

# Sur le mystère du bilan océanique d'azote encore non bouclé et comment les organismes diazotrophes pourraient l'équilibrer: Analyse du contrôle par la ressource en phosphore

-- Ce stage s'insère dans un travail collaboratif international associant le LOV (Villefranche sur Mer, S. Rabouille), BOREA (Université de Caen, P. Claquin) et LDEO (New York, S. Duhamel) --

(English on page 2)

La quantification du bilan global d'azote dans l'océan mondial reste, à ce jour, l'objet d'intenses débats scientifiques. Le mystère est que les estimations actuelles des sources (apports d'azote nouveau dans l'océan de surface) et puits (pertes d'azote par dénitrification et anammox) ne s'équilibrent pas... La fixation d'azote (N<sub>2</sub>) par les cyanobactéries est la principale source d'azote en milieu océanique. Les principaux fixateurs d'azote incluent les genres *Trichodesmium* (libre) et *Richelia* (endosymbionte), qui sont des cyanobactéries filamenteuses. Bien que certaines cyanobactéries unicellulaires puissent aussi fixer l'azote, leur rôle dans la biogéochimie des océans est resté ignoré pendant de nombreuses années. La découverte, au début des années 2000, que les cyanobactéries unicellulaires (UCYN) sont en fait largement présentes et actives dans l'océan ouvert et contribuent substantiellement aux bilans d'azote, a apporté un nouveau regard sur le cycle de l'azote dans les océans.

En tant que seul représentant cultivé du groupe UCYN-B, *Crocosphaera* sp est un organisme modèle pour étudier au laboratoire le potentiel de fixation d'azote chez les UCYN. Les UCYN autotrophes sont essentiellement confinés aux régions (sub)tropicales et abondent donc dans les régions océaniques les plus oligotrophes, où la croissance phytoplanctonique est largement limitée par la disponibilité en nutriments. Comme la capacité des UCYN à croître en utilisant N<sub>2</sub> explique logiquement leur compétitivité dans les eaux très pauvres en azote, il a été proposé que la disponibilité en phosphore inorganique (DIP) et/ou en fer limite(nt) la fixation d'azote à l'échelle globale. Néanmoins, l'efficacité de croissance vis-à-vis de la ressource en P est moins bien décrite que vis-à-vis du fer. Il a également été suggéré que les diazotrophes seraient capables d'utiliser le phosphore organique dissous (DOP), ce qui aurait pour effet d'augmenter leur capacité de survie de croissance dans des milieux fortement appauvris en phosphate.

**Objectif :** l'objectif de ce sujet de stage est d'étudier la capacité de croissance du diazotrophe *Crocosphaera watsonii* en regard de la quantité et qualité de phosphore disponible dans le milieu. Le stage va consister en la mise en place de cultures au laboratoire, au moyen d'un dispositif automatisé et piloté par ordinateur. Ce dispositif permet un étroit suivi de la dynamique de croissance des cultures, à des échelles de temps pertinentes pour l'organisme. Après avoir effectué une analyse de la littérature actuelle sur la nutrition phosphorée, l'étudiant(e) va tester la capacité de croissance sur différents substrats phosphorés, puis analyser l'efficacité photosynthétique et de croissance en fonction de la source en P. En plus des paramètres standards de croissance usuellement suivis (biomasse, nutriments résiduels, etc), le contenu en P organique des cellules, l'efficacité photosynthétique (mesures de fluorescences et marquage <sup>13</sup>C pour analyses spectrométriques) et l'activité de fixation d'azote (méthode de l'acétylène et marquages au <sup>15</sup>N) seront également monitorés dans les cultures.

**Résultats attendus :** Cette expérience va permettre de décrire l'impact d'une carence en P sur la croissance et les processus mis en œuvre pour mettre en place l'utilisation de substrats phosphorés organiques pour la croissance. Des expériences préliminaires ont été menées avec succès, qui promettent des résultats très originaux pour ce stage. Les données acquises seront aussi essentielles à la calibration et l'amélioration des modèles mathématiques développés actuellement par le laboratoire d'accueil et ses partenaires, visant à représenter la croissance des diazotrophes et leur impact sur les bilans d'azote à l'échelle globale. Ce stage sera aussi l'occasion pour l'étudiant(e) d'interagir avec les chercheurs expérimentés de deux autres laboratoires et commencer ainsi de se construire son propre réseau national et international de collaborations.

**Encadrement :** Ce stage se fera sous la responsabilité de Sophie Rabouille (LOV), en interaction avec Pascal Claquin (BOREA, Caen university) et Solange Duhamel (LDEO, Columbia University, USA). Les expériences seront menées au LOV, en collaboration étroite avec les unités BOREA (efficacité photosynthétique, carence en DIP) et LDEO (dynamique du P, mesures de POP, phosphatase alcaline). Une telle interaction offrira à l'étudiant(e) une expérience approfondie sur la culture de phytoplancton et les techniques récentes permettant de caractériser les dynamiques de croissance et biogéochimie de la population. L'étudiant(e) va ainsi acquérir des connaissances à la fois sur les processus à grande échelle (biogéochimie de l'océan, cycle de N, diversité des diazotrophes...) et à petite échelle (écophysiologie du phytoplancton, fixation d'azote)

**Lieu du stage :** Laboratoire d'Océanographie de Villefranche (LOV), UMR 7093, CNRS & Université Paris VI - Station Zoologique-B.P. 28 F-06234, Villefranche-Sur-Mer.

Un logement à la station marine est possible.

<b>Contacts</b>	Sophie Rabouille,	<a href="mailto:srabouille@obs-vlfr.fr">srabouille@obs-vlfr.fr</a>	Phone +33(0) 493 763 832
	Pascal Claquin,	<a href="mailto:pascal.claquin@unicaen.fr">pascal.claquin@unicaen.fr</a>	Phone +33(0) 231 565 112
	Solange Duhamel,	<a href="mailto:sduhamel@ldeo.columbia.edu">sduhamel@ldeo.columbia.edu</a>	Phone +01 845-365-8774

Ce stage pourrait se poursuivre par une thèse selon la disponibilité de divers financements

**Bibliographie :** voir page 3

# On the mystery of a still unclosed, Nitrogen budget in the world ocean and how diazotrophs participate in its balance: A possible control by the phosphorus resource

– – This internship is part of an international, collaborative work between LOV (S. Rabouille), BOREA Caen University (P. Claquin) and LDEO New York (S. Duhamel) —

Quantification of the global ocean nitrogen budget is, to date, still subject to intense debates. The conundrum is that current estimates of sources (inputs of new nitrogen into the surface ocean) and sinks (denitrification and anammox) do not match. Nitrogen (N<sub>2</sub>) fixation by cyanobacteria is the main source of fixed nitrogen to the ocean. The predominant open-ocean N<sub>2</sub> fixers include the filamentous *Trichodesmium* and the endosymbiont *Richelia*. Some unicellular cyanobacteria can also fix nitrogen, although they were, for many years, not recognized as main actors in the open-ocean biogeochemistry. The discovery that unicellular diazotrophic cyanobacteria (UCYN) actually thrive in open oceans and contribute substantially to the oceanic nitrogen budget prompted a reconsideration of the role of different N<sub>2</sub> fixers in the oceanic nitrogen cycle.

*Crocosphaera* sp is the only cultivated representative of the open-ocean UCYN-B and as such, represents a model organism to study the potential for nitrogen fixation in UCYN. Autotrophic UCYN are largely confined to the tropics and subtropics, and therefore thrive in the most oligotrophic areas of the World ocean. While their ability to grow on N<sub>2</sub> straightforwardly explains their competitiveness in N-depleted regions, it has been hypothesized that phosphorus and/or iron bioavailability would limit nitrogen fixation at the global scale. However, the growth efficiency of UCYN in regard to the phosphorus source is much less understood than for iron and, to deepen the mystery, it was also shown that diazotrophs can use some organic P-containing molecules, which would therefore increase their capacity to survive in phosphate (PO<sub>4</sub>)-depleted marine environments.

The goal of the present master thesis is to investigate the growth efficiency of the nitrogen fixer *Crocosphaera watsonii* in regard to phosphorus quantity and quality. The internship will consist in setting up cultures, using a cutting edge, automated experimental system available at LOV. This culture device will allow a close monitoring of growth dynamics, at time scales relevant for the organism. Following a literature survey on P acquisition, the student will test the ability of *Crocosphaera* to grow on different inorganic and organic P compounds and then analyze the photosynthetic and growth efficiency as a function of the P source. In addition to the standard parameters usually recorded to describe cultures (biomass, residual nutrients in the medium, etc.), the organic phosphorus content, as well as the photosynthetic efficiency (fluorescence measurements and <sup>13</sup>C labeling for mass spectrometry analyses) and nitrogen fixation activity (Acetylene reduction assay and <sup>15</sup>N labeling for mass spectrometry analyses) will be monitored at the daily scale. This experiment will provide a better understanding of the ability of marine diazotrophs to grow on organic P sources when the inorganic, PO<sub>4</sub> substrate becomes depleted. Preliminary experiments were run very successfully and promise very exciting results. A scientific paper will be written together with the Master fellow. Additionally, the growth parameters obtained, as a function of the P source, will be critical to improve and calibrate mathematical models of diazotrophic growth and the distribution of nitrogen fixation in the global ocean. This internship will also be the occasion for the student to interact with expert researchers from two other laboratories and thus to start building his/her own research network.

**Supervision:** This internship is mentored by Sophie Rabouille (LOV) with substantial input by, and collaboration with, Pascal Claquin (BOREA, Caen university) and Solange Duhamel (LDEO, Columbia University, USA). Culture experiments will be performed at LOV and close collaboration with BOREA (photosynthetic efficiency, DIP starvation) and LDEO (phosphorus dynamics) is planned. Such interaction will offer the student a thorough experience on phytoplankton culture and state of the art techniques to characterize the growth and biogeochemical dynamics of the population. The student will gain knowledge on both large-scale processes (oceanic biogeochemistry, nitrogen cycle, nitrogen fixers diversity...) and small scale processes (phytoplankton ecophysiology, nitrogen fixation)

**Work location :** Laboratoire d'Océanographie de Villefranche (LOV), UMR 7093, CNRS & Université Paris VI - Station Zoologique-B.P. 28 F-06234, Villefranche-Sur-Mer.  
Accommodation at the marine station is possible.

<b>Contacts</b>	Sophie Rabouille,	<a href="mailto:srabouille@obs-vlfr.fr">srabouille@obs-vlfr.fr</a>	Phone +33(0) 493 763 832
	Pascal Claquin,	<a href="mailto:pascal.claquin@unicaen.fr">pascal.claquin@unicaen.fr</a>	Phone +33(0) 231 565 112
	Solange Duhamel,	<a href="mailto:sduhamel@ldeo.columbia.edu">sduhamel@ldeo.columbia.edu</a>	Phone +01 845-365-8774

This work can be followed with a PhD thesis depending on the availability of fellowships

**Bibliography:** see on page 3

## **Bibliography**

- Capone DG, Zehr JP, Paerl HW, Bergman B & Carpenter EJ (1997) *Trichodesmium*, a globally significant marine cyanobacterium. *Science* 276: 1221–1229.
- Dyhrman, S.T., Chappell, P.D., Haley, S.T., Moffett, J.W., Orchard, E.D., Waterbury, J.B., and Webb, E.A. (2006) Phosphonate utilization by the globally important marine diazotroph *Trichodesmium*. *Nature* 439: 68-71.
- Dyhrman, S.T., and Haley, S.T. (2006) Phosphorus scavenging in the unicellular marine diazotroph *Crocospaera watsonii*. *Appl Environ Microbiol* 72: 1452-1458.
- Karl D, Letelier R, Tupas L, Dore J, Christian J & Hebel D (1997) The role of nitrogen fixation in biogeochemical cycling in the subtropical North Pacific Ocean. *Nature* 388: 533–538.
- Moisander PH, Beinart RA, Hewson I et al. (2010) Unicellular cyanobacterial distributions broaden the oceanic N<sub>2</sub> fixation domain. *Science* 327: 1512–1514.
- Zehr JP, Waterbury JB, Turner PJ et al. (2001) Unicellular cyanobacteria fix N<sub>2</sub> in the subtropical North Pacific Ocean. *Nature* 412: 635–638.