ± 0.6 to 4.7 ± 0.8 mmol m^{-2} in CHIPIE 1, from 5.0 ± 0.8 to 7.6 ± 2.0 mmol m^{-2} in CHIPIE 2, and from 4.3 ± 0.4 to 4.7 ± 0.2 mmol m^{-2} in CHIPIE 3; Fig. 5).

3.5. Dissolved inorganic and organic phosphorus

Along the course of CHIPIE 1, $[\text{PO}_4^{3-}]$ varied around 8.0 ± 3.4 nM in “NA” and 9.3 ± 4.1 nM in “A” with no specific trend (Fig. 4d). Three major peaks were observed in both minicosms at T6.5 (14.1 nM in “NA”, 17.5 nM in “A”), at T31 (10.1 nM in “NA”, 15.6 nM in “A”) and T96 (15.6 nM in “NA”, 15.2 nM in “A”). Finally, the initial PO_4^{3-} stock of 5.5 and 6.4 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in “NA” and “A” respectively were similar at T_{end} (5.3 ± 0.2 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in both minicosms; Fig. 5).

During CHIPIE 2, an input of PO_4^{3-} of +11 nM was observed at T1 in “A” and only at T3 in “NA” (Fig. 4e). In contrast to what was seen in “NA”, $[\text{PO}_4^{3-}]$ remained around 18.5 ± 1.5 nM until T24 then dropped to 7.2 nM at T48. The PO_4^{3-} stock increased from 4.7 ± 0.5 to 8.1 ± 1.9 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in “NA”, and from 4.0 ± 0.9 to 9.5 ± 3.7 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in “A” (Fig. 5).

Similarly to CHIPIE 2, a peak of PO_4^{3-} was observed later in “NA” than in “A” during CHIPIE 3 (“NA” vs “A”: +12.9 nM at T6 vs +13.9 nM at T3; Fig. 4f). After reaching a maximum value (20.9 nM in “NA” and 20.1 nM in “A”), $[\text{PO}_4^{3-}]$ declined until the end of the experiment to 6.6 nM at T144 in both minicosms. Therefore, the PO_4^{3-} stock did not increase during this experiment, ranging from 5.0 ± 1.3 (“NA”) and 5.8 ± 0.6 $\mu\text{mol m}^{-2}$ (“A”) at the start (T_{initial}) to 4.7 ± 1.3 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in both minicosms at the end (T_{end} ; Fig. 5).

Like DON_{UV} , the initial contribution DOP_{UV} to the pool of dissolved phosphorus was high in all CHIPIE experiments. DOP_{UV} represented 58 % (CHIPIE 1), 82 % (CHIPIE 2) and 73 % (CHIPIE 3) of total dissolved phosphorus. By averaging concentrations in both minicosms at “C1” and “C2”, $[\text{DOP}]_{\text{UV initial}}$ was of 9.4 ± 0.2 , 24.3 ± 8.5 , and 17.4 ± 2.8 nM for CHIPIE 1, 2 and 3 respectively. After seeding, $[\text{DOP}]_{\text{UV}}$ was 12.4 ± 7.0 vs 10.0 ± 4.6 nM (“NA” vs “A”), 27.5 ± 9.0 vs 22.5 ± 7.9 nM, and 24.1 ± 5.8 vs 27.7 ± 5.9 nM over CHIPIE 1, 2 and 3 respectively.

3.6. Dissolved iron

During CHIPIE 1, before seeding, $[\text{DFe}]_{\text{initial}}$ in both minicosms was of 3.5 ± 0.5 nM (Fig. 4g). The first sampling after seeding (T1.5) did not show significant changes in $[\text{DFe}]$ (3.2 nM in “NA” and 2.9 nM in “A”). At T6.5 and T24, a small increase in $[\text{DFe}]$ was observed respectively in “NA” and “A”, which corresponded to the maximum $[\text{DFe}]$ over this experiment (5.6 nM in “NA” and 6.0 nM in “A”). In both minicosms, the peak of $[\text{DFe}]$ was followed by a decrease, with a mean values at T_{end} of 3.0 ± 1.2 nM in “NA” and 2.9 ± 0.8 nM in “A”. Finally, the DFe stock, initially of 3.1 ± 0.5 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in “NA” and 3.0 ± 0.4 $\mu\text{mol m}^{-2}$ in “A”, decreased to 2.1 ± 1 and 2.5 ± 0.6 $\mu\text{mol m}^{-2}$ at T_{end} in “NA” and “A”, respectively (Fig. 5).

At the start of CHIPIE 2, $[\text{DFe}]_{\text{initial}}$ was of the same order of magnitude than during CHIPIE 1 with mean values in both minicosms of 3.3 ± 0.4 nM (Fig. 4h). One hour after seeding, a transient increase in $[\text{DFe}]$ was observed in “NA” ($[\text{DFe}]_{\text{T1}} - [\text{DFe}]_{\text{C2}} = + 7.1$ nM) and in “A”

($[DFe]_{T1} - [DFe]_{C2} = + 11.4 \text{ nM}$). While $[DFe]$ in “NA” ranged around $3.3 \pm 1.1 \text{ nM}$ during the rest of this experiment, $[DFe]$ increased between T12 and T14 in “A” to reach a peak of 34.8 nM , and then dropped to $3.8 \pm 1.7 \text{ nM}$ between T31 and T144. DFe stock variations ranged from 2.9 ± 0.4 (T_{initial}) to $2.5 \pm 1.3 \mu\text{mol m}^{-2}$ (T_{end}) in “NA”, and from 2.8 ± 0.3 to $2.1 \pm 0.1 \mu\text{mol m}^{-2}$ in “A”(Fig. 5).

As observed just after seeding during CHIPIE 2, $[DFe]$ increased by $+ 9.3 \text{ nM}$ to reach 11.0 nM at T1 in “A” during CHIPIE 3 (Fig. 4i). In this minicosm, a second peak was observed at T6 with a maximum value of 26.2 nM followed by a decline until the end of the experiment, which led to a DFe stock at T_{end} of $1.7 \pm 0.9 \mu\text{mol m}^{-2}$ (Fig. 5). In “NA”, the evolution of $[DFe]$ followed a different pattern, with a first peak at T3 (10.3 nM) and a second one at T24 (7 nM). Finally, the DFe stock at T_{end} did not differ from the one observed in “A” with a value of $1.6 \pm 0.8 \mu\text{mol m}^{-2}$.

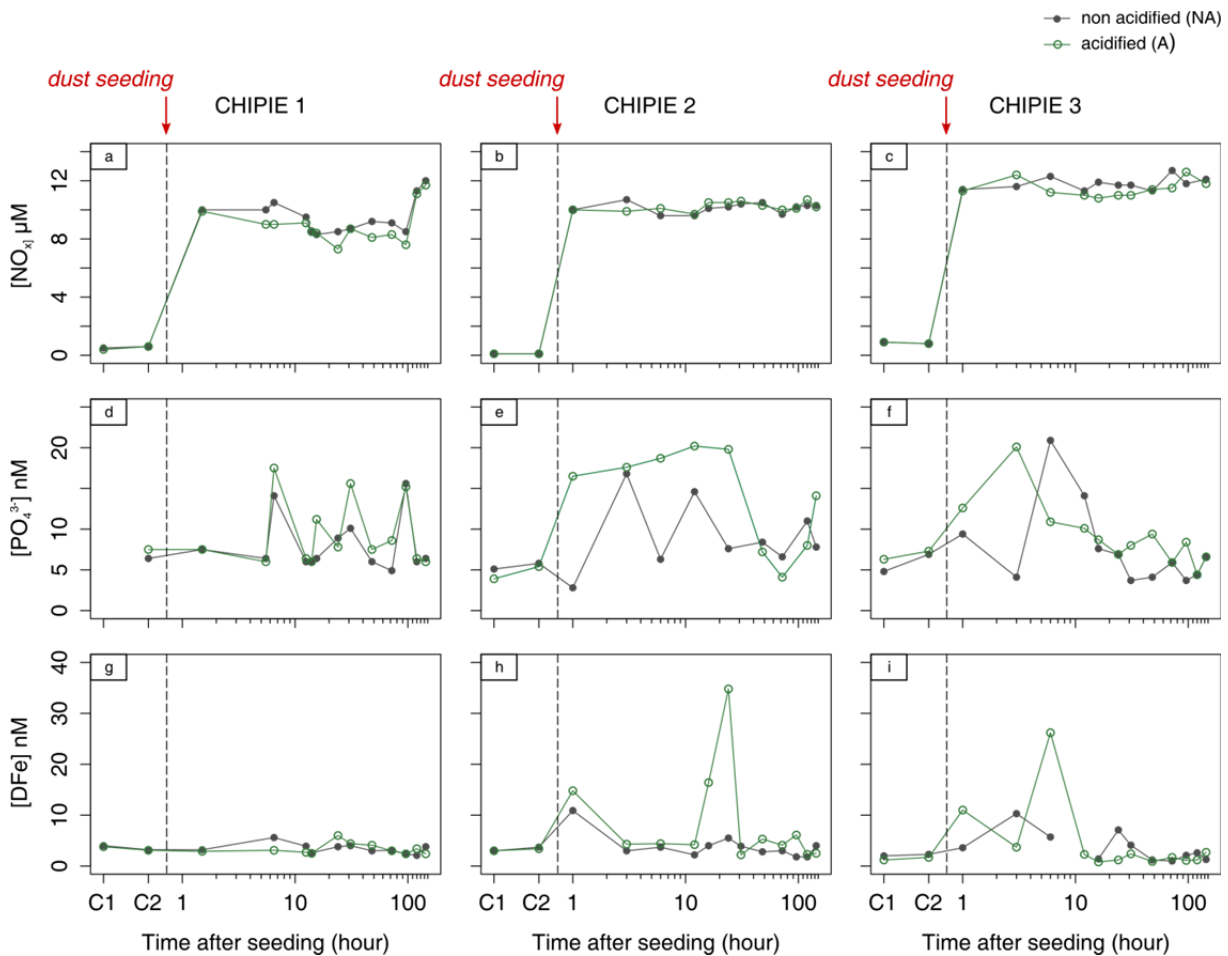


Figure 7: Evolution of the concentrations of dissolved inorganic nitrogen ($NO_x = NO_2^- + NO_3^-$; μM) (a, b, c), phosphate (PO_4^{3-} ; nM) (d, e, f) and dissolved iron (DFe ; nM) (g, h, i) for all CHIPIE experiments in the minicosm non-acidified “NA” (grey line) and acidified “A” (green line).

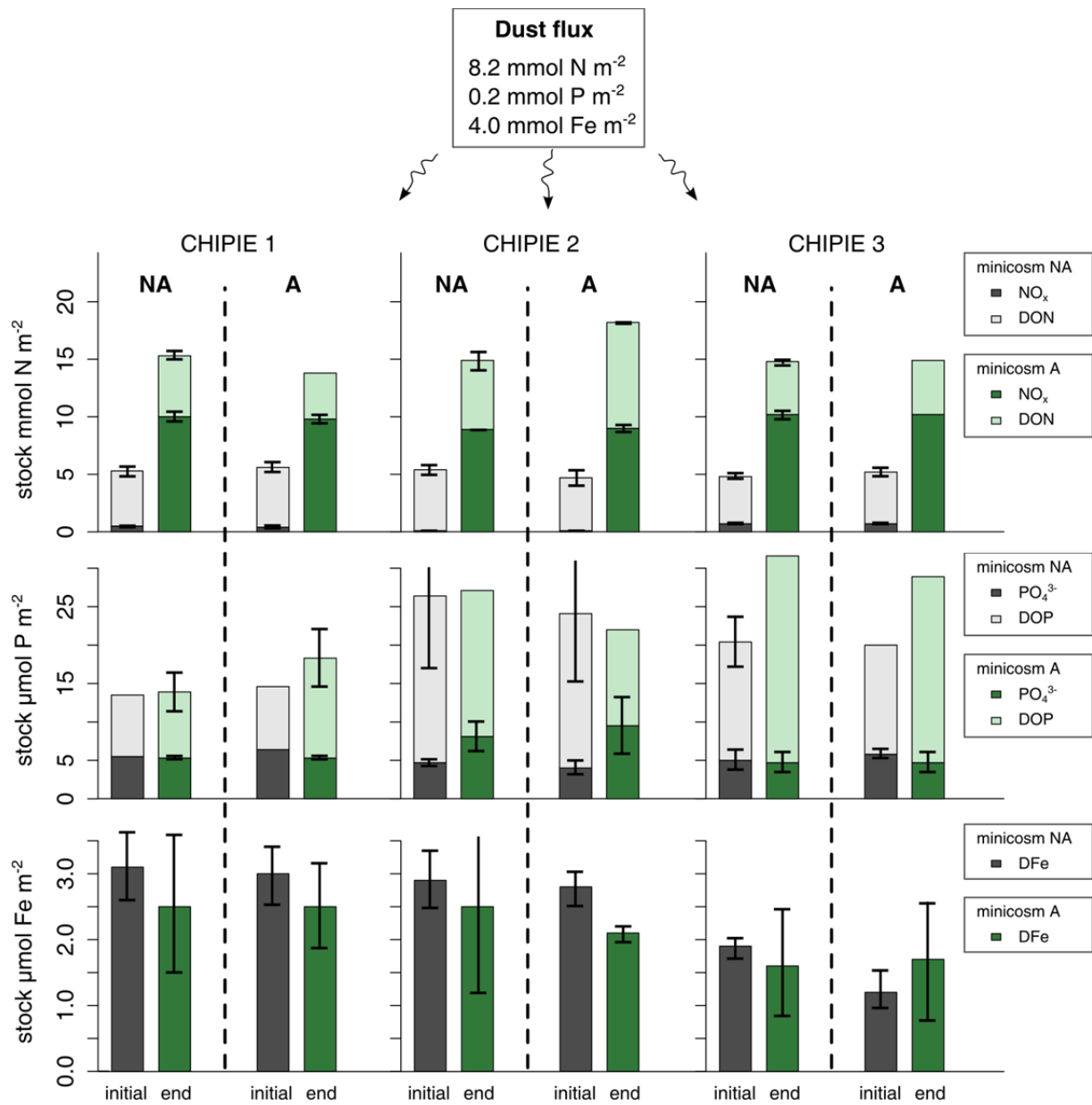


Figure 8: Comparison of the stock of N ($\text{NO}_x + \text{DON}_{\text{UV}}$; mmol m^{-2}), P ($\text{PO}_4^{3-} + \text{DOP}_{\text{UV}}$; $\mu\text{mol m}^{-2}$) and DFe ($\mu\text{mol m}^{-2}$) at T_{initial} and T_{end} . By considering a dissolution percentage of 100 % and according the chemical composition in the dust analog, the dust flux of 10 g m^{-2} should bring $8.2 \text{ mmol N m}^{-2}$, $0.2 \text{ mmol P m}^{-2}$ and $4.0 \text{ mmol Fe m}^{-2}$. The error bar at T_{initial} corresponds to the standard deviation on the mean stock from the samples at "C1" and "C2". The error bar at T_{end} corresponds to the standard deviation on the mean stock from the samples at "T120" and "T144".

3.7. Effects of ocean acidification on nutrient dynamics

The Wilcoxon paired-samples test showed a significant difference between “NA” and “A” for [DFe] during CHIPIE 2 ($p_{\text{value}} = 0.03$), and for $[\text{NO}_x]$ during CHIPIE 1 ($p_{\text{value}} = 0.006$; Table 3). For those cases or experiments, [DFe] tended to be higher in “A” ($p_{\text{value}} = 0.01$, Wilcoxon bilateral test for paired-samples) whereas $[\text{NO}_x]$ was lower in “A” ($p_{\text{value}} = 0.003$, Wilcoxon bilateral test for paired-samples; Fig. 6a, c). The Spearman test correlation allowed evaluating the relation between nutrient concentrations in “NA” and in “A”. Except for PO_4^{3-} and NO_x in CHIPIE 1, the pattern of nutrient concentrations in “A” was significantly different from that in “NA” (Table 3). Those statistical tests are a tool to assess the potential effect of pH on the post-deposition processes, but cannot be used any way to draw firm conclusions, and it will be further discussed in the next section.

	DFe		NO_x		PO_4^{3-}	
	Wilcoxon	Spearman	Wilcoxon	Spearman	Wilcoxon	Spearman
CHIPIE 1	0.84	0.50	0.006*	0.001*	0.12	0.04*
CHIPIE 2	0.03*	0.23	0.27	0.21	0.11	0.43
CHIPIE 3	0.79	0.13	0.15	0.71	0.29	0.36

Table 3: Statistical results (p_{value}) of the Wilcoxon paired-sample test (bilateral) and Spearman paired-sample test for concentrations of dissolved iron (DFe), dissolved inorganic nitrogen and phosphate (NO_x and PO_4^{3-} , respectively), measured in the two minicosms after seeding. Significant effects of $p\text{CO}_2$ were considered for a $p_{\text{value}} < 0.05$, and marked with “”.*

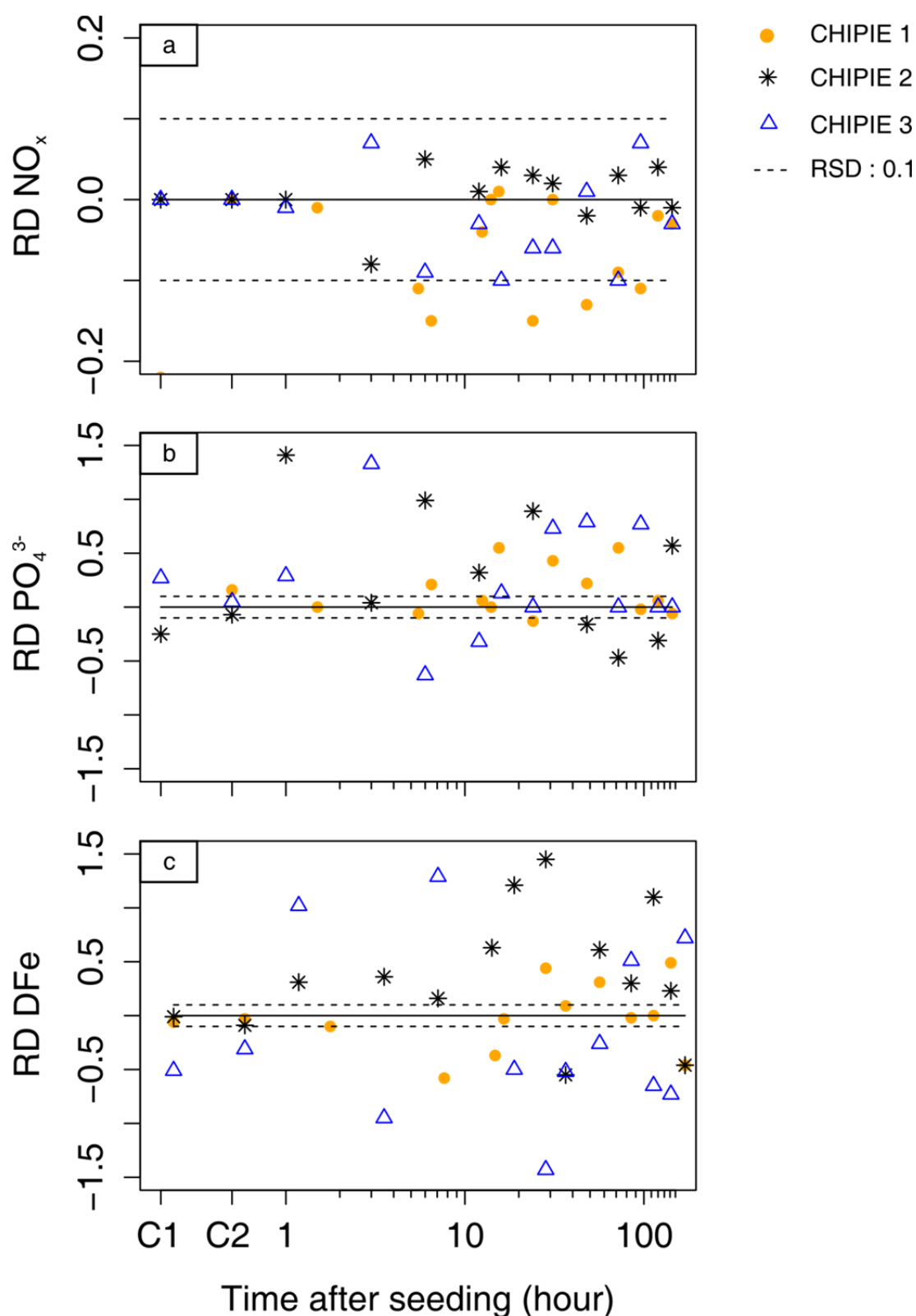


Figure 9: Relative deviation (RD) for each paired-sample for the concentration of NO_x (a), PO₄³⁻ (b) and DFe (c) over CHIPIE 1 (orange fully circle), CHIPIE 2 (black star) and CHIPIE 3 (empty blue triangle). The analytical relative standard deviation (RSD) is of 0.1 and is represented by a dotted line.

4. Discussion

4.1. Factors controlling the fate of atmospheric nutrients in seawater under ambient $p\text{CO}_2$ conditions

In a previous study conducted under similar quasi-abiotic conditions in minicosms, using the same flux simulation of evapocondensed dust analog (but with no turbulence and no integrated sampling), Bressac and Guieu (2013) and Louis et al. (2015) showed that the NO_x input from submicron lithogenic particles ($< 1 \mu\text{m}$) was high and that NO_x concentrations remained stable over a one-week scale. Additionally, large lithogenic particles ($> 1 \mu\text{m}$) allowed, during the first hours after seeding, a transient increase in $[\text{DFe}]$ and $[\text{PO}_4^{3-}]$ that were further controlled by scavenging processes. While almost all PO_4^{3-} released from dust was adsorbed back onto submicron particles rich in iron oxides, $[\text{DFe}]$ was controlled either by dust-OM aggregation processes or by the adsorption onto submicron particles. Therefore the post-depositional processes affecting nutrients were controlled firstly by the dynamic of lithogenic particles. Given that the organic matter has a high affinity with DFe and determines the particles dynamic by aggregation depending on its quality/quantity, the solubility of atmospheric nutrients was found to be linked directly or indirectly with the DOM dynamic.

In the present work, the integrated sampling did not allow to follow the slow settling of submicron particles as observed in these previous studies where sampling was performed at three depths. Here, an immediate increase in particles concentration was observed after seeding (Fig. 2). Nevertheless, the particles followed the same pattern as described previously by Louis et al. (2015): while a large fraction of submicron particles remained in suspension during the experiments, the largest particles settled, leading to a clear decrease in particles average diameter (Fig. 2).

The measurements of the abundance of TEP (fully described in Louis et al, submitted) showed a large and rapid production of TEP $\sim 1\text{h}$ after seeding for each experiment (Fig. 3). Thanks to their sticky property, TEP acted as a glue with the particulate material and involved in the formation of dust-OM aggregates for all CHIPIE experiments (Louis et al. submitted). Despite the lack of chemical characterization of DOM, the nature of DOM was suggested to be the main difference in the filtered seawater used for the three experiments. This is particularly obvious between CHIPIE 1 and 3 characterized by very different *in situ* trophic

conditions at the time of the collection of the seawater used to fill the minicosms (Table 1; Louis et al., submitted). These different biogeochemical properties of DOM could for example explain the difference observed in the average diameter of TEP (Table 3).

As explained by Bressac and Guieu (2013), when the quality/quantity of DOM favors the aggregation, the dissolution of Fe is firstly inhibited by the formation of OM-dust aggregates that decreases the number of desorption sites. Secondly, the high affinity of Fe to organic matter (by complexation) favors the removal of Fe from seawater due to the aggregation of organic matter. Thereby we suspected that the dynamic of Fe in the CHIPIE experiments was undergone the same processes. Regarding the maximal DFe input from dust, it was +2.4 nM in CHIPIE 1, +7.1 nM in CHIPIE 2 and +8.1 nM in CHIPIE 3. This was much lower compared to what was found in Bressac and Guieu (2013) (+181.4 nM) when the aggregation process did not occurred in winter mixing condition with low [Chl a] and old DOM. With different initial conditions for all CHIPIE experiment (especially in winter where a diatom bloom occurred) and the high aggregation of the DOM after seeding, our results supported the inhibition effect that can have the DOM on the release in DFe from dust. With the size of TEP formed $\sim$ 1h after seeding larger in CHIPIE 1 than CHIPIE 2 and 3 (Table 2), we suggested that the “coating” of dust by OM could be more important in CHIPIE 1 that greatly prevented the Fe dissolution. Finally, during the three experiments, all DFe released from dust was scavenged-back onto the aggregates, which led to similar net DFe stock ($\text{stock}_{\text{end}} - \text{stock}_{\text{initial}}$) of -1.0 ± 1.5 , -0.4 ± 1.7 and $-0.3 \pm 1.0 \mu\text{mol m}^{-2}$ in CHIPIE 1, 2 and 3 respectively.

Regarding the maximum percentage dissolution of PO_4^{3-} , it was of 4.0 % (CHIPIE 1), 4.8 % (CHIPIE 2) and 6.0 % (CHIPIE 3), which was of the same order of magnitude as what found with the power law (5.3 % for a dust concentration of 11.6 mg L^{-1}) given by Pulido-Villena et al., (2010) and Ridame and Guieu (2002). While a rapid desorption of PO_4^{3-} from dust followed by its adsorption back onto submicron particles was clearly observed during CHIPIE 3 (Fig. 4f), the pattern of $[\text{PO}_4^{3-}]$ variations was not as clear during CHIPIE 1. Assuming that the scavenging of PO_4^{3-} onto submicron particles is controlled by the interaction between PO_4^{3-} and iron oxides onto surface mineral particles (Louis et al., 2015), results during CHIPIE 1 suggested that this process was reversible likely due to the formation of weak complexes between PO_4^{3-} and iron oxides in competition with OM. Finally the net PO_4^{3-} stock

in CHIPIE 1 ($-0.2 \pm 0.2 \mu\text{mol m}^{-2}$) was not higher than those in CHIPIE 2 ($+3.4 \pm 2.4 \mu\text{mol m}^{-2}$) and CHIPIE 3 ($-0.3 \pm 2.6 \mu\text{mol m}^{-2}$).

Contrary to DFe and PO_4^{3-} , a large input of NO_x occurred immediately after seeding for all experiments (Fig. 4a, b, c). As observed in Louis et al. (2015) when the aggregation process controlled the particles dynamic, this large release of NO_x remained high and constant over one week. In CHIPIE experiments, whatever the nature of DOM, the atmospheric NO_x followed the same pattern, while in Louis et al. (2015) an inhibition of the dissolution of NO_x was observed in winter conditions with low Chla and old DOM. It should be mentioned that the first depth sampling was performed at 0.1 m in these previous minicosm experiments. We suggested that without aggregation between the organic matter and dust, as in the case in the winter experiment in Louis et al. (2015), a slower settling of submicron particles occurred. Thereby the release of NO_x would actually hold only in the first cm of the water column.

Here, the dust flux of 10 g m^{-2} allowed an increase in NO_x stock (Fig. 5) that led to a net stock of $10 \pm 0.4 \text{ mmol m}^{-2}$ (CHIPIE 1), 8.9 mmol m^{-2} (CHIPIE 2) and $10.2 \pm 0.4 \text{ mmol m}^{-2}$ (CHIPIE 3). Considering that these dust analogs contained 1.15% (in weight) of N (Guieu et al., 2010a), the amount of dust considered in our study represented a maximal input of $8.2 \text{ mmol N m}^{-2}$. This estimation was calculated by assuming that the concentration of lithogenic particles was homogenous in the whole of the minicosm. Although a weak turbulence was generated, the dust concentration was controlled by the settling of particles. Thereby, to our integrated depth sampling, we assumed that the particle concentration was higher than the one estimated. This could explain why the net stock of NO_x observed in all experiment was slightly higher than 8.2 mmol m^{-2} . Therefore, in agreement with Ridame et al. (2014), we assumed that the percentage of dissolution was of $\sim 100\%$.

4.2. N stock after dust deposition under high $p\text{CO}_2$ conditions

While phosphorus and iron are two natural components of Saharan soil, dust deposition is known as an important nitrogen source to marine surface waters due to the internal mixing of mineral aerosol with anthropogenic nitric acid gas HNO_3 (De Leeuw et al., 2014). As these dust are rich in calcium carbonate (CaCO_3), they have a high capacity to absorb HNO_3 onto their surface, leading to the formation of calcium nitrate $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (Usher et al., 2003; Krueger et al., 2004; Formenti et al., 2011). Given that $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ is a water-soluble salt and

that the percentage dissolution is close to 100% in seawater under natural $p\text{CO}_2$ conditions, we were not expecting any effect of pH on the release of NO_x from dust. Indeed, the three CHIPIE experiments showed a similar pattern of the NO_x dissolution in both minicosms with a large and stable increase in $[\text{NO}_x]$ immediately after seeding (Fig. 4a, b, c) and no significant effect of pH was observed on $[\text{NO}_x]$ variations during CHIPIE 2 and 3 (Table 3). However, according to the statistical analysis, the decrease in pH had a significant effect on $[\text{NO}_x]$ during CHIPIE 1 (Wilcoxon test, $p_{\text{value}} = 0.008$), with $[\text{NO}_x]$ in the acidified minicosm generally lower (Fig. 6a). Nevertheless, the RD for each paired-sample was close to the analytical RSD (10 %) (Fig. 6a), and the statistical result is disputable according the statistical threshold.

Contrary to NO_x , the dust deposition did not allow an input of DON_{UV} in both minicosms. This was expected since only the oxalic acid was used during the aging process of the dust analog (Guieu et al. 2010a), which appeared to be the main organic compound mixed with dust in the atmospheric (Aymoz et al., 2004; de Leeuw et al., 2014 and references therein). As no specific trend of $[\text{DON}]_{\text{UV}}$ was observed along the course of CHIPIE experiments, we concluded on no measurable interactions of these elements with mineral particles in seawater under both present and future $p\text{CO}_2$ conditions. Thereby, the dust deposition allowed a rise in the N bioavailable stock in surface water due to the large NO_x input and the high and constant DON_{UV} pool. This led to a shift in the proportion between the dissolved pool of inorganic and organic nitrogen (DIN:DON) after seeding (Fig. 5). Even if the relation between the DIN:DON and the plankton community is unknown, we suggested that this drastic change in DIN:DON, independently of the acidification, could affect the trophic level.

4.3. Effect of pH on the bioavailability of Fe(III) in seawater after dust deposition

Most of the iron present in dust originates from crystalline Fe oxides incorporated in clay minerals (Shi et al., 2012). According to Schroth et al. (2009), the low solubility of Fe from dust in seawater is due to the presence of Fe oxides poorly soluble. Here, we use the term “solubility” to refer to the total dissolved fraction ($< 0.2\mu\text{m}$) of Fe released from dust. Many studies have focused on the release of DFe from dust since this pool currently appears as the best proxy for bioavailable Fe in seawater (Shi et al., 2012).

In addition to the mineralogy of dust (Journet et al., 2008), several factors including pH control the solubility of atmospheric iron in the atmosphere and in seawater. The simulation of atmospheric processing (Desboeufs et al., 1999 and Mackie et al., 2005) showed that the dissolution of Fe from dust in aerosol was minimal above a pH threshold of 3.6-3.8. Usually rainwater pH is below seawater pH and experiments, and when the mixing of rainwater with seawater was performed a decrease in Fe solubility was shown (Spokes and Jickells, 1996). In the ocean, the solubility of Fe(III) species is theoretically controlled by the seawater pH, reaching a minimal concentration value at equilibrium condition around pH ~ 8 (Liu and Millero, 2002). At this pH value, Fe(III) is mostly under the form $\text{Fe}(\text{OH})_3$ a poorly soluble iron form, and is removed from seawater by the particle scavenging (Boyd and Ellwood, 2010). With regard Fe(II) that considered more bioavailable, it was rapidly oxidized in temperate and tropic waters, which led to low concentrations (Millero et al., 1987). Thereby, in ocean, DFe is mainly chelated by organic compounds (van der Berg, 1995; Rue and Bruland, 1999). According Breibarth et al. (2010), the ocean acidification would lead to an enhancing of the Fe solubility by a change in organic iron complexation and an increase in Fe(II) half-life time. A decrease in seawater pH could thus enhance the Fe solubility from dust. Based on our results (Table 2), [DFe] measured in both minicosms differed only during one of the three experiments (CHIEP 2) with a significantly higher [DFe] in the acidified minicosms (Fig. 6c). For CHIEP 1, pH had a non-significant effect on [DFe] with a RD calculated for each paired-sample mainly closed to 0.1 (Fig. 6c). With regards to CHIEP 3, [DFe] under high $p\text{CO}_2$ condition was neither lower nor higher (Fig. 6c), which explained the non-significant result of the Wilcoxon test (Table 3). Although the decrease in pH did not enhance the solubility of Fe, a “phase shift” of [DFe] pattern was observed between the two $p\text{CO}_2$ conditions (Fig. 4i), meaning that the desorption of Fe from dust would be faster under high $p\text{CO}_2$ condition. In the case of CHIEP 2 and 3, results suggested thus that the dissolution of Fe was enhanced under high $p\text{CO}_2$ conditions with a faster and higher release of Fe from dust (Fig. 4h, i). This is not in agreement with the study of Fishwick et al. (2014) which revealed that ocean acidification had not significant effect of the dissolution of aerosol Fe at a pH level close to the one considered in our study (i.e. 7.6 as reached by sparging air/ CO_2 mixtures). This can be explained by the different methodology used in Fishwick et al. (2014) with the aerosol leaching experiments. Briefly, 4 leaches (dissolutions instantaneous, after 48h and 30 days) were performed with the filtered seawater, which was collected in the

Sargasso Sea at low Fe concentration, by pouring over the aerosol filter in a continuous leaching process, and by batch leaching. Contrary to our minicosms experiments, we suggested that the release in DFe, which occurred rapidly (in the first leach), from aerosol in Fishwick et al. (2014) was not controlled by the formation of dust-OM aggregates. Thereby, in the framework of CHIPIE 2 and 3 we assumed that both higher and faster release in DFe from dust observed under high $p\text{CO}_2$ conditions was not due to a change in equilibrium chemical of Fe by the pH decrease (from 8 to 7.4-7.6). The acidification likely affected indirectly the dissolution process of Fe due to a slower formation of TEP and a shift in the properties of OM-dust aggregates under high $p\text{CO}_2$ conditions (Louis et al., submitted). This could lead to an easier desorption process and/or a shift in the colloidal size of organically complexed iron. Despite a positive effect of the acidification on the Fe solubility at the hour timescale, the final stock as measured ~ 1 week after seeding was of the same order of magnitude as the one measured initially whatever the $p\text{CO}_2$ level (Fig. 5). The strong control of the aggregation process on the solubility of Fe indicates that, even under high $p\text{CO}_2$ conditions, the impact of dust deposition on [DFe] in surface waters should be considered at the event timescale.

In summary, the effect of acidification on the dissolution of DFe from dust would depend on the nature of DOM. In the ecosystem distinguished by a low autotrophic biomass after a spring bloom, a large coating of OM on dust would be favored and inhibit the desorption of DFe from dust whatever the $p\text{CO}_2$ level. During the oligotrophic period or when a winter bloom occurred, the higher release in DFe under high $p\text{CO}_2$ conditions could be increase in the stock Fe bioavailable for the plankton communities at the event timescale.

4.4. Effect of pH on desorption/adsorption processes of PO_4^{3-} onto dust

Phosphorus is mainly under inorganic forms in Saharan soil, including a large fraction associated with iron oxyhydroxides coated on clay minerals and quartz particles (Guieu et al., 2002) and also bound with calcium (Aghnatie et al., 2014). Since crustal P is poorly soluble under alkaline conditions (Bergametti et al., 1992), atmospheric acid processing of dust enhances the P solubility (Nenes et al., 2011). There is currently no investigation on the solubility of P from dust in seawater under pH level ranged from ~ 7.4 to 8.1. Based on the diagram of solubility of iron phosphate and calcium phosphate (Stumm et al., 1996), the dissolution of Ca-bound-P would be higher at the future condition pH considered in this

present study. It also indicates that the dissolution of Fe-bound-P would be enhanced under ambient pH seawater. Considering an analytical RD of 10%, the maximal dissolution under ambient $p\text{CO}_2$ conditions did not significantly differ from that under higher $p\text{CO}_2$ conditions in CHIPIE 1 and 3 (4.3 and 5.5 % respectively). With respect to the kinetics of dissolution, at the exception of CHIPIE 1, PO_4^{3-} release after seeding was faster in the acidified minicosm (Fig. 4e, f). However, since the dissolution of PO_4^{3-} from dust is also controlled by particle size distribution, which is itself linked to organic matter concentration, discriminating direct pH effects from particle dynamics effect is not straightforward. Indeed, while the dissolution process of PO_4^{3-} was not significantly different under high $p\text{CO}_2$ conditions when large size TEP were formed (CHIPIE 1), the faster release in PO_4^{3-} , which occurred during CHIPIE 2 and 3, could be due to either the direct effect of pH decrease, and/or the effect of aggregation on the desorption sites as suggested for DFe.

In addition to desorption, the adsorption process of PO_4^{3-} onto mineral particles rich in iron and aluminum oxyhydroxides has been shown to be strongly pH-dependent (Fox, 1989). Chitrakar et al. (2006) showed that the uptake of PO_4^{3-} onto synthetic goethite and akaganeite in phosphate-enriched fresh seawater was the highest at pH values around 7, and then decreased with an increase in pH. Therefore, again, the decrease in seawater pH as projected for the coming decades could favor the adsorption process of PO_4^{3-} onto dust. Nevertheless, this assumption was not supported by our data: (1) the final stock of PO_4^{3-} was not significantly lower under high $p\text{CO}_2$ conditions (Fig. 5), (2) in contrast to ambient conditions, the PO_4^{3-} input in the acidified minicosm remained stable during the first 24 h after seeding during CHIPIE 2 (Figure 4e), and (3) the slope was of -0.259 vs -0.415 (“A” vs “NA”) in considering that the adsorption process followed a power law (Fig. 7). In the case of CHIPIE 2, we suggested a strong interaction between the organic matter and the submicron particles that blocked the adsorption sites for PO_4^{3-} under high $p\text{CO}_2$ conditions. Thereby, this inhibition of adsorption process during one day allowed a slight increase in the maximum percentage of dissolution (6.4 %). Finally the stock of PO_4^{3-} over one week in abiotic conditions did not change under high $p\text{CO}_2$, and the pool of DOP_{UV} remained the main fraction of bioavailable P (Fig. 5). To conclude, the acidification could play an important role on the bioavailability of PO_4^{3-} released from dust according the nature of the DOM. In the same seasons when the solubility of Fe could be enhanced by the acidification, the release in PO_4^{3-} would occur even quicker under high $p\text{CO}_2$ condition (~ 2-3 times). In addition, the

aggregation between OM and the submicron lithogenic particles, likely favored by high $p\text{CO}_2$ level, could lead to either a slowdown or an inhibition over one day of the adsorption process of PO_4^{3-} onto dust. In other words, the acidification could increase the residence time of the bioavailable PO_4^{3-} from dust in surface waters.

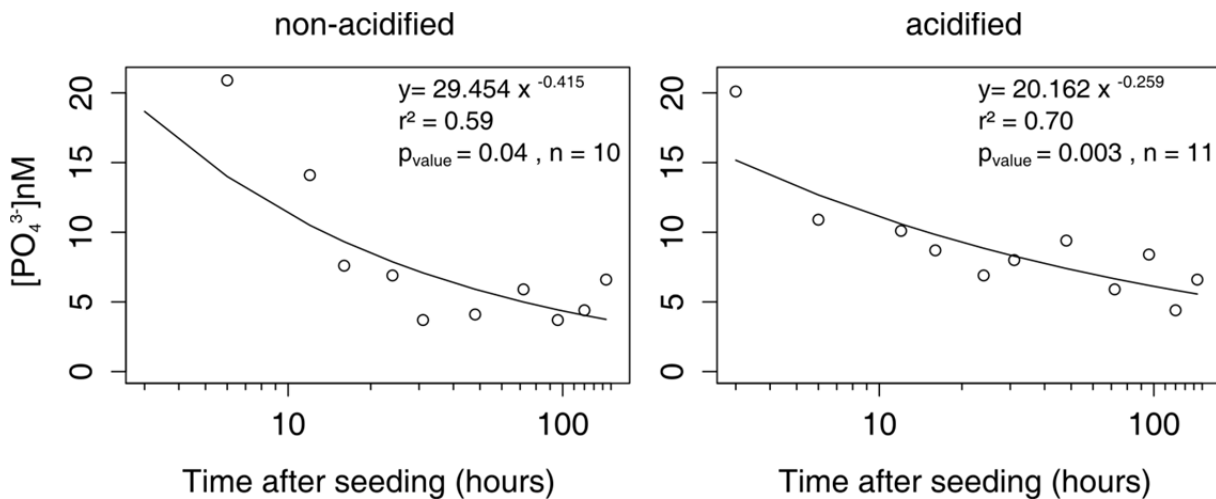


Figure 10: Evolution of phosphate concentration $[\text{PO}_4^{3-}]$ (empty circle) after reaching the maximum release in CHIPIE 3 in the non-acidified (left) and acidified (right) minicosms. The dark line corresponds to the power law model used to calculate the PO_4^{3-} loss rates by adsorption process.

4.5. Biogeochemical impacts

In order to assess the fate of the biological carbon pump in the context of climate change, the present study was focused on the impact of the ocean acidification on the bioavailability of nutrients after a Saharan event. Here, we assumed that the dissolved form ($< 0.2 \mu\text{m}$) of nutrients is bioavailable of the microorganisms.

As observed in the present work and previous minicosm experiments (Bressac and Guieu, 2013; Louis et al. 2015), under ambient $p\text{CO}_2$, a wet dust deposition can greatly increase the stock of N bioavailable at the one week scale in abiotic conditions. With regards to PO_4^{3-} and DFe, the amount released from dust occurred rapidly after seeding and then scavenged back onto particles. Thereby, the potential impact of dust deposition on the biological activity could be significant at the event timescale. In the oligotrophic conditions when the surface waters are depleted in nutrients, an external nutrient input, such as a dust deposition, can stimulate the small species that have a high specific growth rate (Capblancq, 1990). This was precisely the case in the artificial seeding mesocosms experiments (DUNE project) where the picoplankton species rapidly responded to the atmospheric nutrients input (Giovagnetti et al.,

2013), thanks to their ability to be a good competitor under nutrient-limiting conditions (Raven, 1998). The wet deposition was able to relieve the N/P co-limitation of phytoplankton activity and to switch the regenerated-production based system to a new-production based system (Ridame et al., 2014). Due to the high input of NO_x from evapocondensed dust, a large bioavailable N stock remained in the surface waters, while the phosphate released was fully biologically uptake.

By considering that the phytoplankton activity is limited by phosphate availability, the new primary production induced by the maximal PO_4^{3-} input in CHIPIE experiments would be of 8.5 mg C m^{-2} (CHIPIE 1), 12.1 mg C m^{-2} (CHIPIE 2) and 14.1 mg C m^{-2} (CHIPIE 3). This represents only 0.01-0.07 % of the annual new primary production (NPP) estimated by Marty and Chiaverini (2002) using 7 year time series in the Northwestern Mediterranean basin ($19\text{--}71 \text{ g C m}^{-2} \text{ yr}^{-1}$ in the 0-100 m layer). As highlighted by Ridame and Guieu (2003), the impact of PO_4^{3-} from dust may be low at the long timescale, but at the event timescale its contribution to the primary production (PP) can be substantial under oligotrophic regimes, when the biological activity is based on the regenerated production. By taking an integrated PP in the photic layer of $273 \text{ mg C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$, a typical value in the oligotrophic period in the Western Mediterranean Sea (Decembrini et al., 2009), and by assuming that 90 % of the PP is sustained by the regeneration of nutrient (Moutin and Rimbault, 2002), the input of PO_4^{3-} from dust could support 44 % of the NPP in the photic layer (in the case of CHIPIE 2), and likely more in the surface waters, at the event timescale. In the biogeochemical models, the NPP have a great interest since it provides a link between the PP and the export of POC from euphotic zone. Theoretically, an increase in NPP would lead to an enhancing of carbon export. Nevertheless, the dust deposition can stimulate also the bacteria respiration (Pulido-Villena et al., 2014) and the net heterotrophic character of the oligotrophic ecosystem can be kept and even reinforced (Guieu et al., 2014b). Thereby, the enhancing of the bacteria remineralization of DOC could reduce the atmospheric CO_2 drawdown and the fraction of DOC intended to be exported during the winter mixing (Guieu et al., 2014b).

As suggested Bonnet and Guieu (2006) during the spring bloom, the biomass of diatoms declines with the decrease in [DFe] due to their high requirement of DFe. As illustrated by CHIPIE 3, a transient and rapid increase in [DFe] occurred after the dust deposition during a winter diatom bloom. In the absence of N/P limitation, the pulse of [DFe] could thus stimulate

temporally the diatom bloom and eventually increase the POC export (e.g. Buesseler, 1998; Ducklow et al., 2001).

Finally, the fertilization effect of dust deposition on the carbon export in the oligotrophic waters remains thus contrasted, due to a variability of biological responses to dust addition in LNLC areas that depends on the biogeochemical conditions and trophic level of the ecosystem (Guieu et al., 2014c).

One challenge for the scientific community in this century is to predict the response of the biological pump in the future climate, in order to evaluate a potential feedback on the atmospheric CO₂ concentration. As emphasized by Guieu et al., (2014c), an expansion of the LNLC areas and a decline in the autochthonous inputs of nutrients by changing ocean physics in the future climate, would increase the contribution of the atmospheric inputs for ocean biogeochemistry. Thereby, in this present study, we were interested in the effect of the acidification on the bioavailability of new atmospheric nutrients, which may ultimately lead to a shift in the biological pump. As mentioned previously, the dissolved form ($< 0.2 \mu\text{m}$) of nutrients is only a proxy of their bioavailability. Even if the NO_x and PO₄³⁻ are two forms of N and P that seem highly bioavailable for the plankton communities, the knowledge of the bioavailability of DFe remains little understood under ambient seawater conditions (von der Heyden and Roychoudhury, 2015), and even more under climate change (Millero et al., 2009; Shi et al., 2010).

According to our data, the effect of the acidification on the solubility of nutrients from dust at the event timescale was strongly dependent on the nature of the DOM present in seawater. A pH decrease could increase the dissolution rates of Fe and P dust, enhance the amount of DFe released, and slow down the scavenging of PO₄³⁻ back onto submicron lithogenic particles, with the potential to increase thus the biological response to dust deposition. Our study shows that the effect of the ocean acidification on atmospheric nutrients release in oligotrophic area could be important at the event timescale, and this highlights the need for performing experiments and field observations at high frequency.

In the future investigations, the impact of ocean acidification on the uptake and metabolism rates of auto-heterotrophic communities should be considered. In the case of DFe, a shift in the physical and chemical speciation by the pH decrease could be impact the biological uptake (Shi et al., 2010). In the biotic experiments, it would be interesting to combine the size

fractioned and chemical form of DFe from dust with Fe uptake rates. In addition, the acidification could change the metabolism rates according the species (e.g. Rost et al., 2008; Reinfelder, 2011) and induce a shift in the plankton communities and new nutrients requirement.

5. Conclusion

In the context of climate change, the aim of this study was to evaluate the effects of a decrease in pH as projected for the coming decades on post-depositional processes of nutrients from dust in an oligotrophic environment. This study conducted in abiotic conditions showed that, over a one-week time scale, the stock of bioavailable nutrients (inorganic and labile organic) after a simulated dust event of 10 g m^{-2} was not significantly different under high $p\text{CO}_2$ conditions compared to ambient conditions (on average $1800 \text{ } \mu\text{atm}$). While the final N stock in both minicosm increased by ~ 3 times the initial N stock due to the large and stable NO_x input, the final stock of P and Fe was controlled by scavenging processes whatever the $p\text{CO}_2$ level. The high dissolution ($\sim 100\%$) of NO_x was found to be independent of pH. On short time scale, the post-deposition processes for DFe and PO_4^{3-} would be affected by a combined effect of the nature of organic matter present in seawater and pH. Depending on the trophic status where the deposition occurs, the ocean acidification could enhance the dissolution rates of Fe and P from dust, increase the DFe release and slow down the adsorption of PO_4^{3-} onto particles. The increase of the availability of atmospheric nutrients induced by the ocean acidification in the oligotrophic areas could have a potential effect on the biological pump. In the future investigations, these experiments should be conducted under natural plankton assemblage, taking in consideration the uptake rates of nutrients and the composition of plankton communities.

Finally, even the factor of temperature was not taken account in this present study (fixed at 20°C), there was a deviation of 1.4°C over all CHIPIE experiments due to initial conditions of seawater temperature variables according the seasons. It would therefore be appropriate to evaluate the effect of temperature on the nutrient dynamic after a Saharan event, which fits in the scope of the future investigation on the response of the environment under pressure at air-sea interface.

Acknowledge

This work was funded by MISTRALS/MERMEX project and the CHIPIE-EMERGENCE-UPMC project. A grant provided by the University of Paris 6 supported J.L. The authors thank F. Chevalier-detour and A. Aymard for the assistance during the experiments. S. Rabouille, S. Marro, M.L. Pedrotti and M.E. Kerros are acknowledged for their help in Coulter counter, cytometry and TEP measurements. F. Louis is greatly acknowledged for the installation of the turbulence system.

4. Conclusion générale

Via la haute fréquence d'échantillonnage, les études présentées dans ce chapitre nous ont permis de souligner l'importance de considérer l'impact des dépôts de poussières à l'échelle de l'évènement. En complément, elles ont révélées le rôle majeur de la nature de la DOM sur les processus de dissolution des nutriments atmosphériques lors d'un évènement saharien. La capacité de la DOM à s'agréger avec les particules lithogéniques impacte la désorption de Fe et P contenus dans les poussières. Selon sa nature, l'effet de l'acidification sur les processus post-dépôts des nutriments peut également varier. Une diminution de pH de l'eau mer ($\sim 0,4$ unités) pourrait accélérer les taux de dissolution de DFe et PO_4^{3-} , augmenter la quantité de DFe relargué, et ralentir l'adsorption de PO_4^{3-} sur les particules lithogéniques. Sous des conditions de $p\text{CO}_2$ élevée, la pompe biologique pourrait être ainsi impactée sur une courte échelle de temps, après le dépôt de poussières à la surface des eaux oligotrophes. Dans l'étude de Louis et al. (en préparation), l'augmentation des émissions anthropiques n'a pas été prise en compte (Van Vuuren et al., 2011). Etant donné qu'une grande part des émissions de poussières sahariennes est mélangée avec des émissions de composés anthropiques, tels que l'azote oxydée, le dépôt de poussières dans les zones LNLC pourrait être une source d'azote encore plus importante.

Chapitre V

Dynamique de la matière organique à la suite de deux forçages atmosphériques : Acidification et Evènement Saharien

- 1. Introduction**
- 2. Le devenir de la matière organique après un évènement saharien sous $p\text{CO}_2$ élevée**
 - 2.1. Résumé
 - 2.2. Article
- 3. Conclusion**

« En condition abiotique, les dépôts sahariens stimulent la formation de TEP, induisant la flux de POC. »

« L'impact de l'acidification sur ce flux de POC dépend de l'échelle de temps considérée. »

Préambule

Le cœur du chapitre précédent concernait l'effet combiné d'un dépôt saharien et de l'acidification sur la biodisponibilité des nutriments, dans le but d'appréhender un impact potentiel sur l'activité biologique. **Un des points qui a été mis en évidence est le rôle de la formation des agrégats organique-minéral dans la mise à disposition des nutriments atmosphériques via une importante et rapide formation abiotique de TEP après l'ensemencement.**

Petit retour en arrière ...

Dans le présent chapitre, je vais me focaliser sur ce processus d'agrégation entre la matière organique et les poussières sahariennes qui a été mis en évidence aux trois expériences CHIPIE. Après une introduction générale sur les TEP dans le milieu marin et les flux de POC/minéraux dans l'écosystème (section 1), nous présenterons les travaux issus de CHIPIE montrant que le dépôt de poussières sahariennes stimule la formation de TEP qui deviennent alors la matrice des agrégats organique-minéral (Louis et al. soumis). L'effet du pH sur ces agrégats suggéré dans Louis et al. (en préparation) (chapitre IV- section 3) a suscité le besoin d'étudier le pH sur la dynamique des TEP.

Alors que les chapitres précédents (chapitre III et IV) se sont focalisés sur le devenir de la pompe biologique du carbone, je m'intéresse ici à cette pompe abiotique du carbone, que Bressac et al. (2014) a appelé la pompe lithogénique. Malgré les processus abiotiques qui régissent cette pompe, elle est liée à la DOM et donc indirectement à la pompe biologique.

1. Introduction

L'existence et l'importance des Particules Exopolymériques Transparentes (TEP) a été révélée pour la première fois par Alldredge et al. en 1993 grâce à une technique de coloration au bleu d'Alcian. Ces particules composées d'acides polysaccharides forment en effet un complexe avec le bleu d'Alcian permettant leur caractérisation au microscope (Figure V.1). En termes de taille, ces particules se situent à l'interface de la phase colloïdale et particulaire (Figure V. V.2). Les TEP

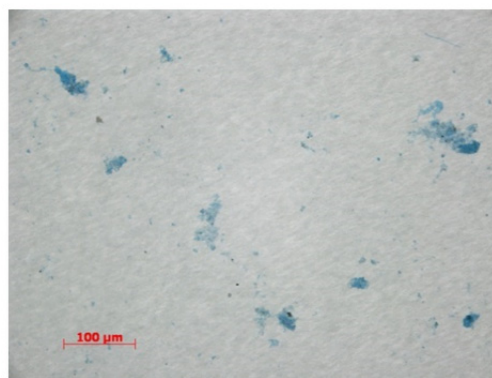


Figure V.1: Image microscopique (x200) des TEP colorées au bleu d'Alcian. Exemple d'un échantillon de la rade de Villefranche sur mer le 28 janvier 2014

sont formées spontanément à partir de matière organique dissoute ($<0.2 \mu\text{m}$) appelés les TEP-précurseurs relargués par les microorganismes. Via des ponts cationiques (Ca^{2+}) et liaisons hydrogènes, les TEP sont formées et stabilisées. La formation des TEP est également favorisée par la coagulation des précurseurs colloïdaux ayant un fort coefficient d'adhésion (probabilité que deux particules restent liées après collision). Ce processus de coagulation est amélioré notamment par la turbulence, l'adsorption sur des particules, et à l'interface air-eau (Keplay, 1994 ; Chin et al., 1998 ; Passow, 2002 ; Verdugo et al., 2004 ; Verdugo, 2011).

En plus d'être une source de carbone pour les bactéries, les TEP sont considérées comme une excellente voie abiotique pour transférer le carbone organique du pool dissous (DOC) à particulaire (POC) via un processus d'agrégation (Engel et al., 2004). Due à leur surface active riche en sulfate d'ester (Passow, 2002), les TEP jouent le rôle de « colle » avec les particules présentes dans l'eau de mer (détritiques, phytoplancton, test, particules lithogéniques), et forment ainsi la matrice des agrégats. Elles peuvent donc avoir un rôle majeur dans la séquestration du carbone dans l'océan profond (Logan et al., 1995 ; Passow et al., 2001).

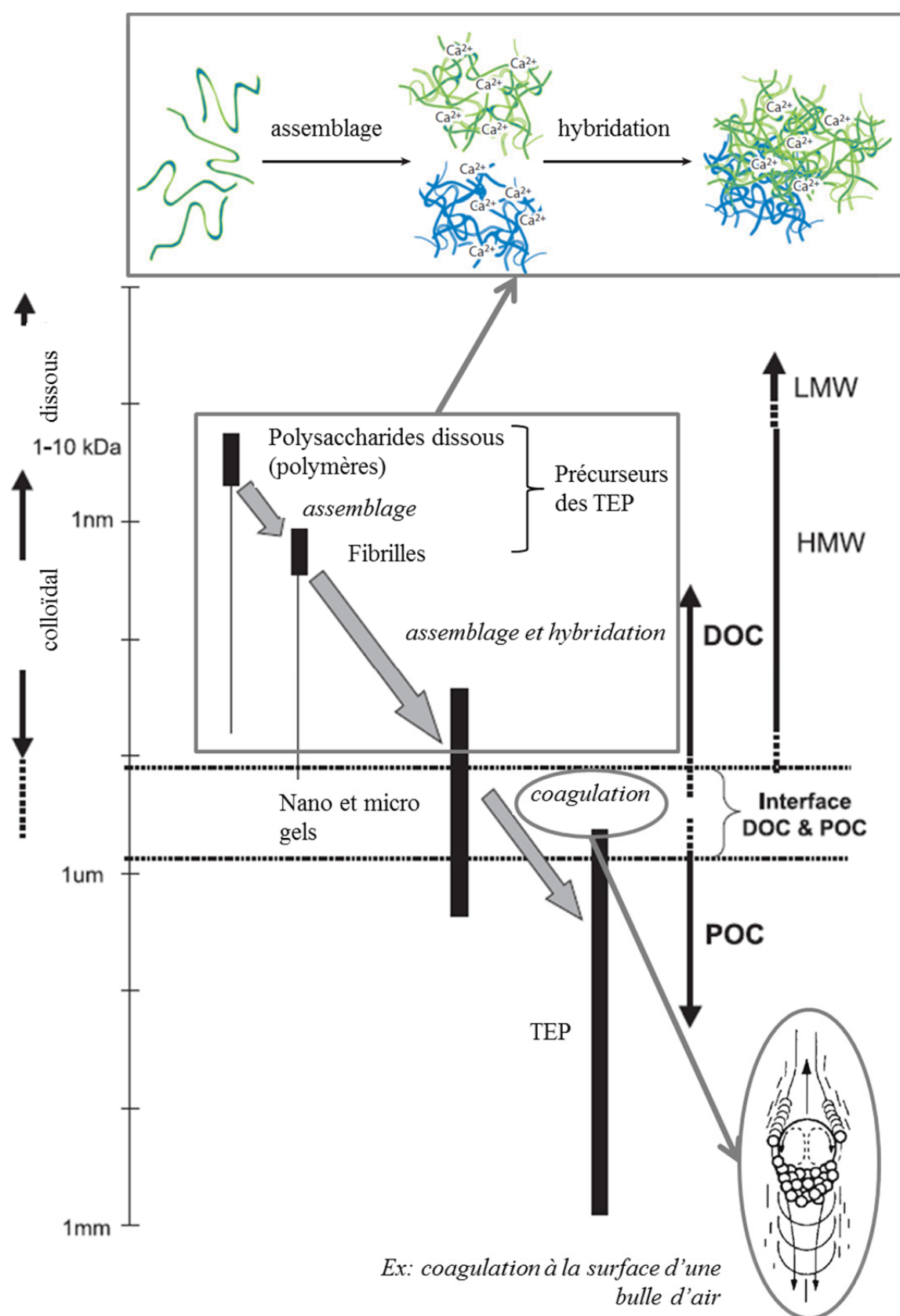


Figure V.2: Formation abiotique des TEP par assemblage et coagulation des polysaccharides exsudés par les microorganismes dans l'écosystème marin (modifié d'après Keplay, 1994 ; Verdugo et al. 2004, 2011)

L'observation d'une corrélation significative entre les flux de POC et minéraux dans les eaux profondes signifie que le flux de POC serait contrôlé par le flux de particules minérales, ou inversement. Une première hypothèse, appelée « ballast hypothesis » suggère que les ballasts minéraux (opale et calcite biogénique, et particules lithogéniques) ont la capacité de s'incorporer sur les agrégats organiques, ce qui permet d'augmenter la vitesse de sédimentation du POC et de protéger la matière organique contre la dégradation bactérienne (Armstrong et al., 2002 ; François et al., 2002 ; Klass and Archer, 2002). Au lieu que ce soit le flux des ballasts minéraux qui contrôle le flux de POC, la seconde hypothèse propose une explication inverse : la matière organique agrège les particules minérales en suspension jusqu'à saturation à 95 % (en masse) (Passow, 2004 ; Passow and De La Rocha, 2006). D'une manière générale, l'interaction entre les agrégats organiques et les particules minérales implique un processus d'agrégation/adsorption.

Dunne et al. (2007) et Salter et al. (2010) ont souligné l'importance des particules lithogéniques d'origine atmosphérique ou fluviale dans le transfert de POC dans l'océan profond, qui devraient être prise en compte dans les modèles biogéochimiques. Ainsi des événements extrêmes, tels que les dépôts de poussières sahariennes dans le bassin nord-ouest méditerranéen, catalysent l'export de POC selon les conditions biogéochimiques *in situ*, via une stimulation du processus d'agrégation entre la matière organique et minérale dans les eaux de surface (Ternon et al., 2010 ; Bressac et al., 2012 ; Bressac et al., 2014).

Parce que la Méditerranée est sujette à de fortes pressions anthropiques, une altération dans la formation des agrégats organiques-minérales, via des modifications de facteurs environnementaux tel que le pH de l'eau de mer, pourrait impacter la séquestration du carbone et engendrer une rétroaction négative ou positive sur les concentrations en CO₂ atmosphérique et donc sur le climat.

Ainsi les objectifs de ce chapitre sont 1) de mettre en évidence l'interaction entre la matière organique et les poussières sahariennes, et 2) d'étudier ce lien dans des conditions d'acidification de l'océan. Nous émettons l'hypothèse que l'impact sur les flux de POC après un événement saharien serait dû à une stimulation de la formation des TEP via une augmentation du taux de coagulation des TEP-précurseurs (Kepley, 1994). Etant donné que la formation des TEP et que l'adsorption des polysaccharides sur les particules minérales sont contrôlées par des liaisons physiques et chimiques théoriquement dépendantes du pH, nous

suspectons un effet de l'acidification sur l'export de POC stimulé lors d'un évènement saharien.

2. Le devenir de la matière organique après un évènement saharien sous $p\text{CO}_2$ élevée

2.1. Résumé

Trois expériences ont été réalisées en conditions abiotiques à l'aide de minicosmes de 300 litres, remplis d'eau de mer filtrée collectée en mer méditerranée. Ces expériences ont été réalisées à l'identique en trois saisons: au printemps au début de la période de stratification, en automne après la période de stratification, et durant le mélange hivernal en condition de bloom. Pour chaque expérience, un des deux minicosmes a été acidifié pour atteindre des conditions de pH de l'eau de mer prédites à la fin du siècle. Dans le but d'étudier la dynamique de la matière organique et d'évaluer les effets de l'acidification sur la formation des TEP, après un évènement de poussières sahariennes, l'abondance et la taille des particules exopolymériques transparentes (TEP), et l'export de carbone ont été suivis. Les résultats ont montré qu'un dépôt de poussières stimulait la formation abiotique des TEP, permettant la formation des agrégats organique-minéral et favorisant ainsi l'export de carbone. Sous des conditions de $p\text{CO}_2$ élevée, la formation des TEP était significativement ralentie suggérant un export de POC moins efficace sur de courtes échelles de temps (heures).

2.2. Article

The fate of the organic matter after a Saharan dust event with high $p\text{CO}_2$ seawater

Louis Justine, Gazeau Frédéric et Guieu Cécile

Cet article a été soumis à *Geophysical Research Letters*

The fate of organic matter after a Saharan dust event under high $p\text{CO}_2$ conditions

Louis J.^{1}, Pedrotti M.L.¹, Gazeau F.¹ and Guieu C.¹*

[1] Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, INSU-CNRS, Laboratoire d'Océanographie de Villefranche, 181 Chemin du Lazaret, 06230 Villefranche-sur-mer, France

*Corresponding author: justine.louis35@gmail.com

Abstract

Three experiments were performed under abiotic conditions in laboratory tanks filled with filtered seawater collected in the Mediterranean Sea, in spring at the start of the stratification period, in autumn after this stratification period and during the winter mixing period. For each experiment, one of the two tanks was acidified to reach pH conditions projected for the future. The objectives were to assess the dynamics of organic matter, after the simulation of a Saharan dust deposition event, through the measurement of transparent exopolymeric particles (TEP) abundance and size, and to evaluate the effects of ocean acidification on TEP formation and carbon export. Results showed that the simulated Saharan dust even initiated the abiotic formation of TEP, allowing the formation of sinking organic-mineral aggregates and favoring carbon export. Under high $p\text{CO}_2$ conditions, the formation of TEP was significantly slower suggesting a less efficient carbon export at the hour time scale.

1. Introduction

The existence of transparent exopolymer particles (TEP) was demonstrated by Alldredge et al. [1993] using a polysaccharides-specific staining technique applying alcian blue. TEP are gels composed of acid polysaccharides classified in terms of size between colloidal and particulate forms. TEP-precursors, colloidal and free fibril polymers, are produced by microorganisms, mainly by phytoplankton [Passow and Alldredge, 1994]. Through their chemical composition (rich in carbon and trace elements) and high stickiness, TEP affect the food web structure and the carbon cycle in the ocean. In addition to be a source of carbon for bacteria, TEP formation is also an abiotic pathway to convert dissolved organic carbon (DOC)

to particulate organic carbon (POC) *via* aggregation processes [Engel, 2004]. In the deep ocean, the evident correlation between fluxes of POC and minerals (e.g. clays, calcium carbonate, silica) led to the ballast hypothesis [Armstrong et al., 2002]. The accumulation of those so-called ‘mineral ballasts’ on organic aggregates was assumed to enhance the flux of POC by providing physical protection from degradation. An alternative explanation proposed by Passow [2004] is that the flux of POC controls the flux of the non-sinking mineral particles, due to the stickiness property of the organic material that allows the formation of large and fast-sinking particles. Since TEP are a matrix of organic aggregates [Passow, 2002], their formation would thus be an intermediary pool for carbon sequestration *via* sedimentation. As such, a shift in TEP formation and aggregation processes could lead to a negative or positive feedback on atmospheric CO_2 concentrations and therefore on climate. This would be particularly noticeable in highly sensitive environments such as the Mediterranean Sea. Indeed, this semi-enclosed sea surrounded by continents is subject to important atmospheric deposition and is under strong and increasing anthropogenic pressure [Mermex group, 2011]. In this present study, we simultaneously considered two natural and anthropogenic forcings on TEP dynamics: (1) Saharan dust inputs and (2) ocean acidification. Previous studies showed the enhancement of carbon export following a dust event in the Mediterranean western (MW) basin [Ternon et al., 2010; Bressac et al., 2014]. Involved mechanisms included the aggregation of Saharan dust and dissolved organic matter (DOM). The MW basin appears to be particularly impacted by ocean acidification [Touratier and Goyet, 2011] and changes in the binding capacity of organic matter and/or ballasting capacities as a response to a decrease in pH could thereby alter the efficiency of the biological pump in this region [see Passow and Carlson, 2012 for a review].

Here, we followed the dynamics of both dissolved and particulate organic matter after a simulated Saharan dust event under two partial pressure of CO_2 ($p\text{CO}_2$) conditions (present and future) by means of several experiments conducted in ‘minicosms’ (300 liters tanks with sediment traps). We report results of experiments conducted at 3 seasons characterized by contrasted initial trophic conditions and different DOM quantities and qualities. The objectives of these experiments, conducted under abiotic conditions (seawater fraction $< 0.2 \mu\text{m}$), were: (1) to investigate the interactions between the lithogenic particles and DOM through the formation of TEP; (2) to study the effect of ocean acidification on the efficiency of TEP production and finally on the export of POC.

2. Material and Methods

2.1. Experimental setup and sampling schedule

Two minicosms (HDPE tanks with a height of 1.09 m, a diameter of 0.68 m, a surface area of 0.36 m² and a volume of 0.31 m³, equipped with a sediment trap at their bottom) were installed inside a clean room at constant temperature. These minicosms were made of an opaque material, preventing photooxidation processes. A weak turbulence was generated by a PVC blade rotating at 9 rpm.

A total of three experiments were conducted: CHIPIE 1 (May 21th 2013) at the start of the stratification period, CHIPIE 2 (September 30th 2013) at the end of the stratification period and CHIPIE 3 (January 28th 2014) during the winter phytoplankton bloom. For each experiment, 2 minicosms were filled with seawater pumped at 5-m depth in the Bay of Villefranche (France) using a clean Teflon pump, and filtered on board onto 0.2 µm (Sartorius Sartobran-P-capsule cartridge). The protocol for sampling and filling the minicosms was identical as described in Bressac and Guieu [2013]. Additionally, a subset of sampled seawater was not filtered onboard and used for the measurements of initial *in situ* conditions regarding transparent exopolymeric particles (TEP) and heterotrophic prokaryotes abundance. Protocols are presented thereafter. Pigments data from samples weekly collected at the observation site “point B” in the Bay of Villefranche (43° 41,10 ' N - 7° 18.94 ' E; <http://oov.obs-vlfr.fr/fr/observations.html>) were used as biomarkers of several phytoplankton taxa.

One minicosm was referred to as “NA” (non-acidified). In the second one, referred to as “A” (acidified), pCO₂ was increased to 1,250 µatm, slightly above the value projected for 2100 following scenario RCP8.5 [IPCC, 2013] through addition of CO₂-saturated seawater previously filtered onto 0.2 µm. A Saharan dust event (flux = 10 g m⁻²) was then simulated at the surface of both minicosms. The methodology to obtain a dust analog was described in Guieu et al. [2010].

A depth-integrated polypropylene sampler (0-0.5 m) was used to perform discrete samplings for TEP, dissolved inorganic carbon (C_T), DOC, salinity and total alkalinity (A_T). Samples for A_T and DOC were filtered onto 0.2 polycarbonate filters (cleaned with HCl suprapure solution and rinsed with ultrapure water) and onto GF/F filters (dried at 400 °C during 4 h)

respectively, under a laminar flow bench. After filtration, samples for DOC were immediately frozen. Samples for A_T and C_T were poisoned with a saturated solution of mercuric chloride (HgCl₂) and kept in the dark at room temperature. Samples for the enumeration of TEP were fixed with 37% buffered formaldehyde (1% final concentration) and stored at 4 °C. To ensure that the experiments were performed under “quasi” abiotic conditions, a 2 mL aliquot of seawater used to fill the minicosms was sampled for the abundance of heterotrophic prokaryotes. These samples were fixed with 80 µL of glutaraldehyde, snap-frozen in liquid nitrogen and kept at -80 °C.

Before the simulation of dust deposition, “C1” refers to the sampling performed before the acidification step in both minicosms and “C2” refers to the sampling performed after the acidification step. After seeding, sampling of “NA” and “A” was performed simultaneously after 1.5, 12.5, 14, 24, 48, 72 and 144 h during CHIPIE 1. It was modified in CHIPIE 2 and 3: 1, 6, 12, 24, 48, 72, 96 and 144 h. At the end of each experiment, the particulate material that settled during the experiment was collected in the sediment traps.

2.2. Temperature, salinity and carbonate chemistry

pH_T (on the total scale) and temperature were continuously monitored using, respectively, Metrohm glass electrodes calibrated daily using a TRIS buffer solution (salinity 38), and thermometers (pt1000). Data were recorded every minute on a Consort D230 datalogger. Triplicate measurements of A_T were performed potentiometrically using a Metrohm titrator (Titrand 888) and a glass electrode (Metrohm, ecotrode plus) and A_T was calculated as described by Dickson et al. [2007]. C_T was determined on triplicate 1.2 mL subsamples using an inorganic carbon analyzer (AIRICA, Marianda, Kiel, Germany) coupled to an infrared gas analyzer (LI-COR 6262). Salinity was determined using an AUTOSAL salinometer. The carbonate chemistry was assessed using C_T , A_T , temperature and salinity using the R package seacarb [Lavigne et al., 2014].

2.3. Dissolved organic carbon and heterotrophic prokaryotes

Before analysis, DOC samples were unfrozen at room temperature, acidified with 18 µL of phosphoric acid (H₃PO₄), and analyzed by high-temperature catalytic combustion on a Shimadzu TOC-VCPH analyzer with an ASI-V auto-sampler. For the estimation of

heterotrophic prokaryote abundances, samples were stained with SYBR Green I, incubated for 10 min in the dark, and analyzed with the FACSCalibur flow cytometer according Marie et al. [1999].

2.4. Transparent exopolymeric particles

A microscopy method, based on Passow and Alldredge [1994] and modified by Pedrotti et al. [2010], was used for the enumeration of TEP. Briefly, after filtration under constant and low pressure, materials retained on filters (0.2 µm white Nuclepore) were stained with a solution of 0.06% acetic acid and 0.02% Alcian blue 8GX. Filters were mounted directly on a white slide (Cyto-Clear®) and observed by an Axiophot-Zeiss microscope. TEP were counted and sized by a semi-automatic image-analysis system (Image Pro Plus 4 software) at two successive magnifications (x200 and x400), and classified into 15 logarithmic size classes between 1 and 135 µm. TEP concentration ([TEP]) and volume ([TEP]_v) were given, respectively, in numbers of TEP mL⁻¹ (# mL⁻¹) and ppm. TEP number size distribution followed a power law [McCave, 1984]: $dN/d(dp) = k \times dp^\delta$ (dN was the number of particles per unit volume, with a diameter ranging dp to $[dp + d(dp)]$, and dp was the projected spherical encased diameter). The constant k depended on particle concentration and the spectral slope δ indicated the abundance of small to large particles. The TEP abundance belonging to a given size class was standardized by the width of this size class (# mL⁻¹ µm⁻¹). The normalized volume size distribution (ppm µm⁻¹) was obtained following the same procedure. The carbon content of TEP ([TEP-C], µg C L⁻¹) was estimated from TEP size-frequency distribution using the size dependent relationship proposed by Mari [1999].

2.5. Particulate organic carbon in sediment traps

The weigh percentage of total carbon (% TC) was measured with an Elementar Vario El analyzer on aliquots (15 mg) of desiccated sampled. A second aliquot (~ 20 mg) has undergone a HNO₃/HF acid digestion performed at 150 °C before analysis by ICP-OES. By considering that the particulate inorganic carbon (PIC) was mainly associated to CaCO₃, the measurement of calcium (% Ca) by ICP-OES allowed to calculate % PIC (% Ca x 12/40, with 12 and 40 corresponding to molar masses of carbon (C) and calcium (Ca), respectively). The weigh percentage of POC (% POC) was then determined by subtracting % PIC from % TC.

2.6. Statistical analyses

A Wilcoxon paired-sample test (non-parametric test) was performed to test for pCO₂ effects on DOC, carbon export and TEP. A significant effect of acidification was considered for a $p_{\text{value}} < 0.05$. Analyses were performed using the R software.

3. Results

3.1. Initial *in situ* conditions

	Heterotrophic prokaryotes cell mL ⁻¹			[Chla] µg L ⁻¹		[TEP] # mL ⁻¹			[DOC] µmol L ⁻¹		
	<i>In situ</i> “C1”			<i>In situ</i> “C1”		<i>In situ</i> “C1”			<i>In situ</i> “C1”		
	NA	A				NA	A		NA	A	
CHIPIE 1 (beginning stratification)	9.10 E+05	2.01 E+05	1.94 E+05	0.04 ^a	Not measured	2426	67	20	Not measured	98	Not measured
CHIPIE 2 (end of stratification)	6.53 E+05	3.73 E+04	4.37 E+04	0.15 ^{ab}	Not measured	1424	67	58	74	78	80
CHIPIE 3 (winter mixing)	8.51 E+05 ^a	2.51 E+05	2.49 E+05	0.97 ^a	Not measured	1260	129	240	66	58	54

Table 1 : Initial conditions (before filtration noted “*In situ*”, and after filtration noted “*C1*”) of heterotrophic prokaryotes abundance (measured by flow cytometry), chlorophyll a concentration [Chla], transparent exopolymeric particles concentration [TEP] and dissolved organic carbon concentration [DOC] for the three CHIPIE experiments. “NA” and “A” correspond to the minicosms non-acidified and acidified respectively. ^a: data from SOMLIT; ^b: [Chla] linearly interpolated between September 24th, 2013 ([Chla] = 0.12 µg L⁻¹) and October 8th, 2013 ([Chla] = 0.18 µg L⁻¹).

At the time of water collection, pigments (data not shown) indicated that plankton communities during CHIPIE 1 and 2 were mostly composed of small species (prymnesiophyceae and cyanobacteria). CHIPIE 3 was characterized by a higher abundance of dinoflagellates and diatoms (> 20 µm), in agreement with a higher autotrophic biomass during this winter-bloom ([Chla] = 0.97 µg L⁻¹; Table 1). *In situ* heterotrophic abundance (9.14 x 10⁵ cell mL⁻¹) and [TEP] (2426 # mL⁻¹) were maximal for CHIPIE 1. Comparison between *in situ* unfiltered and filtered seawater show that the 3 experiments were performed under quasi-abiotic conditions with a decrease of heterotrophic prokaryote abundance by 70-95% and a decrease of [TEP] by 85-98%. With samplings performed at 3 seasons, [DOC] was contrasted at the beginning of CHIPIE experiments with the lowest value during CHIPIE 3.

3.2. pH_T, alkalinity and temperature

Average seawater temperature ($\pm$ SD) was 20.3 ± 0.3 , 22.3 ± 0.3 and 19.4 ± 0.4 °C during CHIPIE 1, 2 and 3 respectively. pH_T in “NA” vs “A” were, on average ($\pm$ SD), 8.0 ± 0.1 vs 7.6 ± 0.1 (CHIPIE 1), 8.0 ± 0.0 vs 7.6 ± 0.1 (CHIPIE 2) and 8.1 ± 0.0 vs 7.7 ± 0.1 (CHIPIE 3). A_T remained constant in both “NA” and “A”, and averaged ($\pm$ SD) 2549 ± 4 , 2535 ± 13 and 2537 ± 6 $\mu\text{mol kg}^{-1}$ during CHIPIE 1, 2 and 3, respectively.

3.3. Dissolved organic carbon and carbon export

Along the course of the experiments, no significant effect of acidification on the dynamics of [DOC] was observed (Table 2) with [DOC] remaining rather constant during each experiment and averaging ($\pm$ SD): 96 ± 14 (CHIPIE 1), 90 ± 7 (CHIPIE 2) and 65 ± 5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (CHIPIE 3). The stock of POC exported (in mmol C) from sediments traps in “NA” vs “A” were of 1.2 vs 1.2 (CHIPIE 1), 2.7 vs 2.6 (CHIPIE 2) and 2.0 vs 2.5 (CHIPIE 3). Whatever the experiment, ocean acidification did not affect organic carbon export after 7 days.

	DOC		δ		TEP abundance		< 6 μm		[6-24 μm]		≥ 24 μm	
	n	p _{value}	n	p _{value}	n	p _{value}	n	p _{value}	n	p _{value}	n	p _{value}
CHIPIE 1	9	0.13	5	0.46	5	1	5	0.31	5	1	5	0.36
CHIPIE 2	8	1	8	0.11	8	0.25	8	0.008*	8	0.38	8	0.08
CHIPIE 3	8	0.84	8	0.55	8	0.08	8	0.11	8	0.64	8	0.40

Table 2 : Statistical results (p_{value}) of the Wilcoxon paired-sample test for several parameters: dissolved organic carbon (DOC), the slope δ of transparent exopolymeric particles (TEP) size distribution, the TEP abundance, and the contribution (as a %) of particles of different range size (< 6 μm , 6-24 μm and ≥ 24 μm). n = number of observations. Significant effects are marked with “” (p_{value} < 0.05).*

3.4. TEP abundance

In both minicosms at the sampling time “C2” (before seeding in both minicosms and after acidification in “A”), [TEP] remained low during CHIPIE 1, 2 and 3 (average value $\pm$ SD: 37 ± 39 , 35 ± 0 and 94 ± 18 # mL^{-1} , respectively) (Fig. 1). TEP abundance in “NA” ([TEP]_{NA}) was maximal after seeding: 14,449 (at T1.5), 10,364 (at T1) and 14,070 # mL^{-1} (at T1) during CHIPIE 1, 2 and 3, respectively. [TEP]_{NA} then decreased to reach 4,401 (CHIPIE 1) and 1,706 (CHIPIE 3) # mL^{-1} at T144. For CHIPIE 2, [TEP]_{NA} remained stable until T48 (9,159 # mL^{-1}), dropped at T72 and reached a minimum of 6,508 # mL^{-1} at T144. The maximum

[TEP]_{NA} corresponded to a carbon content ([TEP-C]_{NA}) of 462, 90 and 89 µg C L⁻¹ during CHIPIE 1, 2 and 3, respectively.

During CHIPIE 3, the TEP abundance in “A” ([TEP]_A) followed the same trend that [TEP]_{NA}. The maximum [TEP]_A was obtained 1 h after seeding (9,125 # mL⁻¹) and then decreased to reach 1,238 # mL⁻¹ at T144. During CHIPIE 1 and 2, the maximum [TEP]_A was observed later (14,000 # mL⁻¹ at T14, and 17,364 # mL⁻¹ at T12, respectively) and then decreased to 2,248 and 4,186 # mL⁻¹ at the end (T144) of CHIPIE 1 and 2, respectively. Maximal [TEP]_A corresponded to [TEP-C]_A of 30, 52 and 64 µg C L⁻¹ during CHIPIE 1, 2 and 3, respectively.

3.5. TEP size distribution

Just after the seeding, the spectral slope (δ) was, in both minicosms, -1.7 [CHIPIE 1 (T1.5)], -2.1 [CHIPIE 2 (T1)] and -2 [CHIPIE 3 (T1)]. The relative abundance of small particles increased during the three experiments independently of pCO₂ conditions (Table 2) to reach -3.3 (CHIPIE 1), -3.2 (CHIPIE 2) and -3.1 (CHIPIE 3) in “NA”, and -3.0 (CHIPIE 1), -3.2 (CHIPIE 2) and -2.8 (CHIPIE 3) in “A” (Figure 2).

Additionally, the volume size distribution of TEP allowed determining the evolution of the size range of particles contributing the most to TEP volume ([TEP]_v; Fig. 2). During CHIPIE 1, while [TEP]_v at T1.5 was formed of large particles (75% of particles with a diameter of 17-48 µm), at T144 it was composed at ~ 87% of small particles (2-8 µm) with no difference between “NA” and “A”. During CHIPIE 2, the range size of particles which contribute the most to [TEP]_v (70-80%) tended to decrease in “A” from 6-24, 4-12 and 2-8 µm at T1, T12 and T144, respectively. In “NA”, particles with a diameter of 8-48 µm, which contributed to ~ 80% of [TEP]_v during the first 10 h, only represented 32% at T144. For CHIPIE 3, in both “A” and “NA”, 70-90% of [TEP]_v was made up of particles with a diameter of 6-24 µm between T1 and T48. Then it was mostly composed of smaller particles (1.5-6 µm) at T144. Statistically, there were no significant differences between both minicosms during CHIPIE 1 and 3, while small particles (< 6 µm) were more numerous in “A” than in “NA” at the expense of large particles (≥ 24 µm) during CHIPIE 2 (*p*_{value} = 0.008; Table 2).

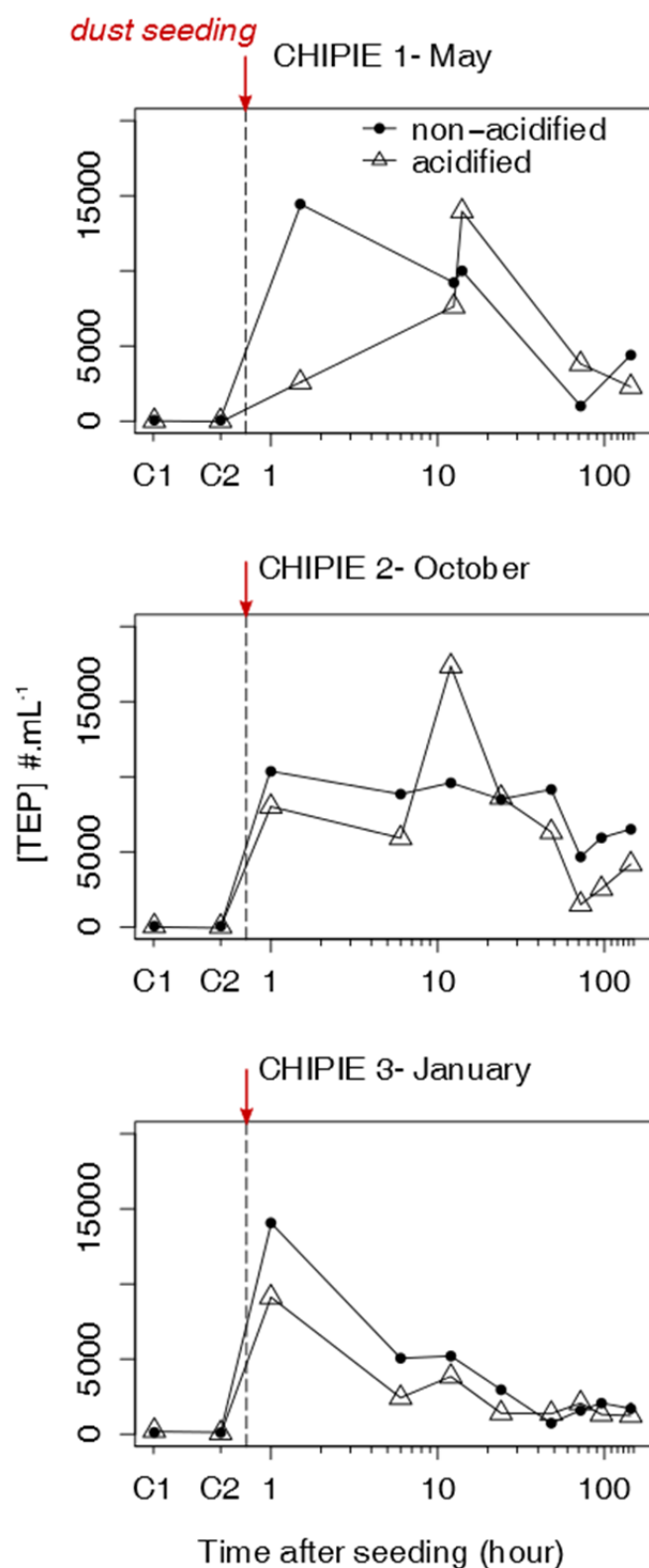


Figure 1: Abundance of transparent exopolymeric particles ([TEP] in # mL⁻¹) along the course of the three CHIPIE experiments in the two minicosms (non-acidified and acidified). "C1" and "C2" refer to samplings performed before and after acidification, respectively. The x-axis (in log-scale) represents the number of hours after the artificial dust deposition at the surface of both minicosms represented as a vertical dashed line.

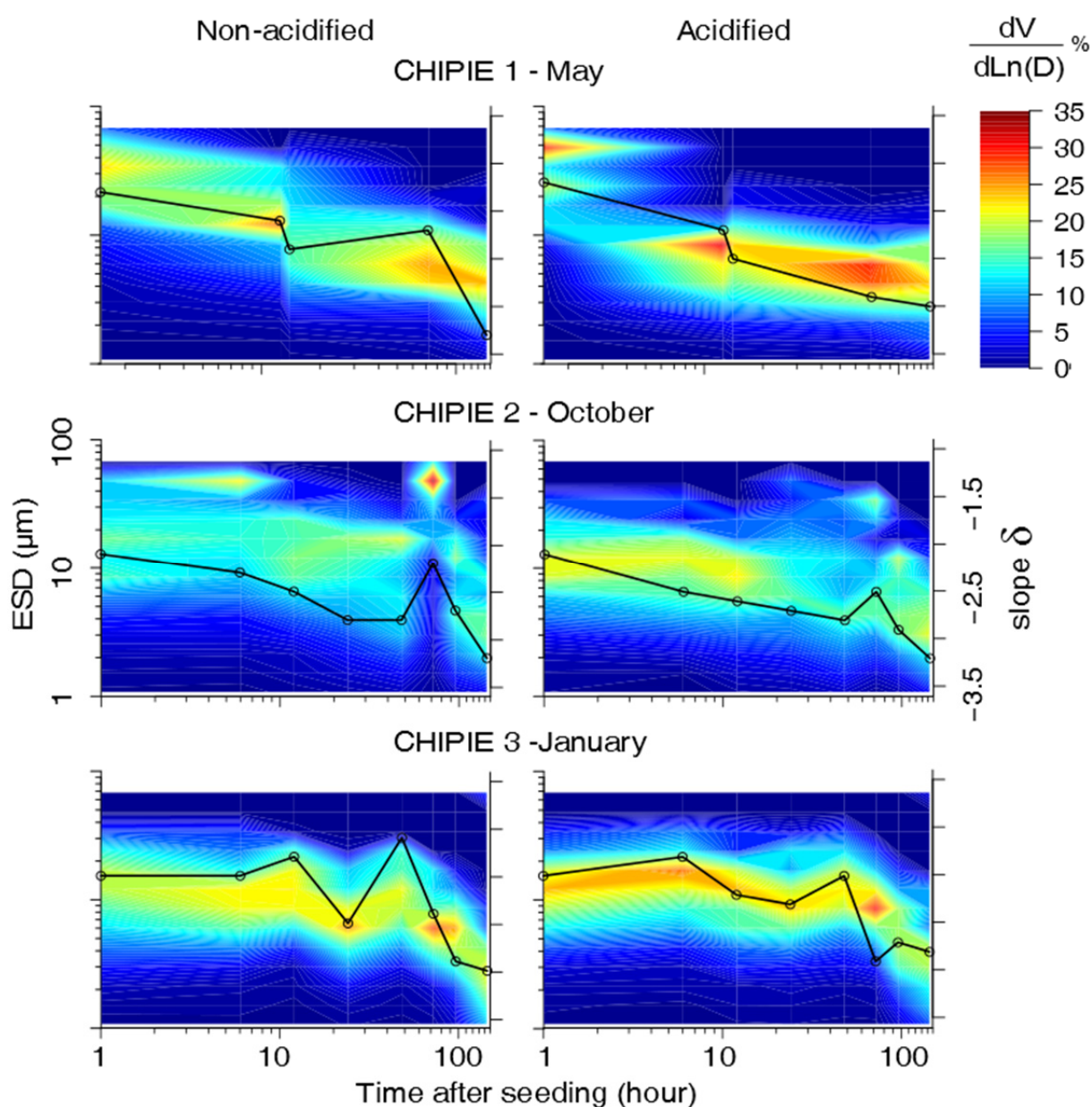


Figure 2: Evolution of the contribution of the particles size to the total TEP volume concentration (as in %) in percentage. The volume concentration at given size class of TEP (ppm) was standardized by the width of this size class ($\text{ppm } \mu\text{m}^{-1}$). The dark line corresponds to the evolution of the slope δ of the TEP size distribution. When δ decreases, the relative proportion (in number) of small particles increases. The x-axis, left y-axis and right y-axis represent respectively the number of hours after seeding, the equivalent spherical diameter (ESD in μm), and the slope δ . $dV/d\text{Ln}(D)$ represents the distribution of the TEP volume concentration, expressed as a percentage.

4. Discussion

TEP can be formed *via* either biotic or abiotic processes [Passow 2002]. For all experiments in the non-acidified minicosm, a large increase in [TEP] was observed ~ 1 h after seeding (Fig. 1). In this study, the filtration of seawater onto 0.2 µm removed TEP from the seawater, and thus the new TEP formed were from the precursors material present in the water. This abiotic formation [Chin et al., 1998; Passow, 2000] can be enhanced by bubble adsorption, surface coagulation, and turbulent and laminar shear [Bhaskar and Bhosle, 2005]. We assumed that the weak turbulence in our minicosms could not allow such a [TEP] increase considering their very low abundances before seeding. Since TEP formation could be enhanced by adsorption of TEP precursors onto particles [Kepley et al. 1994; Passow, 2002] and because there are strong interactions between polysaccharides and surface of mineral particles [Liu et al., 2000; Kovac et al., 2002], the increase in [TEP] observed during our experiments was most likely a consequence of dust addition. Our sampling strategy allowed evidencing a rapid formation (~ 1 h after seeding) of predominantly large TEP (Fig. 2). While [TEP] did not significantly differ between the three CHIPIE experiments, the contribution of larger particles ($\geq 24\mu\text{m}$) to TEP volume was higher during CHIPIE 1 (65%) compared to CHIPIE 2 (36%) and CHIPIE 3 (20%). This could be due to the seasonal differences in the quality/quantity of TEP-precursors initially present in the water [Passow, 2002]. Indeed, for CHIPIE 1 (start of the stratification period when [Chl a] concentration was very low), the high [TEP]*in situ* and [DOC] (Table 1) led to assume that TEP-precursors, exuded by phytoplankton under nutrient stress [Obernosterer and Herndl, 1995], were likely more sticky and abundant [Beauvais et al., 2003]. In addition, while the autotrophic biomass was the lowest at that season, the heterotrophic abundance (Table 1) could produce stickier DOM [Rochelle-Newall et al., 2010]. Such high sticking property and abundance of DOM could favor the process forming large TEP that was enhanced by adsorption onto dust particles.

With their sticky property, TEP can aggregate themselves and act as a glue with the particulate material. Bressac et al. [2014] showed, with a natural planktonic assemblage, that a significant fraction of the POC flux (36-50%) was associated with lithogenic particles *via* aggregation processes after a Saharan dust deposition event. In the quasi absence of biological processes (e.g. bacterial degradation) and photooxidation in the CHIPIE experiments, the decline in abundance or in size of TEP observed after reaching the maximal TEP production

(~ 1 h after seeding; Figs. 1 and 2) likely illustrated the settling of the formed aggregates. According to our experimental protocol, the export of POC in our experiments originated only from the conversion of DOC to POC mediated by TEP aggregation, this latter being faster produced by the introduction of dust (Fig. 3). The formation of POC represented a loss of 4, 11 and 10% of the initial DOC stock during CHIPIE 1, 2 and 3, respectively. Such small decreases in [DOC] fall within the analytical (triplicate measurements) and sampling (duplicates) errors (2 and 4-9% respectively), and are hard to evidence (section 4.3 and supplementary information). Considering a rapid settling of the organic-mineral aggregates [$24\text{-}86 \text{ m d}^{-1}$; Bressac et al., 2012], we assumed that POC export mainly occurred just after reaching the maximal [TEP] by the settling of large mineral particles coagulated with TEP, or by the ballasting mineral effect. Thereby, during CHIPIE 2 and 3, TEP-C formed ~ 1 h after seeding contributed largely to POC export ($\text{TEP-C}_{\text{stock}} \approx \text{POC}_{\text{stock}}$; Fig. 3). The lowest carbon export measured during CHIPIE 1 (Fig. 3) could be explained by the relative high proportion (volume) of TEP with respect to dust, retarding the sinking of aggregates [Azetsu-Scott and Passow, 2004] due to a higher coagulation of DOM onto dust (see above). The flux of POC over one week was of $\sim 38 \text{ mg m}^{-2}$ (CHIPIE 1), $\sim 89 \text{ mg m}^{-2}$ (CHIPIE 2) and $\sim 79 \text{ mg m}^{-2}$ (CHIPIE 3), which was in the same order of magnitude as the one obtained over 6 d after an artificial dust deposition (same analog and flux as here) in the framework of DUNE mesocosm experiments [31 mg m^{-2} ; Bressac et al., 2014].

The high resolution sampling protocol used in our experiments allowed highlighting the role of lithogenic particles on the dynamics of TEP formation which became the main carrier phase of POC. Although no significant effect of pH on TEP dynamics was observed over all experiments (Table 2), differences in the kinetics of TEP formation were highlighted between the acidified and non-acidified minicosms at the hour time scale. For all experiments, ~ 1 h after seeding, [TEP] was lower under high $p\text{CO}_2$ conditions, with a $[\text{TEP}]_{\text{A}}/[\text{TEP}]_{\text{NA}}$ ratio of 0.08 (CHIPIE 1), 0.77 (CHIPIE 2) and 0.65 (CHIPIE 3). Since the contribution of large particles ($\geq 24 \mu\text{m}$) to TEP volume in the acidified minicosm was in the same order of magnitude as in the non-acidified one, we suggest that the lower TEP abundance under high $p\text{CO}_2$ was not likely due to a higher aggregation of TEP. A time laps of 12 to 14 h was necessary before [TEP] reached a maximal value during CHIPIE 2 and 3 in the acidified minicosm (Figure 1). Thereby, acidification likely affected the efficiency (in number) of

“instantaneous” formation of TEP after dust addition, which could not have been observed with a first sampling at T24 (Fig. 1), e.g. as in the work of Passow [2012]. Molecular processes controlling abiotic TEP formation are not well understood, but it is known that the chemical and physical bonds (e.g. hydrogens bonds), involving the assembly of TEP-precursors are pH-dependent [Liu et al., 2000; Verdugo et al., 2004]. Our data suggest thus that acidification likely slows down the formation of TEP and leads to the higher production of smaller TEP in the acidified minicosm during CHIPIE 1 and 2 (Fig. 2). The different pattern of [TEP] during CHIPIE 3 was likely due to the nature of TEP-precursors (from diatom and dinoflagellate bloom). This means that the effect of acidification on TEP formation could vary with the quality of TEP-precursors, which depends on the trophic level of the ecosystem and the age of DOM (likely fresher during the winter-bloom).

In any case, a shift in the formation of TEP could thus impact the formation of organic-mineral aggregates and consequently the POC flux. While in the non-acidified minicosm, POC export was supported by “instantaneous” TEP formation, in the acidified minicosm, it resulted from the carbon content in TEP formed 1 h and 12-14 h after seeding during CHIPIE 1 and 2 (Fig. 3). If we exclude the ballasting mineral effect after T14, the POC export could result from the scavenging of submicron particles by TEP until saturation, leading the formation of sinking aggregates [Passow and De La Rocha, 2006; De La Rocha et al., 2008]. Finally over 6 d, for each CHIPIE experiment, POC export was the same regardless pCO₂ conditions (Fig. 3) with an average POC to dry weight ratio of $1.5 \pm 0.1\%$ for all experiments. Nevertheless, this potential slowing down of the carbon export induced by the acidification on short time scale was not evidenced by our sampling protocol as the settling material was measured at the end of the experiments.

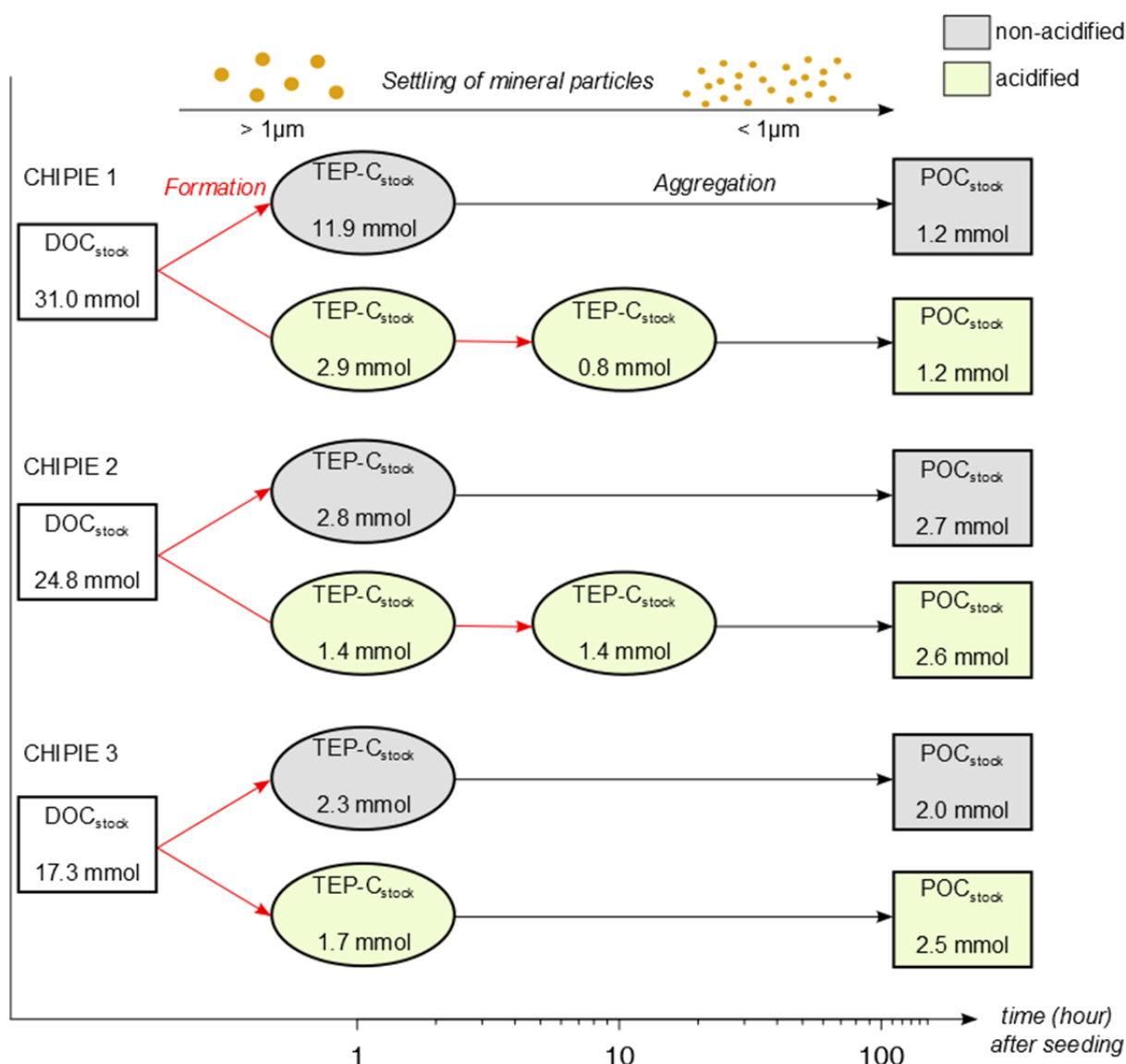


Figure 3: Estimation of the organic carbon stock (in mmol C) in both minicosms in the 3 pools: dissolved and particulate organic carbon (DOC_{stock} and POC_{stock}) and transparent expolymer particles (TEP-C_{stock}), while mineral particles were sinking. DOC_{stock}, TEP-C_{stock} and POC_{stock} have been estimated from the DOC concentration at the sampling "C1" (μmol L⁻¹), the carbon content in TEP at T1-1.5 and T12-14 (μg L⁻¹) and the mass of POC exported at the end of the experiments.

In conclusion, these minicosms experiments, with a fine sampling temporal resolution, showed that a Saharan dust event provoked the abiotic formation of TEP, allowing the formation of fast sinking organic-mineral aggregates and POC export. Given that Saharan events are sporadic and present a high inter-annual variability, performing experiments under different biogeochemical conditions was essential. Our data suggest that the efficiency of the "lithogenic carbon pump", as defined by Bressac et al. [2014], is likely driven by the physicochemical characteristics of TEP-precursors that depend on the composition and physiological state of the phytoplankton community. In order to better parameterize the

lithogenic pump, future investigations should focus on the reactivity of organic matter in relation to the metabolic rates of auto-heterotrophic communities and the carbon export.

With regard to the fate of this pump under high $p\text{CO}_2$ conditions, although a negative effect could be observed at the event timescale, its efficiency would not be perturbed by the pH decrease at the yearly scale. Nevertheless, in order to assess the response of the dust-initiated POC flux to ocean acidification under natural conditions, future experimental efforts should be undertaken under biotic conditions, taking into consideration plankton production and mineralization processes that could be impacted by the anthropogenic perturbation and alter the production and fate of TEP in seawater.

Acknowledgements

This work was funded by MISTRALS/MERMEX project and the CHIPIE-EMERGENCE-UPMC project. A grant provided by the University of Paris 6 supported J.L. The authors thank F. Chevalier-detour and A. Aymard for the assistance during the experiments. S. Marro, N. Leblond, and M.E. Kerros are acknowledged for their help in cytometry, CHN, TEP measurements. F. Louis is greatly acknowledged for his help in setting up the minicosms, in particular the turbulence system.

3. Conclusion

Le fonctionnement ...

Ces expériences abiotiques en minicosmes, avec une fine résolution temporelle d'échantillonnage, ont montré qu'un flux de POC important suivait un événement de poussières sahariennes. Les particules lithogéniques stimulaient la formation abiotique des TEP, engendrant la formation d'agrégats organique-minéral sédimentant rapidement. Etant donné que les événements sahariens sont sporadiques et présentent une forte variabilité interannuelle, la réalisation d'expériences sous différentes conditions biogéochimiques était essentielle. Nos données suggèrent que l'efficacité de la « pompe lithogénique » du carbone, comme défini par Bressac et al. (2014), est probablement contrôlée par les caractéristiques physico-chimiques des précurseurs des TEP, qui dépendent de la composition et l'état physiologique de la communauté planctonique. Dans le but de mieux paramétrer la pompe lithogénique, de futures recherches devraient se concentrer sur la réactivité de la matière organique en relation avec le métabolisme des communautés auto-hétérotrophes et l'export de carbone.

La Figure V.3 schématise le fonctionnement de la pompe lithogénique via la coagulation des TEP précurseurs à la surface des particules lithogéniques. Le flux de POC est ensuite contrôlé par la vitesse de sédimentation des agrégats organique-minéral. Afin de souligner le contrôle du statut trophique de l'écosystème sur le flux de POC associé aux poussières, les expériences CHIPIE 1 et 3 sont utilisées comme exemples. Suite à une forte coagulation des TEP précurseurs, exsudés par des petites espèces (picophytoplancton, bactérie) sur les particules lithogéniques, la vitesse de sédimentation des agrégats et par conséquent le flux POC a été ralenti par rapport à celui observé pendant le bloom hivernal

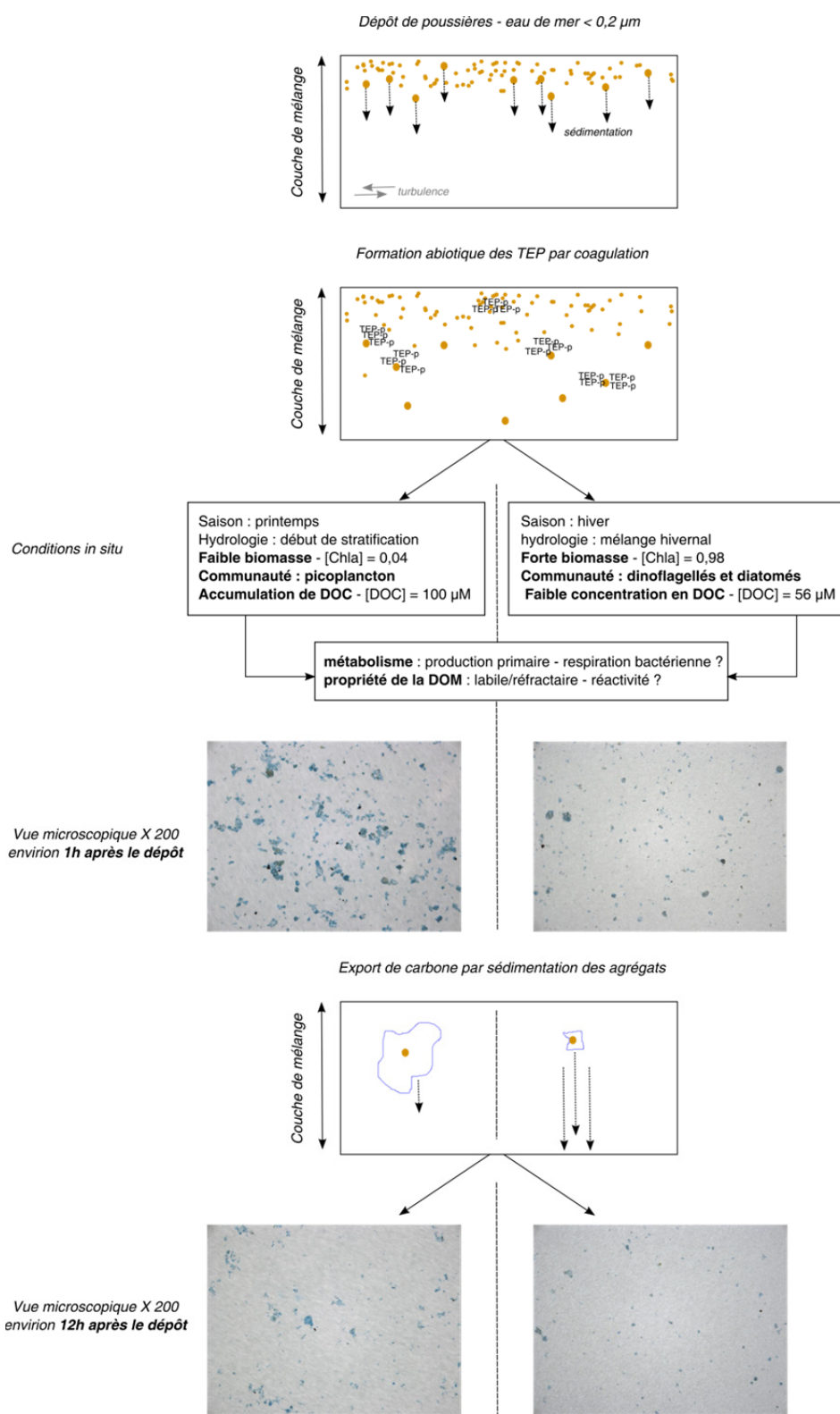


Figure V.3: Stimulation de la formation des TEP après un événement de poussières sahariennes. Exemples des expériences conduites en minicosmes (Louis et al. soumis) « *CHIPIE 1* » et « *CHIPIE 3* ».

Vient alors la question de la séquestration du carbone dans l'océan profond : selon des études précédentes, l'agrégation entre les particules minérales et la matière organique ralentirait la dégradation bactérienne du POC via une protection physique et chimique (*e.g.* Arnarson et Keil, 2004 ; Engel et al., 2009). En complément, la vitesse de sédimentation est également un facteur clef dans l'efficacité de l'export de carbone. Avec des agrégats sédimentant plus rapidement, la protection de la matière organique contre la dégradation bactérienne et l'ingestion par la communauté zooplanctonique, est supposée meilleure (Goutx et al., 2007). En prenant comme exemple les deux situations contrastées CHIPIE 1 et CHIPIE 3, la sédimentation des agrégats supposée plus rapide durant le bloom hivernal impliquerait une meilleure séquestration du carbone. Néanmoins la variation saisonnière de la composition chimique de la matière organique peut également contrôler le processus de reminéralisation. Afin d'évaluer l'importance de la pompe lithogénique sur la séquestration du carbone, il serait judicieux d'évaluer les taux de reminéralisation de ces agrégats formés abiotiquement en fonction de la nature de la DOM et de leur vitesse de chute.

... et le devenir de la pompe lithogénique du carbone.

Le second objectif de l'étude présentée dans ce chapitre, était d'évaluer l'effet de l'acidification sur l'export de POC à travers la formation des TEP. Bien qu'un effet négatif sur la formation des TEP soit observé à l'échelle du dépôt atmosphérique (= échelle de l'heure), en condition abiotique l'acidification n'affecterait finalement pas le flux de POC lithogénique sur l'échelle d'une semaine. En conditions naturelles, malgré le fait que l'agrégation de la matière organique avec les particules minérales permettrait de ralentir la dégradation bactérienne comme énoncé précédemment, une modification de l'activité bactérienne engendrée par l'acidification pourrait notamment avoir un effet sur la pompe lithogénique du carbone. Alors que l'acidification semblerait accélérer la dégradation des polysaccharides (composition des TEP) par l'activité enzymatique extracellulaire des bactéries (β -glucosidase) dans les eaux eutrophiques (Maas et al, 2013 ; Piontek et al., 2010, 2013), Celussi et al. (2015) souligne que le régime trophique joue un rôle fondamental sur l'effet de l'acidification sur l'activité enzymatique des prokaryotes à travers une variation des substrats organiques. Ainsi lors de l'expérience en mésocosmes conduites en baie de Calvi (projet MedSea, voir chapitre II-section 4.1), Celussi et al. (2015) ont montré qu'en conditions oligotrophes, l'acidification inhiberait la dégradation des polysaccharides. Dans

une telle situation, l'export du POC lithogénique serait donc amélioré, et pourrait entraîner une rétroaction négative sur le climat plus ou moins forte.

Conclusions générales et perspectives

1. Synthèse

Face aux pressions naturelles et anthropiques croissantes que subit le bassin méditerranéen à l'interface air-mer, un des objectifs de la communauté scientifique au cours de ce 21^{ème} siècle est d'évaluer la réponse de l'écosystème méditerranéen aux changements induits par l'évolution de ces forçages multiples. Cette thèse s'inscrit dans ce cadre général en se focalisant sur les aspects biogéochimiques. En considérant à la fois les effets de l'acidification de l'océan et les dépôts atmosphériques, j'ai tenté de répondre aux trois questions majeures énoncées dans l'introduction.

1.1. Quel impact l'acidification a-t-elle sur les cycles des éléments nutritifs en Méditerranée ?

Des expériences conduites en laboratoire utilisant différents modes opératoires (conditions abiotiques / milieux de culture / bouteilles d'incubation) ont permis notamment de montrer que l'acidification des océans pourrait améliorer la solubilité du fer et impacter le cycle marin de l'azote (*e.g.* Liu et Millero, 2002 ; Millero et al., 2009 ; Beman et al., 2011). Afin d'étudier l'impact de l'acidification de l'océan sur un écosystème en prenant en compte l'ensemble de la communauté planctonique dans des conditions se rapprochant de celles présentes dans le milieu naturel, une méthode alternative s'est développée au cours de cette dernière décennie : les expériences en larges mésocosmes. C'est cet outil qui a été utilisé dans le cadre du projet MedSea auquel j'ai participé pendant ma thèse. Les deux expériences menées sous des conditions estivales oligotrophes (MedSea I) et « post-bloom » (MedSea II) nous ont montré que la dynamique des nutriments, qu'ils soient sous forme inorganique (NO_x , PO_4^{3-} , DFe) ou organique (DON_{UV} , DOP_{UV}), n'était pas sensible à une augmentation de la $p\text{CO}_2$ (Louis et al., en révision). En parallèle, aucun effet significatif de l'acidification n'a été observé sur la production primaire (Maugendre et al., 2015), l'abondance des procaryotes hétérotrophes (Celussi et al., 2015) et la composition de la communauté phytoplanctonique (Gazeau et al., soumis-b). **Ainsi, dans une région dite LNLC, telle que la Méditerranée, l'effet de l'acidification de l'océan sur les cycles marins de N, P et Fe sera surement négligeable**

puisque un changement de spéciation de ces éléments, (qu'il soit physique ou chimique) ne sera pas observable.

L'utilisation de mésocosmes a également fait ses preuves dans des systèmes marins enrichis en nutriments (naturellement ou artificiellement) lors d'un développement phytoplanctonique dans le cadre des projets PeECE et EPOCA (Engel et al., 2005, 2008 ; Schulz et al., 2008, 2013). Les expériences réalisées dans le cadre de ces projets ont suggéré que la production/consommation des nutriments organiques n'était pas affectée par l'augmentation de la $p\text{CO}_2$. En revanche une augmentation de la concentration en DFe a été engendrée par l'acidification. Concernant l'effet de l'acidification sur l'absorption biologique des nitrates et phosphates, celui-ci a présenté des résultats contrastés. Alors que la dynamique des nitrates et phosphates n'était pas sensible à la $p\text{CO}_2$ dans un écosystème composé majoritairement de diatomées, coccolithophores et nanoflagellés, leur assimilation a été accélérée sous des niveaux de $p\text{CO}_2$ élevée lors d'un bloom de dinoflagellés et de haptophytes. Lors des deux expériences MedSea, la communauté phytoplanctonique était également dominée par des petites cellules (haptocytes, cyanobactéries, cryptophytes). Néanmoins, comme l'a souligné Gazeau et al. (soumis-b) **un changement significatif de la composition phytoplanctonique et donc de la dynamique des nutriments inorganiques induit par l'acidification, a été très certainement inhibé par les conditions limitantes en nutriments au cours de ces deux expériences.**

1.2. Quel impact l'acidification de l'océan a-t-elle sur les processus de dissolution et de scavenging des nutriments après un évènement saharien ?

A l'inverse des expériences de dissolution en bouteille ne prenant pas en compte la sédimentation des particules, la première étude en minicosme (Bressac et Guieu, 2013 ; Louis et al., 2015) nous a permis une meilleure compréhension des processus de dissolution et de scavenging des nutriments en lien avec par un dépôt de poussières sahariennes à la surface de l'eau de mer. **En complément de la dynamique verticale des particules, les échanges dissous/particulaire sont contrôlés par la nature de la matière organique dissoute pouvant s'agréger avec les particules lithogéniques. La haute fréquence de l'échantillonnage a permis d'observer ces échanges qui ont lieu sur une courte échelle de**

temps. La seconde étude dans le cadre de projet CHIPIE (Louis et al., en préparation) portait sur la réponse de ces processus face à un scénario d'acidification de l'océan. Alors que **la dissolution des éléments anthropiques adsorbés sur les poussières sahariennes, tels que l'azote inorganique (NO_x), ne sera pas affectée par l'acidification, celle des éléments d'origine crustale pourrait être accrue ou accélérée selon les agrégats organique-minéral formés.** La formation rapide en condition abiotique des TEP observée après chaque ensemencement artificiel a induit la formation de ces agrégats contrôlant à leur tour la dissolution et le scavenging de PO_4^{3-} et DFe. Plus les TEP formées sont larges ($\geq 24 \mu\text{m}$), plus la dissolution de PO_4^{3-} et DFe est inhibée quel que soit le niveau de pH de l'eau de mer. Cet effet est probablement lié à une immobilisation des sites de désorption. En revanche lorsque la nature des TEP-précurseurs conduit à la formation de TEP de taille moyenne ($6\text{-}24 \mu\text{m}$) après le dépôt de poussières, l'acidification aurait un effet sur le processus de dissolution de PO_4^{3-} et de DFe, puis sur le processus de ré-adsorption de PO_4^{3-} sur les particules lithogéniques. A l'heure actuelle, il est difficile de discriminer un effet direct du pH sur le processus de dissolution d'un effet indirect (via une modification des caractéristiques des agrégats formés). Néanmoins nous pouvons suggérer que, selon la nature des TEP-précurseurs, l'acidification de l'océan pourrait augmenter de 2 à 3 fois la quantité de fer relargué par les poussières dans la couche mélangée de surface, avec toutefois un pourcentage de dissolution restant relativement faible ($0,5 - 0,7 \%$ pour un flux de poussières de 10 g m^{-2}). Concernant la dissolution de PO_4^{3-} , elle s'effectuerait 2 à 3 fois plus rapidement sous des conditions de $p\text{CO}_2$ élevée. De plus, l'adsorption du PO_4^{3-} relargué via sa complexation avec les particules submicroniques riches en oxydes de fer s'avérerait ralenti par l'acidification, ce qui théoriquement aurait dû être l'inverse quand le pH diminue de ~ 8 à $7,4\text{-}7,6$ (Chitrakar et al., 2006). Cela pourrait être dû à une agrégation entre les TEP et les particules submicroniques qui serait favorisée dans des conditions de $p\text{CO}_2$ élevée empêchant ainsi la ré-adsorption du PO_4^{3-} (Louis et al., soumis).

Bien que nos connaissances sur la biodisponibilité des nutriments atmosphériques restent encore incertaines (notamment pour le fer), les changements induits par l'acidification de l'océan sur les processus de dissolution et de scavenging pourraient impacter la pompe biologique à l'échelle temporelle d'un événement (quelques heures à quelques jours).

1.3. Quel impact l'acidification de l'océan a-t-elle sur la pompe lithogénique du carbone ?

En complément du suivi des nutriments, ces mêmes expériences en minicosmes conduites dans le cadre du projet CHIPIE ont permis un suivi à haute résolution temporelle de la matière organique, et notamment des TEP (Louis et al., soumis) après un évènement saharien simulé. La stimulation de la formation abiotique des TEP via l'apport en particules lithogéniques à la surface de l'eau de mer, nous a permis de décrire le fonctionnement de la pompe lithogénique définie par Bressac et al. (2014). **Les TEP étant le socle du processus d'agrégation entre la matière organique et minérale, elles contrôlent à la fois la biodisponibilité des nutriments et le flux de POC. Malgré le fait que l'acidification ralentirait leur formation et le processus d'agrégation à l'échelle courte du dépôt atmosphérique, l'efficacité de la pompe lithogénique sur le flux de POC resterait insensible à l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ sur une échelle d'une semaine.** En conditions naturelles, des processus biotiques essentiels - tels que la reminéralisation bactérienne - devront être pris en compte, afin d'évaluer le devenir de ce flux de POC lithogénique en condition d'acidification de l'océan.

2. Conclusion

Les expériences MedSea conduites dans des eaux de surface co-limitée en N et P (Louis et al., en révision) ont montré que le métabolisme des organismes planctoniques était insensible à l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ (Maugendre et al., 2015). Bien que ces résultats soient basés sur des approches expérimentales courtes et non représentatives de la cinétique réelle de l'acidification de l'océan, nous supposons ainsi que l'acidification de l'océan n'impacterait pas significativement la production primaire et la respiration bactérienne dans les zones LNLC. L'hypothèse émise est que la limitation de la communauté planctonique par la disponibilité des nutriments inhiberait un effet potentiel de l'acidification. Logiquement, on peut alors se poser la question suivante : **pourrait-il y avoir un effet significatif de l'acidification sur la composition de la communauté et ses taux métaboliques, en lien avec un apport en nutriments, qu'il soit autochtone ou allochtone, dans les zones LNLC ?**

Prenons l'exemple d'un évènement de poussières sahariennes dans les eaux méditerranéennes en période oligotrophe :

Les dépôts sahariens, pour lesquels la Méditerranée est particulièrement sensible, permettent un apport de nutriments (NO_x , PO_4^{3-} , DFe) à la surface de l'eau de mer (*e.g.* Guieu et al., 1997 ; Markaki et al., 2010), stimulant ainsi la production primaire nouvelle et la respiration bactérienne à l'échelle du dépôt (*e.g.* Pulido-Villena et al., 2014 ; Ridame et al., 2014). Comme mentionné précédemment, dans des conditions de $p\text{CO}_2$ élevée, la biodisponibilité de l'azote atmosphérique serait toujours aussi importante. Selon l'intensité de l'agrégation entre la matière organique et les particules lithogéniques, l'acidification améliorerait potentiellement la biodisponibilité de PO_4^{3-} et DFe en dissolvant plus rapidement le fer atmosphérique, en augmentant la quantité de [DFe] relargué et le temps de résidence du phosphate atmosphérique.

- ❖ Quel impact l'augmentation de la concentration en fer dissous d'origine atmosphérique pourrait-elle avoir sur l'activité planctonique en période oligotrophe ?

Le fer qui joue un rôle clef dans le processus de photosynthèse et de respiration (Tortell et al., 1996 ; Morel et Price, 2003), est considéré comme un facteur limitant notamment dans les zones dites HNLC. Alors qu'une co-limitation en N/P est reconnue durant la période estivale dans le bassin ouest méditerranéen (Tanaka et al., 2011), la concentration en DFe a tendance à s'accumuler dans les eaux de surface (Bonnet et Guieu, 2006). Dans le cas de nos expériences CHIPIE, [DFe] était de 3.5-3.9 nM. Comme l'a souligné Wu et al. (2001), une forte concentration en DFe ne signifie pas systématiquement une forte biodisponibilité en fer, et peut « cacher » une potentielle limitation pour la communauté autotrophe (Bonnet et al., 2005). Comme souligné dans Louis et al. (en préparation), à l'heure actuelle la biodisponibilité du fer dans l'océan est encore mal connue et cela est encore plus vrai lorsqu'il s'agit de l'océan futur. Il en est de même pour le fer nouveau « fraîchement » relargué après un dépôt atmosphérique. Face à ces incertitudes, les réponses obtenues en conditions abiotiques ne permettent pas de dresser de réelles conclusions sur le devenir de la pompe biologique en Méditerranée en lien avec les apports de fer atmosphérique.

- ❖ Quel impact l'augmentation du temps de résidence du phosphate d'origine atmosphérique pourrait-elle avoir sur l'activité planctonique en période oligotrophe ?

Les échanges dissous/particulaire étant particulièrement rapides (quelques heures) après le dépôt, une compétition entre les espèces planctoniques a lieu pour cette nouvelle ressource nutritive dans un environnement limité. Avec une plus grande vitesse de croissance et un plus faible besoin en nutriment, les petites espèces telles que les bactéries hétérotrophes ou le picoplancton sont favorisées par rapport aux grosses cellules (type diatomées). D'un côté, en augmentant la disponibilité du PO_4^{3-} émis par les poussières dans les eaux de surface, on offre de meilleures conditions aux plus larges espèces dans le cas d'un changement de communauté planctonique induit par l'acidification. D'un autre côté, il a été montré que des niveaux élevés en $p\text{CO}_2$ favoriseraient les petites espèces autotrophes (*e.g.* Reinfelder et al., 2011), comme cela a été observé lors de l'étude en mésocosmes conduite à Svalbard dans le cadre du projet EPOCA (Schulz et al., 2013). Il est donc difficile de conclure sur un potentiel impact qui favoriserait plutôt les petites ou les plus grosses cellules, dans un assemblage naturel ou doit également être considérée la compétition avec les hétérotrophes.

❖ Finalement, quel impact un changement de communauté planctonique pourrait-il avoir sur le cycle du carbone ?

En se basant sur l'étude en mésocosmes conduite à Svalbard, l'addition artificielle de nitrate et phosphate ($[\text{NO}_3^-] = 5,5 \mu\text{M}$; $[\text{PO}_4^{3-}] = 0,4 \mu\text{M}$) dans des eaux initialement pauvres en nutriments, a montré que les niveaux élevés en $p\text{CO}_2$ favorisaient le développement du picophytoplancton (Schulz et al., 2013). Malgré l'effet positif de l'acidification sur la biomasse autotrophe, aucun effet significatif n'a été observé sur la production primaire (NCP- O_2 et NCP- ^{13}C) (de Kluijver et al., 2013 ; Tanaka et al., 2013). En parallèle, la respiration bactérienne est restée relativement constante au cours de l'expérience et insensible à l'augmentation de la $p\text{CO}_2$ (Montegi et al., 2013).

En faisant un parallèle entre l'addition artificielle en nutriments de cette étude à nos dépôts de poussières, il semblerait que l'acidification n'impacterait pas le métabolisme de la communauté planctonique pélagique. Toutefois cette comparaison ne permet pas de formuler des conclusions robustes, car (1) les sites étudiés sont très différents d'un point de vue des conditions physico-chimiques : par exemple, la température de l'eau de mer est variable selon les régions de l'océan mondial, et considérée comme un facteur majeur dans le fonctionnement d'un écosystème ; (2) l'enrichissement en nutriment par le dépôt de poussières est stoechiométriquement différent de celui utilisé dans les études avec addition

artificiel, impliquant probablement des réponses variables de la communauté planctonique : alors que l'addition artificielle en N et P dans l'étude à Svalbard s'est effectuée selon des rapports redfieldiens ($\text{NO}_x/\text{PO}_4^{3-} \approx 16$), le rapport $\text{NO}_x/\text{PO}_4^{3-}$ dans les dépôts atmosphériques est classiquement supérieur à celui du rapport de Redfield, avec des valeurs comprises entre 46-161 (Markaki et al., 2010) et pouvant même être supérieur à 1000 lors d'intenses émissions anthropiques (Sandroni et al., 2007).

En ce qui concerne la pompe lithogénique du carbone, son efficacité ne serait pas, à priori, affectée par l'acidification sur une échelle de temps supérieure à celle de la durée de l'évènement. Il est à noter que les évènements extrêmes reportés pour la Méditerranée (22 g m^{-2} , Ternon et al., 2010) sont en général très courts, impliquant un flux important de POC lithogénique s'exportant très rapidement dans l'océan actuel. Dans des conditions d'acidification de l'océan, l'exportation du POC lithogénique pourrait être ralenti à l'échelle de l'évènement saharien, et affecté alors la séquestration du carbone dans l'océan profond. Il est important de noter que malgré le processus abiotique qui régit cette pompe, elle dépend de la nature de la DOM présente au moment de l'apport atmosphérique. Cette DOM est une composante de la pompe biologique. Des changements dans la pompe biologique du carbone pourraient également affecter la pompe lithogénique du carbone.

3. Perspectives

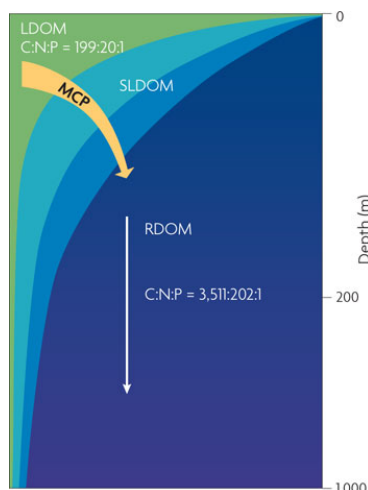
3.1. Vers une meilleure estimation de la biodisponibilité des nutriments atmosphériques

En particulier pour le fer, établir une meilleure caractérisation de la spéciation chimique du fer au niveau moléculaire sera un effort à faire lors de futures investigations, comme l'a souligné von der Heyden et Roychoudhuny (2015). Dans un premier temps, il serait judicieux de mesurer les taux d'échanges dissous-particulaires des nutriments lors de nouvelles expériences d'ensemencements artificielles, mais cette fois-ci dans un assemblage planctonique naturel.

3.2. Vers une meilleure compréhension du cycle de la matière organique

La matière organique dissoute, la boîte noire de l'océan

Actuellement de nombreuses interrogations persistent concernant l'ensemble des processus contrôlant le cycle de la matière organique dans l'océan, notamment à cause de la diversité des composés organiques dissous présents dans la colonne d'eau. La caractérisation du pool de la DOM reste encore un challenge dans la communauté scientifique malgré des avancées technologiques importantes (Mopper et al., 2007 ; Osterholz et al., 2014 ; Romano et al., 2014).



On distingue trois pools : la DOM labile, semi-labile et réfractaire. Plus les composés organiques sont réfractaires, plus le temps de recyclage est long (de l'heure à des milliers d'années) dû à leurs structures difficilement dégradables. La proportion de ces pools contrôlée par la pompe microbienne est illustrée dans la figure 1.

Figure 1: Proportion du pool réfractaire (RDOM), semi-labile (SLDOM) et labile (LDOM) de la matière organique en fonction de la profondeur dans l'océan, contrôlée par la pompe microbienne de carbone (MCP). D'après Jiao et al., 2010.

La matière organique dissoute n'est pas qu'une source de carbone pour l'activité microbienne, elle se compose également d'une large gamme de composés azotés et phosphorés (DON et DOP) pouvant jouer un rôle majeur dans l'activité planctonique selon leur biodisponibilité. Une méthode pour déterminer les concentrations en DON et DOP est l'oxydation humide (Pujo-Pay et Raimbault, 1994). Au cours de cette thèse, j'ai utilisé une technique d'oxydation alternative : la photo-oxydation. Considérant que l'efficacité d'oxydation sur les composés réfractaires est moindre (Krom et al., 2005), j'ai émis l'hypothèse que DON_{UV} et DOP_{UV} représentaient les fractions labiles/semi-labiles de l'azote et du phosphore organique dissous. Au cours des projets MedSea et CHIPIE, $[\text{DON}_{\text{UV}}]$ et $[\text{DOP}_{\text{UV}}]$ mesurées en surface (< 10 m) étaient du même ordre de grandeur que celles reportées dans la littérature malgré des méthodes d'oxydation différentes. En se basant sur notre hypothèse, cela suggère une large biodisponibilité du DON et DOP pour la communauté planctonique dans la couche de surface (en accord avec ce qui est reporté pour l'océan mondial pour lequel la fraction de DOM réfractaire en surface est faible ; Figure 1). **L'objectif à venir sera de valider la méthode de photo-oxydation comme outil pour déterminer les fractions labiles du DON et DOP.** Lors de la mission OUTPACE (Oligotrophy to ULtra-oligotrophy PACific Experiment ; <https://outpace.mio.univ-amu.fr/?lang=fr>) à laquelle j'ai pu participer, la détermination de DON et DOP s'est faite selon l'oxydation UV et l'oxydation humide. En collaboration avec le MIO, la première étape consistera à réaliser une inter-comparaison des profils verticaux de DON et DOP obtenus selon les deux méthodes.

La DOM est souvent séparée selon sa taille : les molécules à faible poids moléculaire (LMW^{19} ; $< 1\text{kDa}^{20}$) et les molécules à haut poids moléculaire (HMW^{21} ; $> 1\text{ kDa}$). Environ 50 % de la HMW-DOM est constitué de polysaccharides hautement réactifs, exsudés par les microorganismes marins (Benner et al., 1992). Via leur surface active, les polysaccharides sont les précurseurs des TEP, et leurs réactivités contrôlent la formation et les propriétés des TEP. Cette réactivité dépend notamment de l'état trophique du système (nature et statut physiologique des espèces ; Passow, 2002) et de l'âge de la DOM (Mari et al., 2007).

¹⁹ LMW : Low Molecular Weight

²⁰ kDa : kilodalton

²¹ HMW : High Molecular Weight

Au cours de la thèse, les expériences menées dans le cadre du projet CHIPIE ont montré que la formation abiotique des TEP stimulée par l'apport de poussières (certainement par un processus d'adsorption) était le moteur de la pompe lithogénique. Nous avons émis l'hypothèse que son efficacité à exporter du POC était liée au spectre de taille des TEP formées. Des différences de taille témoigneraient d'une variation du mécanisme de formation des TEP, variant selon la nature des précurseurs. Ainsi, dans le cas d'une répétition de ces expériences, il serait judicieux de réaliser des mesures de POC dans la colonne d'eau et des récoltes journalières de la matière exportée (pièges à particules) afin d'avoir un meilleur suivi de la pompe lithogénique. Deuxièmement, le lien entre la nature, l'origine, et la réactivité des précurseurs des TEP reste encore incertain et doit faire l'objet de nouvelles investigations. Pour illustrer ce besoin, prenons l'exemple d'un écosystème domine par l'hétérotrophie : alors que la dégradation bactérienne de la DOM conduirait à la formation de DOM réfractaire et donc logiquement peu réactive, Rochelle-Newall et al. (2010) suggèrent le contraire avec une exsudation de DOM réactive par les bactéries hétérotrophes. Ainsi une caractérisation des groupes chimiques fonctionnels de la DOM liée à l'activité bactérienne permettrait d'avoir de meilleures connaissances sur le réactif de cette DOM que l'on considère comme réfractaire.

Comme souligné précédemment, « en conditions naturelles, des processus biotiques essentiels - tels que la reminéralisation bactérienne - devront être pris en compte, afin d'évaluer le devenir de ce flux de POC lithogénique en condition d'acidification de l'océan. ».

Au préalable, les taux de reminéralisation de la matière organique agrégée avec les particules lithogéniques, devront être déterminés selon la vitesse de sédimentation des agrégats et la nature des précurseurs. Comprendre et mieux paramétriser le processus de reminéralisation en fonction de différents facteurs serait une première étape pour prédire son évolution dans l'océan futur.

Le défi d'aujourd'hui est d'utiliser les meilleures approches pour évaluer le devenir du cycle du carbone face au changement climatique. C'est justement le sujet de discussion de la prochaine section.

3.3. Etudier la réponse de l'écosystème face au changement climatique : quelle méthode à utiliser ?

Prédire le devenir de l'écosystème marin dans le climat du futur se révèle complexe du fait de la diversité des processus mis en jeux. Ainsi un vrai défi méthodologique doit être lancé. Cette section n'apportera aucune réponse à la question, mais simplement une réflexion sur les stratégies à employer. Dans ce manuscrit j'ai voulu mettre en lumière deux aspects :

- (1) **imiter au mieux les conditions naturelles lors d'expériences,**
- (2) **favoriser les études multi-forçages.**

L'utilisation de mésocosmes déployés en mer est un bon outil pour étudier aux mieux les processus pélagiques, tout en stimulant certain forçage (exemple : l'acidification dans le cas de MedSea, le dépôt atmosphérique dans le cas de DUNE). Néanmoins, cet outil pourrait présenter certaines limites. Premièrement, la durée des expériences est souvent limitée et ne permet pas de prendre en compte l'adaptation de l'écosystème face aux changements environnementaux. Deuxièmement, le changement climatique engendre des modifications d'un grand nombre de facteurs environnementaux (UV, température, pH, aérosol ...) et des « études multi-stresseurs » en mésocosme deviendraient trop lourdes en termes de logistique. Finalement, mieux paramétriser les processus qui régissent un écosystème marin donné afin d'avoir un modèle biogéochimique robuste, ne serait-il pas la clef pour prédire au mieux son évolution ?

Concernant les processus abiotiques, étudier leurs réponses à des modifications de plusieurs facteurs environnementaux via l'utilisation de minicosme serait totalement réalisable. Etant donné la robustesse temporelle de leurs réponses, elles pourront être prises en compte dans de nouveaux modèles.

Dans le cas des expériences CHIPIE, nos résultats sur le fonctionnement des processus post-dépôts des nutriments atmosphériques et leur réponse à la modification d'un facteur environnemental (ici, le pH de l'eau de mer), pourraient être considérés par la suite dans un modèle biogéochimique. Par exemple, la prise en compte de nos taux de dissolution plus forts juste après l'ensemencement sous $p\text{CO}_2$ élevée permettant de faire rentrer plus de fer dissous et de phosphate dans le système, pourrait être testé sur différentes échelles de temps.

Ce couplage expérimentation fine/modélisation est au cœur du projet PEACETIME « Process studies at the air-sea interface after dust deposition in the Mediterranean Sea » porté par le LOV et le LISA. Grâce au couplage d'approches *in situ* et expérimentales à bord, les processus clefs à l'interface air-mer seront mieux paramétrisés afin d'être pris en compte dans un modèle biogéochimique. En particulier, le type d'expériences que j'ai mené dans le cadre du projet CHIPIE sera adapté pour étudier à bord un ensemble de processus biogéochimiques sous l'effet de plusieurs conditions environnementales (réchauffement et acidification de l'océan).

BIBLIOGRAPHIE

- Achterberg, Eric P. 2014. « Grand challenges in marine biogeochemistry. » *Frontiers in Marine Science* 1. doi:10.3389/fmars.2014.00007.
- Adornato, Lori R., Eric A. Kaltenbacher, Danielle R. Greenhow, et Robert H. Byrne. 2007. « High-resolution in situ analysis of nitrate and phosphate in the oligotrophic ocean. » *Environmental science & technology* 41, n° 11: 4045-52.
- Aït-Ameur, N., et C. Goyet. 2006. « Distribution and transport of natural and anthropogenic CO₂ in the Gulf of Cádiz ». *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, The Gulf of Cadiz Oceanography: A Multidisciplinary View The Gulf of Cadiz Oceanography: A Multidisciplinary View, 53 (11-13): 1329-43. doi:10.1016/j.dsr2.2006.04.003.
- Allredge, A. L., U. Passow, et B. E. Logan. 1993. « The abundance and significance of a class of large, transparent organic particles in the ocean ». *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 40, n° 6: 1131-40. Al-Moosawi, L., Rees, A.P., Clark, D.R., Gazeau, F., Guieu, C., Louis, J., Vincent, A., in prep, this issue. « The impact of ocean acidification on the pelagic nitrogen cycle in the western Mediterranean Sea ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- Alongi, D.m., K.g. Boto, et A.i. Robertson. 1992. « Nitrogen and Phosphorus Cycles. » In *Tropical Mangrove Ecosystems*, édité par A. I. Robertson et D. M. Alongi, 251-92. American Geophysical Union.
- Aminot, A., et R. Kérouel. 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 (12): 1975-99. doi:10.1016/j.dsr.2004.07.016.
- Armstrong, F. a. J., et S. Tibbitts. 1968. « Photochemical combustion of organic matter in sea water, for nitrogen, phosphorus and carbon determination ». *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 48 (01): 143-52. doi:10.1017/S0025315400032483.
- Armstrong, R. A., C. Lee, J. I. Hedges, S. Honjo, et S. G. Wakeham. 2001. « A new, mechanistic model for organic carbon fluxes in the ocean based on the quantitative association of POC with ballast minerals ». *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, The US JGOFS Synthesis and Modeling Project: Phase 1, 49, n° 1-3: 219-36. doi:10.1016/S0967-0645(01)00101-1.
- Arnarson, Thorarinn S., et Richard G. Keil. 2005. « Influence of organic-mineral aggregates on microbial degradation of the dinoflagellate *Scrippsiella trochoidea*. » *Geochimica et Cosmochimica Acta* 69, n° 8: 2111-17. doi:10.1016/j.gca.2004.11.004.
- Aymoz, G., J.-L. Jaffrezo, V. Jacob, A. Colomb, et Ch George. 2004. « Evolution of organic and inorganic components of aerosol during a Saharan dust episode observed in the French Alps. » *Atmospheric Chemistry and Physics* 4, n° 11/12: 2499-2512.
- Azetsu-Scott, K., et U. Passow. 2004. « Ascending Marine Particles: Significance of Transparent Exopolymer Particles (TEP) in the Upper Ocean ». *Limnology and Oceanography* 49, n° 3: 741-48. doi:10.4319/lo.2004.49.3.0741.

- Baker, A. R., et P. L. Croot. 2010. « Atmospheric and marine controls on aerosol iron solubility in seawater. » *Marine Chemistry*, Aerosol chemistry and impacts on the ocean, 120, n° 1-4: 4-13. doi:10.1016/j.marchem.2008.09.003.
- Barker, S., J. A. Higgins, et H. Elderfield. 2003. « The Future of the Carbon Cycle: Review, Calcification Response, Ballast and Feedback on Atmospheric CO₂. » *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 361, n° 1810: 1977-99. doi:10.1098/rsta.2003.1238.
- Beauvais, S., M. L. Pedrotti, E. Villa, et R. Lemée. 2003. « Transparent exopolymer particle (TEP) dynamics in relation to trophic and hydrological conditions in the NW Mediterranean Sea ». *Marine Ecology Progress Series* 262: 97-109.
- Bégovic, M., et C. Copin-Montégut. 2002. « Processes controlling annual variations in the partial pressure of CO₂ in surface waters of the central northwestern Mediterranean Sea (Dyamed site). » *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 49, n° 11: 2031-47.
- Bellerby, R. G. J., K. Schulz, U. Riebesell, C. Neill, G. Nondal, T. Johannessen, et K. R. Brown. 2008. « Marine ecosystem community carbon and nutrient uptake stoichiometry under varying ocean acidification during the PeECE III experiment ». *Biogeosciences (BG)* 5 (6): 1517-27.
- Beman, J. M., C.-E. Chow, A. L. King, Y. Feng, J. A. Fuhrman, A. Andersson, N. R. Bates, B. N. Popp, et D. A. Hutchins. 2011. « Global Declines in Oceanic Nitrification Rates as a Consequence of Ocean Acidification ». *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108 (1): 208-13. doi:10.1073/pnas.1011053108.
- Benitez-Nelson, C., and K. Buesseler. 1997. « Variability of inorganic and organic phosphorus turnover rates in the coastal ocean ». *J Org Chem* 62: 2619-21.
- Benitez-Nelson, Claudia R. 2000. « The biogeochemical cycling of phosphorus in marine systems. » *Earth-Science Reviews* 51, n° 1 (2000): 109-35.
- Benner, R., J. D. Pakulski, M. McCarthy, J. I. Hedges, et P. G. Hatcher. 1992. « Bulk chemical characteristics of dissolved organic matter in the ocean. » *Science* 255, n° 5051: 1561-64.
- Benner, Ronald, et Bopaiah Biddanda. 1998 « Photochemical Transformations of Surface and Deep Marine Dissolved Organic Matter: Effects on Bacterial Growth. » *Limnology and Oceanography* 43, n° 6: 1373-78. doi:10.4319/lo.1998.43.6.1373.
- Bergametti, G., E. Remoudaki, R. Losno, E. Steiner, B. Chatenet, et P. Buat-Menard. 1992. « Source, transport and deposition of atmospheric phosphorus over the northwestern Mediterranean. » *Journal of Atmospheric Chemistry* 14, n° 1: 501-13.
- Bethoux, J. P., P. Morin, C. Madec, et B. Gentili. 1992. « Phosphorus and nitrogen behaviour in the Mediterranean Sea. » *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 39, n° 9: 1641-54. doi:10.1016/0198-0149(92)90053-V.
- Bhaskar, P. V., et N. B. Bhosle. 2005. « Microbial extracellular polymeric substances in marine biogeochemical processes ». *Current Science* 88 (1): 45-53.

- Bigg, Grant R. 2003. The oceans and climate. *Cambridge University Press*.
- Blain, S., B. Quéguiner, L. Armand, S. Belviso, B. Bombled, L. Bopp, A. Bowie, C. Brunet, C. Brussaard, et F. Carlotti. 2007. « Effect of natural iron fertilization on carbon sequestration in the Southern Ocean ». *Nature* 446, n° 7139 : 1070-74.
- Bonnet, S., C. Guieu, J. Chiaverini, J. Ras, et A. Stock. 2005. « Effect of atmospheric nutrients on the autotrophic communities in a low nutrient, low chlorophyll system. » *Limnology and Oceanography* 50, n° 6: 1810-19.
- Bonnet, S., et C. Guieu. 2004. « Dissolution of Atmospheric Iron in Seawater. » *Geophysical Research Letters* 31, n° 3: L03303. doi:10.1029/2003GL018423.
- Bonnet, S., et C. Guieu. 2006. « Atmospheric Forcing on the Annual Iron Cycle in the Western Mediterranean Sea: A 1-Year Survey ». *Journal of Geophysical Research* 111 (C9). doi:10.1029/2005JC003213.
- Bonnet, S., I.C. Biegala, P. Dutrieux, L.O. Slemons, et D.G. Capone. 2009. « Nitrogen fixation in the western equatorial Pacific: Rates, diazotrophic cyanobacterial size class distribution, and biogeochemical significance ». *Global Biogeochemical Cycles*, Vol. 23, GB3012, doi:10.1029/2008GB003439.
- Bonnet, S., Rodier, M. Turk-Kubo, K. Germaineaud, C. Menkes, C. Ganachaud, A. Cravatte, S. Raimbault, P. Campbell, E. Quérroué, F. Sarthou, G. Desnues, A. Maes, C. Eldin, G. 2015. « Contrasted geographical distribution of N₂ fixation rates and nifH phylotypes in the Coral and Solomon Seas (South-Western Pacific) during austral winter conditions ». *Global biogeochemical cycles*, 29, 1874-1892, doi:[10.1002/2015GB005117](https://doi.org/10.1002/2015GB005117).
- Bosc, E., A. Bricaud, et D. Antoine. 2004. « Seasonal and Interannual Variability in Algal Biomass and Primary Production in the Mediterranean Sea, as Derived from 4 Years of SeaWiFS Observations: MEDITERRANEAN SEA BIOMASS AND PRODUCTION. » *Global Biogeochemical Cycles* 18, n° 1: doi:10.1029/2003GB002034.
- Boyd, P. W., A. J. Watson, C. S. Law, E. R. Abraham, T. Trull, R. Murdoch, D. CE Bakker, et al. 2000. « A mesoscale phytoplankton bloom in the polar Southern Ocean stimulated by iron fertilization. » *Nature* 407, n° 6805: 695-702.
- Boyd, P. W., T. Jickells, C. S. Law, S. Blain, E. A. Boyle, K. O. Buesseler, K. H. Coale, et al. 2007. « Mesoscale Iron Enrichment Experiments 1993-2005: Synthesis and Future Directions ». *Science* 315, n° 5812 : 612-17. doi:10.1126/science.1131669.
- Boyd, P. W., E. Ibanmi, S. G. Sander, K. A. Hunter, et G. A. Jackson. 2010. « Remineralization of Upper Ocean Particles: Implications for Iron Biogeochemistry. » *Limnology and Oceanography* 55, n° 3: 1271-88. doi:10.4319/lo.2010.55.3.1271.
- Boyd, P. W., et M. J. Ellwood. 2010. « The Biogeochemical Cycle of Iron in the Ocean. » *Nature Geoscience* 3, n° 10: 675-82. doi:10.1038/ngeo964.
- Boyd, Philip W. « Ocean Fertilization for Sequestration of Carbon Dioxide from the Atmosphere ». In *Geoengineering Responses to Climate Change*, 53-72. Springer, 2013.

- Breitbarth, E., E. P. Achterberg, M. V. Ardelan, A. R. Baker, E. Bucciarelli, F. Chever, and C. Hassler. 2010a. « Iron biogeochemistry across marine systems—progress from the past decade ». *Biogeosciences* 7(3), 1075-1097.
- Breitbarth, E., R. J. Bellerby, C. C. Neill, M. V. Ardelan, M. Meyerhöfer, E. Zöllner, P. Croot, and U. Riebesell. 2010b. « Ocean acidification affects iron speciation during a coastal seawater mesocosm experiment ». *Biogeosciences (BG)* 7 (3): 1065-73.
- Bressac, M., C. Guieu, D. Doxaran, F. Bourrin, G. Obolensky, et J.-M. Grisoni. 2012. « A Mesocosm Experiment Coupled with Optical Measurements to Assess the Fate and Sinking of Atmospheric Particles in Clear Oligotrophic Waters. » *Geo-Marine Letters* 32, n° 2: 153-64. doi:10.1007/s00367-011-0269-4.
- Bressac, M., et C. Guieu. 2013. « Post-Depositional Processes: What Really Happens to New Atmospheric Iron in the Ocean's Surface? ». *Global Biogeochemical Cycles* 27 (3): 859-70. doi:10.1002/gbc.20076.
- Bronk, D. A., J. H. See, P. Bradley, et L. Killberg. 2007. « DON as a source of bioavailable nitrogen for phytoplankton ». *Biogeosciences* 4 (3): 283-96.
- Bruland, K. W., R. P. Franks, G. A. Knauer, et J. H. Martin. 1979. « Sampling and analytical methods for the determination of copper, cadmium, zinc, and nickel at the nanogram per liter level in sea water ». *Analytica Chimica Acta* 105: 233-45.
- Brussaard, C. P. D., G. J. Gast, F. C. Van Duyl, R. Riegman, et al. 1996. « Impact of phytoplankton bloom magnitude on a pelagic microbial food web ». *Marine ecology progress series. Oldendorf* 14 (1): 211-21.
- Capblancq, J. 1990. « Nutrient dynamics and pelagic food web interactions in oligotrophic and eutrophic environments: an overview. » *Hydrobiologia* 207, n° 1: 1-14.
- Capone, D. G., J. A. Burns, J. P. Montoya, A. F. Mickaels, A. Subramaniam, et E. J. Carpenter. 2005. « New nitrogen input to the tropical North Atlantic Ocean by nitrogen fixation by the cyanobacterium, *Trichodesmium* spp ». *Global Biogeochemical Cycles* 19: 1-17 doi:10.1029/2004GB002331
- Capone, Douglas G., D. A. Bronk, M. R. Mulholland, et E. J. Carpenter. 2008. « Nitrogen in the Marine Environment ». *Academic Press*.
- Celussi, M., W. Dellisanti, P. Del Negro, A. Franzo, F. Gazeau, A. Giannakourou, A. Konstantinopoulou, P. Pitta, A. Tsiola. 2015. « Ocean acidification effect on microbial metabolism in two different locations in the Mediterranean Sea ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- Chen, G., D. Yuan, Y. Huang, M. Zhang, et M. Bergman. 2008. « In-Field Determination of Nanomolar Nitrite in Seawater Using a Sequential Injection Technique Combined with Solid Phase Enrichment and Colorimetric Detection. » *Analytica Chimica Acta* 620, n° 1-2: 82-88. doi:10.1016/j.aca.2008.05.019.
- Chin, W.-C., M. V. Orellana, et P. Verdugo. 1998. « Spontaneous Assembly of Marine Dissolved Organic Matter into Polymer Gels ». *Nature* 391 (6667): 568-72. doi:10.1038/35345.

- Chitrakar, R., S. Tezuka, A. Sonoda, K. Sakane, K. Ooi, et T. Hirotsu. 2006. « Phosphate Adsorption on Synthetic Goethite and Akaganeite. » *Journal of Colloid and Interface Science* 298, n° 2: 602-8. doi:10.1016/j.jcis.2005.12.054.
- Ciais P, C. Sabine, G. Bala, L. Bopp, V. Brovkin, J. Canadell, A. Chhabra, R. DeFries, J. Galloway, M. Heimann, C. Jones, C. Le Quéré, R. B. Myneni, S. Piao, P. Thornton. 2013. « Carbon and Other Biogeochemical Cycles. » In: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker TF, Qin D, Plattner G-K, Tignor M, Allen SK, Boschung J, Nauels A, Xia Y, Bex V, Midgley PM (eds)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- CIESM, 2008. « Biogeochemical impacts of ocean acidification- emphasis on carbonate production and dissolution ». In *CIESM Workshop Monographs*. CIESM, Monaco. http://ciesm.org/online/monographs/36/WM_36_51_54.pdf.
- Coale, K. H., K. S. Johnson, S. E. Fitzwater, R. M. Gordon, S. Tanner, F. P. Chavez, L. Ferioli, et al. 1996. « A Massive Phytoplankton Bloom Induced by an Ecosystem-Scale Iron Fertilization Experiment in the Equatorial Pacific Ocean. » *Nature* 383, n° 6600: 495-501. doi:10.1038/383495a0.
- Collins, M., R. Knutti, J. Arblaster, J.-L. Dufresne, T. Fichefet, P. Friedlingstein, X. Gao, W.J. Gutowski, T. Johns, G. Krinner, M. Shongwe, C. Tebaldi, A.J. Weaver et M. Wehner. 2013. « Long-term Climate Change: Projections, Commitments and Irreversibility. » In: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Cooper, D. J., A. J. Watson, et P. D. Nightingale. 1996. « Large Decrease in Ocean-Surface CO₂ Fugacity in Response to in Situ Iron Fertilization. » *Nature* 383, n° 6600: 511-13. doi:10.1038/383511a0.
- Copin-Montégut, G., et B. Avril. 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 (10): 1963-72. doi:10.1016/0967-0637(93)90041-Z.
- Coste, B., P. Le Corre, et H. J. Minas. 1988. « Re-evaluation of the nutrient exchanges in the strait of gibraltar ». *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 35 (5): 767-75. doi:10.1016/0198-0149(88)90029-5.
- D'Ortenzio, F., D. Antoine, et S. Marullo. 2008. « Satellite-driven modeling of the upper ocean mixed layer and air-sea CO₂ flux in the Mediterranean Sea ». *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 55 (4): 405-34. doi:10.1016/j.dsr.2007.12.008.

- de Baar, Hein J. W., P. W. Boyd, K. H. Coale, M. R. Landry, A. Tsuda, P. Assmy, D. C.E. Bakker, et al. 2005. « Synthesis of Iron Fertilization Experiments: From the Iron Age in the Age of Enlightenment. » *Journal of Geophysical Research: Oceans* 110, n° C9: C09S16. doi:10.1029/2004JC002601.
- de Baar, H., L. Gerringa, P. Laan, et K. Timmermans. 2008. « Efficiency of Carbon Removal per Added Iron in Ocean Iron Fertilization ». *Marine Ecology Progress Series* 364 : 269-82. doi:10.3354/meps07548.
- De La Rocha, C. L., N. Nowald, et U. Passow. 2008. « Interactions between Diatom Aggregates, Minerals, Particulate Organic Carbon, and Dissolved Organic Matter: Further Implications for the Ballast Hypothesis: MINERALS, AGGREGATES, AND DOM. » *Global Biogeochemical Cycles* 22, n° 4. doi:10.1029/2007GB003156.
- de Leeuw, G., C. Guieu, A. Arneth, N. Bellouin, L. Bopp, P. W. Boyd, H. A. C. Denier van der Gon, et al. 2014. « Ocean–Atmosphere Interactions of Particles. » In *Ocean-Atmosphere Interactions of Gases and Particles*, édité par Peter S. Liss et Martin T. Johnson, 171-246. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- De Rijck, G., et E. Schrevens. 1998. « Cationic speciation in nutrient solutions as a function of pH ». *Journal of plant nutrition* 21 (5): 861-70.
- de Kluijver, A., K. Soetaert, J. Czerny, K.G. Schulz, T. Boxhammer, U. Riebesell, et J.J Middelburg. 2013. « A ^{13}C labelling study on carbon fluxes in Arctic plankton communities under elevated CO_2 levels ». *Biogeosciences*, 10, 1425-1440, doi:10.5194/bg-10-1425-2013, 2013.
- Decembrini, F., C. Caroppo, et M. Azzaro. 2009. « Size Structure and Production of Phytoplankton Community and Carbon Pathways Channelling in the Southern Tyrrhenian Sea (Western Mediterranean). » *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 56, n° 11-12: 687-99. doi:10.1016/j.dsr2.2008.07.022.
- Desboeufs, K., N. Leblond, T. Wagener, E. Bon Nguyen, et C. Guieu. 2014. « Chemical Fate and Settling of Mineral Dust in Surface Seawater after Atmospheric Deposition Observed from Dust Seeding Experiments in Large Mesocosms. » *Biogeosciences* 11, n° 19 : 5581-94. doi:10.5194/bg-11-5581-2014.
- Desboeufs, K., R. Losno, F. Vimeux, et S. Cholbi. 1999. « The pH-Dependent Dissolution of Wind-Transported Saharan Dust. » *Journal of Geophysical Research: Atmospheres* 104, n° D17: 21287-99. doi:10.1029/1999JD900236.
- Diaz, F., P. Raimbault, B. Boudjellal, N. Garcia, et T. Moutin. 2001. « Early spring phosphorus limitation of primary productivity in a NW Mediterranean coastal zone (Gulf of Lions) ». *Marine Ecology Progress Series* 211: 51-62.
- Dickson, A. G., C. L. Sabine, J. R. Christian. 2007. « Guide to Best Practices for Ocean CO_2 Measurements ». Report. North Pacific Marine Science Organization.
- Doney, S. C. 2006. « Oceanography: Plankton in a Warmer World. » *Nature* 444, n° 7120: 695-96. doi:10.1038/444695a.

- Doney, S. C., V. J. Fabry, R. A. Feely, et J. A. Kleypas. 2009. « Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem ». *Annual Review of Marine Science* 1, n° 1: 169-92. doi:10.1146/annurev.marine.010908.163834.
- Duce, R. A., J. LaRoche, K. Altieri, K. R. Arrigo, A. R. Baker, D. G. Capone, S. Cornell, et al. 2008. « Impacts of Atmospheric Anthropogenic Nitrogen on the Open Ocean ». *Science* 320, n° 5878 : 893-97. doi:10.1126/science.1150369.
- Ducklow, H. W., D. K. Steinberg, et K. O. Buesseler. 2001. « Upper ocean carbon export and the biological pump. » *OCEANOGRAPHY-WASHINGTON DC-OCEANOGRAPHY SOCIETY*- 14, n° 4: 50-58.
- Dugdale, R. C., et J. J. Goering. 1967. « Uptake of new and regenerated forms of nitrogen in primary productivity. » *Limnology and oceanography* 12, n° 2: 196-206.
- Dunne, J. P., J. L. Sarmiento, et A. Gnanadesikan. 2007. « A Synthesis of Global Particle Export from the Surface Ocean and Cycling through the Ocean Interior and on the Seafloor: Global particle export and cycling. » *Global Biogeochemical Cycles* 21, n° 4: doi:10.1029/2006GB002907.
- Dyhrman, S. T., et K. C. Ruttenberg. 2006. « Presence and regulation of alkaline phosphatase activity in eukaryotic phytoplankton from the coastal ocean: Implications for dissolved organic phosphorus remineralization ». *Limnology and Oceanography* 51 (3): 1381-90.
- Edzwald, J. K., D. C. Toensing, et M. C.-Y. Leung. 1976. « Phosphate Adsorption Reactions with Clay Minerals. » *Environmental Science & Technology* 10, n° 5: 485-90. doi:10.1021/es60116a001.
- Engel, A., B. Delille, S. Jacquet, U. Riebesell, E. Rochelle-Newall, A. Terbrüggen, et I. Zondervan. 2004. « Transparent Exopolymer Particles and Dissolved Organic Carbon Production by *Emiliana Huxleyi* Exposed to Different CO₂ Concentrations: A Mesocosm Experiment ». *Aquatic Microbial Ecology* 34: 93-104. doi:10.3354/ame034093.
- Engel, A. 2002. « Direct Relationship between CO₂ Uptake and Transparent Exopolymer Particles Production in Natural Phytoplankton ». *Journal of Plankton Research* 24 (1): 49-53. doi:10.1093/plankt/24.1.49.
- Engel, A., C. Borchard, J. Piontek, K. G. Schulz, U. Riebesell, et R. Bellerby. 2003. « CO₂ increases ¹⁴C Primary Production in an Arctic Plankton Community ». *Biogeosciences* 10, n° 3: 1291-1308. doi:10.5194/bg-10-1291-2013.
- Engel, A., I. Zondervan, K. Aerts, L. Beaufort, A. Benthien, L. Chou, B. Delille, et al. 2005. « Testing the direct effect of CO₂ concentration on a bloom of the coccolithophorid *Emiliana huxleyi* in mesocosm experiments ». *Limnology and Oceanography* 50 (2): 493-507.
- Engel, A., K. G. Schulz, U. Riebesell, R. Bellerby, B. Delille, et M. Schartau. 2008. « Effects of CO₂ on particle size distribution and phytoplankton abundance during a mesocosm bloom experiment (PeECE II). » *Biogeosciences* 5, n° 2: 509-21.

- Engel, A., L. Abramson, J. Szlosek, Z. Liu, G. Stewart, D. Hirschberg, et C. Lee. 2009. « Investigating the effect of ballasting by CaCO_3 in *Emiliania huxleyi*, II: Decomposition of particulate organic matter. » *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, MedFlux:Investigations of Particle Flux in the Twilight Zone, 56, n° 18: 1408-19. doi:10.1016/j.dsr2.2008.11.028.
- Engel, A., S. Thoms, U. Riebesell, E. Rochelle-Newall, et I. Zondervan. 2004. « Polysaccharide Aggregation as a Potential Sink of Marine Dissolved Organic Carbon ». *Nature* 428 (6986): 929-32. doi:10.1038/nature02453.
- Eppley, R. W. 1972. « Temperature and phytoplankton growth in the sea. » *Fish. Bull* 70, n° 4: 1063-85.
- Falkowski, P. 2012. « Ocean science: the power of plankton ». *Nature* 483, n° 7387 : S17-20.
- Field, C. B., M. J. Behrenfeld, J. T. Randerson, et P. Falkowski. 1998. « Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. » *Science* 281, n° 5374: 237-40. doi:10.1126/science.281.5374.237.
- Fishwick, M. P., P. N. Sedwick, M. C. Lohan, P. J. Worsfold, K. N. Buck, T. M. Church, et S. J. Ussher. 2014. « The Impact of Changing Surface Ocean Conditions on the Dissolution of Aerosol Iron: Aerosol Iron Dissolution in Seawater. » *Global Biogeochemical Cycles* 28, n° 11: 1235-50. doi:10.1002/2014GB004921.
- Formenti, P., L. Schütz, Y. Balkanski, K. Desboeufs, M. Ebert, K. Kandler, A. Petzold, D. Scheuven, S. Weinbruch, et D. Zhang. 2011. « Recent Progress in Understanding Physical and Chemical Properties of African and Asian Mineral Dust. » *Atmospheric Chemistry and Physics* 11, n° 16: 8231-56. doi:10.5194/acp-11-8231-2011.
- Fox, L. E. 1989. « A model for inorganic control of phosphate concentrations in river waters. » *Geochimica et Cosmochimica Acta* 53, n° 2: 417-28. doi:10.1016/0016-7037(89)90393-1.
- Francois, R., S. Honjo, R. Krishfield, et S. Manganini. 2002. « Factors Controlling the Flux of Organic Carbon to the Bathypelagic Zone of the Ocean: FACTORS CONTROLLING ORGANIC CARBON FLUX. » *Global Biogeochemical Cycles* 16, n° 4: 34-1 - 34-20. doi:10.1029/2001GB001722.
- Gal, C., W. Frenzel, et J. Möller. 2004. « Re-Examination of the Cadmium Reduction Method and Optimisation of Conditions for the Determination of Nitrate by Flow Injection Analysis. » *Microchimica Acta* 146, n° 2: 155-64. doi:10.1007/s00604-004-0193-7.
- Gattuso, J.-P., et L. Hansson. 2011. Ocean acidification. *Oxford University Press*.
- Gazeau, F., A. Sallon, L. Maugendre, J. Louis, W. Dellisanti, M. Gaubert, P. Lejeune, S. Gobert, S. Alliouane, V. Taillandier, F. Louis, G. Obolensky, J.-M. Grisoni et C. Guieu, soumis-a. « First mesocosm experiments to study the impacts of ocean acidification on plankton communities in the NW Mediterranean Sea (MedSeA project) ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- Gazeau, F., A. Sallon, L. Maugendre, M. Giani, M. Celussi, L. Michel, S. Gobert, et A.V. Borges, en préparation. « Impact of elevated CO_2 on pelagic production and elemental budgets in a Mediterranean mesocosm study ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.

- Gazeau, F., A. Sallon, P. Pitta, M.-L. Pedrotti, S. Marro, et C. Guieu, C., soumis-b. « Effect of ocean acidification on the plankton community diversity in the NW oligotrophic Mediterranean Sea: results from two mesocosm studies ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- Giorgi, F. 2006. « Climate Change Hot-Spots. » *Geophysical Research Letters* 33, n° 8: L08707. doi:10.1029/2006GL025734.
- Giorgi, F., et P. Lionello. 2008. « Climate change projections for the Mediterranean region. » *Global and Planetary Change*, Mediterranean climate: trends, variability and change, 63, n° 2-3: 90-104. doi:10.1016/j.gloplacha.2007.09.005.
- Giovagnetti, V., C. Brunet, F. Conversano, F. Tramontano, I. Obernosterer, C. Ridame, et C. Guieu. 2013. « Assessing the Role of Dust Deposition on Phytoplankton Ecophysiology and Succession in a Low-Nutrient Low-Chlorophyll Ecosystem: A Mesocosm Experiment in the Mediterranean Sea. » *Biogeosciences* 10: 2973-91. doi:10.5194/bg-10-2973-2013.
- Gledhill, M. 2012. « The organic complexation of iron in the marine environment: a review ». *Frontiers in Microbiology* 3. doi:10.3389/fmicb.2012.00069.
- Goutx, M., S. G. Wakeham, C. Lee, M. Duflos, C. Guigue, Z. Liu, B. Moriceau, R. Sempéré, M. Tedetti, et J. Xue. 2007. « Composition and degradation of marine particles with different settling velocities in the northwestern Mediterranean Sea. » *Limnology and Oceanography* 52, n° 4: 1645-64.
- Grossart, H.-P., M. Allgaier, U. Passow, et U. Riebesell. 2006. « Testing the effect of CO₂ concentration on dynamics of marine heterotrophic bacterioplankton ». *Limnology and oceanography* 51 (1): 1-11.
- Guerzoni, S., R. Chester, F. Dulac, B. Herut, M.-D. Loÿe-Pilot, C. Measures, C. Migon, et al. 1999. « The role of atmospheric deposition in the biogeochemistry of the Mediterranean Sea. » *Progress in Oceanography* 44, n° 1: 147-90.
- Guieu, C., C. Ridame, E. Pulido-Villena, M. Bressac, K. Desboeufs, et F. Dulac. 2014b « Impact of Dust Deposition on Carbon Budget: A Tentative Assessment from a Mesocosm Approach. » *Biogeosciences* 11, n° 19: 5621-35. doi:10.5194/bg-11-5621-2014.
- Guieu, C., et V. P. Shevchenko. 2015. « Dust in the Ocean. » In *Encyclopedia of Marine Geosciences*, édité par Jan Harff, Martin Meschede, Sven Petersen, et Jörn Thiede, 1-8. *Springer Netherlands*.
- Guieu, C., F. Dulac, C. Ridame, et P. Pondaven. 2014a. « Introduction to Project DUNE, a DUST Experiment in a Low Nutrient, Low Chlorophyll Ecosystem. » *Biogeosciences* 11, n° 2: 425-42. doi:10.5194/bg-11-425-2014.
- Guieu, C., F. Dulac, K. Desboeufs, T. Wagener, E. Pulido-Villena, J.-M. Grisoni, F. Louis, et al. 2010a. « Large Clean Mesocosms and Simulated Dust Deposition: A New Methodology to Investigate Responses of Marine Oligotrophic Ecosystems to Atmospheric Inputs ». *Biogeosciences* 7 (9): 2765-84. doi:10.5194/bg-7-2765-2010.

- Guieu, C., M. -D. Loÿe-Pilot, L. Benyahya, et A. Dufour. 2010b. « Spatial variability of atmospheric fluxes of metals (Al, Fe, Cd, Zn and Pb) and phosphorus over the whole Mediterranean from a one-year monitoring experiment: Biogeochemical implications ». *Marine Chemistry, Aerosol chemistry and impacts on the ocean*, 120 (1–4): 164–78. doi:10.1016/j.marchem.2009.02.004.
- Guieu, C., M.-D. Loÿe-Pilot, C. Ridame, et C. Thomas. 2002. « Chemical characterization of the Saharan dust end-member: Some biogeochemical implications for the western Mediterranean Sea. » *Journal of Geophysical Research: Atmospheres (1984–2012)* 107, n° D15: ACH 5-1 - ACH 5-11.
- Guieu, C., O. Aumont, A. Paytan, L. Bopp, C. S. Law, N. Mahowald, E. P. Achterberg, et al. 2014c. « The Significance of the Episodic Nature of Atmospheric Deposition to Low Nutrient Low Chlorophyll Regions: Atmospheric Pulses to LNLC Ocean. » *Global Biogeochemical Cycles* 28, n° 11: 1179–98. doi:10.1002/2014GB004852.
- Guieu, C., R. Chester, M. Nimmo, J. -M. Martin, S. Guerzoni, E. Nicolas, J. Mateu, et S. Keyse. 1997. « Atmospheric input of dissolved and particulate metals to the northwestern Mediterranean. » *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 44, n° 3–4 : 655–74. doi:10.1016/S0967-0645(97)88508-6.
- Hartmann, D. L., A. M. G. Klein Tank, M. Ruscicucci, L. V. Alexander, B. Broenniman, Y. Charabi, F. J. Dentener, et al. 2013. « Observations: Atmosphere and Surface ». In *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, édité par T. F. Stocker, D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex, et P. M. Midgley, 159–254. Cambridge: Cambridge University
- Heinze, C., S. Meyer, N. Goris, L. Anderson, R. Steinfeldt, N. Chang, C. Le Quéré, et D. C. E. Bakker. 2015. « The ocean carbon sink—impacts, vulnerabilities and challenges ». *Earth Syst. Dyn* 6, n° 1 : 327–58.
- Heyden, B.P. von der, et A.N. Roychoudhury. 2015. « A Review of Colloidal Iron Partitioning and Distribution in the Open Ocean. » *Marine Chemistry*, doi:10.1016/j.marchem.2015.05.010.
- Hoffmann, L., E. Breitbarth, P. Boyd, et K. Hunter. 2012. « Influence of Ocean Warming and Acidification on Trace Metal Biogeochemistry ». *Marine Ecology Progress Series* 470 191–205. doi:10.3354/meps10082.
- Holland, H.D., W. H. Schlesinger, et K. K. Turekian. 2005. *Biogeochemistry*. Gulf Professional Publishing.
- Honeyman, B. D., et P. H. Santschi. 1989. « A Brownian-pumping model for oceanic trace metal scavenging: evidence from Th isotopes. » *Journal of Marine Research* 47, n° 4: 951–92.

- Hutchins, D. A., F.-X. Fu, Y. Zhang, M. E. Warner, Y. Feng, K. Portune, P. W. Bernhardt, et M. R. Mulholland. 2007. « CO₂ Control of Trichodesmium N₂ Fixation, Photosynthesis, Growth Rates, and Elemental Ratios: Implications for Past, Present, and Future Ocean Biogeochemistry ». *Limnology and Oceanography* 52 (4): 1293-1304. doi:10.4319/lo.2007.52.4.1293.
- Hutchins, D., M. Mulholland, et F. Fu. 2009. « Nutrient Cycles and Marine Microbes in a CO₂-Enriched Ocean ». *Oceanography* 22 (4): 128-45. doi:10.5670/oceanog.2009.103.
- IPCC, 2007 : The fourth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge.
- IPCC, 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* [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
- Jackson, G. A., et P. M. Williams. 1985. « Importance of dissolved organic nitrogen and phosphorus to biological nutrient cycling ». *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 32 (2): 223-35.
- Jahnke, R. A. 1992. « The phosphorus cycle. » *Global biogeochemical cycles*, 301-15.
- Jiao, N., G. J. Herndl, D. A. Hansell, R. Benner, G. Kattner, S. W. Wilhelm, D. L. Kirchman, et al. 2010. « Microbial Production of Recalcitrant Dissolved Organic Matter: Long-Term Carbon Storage in the Global Ocean. » *Nature Reviews Microbiology* 8, n° 8: 593-99. doi:10.1038/nrmicro2386.
- Jickells, T. D. 2005. « Global Iron Connections Between Desert Dust, Ocean Biogeochemistry, and Climate. » *Science* 308, n° 5718: 67-71. doi:10.1126/science.1105959.
- Jin, X., N. Gruber, H. Frenzel, S. C. Doney, et J. C. McWilliams. 2008. « The impact on atmospheric CO₂ of iron fertilization induced changes in the ocean's biological pump ».
- Johnson, K. S., R. M. Gordon, et K.H. Coale. 1997. « What controls dissolved iron concentrations in the world ocean? ». *Marine Chemistry* 57, n° 3-4: 137-61. doi:10.1016/S0304-4203(97)00043-1.
- Journet, E., K. V. Desboeufs, S. Caqueneau, et J.-L. Colin. 2008. « Mineralogy as a Critical Factor of Dust Iron Solubility: MINERALOGY AND DUST IRON SOLUBILITY. » *Geophysical Research Letters* 35, n° 7: doi:10.1029/2007GL031589.
- Karl D. M., et K. M. Bjorkman. 2002. « Dynamics of DOP ». In *DA Hansell, CA Carlson (eds.), Biogeochemistry Of Marine Dissolved Organic Matter*: 249-366
- Karl, D. M. 2014. « Microbially Mediated Transformations of Phosphorus in the Sea: New Views of an Old Cycle ». *Annual Review of Marine Science* 6, n° 1 : 279-337. doi:10.1146/annurev-marine-010213-135046.
- Kepley, P. E. 1994. « Particle aggregation and the biological reactivity of colloids ». *Marine Ecology-Progress Series* 109: 293-293.

- Klaas, C., et D. E. Archer. 2002. « Association of Sinking Organic Matter with Various Types of Mineral Ballast in the Deep Sea: Implications for the Rain Ratio: Ocean carbon-mineral flux association. » *Global Biogeochemical Cycles* 16, n° 4: 63-1 - 63-14. doi:10.1029/2001GB001765.
- Kovac, N., O. Bajt, J. Faganeli, B. Sket, et B. Orel. 2002. « Study of macroaggregate composition using FT-IR and ¹H-NMR spectroscopy ». *Marine Chemistry* 78 (4): 205-15.
- Krom, M. D., N. Kress, S. Brenner, et L. I. Gordon. 1991. « Phosphorus Limitation of Primary Productivity in the Eastern Mediterranean Sea ». *Limnology and Oceanography* 36 (3): 424-32. doi:10.4319/lo.1991.36.3.0424.
- Krom, M.D., E.M.S. Woodward, B. Herut, N. Kress, P. Carbo, R.F.C. Mantoura, G. Spyres, et al. 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 (22-23): 2879-96. doi:10.1016/j.dsr2.2005.08.009.
- Krueger, B.J., V.H. Grassian, J.P. Cowin, et A. Laskin. 2004. « Heterogeneous Chemistry of Individual Mineral Dust Particles from Different Dust Source Regions: The Importance of Particle Mineralogy. » *Atmospheric Environment* 38, n° 36: 6253-61. doi:10.1016/j.atmosenv.2004.07.010.
- Kuma, K., J. Nishioka, et K. Matsunaga. 1996. « Controls on iron (III) hydroxide solubility in seawater: the influence of pH and natural organic chelators. » *Limnology and Oceanography* 41, n° 3: 396-407.
- Laskin, A. 2005. « Heterogeneous Chemistry of Individual Mineral Dust Particles with Nitric Acid: A Combined CCSEM/EDX, ESEM, and ICP-MS Study. » *Journal of Geophysical Research* 110, n° D10. doi:10.1029/2004JD005206.
- Lavigne, H., J. M. Epitalon et J. P. Gattuso. 2014. Seacarb: seawater carbonate chemistry with R. <http://CRAN.R-project.org/package=seacarb> (last accessed 12 September 2013).
- Le Quéré, C., G. P. Peters, R. J. Andres, R. M. Andrew, T. A. Boden, P. Ciais, P. Friedlingstein, et al. 2014. « Global Carbon Budget 2013 ». *Earth System Science Data* 6 (1): 235-63. doi:10.5194/essd-6-235-2014.
- Lefevre, D., H. J. Minas, M. Minas, C. Robinson, P. J. Le B. Williams, et E. M. S. Woodward. 1997. « Review of gross community production, primary production, net community production and dark community respiration in the Gulf of Lions. » *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 44, n° 3-4: 801-32. doi:10.1016/S0967-0645(96)00091-4.
- Li, Q.P., D. A. Hansell, et J.-Z. Zhang. 2008. « Underway monitoring of nanomolar nitrate plus nitrite and phosphate in oligotrophic seawater. » *Limnology and Oceanography: Methods* 6, n° 7: 319-26.
- Liu, Q., Y. Zhang, et J. S. Laskowski. 2000. « The adsorption of polysaccharides onto mineral surfaces: an acid/base interaction ». *International Journal of Mineral Processing* 60 (3): 229-45.

- Liu, X., et F. J. Millero. 2002. « The solubility of iron in seawater ». *Marine Chemistry* 77 (1): 43-54. doi:10.1016/S0304-4203(01)00074-3.
- Lomas, M. W., A. L. Burke, D. A. Lomas, D. W. Bell, C. Shen, S.T. Dyhrman, et J. W. Ammerman. 2010. « Sargasso Sea phosphorus biogeochemistry: an important role for dissolved organic phosphorus (DOP) ». *Biogeosciences*, 7, 695-710.
- Lønborg, C., et X. A. Álvarez-Salgado. 2012. « Recycling versus Export of Bioavailable Dissolved Organic Matter in the Coastal Ocean and Efficiency of the Continental Shelf Pump: DOM bioavailability in the coastal ocean ». *Global Biogeochemical Cycles* 26 (3).doi:10.1029/2012GB004353.
- Loÿe-Pilot, M. D., et J. M. Martin. 1996. « Saharan Dust Input to the Western Mediterranean: An Eleven Years Record in Corsica. » In *The Impact of Desert Dust Across the Mediterranean*, édité par Stefano Guerzoni et Roy Chester, 191-99. Environmental Science and Technology Library 11. Springer Netherlands.
- Lucea, A., C. M. Duarte, et S. Agustian and M. Søndergaard. 2003. « Nutrient (N, P and Si) and carbon partitioning in the stratified NW Mediterranean ». *Journal of Sea Research* 49 (3): 157-70. doi:10.1016/S1385-1101(03)00005-4.
- Maas, E.W., C. S. Law, J. A. Hall, S. Pickmere, K. I. Currie, F. H. Chang, K. Matt Voyles, et Dianna Caird. 2013. « Effect of Ocean Acidification on Bacterial Abundance, Activity and Diversity in the Ross Sea, Antarctica. » *Aquatic Microbial Ecology* 70, n° 1: 1-15.
- Mackie, D. S. 2005. « Simulating the Cloud Processing of Iron in Australian Dust: pH and Dust Concentration. » *Geophysical Research Letters* 32, n° 6. doi:10.1029/2004GL022122.
- Mahaffey, C., S. Reynolds, C. E. Davis, et M. C. Lohan. 2014. « Alkaline phosphatase activity in the subtropical ocean: insights from nutrient, dust and trace metal addition experiments ». *Frontiers in Marine Science* 1. doi:10.3389/fmars.2014.00073.
- Mahowald, N., T. D. Jickells, A. R. Baker, P. Artaxo, C. R. Benitez-Nelson, G. Bergametti, T. C. Bond, et al. 2008. « Global Distribution of Atmospheric Phosphorus Sources, Concentrations and Deposition Rates, and Anthropogenic Impacts: Global atmospheric phosphorus ». *Global Biogeochemical Cycles* 22, n° 4. doi:10.1029/2008GB003240.
- Mahowald, N. M., S. Engelstaedter, C. Luo, A. Sealy, P. Artaxo, C. Benitez-Nelson, S. Bonnet, et al. 2009. « Atmospheric Iron Deposition: Global Distribution, Variability, and Human Perturbations*. » *Annual Review of Marine Science* 1, n° 1: 245-78. doi:10.1146/annurev.marine.010908.163727.
- Mari, X. 1999. « Carbon content and C: N ratio of transparent exopolymeric particles (TEP) produced by bubbling exudates of diatoms ». *Marine Ecology-Progress Series* 183: 59-71.
- Mari, X. 2008. « Does ocean acidification induce an upward flux of marine aggregates? ». *Biogeosciences Discussions* 5 (2): 1631-54.

- Mari, X., E. Rochelle-Newall, J.-P. Torréton, O. Pringault, A. Jouon, et C. Migon. 2007. « Water residence time: a regulatory factor of the DOM to POM transfer efficiency. » *Limnology and Oceanography* 52, n° 2: 808-19.
- Marie, D., C. P. D. Brussaard, R. Thyrhaug, G. Bratbak, et D. Vaultot. 1999. « Enumeration of Marine Viruses in Culture and Natural Samples by Flow Cytometry ». *Applied and Environmental Microbiology* 65, n° 1: 45-52.
- Markaki, Z., M.D. Loÿe-Pilot, K. Violaki, L. Benyahya, et N. Mihalopoulos. 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, n° 1-4: 187-94. doi:10.1016/j.marchem.2008.10.005.
- Martin, J. H., K. H. Coale, K. S. Johnson, S. E. Fitzwater, R. M. Gordon, S. J. Tanner, C. N. Hunter, et al. 1994. « Testing the iron hypothesis in ecosystems of the equatorial Pacific Ocean ». *Nature*, 371(6493), 123-129
- Martin, J.-M., F. Elbaz-Poulichet, C. Guieu, M.-D. Loÿe-Pilot, et Gengchen Han. 1989. « River versus atmospheric input of material to the Mediterranean Sea: an overview. » *Marine Chemistry* 28, n° 1: 159-82.
- Marty, J.-C., et J. Chiavérini. 2002. « Seasonal and interannual variations in phytoplankton production at DYFAMED time-series station, northwestern Mediterranean Sea. » *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 49, n° 11: 2017-30.
- Marty, J.-C., J. Chiavérini, M.-D. Pizay, et B. Avril. 2002. « Seasonal and interannual dynamics of nutrients and phytoplankton pigments in the western Mediterranean Sea at the DYFAMED time-series station (1991-1999) ». *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 49 (11): 1965-85.
- Maugendre, L., J.-P. Gattuso, A. De Kluijver, K. Soetaert, M. Gaubert, D. van Oevelen, J. Middelburg, et F. Gazeau, soumis. « Carbon-13 labelling studies show no effect of ocean acidification on carbon transfer in Mediterranean plankton communities ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- Maugendre, L., J.-P. Gattuso, A.J. Poulton, W. Dellisanti, M. Gaubert, C. Guieu, F. Gazeau, 2015. « No detectable effect of ocean acidification on plankton metabolism in the NW oligotrophic Mediterranean Sea: results from two mesocosm studies ». *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.
- Maugendre, L., J.-P. Gattuso, J. Louis, A. de Kluijver, S. Marro, K. Soetaert, et F. Gazeau. 2015. « Effect of Ocean Warming and Acidification on a Plankton Community in the NW Mediterranean Sea. » *ICES Journal of Marine Science: Journal Du Conseil* 72, n° 6: 1744-55. doi:10.1093/icesjms/fsu161.
- McCave, I. N. 1984. « Size spectra and aggregation of suspended particles in the deep ocean ». *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 31 (4): 329-52. doi:10.1016/0198-0149(84)90088-8.
- McGill, D. A. 1965. « The relative supplies of phosphate, nitrate and silicate in the mediterranean sea ». *Rapp. P.-v. Reun. Comm. int. Explor. scient. Mer Mediterr.* 18(3): 737-744

- Millero, F. J., S. Sotolongo, et M. Izaguirre. 1987. « The oxidation kinetics of Fe(II) in seawater. » *Geochimica et Cosmochimica Acta* 51, n° 4: 793-801. doi:10.1016/0016-7037(87)90093-7.
- Millero, F. J. 1998. « Solubility of Fe (III) in seawater. » *Earth and Planetary Science Letters* 154: 323-29.
- Millero, F. J., R. Woosley, B. DiTrollo, et J. Waters. 2009. « Effect of Ocean Acidification on the Speciation of Metals in Seawater. » *Oceanography*.
- Moore, J. K., S. C. Doney, D. M. Glover, et I. Y. Fung. 2001. « Iron cycling and nutrient-limitation patterns in surface waters of the World Ocean ». *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 49, n° 1 : 463-507.
- Moore, J. K., et O. Braucher. 2008. « Sedimentary and mineral dust sources of dissolved iron to the world ocean. » *Biogeosciences* 5, n° 3.
- Moore, C. M., M. M. Mills, K. R. Arrigo, I. Berman-Frank, L. Bopp, P. W. Boyd, E. D. Galbraith, et al. 2013. « Processes and Patterns of Oceanic Nutrient Limitation ». *Nature Geoscience* 6, n° 9 : 701-10. doi:10.1038/ngeo1765.
- Mopper, K., A. Stubbins, J. D. Ritchie, H. M. Bialk, et P. G. Hatcher. 2007. « Advanced Instrumental Approaches for Characterization of Marine Dissolved Organic Matter: Extraction Techniques, Mass Spectrometry, and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. » *Chemical Reviews* 107, n° 2: 419-42. doi:10.1021/cr050359b.
- Morel, F. M. M., et N. M. Price. 2003. « The Biogeochemical Cycles of Trace Metals in the Oceans. » *Science* 300, n° 5621: 944-47. doi:10.1126/science.1083545.
- Motegi, C., T. Tanaka, J. Piontek, C. P. D. Brussaard, J.-P. Gattuso, et M. G. Weinbauer. 2013. « Effect of CO₂ Enrichment on Bacterial Metabolism in an Arctic Fjord. » *Biogeosciences* 10, n° 5: 3285-96. doi:10.5194/bg-10-3285-2013.
- Moutin, T., et P. Raimbault. 2002. « Primary production, carbon export and nutrients availability in western and eastern Mediterranean Sea in early summer 1996 (MINOS cruise) ». *Journal of Marine Systems*, MATER: MAss Transfer and Ecosystem Response, 33-34: 273-88. doi:10.1016/S0924-7963(02)00062-3.
- Moutin, T., T. F. Thingstad, F. Van Wambeke, D. Marie, G. Slawyk, P. Raimbault, et H. Claustre. 2002. « Does Competition for Nanomolar Phosphate Supply Explain the Predominance of the Cyanobacterium *Synechococcus*? ». *Limnology and Oceanography* 47, n° 5: 1562-67. doi:10.4319/lo.2002.47.5.1562.
- Moutin, T., D. M. Karl, S. Duhamel, P. Rimmelin, P. Raimbault, B. AS Van Mooy, et H. Claustre. 2008. « Phosphate availability and the ultimate control of new nitrogen input by nitrogen fixation in the tropical Pacific Ocean ».
- Murphy, J., et J. P. Riley. 1962. « A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. » *Analytica Chimica Acta* 27: 31-36. doi:10.1016/S0003-2670(00)88444-5.

- Nenes, A., M. D. Krom, N. Mihalopoulos, P. Van Cappellen, Z. Shi, A. Bougiatioti, P. Zampas, et B. Herut. 2011. « Atmospheric Acidification of Mineral Aerosols: A Source of Bioavailable Phosphorus for the Oceans. » *Atmospheric Chemistry and Physics* 11, n° 13: 6265-72. doi:10.5194/acp-11-6265-2011.
- Ni, J., P. Lin, Y. Zhen, X. Yao, et L. Guo. 2015. « Distribution, Source and Chemical Speciation of Phosphorus in Surface Sediments of the Central Pacific Ocean ». *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 105 : 74-82. doi:10.1016/j.dsr.2015.08.008.
- Obata, H., H. Karatani, et E. Nakayama. 1993. « Automated determination of iron in seawater by chelating resin concentration and chemiluminescence detection ». *Analytical Chemistry* 65 (11): 1524-28. doi:10.1021/ac00059a007.
- Obernosterer, I., et G. J. Herndl. 1995. « Phytoplankton extracellular release and bacterial growth: dependence on the inorganic N: P ratio ». *Marine ecology progress series. Oldendorf* 116, n° 1: 247-57.
- Orr, J. C., V. J. Fabry, O. Aumont, L. Bopp, S. C. Doney, R. A. Feely, A. Gnanadesikan, et al. 2005. « Anthropogenic Ocean Acidification over the Twenty-First Century and Its Impact on Calcifying Organisms ». *Nature* 437 (7059): 681-86. doi:10.1038/nature04095.
- Osterholz, H., T. Dittmar, et J. Niggemann. 2014. « Molecular evidence for rapid dissolved organic matter turnover in Arctic fjords. » *Marine Chemistry* 160: 1-10. doi:10.1016/j.marchem.2014.01.002.
- Parekh, P., M. J. Follows, et E. Boyle. 2004. « Modeling the Global Ocean Iron Cycle: MODELING THE GLOBAL IRON CYCLE. » *Global Biogeochemical Cycles* 18, n° 1: doi:10.1029/2003GB002061.
- Pasqueron de Fommervault, O., C. Migon, F. D'Ortenzio, M. Ribera d'Alcalà, et L. Coppola. 2015. « Temporal variability of nutrient concentrations in the northwestern Mediterranean sea (DYFAMED time-series station) ». *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 100: 1-12. doi:10.1016/j.dsr.2015.02.006.
- Passow U, A.L. Alldredge. 1994. « Distribution, size and bacterial colonization of transparent exopolymer particles (TEP) in the ocean ». *Marine Ecology-progress Series - MAR ECOL-PROGR SER* 113 (1-2): 185-98. doi:10.3354/meps113185.
- Passow, U. 2000. « Formation of Transparent Exopolymer Particles, TEP, from Dissolved Precursor Material ». *Marine Ecology. Progress Series* 192: 1-11.
- Passow, U. 2002. « Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments ». *Progress in Oceanography* 55 (3-4): 287-333. doi:10.1016/S0079-6611(02)00138-6.
- Passow, U. 2004. « Switching Perspectives: Do Mineral Fluxes Determine Particulate Organic Carbon Fluxes or Vice Versa? ». *Geochemistry, Geophysics, Geosystems* 5, n° 4: Q04002. doi:10.1029/2003GC000670.
- Passow, U. 2012. « The Abiotic Formation of TEP under Different Ocean Acidification Scenarios ». *Marine Chemistry* 128-129: 72-80. doi:10.1016/j.marchem.2011.10.004.

- Passow, U., C. L. De La Rocha, C. Fairfield, et K. Schmidt. 2014. « Aggregation as a Function of and Mineral Particles ». *Limnology and Oceanography* 59 (2): 532-47. doi:10.4319/lo.2014.59.2.0532.
- Passow, U., et C. A. Carlson. 2012. « The biological pump in a high CO₂ world. » *Mar. Ecol. Prog. Ser* 470, n° 2 : 249-71.
- Passow, U., et C. L. De La Rocha. 2006. « Accumulation of Mineral Ballast on Organic Aggregates. » *Global Biogeochemical Cycles* 20, n° 1: GB1013. doi:10.1029/2005GB002579.
- Patey, M. D., M. J.A. Rijkenberg, P. J. Statham, M. C. Stinchcombe, E. P. Achterberg, et Matthew Mowlem. 2008. « Determination of Nitrate and Phosphate in Seawater at Nanomolar Concentrations. » *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 27, n° 2: 169-82. doi:10.1016/j.trac.2007.12.006.
- Paytan, A., et K. McLaughlin. 2007. « The Oceanic Phosphorus Cycle. » *Chemical Reviews* 107, n° 2: 563-76. doi:10.1021/cr0503613.
- Pedrotti, M.L., F. Peters, S. Beauvais, M. Vidal, J. Egge, A. Jacobsen, et C. Marrasé. 2010. « Effects of Nutrients and Turbulence on the Production of Transparent Exopolymer Particles: A Mesocosm Study ». *Marine Ecology Progress Series* 419: 57-69. doi:10.3354/meps08840.
- Piontek, J., C. Borchard, M. Sperling, K. G. Schulz, U. Riebesell, et A. Engel. 2013. « Response of Bacterioplankton Activity in an Arctic Fjord System to Elevated <i>p</i><i>CO</i>₂: Results from a Mesocosm Perturbation Study. » *Biogeosciences* 10, n° 1: 297-314. doi:10.5194/bg-10-297-2013.
- Piontek, J., M. Lunau, N. Händel, C. Borchard, M. Wurst, et A. Engel. 2010. « Acidification Increases Microbial Polysaccharide Degradation in the Ocean. » *Biogeosciences* 7, n° 5: 1615-24. doi:10.5194/bg-7-1615-2010.
- Pollard, R. T., I. Salter, R. J. Sanders, M. I. Lucas, C. M. Moore, R. A. Mills, P. J. Statham, J. T. Allen, A. R. Baker, et D. CE Bakker. 2009. « Southern Ocean deep-water carbon export enhanced by natural iron fertilization ». *Nature* 457, n° 7229 : 577-80.
- Poulton, A. J., R. Sanders, P. M. Holligan, M. C. Stinchcombe, T. R. Adey, L. Brown, et K. Chamberlain. 2006. « Phytoplankton Mineralization in the Tropical and Subtropical Atlantic Ocean. » *Global Biogeochemical Cycles* 20, n° 4: GB4002. doi:10.1029/2006GB002712.
- Pujo-Pay, M., et P. Raimbault. 1994. « Improvement of the wet-oxidation procedure for the simultaneous determination of particulate organic nitrogen and phosphorus collected on filters ». *Mar. Ecol. Prog. Set.*
- Pujo-Pay, M., P. Conan, L. Oriol, V. Cornet-Barthaux, C. Falco, J.-F. Ghiglione, C. Goyet, T. Moutin, et L. Prieur. 2011. « Integrated Survey of Elemental Stoichiometry (C, N, P) from the Western to Eastern Mediterranean Sea ». *Biogeosciences* 8 (4): 883-99. doi:10.5194/bg-8-883-2011.

- Pulido-Villena, E., A.-C. Baudoux, I. Obernosterer, M. Landa, J. Caparros, P. Catala, C. Georges, J. Harmand, et C. Guieu. 2014. « Microbial Food Web Dynamics in Response to a Saharan Dust Event: Results from a Mesocosm Study in the Oligotrophic Mediterranean Sea. » *Biogeosciences* 11, n° 19: 5607-19. doi:10.5194/bg-11-5607-2014.
- Pulido-Villena, E., V. Rérolle, et C. Guieu. 2010. « Transient Fertilizing Effect of Dust in P-Deficient LNLC Surface Ocean: Fertilizing effect of dust in LNLC ocean ». *Geophysical Research Letters* 37 (1). doi:10.1029/2009GL041415.
- Raimbault, P., W. Pouvesle, F. Diaz, N. Garcia, et R. Sempéré. 1999. « Wet-oxidation and automated colorimetry for simultaneous determination of organic carbon, nitrogen and phosphorus dissolved in seawater ». *Marine Chemistry* 66 (3-4): 161-69. doi:10.1016/S0304-4203(99)00038-9.
- Ras, J., H. Claustre, et J. Uitz. 2008. « Spatial variability of phytoplankton pigment distributions in the Subtropical South Pacific Ocean: comparison between in situ and predicted data ». *Biogeosciences* 5, n° 2: 353-69.
- Raven, J., K. Caldeira, H. Elderfield, O. Hoegh-Gulderg, P. Liss, U. Riebesell, J. Shepherd, C.M. Turley, et A. Watson. 2005. « Ocean Acidification due to Increasing Atmospheric Carbon dioxide ». *The Royal Society Policy Document, Cardiff*.
- Reinfelder, J. R. 2011. « Carbon concentrating mechanisms in eukaryotic marine phytoplankton. » *Marine Science* 3.
- Ridame, C., et C. Guieu. 2002. « Saharan input of phosphate to the oligotrophic water of the open western Mediterranean Sea. » *Limnology and Oceanography* 47, n° 3: 856-69.
- Ridame, C., J. Dekaezemacker, C. Guieu, S. Bonnet, S. L'Helguen, et F. Malien. 2014. « Contrasted Saharan Dust Events in LNLC Environments: Impact on Nutrient Dynamics and Primary Production ». *Biogeosciences* 11 (17): 4783-4800. doi:10.5194/bg-11-4783-2014.
- Ridame, C., T. Moutin, et C. Guieu. 2003. « Does Phosphate Adsorption onto Saharan Dust Explain the Unusual N/P Ratio in the Mediterranean Sea? » *Oceanologica Acta* 26, n° 5-6: 629-34. doi:10.1016/S0399-1784(03)00061-6.
- Riebesell, U., J. Czerny, K. von Bröckel, T. Boxhammer, J. Büdenbender, M. Deckelnick, M. Fischer, et al. 2013. « Technical Note: A Mobile Sea-Going Mesocosm System – New Opportunities for Ocean Change Research ». *Biogeosciences* 10 (3): 1835-47. doi:10.5194/bg-10-1835-2013.
- Rochelle-Newall, E. J., X. Mari, et O. Pringault. 2010. « Sticking Properties of Transparent Exopolymeric Particles (TEP) during Aging and Biodegradation ». *Journal of Plankton Research* 32, n° 10: 1433-42. doi:10.1093/plankt/fbq060.
- Rochelle-Newall, E., B. Delille, M. Frankignoulle, J.-P. Gattuso, S. Jacquet, U. Riebesell, A. Terbrüggen, et I. Zondervan. 2004. « Chromophoric dissolved organic matter in experimental mesocosms maintained under different pCO₂ levels. » *Marine Ecology Progress Series* 272: 25-31.

- Romano, S., T. Dittmar, V. Bondarev, R. J. M. Weber, M. R. Viant, et H. N. Schulz-Vogt. 2014. « Exo-Metabolome of *Pseudovibrio* sp. FO-BEG1 Analyzed by Ultra-High Resolution Mass Spectrometry and the Effect of Phosphate Limitation. » *PLoS ONE* 9, n° 5: e96038. doi:10.1371/journal.pone.0096038.
- Romero, E., F. Peters, et C. Marras. 2012. « Dynamic forcing of coastal plankton by nutrient imbalances and match-mismatch between nutrients and turbulence ». *Marine Ecology Progress Series* 464: 69-87. doi:10.3354/meps09846.
- Rost, B., I. Zondervan, et D. Wolf-Gladrow. 2008. « Sensitivity of phytoplankton to future changes in ocean carbonate chemistry: current knowledge, contradictions and research directions. » *Marine ecology progress series*, 373237. 227: 227-37.
- Rue, E. L., et K. W. Bruland. 1995. « Complexation of iron(III) by natural organic ligands in the Central North Pacific as determined by a new competitive ligand equilibration/adsorptive cathodic stripping voltammetric method. » *Marine Chemistry, The Chemistry of Iron in Seawater and its Interaction with Phytoplankton*, 50, n° 1-4: 117-38. doi:10.1016/0304-4203(95)00031-L.
- Ruttenberg, K. C., et S. T. Dyhrman. 2012. « Dissolved Organic Phosphorus Production during Simulated Phytoplankton Blooms in a Coastal Upwelling System ». *Frontiers in Microbiology* 3. doi:10.3389/fmicb.2012.00274.
- Salter, I., A. E. S. Kemp, R. S. Lampitt, et M. Gledhill. 2010. « The association between biogenic and inorganic minerals and the amino acid composition of settling particles. » *Limnology and Oceanography* 55, n° 5: 2207-18. doi:10.4319/lo.2010.55.5.2207.
- Sarmiento, J. L., R. D. Slater, J. Dunne, A. Gnanadesikan, et M. R. Hiscock. 2010. « Efficiency of Small Scale Carbon Mitigation by Patch Iron Fertilization ». *Biogeosciences* 7, n° 11 : 3593-3624. doi:10.5194/bg-7-3593-2010.
- Sanders, R. W. 1991. « Mixotrophic protists in marine and freshwater ecosystems ». *J. Protozool* 38, n° 1: 76-81.
- Sandroni, V., P. Raimbault, C. Migon, N. Garcia, et E. Gouze. 2007. « Dry Atmospheric Deposition and Diazotrophy as Sources of New Nitrogen to Northwestern Mediterranean Oligotrophic Surface Waters. » *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 54, n° 11: 1859-70. doi:10.1016/j.dsr.2007.08.004.
- Sarthou, G., et C. Jeandel. 2001. « Seasonal variations of iron concentrations in the Ligurian Sea and iron budget in the Western Mediterranean Sea. » *Marine Chemistry* 74, n° 2: 115-29.
- Schroth, A. W., J. Crusius, E. R. Sholkovitz, et B. C. Bostick. 2009. « Iron Solubility Driven by Speciation in Dust Sources to the Ocean. » *Nature Geoscience* 2, n° 5: 337-40. doi:10.1038/ngeo501.
- Schulz, K. G., R. G. J. Bellerby, C. P. D. Brussaard, J. Büdenbender, J. Czerny, A. Engel, M. Fischer, et al. 2013. « Temporal Biomass Dynamics of an Arctic Plankton Bloom in Response to Increasing Levels of Atmospheric Carbon Dioxide ». *Biogeosciences* 10 (1): 161-80. doi:10.5194/bg-10-161-2013.

- Schulz, K. G., U. Riebesell, R. G. J. Bellerby, H. Biswas, M. Meyerhöfer, M. N. Müller, J. K. Egge, et al. 2008. « Build-up and decline of organic matter during PeECE III ». *Biogeosciences* 5 (3): 707-18.
- Seitzinger, S. P., E. Mayorga, A. F. Bouwman, C. Kroeze, A. H. W. Beusen, G. Billen, G. Van Drecht, et al. 2010. « Global River Nutrient Export: A Scenario Analysis of Past and Future Trends ». *Global Biogeochemical Cycles* 24, n° 4 : GB0A08. doi:10.1029/2009GB003587.
- Shi, D., Y. Xu, B. M. Hopkinson, et F. M. M. Morel. 2010. « Effect of Ocean Acidification on Iron Availability to Marine Phytoplankton ». *Science* 327 (5966): 676-79. doi:10.1126/science.1183517. Shi, Z., M. D. Krom, T. D. Jickells, S. Bonneville, K. S. Carslaw, N. Mihalopoulos, A. R. Baker, et L. G. Benning. 2012. « Impacts on Iron Solubility in the Mineral Dust by Processes in the Source Region and the Atmosphere: A Review. » *Aeolian Research* 5: 21-42. doi:10.1016/j.aeolia.2012.03.001.
- Sintes, E., K. Stoderegger, V. Parada, and G. Herndl. 2010. « Seasonal Dynamics of Dissolved Organic Matter and Microbial Activity in the Coastal North Sea ». *Aquatic Microbial Ecology* 60 (1): 85-95. doi:10.3354/ame01404.
- Siokou-Frangou, I., U. Christaki, M. G. Mazzocchi, M. Montresor, M. Ribera d'Alcalá, D. Vaqué, et A. Zingone. 2010. « Plankton in the Open Mediterranean Sea: A Review. » *Biogeosciences* 7, n° 5: 1543-86. doi:10.5194/bg-7-1543-2010.
- Smetacek, V., C. Klaas, V. H. Strass, P. Assmy, M. Montresor, B. Cisewski, N. Savoye, et al. 2012. « Deep carbon export from a Southern Ocean iron-fertilized diatom bloom ». *Nature* 487, n° 7407 : 313-19. doi:10.1038/nature11229.
- Somes, C. J., A. Schmittner, et M. A. Altabet. 2010. « Nitrogen Isotope Simulations Show the Importance of Atmospheric Iron Deposition for Nitrogen Fixation across the Pacific Ocean: Fe limitation of N₂ fixation ». *Geophysical Research Letters* 37, n° 23. doi:10.1029/2010GL044537.
- Somot, S., F. Sevault, M. Déqué, et M. Crépon. 2008. « 21st Century Climate Change Scenario for the Mediterranean Using a Coupled Atmosphere-ocean Regional Climate Model. » *Global and Planetary Change* 63, n° 2-3: 112-26. doi:10.1016/j.gloplacha.2007.10.003.
- Spokes, L. J., et T.D. Jickells. 1995. « Factors controlling the solubility of aerosol trace metals in the atmosphere and on mixing into seawater. » *Aquatic Geochemistry* 1, n° 4: 355-74.
- Steinberg, D. K., C. A. Carlson, N. R. Bates, R. J. Johnson, A. F. Michaels, et A. H. Knap. 2001. « Overview of the US JGOFS Bermuda Atlantic Time-series Study (BATS): a decade-scale look at ocean biology and biogeochemistry ». *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 48 (8-9): 1405-47. doi:10.1016/S0967-0645(00)00148-X.
- Stumm, W., J. J. Morgan, et J. I. Drever. 1996. « Aquatic Chemistry. » *Journal of Environmental Quality* 25, n° 5: 1162.

- Tagliabue, A., L. Bopp, J.-C. Dutay, A. R. Bowie, F. Chever, P. Jean-Baptiste, E. Bucciarelli, et al. 2010. « Hydrothermal contribution to the oceanic dissolved iron inventory ». *Nature Geoscience* 3, n° 4 : 252-56. doi:10.1038/ngeo818.
- Tanaka, T, S. Alliouane, R. G. B. Bellerby, J. Czerny, A. de Kluijver, U. Riebesell, K. G. Schulz, A. Silyakova, et J.P. Gattuso. 2013 « Effect of increased pCO₂ on the planktonic metabolic balance during a mesocosm experiment in an Arctic fjord ». *Biogeosciences*, 10 (1). pp. 315-325. DOI [10.5194/bg-10-315-2013](https://doi.org/10.5194/bg-10-315-2013).
- Tanaka, T., T. F. Thingstad, U. Christaki, J. Colombet, V. Cornet-Barthaux, C. Courties, J.-D. Grattepanche, et al. 2011. « Lack of P-Limitation of Phytoplankton and Heterotrophic Prokaryotes in Surface Waters of Three Anticyclonic Eddies in the Stratified Mediterranean Sea ». *Biogeosciences* 8 (2): 525-38. doi:10.5194/bg-8-525-2011.
- Ternon, E., C. Guieu, M.-D. Loÿe-Pilot, N. Leblond, E. Bosc, B. Gasser, J.-C. Miquel, et J. Martín. 2010. « The impact of Saharan dust on the particulate export in the water column of the North Western Mediterranean Sea. » *Biogeosciences* 7, n° 3: 809-26.
- The MERMEX group, 2011. « Marine Ecosystems Responses to climatic and anthropogenic forcings in the Mediterranean ». *Progress In Oceanography*, 91: 97-166.
- Thyssen, M., G. J. Grégori, J.-M. Grisoni, M. L. Pedrotti, L. Mousseau, L. F. Artigas, S.e Marro, N. Garcia, O. Passafiume, et M. J. Denis. 2014. « Onset of the spring bloom in the northwestern Mediterranean Sea: influence of environmental pulse events on the in situ hourly-scale dynamics of the phytoplankton community structure ». *Frontiers in Microbiology* 5. doi:10.3389/fmicb.2014.00387.
- Tortell, P. D., M. T. Maldonado, et N. M. Price. 1996. « The Role of Heterotrophic Bacteria in Iron-Limited Ocean Ecosystems. » *Nature* 383, n° 6598: 330-32. doi:10.1038/383330a0.
- Touratier, F., et C. Goyet. 2011. « Impact of the Eastern Mediterranean Transient on the distribution of anthropogenic CO₂ and first estimate of acidification for the Mediterranean Sea ». *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 58 (1): 1-15. doi:10.1016/j.dsr.2010.10.002.
- Tyrrell, T. 1999. « The relative influences of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production ». *Nature* 400, n° 6744 : 525-31.
- Usher, C. R., A. E. Michel, et V. H. Grassian. 2003. « Reactions on Mineral Dust. » *Chemical Reviews* 103, n° 12: 4883-4940. doi:10.1021/cr020657y.
- van den Berg, Constant M. G. 1995. « Evidence for organic complexation of iron in seawater. » *Marine Chemistry, The Chemistry of Iron in Seawater and its Interaction with Phytoplankton*, 50, n° 1-4: 139-57. doi:10.1016/0304-4203(95)00032-M.
- Van Vuuren, Detlef P., J. Edmonds, M. Kainuma, K. Riahi, A. Thomson, K. Hibbard, G. C. Hurtt, T. Kram, V. Krey, et J.-F. Lamarque. 2011. « The representative concentration pathways: an overview. » *Climatic change* 109: 5-31.
- Verdugo, P. 2012. « Marine Microgels. » *Annual Review of Marine Science* 4, n° 1: 375-400. doi:10.1146/annurev-marine-120709-142759.

- Verdugo, P., A. L. Alldredge, F. Azam, D. L. Kirchman, U. Passow, et P. H. Santschi. 2004. « The Oceanic Gel Phase: A Bridge in the DOM–POM Continuum ». *Marine Chemistry* 92, n° 1-4: 67-85. doi:10.1016/j.marchem.2004.06.017.
- Wagener, T., C. Guieu, et N. Leblond. 2010. « Effects of Dust Deposition on Iron Cycle in the Surface Mediterranean Sea: Results from a Mesocosm Seeding Experiment. » *Biogeosciences* 7, n° 11: 3769-81. doi:10.5194/bg-7-3769-2010.
- Wanninkhof, R., G. -H. Park, T. Takahashi, C. Sweeney, R. Feely, Y. Nojiri, N. Gruber, et al. 2013. « Global Ocean Carbon Uptake: Magnitude, Variability and Trends ». *Biogeosciences* 10, n° 3 : 1983-2000. doi:10.5194/bg-10-1983-2013.
- Williams, Richard G., et Michael J. Follows. 2011. « Ocean Dynamics and the Carbon Cycle: Principles and Mechanisms ». *Cambridge University Press*.
- Witter, A. E., D. A. Hutchins, A. Butler, et G. W. Luther III. 2000. « Determination of conditional stability constants and kinetic constants for strong model Fe-binding ligands in seawater ». *Marine Chemistry* 69 (1-2): 1-17. doi:10.1016/S0304-4203(99)00087-0.
- Wu, J., E. Boyle, W. Sunda, et L.-S. Wen. 2001. « Soluble and Colloidal Iron in the Oligotrophic North Atlantic and North Pacific. » *Science* 293, n° 5531: 847-49. doi:10.1126/science.1059251.
- Wuttig, K., T. Wagener, M. Bressac, A. Dammshäuser, P. Streu, C. Guieu, et P. L. Croot. 2013. « Impacts of Dust Deposition on Dissolved Trace Metal Concentrations (Mn, Al and Fe) during a Mesocosm Experiment. » *Biogeosciences* 10, n° 4: 2583-2600. doi:10.5194/bg-10-2583-2013.
- Yao, W., R. H. Byrne, et R. D. Waterbury. 1998. « Determination of nanomolar concentrations of nitrite and nitrate in natural waters using long path length absorbance spectroscopy. » *Environmental science & technology* 32, n° 17: 2646-49.
- Ye, Y., T. Wagener, C. Völker, C. Guieu, et D. A. Wolf-Gladrow. 2011. « Dust Deposition: Iron Source or Sink? A Case Study. » *Biogeosciences* 8, n° 8: 2107-24. doi:10.5194/bg-8-2107-2011.
- Yoshimura, T., J. Nishioka, K. Suzuki, H. Hattori, H. Kiyosawa, et Y. W. Watanabe. 2010. « Impacts of Elevated CO₂ on Organic Carbon Dynamics in Nutrient Depleted Okhotsk Sea Surface Waters ». *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 395 (1-2): 191-98. doi:10.1016/j.jembe.2010.09.001.
- Zeebe, R. E. 2001. « CO₂ in Seawater: Equilibrium, Kinetics, Isotopes ». *Gulf Professional Publishing*.
- Zhang, J.-Z. 2000. « Shipboard automated determination of trace concentrations of nitrite and nitrate in oligotrophic water by gas-segmented continuous flow analysis with a liquid waveguide capillary flow cell. » *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 47, n° 6: 1157-71. doi:10.1016/S0967-0637(99)00085-0.
- Zhang, J.-Zhong, et J. Chi. 2002. « Automated Analysis of Nanomolar Concentrations of Phosphate in Natural Waters with Liquid Waveguide ». *Environmental Science & Technology* 36 (5): 1048-53. doi:10.1021/es011094v.

- Zimmer, L. A., et G. A. Cutter. 2012. « High resolution determination of nanomolar concentrations of dissolved reactive phosphate in ocean surface waters using long path liquid waveguide capillary cells (LWCC) and spectrometric detection ». *Limnology and Oceanography: Methods* 10: 568-80. doi:10.4319/lom.2012.10.568.

ANNEXES

- ❖ Protocole de fabrication de la colonne Cd-Cu
- ❖ Supplementary Material 1 – Louis et al. (2015) publié dans *Frontiers in Marine Science*
- ❖ Supplementary Material 2 – Louis et al. en préparation pour une soumission à
Biogeosciences
- ❖ Supplementary Material 3 – Louis et al. à *Geophysical Research Letters*
- ❖ Curriculum vitae

Protocole de formation de la colonne Cd-Cu

- Peser environ 6 g de cadmium²² sous hotte dans un erlen.
- Laver le cadmium 2 fois avec une solution d'acide chlorhydrique *Merck*TM *Suprapur*[®] à 10 % et 2 fois avec de l'eau ultra pure.
- Préparer une solution de sulfate de cuivre à 2% : peser 10 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dans 500 ml d'eau ultra pure.
- Traiter le cadmium avec la solution de CuSO_4 . Laisser agir 10-15min. Dans le même erlen, laver 3 à 4 fois avec de l'eau ultra pure jusqu'à ce que la coloration et le précipité marron disparaissent. Le cadmium traité ne doit pas être en contact avec l'air.
- Avant de remplir la colonne (tube rigide d'un diamètre d'environ 2 mm), mettre au bout suffisamment de laine de verre, la brancher avec un tygon de diamètre 2.06 mm (violet) et la remplir du tampon Imidazole. Utiliser un système de syphon.
- Transvaser le cadmium dans la colonne sans contact avec l'air et en évitant d'insérer des bulles.
- Lorsque la colonne est remplie (longueur d'environ 10-12 cm), mettre au bout de la laine de verre.
- La colonne, installée, est préalablement lavée avec le tampon Imidazole. Pour l'activer, faire passer une solution $[\text{NO}_3^-] = 10 \mu\text{M}$ (dilution 1/1000 avec solution à 10 mM)

²² SIGMA-ALDRICH : cadmium, granules, particle size 30-80 mesh, 99+% - 25g

Supplementary Material 1

Dissolved inorganic nitrogen and phosphorus dynamics in abiotic seawater following an artificial Saharan dust deposition

J. Louis^{1,2}, **M. Bressac**^{1,2,3}, **ML. Pedrotti**^{1,2} and **C. Guieu**^{1,2,*}

¹Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR 7093, LOV, Observatoire océanologique, Villefranche/mer, France

²CNRS, UMR 7093, Laboratoire d'Océanographie de Villefranche/Mer (LOV), Observatoire océanologique, Villefranche/mer, France

³now at : Institute for Marine and Antarctic Studies, University of Tasmania, Private Bag 129, Hobart, Tasmania 7001, Australia

* **Correspondence:** Cécile Guieu, guieu@obs-vlfr.fr

Supplementary Table 3. Concentration of nitrate (NO_3^- μM) and phosphate (PO_4^{3-} nM) measured at 3 depths (0.1, 0.3 and 0.6 m) along the course of May, October and February minicosm experiments.

time (h) after seeding	depth (m)	May		October		February	
		$[\text{NO}_3^-]$ μM	$[\text{PO}_4^{3-}]$ nM	$[\text{NO}_3^-]$ μM	$[\text{PO}_4^{3-}]$ nM	$[\text{NO}_3^-]$ μM	$[\text{PO}_4^{3-}]$ nM
0	-0,1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	-0,3	0,03	3	0,03	6	0,33	7
	-0,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA
0,5	-0,1	0,17	31	0,02	18	0,24	45
	-0,3	0,12	45	0,12	13	0,22	14
	-0,6	0,09	33	0,15	11	0,31	29
1	-0,1	0,13	15	0,03	22	0,84	68
	-0,3	0,15	13	0,14	9	0,17	27
	-0,6	0,13	18	0,10	14	0,40	25
3	-0,1	0,08	11	7,05	15	1,43	32
	-0,3	0,14	10	1,64	5	1,17	25
	-0,6	0,15	13	0,11	6	0,77	83
6	-0,1	0,06	6	12,14	16	1,39	20
	-0,3	0,04	8	3,13	9	0,77	13
	-0,6	0,17	8	0,07	8	0,29	15
12	-0,1	0,10	7	17,22	15	1,32	25
	-0,3	0,17	7	4,47	10	0,36	10
	-0,6	0,18	7	0,20	8	0,08	18
16	-0,1	31,69	46	24,67	13	1,26	9
	-0,3	4,05	12	6,95	10	1,37	7
	-0,6	0,24	7	0,06	8	0,11	9
24	-0,1	63,82	24	22,42	12	0,41	11
	-0,3	3,69	9	4,32	6	1,07	6
	-0,6	0,13	8	0,06	6	0,14	10
31	-0,1	60,42	44	22,22	11	1,16	9
	-0,3	7,52	8	6,37	9	0,78	7
	-0,6	0,22	5	0,08	5	0,50	13
48	-0,1	57,42	26	15,96	10	0,86	18
	-0,3	5,62	8	2,16	7	0,58	12
	-0,6	0,29	7	0,09	10	0,54	16
72	-0,1	46,58	16	12,02	9	0,38	7
	-0,3	2,41	6	6,36	9	0,37	7
	-0,6	0,35	3	0,05	7	0,17	13
96	-0,1	NA	NA	23,22	6	0,96	9
	-0,3	NA	NA	10,55	7	0,38	16
	-0,6	NA	NA	0,23	5	0,48	6
120	-0,1	NA	NA	23,74	6	NA	5
	-0,3	NA	NA	NA	7	NA	6
	-0,6	NA	NA	NA	5	NA	6
144	-0,1	43,20	8	NA	8	2,41	7
	-0,3	2,76	6	NA	5	NA	6
	-0,6	0,63	4	NA	6	1,08	6

Supplementary Table 2. Number concentration ($N(D)$ part.L⁻¹.μm⁻¹) and average diameter (D_{avg} μm) of particles measured at 3 depths (0.1, 0.3 and 0.6 m) along the course of May, October and February minicoms experiments.

time (h) after seeding	depth (m)	May		October		February	
		$N(D)$ part.L ⁻¹ .μm ⁻¹	D_{avg} μm	$N(D)$ part.L ⁻¹ .μm ⁻¹	D_{avg} μm	$N(D)$ part.L ⁻¹ .μm ⁻¹	D_{avg} μm
0	-0,1	NA	NA	NA	NA	NA	NA
	-0,3	6,5E+09	0,98	4,9E+08	0,90	4,8E+08	0,83
	-0,6	NA	NA	NA	NA	NA	NA
0,5	-0,1	1,9E+09	2,05	1,2E+09	1,20	9,3E+08	2,15
	-0,3	5,8E+08	1,84	1,5E+09	0,98	1,2E+09	0,99
	-0,6	3,8E+08	1,45	5,5E+08	0,93	4,9E+08	0,94
1	-0,1	9,6E+08	1,88	5,7E+08	1,59	4,4E+09	1,72
	-0,3	2,0E+09	1,97	4,3E+08	1,72	9,2E+08	1,96
	-0,6	6,4E+08	1,54	5,9E+08	0,96	3,5E+08	0,97
3	-0,1	7,0E+08	1,65	4,3E+09	1,21	6,0E+09	1,78
	-0,3	2,2E+09	2,12	1,4E+09	1,36	4,8E+09	1,87
	-0,6	1,0E+09	2,04	6,9E+08	1,17	1,4E+09	1,61
6	-0,1	7,3E+08	1,47	5,0E+09	1,13	1,3E+10	1,62
	-0,3	5,3E+08	1,32	2,9E+09	1,14	1,3E+10	1,59
	-0,6	1,8E+09	2,03	8,8E+08	1,02	4,8E+09	1,51
12	-0,1	3,2E+08	1,51	5,9E+10	0,83	2,7E+10	1,35
	-0,3	7,7E+08	1,62	2,8E+10	0,84	8,6E+09	1,46
	-0,6	8,3E+08	1,60	2,4E+10	0,81	6,5E+09	1,49
16	-0,1	NA	NA	5,8E+10	0,83	2,1E+10	1,29
	-0,3	NA	NA	3,2E+10	0,83	1,4E+10	1,36
	-0,6	NA	NA	7,3E+09	0,81	4,7E+09	1,28
24	-0,1	2,5E+10	0,98	2,8E+10	0,97	1,4E+10	1,11
	-0,3	1,4E+10	1,07	2,4E+10	0,92	6,1E+09	1,20
	-0,6	7,0E+09	1,09	1,7E+10	0,82	2,9E+09	1,22
31	-0,1	3,1E+10	1,00	2,8E+10	0,93	2,2E+10	1,08
	-0,3	2,1E+10	1,02	1,8E+10	0,94	6,5E+09	1,14
	-0,6	5,4E+09	1,15	9,9E+09	0,86	4,7E+09	1,22
48	-0,1	2,0E+10	0,95	3,1E+10	0,90	5,8E+09	1,03
	-0,3	9,2E+09	1,12	2,8E+10	0,92	6,2E+09	1,04
	-0,6	4,1E+09	1,23	9,8E+09	0,88	7,3E+09	1,02
72	-0,1	1,9E+10	0,90	2,5E+10	0,89	4,4E+09	1,09
	-0,3	8,1E+09	1,11	5,2E+10	0,93	5,4E+09	1,07
	-0,6	4,0E+09	1,25	8,3E+09	0,91	7,5E+09	1,03
96	-0,1	NA	NA	4,1E+10	0,87	3,7E+09	1,10
	-0,3	NA	NA	1,3E+10	0,98	4,7E+09	1,13
	-0,6	NA	NA	6,7E+09	0,96	5,2E+09	0,98
120	-0,1	NA	NA	1,8E+10	0,89	5,9E+09	0,93
	-0,3	NA	NA	2,1E+10	0,93	9,5E+09	0,96
	-0,6	NA	NA	5,1E+09	0,98	6,3E+09	0,96
144	-0,1	1,6E+10	0,85	2,7E+10	0,89	1,4E+10	0,92
	-0,3	1,0E+10	1,01	1,2E+10	0,96	2,6E+10	0,96
	-0,6	7,2E+09	1,08	5,4E+09	0,99	6,3E+10	0,86

Supplementary Material 2

Is nutrients bioavailability modified after a Saharan event under high $p\text{CO}_2$ condition?

J. Louis^{1,*}, F. Gazeau¹ and C. Guieu¹

¹Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, UMR 7093, LOV, Observatoire océanologique, F-06230, Villefranche-sur-mer, France

* Correspondence: justine.louis35@gmail.com

Supplementary Table 4. Concentration of dissolved organic nitrogen (DON_{UV}) (μM) after photo-oxidation during CHIPIE 1, 2 and 3 in both minicosms (non-acidified and acidified).

Sampling	CHIPIE 1		CHIPIE 2		CHIPIE 3	
	non-acidified	acidified	non-acidified	acidified	non-acidified	acidified
C1	5,9	5,7	6,5	5,9	5,0	4,9
C2	5,2	6,4	5,8	4,8	4,6	5,5
T1	NA	NA	6,0	5,5	6,1	6,0
T1,5	8,0	6,3	NA	NA	NA	NA
T3	NA	NA	5,6	5,6	4,0	5,2
T5,5	5,5	8,8	NA	NA	NA	NA
T6	NA	NA	7,4	7,1	4,4	6,1
T12	NA	NA	5,6	5,1	3,7	4,8
T12,5	6,5	NA	NA	NA	NA	NA
T14	8,0	7,1	NA	NA	NA	NA
T15,5	8,2	8,3	NA	NA	NA	NA
T16	NA	NA	6,4	4,9	5,0	5,1
T24	8,1	NA	3,9	5,2	4,9	5,4
T31	NA	NA	5,5	6,6	3,9	4,9
T48	8,4	9,2	6,9	NA	4,7	5,5
T72	NA	6,2	6,9	7,5	2,7	4,6
T96	7,6	8,1	6,4	8,5	3,9	3,7
T120	5,9	NA	7,6	10,6	5,5	NA
T144	6,5	4,7	6,3	10,7	5,1	5,5

Supplementary Table 2. Concentration of dissolved organic phosphorus (DOP_{UV}) (nM) after photo-oxidation during CHIPIE 1, 2 and 3 in both minicosms (non-acidified and acidified).

Sampling	CHIPIE 1		CHIPIE 2		CHIPIE 3	
	non-acidified	acidified	non-acidified	acidified	non-acidified	acidified
C1	NA	NA	32,6	30,6	15,2	NA
C2	9,3	9,5	17,9	16,0	20,6	16,5
T1	NA	NA	37,9	10,2	25,4	28,2
T1,5	NA	NA	NA	NA	NA	NA
T3	NA	NA	NA	19,8	NA	NA
T5,5	27,2	14,5	NA	NA	NA	NA
T6	NA	NA	26,2	16,9	24,1	29,2
T12	NA	NA	20,5	24,7	18,3	NA
T12,5	5,5	7,5	NA	NA	NA	NA
T14	6,2	5,8	NA	NA	NA	NA
T15,5	13,1	4,5	NA	NA	NA	NA
T16	NA	NA	47,0	38,0	22,7	18,4
T24	NA	NA	22,0	15,0	NA	NA
T31	NA	NA	NA	21,3	18,4	25,9
T48	11,4	8,2	21,7	20,5	19,1	38,4
T72	16,3	9,5	25,5	31,7	33,4	25,6
T96	NA	NA	24,4	NA	NA	NA
T120	12,0	18,2	NA	NA	31,3	28,1
T144	7,9	12,1	22,0	14,5	NA	NA

Supplementary Material 3

The fate of the organic matter after a Saharan dust event with high $p\text{CO}_2$ seawater

J. Louis^{1,*}, M.L. Pedrotti¹, F. Gazeau¹ and C. Guieu¹

¹Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, CNRS, UMR 7093, LOV, Observatoire océanologique, F-06230, Villefranche-sur-mer, France

* Correspondence: justine.louis35@gmail.com

Supplementary Table 5. Concentration of dissolved organic carbon (DOC) (μM) after photo-oxidation during CHIPIE 1, 2 and 3 in both minicosms (non-acidified and acidified).

Sampling	CHIPIE 1		CHIPIE 2		CHIPIE 3	
	non-acidified	acidified	non-acidified	acidified	non-acidified	acidified
C1	98	NA	78	80	58	54
C2	78	NA	80	82	60	64
T1	NA	NA	81	90	66	73
T1,5	106	6,3	NA	NA	NA	NA
T6	NA	NA	103	93	66	61
T12	NA	NA	87	97	64	65
T12,5	87	94	NA	NA	NA	NA
T14	101	100	NA	NA	NA	NA
T16	NA	NA	NA	NA	NA	NA
T24	103	111	102	83	64	70
T31	83	114	NA	NA	NA	NA
T48	NA	NA	88	96	73	66
T55	85	86	NA	NA	NA	NA
T72	NA	NA	91	82	56	66
T79	91	81	85	97	NA	NA
T96	81	87	NA	NA	70	61
T120	NA	NA	NA	NA	NA	NA
T144	87	90	81	83	62	57

Curriculum Vitae

Justine Louis

Née le 9 mars 1989 (France)

*Laboratoire d'Océanographie de
Villefranche sur mer (LOV)*

CNRS, UPMC, UMR 7093

*Bâtiment Jean Maetz – chemin
du lazaret*

*06234 Villefranche sur mer –
France*

[*justine.louis@obs-vlfr.fr*](mailto:justine.louis@obs-vlfr.fr)

[*justine.louis35@gmail.com*](mailto:justine.louis35@gmail.com)

Tel : 04.93.76.39.87

Portable : 06.30.79.28.92

Formation

Thèse de doctorat : Soutenance prévue en novembre 2015,

Laboratoire d'Océanographie de Villefranche sur mer (LOV), France

**Master recherche Sciences Chimique de
L'environnement Marin, obtenu en 2012,**

Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM), Brest, France

**Licence professionnelle Méthodes et Techniques
d'Analyses Chimiques et Biologiques, obtenue en 2010,**

Université Aix-Marseille, France

**Diplôme Universitaire Technologique de chimie,
obtenu en 2009,**

Université Rennes 1, France

Recherche

10/2012 – 10/2015

Laboratoire d'Océanographie de Villefranche sur mer, France

Thèse de doctorat sous la direction de Dr. Guieu

« Comportement des éléments biogéochimiques en Méditerranée à l'interface air-mer dans un contexte de changement climatique ».

- Expériences de simulation de dépôt de poussières sahariennes et d'acidification en mésocosmes et « minicosmes »
- Expériences et analyses en salle blanche
- Prélèvements en conditions ultra-propres
- Analyses du phosphate et nitrate à niveau nanomolaire par LWCC (Liquiq Waveguide Capillary Cell)
- Analyses du fer dissous par FIA

- Analyses de la matière organique dissoute : DOC, aCDOM
- Analyses du carbone particulaire par CHN
- Analyses des particules exopolymériques transparentes (TEP) par spectrométrie et microscopie
- Analyses des nutriments organiques dissous (fraction labile) : DON et DOP par UV-oxydation
- Analyses de la distribution de taille des particules par Coulter Counter
- Analyses bactérie/virus par cytométrie de flux

01/2012-06/2012

Laboratoire d'Océanographie de Villefranche sur mer, France

Stage de master 2 recherche sous la direction de Dr. Guieu

« Mise au point analytique des nitrates à niveau nanomolaire et étude de l'impact du forçage atmosphérique sur le comportement de l'azote dans un écosystème oligotrophe »

- Analyses des nitrates par LWCC (Liquid Waveguide Capillary Cell)
- Expériences de simulation de dépôt de poussières sahariennes en « minicosme »

01/2011-03/2011

Institut Universitaire Européen de la mer, pôle de Spectrométrie Océan (UMR 6538), France

Stage de master 1 sous la direction de Mme Bassoullet et Dr. Waeles

« Mise au point de l'analyse des métaux à l'état de trace dans les pluies océaniques par l'ICP-MS »

- Travail en salle blanche
- Analyses des métaux trace par ICP-MS

03/2010-07/2010

Université Aix-Marseille, Laboratoire Chimie de Provence (LCP, UMR 6264)

Stage de licence professionnelle sous la direction de Dr. Marchand

« Analyse de la fraction organique de l'aérosol atmosphérique par GC/MS »

- Préparation des échantillons d'aérosols
- Analyses par GC/MS

Revues internationales à comité de lecture

Louis, J., Pedrotti, M.L., Gazeau, F., et Guieu C., soumis. The fate of the organic matter after a Saharan dust event with high $p\text{CO}_2$ seawater. *Geophysical Research Letters*.

Louis, J., Guieu, C., et Gazeau, F., en révision. Nutrient dynamics under different ocean acidification scenarios in a low nutrient low chlorophyll system: the Northwestern Mediterranean Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.

Gazeau, F., Sallon, A., Maugendre, L., **Louis, J.**, Dellisanti, W., Gaubert, M., Lejeune, P., Gobert, S., Alliouane, S., Taillandier, V., Louis, F., Obolensky, G., Grisoni, J.-M. et Guieu,

C., soumis. First mesocosm experiments to study the impacts of ocean acidification on plankton communities in the NW Mediterranean Sea (MedSeA project). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*.

Schwieber, A. N., Rose, C., Asmi, E., Ebling, A. M., Landing, W. M., Marro, S., Pedrotti, M.-L., Sallon, A., Iuculano, F., Agusti, S., Tsiola, A., Pitta, P., Louis, J., Guieu, C., Gazeau, F., et Sellegri, K.: Primary marine aerosol emissions from the Mediterranean Sea during pre-bloom and oligotrophic conditions: correlations to seawater chlorophyll *a* from a mesocosm study, *Atmos. Chem. Phys.*, 15, 7961-7976, doi:10.5194/acp-15-7961-2015, 2015

Louis, J., Bressac, M., Pedrotti, M.L., et Guieu, C. (2015) Dissolved inorganic nitrogen and phosphorus dynamics in seawater following an artificial Saharan dust deposition event. *Front. Mar. Sci.* 2:27.doi: 10.3389/fmars.2015.00027

Maugendre, L., Gattuso, J. P., **Louis, J.**, de Kluijver, A., Marro, S., Soetaert, K., et Gazeau, F. (2014). Effect of ocean warming and acidification on a plankton community in the NW Mediterranean Sea. *ICES Journal of Marine Science*, fsu161. doi:10.1093/icesjms/fsu161

Article en préparation

Louis, J., Gazeau, F., et Guieu, C., (issue spéciale Mermex). Is nutrients bioavailability modified after a Saharan event under high $p\text{CO}_2$ condition? *Biogeosciences Discussion*

Communication orale

Louis, J., Guieu, C., Gazeau, F., in review. Is nutrient dynamics sensitive to ocean acidification? Results from two mesocosms experiments in the Mediterranean Sea. Goldschmidt Conference, Sacramento, USA, 2014

Poster

Guieu, C., **Louis, J.**, Caffin, M., et Bonnet, S. Aerosol inputs of new nutrients (N, P, Fe) along a zonal along transect (20° S) in the SW Pacific ocean. SOLAS Open Science Conference, Kiel, Allemagne, 2015.

Louis, J., Bressac, M., Pedrotti, M.L., and Guieu, C. New nutrients (nitrogen and phosphorus) dynamic following a Saharan dust deposition. Goldschmidt Conference, Sacramento, EU, 2014

Bressac, M., Guieu, C., **Louis, J.**, and Pedrotti, M.L. Impact of Saharan dust deposition on dissolved-colloidal-particulate nutrient distribution in seawater. SOLAS Open Science Conference, Cle Elum, USA, 2012

Expériences de terrain

Juin-juillet 2012 : **MedSea I**, Etude de l'effet de l'acidification sur l'écosystème pélagique en Méditerranée via des expériences en mésocosmes. Stareso, Corse, France

Février-mars 2013 : **MedSea II**, Etude de l'effet de l'acidification sur l'écosystème pélagique en Méditerranée via des expériences en mésocosmes. Villefranche sur mer, France

Février-avril 2015 : **OUTPACE**, Etude de la biogéochimie et de la diversité biologique dans la zone Pacifique tropical sud-ouest considérée comme un « désert biologique ». Transect Nouméa-Papeete à bord de l'Atalante

Programmes de recherche

MedSea : Mediterranean Sea Acidification in a Changing Climate. Projet européen

CHIPIE, MERMEX (WP4) : Comportement des éléments d'intérêt biogéochimiques et du carbone Particulaire aux Interfaces atmosphère-océan et continent-océan dans un contexte d'évolution des conditions Environnementales

OUTPACE : Oligotrophy to ULtra-oligotrophy PACific Experiment

Co-encadrement de stage

Florent Chevalier-Détour, Stage Licence 3, 2013

Alexandra Aymard, Stage IUT 2^{ème} année, 2014

Outreach

Participation à la **Fête de la science** – octobre 2013 et octobre 2014

Organisation et participation à **La Journée des Jeunes Chercheurs de l'OOV** – <http://biodev.obs-vlfr.fr/j2c/>

- Septembre 2014 : « Science et Société »

- Septembre 2015 : « Big data, données, données, donnez-moi ! »

Résumé. L'objectif de cette thèse a été d'étudier le comportement de certains éléments biogéochimiques dans le milieu marin (carbone, azote, phosphore, fer) dans un contexte de changement climatique, dans un environnement assimilable à un modèle de l'océan mondial et particulièrement soumis aux pressions anthropiques : la Méditerranée. Grâce à des méthodes analytiques et expérimentales alternatives, nous avons évalué l'effet biogéochimique de deux forçages : l'acidification de l'océan et les dépôts de poussières sahariennes. Dans un premier temps, nous avons montré que dans une région dite Low Nutrient Low Chlorophyll (LNLC) l'effet de l'acidification de l'océan sur les cycles marins de l'azote (N), du phosphore (P) et du fer (Fe) sera surement négligeable. L'acidification des eaux de surface appauvries en N et P n'affecterait pas la spéciation de ces éléments, et la composition de la communauté planctonique, n'étant pas significativement modifiée, n'induirait pas de changement dans la dynamique des nutriments inorganiques. Dans un deuxième temps, les expériences menées pendant cette thèse nous ont permis de mieux paramétriser les processus post-dépôts des nutriments atmosphériques à la surface de l'eau de mer lors d'un événement saharien. Les échanges dissous/particulaire ont lieu sur une courte échelle de temps. Ils sont à la fois contrôlés par la dynamique verticale des particules et la nature de la matière organique dissoute (DOM) pouvant s'agréger sur les particules lithogéniques. Dans des conditions d'acidification de l'océan, alors que la dissolution des éléments anthropiques adsorbés sur les poussières sahariennes, tels que l'azote inorganique, ne sera pas affectée, celle des éléments d'origine crustale (P et Fe) pourrait être accrue ou accélérée selon les agrégats organique-minéral formés. Le rôle majeur du processus d'agrégation dans la mise à disposition des nutriments atmosphériques a été mis en évidence par une rapide et importante formation abiotique de particules exopolymériques transparentes (TEP) juste après le dépôt de poussières sahariennes. Moteur de la pompe lithogénique du carbone, la diminution du taux de formation abiotique des TEP sous des conditions de pression partielle en dioxyde de carbone ($p\text{CO}_2$) élevée, impliquerait un flux de carbone organique particulaire (POC) moins important à l'échelle du dépôt atmosphérique. Finalement, un changement de la biodisponibilité des nutriments atmosphériques pourrait impacter la pompe biologique de carbone à l'échelle d'un événement saharien, et in fine affecter la pompe lithogénique liée à la nature de la DOM.

MOTS CLEFS : acidification de l'océan – événement saharien – biodisponibilité des nutriments – agrégation – dissolution – pompe biologique – pompe lithogénique

Abstract. The objective of this thesis was to study the fate of some biogeochemical elements in the marine system (carbon, nitrogen, phosphorus and iron) in the context of climate change in the environment related as a model of the global ocean and particularly sensible to anthropogenic pressures: the Mediterranean Sea. By using alternatives methodologies (analytical and experimental), we assessed the biogeochemical effect of two forcings: the ocean acidification and the dust deposition. Firstly, we showed that in the Low Nutrient Low Chlorophyll (LNLC) area the effect of the ocean acidification on the marine cycle of nitrogen (N), phosphorus (P) and iron (Fe) will be likely negligible. The pH decrease of the surface waters depleted in N and P would not affect the speciation of these elements, and the absence of effect on the composition of the plankton community would not lead to a shift in the dynamic of inorganic nutrients. Secondly, the experiments performed during this thesis allowed a better parametrization of the post-depositional processes of atmospheric nutrients in the surface seawater after a Saharan event. The exchanges dissolved/particulate occurred in the short timescale. They were controlled by both the particles dynamic and the nature of the dissolved organic matter (DOM) that can aggregate with the lithogenic particles. Under ocean acidification conditions, while the dissolution of anthropogenic elements adsorbed onto dust, such as the inorganic nitrogen, will not be affected, the dissolution of the crustal elements (P and Fe) could be higher and faster according the formation of organic-dust aggregates. The major role of the aggregation process on the availability of atmospheric nutrients was highlighted by the rapid and large abiotic formation of transparent exopolymeric particles (TEP) following the dust deposition to the surface waters. Driver of the lithogenic carbon pump, the decrease in the abiotic formation rate of TEP under high partial pressure of carbon dioxide ($p\text{CO}_2$) conditions would lead to a less efficient of the flux of particulate organic carbon (POC) at the event timescale. Finally, a change in the bioavailability of atmospheric nutrients could impact the biological carbon pump at the event timescale, and ultimately it could affect the lithogenic pump linked to the nature of DOM.

KEYWORDS: ocean acidification – Saharan event – bioavailability of atmospheric nutrients – aggregation – dissolution – biological pump – lithogenic pump