



HAL
open science

Étude des interactions Diatomées/copépodes sur l'export de carbone, dans un contexte de changement climatique.

Jordan Toullec

► **To cite this version:**

Jordan Toullec. Étude des interactions Diatomées/copépodes sur l'export de carbone, dans un contexte de changement climatique. : Apports expérimentaux et étude in situ. Océanographie. Université de Bretagne Occidentale, 2020. Français. NNT: . tel-03114056

HAL Id: tel-03114056

<https://hal.science/tel-03114056>

Submitted on 18 Jan 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE
COMUE UNIVERSITE BRETAGNE LOIRE

ECOLE DOCTORALE N° 598
Sciences de la Mer et du littoral
Spécialité : Chimie Marine

Par

Jordan TOULLEC

**Étude des interactions Diatomées/copépodes sur l'export de carbone,
dans un contexte de changement climatique**

Apports expérimentaux et étude *in situ*

Thèse présentée et soutenue à Plouzané, le 17 mars 2020

Unité de recherche : Laboratoire des sciences de l'environnement marin (LEMAR)

Rapporteurs avant soutenance :

Fabien LOMBARD

Maître de conférence,
Sorbonne Université

Pascal CLAQUIN

Professeur,
Université de Caen Basse-Normandie

Composition du Jury :

Présidente du Jury

Géraldine SARTHOU

DR CNRS, IUEM, UMR 6539

Laurent BOPP

DR, Institut Pierre Simon Laplace

Fabien LOMBARD

Maître de conférence, Sorbonne Université

Pascal CLAQUIN

Professeur, Université de Caen Basse-Normandie

Directeur de thèse

Brivaëla MORICEAU

Chargée de Recherche, IUEM, UMR 6539

Co-directeur de thèse

Dorothée VINCENT

Office Française de la Biodiversité (OFB)

Remerciements

“Life opens up opportunities to you, and you either take them or you stay afraid of taking them.”

Jim Carrey

Je voudrais en premier lieu remercier le directeur du Laboratoire des Sciences de l’Environnement Marin (LEMAR), structure au sein de laquelle s’est déroulé l’intégralité de ma thèse (expérimentation, analyses et rédaction) pendant ces trois années : Luis Tito de Morais. Je remercie au même titre que mon laboratoire d’accueil, l’axe 2 du LabexMer et l’ANR Biopsis (ANR-16-CE-0002-01) pour avoir financé ce projet de thèse.

Je voudrais également adresser mes remerciements aux membres du jury de thèse d’avoir accepté de lire et juger mes travaux.

C’est tout naturellement que je vais remercier ma formidable directrice/encadrante/mentor de thèse, Brivaëla Moriceau, déjà pour avoir proposé un tel sujet de thèse, pouvant être abordé sur énormément d’aspects. Ensuite, pour m’avoir choisi parmi les candidats aux auditions. Enfin, parce que ça fait déjà plus de 6 ans que l’on se connaît et que c’est avec toi que j’ai effectué ma toute première expérience dans la recherche, à l’occasion de mon stage de Master 1 en 2015. J’adresse également mes remerciements à Dorothée Vincent, pour ton encadrement et pour m’avoir transmis ta passion pour les petites bêtes du plancton et tout particulièrement les copépodes. Un grand merci à vous deux, pour votre patience avec moi, plus particulièrement lors de la rédaction des publications et de ce manuscrit. J’espère, malgré tout que vous avez apprécié travailler avec moi.

Je rentre à présent dans la partie délicate des remerciements, dans laquelle il ne faut oublier personne, ainsi je ne vais plus citer de noms, les personnes se reconnaîtront.

J’adresse mes sincères remerciements à l’ensemble des membres du projet BioPSis et GreenEdge avec qui j’ai eu l’occasion de collaborer de prêt ou de loin, dans les travaux de ma thèse et avec qui j’ai apprécié travailler. Bien entendu, je remercie toutes les personnes qui m’ont aidé au cours des expérimentations et analyses au LEMAR. Mais également à Ifremer au sein de l’Unité Physiologie Fonctionnelle des Organismes Marins (PFOM). Merci d’avoir veillé sur nos cultures de microalgues et nos élevages de copépodes.

Je remercie l'équipage de l'Albert Lucas et l'ensemble des participants au projet Objectifs Plancton, tout particulièrement son créateur Philippe Pondaven, grâce à qui il nous a été possible de collecter des copépodes afin de les tester au cours d'expérimentations.

Puisqu'on en est dans les moyens à la mer, je remercie Nicolas Cassar et l'ensemble de l'équipage (scientifique et technique) du R/V Atlantique Explorer pour m'avoir permis de réaliser ma toute première (et unique à l'heure actuelle) campagne en mer en 2017 dans l'Atlantique Nord. Je remercie ma promo de thésards, dont certains que je côtoie depuis la toute première année de licence à Brest, ainsi que tous les thésards du LEMAR, et autres laboratoires de l'IUEM et de l'Ifremer que j'ai fréquentés de manière formelle et informelle. Sans citer vos noms, j'ai des histoires inoubliables à raconter sur chacun d'entre vous. Quelques-unes dans le désordre :

- 18 kg de fromage à raclette dans votre congèle ?
- La photo de « la Cène » est géniale !
- Un « lardon » en moins sur la langue ?
- J'aurais dû savoir que les moules au four à 450°C n'était pas une bonne idée.
- Seulement deux Hellfest ensemble ? Mais au moins avec tous ces voyages, je connais toute ta famille !
- Heureusement que je n'ai plus les vidéos de cette fameuse randonnée à Brocéliande.
- Merci d'avoir appelé deux fois les urgences pour moi !
- À défaut d'escaliers aussi confortables soient-ils, il y a des lits pour dormir !
- Merci de me laisser régulièrement dormir (comater) sur votre canapé !

Je remercie évidemment le fameux bureau A159 ! Nicolas, Justine, Jean-François, Lia et Romina, je ne pouvais pas ne pas citer vos prénoms, étant donné qu'on vivait quasiment ensemble au rythme du son de la machine à café (d'ailleurs, elle repart avec moi), des phrases douteuses de Justine (inscrites sur le tableau blanc du bureau, vous irez voir.) et des imitations animalières gênantes de Nicolas (vous savez de quoi je parle).

Tout ce travail n'aurait pas été possible sans le café, MAIS surtout sans musique évidemment, voici une liste non-exhaustive des groupes et musiciens de Stoner/Doom/Sludge/Post Metal et autres musiques alternatives, qui m'ont accompagné dans les oreilles et inspiré au cours du traitement, de l'analyse et de la rédaction de mes travaux de thèse:

Tool, A Perfect Circle, Puscifer, The Smashing Pumpkins, Porcupine Tree, Massive Attack, Sheer K (avec notre cher Seb), Opeth, Dream Theater, Kvelertak, Mastodon, Neurosis, Isis, Sâver, Bongripper, Cult Of Luna, Amenra, YOB, The Melvins, Electric Wizard, Sleep, Om, High on Fire, Ufomammut, Salem's Pot, Ghost, Black Magick SS, Monolord, Mammoth Weed Wizard Bastard, The Necromancers, Navajo Witches, Bongzilla, Belzegong, Goya, The Devil And

The Almighty Blues, Stoned Jesus, Emma Ruth Rundle, Chelsea Wolfe, Domkraft, StoneBirds, Regarde Les Hommes Tomber, Zeal And Ardor, The Hu, Skäld, Wardruna, Truckfighters, Kyuss, Queens Of The Stone Age, Foo Fighters, Alice In Chains, Atomic Mold, Egypt, Mephistofeles, Spaceslug, Deathbell, Absent, Conan, 1000mods, Wo Fat, Red Fang, Weedruid, Hela, Dopethrones, Orange Goblin, Windhand, Appalooza, Witchthroat Serpent, Meshuggah, Animals As Leaders, After The Burials, Avatar, Godflesh, Nine Inch Nail, Mushroomheads...et j'en passe surement beaucoup.

"I used to get upset by people not understand me, but I've made a career out of it now"

Ozzy Osbourne – Black Sabbath

Liste des figures (hors figures incluses dans les publications)

Figure 1.1 : Représentation des concentrations atmosphériques en CO₂ et des anomalies de température au cours des 800 000 dernières années.

Figure 1.2 : Evolution des moyennes mondiales des anomalies de température en surface (GMST: Global Mean Surface Temperature).

Figure 1.3 : Réponses phytoplanctonique supposées en cas d'augmentation de la stratification liée à un réchauffement de la couche de surface (d'après Doney, 2006).

Figure 1.4 : Schéma simplifié de la pompe biologique de carbone, intégrant la dynamique des nutriments, l'export par les agrégats de phytoplancton et par les pelotes fécales du zooplancton. (J.Toullec).

Figure 1.5 : Représentation des différentes zones de la colonne d'eau impliquées dans le processus de la PBC (d'après Guidi et al., 2015; Cavan et al., 2019).

Figure 1.6 : Illustration de la diversité morphologique des diatomées (dessin de Haeckel, 1899).

Figure 1.7 : Distribution saisonnière (printemps austral à gauche, hiver austral à droite) des classes phytoplanctoniques identifiées par la méthode PHYSAT (Alvain et al. 2008) sur la période 1997-2010.

Figure 1.8 : Contribution des Diatomées à la production primaire totale (en %). Basé sur un modèle de production primaire classe spécifique sur la période 1998 à 2011. (D'après Rousseaux et Gregg, 2013).

Figure 1.9 : Illustration de la contribution des migrations nyctémérales du zooplancton au transport actif de carbone (J.Toullec).

Figure 1.10: Illustration de la migration verticale saisonnière des copépodes (d'après Brun et al., 2019; Dahms, 1995; Jónasdóttir et al., 2015; Visser et al., 2017) (J. Toullec).

Figure 1.11 : Photos illustrant les rolling tanks. **A)** Vue latérale d'un rolling tank de 4 L contenant des agrégats de *Melosira* sp. **B)** Photos de rolling tanks de 1 L contenant une suspension de *Chaetoceros neogracile* disposés sur une table roulante.

Figure 1.12 : Relation dynamique entre les trois pools d'EPS affectant l'agrégation chez les diatomées. Les flèches correspondent aux possibles conversions entre les différents pools (D'après la review de Thornton, 2002).

Figure 1.13 : Schéma des liens entre les différents chapitres de la thèse, considérant les diatomées, les limitations en sels nutritifs, les copépodes, l'émission de pelotes fécales par les copépodes et les agrégats.

Figure 2.1 : Photos prises par microscopie optique (grossissement $\times 40$) des cellules de *Chaetoceros neogracile* gauche (A) et *Skeletonema marinoi* à droite (B).

Figure 2.2 : Copépodes utilisés au cours des incubations avec *Chaetoceros neogracile* et *Skeletonema marinoi*.

Figure 2.3 : Protocole expérimental.

Figure 2.4 : Boxplots de distribution des longueurs d'espaces intercellulaires de *S. marinoi*, en fin de phase exponentielle.

Figure 2.5 : Boxplots de distribution de la longueur de spicules siliceux de *C. neogracile* en fin de phase exponentielle.

Figure 2.6 : Rapports Si:C (mol:mol) en fonction des rapports C:N (mol:mol) dans les diatomées (*C. neogracile* à gauche et *S. marinoi* à droite).

Figure 2.7 : **A et E :** Contenu cellulaire en azote s (pmol N cell^{-1}), pour *C. neogracile* et *S. marinoi*. **B et F :** Contenu cellulaire en carbone (pmol C cell^{-1}), pour *C. neogracile* et *S. marinoi*. **C et G :** Contenu cellulaire en silice biogénique d ($\text{pmol bSi cell}^{-1}$), pour *C. neogracile* et *S. marinoi*. **D et H :** Contenu en silice biogénique par surface cellulaire ($\text{fmol bSi } \mu\text{m}^{-2}$), pour *C. neogracile* et *S. marinoi*.

Figure 2.8 : **A et C :** Concentrations en TEP ($\mu\text{g Xeq mL}^{-1}$) dans les cultures de *C. neogracile* (en haut) et *S. marinoi* (en bas) avant incubation avec les copépodes. Les diatomées étaient en phase de croissance exponentielle. **B et D :** Concentrations en TEP par cellule (pg Xeq cell^{-1}) dans les cultures de *C. neogracile* (en haut) et *S. marinoi* (en bas).

Figure 2.9 : **A et B,** relation entre les taux de filtration ($\text{mL.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$) et les rapports C:N (mol:mol) dans les incubations utilisant *C. neogracile* (**A et C**) et *S. marinoi* (**B et D**) comme proie. En bas, relation entre les taux de filtration ($\text{mL.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$) et les rapports Si:C (mol:mol) dans les incubations utilisant *C. neogracile* (à gauche) et *S. marinoi* (à droite) comme proies.

Figure 2.10 : Relation entre les taux de filtration ($\text{mL.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$) et les concentrations en TEP ($\mu\text{g Xeq.mL}^{-1}$) dans les incubations utilisant *C. neogracile* (à gauche) et *S. marinoi* (à droite) comme proie.

Figure 2.11 : En haut, relations entre les taux de filtration ($\text{mL ind}^{-1} \text{j}^{-1}$) et les variations des contenus cellulaires entre les tanks avec et sans (témoins) copépodes en fin d'incubation, pour l'azote (pmol N cell^{-1}), le carbone (pmol C cell^{-1}) et la bSi ($\text{pmol bSi cell}^{-1}$) chez *C. neogracile*. En bas, relations entre les taux de filtration ($\text{mL ind}^{-1} \text{j}^{-1}$) et les variations des contenus cellulaires entre les tanks avec et sans (témoins) copépodes en fin d'incubation, pour l'azote (pmol N cell^{-1}), le carbone (pmol C cell^{-1}) et la bSi ($\text{pmol bSi cell}^{-1}$) chez *S. marinoi*.

Figure 2.12 : Variation de la concentration en TEP par cellules ($\text{pg Xeq cell}^{-1} \text{j}^{-1}$) dans les incubations avec *C. neogracile*.

Figure 2.13 : Histogramme de la longueur des chaînes de *S. marinoi* pour les expériences 4 à 7, en fonction des conditions témoins, avec *E. acutifrons* et *C. helgolandicus*.

Figure 2.14 : Boxplots de distribution des volumes de pelotes fécales émises par *C. helgolandicus*.

Figure 2.15 : Rapport Si:C (mol:mol) en fonction du rapport C:N (mol:mol), dans les diatomées (triangles) et les pelotes fécales (ronds) émises par *C. helgolandicus* après broutage sur des diatomées non limitées (jaune), limitées en Si (rouge) et limitées en N (bleu).

Figure 2.16 : Schéma bilan représentant l'influence des changements physiologiques des diatomées sur le broutage par les copépodes.

Figure 3.1 : Résumé schématique de l'influences des copépodes sur la formation d'agrégats de diatomées.

Figure 3.2 : Résumé schématique de l'influences des copépodes sur la dynamique des agrégats de diatomées (fragmentation et réagrégation).

Figure 4.1 : Zone d'échantillonnage du projet GreenEdge en Baie de Baffin.

Figure 4.2 : Brise glace NGCC Amundsen. Crédit photo: Fisheries and Oceans Canada P. Dionne.

Figure 4.3 : **A)** UVP5 seul. **B)** L'UVP5 monté sur une rosette CTD **C)** Diagram schématique de la source lumineuse à LED rouge (Picheral et al., 2010).

Figure 4.4 : Ensemble des points dans lesquels des prélèvements d'imagerie quantitative de particule ont été réalisés.

Figure 4.5 : Exemple d'images acquises par l'UVP5.

Figure 5.1 : Représentation des relations de la dynamique entre les diatomées, les copépodes et les agrégats décrite au cours de la thèse.

Figure 5.2 : **A :** Taux d'émission de pelotes fécales (PF.ind⁻¹.j⁻¹) par *C. helgolandicus*. **B :** Flux d'export de carbone par les pelotes fécales de *C. helgolandicus* (mol C.m⁻².j⁻¹). **C :** Flux d'export d'azote par les pelotes fécales de *C. helgolandicus* (mol N.m⁻².j⁻¹). **D :** Flux d'export de silice biogénique par les pelotes fécales de *C. helgolandicus* (mol bSi.m⁻².j⁻¹).

Figure 5.3 : Représentation des relations de la dynamique entre les agrégats, les copépodes, les pelotes fécales émises par les copépodes et les limitations (Post-efflorescence).

Liste des tableaux (hors tableaux inclus dans les publications)

Tableau 2.1 : Concentrations en macronutriments des milieux de culture F/2 utilisés pour la limitation des diatomées.

Tableau 2.2 : Conditions initiales des différentes expériences d'incubation diatomées/copépodes. Chaque incubation a été réalisée en triplicats.

Tableau 2.3 : Comptages cellulaires en début et fin d'incubation pour les différentes conditions expérimentales et taux de filtration apparents (mL.ind⁻¹.j⁻¹). Moyennes ± ES, N = 3.

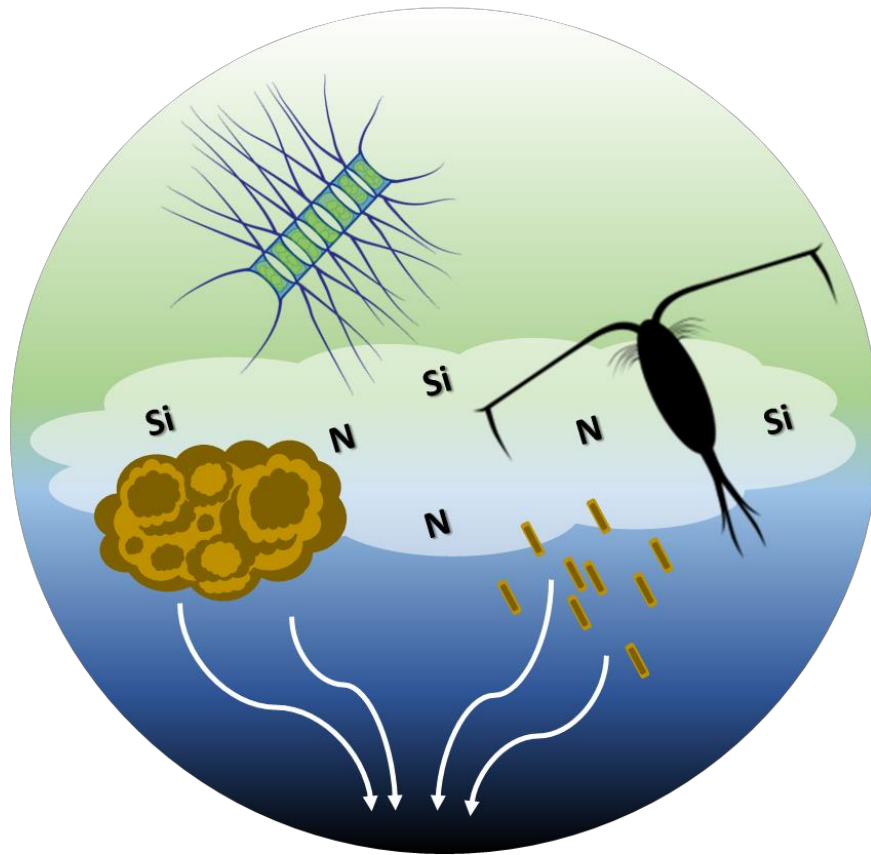
Table des matières

I. Introduction	12
1. Le changement climatique	13
a) Réchauffement global	13
b) Effet du réchauffement global sur les paramètres hydrologiques	14
2. La pompe biologique de carbone	15
a) L'océan: un puits de carbone	15
b) Les diatomées: acteurs essentiels de la PBC	18
c) Comment la matière organique produite en surface par les diatomées est-elle exportée ?	22
i. Le transport physique de la matière organique	22
ii. Le transport actif par le zooplancton	22
iii. La voie gravitationnelle	24
3. La neige marine, véhicule de la PBC	25
a) Formation d'agrégats de diatomées	25
b) Comment étudier les agrégats de matière organique	28
4. Rôle du zooplancton dans la PBC	29
a) Présentation générale du zooplancton	29
b) Les copépodes principaux acteurs du réseau trophique et de la PBC	29
5. Objectifs et organisation du manuscrit	30
II. Interactions copépodes/diatomées	33
1. Introduction	34
2. Matériels et méthodes	35
a) Culture des diatomées	35
b) Échantillonnage et élevage des copépodes	37
c) Incubations proies/prédateurs	39
d) Paramètres estimés à partir des incubations	43
3. Résultats et discussion	45
a) Effets des limitations sur les diatomées	45
b) Influence des limitations sur l'activité alimentaire des copépodes	52
c) Influence de l'activité alimentaire des copépodes sur les diatomées	60
d) Impact des limitations sur l'export de carbone via les pelotes fécales	64
4. Conclusion	68
III. Influence des copépodes sur la dynamique des agrégats de diatomée	71
1. Préambule	72
2. Résumé de la publication	72
3. Publication : Copepod grazing influences diatom aggregation and particle dynamics 73	
IV. L'export de carbone en Baie de Baffin	98
1. GreenEdge	99

2. L'imagerie quantitative des particules avec L'UVP5 (Underwater Video Profiler) :	100
3. EcoTaxa 2.0 :	101
a. Obtention des données :	101
b. Taxinomie du zooplancton par apprentissage:	102
4. Préambule	103
5. Résumé de la publication	104
6. Publication: Processes controlling aggregate formation and distribution during the Arctic phytoplankton spring bloom in the Baffin Bay	104
a) Introduction	106
b) Methods	108
d) Results	111
c) Discussion	121
i. Hydrological parameters and aggregates distribution pattern	122
ii. Phytoplankton phenology and aggregate distribution pattern	127
iii. Spring bloom dynamic on the fate of organic matter	130
d) Conclusion	133
V. Discussion générale	135
1. Influence des copépodes sur l'export de carbone :	136
a) La contribution des pelotes fécales	136
b) Modification du flux d'agrégats	137
c) Conclusion sur le rôle des copépodes dans l'export de carbone	138
2. Influences des limitations en sels nutritifs sur l'export de carbone :	140
a) Impact des limitations en sels nutritifs sur le broutage, la production de pelotes fécales et l'export de matière	140
b) Des limitations impliquées dans le processus d'agrégation	142
c) Conclusion sur l'influence des limitations sur le flux de particules	143
VI. Références de l'introduction, du Chapitre II, IV et de la discussion	145
VII. Annexes du Chapitre II	171
VIII. Annexes du Chapitre IV	180
IX. Annexe de la thèse	191
1. Liste des articles publiés, soumis et préparés au cours de la thèse	191
2. Liste des communications lors de congrès internationaux réalisés au cours de la thèse	192

I. Introduction

Etat de l'Art, contexte scientifique et problématique



1. Le changement climatique

a) Réchauffement global

Avec l'ère industrielle et l'intensification de l'agriculture, il est observé une augmentation continue des émissions de gaz à effet de serre depuis un peu plus d'un siècle, liée à l'utilisation croissante des combustibles fossiles (Archer & Pierrehumbert, 2011). Les concentrations atmosphériques en gaz à effet de serre tels que le CO₂, CH₄, N₂O ou H₂O(g), participent à l'augmentation du forçage radiatif positif sur le climat, ayant pour conséquence un réchauffement de l'atmosphère (**Figure 1.1**; Lüthi et al., 2008; Solomon et al., 2007). Parmi ces différents gaz, la concentration atmosphérique en CO₂ est passée de 280 ppm en période préindustrielle, à plus de 415 ppm aujourd'hui (GIEC, 2019). Des modèles prédisent même des concentrations atmosphériques pouvant atteindre 430 ppm d'ici 2060, avec un réchauffement associé de 1,3°C (Davis et al., 2010). Comme présenté dans la **Figure 1.1**, le forçage radiatif positif induit par la concentration atmosphérique en CO₂ est considéré comme l'un des principaux facteurs actuels de réchauffement global dans les modèles climatiques, renforçant ainsi l'hypothèse de l'origine anthropique du réchauffement actuel (Pachauri et al., 2008). En effet depuis la fin du XIX^{ème} siècle, la température moyenne a augmenté de $0,6 \pm 0,2^\circ\text{C}$ (**Figure 1.2**).

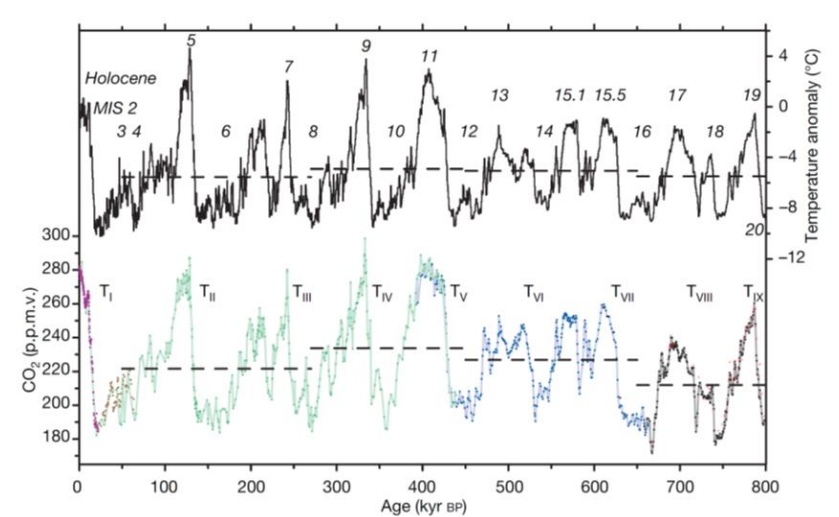


Figure 1.1 : Représentation des concentrations atmosphériques en CO₂ et des anomalies de température au cours des 800 000 dernières années. Les concentrations atmosphériques en CO₂ et les anomalies de température ont été reconstruites à partir de carottes de glace de l'antarctique (d'après Lüthi et al., 2008).

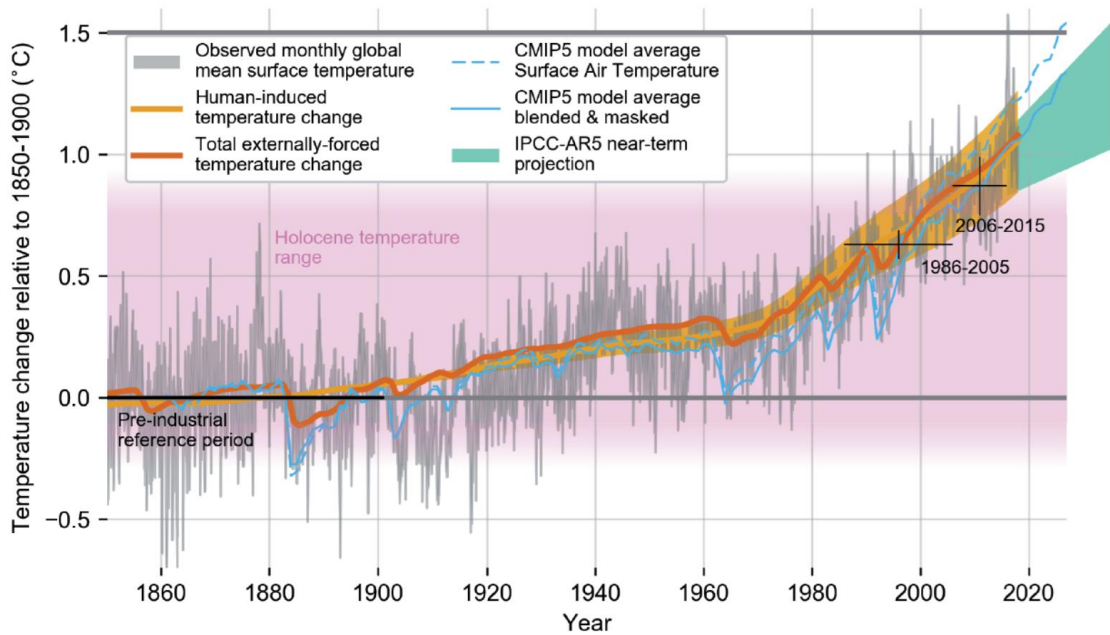


Figure 1.2 : Evolution des moyennes mondiales des anomalies de température en surface (GMST: Global Mean Surface Temperature). Le réchauffement est défini comme une augmentation de la température de surface multi-décennale moyenne par rapport aux niveaux pré-industriels (période de référence de 1850-1900). Sont représentées (i) les fluctuations moyennes mensuelles de la température mondiale moyenne en surface (courbe grise) ; (ii) la contribution des activités humaines à ces changements de température (courbe jaune); (iii) la contribution totale (forçages naturels et anthropiques) aux changements de température (courbe orange) et (iv) la température modélisée de la surface de l'air. Les prédictions d'évolution du réchauffement sont indiquées en vert. D'après le rapport du GIEC (2019).

Ainsi la préoccupation actuelle dans la lutte contre le réchauffement climatique est de limiter ou de contrer les émissions de CO_2 ce qui nécessite de mieux quantifier les sources et les puits et leur évolution. Grâce à la photosynthèse, les biosphères terrestre et marine séquestrent le CO_2 sous forme de matière organique (particulaire et dissous) et inorganique (biominéraux) qui peut alors être isolée de l'atmosphère sur des échelles de temps plus ou moins longues (centaines à milliers d'années, GIEC, 2019).

b) Effet du réchauffement global sur les paramètres hydrologiques

L'élévation de la température de surface, pourrait conduire à une augmentation de la stratification de la couche de surface (**Figure 1.3**), ainsi qu'à un affaiblissement de l'intensité des subductions d'eaux froides profondes (plus riches en nutriments), ayant pour conséquences une diminution de la remontée des nutriments dans la couche de surface (Bopp et al., 2001; Doney,

2006; Doney et al., 2012). La diminution de la remontée des nutriments dans la couche de surface entraînerait l'augmentation globale des limitations en sels nutritifs.

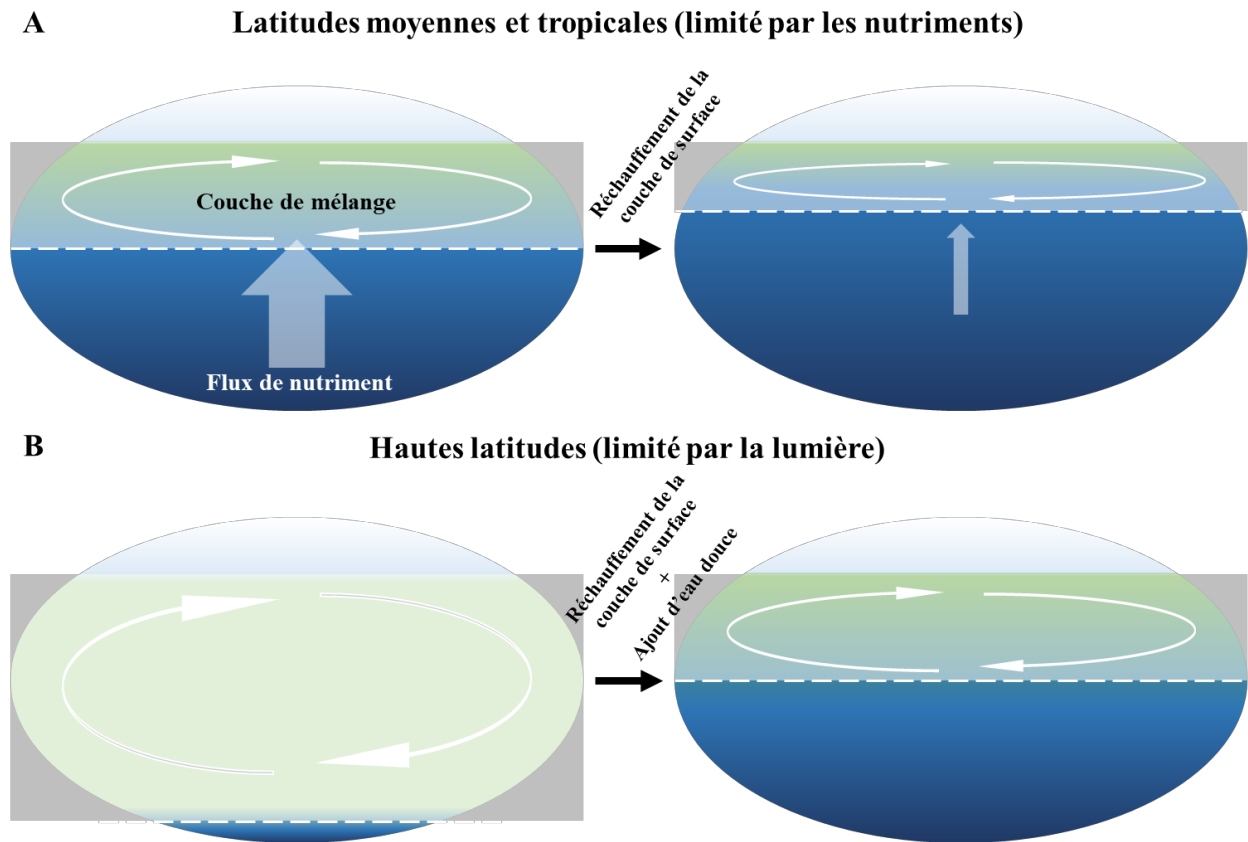


Figure 1.3 : Réponses phytoplanctoniques supposées en cas d'augmentation de la stratification liée à un réchauffement de la couche de surface (d'après Doney, 2006). **A** ; Dans les latitudes moyennes et tropicales, le phytoplancton est limité par les nutriments, le réchauffement de la couche de surface et la diminution de la couche de mélange conduiraient à une limitation de l'apport de nutriments par les eaux profondes, la production phytoplanctonique serait alors diminuée. **B** ; Dans les hautes latitudes, une réponse opposée liée réchauffement futur ainsi que par l'apport d'eau douce est supposé (fonte des glaces). En effet dans les régions polaires, le phytoplancton est le plus souvent limité par la lumière, ainsi en réduisant la couche de mélange, le phytoplancton resterait plus proche de la surface où la lumière est plus intense.

2. La pompe biologique de carbone

a) L'océan: un puits de carbone

L'océan est le plus grand réservoir de carbone à faible temps de résidence (environ 100 ans s'il n'est pas enfoui dans le sédiment, Tréguer et al., 2018). Comparativement aux roches de la lithosphère, il contient jusqu'à 50 fois plus de carbone inorganique dissous que l'atmosphère

(Siegenthaler & Sarmiento, 1993). L'océan échange du CO₂ avec l'atmosphère à l'interface océan-atmosphère. Deux processus clés vont ensuite contribuer à isoler de l'atmosphère le CO₂ accumulé dans certaines zones : la pompe de solubilité (physique) et la pompe biologique (biosphère marine). La pompe de solubilité dépend de la circulation générale thermohaline et des variations saisonnières de température. En effet, le CO₂ est plus soluble dans les eaux froides qui plongent aux hautes latitudes sous l'effet de leur densité (faible température et forte salinité) et il intègre ainsi la circulation thermohaline profonde. Le carbone est piégé aux hautes latitudes (puits de CO₂), puis est dégazé aux moyennes et basses latitudes (sources de CO₂, Broecker & Peng, 1974; Broecker et al., 1979).

La pompe biologique comprend deux composantes principales, la pompe à carbonates (également appelé contre-pompe à carbonates) et la pompe photosynthétique (organique).

Mes travaux de thèse, ont surtout concerné la pompe photosynthétique (organique). Ainsi, dans le reste du manuscrit, les termes de pompe biologique de carbone (PBC) et export de carbone, se réfèrent la pompe photosynthétique océanique décrite ci-après.

La PBC comprend l'ensemble des processus biologiques qui vont contribuer à former (par piégeage du CO₂ dans l'océan au cours de la photosynthèse) puis à exporter la matière organique produite en surface hors de la couche de mélange. Chaque année environ 11×10^9 tonnes de carbone sont piégées dans l'océan via la PBC (Sanders et al., 2014). Or, en 2007, c'est environ $32,1 \times 10^9$ tonnes de carbone liées à la production d'énergie qui ont été émises dans l'atmosphère (selon l'agence internationale de l'énergie), soit 3 fois ce que la PBC est capable d'absorber. En effet, de manière générale, entre 30 et 50 % du CO₂ atmosphérique sont piégés dans l'océan grâce à la production primaire phytoplanctonique (Parekh et al., 2006). Parmi ces 11×10^9 tonnes de carbone piégées annuellement, entre $0,55 \times 10^9$ et $1,94 \times 10^9$ tonnes sont piégées sous forme de carbone organique particulaire (COP), dans l'océan Atlantique nord (Sanders et al., 2014). La matière organique est transportée dans la zone mésopélagique (également appelée « Twilight zone » et située en dessous de la couche de mélange) et/ou bathypélagique (sous la couche mésopélagique), voir jusqu'au sédiment (plancher océanique, **Figure 1.4**) permettant de distinguer ainsi 3 zones clés dans le fonctionnement de la PBC :

1. La zone de formation de la matière organique en contact avec l'atmosphère (Couche de mélange jusqu'à 100 m de profondeur).
2. La zone d'export ou zone transitoire (Zone mésopélagique de 100 à 1000 m).
3. La zone de séquestration (Zone bathypélagique au-delà de 1000 m).

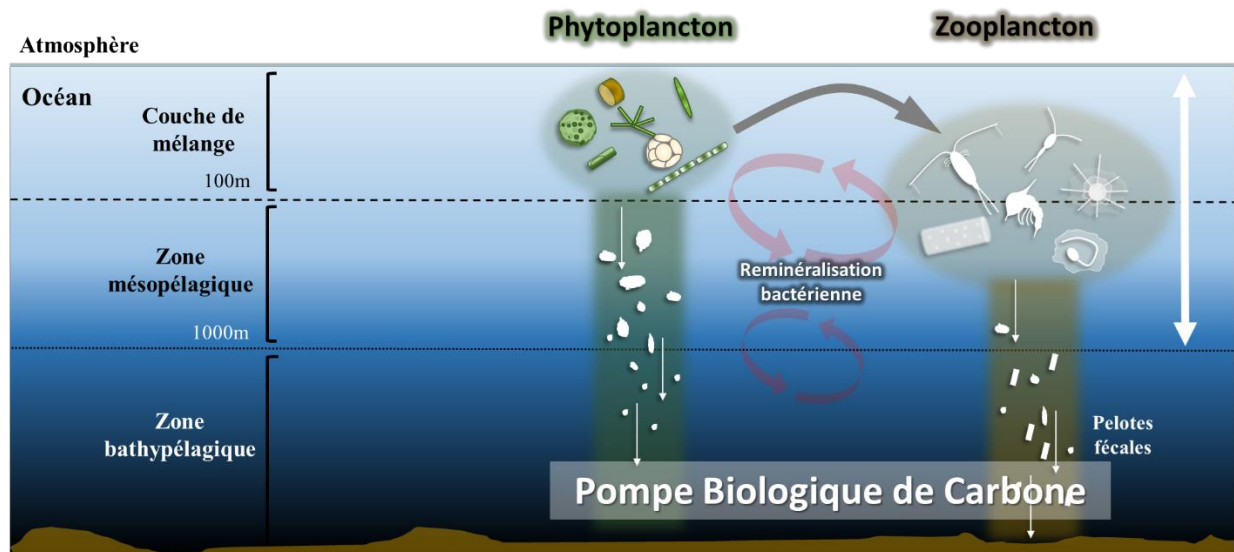


Figure 1.4 : Schéma simplifié de la pompe biologique de carbone, intégrant la dynamique des nutriments, l'export par les agrégats de phytoplancton et par les pelotes fécales du zooplancton. (J.Toullec).

En moyenne 1% de la production primaire de surface atteint directement la base de la couche mésopélagique (Lampitt & Antia, 1997; Passow & Carlson, 2012), le reste étant transféré vers les maillons trophiques supérieurs, ou bien recyclé dans les couches moins profondes (couche de mélange et zone mésopélagique). Les rapports du GIEC suggèrent que la séquestration du carbone devient efficace dès lors qu'il est isolé de l'atmosphère pour une période d'au moins 100 ans. Passow & Carlson (2012), estiment que cet objectif est atteint lorsque le carbone est exporté sous une couche de 1000 m, c'est-à-dire au-delà de la zone mésopélagique (GIEC, 2019; **Figure 1.5**).

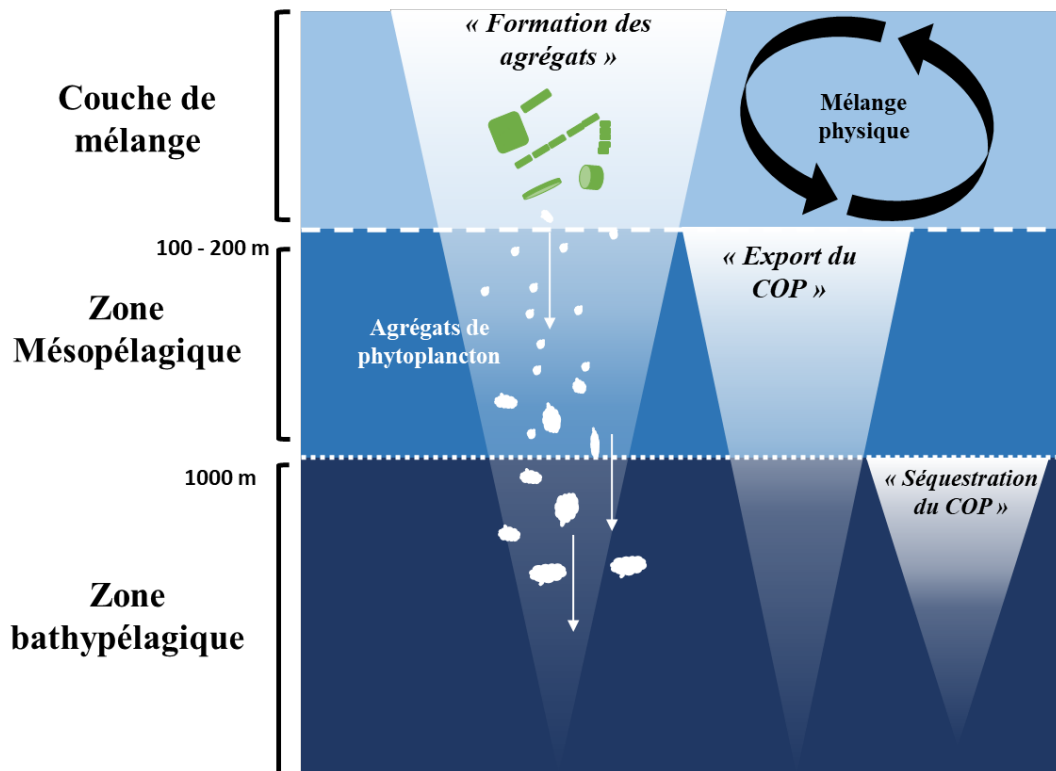


Figure 1.5 : Représentation des différentes zones de la colonne d'eau impliquées dans le processus de la PBC (d'après Guidi et al., 2015; Cavan et al., 2019). Les agrégats de matière organique sont formés dans la couche de mélange via des processus de coagulation du phytoplancton et de la matière organique détritique (cf. parties suivantes). De plus gros agrégats peuvent également se former dans la zone mésopélagique (grâce notamment à la coagulation des petites agrégats). Lorsque les agrégats (ainsi que les pelotes fécales) sont exportés dans la zone mésopélagique, l'équilibre entre processus de reminéralisation bactérienne et sédimentation physique va conditionner le devenir des particules exportées qui vont (i) soit franchir la base de la zone mésopélagique et être séquestrées pour au moins 100 ans, (ii) soit être reminéralisées dans la zone mésopélagique, où elles seront séquestrées pour au moins 10 ans (GIEC, 2019).

L'efficacité de la pompe biologique varie spatialement et temporellement et dépend fortement de la structure des communautés planctonique de surface (Guidi et al., 2015). En effet, différentes études globales (Rousseaux & Gregg, 2013) mettent en relation son efficacité avec la structure des communautés phytoplanctonique (diatomées, haptophycées ou dinoflagellés), l'importance de la boucle microbienne et la structure de la chaîne trophique, en particulier des maillons inférieurs du réseau trophique planctonique (microzooplancton, mésozooplancton, macrozooplancton).

b) Les diatomées: acteurs essentiels de la PBC

Localisées à la base du réseau trophique planctonique (Silver et al., 1978), les diatomées (bacillariophycées, **Figure 1.6**) sont à l'origine de 40 % de la production primaire globale

océanique et participent jusqu'à 40 % au puit de carbone depuis l'atmosphère (Rousseaux & Gregg, 2013; Tréguer et al., 2018). Elles sont donc un élément majoritaire et incontournable du fonctionnement de la pompe biologique de carbone dans les océans. Elles forment un groupe d'organismes eucaryotes unicellulaires ubiquistes principalement rencontrées dans les eaux côtières, les zones d'upwelling et de hautes latitudes (Rousseaux & Gregg, 2013; Ben Mustapha et al., 2014), correspondant à des milieux turbulents caractérisés par des concentrations élevées en nutriments (**Figures 1.7 & 1.8**). Apparues au début du Trias (- 250 Ma), elles se sont diversifiées vers le Crétacé (- 145 Ma) et ont probablement une origine polyphylétique (soit plusieurs ancêtres communs). Selon Mann & Droop (1996), il y aurait plus de 200 000 espèces de diatomées réparties dans plus de 200 genres. Les diatomées sont répandues principalement dans les eaux côtières, les zones d'upwelling et de hautes latitudes (Rousseaux & Gregg, 2013; Ben Mustapha et al., 2014), correspondant à des milieux turbulents caractérisés par des concentrations élevées en nutriments (**Figures 1.7 et 1.8**). La principale caractéristique de cette classe d'algue phytoplanctonique réside dans son besoin en silicates (acide orthosilicique H_4SiO_4 , aussi appelé dSi) qu'elle utilise pour former une paroi cellulaire (appelée frustule) constituée de silice biogénique (bSi) polymérisée sous forme d'opale amorphe (SiO_2). Le frustule est constitué de deux valves emboîtées (épithèque et hypothèque) entourées d'une bande connective, le cingulum. Il peut être orné de nombreuses perforations ou extensions siliceuses constituant des critères de classification morphologique. Les diatomées se scindent en deux grands groupes, les centriques et les pennées, en fonction de l'axe de symétrie du frustule, qui peut être respectivement radial ou bilatéral (Round et al., 1990). Des études suggèrent que cette paroi siliceuse aurait une fonction de protection contre le broutage des herbivores dès lors qu'un lien a pu être établi entre pression de prédation et degré de silicification des diatomées (Pondaven et al., 2007; Liu et al., 2016). Le frustule peut également avoir différentes fonctions physiologiques, en lien avec l'absorption de la lumière et de nutriments (Hale & Mitchell, 2001; Yamanaka et al., 2008; Toster et al., 2013), ou bien encore servir de tampon facilitant la conversion des bicarbonates en $CO_{2(d)}$ pour la photosynthèse (Milligan, 2002). Les diatomées se retrouvent ainsi à la fois au centre des cycles du silicium et du carbone dans les océans.

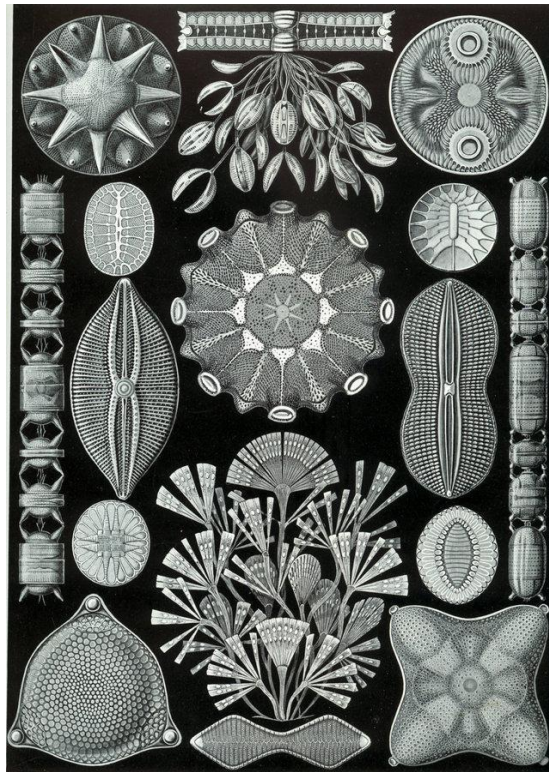


Figure 1.6 : Illustration de la diversité morphologique des diatomées (dessin de Haeckel, 1899).

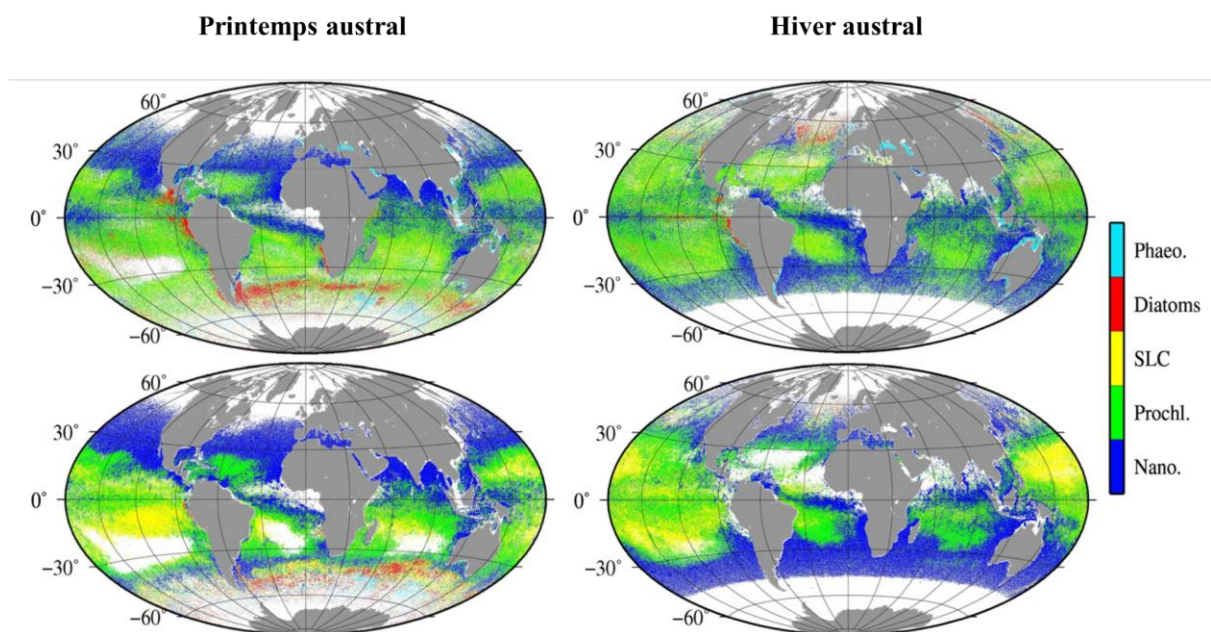


Figure 1.7 : Distribution saisonnière (printemps austral à gauche, hiver austral à droite) des classes phytoplanctoniques identifiées par la méthode PHYSAT (Alvain et al. 2008) sur la période 1997-2010. La distribution des diatomées à échelle globale (en rouge) concerne plus particulièrement les zones d'upwelling et de hautes latitudes (D'après Ben Mustapha et al., 2014).

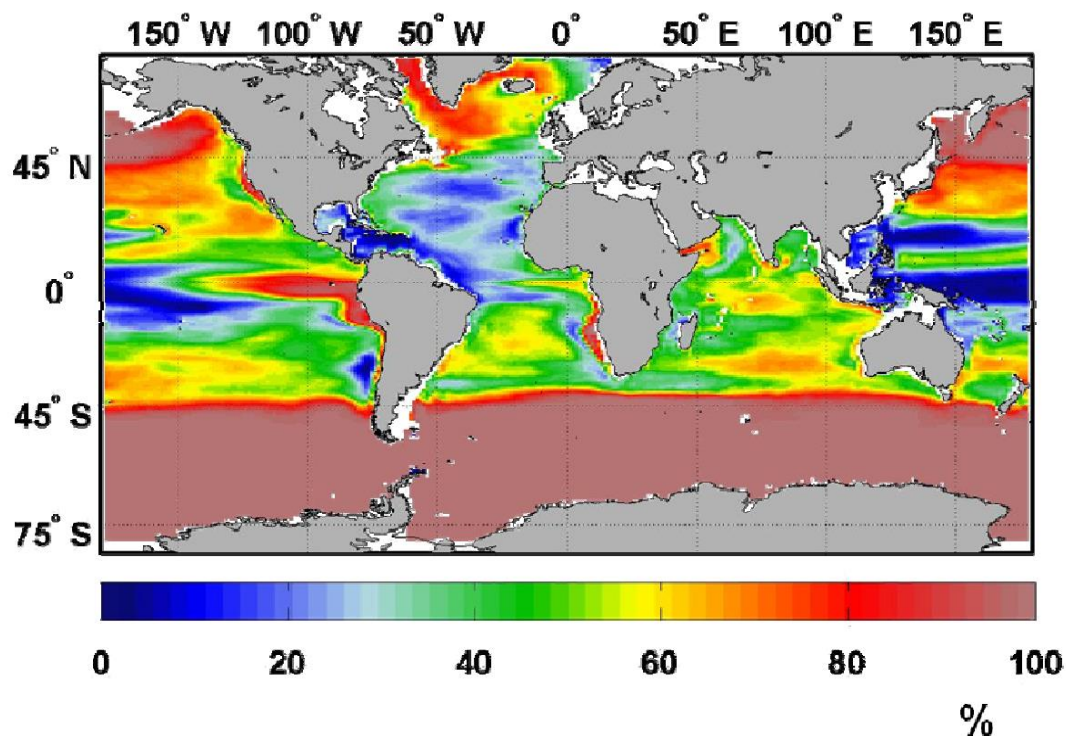


Figure 1.8 : Contribution des Diatomées à la production primaire totale (en %). Basé sur un modèle de production primaire classe spécifique sur la période 1998 à 2011. (D'après Rousseaux et Gregg, 2013).

Au cours d'une efflorescence, la communauté phytoplanctonique va épuiser les nutriments dans la couche de mélange. Ces limitations ne sont pas sans conséquence sur la physiologie et la structure de la communauté. En effet les limitations nutritives altèrent différemment le taux de croissance de chaque espèce phytoplanctonique et l'intensité de la production primaire globale (Geider & La Roche, 1994). Il a par exemple été démontré que les limitations par l'azote et le phosphore, ou bien par le fer, augmentent les rapports Si:C chez certaines diatomées (Claquin et al., 2002; Marchetti & Cassar, 2009). De telles réponses aux stress nutritifs peuvent avoir des effets opposés sur l'export par exemple en augmentant l'effet ballaste du frustule, mais aussi la vitesse de reminéralisation des diatomées (Boutorh et al. 2016). L'impact des limitations sur l'export par les diatomées est donc complexe à quantifier. Au cours de l'efflorescence, les espèces phytoplanctoniques dominantes changent, ce qui implique un changement simultané des vitesses de reminéralisation : les petites cellules phytoplanctoniques sont reminéralisées plus vite que les grosses cellules (Cavan et al., 2017). Les limitations ont des conséquences aussi sur l'efficacité des diatomées à exporter du carbone hors de la couche de mélange, notamment via la production de précurseurs de molécules collantes comme les TEP (*Transparent Exopolymeric Particles* ou Particules Exopolymérique Transparentes), favorisant la formation d'agrégats (Lampitt et al., 1993 ; Buck & Chavez, 1994; Cataletto et al., 1996). Comme présenté dans la partie précédente,

le réchauffement global pourrait aussi accentuer ces phénomènes, notamment via des changements de régimes de stratification des eaux de surface.

c) Comment la matière organique produite en surface par les diatomées est-elle exportée ?

Trois voies de transfert de la matière organique vers l'océan profond sont envisagées (Le Moigne, 2019): **1)** Le transport physique de la matière organique dont la densité est similaire à celle de l'eau de mer, via la plongée des masses d'eau en profondeur ; **2)** Le transport actif via la migration verticale des organismes (zooplancton et poissons). **3)** La sédimentation gravitationnelle des particules (agrégats et pelotes fécales); Étant donné la faible vitesse de sédimentation par rapport à la vitesse de reminéralisation des cellules phytoplanctoniques, la matière organique produite en surface, que ce soit par les diatomées ou par d'autres groupes phytoplanctoniques, a peu de chance d'être exportée telle quelle hors de la couche de mélange.

i. Le transport physique de la matière organique

La circulation thermohaline est responsable de la subduction des masses d'eaux, elle peut ainsi conduire à un export de la matière organique. La subduction des masses d'eaux a principalement lieu dans les régions polaires, lorsque les eaux très salées se refroidissent, augmentant ainsi leurs densités (Lévy et al., 2013a, 2013b; Bopp et al., 2015). D'autres transport physique tel que les tourbillons à mésoéchelle peuvent également transférer la matière organique dans les couches plus profondes (Klein & Lapeyre, 2009; Omand et al., 2015). La matière organique présente dans la couche de surface pendant ou après la période productive peut aussi être transférée vers l'océan profond grâce à la pompe de la couche de mélange (« Mixing Layer Pump », Dall'Olmo et al., 2016). En effet, au cours de la transition entre la saison printanière productive et la saison hivernale, le mélange sur la verticale augmente, entraînant une augmentation de la profondeur de la couche de mélange ce qui conduit à un transfert de la matière organique plus en profondeur et donc à son export (Dall'Olmo et al., 2016).

ii. Le transport actif par le zooplancton

La production de CO₂ par la respiration, l'excrétion métabolique ainsi que l'émission de pelotes fécales dans la zone mésopélagique, suite aux migrations verticales des organismes (planctonique et nectonique) participent au transport actif de carbone (Steinberg et al., 2002; Steinberg & Landry, 2017; Gorgues et al., 2019). Lorsque la profondeur de migration est inférieure à la profondeur de la thermocline permanente, le carbone transporté est séquestré pour de longues

périodes (> 100 ans) (Davison et al., 2013). La **Figure 1.9** résume de manière schématique les processus conduisant à un transfert actif du carbone par le zooplancton.

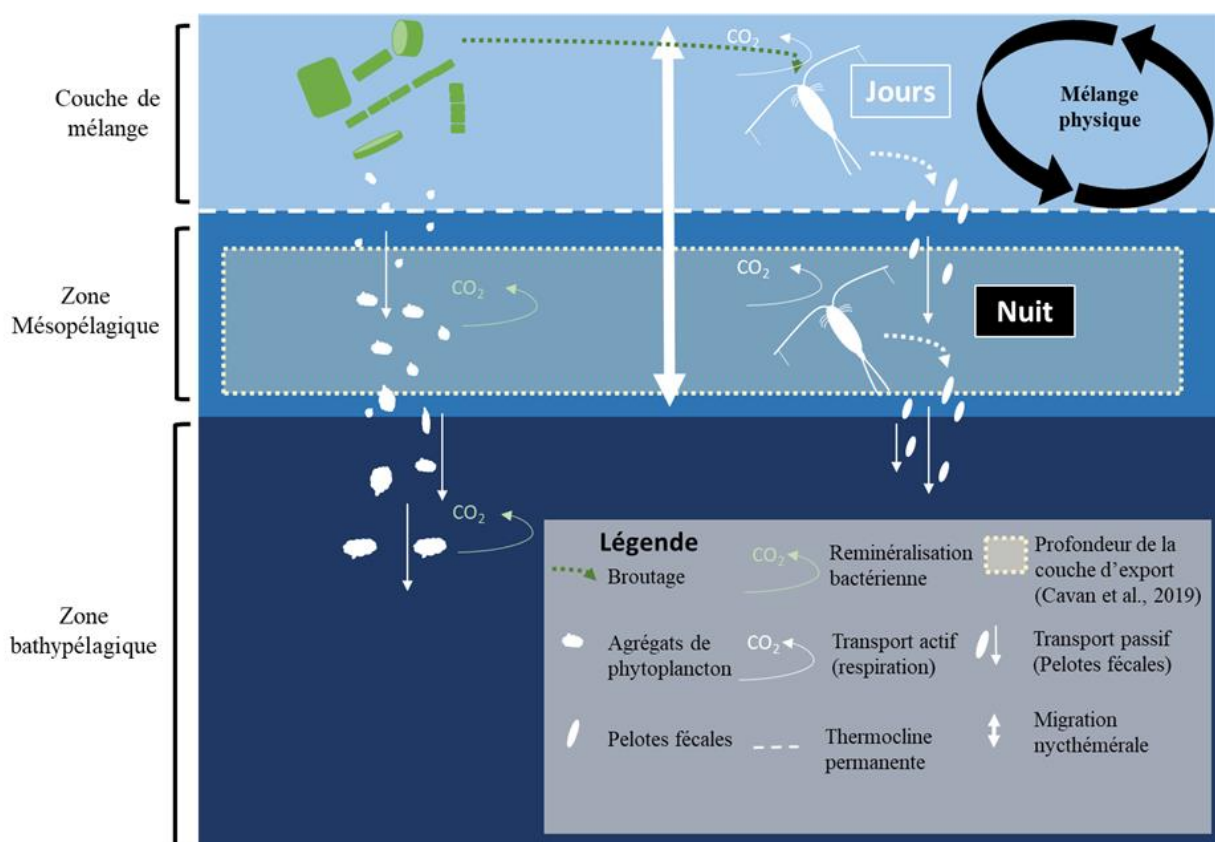


Figure 1.9 : Illustration de la contribution des migrations nyctémérales du zooplancton au transport actif de carbone (J.Toullec).

La migration des organismes zooplanctoniques peut également être saisonnière (**Figure 1.10**). En effet « la pompe lipidique » notamment, contribuent à exporter du carbone sous forme de lipides, stockés par les copépodes. Elle concerne plus spécifiquement des organismes polaires, présentant au cours du cycle saisonnier, des périodes de diapause hivernale (phase de dormance). Au cours de ces phases, les organismes localisés dans la zone mésopélagique, vont stocker des lipides de réserve. L'activité métabolique des organismes étant réduite en période de diapause, les organismes vont utiliser leurs lipides de réserve (production de CO_2) et à leur mort, contribuer à l'export des lipides incorporés vers le fond des océans. Visser et al. (2017) définissent ce phénomène comme la pompe lipidique (Lee et al, 2006; Kobari et al., 2008 ; Jónasdóttir et al., 2015; Visser et al., 2017).

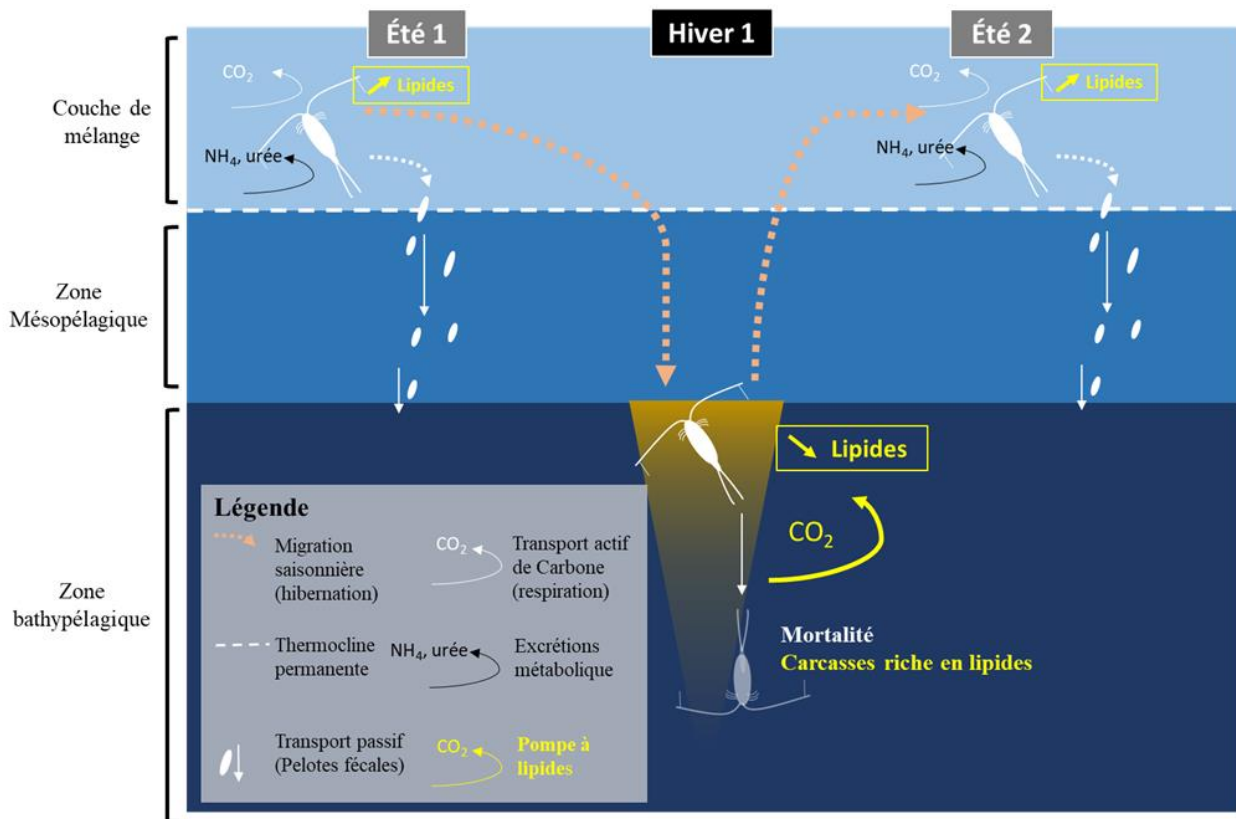


Figure 1.10: Illustration de la migration verticale saisonnière des copépodes (d'après Brun et al., 2019; Dahms, 1995; Jónasdóttir et al., 2015; Visser et al., 2017) (J. Toullec).

iii. La voie gravitationnelle

Il existe plusieurs mécanismes capables d'accélérer la sédimentation des cellules de façon suffisante pour que la matière organique qui les compose échappe à la reminéralisation en surface et soit exportée efficacement. L'inclusion des cellules phytoplanctoniques dans de grosses particules (agrégats et pelotes fécales) favorise l'export de matière par sédimentation gravitationnelle. En effet, bien que la taille ne soit pas le seul paramètre influant la vitesse de sédimentation, de manière générale, les grosses particules sédimentent plus vite que les petites particules (Laurenceau-Cornec et al., 2019). Les agrégats ou neige marine (décrit plus en détail, sous partie 3.a) sont généralement formés en surface pendant et à la fin des efflorescences (Passow et al., 1994; Mopper et al., 1995; Passow & Alldredge, 1995) par l'agrégation de cellules phytoplanctoniques, de pelotes fécales et d'autres particules en suspension (e.g. cellules sénescents du phytoplancton, frustules vides). Avec une taille qui peut atteindre plusieurs centimètres, la vitesse de sédimentation des agrégats est bien plus rapide que les cellules libres, soit en moyenne $< 2 \text{ m j}^{-1}$ pour les cellules libres (Bienfang, 1981; Sarthou et al., 2005), contre 100 à 200 m j^{-1} pour les agrégats de matière organique (Kjørboe & Hansen, 1993; Kjørboe et al., 1996). De la même façon, les diatomées étant à la base du réseau trophique de nombreux

écosystèmes, elles peuvent aussi être transportées suite à l'activité des brouteurs puisque les vitesses de sédimentation de leurs pelotes fécales peuvent largement excéder 100 m j^{-1} (celles des salpes pouvant sédimenter jusqu'à 2000 m j^{-1} ; Turner, 2015). La vitesse de sédimentation des particules (agrégats et pelotes fécales) peut aussi être influencés par l'inclusion de biominéraux (opale, calcite, Ploug et al., 2008; Iversen & Ploug 2010; Lombard et al., 2011), de minéraux (silice lithogénique par exemple, Iversen & Ploug 2010; Bressac et al., 2012), ou bien de particules plus denses comme les spores fortement silicifiés de certaines diatomées (DeJong et al., 2017). L'estimation de la vitesse de sédimentation des particules dans l'océan, pourtant indispensable pour quantifier la voie gravitationnelle est un challenge à l'heure actuelle.

Lors de la thèse je me suis appliqué à mieux comprendre la variabilité de cette voie gravitationnelle à travers l'étude des processus clés contrôlant la dynamique des agrégats.

3. La neige marine, véhicule de la PBC

Les agrégats se forment lorsque suite à une collision, deux particules restent collées grâce à leurs propriétés d'adhésivité. Deux mécanismes majeurs sont donc à l'origine de la formation d'agrégats : la probabilité de rencontre et l'adhésivité des particules. De plus fortes abondances d'agrégats sont observées pendant et à la fin d'un bloom phytoplanctonique (Passow et al., 1994; Mopper et al., 1995; Passow & Alldredge, 1995). Les observations montrent que les diatomées sont des constituants majeurs des agrégats (Wiedmann et al., 2016) et des pics d'abondance d'agrégats dans la zone mésopélagique coïncident avec la fin de l'efflorescences de diatomées en surface (Lampitt et al., 1993 ; Buck & Chavez, 1994; Cataletto et al., 1996).

a) Formation d'agrégats de diatomées

La probabilité de collision entre deux cellules phytoplanctoniques, augmente avec la concentration de particules en présence et la turbulence dans la colonne d'eau (Jackson, 1990). La probabilité de rencontre entre les particules, dont les cellules phytoplanctoniques, est aussi liée à leurs vitesses de sédimentation, en effet une hétérogénéité dans les vitesses, va favoriser les collisions entre les particules, comme montré dans des expériences en cylindre roulant, appelés *rolling* ou *roller tanks* (Shanks & Edmondson, 1989; Jackson, 1990, 2015; Kiørboe & Hansen, 1993; Burd & Jackson, 2009, appelés *rolling tank* durant le reste du manuscrit, **Figure 1.11**). La vitesse de sédimentation des particules varie avec la taille et la forme des particules (Laurenceau-Cornec et al., 2019). Le spectre de taille et l'abondance des particules pouvant s'agréger sont des paramètres très dynamiques en milieu marin.

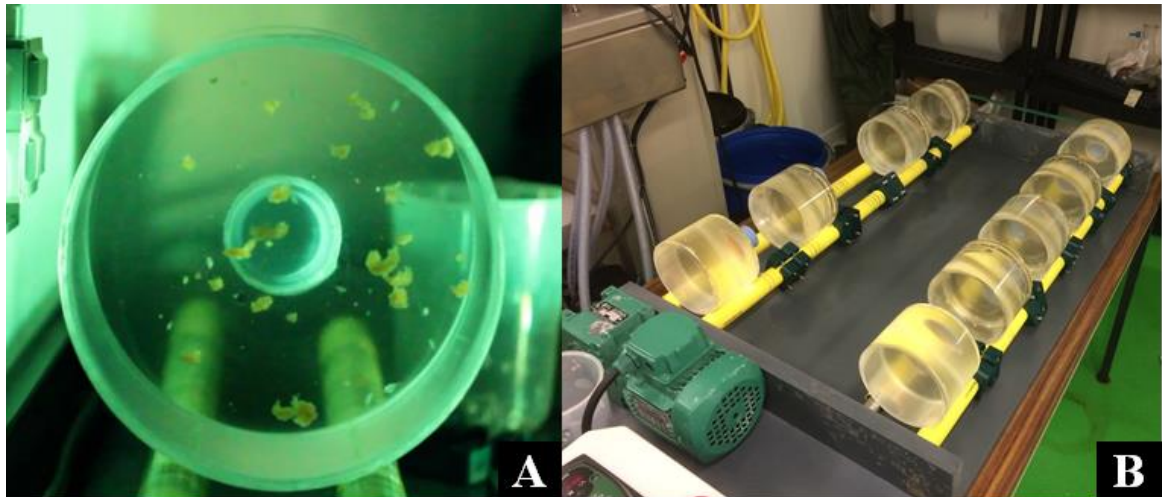


Figure 1.11 : Photos illustrant les rolling tanks. **A)** Vue latérale d'un rolling tank de 4 L contenant des agrégats de *Melosira* sp. **B)** Photos de rolling tanks de 1 L contenant une suspension de *Chaetoceros neogracile* disposés sur une table roulante.

Lorsque deux particules entrent en collision, elles peuvent soit rester collées entre elles soit être cassées par la force de l'impact. Il y a donc en permanence des processus d'agrégation désagrégation des particules dans le milieu naturel. Les propriétés adhésives des particules vont déterminer la probabilité qu'elles auront de s'agréger. Chez les diatomées, ces propriétés adhésives dépendent de certains constituants de la membrane externe, mais aussi de molécules externes très adhésives sécrétées par le phytoplancton et les bactéries (Kiørboe & Hansen, 1993; Passow et Alldredge, 1995) et présentes dans le milieu, les EPS (substances exopolymériques riches en saccharides) et les TEP (particules transparentes issues de l'agrégation des EPS). Ces polymères sont présents sous forme dissoute et particulaire.

La membrane externe des diatomées, située autour du frustule, est composée de polysaccharides constitutifs de cette membrane (Bidle & Azam, 1999). La composition de cette membrane peut varier avec l'état physiologique des cellules, ainsi l'adhésivité des diatomées peut être augmentée par l'exsudation de polysaccharides (Alldredge & Gotschalk, 1988, 1989; Riebesell et al., 1991) ou bien par des particules colorables au bleu de Coomassie et riche en protéines, appelées CSP («Coomassie Stainable Particles») (Cisternas-Novoa et al., 2014; Cisternas-Novoa et al., 2015, 2019a, 2019b; Thornton, 2018). Les exsudats polysaccharidiques dissous et particuliers se retrouvant libres dans la colonne d'eau, leurs abondances augmentent à la fin d'une efflorescence phytoplanctonique (Mopper et al., 1995; Passow, 2000, 2002b, 2002a) et ont été associées à la formation de TEP (Thornton, 2002; **Figure 1.12**). Les sécrétions polysaccharidiques de diatomées ou bactéries comme les EPS dissous, particuliers et les colloïdes

fibrilleux (spectre large particules colloïdales) peuvent s'agréger pour former des précurseurs de TEP (Mopper et al., 1995; Mari & Kiørboe, 1996; Passow, 2000, 2002a, 2002b; Engel and Passow, 2001). Les EPS sont sécrétées en plus grande quantité par les diatomées en situation de stress comme par exemple sous l'effet d'un manque de lumière, de la turbulence, ou de limitations nutritives (Engel & Passow, 2001; Passow, 2002). Les TEP constituent la majorité de la composition de la neige océanique (Alldredge et al., 1993, Alldredge, 1998). Ils ont des tailles moyennes comprises entre 0,2 et 100 μm (voir des extrêmes de plusieurs dizaines de centimètres) et peuvent avoir des abondances supérieures à 5000 mL^{-1} (Mari & Burd, 1998).

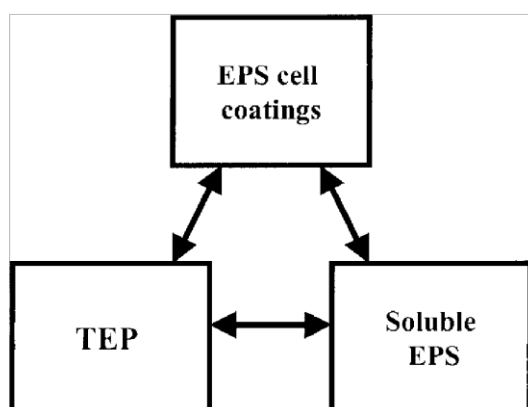


Figure 1.12 : Relation dynamique entre les trois pools d'EPS affectant l'agrégation chez les diatomées. Les flèches correspondent aux possibles conversions entre les différents pools (D'après la review de Thornton, 2002).

L'agrégation est souvent plus importante peu après le pic de l'efflorescence du phytoplancton, (Riebesell, 1991). Ceci s'explique d'une part, par l'abondance maximale en particules en fin d'efflorescence augmentant la probabilité de rencontre/collisions entre particules et d'autre part, par les limitations en nutriments en fin d'efflorescence augmentant l'adhésivité des diatomées (par production d'EPS et de TEP).

Une fois formés, les agrégats de diatomées sédimentent rapidement, en moyenne entre 100 et 200 m j^{-1} (Kiørboe & Hansen, 1993; Kiørboe et al., 1996). Ils peuvent ainsi transporter sous la couche de mélange la matière organique qu'ils contiennent mais ils peuvent aussi devenir des proies potentielles pour les prédateurs planctoniques (Bochdansky & Herndl, 1992; Lombard et al., 2013a, 2013b; Koski et al., 2017). Cependant, en grossissant les agrégats deviennent aussi plus fragiles (Alldredge et al., 1990; Goldthwaith et al., 2005). Ces deux derniers phénomènes expliquent probablement les observations effectuées *in situ* en particulier à l'aide de système d'imagerie *in situ* (comme l'UVP, *Underwater Vision Profiler*) qui montrent une diminution de la

taille moyenne des agrégats avec la profondeur (Stemmann et al., 2004) à l'inverse de ce qui est décrit par la théorie (**Figure 1.5**).

b) Comment étudier les agrégats de matière organique

Les moyens océanographiques modernes permettent de mieux en mieux caractériser et quantifier les flux d'export de matière organique *in situ*.

Les trappes à sédiments permettent de quantifier un flux de matière instantané et localisé (Buesseler et al., 2007a, 2007b; Nowald et al., 2015), mais ne permettent pas d'étudier la complexité des agrégats (spectre de tailles, abondance de particules et qualité des particules). Pour pallier ce manque, le développement des « **gel traps** », augmente la capacité d'analyse des particules, permettant de caractériser la morphologie ainsi que le type de particules collectées (McDonnell et al., 2015; Estapa & Buesseler, 2018). Cependant, les trappes ne donnent aucune information sur la vitesse de sédimentation des particules.

L'observation *in situ en plongée* permet d'estimer les tailles et les vitesses individuelles de sédimentation des agrégats de grandes tailles (Alldredge & Gotschalk, 1988). Cependant, ce procédé ne permet pas d'obtenir de grande quantité de données (mesures manuelles agrégat par agrégat) et seulement les agrégats de grandes tailles (visible à l'œil nu en plongée) peuvent être mesurés.

Les **outils de collecte et de séparation des particules selon leurs vitesses de sédimentation** comme le "Marine Snow Catcher" permettent sur un volume d'eau échantillonné *in situ* (100 L), de fractionner les particules à sédimentation rapide (en 2 h), des particules à sédimentation lente (Riley et al., 2012; Belcher et al., 2016).

La combinaison de **trappes à sédiments** et d'outils **d'imagerie in situ** (système de caméra au niveau des collecteurs), permettent de confronter la taille et la vitesse de sédimentation des particules avec la quantité et la qualité de la matière exportée (Asper, 1987; Diercks et Asper, 1997).

L'imagerie qualitative et quantitative automatique permet d'obtenir des profils de particules à haute résolution en termes de comptage et de spectre de taille. L'UVP ou profileur à imagerie sous-marine (*Underwater Vision Profiler*) par exemple, couplé à des algorithmes de classification automatique des images, permettent de caractériser les particules vivantes (groupes zooplanctonique) et les agrégats sur un profil vertical (Gorsky et al., 1999, 2010, Stemmann et al., 2002, 2004, Guidi et al., 2007, 2008, 2015; Picheral et al., 2010). Il est cependant, impossible à l'heure actuelle de mesurer directement la vitesse de sédimentation des particules, qui peut toutefois être estimée à partir de leurs tailles (Guidi et al., 2008).

On peut également étudier la formation d'agrégats de matière organique et leur dynamique en laboratoire, grâce à l'utilisation de cylindres en rotation continue, renfermant des particules en suspension maintenues en constante sédimentation : Les rolling tanks (Shanks & Edmonson, 1989; Ploug et al., 2010; Jackson, 2015; **Figure 1.11**). Il existe des rolling tanks fermé (dit « en batch »), mais également des rolling tanks modifiés, dans lesquels il est possible d'appliquer un flux entrant et sortant (Long et al., 2015). Les rolling tanks ont été utilisés au cours de mes travaux expérimentaux (**Chapitres II et III**). En effet les rolling tanks permettent à partir de cultures cellulaires de phytoplancton ou bien de communautés *in situ*, de former des agrégats et de suivre les changements d'abondance de taille et de leurs vitesses associées en lien avec leurs compositions.

4. Rôle du zooplancton dans la PBC

a) Présentation générale du zooplancton

Le zooplancton comprend l'ensemble des organismes hétérotrophes pélagiques, protistes et métazoaires ne pouvant pas s'opposer à l'entraînement par les courants (contrairement au necton). Le zooplancton est composé d'espèces réalisant l'intégralité de leurs cycles de vie sous forme planctonique (holoplancton ou plancton permanent), ou bien des espèces ne réalisant qu'une seule partie de leurs cycles de vie au sein du plancton (méroplancton ou plancton temporaire), comme par exemple les larves et œufs de poissons et d'invertébrés. Au sein du réseau trophique, les organismes zooplanctoniques sont généralement classifiés en fonction de leurs tailles (Sieburth et al., 1978). Le microplancton (20 - 200 μm) comprend essentiellement les protozoaires ciliés et dinoflagellés et intègre des stades larvaires d'organismes benthiques ou pélagiques (Quevedo & Anadon, 2000). Le mésoplancton (200 μm - 2 mm) est en général dominé par les copépodes planctoniques (80-95% de la biomasse; 70 - 95% de l'abondance, Turner, 2004) mais peut comprendre des protistes de grande taille (foraminifères et radiolaires ; Stoecker et al., 1996). C'est sur cette composante zooplanctonique qu'a porté l'essentiel de mes travaux de thèse. Enfin, le macroplancton (2 mm – 20 mm) et le megaloplancton (> 20 mm) se réfère davantage au plancton gélatineux de grande taille et en particulier aux méduses.

b) Les copépodes principaux acteurs du réseau trophique et de la PBC

Les copépodes (Emb. Arthropodes, Sous-classe Crustacés) font partie du mésozooplancton, Ils constituent les organismes les plus diversifiés du zooplancton et sont

présents dans tous les milieux marins et dulcicoles (Humes, 1994) où ils peuvent être pélagiques, benthiques ou encore parasites d'autres espèces (Mauchline, 1998). On estime qu'il y aurait plus de 11 500 espèces, divisées en 200 familles et plus de 1650 genres (Humes, 1994). Dans l'océan ouvert ils représentent 80-95 % de la biomasse des captures par filets (Longhurst, 1985; Turner, 2004). Les copépodes sont particulièrement importants dans l'écosystème planctonique, du fait qu'ils se nourrissent sur les producteurs primaires et ainsi constituent les intermédiaires vers les maillons trophiques supérieurs (larves de poissons et organismes gélatineux par exemple). En plus d'être des organismes dominants et des maillons trophiques essentiels dans le plancton, les copépodes jouent un rôle clé dans le cycle des éléments majeurs (C, N, P, Si et Fe), principalement grâce à leurs activités de broutage (transformation après ingestion des proies) et via la respiration et l'émission de pelotes fécales, mais également en jouant le rôle de transporteur de ces éléments via la migration nycthémerale et saisonnière (transport passif/actif, voir **Figures 1.9 et 1.10**).

Lors de ma thèse, considérant les copépodes comme organismes clés dans la PBC, je me suis appliqué à comprendre l'implication des copépodes dans la variabilité des processus clés contrôlant la formation d'agrégats et leurs vitesses de sédimentation.

5. Objectifs et organisation du manuscrit

Dans ce contexte, il est indispensable d'améliorer notre compréhension des interactions copépodes/diatomées et leurs conséquences sur l'export de carbone. Ces interactions peuvent en effet fortement influencer l'export via entre autre l'équilibre entre l'agrégation et la désagrégation des cellules, comme mentionné plus haut. Les limitations en sels nutritifs qui ont lieu lors de l'avancée d'une efflorescence phytoplanctonique et sont également les conséquences attendues du réchauffement global, peuvent à leur tour avoir des conséquences sur l'activité de broutage. Dans ce cadre le but de ce travail de thèse vise à évaluer **le rôle des interactions copépodes/diatomées sur l'export de carbone, dans un contexte de changement climatique**.

L'état de l'art réalisé fait ressortir des questions essentielles relatives à l'étude de la PBC, impliquant les limitations en sels nutritifs, les diatomées, les agrégats et les copépodes (**Figure 1.13**). Pour répondre à cette problématique j'ai utilisé deux approches complémentaires: une approche expérimentale en laboratoire via l'utilisation de rolling tanks (Shanks & Edmonson, 1989 ; Jackson, 2015 ; Ploug et al., 2010; **Figure 1.11**), ces expériences d'incubation font l'objet des **Chapitres II et III**. Une approche *in situ*, utilisant principalement les données acquises par l'UVP5 collectées lors de la campagne GreenEdge 2016 en Baie de Baffin, décrite dans le **Chapitre IV**.

La problématique de la thèse soulève trois questions scientifiques principales qui sont traitées dans les chapitres suivants:

Chapitre II: Les limitations en sels nutritifs affectent-elles les activités alimentaires des copépodes sur les diatomées ? Pour répondre à cette question, des expériences d'incubation mettant en contact des diatomées et des copépodes ont été réalisés dans différentes conditions (limitations nutritives ou non). Les activités alimentaires (taux de filtration apparent et émission de pelotes fécales) de différents copépodes ont été mesurées et mis en lien avec les réponses physiologiques des diatomées aux limitations en sels nutritifs (p 33 - 70).

Chapitre III: Les copépodes influencent-ils la formation d'agrégats et leurs dynamiques ? Pour répondre à cette question, des expériences d'incubation mettant en contact des diatomées et des copépodes, ainsi que des agrégats de diatomées avec des copépodes ont été réalisés. Les traits fonctionnels des copépodes ont été mis en lien avec les processus de formation d'agrégats, ainsi que leur dynamique (fragmentation et réagrégation). Cette partie du travail est présentée sous forme d'un article publié dans *Frontiers in Marine Science* (p 71 – 97).

Toullec, J., Vincent, D., Frohn, L., Miner, P., Le Goff, M., Devesa, J. & Moriceau, B. (2019). Copepod grazing influences diatom aggregation and particle dynamics. *Frontiers in Marine Science*, 6 :751. doi : 10.3389/fmars.2019.00751

Chapitre IV: Cas d'étude : Quels sont les processus qui contrôlent la formation d'agrégats au cours de l'efflorescence phytoplanctonique printanière en Arctique ? Pour répondre à cette question, j'ai exploité les données d'une campagne réalisée en Baie de Baffin en 2016. J'ai confronté des paramètres hydrobiologiques avec des profils d'abondance de particules (agrégats et copépodes). Cette partie du travail est présentée sous forme d'un article à soumettre dans *Elementa : Science of the Anthropocene* (p 98 - 134).

Toullec, J., Moriceau, B. & Vincent, D. (à soumettre). Processes controlling aggregate formation and distribution during Arctic spring bloom in the Baffin Bay. *Elementa: Science of the Anthropocene*.

Chapitre V: Discussion: Dans la synthèse de ces travaux je confronte les résultats obtenus lors de mes études expérimentales aux observations en baie de Baffin, afin de comparer l'importance relative pour l'export de chacun des processus que j'ai étudiés (p 135 - 144).

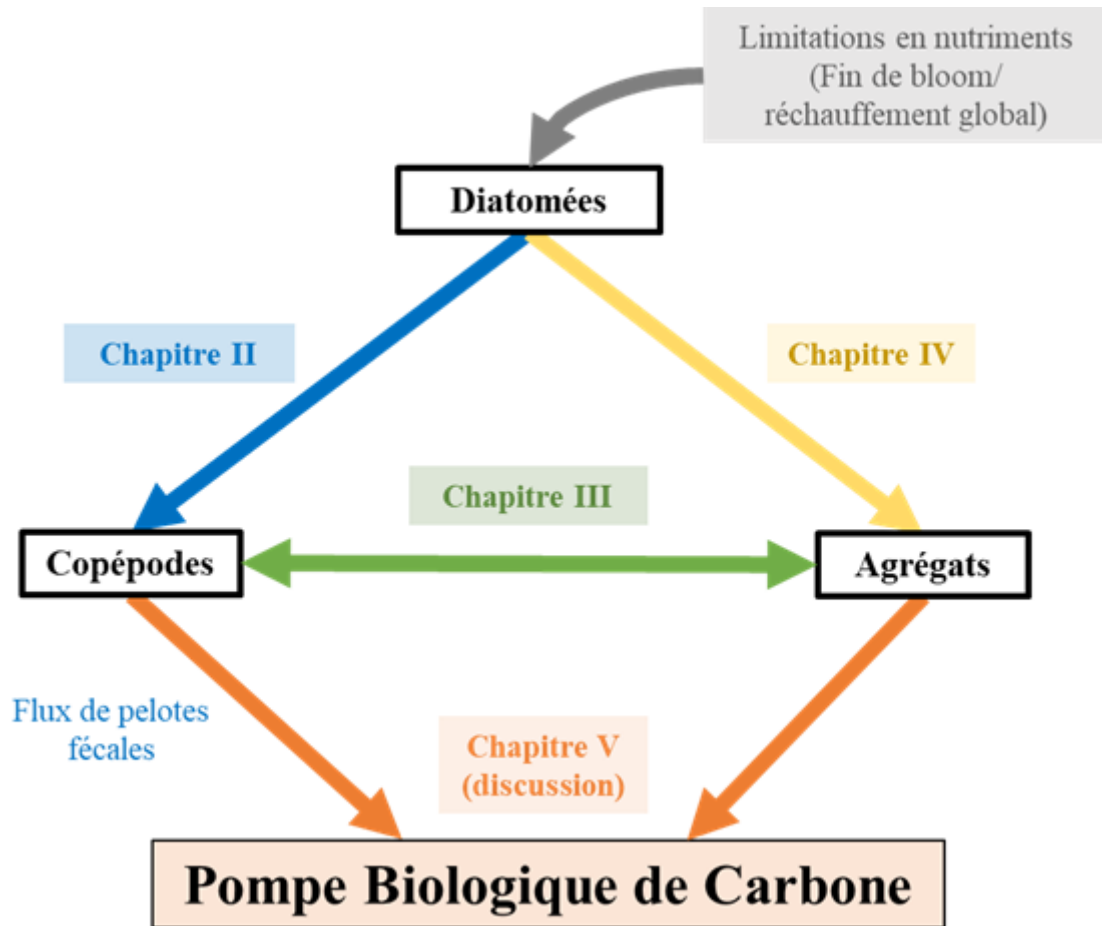
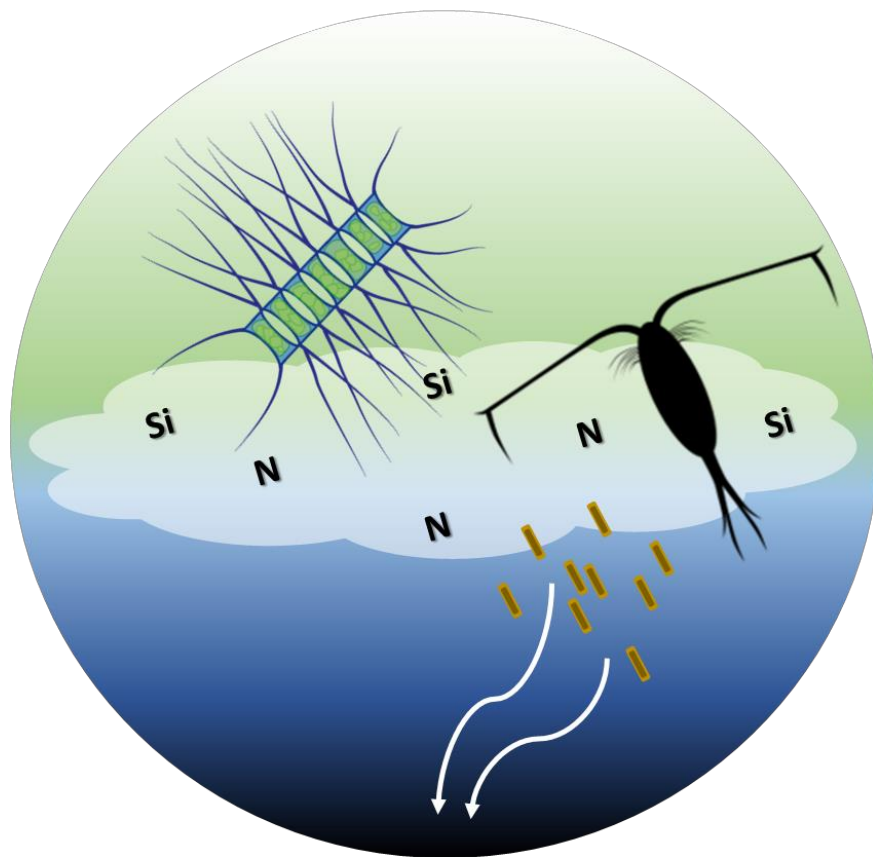


Figure 1.13 : Schéma des liens entre les différents chapitres de la thèse, considérant les diatomées, les limitations en sels nutritifs, les copépodes, l'émission de pelotes fécales par les copépodes et les agrégats. Selon ce Schéma, la pompe biologique de carbone est contrôlée par le flux de pelotes fécales et d'agrégats de diatomées.

II. Interactions copépodes/diatomées

Étude des limitations en azote et silicium sur les activités alimentaires des copépodes



1. Introduction

À l'échelle de l'océan global, les cycles du silicium et du carbone sont étroitement couplés grâce au lien entre la photosynthèse et l'utilisation du silicium par les diatomées. Les diatomées ont un besoin absolu en silicium pour construire leurs frustules composés de silice polymérisée amorphe (bSiO_2). Si les diatomées sont responsables de près de 40 % de la production primaire mondiale (Nelson et al., 1995a; Smetacek, 1999; Rousseaux & Gregg, 2013), leur contribution à la production primaire peut fortement varier selon les régions et en fonction des paramètres environnementaux qui contrôlent leur croissance et leur productivité. Des changements de silicification des diatomées peuvent également survenir pendant la croissance, lorsque celles-ci sont limitées en nutriment majeurs (N, P, Si). En régulant le taux de croissance des diatomées (Martin-Jézéquel et al., 2000; Claquin et al., 2002), les limitations en nutriments influencent la taille et la composition élémentaire des diatomées (Harrison et al., 1977; Augustin & Boersma, 2006; Isari et al., 2013). En effet les frustules sont généralement plus silicifiées lorsque la croissance est ralentie par une limitation en azote, phosphore ou encore en lumière et moins silicifiées lorsque les diatomées subissent une limitation en silicium (Claquin et al., 2002; Hildebrand, 2002; Suroy et al., 2015). Enfin, la disponibilité des éléments nutritif, influence la vitesse de sédimentation des cellules via des modifications de la flottabilité (Richardson and Cullen, 1995), ou de la densité via le degré de silicification (Raven & Waite, 2004).

Dans la majorité de l'océan ouvert, l'azote et le silicium sont deux macronutriments qui peuvent limiter la production des diatomées (Moore et al., 2002). A l'heure actuelle, très peu d'études ont évalué l'influence des limitations en nutriments sur le broutage du zooplancton. Les récents travaux de Liu et al. en 2016, démontrent que le copépode *Parvocalanus crassirostris* consomme préférentiellement les diatomées (*Thalassiosira weissflogii*) lorsqu'elles sont moins silicifiées, mais ce processus est-il généralisable à d'autres couples proies/prédateurs de types diatomées/copépodes? Les limitations en nutriments peuvent-elles modifier le broutage par le zooplancton ? et quelles en seraient les conséquences en termes d'émission de pelotes fécales et d'export de carbone ?

Les copépodes sont les organismes dominants dans les assemblages zooplanctoniques (Ohman and Hirche, 2001) et sont les consommateurs principaux des diatomées (Calbet, 2001; Irigoien et al., 2002, 2005). Le broutage des copépodes sur les diatomées, est au cœur de nombreux processus biogéochimiques clés dans l'océan (Smetacek et al., 2004; voir **Chapitre I**). L'une des conséquences possibles du réchauffement global, est l'augmentation des limitations en nutriments dans la couche euphotique (Bopp et al., 2001; Doney, 2006; Doney et al., 2012, voir **Chapitre I**).

Ainsi ces limitations en affectant la composition des diatomées, tels que la silicification ou les rapports stoechiométriques (C:N et N:P), qui sont des facteurs de sélectivité alimentaire pour les copépodes, devraient également affecter la sélectivité des copépodes (Meunier et al., 2016; Herstoff et al., 2019).

C'est pourquoi, l'objectif de ce deuxième chapitre est d'explorer les questions suivantes:

- **Quels changements les limitations entraînent sur la physiologie des diatomées ?**
- **Les copépodes changent-ils leurs activités alimentaires lorsque les diatomées sont limitées ?**
- **Quels changements physiologiques chez les diatomées influencent le broutage par les copépodes ?**
- **Comment les diatomées réagissent-elles face au broutage par les copépodes ?**
- **Quel en serait l'impact sur le flux de carbone ?**

2. Matériels et méthodes

Nous avons utilisé une approche expérimentale sur deux diatomées modèles, *Chaetoceros neogracile* (cellules libres) et *Skeletonema marinoi* (formant des chaînes de plusieurs cellules) et 3 espèces de copépodes (*Euterpina acutifrons*, *Acartia clausi* et *Calanus helgolandicus*), possédant des traits fonctionnels différents en terme de trajectoire de nages et de comportement natatoire (*cruise feeders* et *filter feeders*), pour répondre à la problématique. Dans ce chapitre, nous nous focaliserons sur l'impact des limitations nutritives en azote (nitrates) et en silicium (silicates) sur la physiologie des diatomées (taux de croissance, bSi par cellule, rapports Si:C et C:N, tailles des cellules et structures cellulaires externes et la production de TEP), ainsi que sur le broutage des copépodes. Nous avons choisi ces limitations, car elles représentent avec le fer, les limitations nutritives les plus observées dans l'océan (Moore et al., 2013). De plus, plusieurs études démontrent qu'elles induisent des variations de silicification opposées chez les diatomées (Marchetti & Cassar, 2009), des changements stœchiométriques (Hutchins & Bruland, 1998; Hutchins et al., 1998) ou bien encore la production de mucus à l'origine de la formation des particules comme les EPS et TEP (Mykkestad, 1977; Corzo et al., 2000; Mari et al., 2005).

a) Culture des diatomées

Deux espèces de diatomées centriques ont été utilisées au cours des expériences, *Chaetoceros neogracile* qui reste sous forme de cellules libres (souche CCAP 1010/3, **Figure 2.1A**) et *Skeletonema marinoi* qui forme des chaînes de plusieurs cellules (souche CCAP 1077/5,

Figure 2.1B). Les souches ont été obtenues à partir de collections d'Ifremer (Laboratoire de physiologie fonctionnelle des organismes marins, centre de l'Ifremer Bretagne, France). Les diatomées ont été cultivées en continu dans du milieu F/2 (Guillard & Ryther, 1962) préparé avec de l'eau de mer autoclavée filtrée sur 1 μm , en provenance de la rade de Brest (Bretagne, France). Les cellules ont été maintenues en phase de croissance exponentielle dans des ballons de culture en verre de 2 L à 20°C sous lumière continue (100 $\mu\text{moles de photons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$). Une alimentation constante en CO_2 permettait de maintenir le pH entre 7,5 et 7,9. Les genres de diatomées *Chaetoceros* spp. et *Skeletonema* spp ont été choisis à cause de leur dominance printanière lors d'efflorescences phytoplanctoniques en rade de Brest (Bretagne, France) (voir Schultes et al., 2013).

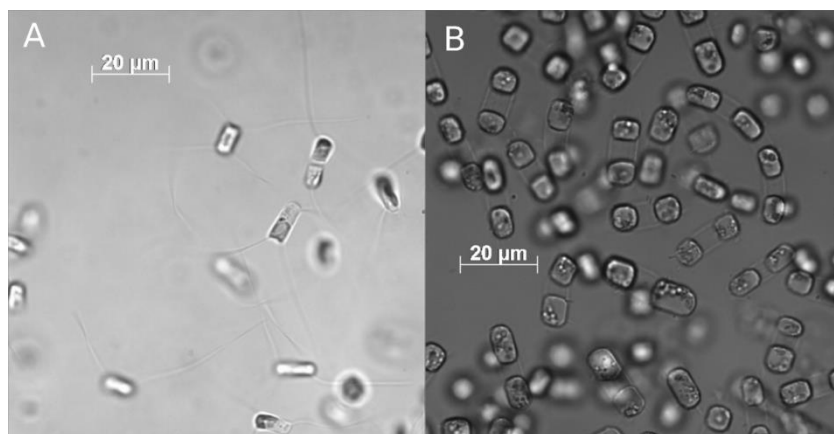


Figure 2.1 : Photos prises par microscopie optique (grossissement $\times 40$) des cellules de *Chaetoceros neogracile* gauche (A) et *Skeletonema marinoi* à droite (B).

Afin de limiter les cellules en azote ou en silicium, le milieu de culture F/2 a été modifié (Guillard & Ryther, 1962). Les concentrations initiales en NO_3^- ou en H_4SiO_4 ont été divisées par 10 par rapport aux concentrations habituelles du milieu F/2 (**Tableau 2.1**).

Tableau 2.1 : Concentrations en macronutriments des milieux de culture F/2 utilisés pour la limitation des diatomées.

Limitation	NO_3^- ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	$\text{Si(OH}_4)$ ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	HPO_4^- ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)
Non limité	883	106	36,3
Silicium	833	10,6	36,3
Azote	88,3	106	36,3

Comptages cellulaires : Les concentrations cellulaires ont été déterminées à l'aide d'une chambre de comptage cellulaire de Malassez. En fonction de la densité des cellules dans les ballons de culture et dans les rolling tanks, 3 à 12 sous-échantillons (pseudo-réplicats) ont été comptés, ce qui correspond au dénombrement total d'environ 400 cellules par échantillon.

Mesures des dimensions des cellules : Les cellules ont été mesurées individuellement à partir des photos prises par un appareil photo numérique (Canon EOS 600D) monté sur un microscope à épifluorescence Zeiss AxioObserver Z1. Le diamètre (d , μm) et la hauteur (h , μm) de chaque cellule (avec $d > h$) ont été dérivés des images et estimés à l'aide d'un logiciel d'analyse d'images (Inkscape®) calibré à partir de l'échelle correspondant au grossissement du microscope (Logiciel AxioVision®). Entre 73 et 116 cellules ont été mesurées individuellement pour chaque espèce et condition. Le volume (μm^3) et la surface (μm^2) ont été calculés en considérant les cellules comme des cylindres de diamètre d et hauteur h (Hillebrand et al., 1999). Les calculs de volume (V , μm^3) et de surface (A , μm^2) utilisent respectivement les équations (1) et (2).

$$V = \frac{\pi}{4} \times d^2 \times h \quad (1)$$

$$A = \pi \times d \times \left(\frac{d}{2} + h\right) \quad (2)$$

Les mesures de surface, volume cellulaire ainsi que la longueur des spicules de *C. neogracile* et la longueur des espaces intercellulaires chez *S. marinoi* ont été mesurées au microscope (comme décrit ci-dessus) au cours d'incubations préliminaires en ballons, réalisées dans les mêmes conditions que les cultures utilisées dans les incubations avec les copépodes (non limitée, limitée en azote et limitée en silicium).

b) Échantillonnage et élevage des copépodes

Trois espèces de copépodes (*Euterpina acutifrons*, *Acartia clausi* et *Calanus helgolandicus*) ont été choisies pour réaliser les expériences de broutage (**Figure 2.2**). Le choix de ces espèces a été conditionné par leur dominance printanière synchrone avec les efflorescences phytoplanctoniques en rade de Brest (Bretagne, France) (voir Schultes et al., 2013), notamment avec les genres *Chaetoceros* spp. et *Skeletonema* spp auxquels appartiennent nos espèces modèles de diatomées. Ces 3 espèces de copépodes sont caractérisées par des tailles différentes, traits fonctionnels alimentaires, natatoires et reproducteurs différents (Benedetti et al., 2016). En effet

A. clausi (0,9 mm de longueur totale) et *C. helgolandicus* (2,7 mm de longueur totale) sont tous deux des filtreurs omnivores, *C. helgolandicus* pouvant en outre effectuer des migrations verticalement dans la colonne d'eau (Andersen et al., 2001, 2004). *E. acutifrons* (0,5 mm de longueur totale) est décrit comme étant un *cruiser feeder* (recherche active des proies) avec une tendance à se nourrir de matière détritique (Benedetti et al., 2016). Les copépodes utilisés dans les expériences, ont été prélevés sur le site d'échantillonnage de Lanvéoc (48°18,00 N, 4°27,360 W) lors de plusieurs sorties à bord du navire océanographique "Albert Lucas" (INSU-CNRS-UBO) sur les périodes de janvier à avril (années 2017 et 2018). Le zooplancton a été prélevé à l'aide d'un filet à plancton de type WP2 (0,25 m² de surface d'ouverture, 200µm de vide de maille) muni d'un collecteur terminal de 2 L, au cours de traits horizontaux de 10 min à environ 3 m de profondeur (vitesse < 1 m.s⁻¹). Après chaque trait de filet, les échantillons de zooplancton ont été immédiatement dilués dans 30 L d'eau de mer prélevée en surface, stockés à l'obscurité dans une glacière et ramenés au laboratoire dans les 3h suivant le prélèvement.

Les élevages de copépodes ont été initiés par tri individuel et spécifique des organismes à la loupe binoculaire. Deux ordres de copépodes ont été testés : des harpacticoides (*Euterpina acutifrons*) et des calanoides (*Acartia clausi* et *Calanus helgolandicus*). De 100 à 250 individus femelles pour les harpacticoides et calanoides respectivement ont été triés et placés dans de l'eau de mer filtrée (1 µm) et un rapport mâle/femelles de 1/5 a été respecté pour permettre la reproduction des individus isolés. Les copépodes en élevage ont été maintenus à 18°C, à une salinité de 33 et avec un cycle jour:nuit de 12:12 h dans des béciers en polycarbonate de grand volume (de 7 à 20 L). Chaque bécier était alimenté en oxygène par bullage. Les copépodes ont été nourris chaque jour en excès avec un mélange de phytoplancton à des concentrations dépassant 10³ - 10⁴ cell.mL⁻¹ (Berggreen et al., 1988; Vincent et al., 2007), évitant ainsi la prédation des adultes sur les jeunes stades (Bonnet et al. 2004). Le mélange de phytoplancton provenait de cultures monospécifiques d'algues (*Rhodomonas salina*, *Thalassiosira weissflogii*, *Tisochrysis lutea* et *Tetraselmis suecica*) cultivées dans les mêmes conditions que *S. marinoi* et *C. neogracile*. L'eau de mer a été renouvelée tous les deux jours de 10 à 20 %. 24 h avant le début de chaque expérience, 30 copépodes (*C. helgolandicus*) à 100 copépodes (*E. acutifrons*) ont été isolés dans des béciers contenant 1 L d'EDM filtrée sur 0,2 µm et sans nourriture. Cette phase de jeûne de 24 h a permis l'évacuation des contenus digestifs, maximisant ainsi l'ingestion pendant l'incubation.



Figure 2.2 : Copépodes utilisés au cours des incubations avec *Chaetoceros neogracile* et *Skeletonema marinoi*.

c) Incubations proies/prédateurs

Dispositif expérimental : Toutes les expériences d'incubation ont été réalisées dans des rolling tanks, il s'agit de cylindres fermés hermétiquement en rotation continue, renfermant des particules en suspension maintenues en constante sédimentation (Shanks et Edmonson, 1989 ; Jackson, 2015 ; Ploug et al., 2010; voir **Figure 1.11** dans le **Chapitre I**). Un ensemble de 7 expériences a été réalisé (**Tableau 2.2**) utilisant les diatomées en fin de phase exponentielle de croissance comme source de nourriture. Pour chaque expérience, des rolling tanks contenant uniquement des diatomées (témoins) ont été réalisés en même temps que des rolling tanks contenant à la fois des diatomées et des copépodes, le tout en triplicats (**Figure 2.3**, **Tableau 2.2**). Les concentrations initiales correspondent au maximum des efflorescences dans la région, pouvant atteindre $\times 10^5$ cell.mL⁻¹ pour les genres *Chaetoceros* spp. et *Skeletonema* spp. (Soudant et Belin, 2018). Les cultures ont été diluées dans les rolling tanks avec de l'eau de mer filtrée sur 1 µm, provenant de la rade de Brest (Bretagne, France) contenant des concentrations hivernales en sels nutritifs, levant ainsi les limitations nutritives au cours des expériences de broutage. Afin d'obtenir un signal de broutage significatif, les abondances en copépodes dans les rolling tanks étaient plus élevées (de 11 ± 1 à 35 ± 0 ind.L⁻¹) que celles généralement mesurées *in situ* à la fin d'une d'efflorescence dans l'océan Atlantique Nord (généralement 4 ind.L⁻¹ pour les calanoïdes et 0,2 ind.L⁻¹ pour harpacticoides, Schultes et al., 2013) mais restent inférieures au maximum observé dans les séries temporelles du système eutrophe du détroit de Long Island (Capriulo et al., 2002) avec des

abondances atteignant 30 à 50 ind.L⁻¹ pour *Temora longicornis* ou > 35 ind.L⁻¹ pour *Acartia hudsonica*. Les abondances choisies sont comparables aux valeurs de nombreuses études expérimentales, avec des abondances de 8,3 à 12,5 ind.L⁻¹ (Sarhou et al., 2008), 14 ind.L⁻¹ pour *E. acutifrons* (Sautour et Castel, 1993), 8,3 ind.L⁻¹ pour *C. helgolandicus*.L⁻¹. Après la phase de jeûne, seuls les individus vivants et viables ont été collectés individuellement, puis placés délicatement dans les rolling tanks de 1 L contenant les diatomées. Les rolling tanks ont ensuite été remplis avec les cultures de diatomées (concentrations résumées dans le **Tableau 2.2**) en évitant au maximum l'introduction de bulles d'air, puis placés sur une table roulante avec une vitesse de rotation de 3 tours min⁻¹. La rotation des rolling tanks permet ainsi d'homogénéiser le milieu d'incubation. Les incubations ont été réalisées à 18°C avec un cycle jours:nuit de 12:12 h pendant 24 h.

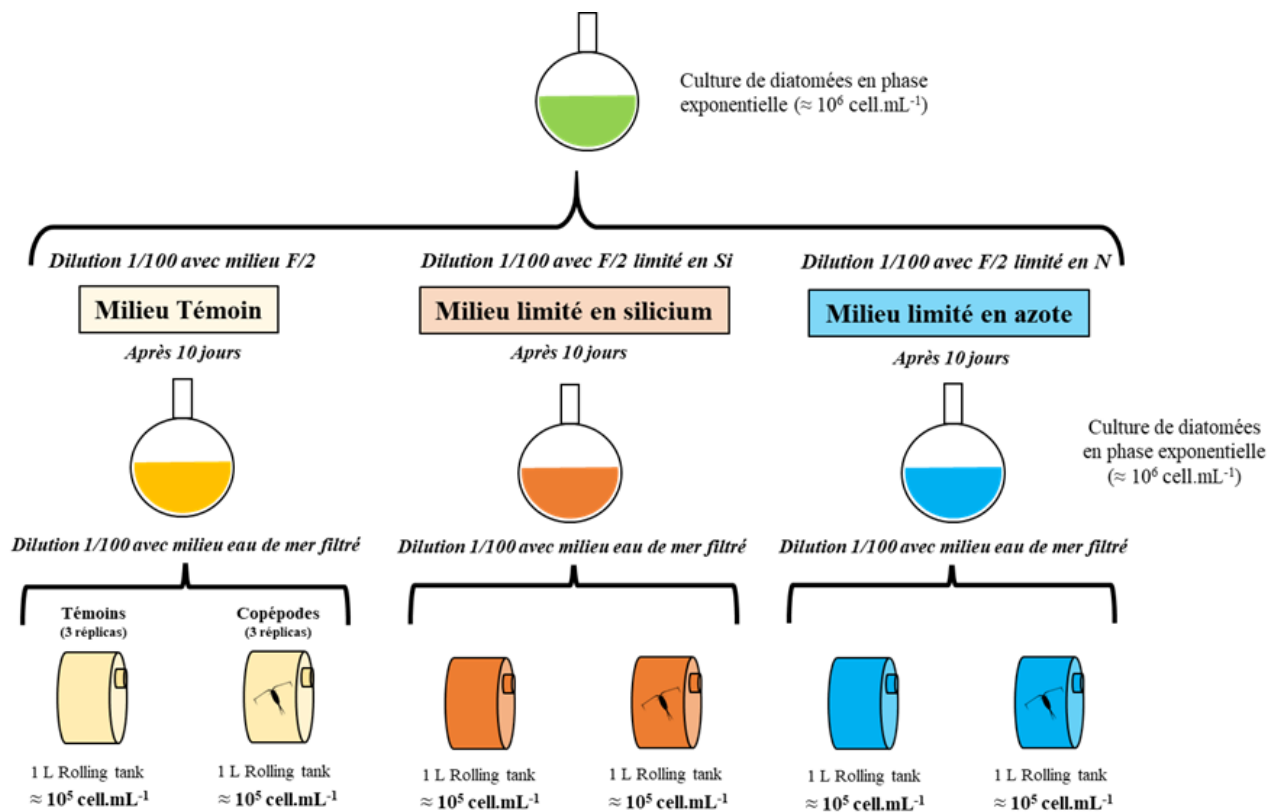


Figure 2.3 : Protocol expérimental.

Tableau 2.2 : Conditions initiales des différentes expériences d'incubation diatomées/copépodes. Chaque incubation a été réalisée en triplicats.

Expérience	Limitation	Diatomées		Copépodes		Concentration TEP (Xanthane)		C:N mol:mol	Si:C mol:mol
		Espèces	10 ⁵ cell.mL ⁻¹	Espèces	ind.L ⁻¹	µg Xeq.L ⁻¹	pg Xeq.cell ⁻¹		
1	Non limitée	<i>C. neogracile</i>	3,3 ± 0,6	contrôle	0	1,6 ± 0	4,6 ± 0,9	7,3 ± 1,8	0,07 ± 0,01
				<i>E. acutifrons</i>	31 ± 0				
				<i>A. clausi</i>	18 ± 0				
2	Silicium	<i>C. neogracile</i>	4,0 ± 0,3	contrôle	0	6,1 ± 1,1	15,5 ± 4	14,3 ± 0,3	0,05 ± 0
				<i>E. acutifrons</i>	34 ± 2				
				<i>A. clausi</i>	17 ± 1				
3	Azote	<i>C. neogracile</i>	2,3 ± 0,2	contrôle	0	3,4 ± 0	14,6 ± 1,5	8,5 ± 0,7	0,28 ± 0,02
				<i>E. acutifrons</i>	33 ± 2				
				<i>A. clausi</i>	16 ± 3				
4	Non limitée	<i>S. marinoi</i>	1,8 ± 0,3	contrôle	0	1,8 ± 0,7	9,9 ± 5,3	11,2 ± 1,3	0,04 ± 0
				<i>E. acutifrons</i>	35 ± 0				
				<i>C. helgolandicus</i>	11 ± 1				
5	Silicium	<i>S. marinoi</i>	1,2 ± 0,2	contrôle	0	3 ± 0,5	24 ± 7,6	8,1 ± 1,1	0,04 ± 0
				<i>E. acutifrons</i>	34 ± 2				
				<i>C. helgolandicus</i>	11 ± 1				
6	Azote	<i>S. marinoi</i>	5,3 ± 0,8	contrôle	0	5,2 ± 0,7	9,8 ± 2,7	15,8 ± 3,1	0,11 ± 0,02
				<i>E. acutifrons</i>	28 ± 0				
				<i>C. helgolandicus</i>	11 ± 1				
7	Azote	<i>S. marinoi</i>	2,4 ± 0,2	contrôle	0	4,4 ± 1,7	18,1 ± 8,3	11,9 ± 2,6	0,18 ± 0,04
				<i>E. acutifrons</i>	34 ± 2				

Échantillonnage en fin d'incubation : À la fin de chaque incubation (T_f), les copépodes ont été soigneusement récupérés par tamisage du volume total de chaque rolling tank au travers d'un tamis immergé de 200 μm . La mortalité des copépodes a été évaluée à la loupe binoculaire. Après prélèvement des copépodes, les pelotes fécales de *C. helgolandicus* (expériences 4 à 6) ont été récupérées en tamisant une seconde fois le milieu d'incubation sur une maille de 40 μm . Les pelotes fécales ont été ensuite regroupées dans des tubes de 50 mL avant analyses chimiques, comptages et mesures des tailles (méthodes ci-dessous). Après leur comptage, les pelotes fécales ont été filtrées ($N = 100$ à 200 par filtre) sur filtres en fibre de verre GF/F préalablement calcinés (4 h à 450°C) pour les analyses COP/NOP (Carbone Organique Particulaire et Azote Organique Particulaire) et sur filtres en polycarbonate de 0,4 μm (Millipore) pour les analyses $b\text{SiO}_2$ (voir méthodes ci-dessous).

Analyses chimiques des diatomées et des pelotes fécales :

Silice biogénique ($b\text{SiO}_2$) : 10 ml de suspension cellulaire (à T_0 et T_f), ou 100 à 200 pelotes fécales de *C. helgolandicus* (à T_f), ont été filtrées sur des filtres en polycarbonate de 0,4 μm (Millipore), puis placés dans des boîtes de Pétri avant d'être séchés à 55°C dans une étuve pendant 24 h. Les filtres ont ensuite été conservés à température ambiante jusqu'à l'analyse de la $b\text{SiO}_2$ (Moriceau et al., 2007b). Pour l'analyse, les filtres ont été digérés dans 8 mL d'hydroxyde de sodium (NaOH 0,2 M) pendant 4h à 90°C sous agitation constante. La digestion a été arrêtée en refroidissant la solution à 4°C (glace pilée) et neutralisée avec 2 mL d'acide chlorhydrique (HCl 1 M). Les digestats contenant la silice dissoute (dSi) ont été analysés à l'aide d'un AutoAnalyseur (Autoanalyseur Bran et Luebbe Technicon, précision 0,1%, méthode décrite plus bas).

Carbone organique particulaire (COP) et azote organique particulaire (NOP): 10 ml de suspension cellulaire, ou 100 à 200 pelotes fécales de *C. helgolandicus*, ont été filtrées sur des filtres en fibre de verre (après précombustion durant 4h à 450°C) (filtres Whatman GF/F) et rincés avec 10 mL de EDMf (eau de mer filtré). Les filtres ont ensuite été placés à l'intérieur d'une feuille d'aluminium puis séchés à 55 °C pendant 24 h avant analyse. Les contenus en carbone (CO_2) et azote (N_2) ont été analysés à l'aide d'un analyseur élémentaire (CHN) Carlo Erba NA-1500 (Aminot & Kérouel, 2004).

Particules expolymériques transparentes (TEP) : 10 ml de suspension de cellules libres ont été filtrées sur des filtres en polycarbonate de 0,4 μm (Millipore) à basse pression (< 60 mm Hg) afin d'empêcher le passage forcé des TEP, au travers des pores du filtre. Hors vide, les filtres ont ensuite été colorés avec 0,5 mL de solution de bleu d'Alcian pendant 2 secondes (0,02 % en solution aqueuse, 0,06 % d'acide acétique, pH 2,5, filtré sur 0,2 μm avant utilisation) et conservés au

congélateur (-20°C) jusqu'à l'analyse. Pour l'analyse, les filtres ont été immergés pendant 2 h dans 6 mL de solution à 80 % de H₂SO₄ sous agitation constante. L'absorbance de la solution obtenue a été mesurée avec un spectrophotomètre (prim'Light SECOMAM) à 787 nm dans une cuvette de 1 cm. Les valeurs ont été converties en gramme d'équivalent de gomme xanthane par litre (g Xeq.L⁻¹) en utilisant une courbe d'étalonnage qualifié avec la masse de gomme xanthane, réalisée avec la même solution de bleu alcian. Cette courbe est réalisée en suivant le même protocole que pour les échantillons, mais à partir de 5 volumes différents d'une solution mère de gomme xanthane (200 mg.L⁻¹) et sur des filtres polycarbonates de porosité 0,2 µm. Les concentrations en TEP sont exprimées en concentrations dans le rolling tank (µg Xeq.mL⁻¹) ou par cellule (ng Xeq.cell⁻¹). La production de TEP (ng Xeq.cell⁻¹.j⁻¹) a été calculée à partir de la différence entre la concentration en TEP par cellule à T_{init} et T_f, normalisée par la durée de l'incubation.

d) Paramètres estimés à partir des incubations

Production et vitesse de sédimentation des pelotes fécales : Les pelotes fécales ont été comptés pour chaque rolling tank en fin d'incubation. Les dimensions des pelotes fécales ont été mesurées à partir des photos prises par un appareil photo numérique (Canon EOS 600D) monté sur un microscope à épifluorescence Zeiss AxioObserver Z1. La longueur totale (L, µm) et le diamètre (d, µm) de chaque pelote fécale ont été dérivés des images et estimés à l'aide d'un logiciel d'analyse d'images (Inkscape®) calibré à partir de l'échelle correspondant au grossissement du microscope (Logiciel AxioVision®). Le volume (µm³) a été calculé en considérant les pelotes fécales comme des cylindres comportant deux demi-sphères (Hillebrand et al., 1999). Les calculs de volume (V, µm³) et du diamètre équivalent sphérique (ESD, µm) utilisent respectivement les équations (3) et (4).

$$V_{PF} = \pi \times d^2 \times \left(\frac{L}{4} + \frac{d}{6} \right) \quad (3)$$

$$ESD = \sqrt[3]{\frac{6 \times V_{PF}}{\pi}} \quad (4)$$

Taux de croissance et paramètres de broutage : Les taux de croissances apparents du phytoplancton et les taux de broutage des copépodes ont été obtenus à partir des dénombrements cellulaires, selon la méthode de Frost (1972). Au début (T_{init}) et à la fin de l'incubation (T_f), 5 mL de milieu ont été prélevés dans chaque rolling tank, puis fixés avec une solution de lugol acide

(concentration finale à 2 %). Les concentrations cellulaires ont été estimées à l'aide d'une chambre de comptage cellulaire de Malassez. En fonction de la densité des cellules dans les rolling tanks, 3 à 12 sous-échantillons ont été comptés, ce qui correspond au dénombrement de 120 à 300 cellules par échantillon.

Le taux de croissance apparent du phytoplancton (k, j^{-1}) a été calculé dans les incubations contrôles et contenant des copépodes, selon l'équation 5 :

$$k = \frac{\ln(C_{init}) - \ln(C_f)}{T_f - T_{init}} \quad (5)$$

Où C_{init} et C_f sont les concentrations cellulaires au début (T_{init}) et à la fin (T_f) de l'incubation, en supposant la croissance exponentielle du phytoplancton, sans limitations nutritives. Il faut noter que les incubations ont été réalisées en diluant les cultures (dilution 1:10ème) dans de l'eau de mer de la rade de Brest, filtrée sur 1 μm . A l'époque de l'échantillonnage, les concentrations hivernales en sels nutritifs variaient de 13,1 à 19,8 μM pour les nitrates; de 5,7 à 10,2 μM pour les silicates et étaient d'environ 0,5 μM en phosphates, levant ainsi les limitations pendant les 24 h d'incubation avec les copépodes, ce qui permet d'utiliser correctement la méthode de Frost.

Le taux de broutage (g, j^{-1}) a été obtenu en utilisant l'équation 6 :

$$g = \left[\frac{\ln(C_{init}) - \ln(C_f)}{T_f - T_{init}} \right] + k \quad (6)$$

Le taux de filtration apparent F des copépodes, correspond au volume d'eau traversant l'animal et à partir duquel il récupère les particules alimentaires ($F, \text{mL} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{j}^{-1}$) a été calculé grâce à l'équation 7 :

$$F = \frac{V \times g}{N} \quad (7)$$

Où V est le volume du rolling tank (mL) et N , le nombre d'individus ajoutés à l'intérieur du rolling tank à T_{init} .

Analyses statistiques : Les résultats sont exprimés en moyenne \pm ES (erreur standard), ou \pm l'erreur cumulative lorsque les manipulations ou l'analyse impliquent la propagation d'erreurs (Production de TEP, rapports Si:C et rapports C:N). L'erreur standard a été privilégiée dans l'étude, étant donné la forte hétérogénéité des moyennes au sein des répliques (moyenne des rolling

tanks), conduisant ainsi à une importante dispersion des valeurs. Les statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R Core Team (2017). Lorsque la distribution des données répondait à une loi normale (test Shapiro-Wilk, $p < 0,05$), les effets du broutage des copépodes sur la taille moyenne, l'abondance globale et les rapports stœchiométriques pendant l'incubation ont été testés par ANOVA à un facteur. Le test post hoc de Tukey a été utilisé pour déterminer l'influence spécifique des copépodes sur les variables mesurées, par rapport aux contrôles. Lorsque les données n'étaient pas distribuées normalement, le test de Kruskal-Wallis a été utilisé.

3. Résultats et discussion

a) Effets des limitations sur les diatomées

Taux de croissance, volumes et surfaces cellulaires : Dans notre étude, les taux de croissance ont très peu varié avec les limitations appliquées aux cultures et n'ont pas présentés de différences significatives en fonction des limitations. Pour *C. neogracile* ils étaient de $0,7 \text{ j}^{-1}$ en condition témoins non-limitée, $0,7 \text{ j}^{-1}$ en condition de limitation en silicium et $0,5 \text{ j}^{-1}$ en condition de limitation en azote. Pour *S. marinoi*, les taux de croissance étaient de $0,8 \text{ j}^{-1}$ en condition non limitée, $0,7 \text{ j}^{-1}$ en condition de limitation en silicium et $0,8 \text{ j}^{-1}$ en condition de limitation en azote. Seule la limitation en azote de *C. neogracile* a sensiblement diminué les taux de croissance (non significativement), passant de $0,7 \text{ j}^{-1}$ à $0,5 \text{ j}^{-1}$. Aucun changement significatif des volumes et surfaces cellulaires n'a été observé pendant la croissance (phase exponentielle) entre les différentes limitations. Les volumes cellulaires chez *C. neogracile* ont variés de 50 à $363 \mu\text{m}^3$ avec une moyenne de $150 \pm 47 \mu\text{m}^3$, avec des surfaces cellulaires associées de 77 à $299 \mu\text{m}^2$, avec une moyenne de $162 \pm 35 \mu\text{m}^2$. Concernant *S. marinoi*, les cellules composant les chaînes ont été mesurées individuellement sans prendre en compte les espaces entre les cellules, les volumes cellulaires ont variés de 130 à $776 \mu\text{m}^3$ avec une moyenne de $314 \pm 83 \mu\text{m}^3$. Les surfaces cellulaires calculées étaient comprises entre 143 et $492 \mu\text{m}^2$, avec une moyenne de $258 \pm 47 \mu\text{m}^2$.

Longueur des liens siliceux entre les cellules de *S. marinoi*: Chez *S. marinoi*, des différences significatives des longueurs d'espaces intercellulaires sont observées pour les conditions limitées en azote, présentant des valeurs plus élevées ($4 \pm 1 \mu\text{m}$; $n = 74$) par rapport aux cultures témoins non limitées ($0,9 \pm 0,8 \mu\text{m}$; $n = 45$) et aux cultures limitées en silicium ($0,4 \pm 0,4 \mu\text{m}$; $n = 45$; **Figure 2.4**)

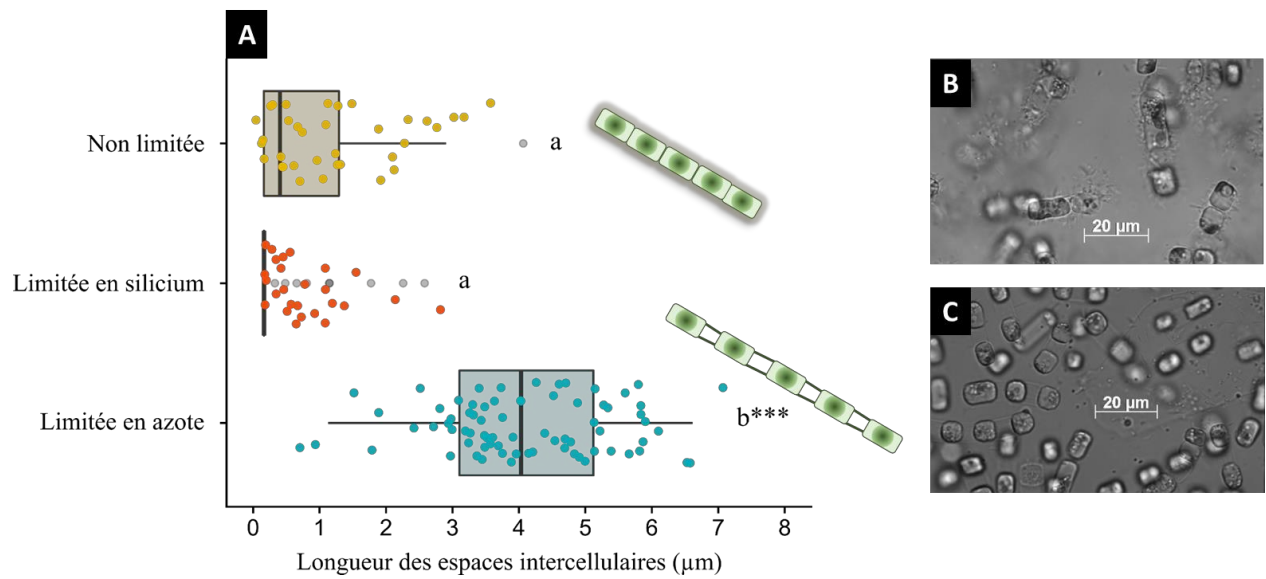


Figure 2.4 : A) Boxplots de distribution des longueurs d’espaces intercellulaires de *S. marinoi*, en fin de phase exponentielle. Les couleurs correspondent aux limitations : Jaune pour condition non limitée ; Orange pour la limitation en silicium et bleue pour la limitation en azote). *** p-value < 0,001 entre les différents groupes statistiques (a et b), testé grâce à l’ANOVA à un facteur. B) Photographie de chaînes de *S. marinoi* ayant poussées sur un milieu non limité et limité en silicium. C) Photographie de chaînes de *S. marinoi* ayant poussées sur un milieu limité en azote.

Longueur des spicules siliceux de *C. neogracile*: Chez *C. neogracile*, des différences significatives de la longueur des spicules ont été observées entre la condition témoin non limitée présentant des longueurs de $23 \pm 6 \mu\text{m}$ (N = 49) et les conditions limitées en azote (significativement plus élevés: $31 \pm 7 \mu\text{m}$, N = 41) et limitée en silicium significativement moins élevés: $13 \pm 5 \mu\text{m}$; N = 52; **Figure 2.5**).

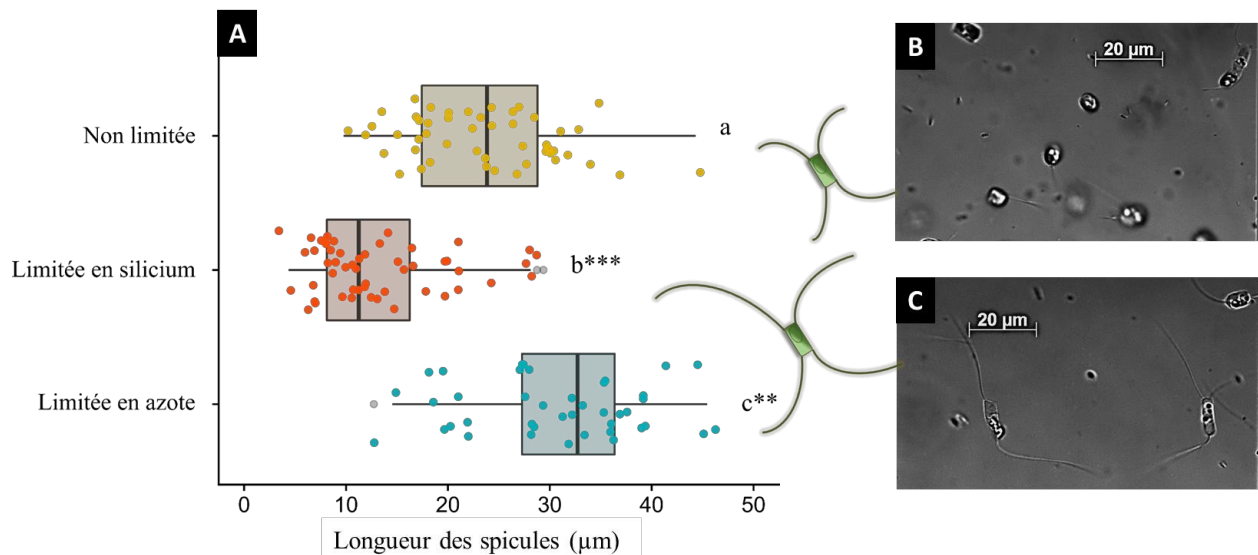


Figure 2.5 : A) Boxplots de distribution de la longueur de spicules siliceux de *C. neogracile* en fin de phase exponentielle. Les couleurs correspondent aux limitations (Jaune pour condition non limitée ; Orange pour la limitation en silicium et bleue pour la limitation en azote). ** correspond à p-value < 0,01 ; *** correspond à p-value < 0,001 entre les différents groupes statistiques (à et b), testé grâce à l'ANOVA à un facteur. B) Photographie de *C. neogracile* ayant poussées sur un milieu non limité et limité en silicium. C) Photographie de *C. neogracile* ayant poussées sur un milieu limité en azote.

Composition élémentaire : Les limitations ont modifié les rapports stœchiométriques des diatomées (**Figure 2.6**). Cependant, ces rapports stœchiométriques restent comparables aux données de la littérature, i.e. Si:C moyen de $0,14 \pm 0,13$ avec une variation de 0,04 à 0,95 et un C:N moyen de 8,0 avec des valeurs allant de 2,7 à 29,7 (mais entre 5,0 et 9,7 pour 85 % des espèces, Sarthou et al., 2005). La limitation en silicium entraîne un doublement du rapport C:N chez *C. neogracile* (de $7,3 \pm 1,8$ à $14,3 \pm 0,3$) alors qu'il le diminue chez *S. marinoi* (de $11,2 \pm 1,3$ à 8 ± 1) (**Figure 2.6**). La limitation en silicium n'induit qu'une légère diminution (non significative) du rapport Si:C de *C. neogracile* et ne change pas le Si:C de *S. marinoi*. Pour les deux espèces, la limitation en azote fait augmenter les rapports Si:C (de $0,07 \pm 0,01$ à $0,28 \pm 0,0$ chez *C. neogracile* et de $0,04 \pm 0,00$ à $0,11 \pm 0,02$ et $0,18 \pm 0,04$ chez *S. marinoi*), suggérant une assimilation plus efficace du silicium par rapport au carbone (**Figure 2.6**) alors que seuls les rapports C:N de *S. marinoi* augmentent en cas de limitation en azote (de $11,2 \pm 1,29$ à $15,8 \pm 3,12$ et $11,9 \pm 2,63$).

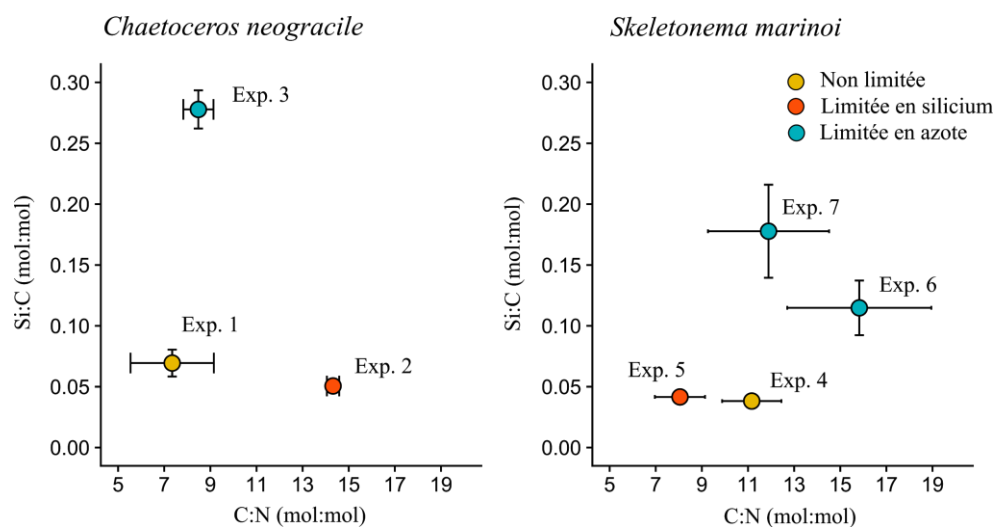


Figure 2.6 : Rapports Si:C (mol:mol) en fonction des rapports C:N (mol:mol) dans les diatomées (*C. neogracile* à gauche et *S. marinoi* à droite). Les couleurs correspondent aux limitations (Jaune pour condition non-limitée; Orange pour la limitation en silicium et bleue pour la limitation en azote). 2 cultures ont été réalisées avec *S. marinoi* limitée en azote. Les barres d'erreur correspondent aux erreurs cumulées sur les mesures de carbone, azote et silicium, dans les rapports stœchiométriques.

Les limitations en azote et silicium appliquées dans cette étude n'ont que très peu modifié le taux de croissance, les volumes et les surfaces des cellules. Les variations des différents éléments tels que le carbone, l'azote et la silice biogénique par cellule ne sont pas liées à un changement de taille des cellules, contrairement à ce qui a été observé dans d'autres études (Harrison et al., 1977; Lynn et al., 2000). La limitation en azote a fait augmenter le contenu en bSi chez *C. neogracile*, augmentant par conséquent les rapports Si:C, par rapport aux témoins (**Figure 2.7**). Chez *S. marinoi*, la diminution du contenu en carbone couplé aux légères augmentations du contenu en bSi ont conjointement contribué à augmenter les rapports Si:C dans les cellules, par rapport aux cellules non limitées (**Figure 2.7**). Chez les diatomées, le métabolisme du carbone et du silicium est découplé (Claquin et al., 2002; Claquin and Martin-Jézéquel, 2005). Ainsi, une asymétrie temporelle des phases du cycle cellulaire de la diatomée provoquée par une limitation, peut conduire à une accumulation différente de carbone, azote et silicium. En effet une élongation du temps passé dans la phase G2 + M lorsque la croissance ralentit (décrit dans Claquin et al., 2002), peut conduire à une augmentation de la silicification à condition que les concentrations en silicium le permettent. Ce processus pourrait expliquer l'augmentation des rapports Si:C, de la bSi par cellule et par surface cellulaire observés en cas de limitation en azote chez *C. neogracile* dont le taux de croissance avait diminué (passant de $0,7 \text{ j}^{-1}$ à $0,5 \text{ j}^{-1}$). Ce type d'augmentation des rapports

Si:C a également été observé chez *Chaetoceros debilis*, *Thalassiosira gravida* et *Skeletonema costatum* limitées en azote (Harrison et al., 1977). Le fait que *S. marinoi* augmente aussi son rapport Si:C lorsqu'elle est limitée en azote, malgré un taux de croissance similaire, suggère que la cellule puisse faire varier le temps de ses phases sans changer son taux de croissance.

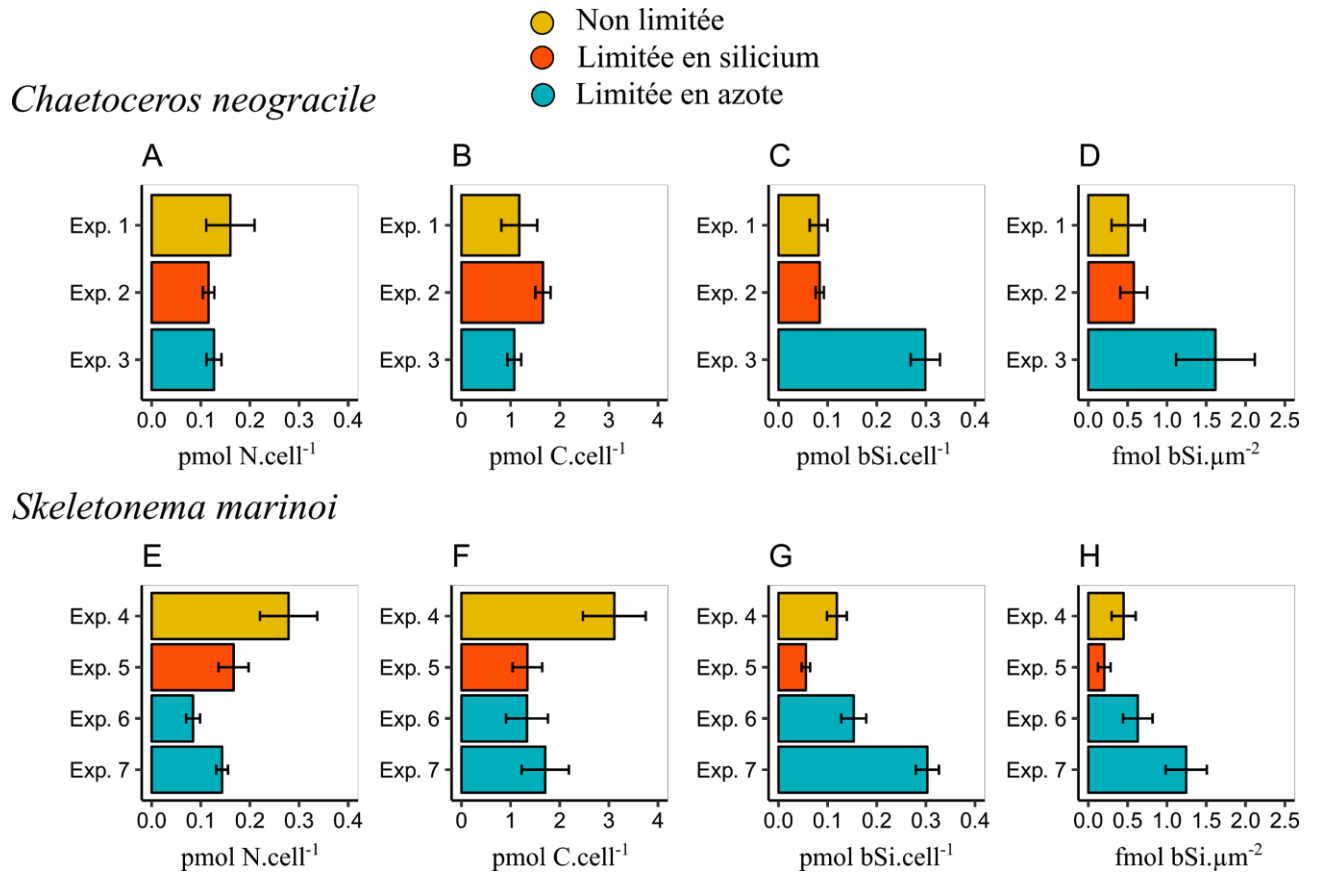


Figure 2.7 : A et E : Contenu cellulaire en azote s (pmol N.cell⁻¹), pour *C. neogracile* et *S. marinoi*. B et F : Contenu cellulaire en carbone (pmol C.cell⁻¹), pour *C. neogracile* et *S. marinoi*. C et G : Contenu cellulaire en silice biogénique d (pmol bSi.cell⁻¹), pour *C. neogracile* et *S. marinoi*. D et H : Contenu en silice biogénique par surface cellulaire (fmol bSi μm⁻²), pour *C. neogracile* et *S. marinoi*. Les couleurs correspondent aux limitations (Jaune pour condition non-limitée; Orange pour la limitation en silicium et bleue pour la limitation en azote). Les barres d'erreur correspondent aux erreurs standards sur les mesures de carbone, azote et bSi.

C. neogracile limitée en silicium ne diminue que légèrement son rapport Si:C. Par contre, en cas de faible limitation en silicium *S. marinoi* ne change pas son rapport Si:C. L'augmentation de la bSi sans changement de taille, suggère un épaississement des frustules ou un allongement d'une partie du frustule comme les spicules de *C. neogracile* ou les espaces intercellulaires des chaînes de *S. marinoi* pouvant représenter une réponse physiologique face à un stress (e.g. limitation par la lumière, les macro-micronutriments sauf en silicium, Leynaert et al., 2001; Nelson

et al., 2002; Marchetti & Cassar, 2009, ou présence de prédateurs, Pondaven et al., 2007). Chez les deux diatomées testées, les rapports Si:C ont augmenté suite aux limitations en azote par rapport aux contrôles sans limitation. Lorsque *C. neogracile* est limitée en azote l'augmentation du contenu cellulaire en silicium se reflète dans l'allongement de ses spicules (**Figure 2.5**). Inversement la longueur des spicules diminue en cas de limitation en silicium, sans que ce changement soit visible sur le contenu en bSi par cellules (**Figure 2.5**). De la même façon, on peut faire l'hypothèse que lorsqu'une limitation en azote apparaît, *S. marinoi* puisse accumuler la bSi dans les espaces intercellulaires, ce qui expliquerait l'augmentation de la longueur de ces espaces (**Figure 2.4**).

Concentrations en TEP: Les cultures limitées contiennent significativement plus de TEP que les cultures non limitées (**Figure 2.6**). Dans les cultures de *S. marinoi* limitées en silicium, la concentration absolue en TEP n'augmente que très peu, mais lorsque la concentration est normalisée au nombre de cellules la différence devient plus marquée. Les concentrations en TEP varient de 1,6 à 6,1 $\mu\text{g Xeq.mL}^{-1}$ dans la culture de *C. neogracile* limitée en silicium, soit 4,6 à 15,5 pg Xeq.cell^{-1} et de 1,8 à 5,5 $\mu\text{g Xeq.mL}^{-1}$ dans les cultures de *S. marinoi* limitées en azote (**Figure 2.8**). Ces valeurs de concentrations en TEP correspondent aux conditions initiales des incubations avec les copépodes.

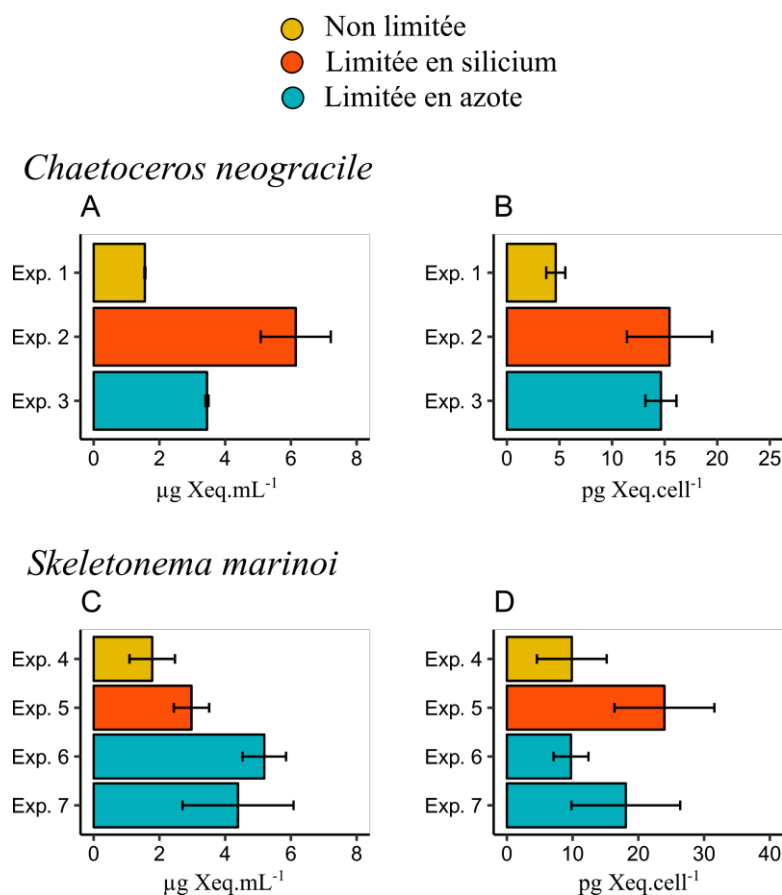


Figure 2.8 : A et C : Concentrations en TEP ($\mu\text{g Xeq.mL}^{-1}$) dans les cultures de *C. neogracile* (en haut) et *S. marinoi* (en bas) avant incubation avec les copépodes. Les diatomées étaient en phase de croissance exponentielle. **B et D :** Concentrations en TEP par cellule (pg Xeq.cell^{-1}) dans les cultures de *C. neogracile* (en haut) et *S. marinoi* (en bas). Les couleurs correspondent aux limitations (Jaune pour condition non-limitée ; Orange pour la limitation en silicium et bleue pour la limitation en azote). Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards sur les mesures (pseudo-réplica).

Globalement, les concentrations en TEP dans les cultures en phase exponentielle augmentent lorsque les diatomées subissent des limitations en azote et silicium. Chez *C. neogracile*, les deux limitations augmentent la concentration en TEP par cellule et la concentration absolue en TEP, alors que chez *S. marinoi* seule la concentration absolue augmente de manière significative sous limitation en azote. Pour la limitation en silicium, l'augmentation est surtout visible en TEP par cellule (**Figure 2.8**). Dans le cas d'une diminution de la croissance, le carbone n'étant plus utilisé pour la croissance (e.g. allocation énergétique pour la réplication de l'ADN, production de pigments...), il peut être converti sous forme de carbohydrates (Suroy et al., 2015) ou de lipides (Ribalet et al., 2007; 2009). Ce stockage est caractérisé par l'augmentation des rapports C:N, (Suroy et al., 2015). Ces carbohydrates de réserve peuvent ensuite être relâchés sous

forme dissoute et/ou particulaire, constituant alors un pool dynamique de précurseurs de TEP (Passow et al., 1994; Mopper et al., 1995; Passow, 2002a, 2002b; Ortega-Retuerta et al., 2009). Dans notre étude, nous observons une augmentation des concentrations en TEP, des rapports C:N, ou les deux. Des études récentes suggèrent que l'excrétion des EPS par les diatomées, pourrait être une stratégie favorisant l'accumulation et donc l'assimilation de sels nutritifs. En effet, dans les agrégats de diatomées, dont la matrice est essentiellement composée de TEP, les concentrations en sels nutritifs sont plus élevées que dans l'eau de mer environnante (Brzezinski et al. 1997, Moriceau et al., 2007, 2014) ce qui pourrait expliquer que les cellules restent viables plus longtemps dans les agrégats (Garvey et al. 2007, Agustí et al., 2015). De la même façon, les concentrations plus élevées en sels nutritifs qui ont été mesurées à proximité de microalgues de glace dans l'océan Austral ont été attribuées à la présence du biofilm que les diatomées de glace utilisent pour adhérer à la glace (Lim et al., 2019). Dans les deux cas, les concentrations en sels nutritifs sont plus élevées en présence d'EPS ou de TEP. L'excrétion d'EPS et TEP par les diatomées pourrait ainsi être un avantage en cas de stress et serait une réponse aux limitations. Nous avons récemment démontré que les EPS et les TEP, pouvaient accélérer la reminéralisation de la silice réfractaire, notamment via les sites où des atomes d'aluminium prennent la place du silicium au sein du réseau de silice qui compose les frustules (Toullec & Moriceau, 2018 et références associées). Ce phénomène soutient l'hypothèse d'Akagi qui, en notant la présence de Terre Rares dans les frustules de diatomées (Akagi et al., 2014, Akagi, 2013), suggère que les diatomées seraient capables d'utiliser la silice lithogénique comme source de silicium. Ainsi nous envisageons la possibilité que la formation de biofilm riche en TEP puisse être une stratégie pour contrer la limitation en silicium en accélérant la dissolution de la silice lithogénique enrichie en aluminium (voir Toullec & Moriceau, 2018 en **Annexes du Chapitre II**). Cependant, cette hypothèse sur l'utilisation de la silice lithogénique par diatomées, reste encore à confirmer. Les mécanismes en jeu doivent également être complétés par des études *in vivo*.

Toullec, J., & Moriceau, B. (2018). Transparent Exopolymeric Particles (TEP) selectively increase biogenic silica dissolution from fossil diatoms compared to fresh diatoms. *Frontiers in Marine Science*, 5, 102. Doi: 10.3389/fmars.2018.00102

b) Influence des limitations sur l'activité alimentaire des copépodes

L'impact des limitations de *C. neogracile* sur l'activité alimentaire des copépodes a été testé avec deux espèces : *E. acutifrons* et *A. clausi*. Celui des limitations de *S. marinoi* a été testé avec les copépodes *E. acutifrons* et *C. helgolandicus*. Pour les deux espèces de diatomées, nous avons comparé les taux de filtration des copépodes sur des diatomées cultivées en condition non limitée, limitée en silicium et limitée en azote (voir **Tableaux 2.2** et **2.3**).

Étant données les fortes concentrations en proies dans nos incubations, mes variations de concentration cellulaire entre T_0 et T_f dans les incubations sont relativement faibles (**Tableau 2.3**). Les taux de filtrations apparents mesurés sont alors proches de la limite de détection statistique de la méthode de Frost, voir en dessous ($< dl$, **Tableau 2.3**) dans ce cas, soit aucune activité alimentaire ne s'est produite, soit elle était trop faible pour être mesurée. Cependant, nous considérons que les tendances observées dans les taux de filtration apparent mesurés sont bien représentatives de l'effet causé par les limitations en sels nutritifs.

Les taux de filtration ($\text{mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$) atteignent des maximums de $22 \pm 6 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ chez *E. acutifrons*, $17 \pm 6 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ chez *A. clausi* et de $24 \pm 6 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ chez *C. helgolandicus* (**Tableau 2.3**). Les taux de filtration mesurés avec *E. acutifrons* sont du même ordre de grandeur que les valeurs maximales de la littérature ($31 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$; Sautour et al., 1993; de Melo Júnior et al., 2013), pour *A. clausi* et *C. helgolandicus* (de 38 à $126 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$; Fileman et al., 2007). Alors que nous avons mesuré des taux de filtration de $22 \pm 6 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ avec *E. acutifrons* et de $17 \pm 6 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ avec *A. clausi* lorsqu'ils étaient nourris avec des *C. neogracile* non limitées, leurs taux de filtration ont fortement diminué lorsqu'ils étaient nourris avec des *C. neogracile* limitées en silicium et en azote. Dans les incubations utilisant des *C. neogracile* limitées en azote, les taux de filtration étaient sous le seuil de détection de la méthode de Frost (1972). Pour *E. acutifrons*, les réponses alimentaires aux limitations de *S. marinoi* sont variables, des taux de filtration deux fois plus élevés sont observés lorsque les copépodes s'alimentent sur *S. marinoi* limitées en silicium ($15 \pm 3 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$). Des valeurs deux fois plus faibles sont observées dans les témoins ($7 \pm 1 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$) et les valeurs sont pratiquement sous le seuil de détection en conditions limitée en azote (3 ± 3 et $9 \pm 0 \text{ mL}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$; **Tableau 2.3**). L'activité de broutage de *C. helgolandicus* a été mesurée de deux façons: via les taux de filtration en utilisant la méthode de Frost (1972) et par le taux d'émission de pelotes fécales. Les taux de filtration et les taux d'émission de pelotes fécales de *C. helgolandicus* étaient similaires dans les incubations avec *S. marinoi* non limitée et limitée en azote (**Tableau 2.3**), avec des taux d'émission de pelotes fécales de $69 \pm 22 \text{ PF}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$ et $64 \pm 55 \text{ PF}\cdot\text{ind}^{-1}\cdot\text{j}^{-1}$. Au cours des incubations *C. helgolandicus* /*S. marinoi* limitée en silicium, aucun signal de broutage n'a été mesuré avec la méthode de Frost (1972). Cependant, nous avons mesuré

un taux d'émission de pelotes fécales en fin d'incubation, de 51 ± 14 PF.ind⁻¹.j⁻¹, comparable aux taux mesurés dans les conditions non limitées et limitée en azote.

Tableau 2.3 : Comptages cellulaires en début et fin d'incubation pour les différentes conditions expérimentales et taux de filtration apparents (mL.ind⁻¹.j⁻¹). Moyennes \pm ES, N = 3.

Diatomées	Copépodes	Limitation	Concentration cellulaire à T ₀	Concentration cellulaire à T _f	Taux de filtration
			10 ⁵ cell.mL ⁻¹	10 ⁵ cell.mL ⁻¹	mL.ind ⁻¹ .j ⁻¹
<i>C. neogracile</i>	<i>E. acutifrons</i>	non limitées	3,4 \pm 0,6	2,3 \pm 0,4	22 \pm 6
		Silicium	4,0 \pm 0,4	5,6 \pm 0	1 \pm 1
		Azote	2,4 \pm 0,2	2,9 \pm 0	< dl
	<i>A. clausi</i>	Non limitées	3,4 \pm 0,6	3,1 \pm 0,7	17 \pm 6
		Silicium	4,0 \pm 0,4	5,6 \pm 0	4 \pm 2
		Azote	2,4 \pm 0,2	3,1 \pm 0	< dl
<i>S. marinoi</i>	<i>E. acutifrons</i>	non limitées	1,8 \pm 0,3	1,9 \pm 0,2	7 \pm 1
		Silicium	1,2 \pm 0,2	0,8 \pm 0,1	15 \pm 3
		Azote	5,3 \pm 0,8	4,6 \pm 0,9	3 \pm 3
		Azote	2,4 \pm 0,2	2,6 \pm 0,6	9 \pm 0
	<i>C. helgolandicus</i>	non limitées	1,8 \pm 0,3	1,7 \pm 0,2	20 \pm 6
		Silicium	1,2 \pm 0,2	1,4 \pm 0	< dl
		Azote	5,3 \pm 0,8	4,4 \pm 1	24 \pm 6

Les taux de filtration de *E. acutifrons* et *A. clausi* ont systématiquement diminué lorsqu'ils étaient nourris avec des *C. neogracile* limitées en silicium et n'ont pas été mesurables avec des *C. neogracile* limitées en azote. Au contraire, les limitations de *S. marinoi* n'induisent pas obligatoirement de diminution de la filtration chez *E. acutifrons* et *C. helgolandicus*. Nous avons tenté de comprendre quels changements physiologiques pouvaient expliquer les variations de l'activité alimentaire.

Au cours des incubations avec *C. neogracile* limitée en azote aucun signal d'activité alimentaire n'a été mesurable, ni par *A. clausi* ni par *E. acutifrons*, dans les deux cas les rapports Si:C sont plus élevés (> à 0,2 mol:mol, **Figure 2.9**). En revanche, lorsqu'elles sont limitées en silicium, les rapports Si:C de *C. neogracile* diminuent, alors que les taux de filtrations diminuent aussi fortement passant de 22 à 1 mL.ind⁻¹.j⁻¹ pour *E. acutifrons* et de 17 à 4 mL.ind⁻¹.j⁻¹ pour *A. clausi*. Dans ces incubations la réponse au stress des diatomées a conduit à une forte augmentation

de leur rapport C:N (> 12 mol:mol; **Figure 2.9**). De la même manière, dans les incubations, avec *E. acutifrons* et *S. marinoi*, le taux de filtration décroît avec l'augmentation du rapport C:N (**Figure 2.9**) alors que les variations du rapport Si:C de *S. marinoi* ne semble que faiblement influencer le taux de filtration de *E. acutifrons*. Enfin, les taux de filtration de *C. helgolandicus* sur *S. marinoi* ne varient ni avec les rapports C:N ni avec les Si:C.

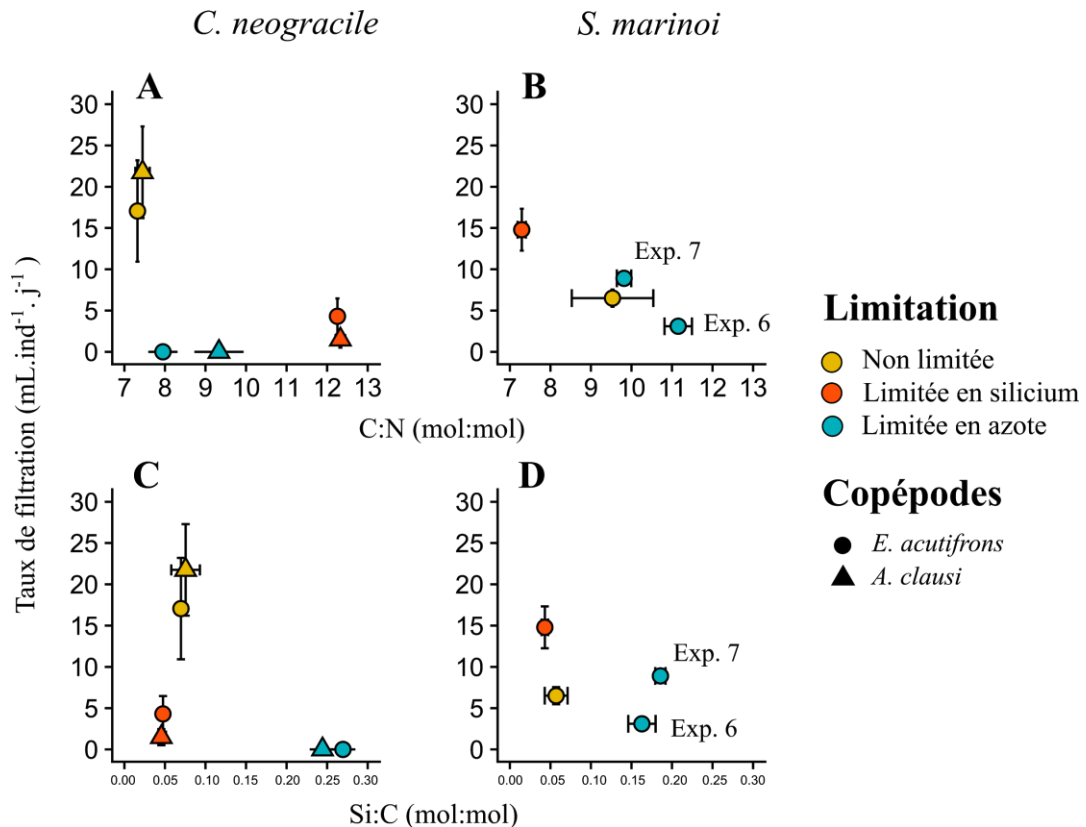


Figure 2.9 : A et B, relation entre les taux de filtration (mL.ind⁻¹.j⁻¹) et les rapports C:N (mol:mol) dans les incubations utilisant *C. neogracile* (A et C) et *S. marinoi* (B et D) comme proie. En bas, relation entre les taux de filtration (mL.ind⁻¹.j⁻¹) et les rapports Si:C (mol:mol) dans les incubations utilisant *C. neogracile* (à gauche) et *S. marinoi* (à droite) comme proies. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards entre les répliques (N = 3 rolling tanks). Les expériences avec *C. helgolandicus* ne sont pas représentées dans les graphiques B et D.

Les diminutions des taux de filtration de *E. acutifrons* et de *A. clausi* sont aussi associées à une augmentation des concentrations en TEP dans les incubations avec *C. neogracile* et *S. marinoi* (**Figure 2.10**). Au cours des incubations en présence de *S. marinoi* non limitées (témoins), sont moins consommées que les *S. marinoi* limitées en silicium, malgré une concentration en TEP similaire.

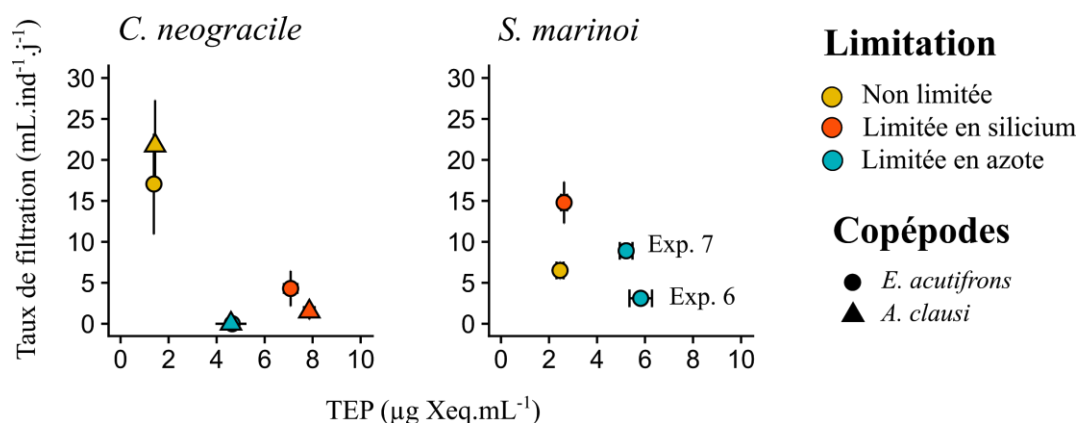


Figure 2.10 : Relation entre les taux de filtration (mL.ind⁻¹.j⁻¹) et les concentrations en TEP (µg Xeq.mL⁻¹) dans les incubations utilisant *C. neogracile* (à gauche) et *S. marinoi* (à droite) comme proie. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards entre les répliques (N = 3 rolling tanks). Les expériences avec *C. helgolandicus* ne sont pas représentées dans le graphique correspondant aux incubations avec *S. marinoi*.

Nos résultats révèlent 2 impacts différents sur les copépodes qui peuvent être reliés à leurs tailles :

- Les petits copépodes *E. acutifrons* et *A. clausi* diminuent leurs taux de filtration lorsque l'un au moins des rapports C:N et Si:C augmentent et lorsque les concentrations en TEP sont plus élevées chez les diatomées *C. neogracile* et *S. marinoi*. Ils peuvent augmenter leurs taux de filtration lorsque ces rapports diminuent (cas de *S. marinoi* limitée en silicium) même lorsque la concentration en TEP est plus élevée.
- *C. helgolandicus*, copépo de grande taille, ne semble pas être influencé par la modification du rapport Si:C et les fortes concentrations en TEP (testé uniquement avec *S. marinoi*). Au cours de la limitation en silicium, aucun signal de broutage n'a été mesurable mais l'émission de pelotes fécales reste inchangée.

Dans la littérature, au cours d'incubations similaires avec des copépodes et des microalgues, des rapports C:N variables chez *Rhodomonas* sp. et *Heterocapsa* sp. n'ont pas induit de changements d'ingestion et donc d'activité alimentaire chez des copépodes comme *Acartia* spp. (Augustin and Boersma, 2006; Isari et al., 2013). Nos résultats semblent pourtant montrer que le rapport C:N des diatomées influence l'activité alimentaire des copépodes. Les rapports C:N fournissent une indication de la qualité nutritive de la matière organique, à savoir la composition biochimique des diatomées (Reitan et al., 1994, Lynn et al., 2000). La composition en acides gras et des stérols, non mesurée dans notre étude, mais connue pour être influencée par les limitations

nutritives, peut avoir modulé le taux de filtration des copépodes étudiés. *S. marinoi* produit plus d'aldéhydes polyinsaturés (PUAs) en condition de limitation en phosphore et en azote et ces composés affecteraient l'activité alimentaire des copépodes en fin d'efflorescence phytoplanktonique (Ribalet et al., 2007). Une autre étude observe une augmentation de la production de PUAs en condition de limitation en silicium. Dans cette étude les auteurs suggèrent que lorsque les frustules sont moins épais (moins silicifiés à cause de la limitation en silicium), la production en PUAs deviendrait alors un mécanisme de défense de compensation face au broutage (Ribalet et al., 2009). Le développement ontogénique de certains copépodes peut être affecté lorsqu'ils sont nourris avec des diatomées limitées en azote et phosphore (Breteler et al., 2005). En cas de fortes limitations, les copépodes n'atteignent pas toujours la maturité (Koski et al., 2008; Sommer et al., 2005). Breteler et al. (2005), ont également observé une réduction de la production de stérols en cas de limitation en azote et phosphore et une réduction de la production des acides gras à longues chaînes polyinsaturés (PUFAs) en cas de limitation phosphore (Breteler et al., 2005). La composition des polysaccharides sécrétés par les diatomées, est également influencée par les limitations en azote et phosphore (Myklestad, 1977; Myklestad et al., 1989; Urbani et al., 2005). Les changements de composition biochimique, provoqués par les limitations peuvent affecter l'activité alimentaire des copépodes en réduisant la qualité nutritive des diatomées ou en produisant des molécules qui affectent considérablement le développement ontogénique des copépodes, ainsi que leurs activités.

En condition de culture de laboratoire, le rapport Si:C des diatomées, est variable selon les espèces et est compris entre 0,04 et 0,95 (Sarhou et al. 2005, Brzezinski, 1985). Chez *Chaetoceros* spp. les valeurs de Si:C sont comprises entre 0,04 et 0,14 mol:mol et entre 0,07 et 0,19 mol:mol pour *Skeletonema* sp. (Brzezinski, 1985). Dans les incubations impliquant *C. neogracile* ayant un Si:C fort ($> 0,26$ mol:mol), aucun signal d'activité alimentaire n'a été mesuré (ni par *A. clausi*, ni par *E. acutifrons*), malgré un C:N équivalent à celui des diatomées non limitées (**Figure 2.9**), suggérant soit une absence de consommation, soit un taux de filtration non mesurable. Le rapport Si:C peut être important dans la sélection des proies par les copépodes, ce qui expliquerait que certaines diatomées augmentent leur contenu en silicium en présence de brouteurs (Pondaven et al. 2007). On peut alors se demander si le rapport Si:C est un bon indicateur de la silicification ou d'une défense face au broutage des petits copépodes (*A. clausi* et *E. acutifrons*), ou si c'est le contenu cellulaire en bSi qui a influencé ce phénomène. La quantité de bSi par frustule est le principal facteur qui influence le rapport Si:C chez *C. neogracile*. Ces résultats sont en accord avec d'autres études expérimentales qui ont montré la préférence des copépodes pour les cellules ayant de plus faibles contenus en silice biogénique (Liu et al., 2016)

confirmant ainsi la difficulté pour les copépodes de se nourrir sur des frustules trop épais (Smetacek, 1999; Raven & Waite, 2004). L'accumulation de la bSi semble se faire plus particulièrement dans les spicules (épines siliceuse) pour *C. neogracile*. *S. marinoi* est une diatomée formant des chaînes (jusqu'à plus de 10 cellules par chaînes). *S. marinoi* module son métabolisme de la silice avec les limitations : en augmentant la longueur des liens intercellulaires en cas de limitation en azote et en les diminuant en cas de limitation en silicium. La longueur des chaînes chez les diatomées et la taille des proies en général est un critère de détection et de sélection chez les copépodes (Bergkvist et al., 2012; Bjærke et al., 2015). La longueur des chaînes, joue un rôle sur leur vitesse de sédimentation (Miklasz and Denny, 2010), plus les chaînes sont longues et plus elles présentent une vitesse de sédimentation importante (Eppley et al., 1967; Smayda, 1970, 1971; Smetacek, 1985). En coulant plus vite, les chaînes de cellules plus longues peuvent échapper à la prédation ou bien peuvent être plus facilement détectés par les copépodes (Bjærke et al., 2015). Dans notre étude, l'augmentation des espaces intra-cellulaire de *S. marinoi* et donc potentiellement la vitesse de chute, ne peut pas à elle seule expliquer une diminution de l'activité alimentaire mesurée, étant donné que la rotation des rolling tanks induit une mise en suspension de toutes les chaînes de cellules. Les spicules siliceux sont des ornements morphologiques chez les diatomées qui peuvent constituer un mécanisme de défense contre le broutage ainsi que contre l'intrusion/adhésion de parasites (Smetacek, 1999; Hamm et al., 2003; Raven and Waite, 2004). Au cours de nos expériences, les limitations en azote de *C. neogracile* ont été associées à l'observation de spicules plus longs et à l'absence d'activités alimentaires mesurables. Cependant, la présence de spicules plus courts (sous limitation en silicium) n'entraîne pas pour autant une augmentation des taux de filtration apparent. Il est donc probable que les autres mécanismes présentés précédemment (e.g. rapports stoechiométriques, vitesses de sédimentation) expliquent ces différences observées. Les changements des structures associées à la silice chez *S. marinoi* n'ont pas influencé les copépodes, suggérant un autre mécanisme impliqué dans la diminution du taux filtration apparent.

Dans notre étude, les EPS et les TEP ont pu participer à la diminution des activités alimentaires des petits copépodes (*E. acutifrons* et *A. clausi*). Durant une étude en mésocosme, Dutz et al., (2002), ont observé une inhibition de l'ingestion chez les nauplii et les femelles adultes de *Temora longicornis* lorsque la concentration en TEP augmentait (diminution dès 0,05 à plus de 0,3 $\mu\text{g Xeq.mL}^{-1}$ Dutz et al., 2002). Nos concentrations en TEP étaient bien plus élevées au sein de nos incubations (de 1,3 à 8,2 $\mu\text{g Xeq.mL}^{-1}$) y compris dans les incubations utilisant les diatomées non limitées.

Cependant, la comparaison des taux de filtration de *E. acutifrons* sur *S. marinoi* limitée en azote et non limitée montre que l'activité alimentaire n'a pas systématiquement été modifiée par l'augmentation de la concentration en TEP, suggérant que les TEP ne sont pas directement liées à la modification de l'activité alimentaire des copépodes.

Pourtant, les TEP et plus largement les EPS peuvent avoir une influence sur les propriétés rhéologiques de la matrice eau de mer. Par exemple, en augmentant la viscosité de l'eau de mer, ce qui est le cas lors d'efflorescences de *Phaeocystis globosa* (Seuront et al., 2006), ce qui affecte le comportement de nage et de filtration de certains copépodes comme *Temora longicornis*. En effet *Temora longicornis* diminue sa vitesse de déplacement afin d'optimiser son comportement de recherche de proie (Seuront & Vincent, 2008).

De plus, Dutz et al. (2005) ont lié l'effet inhibiteur des TEP sur le broutage par les copépodes, avec l'accumulation de matière organique dissoute (DOM) au cours du progrès de l'efflorescence (Dutz et al., 2005). En revanche, cette accumulation de TEP et de DOM s'est déroulée au cours d'une efflorescence de *Phaeocystis globosa* et non en cas d'efflorescence de diatomées. Cette accumulation de DOM peut aussi inclure des molécules dissoutes altérant les activités alimentaires des brouteurs. Cette hypothèse est renforcée par une autre étude portant sur l'influence des EPS de diatomées (Malej and Harris, 1993): Dans cette étude, les EPS produits par les diatomées : *Coscinodiscus granii*, *Stephanopyxis palmeriana*, *Skeletonema costatum*, *Nitzschia delicatissima*, *Thalassiosira weissflogii* et deux espèces du genre *Chaetoceros* spp. ont démontré des effets négatifs sur le broutage par les copépodes *Temora longicornis* et *Pseudocalanus elongatus* (Malej and Harris, 1993). Les auteurs sont allés plus loin en réalisant des incubations avec des EPS produits par ces diatomées et des dextrans de haut poids moléculaire (utilisés en tant que molécules contrôles). Ils ont observé des effets négatifs sur le broutage uniquement par les EPS de diatomées, suggérant ainsi que le mécanisme n'était pas uniquement physique (augmentation de la viscosité) mais était potentiellement due à la présence de stimuli chimiques dans les exsudats de diatomées (Malej and Harris, 1993).

Enfin, Ling et Alldredge (2003), démontrent toutefois que le copépode *Calanus pacificus* peut consommer des TEP, lorsque ceux-ci sont offerts seuls ou bien accompagnés de diatomées libres (*Thalassiosira weissflogii*). Les TEP n'ont donc pas systématiquement des effets négatifs sur les activités alimentaires des copépodes.

Nous verrons dans le **Chapitre III** (Toullec et al., 2019), que les copépodes peuvent d'ailleurs se nourrir sur des agrégats de diatomées dont la matrice est composée principalement de TEP. Ainsi les résultats de Ling et Alldredge (2003) et ceux du **Chapitre III**, montrent que la concentration en TEP peut ne pas avoir directement un rôle négatif sur l'activité alimentaire. Ce

serait plutôt la présence de molécules excrétées par les diatomées dans certaines conditions qui expliqueraient l'inhibition observée. En collectant les petites particules telles que des cellules de phytoplancton ou des bactéries trop petites pour être attrapées par les copépodes, les TEP pourraient constituer un mécanisme de transfert trophique entre les acteurs de la boucle microbienne (bactéries, protistes ciliés, flagellés...) vers les niveaux trophiques supérieurs (Ling and Alldredge, 2003).

c) Influence de l'activité alimentaire des copépodes sur les diatomées

Nous avons également étudié l'influence du broutage sur les réponses physiologiques des diatomées, à travers les variations des contenus en azote (pmol N.cell⁻¹), carbone (pmol C.cell⁻¹), silice biogénique par cellule (pmol bSi.cell⁻¹ et fmol bSi.µm⁻²) ainsi que sur la production de TEP (µg Xeq.mL⁻¹.j⁻¹ et pg Xeq.cell⁻¹.j⁻¹) au cours des incubations.

Pour rappel, les expériences de broutage ont été réalisées à partir des cultures diluées avec de l'eau de mer filtrée de la Rade de Brest (cf: préparation des rolling tanks, voir matériels et méthodes, pages 37 et 42). En conséquence, certaines limitations ont été levées au moment de l'incubation (via l'ajout de nutriments contenus dans l'eau de dilution). Afin d'identifier l'influence des copépodes sur la composition élémentaire des diatomées, nous avons donc systématiquement comparé les tanks contenant des copépodes à des tanks contrôles dans lesquels il n'y avait que des diatomées. La **Figure 2.11**, permet de comparer les taux de filtration des copépodes en fonction des différences de contenu cellulaire en azote, carbone et bSi, par rapport aux témoins sans copépodes (contenus cellulaires à T_f copépodes - contenus cellulaires à T_f control, **Figure 2.11**). Au cours des incubations avec *C. neogracile* pour lesquelles les taux de filtration de *E. acutifrons* et *A. clausi* étaient élevés (> 15 mL.ind⁻¹.j⁻¹), on observe des contenus en azote, carbone et bSi qui augmentent avec le taux de filtration apparent (**Figure 2.11**).

Les mêmes résultats sont observés durant les incubations avec *S. marinoi*. Plus les taux de filtration de *E. acutifrons* sont élevés et plus les contenus en azote, carbone et bSi des diatomées non consommées, sont élevés par rapport aux témoins (**Figure 2.11**). En ce qui concerne *C. helgolandicus* incubé avec *S. marinoi*, les variations des contenus en azote, carbone et bSi restent faibles par rapport aux témoins (**Figure 2.11**). La très faible activité alimentaire dans les incubations avec *C. helgolandicus* semble même conduire à une diminution des contenus en azote, carbone et bSi par rapport aux témoins (**Figure 2.11**).

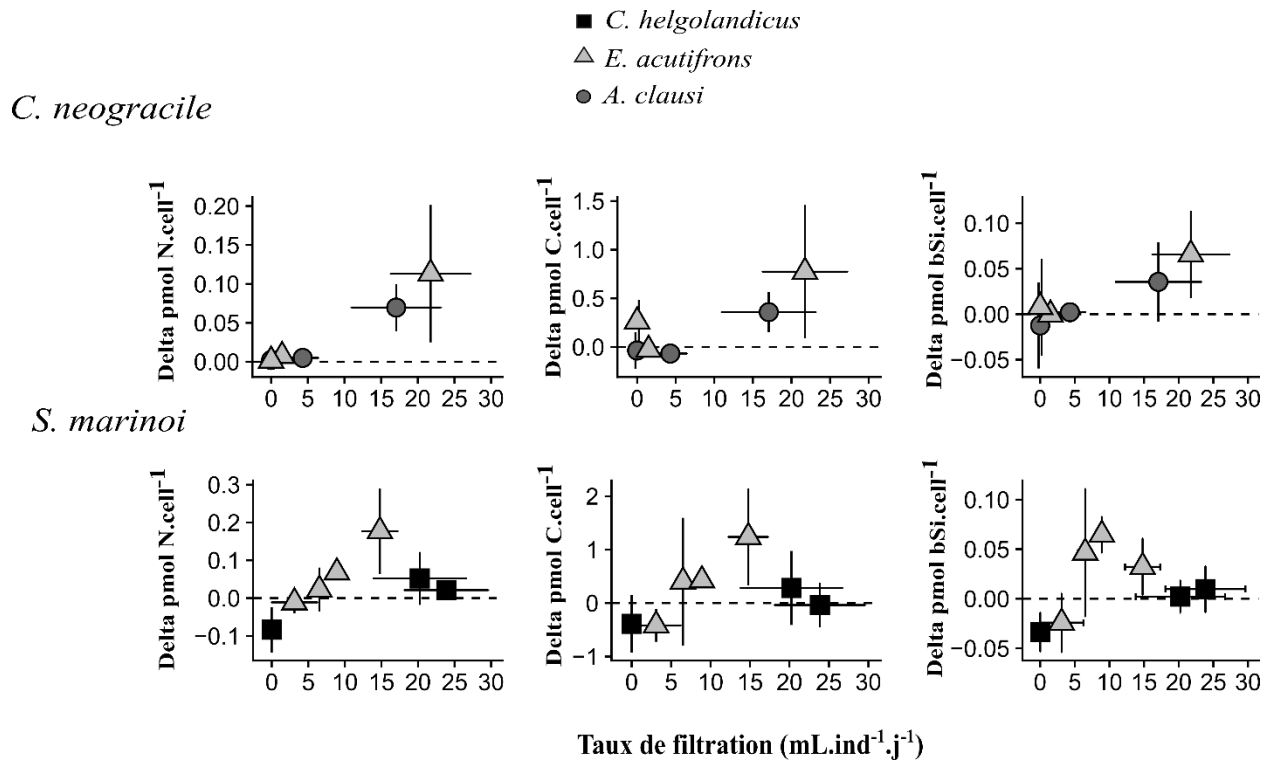


Figure 2.11 : En haut, relations entre les taux de filtration (mL.ind⁻¹.j⁻¹) et les variations des contenus cellulaires entre les tanks avec et sans (témoins) copépodes en fin d'incubation, pour l'azote (pmol N.cell⁻¹), le carbone (pmol C.cell⁻¹) et la bSi (pmol bSi.cell⁻¹) chez *C. neogracile*. En bas, relations entre les taux de filtration (mL.ind⁻¹.j⁻¹) et les variations des contenus cellulaires entre les tanks avec et sans (témoins) copépodes en fin d'incubation, pour l'azote (pmol N.cell⁻¹), le carbone (pmol C.cell⁻¹) et la bSi (pmol bSi.cell⁻¹) chez *S. marinoi*. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards entre les moyennes des répliques (3 rolling tanks). Les lignes pointillées représentent l'absence de variations des contenus cellulaires par rapport aux contrôles (moyenne des répliques contrôle).

Au cours des incubations avec *C. neogracile* non limitée, aucune variation des concentrations en TEP n'a été mesurée. Par contre, lorsque les cellules de *C. neogracile* limitées en silicium et azote sont incubées avec les copépodes, l'augmentation des TEP est systématique, malgré le faible taux de filtration mesuré (< 4 mL.ind⁻¹.j⁻¹) sur les diatomées limitées en silicium et l'absence d'activité alimentaire mesurée sur les diatomées limitées en azote. Au cours des incubations en présence de cellules limitées en silicium, la présence de *E. acutifrons* (avec de faibles taux de filtration) a augmenté de manière significative la production de TEP par cellule dans les rolling tanks (**Figure 2.12**). Au cours des incubations en présence de cellules limitées en azote, la présence de *A. clausi* (avec une absence totale de filtration apparente) a augmenté de manière significative la production de TEP par cellule dans les rolling tanks (**Figure 2.12**). En revanche, en ce qui concerne les incubations avec *S. marinoi*, quelles que soient les conditions

(limitée ou non, Exp. 4 à 7), aucune variation significative de production de TEP par rapport aux contrôles n'a été observée, que ce soit en présence de *E. acutifrons* ou *C. helgolandicus*.

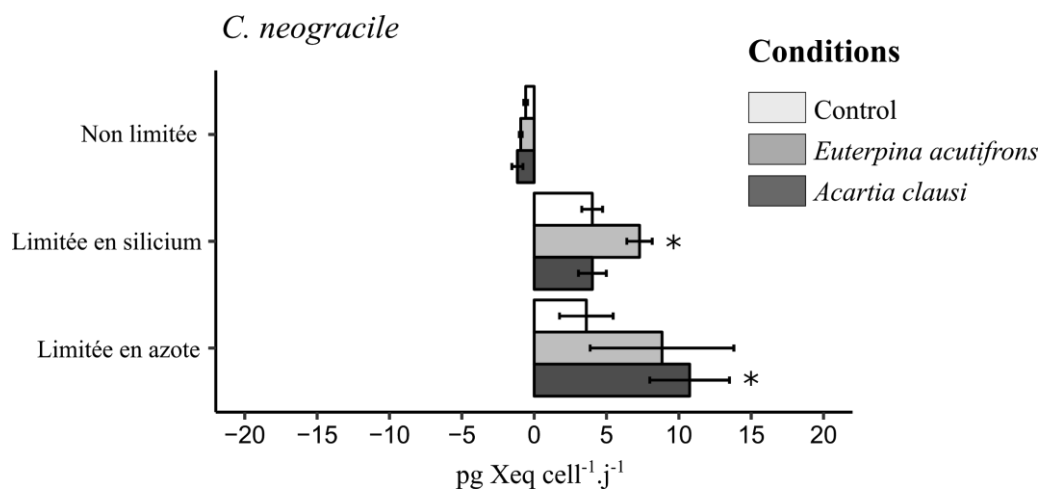


Figure 2.12 : Variation de la concentration en TEP par cellules (pg Xeq.cell⁻¹.j⁻¹) dans les incubations avec *C. neogracile*. * p-value < 0,05. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards entre les réplicas (N = 3).

En général, les copépodes peuvent influencer passivement le spectre de taille des TEP en augmentant la coagulation des TEP de petites tailles, en particules plus grandes (Prieto et al., 2001). En effet, les turbulences dues à la nage ou bien liées au courant de filtration, peuvent induire la coagulation de précurseurs de TEP (carbone organique dissous, particulaire et colloïdale) en TEP (Schuster & Herndl, 1995). La taille des TEP peut également être augmentée, lorsque les particules sont capturées dans le courant d'alimentation généré par le copépode, compactés par les appendices buccaux, puis rejetés après la capture (comme suggéré par Young et al., 1997). Dans notre étude, la nage des copépodes a pu augmenter les collisions entre les TEP < à 0,4 µm, les rendant ainsi détectables par notre protocole d'analyse (filtration sur filtre de 0,4 µm, voir matériel et méthode). Ces éléments pourraient expliquer les augmentations significatives de la concentration en TEP par cellule mesurées au cours des incubations avec *C. neogracile* limitée en silicium et azote lorsque *E. acutifrons* et *A. clausi* broutaient (Expérience 2 et 3, **Figure 2.12**). Mais si c'était les seuls mécanismes impliqués, les concentrations en TEP des *C. neogracile* et des *S. marinoi* non limitées auraient elles aussi augmenté. L'augmentation des TEP au cours des incubations avec les copépodes, est parfois une réponse défensive face au broutage (Malej and Harris, 1993), à l'image des copépodamines produits par les dinoflagellés en réponse au broutage (Selander et al., 2011, 2015; Grebner et al., 2018). Il est possible que l'augmentation des TEP mesurées dans les incubations avec *C. neogracile* limitée en silicium et en azote soit une défense

face au broutage et que cette défense ait induit la diminution des taux de filtration lors de ces incubations (**Figure 2.12**). Dans le cas des diatomées limitées, nous avons noté des rapports C:N élevés en début d'incubation avec les copépodes pour les *C. neogracile* limitées et pour les *S. marinoi* limitées en azote. Ces rapports peuvent illustrer un stockage de sucres en réponse aux limitations. En conséquence, ces diatomées auraient eu une plus grande capacité d'excréter des EPS que les *C. neogracile* et les *S. marinoi* non limitées. Cette hypothèse est soutenue par le fait que les rapports C:N ont plus fortement diminué dans les incubations dans lesquelles il y avait des copépodes. Si ce mécanisme se vérifie, le broutage par les copépodes à la fin d'un bloom pourrait fortement contribuer à provoquer la sédimentation massive des cellules phytoplanctoniques parfois observée en fin de bloom.

L'activité alimentaire des brouteurs change également le spectre de longueur de chaînes de *S. marinoi* dans toutes les conditions testées où un taux de filtration était mesurable. *C. helgolandicus* avec un taux de filtration moyen de $20 \pm 6 \text{ mL.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ et de $24 \pm 6 \text{ mL.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$, (**Figure 2.13**) diminue significativement le nombre de chaînes de 3 et > 4 cellules de *S. marinoi*. Par contre, durant l'incubation avec des diatomées limitées en silicium le taux de filtration était sous le seuil de détection limite et le nombre de chaînes à 3 cellules (**Figure 2.13**) a augmenté significativement. Lorsque le taux de filtration de *E. acutifrons* était de $3 \pm 3 \text{ mL.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$ (Exp. 6), aucune différence significative n'a été observée. Par contre, avec un taux de filtration plus élevé ($9 \pm 0 \text{ mL.ind}^{-1}.\text{j}^{-1}$, Exp. 7), le nombre de chaînes de 3 cellules a significativement diminué (**Figure 2.13**).

Globalement dans l'ensemble des expériences, l'activité alimentaire des copépodes induit une diminution du nombre de longues chaînes (> 3 cellules). Ces variations de longueur de chaîne peuvent s'expliquer de deux manières :

- Les copépodes se nourrissent préférentiellement sur les longues chaînes.
- Les copépodes même sans contact direct avec les cellules (ingestion), peuvent induire une inhibition de longues chaînes (cf : Bergkvist et al., 2012; Amato et al., 2018).

Amato et al, (2018) montrent que même sans contact direct entre les diatomées et les copépodes, la formation de longues chaînes chez *S. marinoi* était diminuée. Cette étude suggère que la formation de chaînes courtes en présence de brouteurs pourrait être une défense si les copépodes s'intéressent préférentiellement aux chaînes longues, ce qui est l'hypothèse de notre étude. Nous n'avons pas observé de changement de la longueur des chaînes, provoqués par la présence seule des copépodes probablement en raison du temps court d'incubation (24 h). Les auteurs ont en effet utilisé des durées d'incubation plus longues (48 h).

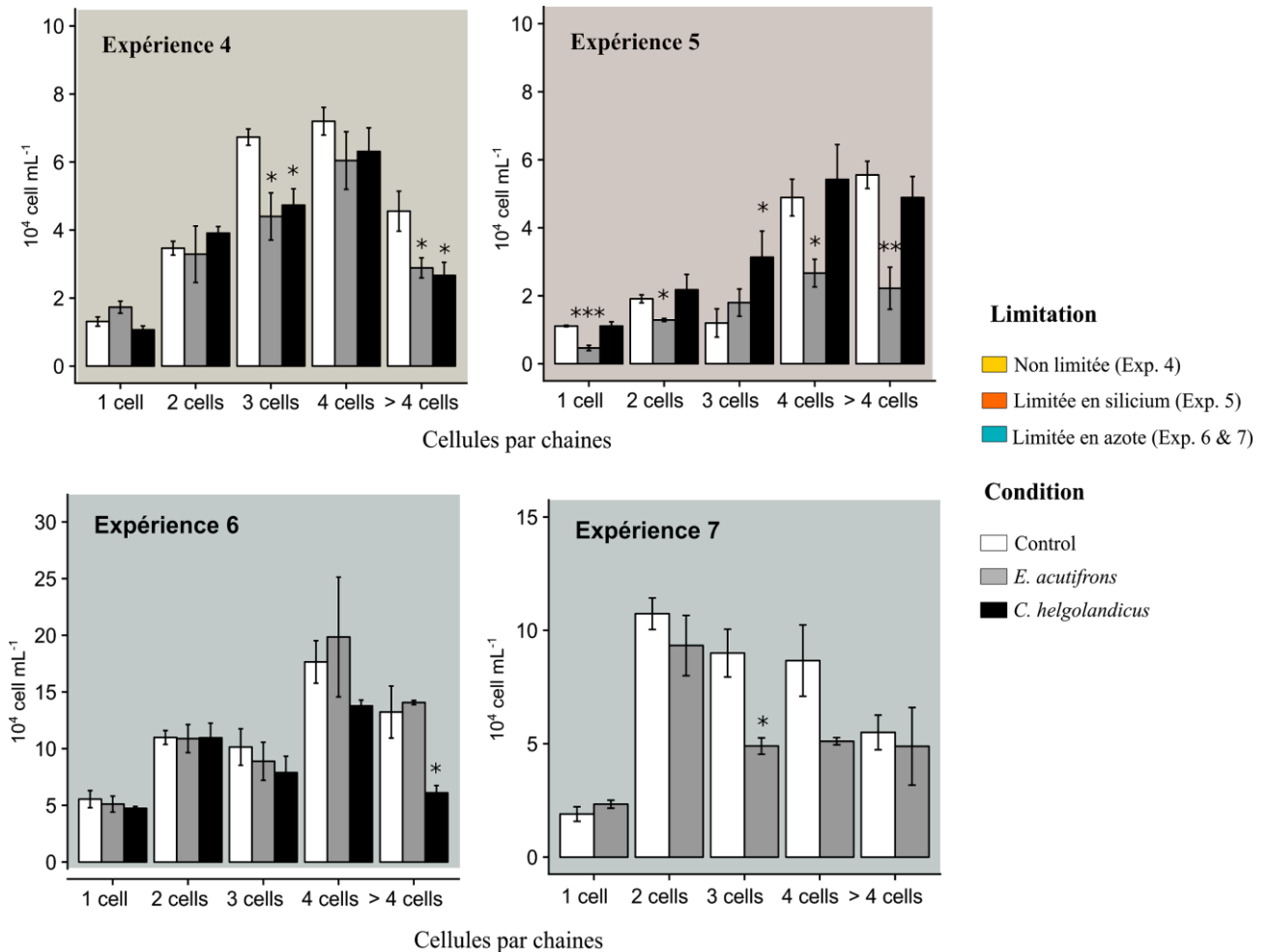


Figure 2.13 : Histogramme de la longueur des chaînes de *S. marinoi* pour les expériences 4 à 7, en fonction des conditions témoins, avec *E. acutifrons* et *C. helgolandicus*. Les couleurs correspondent aux limitations (Jaune pour condition contrôles ; Orange pour la limitation en silicium et bleue pour la limitation en azote). * p-value < 0,05 ; ** p-value < 0,01 et *** p-value < 0,001 d. Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards entre les réplicas (N = 3).

d) Impact des limitations sur l'export de carbone via les pelotes fécales

Au cours des expériences avec *C. helgolandicus* et *S. marinoi* (expériences 4 à 6), les pelotes fécales ont été collectées, comptées et analysées. Le volume moyen des pelotes fécales obtenues à l'issue du broutage sur des diatomées non limitées était de $1,1 \pm 0,5 \mu\text{m}^3$ (N = 69 mesures). Les volumes moyens des pelotes fécales sont significativement plus grands avec la limitation en azote ($3,0 \pm 1,2 \mu\text{m}^3$; N = 51 mesures ; p-value < 0.001 comparés aux contrôles) et silicium ($2,7 \pm 1,3 \mu\text{m}^3$; N = 70 mesures ; p-value < 0.001 comparé aux contrôles; **Figure 2.14**).

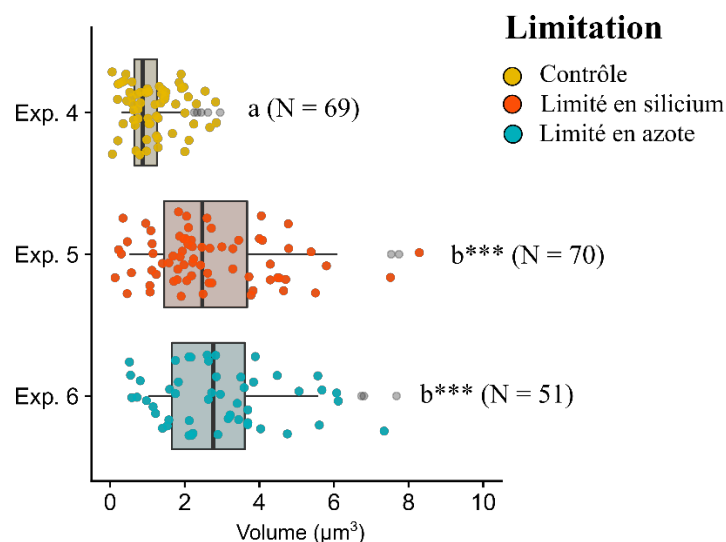


Figure 2.14 : Boxplots de distribution des volumes de pelotes fécales émises par *C. helgolandicus*. Les couleurs correspondent aux limitations (Jaune pour condition non limitée ; Orange pour la limitation en silicium et bleue pour la limitation en azote).

Les rapports stœchiométriques entre le carbone, l'azote et le silicium ont été modifiés suite au passage dans le tractus digestif de *C. helgolandicus* (**Figure 2.15**). On observe dans toutes les conditions une augmentation des rapports Si:C (mol:mol) et une diminution des rapports C:N (mol:mol) entre les diatomées et les pelotes fécales. Au cours des incubations en condition non limitée, on a observé une augmentation des rapports Si:C de $0,04 \pm 0,00$ à $0,11 \pm 0,01$ (mol:mol), les rapports C:N ont diminué de $11,2 \pm 1,3$ à $6,5 \pm 0,4$ (mol:mol). Au cours des incubations en condition de limitation en silicium, nous avons observé une légère augmentation des rapports Si:C de $0,04 \pm 0,00$ à $0,06 \pm 0,01$ (mol:mol), les rapports C:N ont diminué légèrement de $8,05 \pm 1,09$ à $7,04 \pm 0,27$ (mol:mol). Enfin, durant les incubations en condition de limitation en azote, nous avons observé une augmentation des rapports Si:C de $0,11 \pm 0,02$ à $0,25 \pm 0,01$ (mol:mol), les rapports C:N ont diminués de $15,8 \pm 3,1$ à $8,7 \pm 0,4$ mol:mol (**Figure 2.15**).

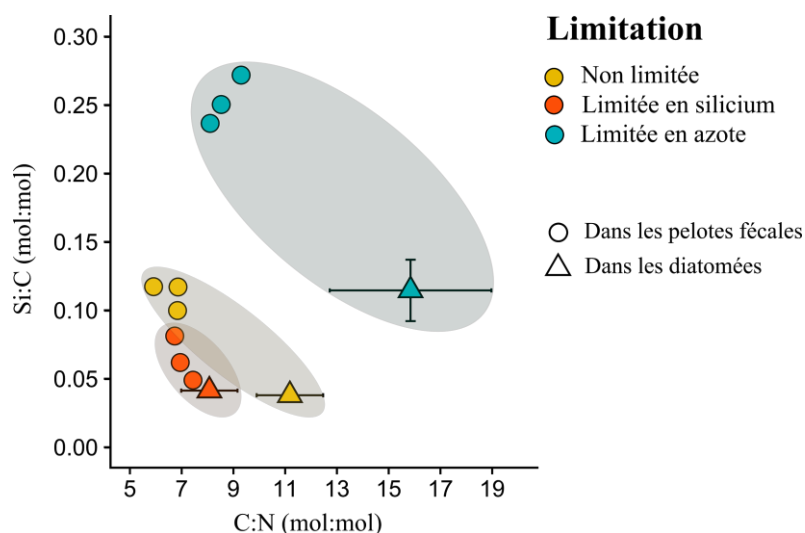


Figure 2.15 : Rapport Si:C (mol:mol) en fonction du rapport C:N (mol:mol), dans les diatomées (triangles) et les pelotes fécales (ronds) émises par *C. helgolandicus* après broutage sur des diatomées non limitées (jaune), limitées en Si (rouge) et limitées en N (bleu).

La taille des pelotes fécales produites par un copépode peut être liée au taux d'ingestion, i.e. plus les pelotes fécales émises sont grosses, plus les copépodes ont ingéré de nourriture, c'est le cas de *Pseudocalanus newmani* (Dagg & Walser, 1987; Tsuda & Nemoto, 1990). Mais dans notre étude aucun taux de filtration n'a été détecté au cours des expériences avec *S. marinoi* limitée en silicium, pourtant le taux d'émission de pelotes fécales était comparable à ceux des autres conditions (de 69 ± 22 PF.ind⁻¹.j⁻¹ en condition non limitée, de 64 ± 55 PF.ind⁻¹.j⁻¹ en condition limitée en azote et de 51 ± 14 PF.ind⁻¹.j⁻¹ en condition limitée en silicium). De la même façon, alors que les pelotes fécales issues du broutage de *C. helgolandicus* sur les diatomées limitées en azote et silicium, étaient significativement plus grosses, les taux de filtration mesurés dans ces incubations étaient proches de ceux mesurés sur les diatomées non limitées. Ce mécanisme issu des observations de Tsuda & Nemoto (1990) avec *Pseudocalanus newmani* ne permet donc pas d'expliquer nos résultats. La variation du volume des pelotes fécales entre les différentes conditions, peut aussi s'expliquer par un changement du temps de passage dans le tractus digestif du copépode. Un temps de passage plus court correspondrait à un taux d'assimilation faible pour le copépode (Besiktepe & Dam, 2002), ou bien une assimilation plus efficace. En cas de limitation en azote, l'altération de la qualité de *S. marinoi* (C:N plus élevé et plus de bSi par cellule chez *S. marinoi*), provoquerait une augmentation du temps d'assimilation (Møller et al., 2003) et un temps d'évacuation du contenu digestif de *C. helgolandicus* plus élevé, conduisant à des pelotes fécales plus volumineuses. Ces pelotes fécales plus volumineuses ont des conséquences sur les flux

verticaux via la vitesse de sédimentation, en tout cas des flux verticaux de silicium (Komar et al., 1981; Stamieszkin et al., 2015).

La modification des rapports stœchiométriques entre les diatomées ingérées et les pelotes fécales, est directement liée aux processus digestifs et respiratoires qui ont lieu au sein de l'épithélium intestinale des copépodes (Nott et al., 1985). Les macroéléments composants les diatomées ingérées, pendant la digestion, sont assimilés et redistribués entre différents composés biochimiques (protéines, lipides, carbohydrates, acides nucléiques...) utilisés directement par le copépode et surtout pour la production d'œuf par les femelles (Møller et al., 2003; Møller, 2007). Les déchets sont quant à eux excrétés sous forme de CO₂ via la respiration, sous forme de matière organique dissoute et dans les pelotes fécales.

Modification des rapports C:N : Dans notre étude, les rapports C:N dans les pelotes fécales de *C. helgolandicus* ont le même ordre de grandeur que ceux de la littérature (6,4 à 14,8 Paffenhoefer & Knowles, 1979; Morales, 1987; Cowie & Hedges, 1996; Paffenhöfer & Köster, 2005), mais ils sont plus faibles que ceux des diatomées, ce qui est à l'opposé de ce qui est décrit dans la littérature (Morales, 1987; Anderson, 1994). Les rapports C:N des pelotes fécales sont généralement plus élevés que ceux de la nourriture suggérant une assimilation préférentielle de l'azote par rapport au carbone. Cependant, dans l'étude de Morales (1987), le rapport C:N dans la nourriture (*T. weissflogii*) était bien plus faible que les nôtres, avec une valeur moyenne de 5,5 mol:mol et l'auteur suggère que les changements de rapport entre la nourriture et les pelotes fécales peuvent varier selon la qualité de la nourriture. En effet, nos rapports C:N dans les pelotes fécales varient de 6 à 9 mol:mol (équivalent à l'étude de Morales, 1987), alors que dans notre étude avec *S. marinoi*, les rapports C:N étaient bien plus élevés, soit de 8 à 16 mol:mol.

Modification des rapports Si:C : La reminéralisation de la bSi est faiblement augmentée lors du broyage mécanique du frustule et dans le tractus digestif des copépodes (Tande & Slagstad, 1985; Cowie & Hedge, 1996). Le seul processus physiologique identifié impliquant le silicium dans la physiologie des copépodes, est la formation de structure en silice biogénique sur les appendices masticateurs (Tande and Slagstad, 1985). Par conséquent la bSi n'est pas assimilée lors de la digestion et s'accumule dans les pelotes fécales. Des frustules intacts ont ainsi été observés dans les pelotes de gros copépodes (Head, 1992). Ce qui explique que le Si:C augmente dans les pelotes fécales par rapport à celui des diatomées. De plus, la membrane péritrophique entourant les pelotes fécales, est susceptible de ralentir la reminéralisation de la matière organique et donc de la bSi, contenue dans les pelotes (Poulsen & Kiørboe, 2006; Belcher et al., 2016, 2017).

Dans la littérature, il a été démontré qu'au cours d'une efflorescence (expérimenté en laboratoire), les pelotes fécales émises par *Acartia tonsa* en situation de début d'efflorescence

(phytoplancton en phase de croissance exponentielle) ont des vitesses de sédimentation supérieures à celles émises en situation post-bloom (phytoplancton en phase stationnaire, sénescences) (Butler and Dam, 1994). Cette étude suggère un export par les pelotes fécales moins important en fin d'efflorescence. Si on associe la situation post efflorescence à nos limitations nutritives, les résultats de Butler & Dam (1994) disent l'inverse de ce que suggèrent nos résultats. Notre étude suggère que les pelotes fécales émises en fin de bloom sédimentent plus rapidement pour deux raisons: une augmentation de la taille des pelotes fécales et un effet ballast amplifié par la limitation en azote. Cependant, les copépodes utilisés dans les expérimentations de Butler & Dam, (*A. tonsa*) produisent des pelotes fécales de taille inférieure : environ 200 μm de long pour *A. tonsa*, contre environ 500 μm de long pour *C. helgolandicus*, soulignant la nécessité de mieux comprendre l'impact des limitations sur des copépodes dont le comportement alimentaire est différent (sélection des proies). On peut tout à fait envisager que la taille des pelotes fécales et leurs densités peuvent varier différemment selon l'espèce, l'état physiologique ou ontogénique des copépodes. Il est intéressant de constater l'importance de la qualité de la nourriture ingérée par les copépodes, à la fois en terme de composition spécifique et en terme de qualité nutritive intrinsèque (rapport stoechiométrique), sur la composition et la taille des pelotes fécales émises.

4. Conclusion

Impact des limitations sur la physiologie des diatomées : Les résultats de nos travaux indiquent que des limitations faibles (sans changement du taux de croissance) provoquent des modifications physiologiques chez les diatomées *C. neogracile* et *S. marinoi*. Ces réponses physiologiques sont ici illustrées par des variations des rapports Si:C, C:N, bSi par cellule et de la quantité de TEP produites et par la modification de la longueur des espaces intracellulaires au sein des chaînes de *S. marinoi* ainsi que de la longueur des spicules de *C. neogracile*. Il est important de constater que dans les incubations qui présentaient des rapports C:N élevés, une plus grande quantité de TEP ont été produites. Confirmant les liens entre limitations nutritifs, stress physiologique et production de polymères (Passow et al., 1994; Mopper et al., 1995; Passow, 2002a, 2002b; Ortega-Retuerta et al., 2009).

Impact des limitations sur le broutage par les copépodes : Les changements physiologiques du phytoplancton engendrés par les limitations, influencent directement l'activité alimentaire des copépodes. Nous avons démontré au cours de ce **Chapitre II** que la limitation en azote provoque une diminution de l'activité alimentaire de *E. acutifrons* et *A. clausi* sur *C. neogracile*. Cette limitation provoque à la fois l'augmentation de la taille de ses spicules siliceux

qui sont des défenses suggérées contre le broutage mais également une augmentation du C:N caractérisant une baisse de la qualité nutritive des diatomées. Lorsque l'augmentation du contenu en bSi n'est pas possible que ce soit parce que le silicium est limitant, d'autres paramètres entrent en jeu (rapport C:N). En ce qui concerne *S. marinoi*, c'est la variation du rapport C:N qui semble influencer les taux de filtration de *E. acutifrons*. La modification des rapports C:N peut refléter des perturbations dans la quantité/qualité des protéines et/ou lipides produits (PUFAs, PUAs, Stérols...). La qualité des lipides, est un facteur clé pour les copépodes puisqu'ils influencent directement leur développement ontogénique (Szyper, 1989; Rey et al., 2001; Breteler et al., 2005; Leiknes et al., 2016) et la production d'œufs (Lee et al., 1974; Kiørboe et al., 1985; Smith, 1990; Hirche & Kattner, 1993; Støttrup et al., 1999). Bien qu'à notre connaissance aucune étude ne l'ait directement mesuré, il est envisageable que les copépodes adaptent leurs taux de filtration en fonction de la qualité lipidique de leurs proies. Les TEP peuvent également parfois diminuer le taux de broutage comme nous l'avons observé chez *E. acutifrons* et *A. clausi*, durant les incubations avec *C. neogracile*, lorsque les concentrations en TEP dépassent les $6 \mu\text{g Xeq.mL}^{-1}$. Ainsi en changeant les ornements siliceux (spicules) et la composition stoechiométrique et biochimique des diatomées, les limitations en nutriments peuvent influencer l'activité alimentaire des copépodes.

Impact du broutage sur les diatomées : Le broutage à son tour va avoir des effets sur les diatomées. En effet nous avons mis en évidence une augmentation de la production de TEP dans les incubations contenant des diatomées limitées ayant des rapports C:N élevés. Confirmant ainsi la capacité des cellules en situation de limitation à produire des précurseurs de TEP. Ici en l'occurrence le stress provoqué par le broutage a conduit à augmenter la production de TEP au cours des incubations contenant des cellules avec un rapport C:N élevé. Ce phénomène n'a pas été observés au cours des incubations non limitées, au cours desquelles les rapports C:N étaient plus faibles dans les cellules. Ce mécanisme pourrait constituer un moyen de défense vis-à-vis du broutage. Nous avons également mis en évidence l'effet de l'activité alimentaire sur l'augmentation de la silicification des diatomées, ce qui peut être traduit comme une défense induite. La **Figure 2.16** résume de manière synthétique les interactions entre copépodes et diatomées décrits dans nos résultats. Ainsi au travers de la modification de la production de TEP et de la densité des cellules via l'effet ballast de la bSi et de la longueur des chaînes, les copépodes peuvent directement influencer la sédimentation des cellules et chaînes de cellules, qui sont des processus clés dans la formation d'agrégats.

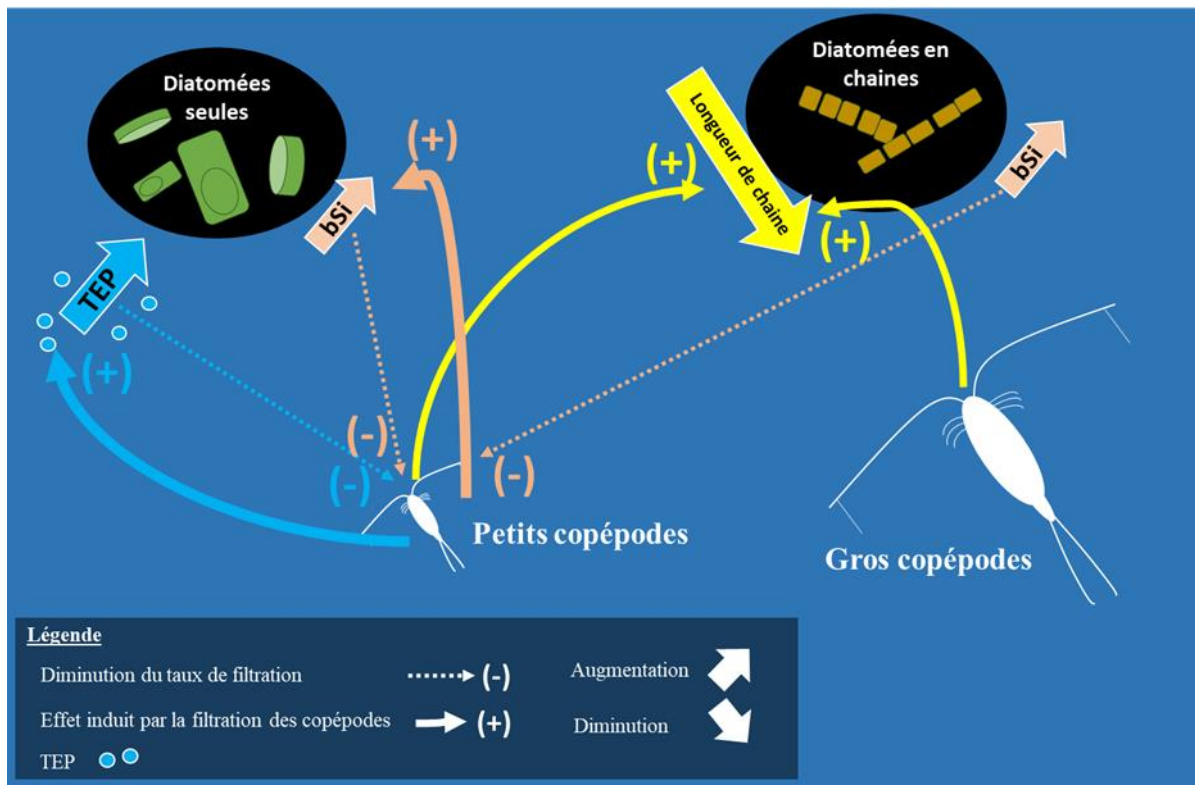
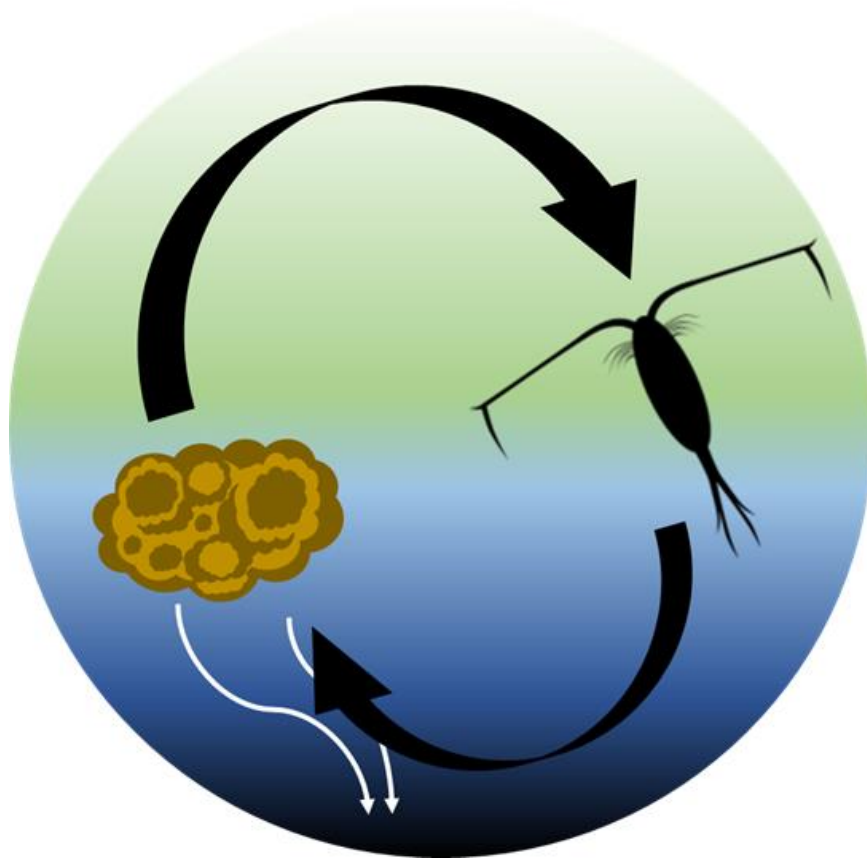


Figure 2.16 : Schéma bilan représentant l'influence des changements physiologiques des diatomées sur le brotage par les copépodes.

Impact des limitations sur l'export de carbone via les pelotes fécales: Enfin, les limitations subies par les diatomées lorsqu'elles sont consommées peuvent directement modifier le flux de carbone en influençant la composition et la taille des pelotes fécales. La limitation en azote en particulier augmente la taille des pelotes fécales et l'augmentation des rapports Si:C dans les diatomées, est amplifiée dans les pelotes fécales. Nos données nous permettent ainsi d'envisager la possibilité d'une augmentation du flux d'export de silicium par les pelotes fécales en cas de limitation en azote. L'export de carbone pourrait lui aussi être augmenté en considérant l'augmentation de la densité des pelotes fécales, illustré par l'effet ballast de la bSi (augmentation du rapport Si:C dans les pelotes). **Il en résulterait ainsi une augmentation de la PBC via le flux de pelotes fécales.**

III. Influence des copépodes sur la dynamique des agrégats de diatomée



1. Préambule

Comme présenté dans le **Chapitre I**, grâce à la formation d'agrégats de phytoplancton, la pompe biologique de carbone exporte le carbone vers l'océan profond. Les copépodes sont les organismes dominants dans les assemblages zooplanctoniques (Ohman & Hirche, 2001) et sont les principaux consommateurs des diatomées (Calbet, 2001; Irigoien et al., 2002, 2005).

C'est pourquoi, l'objectif de ce troisième chapitre est de répondre aux questions suivantes:

→ **Les copépodes peuvent-ils influencer la formation d'agrégats de diatomées ?**

→ **Les copépodes peuvent-ils consommer les agrégats de diatomées et en influencer le flux ?**

Ce **Chapitre III** est présenté sous forme d'un article publié dans *Frontiers in Marine Science*.

Toullec, J., Vincent, D., Frohn, L., Miner, P., Le Goff, M., Devesa, J. & Moriceau, B. (2019). Copepod grazing influences diatom aggregation and particle dynamics. *Frontiers in Marine Science*, 6 :751. doi : 10.3389/fmars.2019.00751

2. Résumé de la publication

La pompe biologique de carbone est supportée par le flux de particule (neige océanique et pelotes fécales), en partie contrôlée par les processus d'agrégation, de reminéralisation et de broutage par le zooplancton. Le zooplancton contribue au flux de particule, principalement par l'émission de pelotes fécales qui ont des vitesses de sédimentation rapides, mais le zooplancton peut également atténuer le flux via la fragmentation des gros agrégats de phytoplancton. Au cours d'expériences en laboratoire, des diatomées libres, des agrégats artificiels monospécifiques de deux espèces de diatomées (*Chaetoceros neogracile* et *Skeletonema marinoi*) et des agrégats naturels de *Melosira* sp. ont été incubés indépendamment avec cinq espèces de copépodes (*Acartia clausi*, *Temora longicornis*, *Calanus helgolandicus*, *Euterpina acutifrons* et *Calanus hyperboreus*). Au cours des expériences de broutages sur les cellules libres, nous avons observé avec *E. acutifrons*, des taux d'ingestion de 157 ± 155 ng Chl *a*.ind⁻¹.j⁻¹, ce qui a induit une augmentation significative de la formation d'agrégats de *S. marinoi*. La production de TEP n'a été que légèrement stimulée par la présence de brouteurs. L'agrégation de cellules libres ou de petits agrégats a été facilitée par la turbulence résultant de la nage active des petits copépodes.

Cependant, la turbulence plus forte créée par les gros copépodes, semble empêcher la formation d'agrégats et les rend même vulnérables à la fragmentation.

Tous les copépodes étudiés ont broutés les agrégats, avec des taux d'ingestion de chlorophylle *a* équivalent allant de 4 à 23 ng Chl *a* eq.ind⁻¹.j⁻¹. Trois grandes tendances dans la dynamique des particules ont été identifiées et liées aux traits fonctionnels des copépodes:

1) La fragmentation des agrégats de *S. marinoi* par le *cruise feeder* *T. longicornis*. La fragmentation des agrégats naturels de *Melosira* sp. par *C. hyperboreus*, qui a démontré des traits fonctionnels mixte au cours d'analyse du comportement.

2) Aucun changement de la dynamique des particules en présence du détritivore *E. acutifrons*.

3) la réagrégation des agrégats de *C. neogracile* et de *S. marinoi* lorsque les deux *filter feeders* *A. clausi* et *C. helgolandicus* broutent les agrégats.

3. Publication : Copepod grazing influences diatom aggregation and particle dynamics



Copepod Grazing Influences Diatom Aggregation and Particle Dynamics

Jordan Toullec¹, Dorothée Vincent^{2,3}, Laura Frohn¹, Philippe Miner⁴, Manon Le Goff¹, Jérémy Devesa¹ and Brivaëla Moriceau^{1*}

¹ Univ Brest, CNRS, IRD, Ifremer, LEMAR, Plouzané, France, ² UMR 8187 Laboratoire d'Océanologie et de Géosciences, CNRS, Université du Littoral-Côte d'Opale, Wimereux, France, ³ Agence Française pour la Biodiversité, Direction de l'Appui aux Politiques et aux Acteurs, Service Connaissance, Evaluation et Surveillance du Milieu Marin, Espace Giraudeau, Brest, France, ⁴ Ifremer, Univ Brest, CNRS, IRD, LEMAR, Plouzané, France

OPEN ACCESS

Edited by:

Morten Hvitfeldt Iversen,
Alfred Wegener Institute, Helmholtz
Centre for Polar and Marine Research
(AWI), Germany

Reviewed by:

Jun Sun,
Tianjin University of Science
and Technology, China
Xiaodong Wang,
Jinan University, China

*Correspondence:

Brivaëla Moriceau
Brivaëla.Moriceau@univ-brest.fr

Specialty section:

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

Received: 06 May 2019

Accepted: 19 November 2019

Published: 05 December 2019

Citation:

Toullec J, Vincent D, Frohn L,
Miner P, Le Goff M, Devesa J and
Moriceau B (2019) Copepod Grazing
Influences Diatom Aggregation
and Particle Dynamics.
Front. Mar. Sci. 6:751.
doi: 10.3389/fmars.2019.00751

In marine ecosystems, carbon export is driven by particle flux which is modulated by aggregation, remineralization, and grazing processes. Zooplankton contribute to the sinking flux through the egestion of fast sinking fecal pellets but may also attenuate the flux by tearing apart phytoplankton aggregates into small pieces through swimming activity or direct ingestion. Freely suspended cells, artificial monospecific aggregates from two different diatom species (*Chaetoceros neogracile* and *Skeletonema marinoi*) and natural aggregates of *Melosira* sp. were independently incubated with five different copepod species (*Acartia clausi*, *Temora longicornis*, *Calanus helgolandicus*, *Euterpina acutifrons*, and *Calanus hyperboreus*). During the grazing experiments initiated with free diatoms, *E. acutifrons* feeding activity evidenced by ingestion rates of 157 ± 155 ng Chl a ind⁻¹ d⁻¹, induced a significant increase of *S. marinoi* aggregation. Transparent exopolymeric particles (TEP) production was only slightly boosted by the presence of grazers and turbulences created by swimming may be the main trigger of the aggregation processes. All copepods studied were able to graze on aggregates and quantitative estimates led to chlorophyll a ingestion rates (expressed in Chl a equivalent, i.e., the sum of chlorophyll a and pheopigments in their guts) ranging from 4 to 23 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ d⁻¹. The relation between equivalent spherical diameters (ESDs) and sinking velocities of the aggregates did not significantly change after grazing, suggesting that copepod grazing did not affect aggregate density as also shown by Si:C and C:N ratios. Three main trends in particle dynamics could be identified and further linked to the copepod feeding behavior and the size ratio between prey and predators: (1) Fragmentation of *S. marinoi* aggregates by the cruise feeder *T. longicornis* and of *Melosira* sp. aggregates by *C. hyperboreus* at prey to predator size ratios larger than 15; (2) no change of particle dynamics in the presence of the detritic cruise feeder *E. acutifrons*; and finally (3) re-aggregation of *C. neogracile* and *S. marinoi* aggregates when the two filter feeders *A. clausi* and *C. helgolandicus* were grazing on aggregate at prey to predator size ratios lower than 10. Aggregation of freely suspended cells or small aggregates was facilitated by turbulence resulting from active swimming of small copepods. However, stronger turbulence created by larger cruise feeders copepods prevent aggregate formation and even made them vulnerable to breakage.

Keywords: diatom aggregate, grazing experiment, copepod, sinking velocity, particle dynamics

INTRODUCTION

In marine ecosystems, diatoms play a key role in the biological carbon pump (Jin et al., 2006; Tréguer et al., 2017). Diatom contribution to the export is mainly driven by particle dynamics such as aggregate formation, by coagulation of freely suspended phytoplankton cells or small detritus into a sticky matrix made of transparent exopolymeric particles (TEPs). Considering the balance between sinking and remineralization, only large and fast sinking particles formed in the mixed layer can reach the sequestration depth (Moriceau et al., 2007), i.e., 1000 m depth considering that an efficient carbon entrapment is longer than a thousand year (Passow and Carlson, 2012). This mechanistic view is confirmed by *in situ* profiles of particle fluxes (Guidi et al., 2007). Yet, viable freely suspended cells were collected at depth down to 4000 m (Agustí et al., 2015). Due to their slow sinking rates ($1\text{--}5\text{ m d}^{-1}$, Bienfang, 1981) isolated living cells cannot reach water layer as deep. Living cells may require transportation to depth *via* aggregates and then dispersed after disaggregation of the fast sinking particle by unknown processes. Strong decrease of the particle size with depth confirm the attenuation of particle fluxes under the mixed layer depth (Guidi et al., 2007). From *in situ* observations in the NW Mediterranean Sea, Stemmann et al. (2004) proposed different processes possibly explaining fragmentation of sinking particles, namely microbial activity and zooplankton feeding. Zooplankton grazers can strongly modulate the particle fluxes in the water column. Organisms such as salps, appendicularians, and copepods are acknowledged to be important contributors to carbon export *via* the production of fast sinking fecal pellets resulting from grazing (Stemmann et al., 2002; Turner, 2002, 2015; Boyd and Trull, 2007; Stamieszkin et al., 2015; Lalande et al., 2016). Overall, the contribution of fecal pellets to the total particle carbon flux varies from 1 to 100%, most values being <40% (Turner, 2015). In addition, during vertical migrations, zooplankton egest fecal pellets deeper than the mixed layer (Wilson et al., 2008; Brierley, 2014) resulting in an active transport of fresh organic matter at depth (Gorgues et al., 2019) as observed in the Scotia Sea and the Southern Ocean (Cavan et al., 2015, 2017; Bode et al., 2018). As a consequence, a significant proportion of the particle flux may escape remineralization processes in the upper pelagic zone (Cavan et al., 2015). Additional metabolic processes such as respiration and excretion occurring deeper during zooplankton migration also contribute to transport dissolved carbon to the deep sea (Turner, 2015; Steinberg and Landry, 2017; Hernández-León et al., 2019). Direct relation between increasing carbon export and copepod abundance was evidenced *in situ* in Kongsfjorden (Norway, Lalande et al., 2016) when diatoms dominate the community as well as during a mesocosm study conducted in the Bay of Hopavagen (Norway, Moriceau et al., 2018). However, in the latter case, this increase in carbon export was only visible when cyanobacteria (and not diatoms) dominated the phytoplankton community. Other zooplankton organisms, such as appendicularians, are major contributors to vertical particle carbon flux (Alldredge et al., 2005), *via* the production of cellulosic houses embedded with detritus or other plankton organisms (Gorsky et al., 1999;

Vargas et al., 2002; Lombard and Kjørboe, 2010; Lombard et al., 2013a).

Moreover, zooplankton may also attenuate vertical particle fluxes through different activities. Swimming of large Euphausiids was demonstrated to fragment marine aggregates into small particles that sink more slowly, become accessible to small grazers and microbial organisms, thus enhancing remineralization and carbon cycling (Dilling and Alldredge, 2000; Goldthwait et al., 2004, 2005). Sinking organic materials such as marine snow aggregates and fecal pellets could also constitute alternative food sources for mesozooplankton (Dagg, 1993; Lampitt et al., 1993; Steinberg, 1995; Dilling et al., 1998; Kjørboe, 2000; Dilling and Brzezinski, 2004; Koski et al., 2017). Ostracods, cladocerans, ascidian larvae, and copepods are aggregate colonizers, and can feed either on prokaryotic community located inside or at the surface of the aggregates, or directly on the aggregate matrix (Green and Dagg, 1997; Shanks and Walters, 1997). From 20 to 70% of the aggregate carbon biomass may be degraded by these colonizers during their sinking under the euphotic zone (Kjørboe, 2000). In a recent study investigating copepod grazing behavior on aggregated particles, Koski et al. (2017) demonstrated that both harpacticoida and poecilostomatoida copepods were able to feed on aggregates and could thus attenuate the particle carbon flux. Aggregation processes and dynamics are increasingly understood *via* the combination of laboratory experiments and models (Beauvais et al., 2006; Passow and De La Rocha, 2006; Gärdes et al., 2011; Jackson, 2015; Prairie et al., 2019), mesocosm experiments (Alldredge et al., 1995; Passow and Alldredge, 1995b; Svensen et al., 2001, 2002; Moriceau et al., 2018; Cisternas-Novoa et al., 2019), and *in situ* observations (Lampitt et al., 2010; Laurenceau-Cornec et al., 2015; Nowald et al., 2015; Giering et al., 2017; Cavan et al., 2018; Bach et al., 2019). In the meantime, studies focusing on disaggregation processes due to remineralization or zooplankton activity (Goldthwait et al., 2004; Taucher et al., 2018) remain limited despite their importance in providing new insights to better understand particle export in the mesopelagic zone. As dominant components of zooplankton communities, copepods may be considered as “gatekeepers of the biological carbon pump” if they limit carbon export by breaking aggregates as previously suggested in laboratory (Goldthwait et al., 2004), mesocosm experiments (Moriceau et al., 2018; Taucher et al., 2018), and *in situ* studies (Dilling and Alldredge, 2000). They may also enhance carbon export by (1) egesting large sinking fecal pellets (Turner, 2015; Lalande et al., 2016; Steinberg and Landry, 2017), (2) boosting the aggregation, as seen for cyanobacteria, appendicularians, and doliolids (Moriceau et al., 2018; Taucher et al., 2018), and (3) increasing the particle sinking rates when increasing the silicon content of diatoms (Pondaven et al., 2007). Swimming activity being intrinsically linked to feeding, copepod flexible diet may also modulate particle fluxes through differential grazing between free diatoms and aggregated diatoms (Bochdansky and Herndl, 1992; Bochdansky et al., 1995) or by changing the composition of the phytoplankton community (Bach et al., 2019). Their distinct functional feeding traits as filter feeders or ambush feeders

(Kjørboe, 2011; Lombard et al., 2013b; Koski et al., 2017) make them organisms of particular interest to study particle dynamics. Recognizing that only very few studies have dealt with the interactions between large particles and grazers under laboratory conditions, we propose here to study the effects of both copepod grazing and swimming activities on diatom aggregate dynamics (i.e., changes in size, sinking velocity, and elemental composition) using rolling tank experiments (Shanks and Edmondson, 1989).

MATERIALS AND METHODS

Experimental Set-Up

Two types of incubation experiments were carried out to estimate the effect of copepod grazing on particle dynamics. The first set of experiments tested whether copepod activities influence coagulation rate of free diatoms and/or the size, sinking velocity, and composition of the resulting aggregates (Experiments 1–3). The second set of experiments monitored the changes in diatom aggregate abundance, size, sinking velocity, and composition under grazing pressure (Experiments 4–8; **Figure 1**). Aggregates studied here were visible to the naked eyes starting in length from 1 mm.

Phytoplankton Cultures

For laboratory experiments (Experiments 1–7), *Skeletonema marinoi* (strain CCAP 1077/5) and *Chaetoceros neogracile* (strain CCAP 1010/3) were obtained from Ifremer collection (Laboratory of Functional Physiology of Marine Organism, Ifremer Brittany's Centre, France). They were continuously grown in Conway medium (Conway et al., 1976) prepared with autoclaved 1 μm filtered seawater from the Bay of Brest (Brittany, France). Cells were maintained in exponential growth phase in 2 L glass round bottom balloons at 20°C under continuous irradiance (100 $\mu\text{moles photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Balloons were kept in constant aeration and CO_2 was supplied to keep the pH between 7.5 and 7.9. These cultures were directly used for experiments using free diatom cells as prey type (Experiments 1–3, **Table 1**). Subsamples of the cultures were used for chemical analyses at T_{init} (see below).

Aggregate Preparation From Diatom Cultures and *in situ* Aggregate Collection

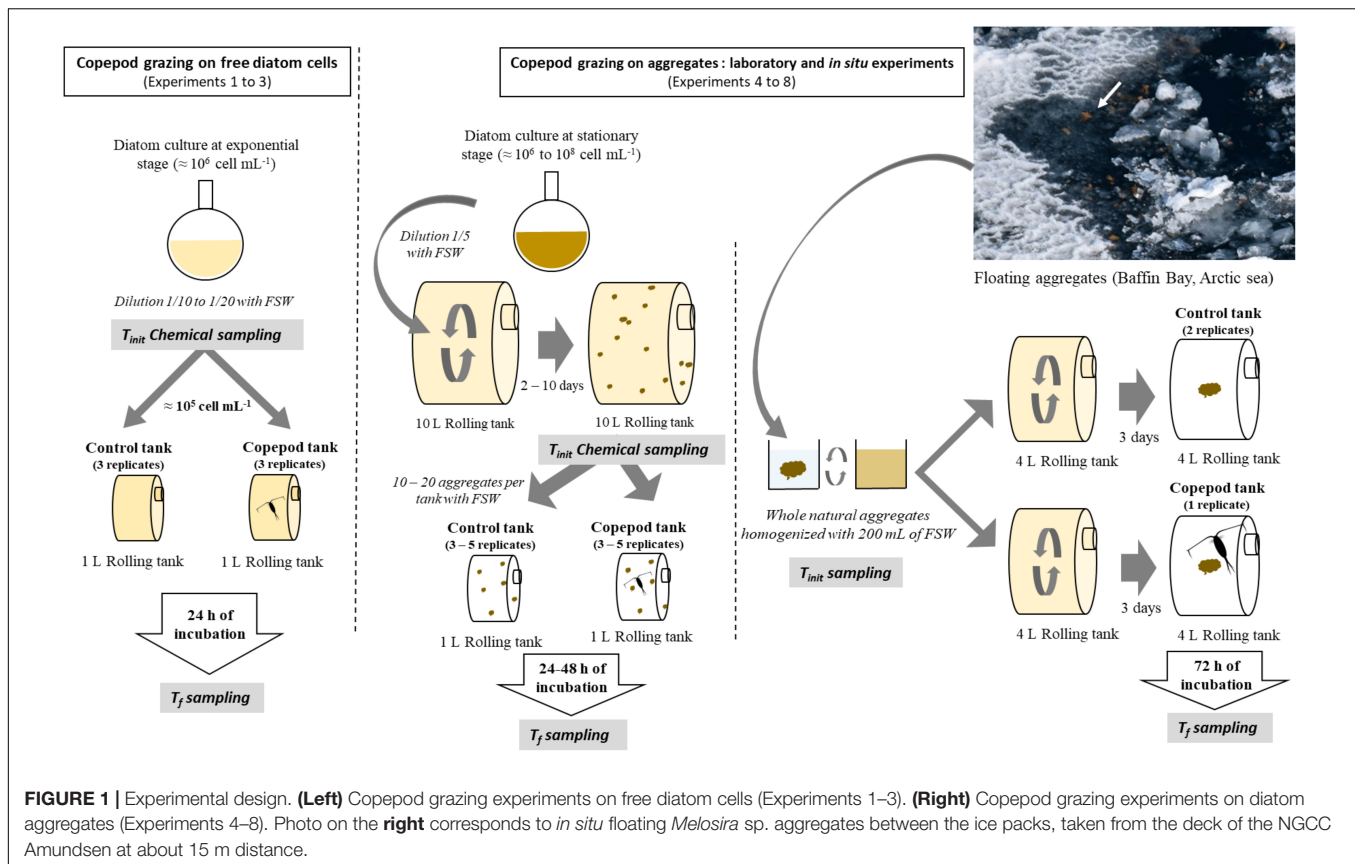
In order to perform Experiments 4–8, monospecific aggregates were produced in the laboratory. Once diatom cultures reached the stationary phase, i.e., stable cell concentrations of 10^6 – 10^7 for *S. marinoi* and 10^8 cell mL^{-1} for *C. neogracile*, 2 L were diluted into 10 L cylindrical rolling tanks containing 1 μm filtered UV sterilized seawater (FSW hereafter, **Figure 1**). Cultures were then maintained at 18°C under a 12:12 h photoperiod cycle, for 2–10 days, and rotated at 3 rpm on a rolling table to promote cell collision and aggregation (Shanks and Edmondson, 1989). As soon as aggregates were formed inside the 10 L rolling tank, 10–20 aggregates were carefully transferred inside a set of 1 L rolling tanks containing FSW using a large aperture plastic

pipette (10 mL). Similar sampling was done to measure the initial chemical conditions (T_{init}) of the aggregates (see below).

For the *in situ* experiment (Experiment 8), large floating mono-specific aggregates of *Melosira* sp. were sampled from the surface from a zodiac boat on the 3rd of July 2016 during the GreenEdge expedition on-board the NGCC Amundsen. The aggregates were sampled at station 600 (70°30.653 N, 63°59.258 W) using a 0.1 mm mesh sieve (**Figure 1**). *Melosira* sp. aggregates were diluted into 200 mL of 0.7 μm FSW sampled with a Niskin bottle at 50 m depth (salinity 32.7, T^0 –1.5°C). The mixture was homogenized and divided into four aliquots. The first aliquot was kept for biogeochemical analyses [particulate organic carbon (POC)/nitrogen (PON) and bSiO₂ content] and for taxonomic analysis of phytoplankton. The three other aliquots were distributed into three rolling tanks (4 L) containing *in situ* 0.7 μm FSW. Rolling tanks were stored in the dark in a cold room (4°C) and rotated on a rolling table at 3.3 rpm. This incubation ended up in the formation of a large aggregate (26.8–34 mm, **Figure 1**).

Copepod Sampling and Rearing Phase

Four copepod species (*Euterpina acutifrons*, *Temora longicornis*, *Acartia clausi*, and *Calanus helgolandicus*) were selected for the laboratory experiments on diatom free cells and aggregates (**Tables 1, 2**). They were chosen for their easiness of cultivation, as their presence generally matches phytoplankton spring blooms in the area (Schultes et al., 2013), and because they display different functional traits (Benedetti et al., 2015) regarding feeding strategies and sizes. *A. clausi* (0.9 mm total length) and *C. helgolandicus* (2.7 mm total length) are both omnivorous filter feeders with a clear tendency to herbivory, the latter being able to migrate vertically (Andersen et al., 2001, 2004). *T. longicornis* (0.8 mm total length) and *E. acutifrons* (0.5 mm total length) are described as cruise feeders (Lombard et al., 2013b), *E. acutifrons* having the tendency to feed on detrital matter (Benedetti et al., 2015). Copepods used in the experiments were collected at the Lanveoc sampling site (48°18.00 N, 4°27.360 W) during cruises on-board the oceanographic ship “Albert Lucas” (INSU-CNRS-UBO) from January to April in years 2017 and 2018. Zooplankton were collected with a WP2 plankton net (200 μm mesh size) fitted with a 2 L filtering cod-end during horizontal net tows (speed < 1 m s^{-1} for <10 min) at 3 m depth. After each plankton haul, zooplankton samples were immediately diluted in 30 L of surface seawater, stored in the dark in a cool box, and brought back within few hours to the laboratory. To initiate the rearing phase, a ratio of 1 male per 5 females was assured with at least 100 (for *E. acutifrons*) to 250 (for calanoid copepods) adult females of each species individually sorted under a dissecting microscope. The copepods were placed in polycarbonate beakers of varying volume (from 7 to 20 L according to species size) containing 1 μm FSW. During at least 1 week of acclimation inside the culture room, copepods were kept at 18°C, at 33 salinity, and under 12:12 h day:night photoperiod for about up to 1 month. They were daily fed in excess with a mixture of algae continuously cultured (*Rhodomonas salina*, *Thalassiosira weissflogii*, *Tisochrysis lutea*, and *Tetraselmis suecica*, grown under the same condition as for *S. marinoi* and *C. neogracile*) at concentration exceeding



10^3 – 10^4 cell mL^{-1} (Berggreen et al., 1988; Vincent et al., 2007), thus avoiding predation of calanoid copepods on younger stages (Bonnet et al., 2004; Boersma et al., 2014). Seawater was renewed every other day by adding 10–20% volume of 1 μm FSW and air was supplied *via* small bubbles in each rearing tank. Twenty-four hours prior to the beginning of the experiment, 30 (*C. helgolandicus*) to 100 (*E. acutifrons*) cultured copepods were isolated in 1 L beakers containing 0.2 μm FSW without food. This starving phase allowed gut evacuation and maximized feeding during incubation.

Wild *Calanus hyperboreus* (6.3 mm total length) were collected during the GreenEdge expedition on-board the NGCC Amundsen in July 2016. *C. hyperboreus* displays an omnivorous suspensive feeding behavior (Conover, 1966; Huntley, 1981; Greene, 1988; Darnis et al., 2008, 2012). Collection of zooplankton organisms *via* plankton nets resulted in retrieving high amounts of dead or injured individuals. The exact cause of this mortality could not be inferred and to undertake the grazing experiment, copepods were collected from 24 Niskin bottles (10 L) deployed over the 0–300 m depth at station 615 (70°29.926 N, 59°31.504 W). 240 L of seawater from the Niskin bottles was sieved over a 200 μm mesh sieve partially immersed in seawater to avoid individual stress. Only copepods of the *C. hyperboreus* species were collected. Immediately after sieving, copepods were isolated *via* pipetting in 1 L of 0.7 μm FSW and left for 24 h in the dark to limit stress and allow gut evacuation. On the day of the experiment, only the most active specimens

($N = 18$) were collected using a sieve and added to the 4 L rolling tank containing the large *Melosira* sp. aggregate (Experiment 8).

Grazing Experiments

A set of eight laboratory experiments were carried out and allowed to integrate variable predator to prey size ratios, the latter ranging in size and type from small isolated diatom cell [6–10 μm equivalent spherical diameter (ESD)] up to few centimeters aggregates (Tables 1, 2). For three out of the eight experiments carried out at laboratory (Table 1, Experiments 1–3), isolated diatom cells at exponential growth state were provided as food source at concentration higher than bloom density in the area (2.3 – 5.3×10^5 cell mL^{-1}), i.e., maximum cell concentrations of 10^4 cell mL^{-1} are generally recorded during bloom for *Chaetoceros* sp. and *Skeletonema* sp. (Soudant and Belin, 2018). This high diatom cell concentration was set on purpose to induce diatom collision and provided high likelihood to form aggregates during the course of the incubation. Aggregation of *S. marinoi* was indeed shown to take >40 h at cell density $<10^5$ cell mL^{-1} (Grossart et al., 2006). This high cell concentration was also chosen considering that even though copepod grazing could induce a large decrease in cell density (e.g., up to 50% of the initial stocks over the incubation at food density matching bloom), cell concentration would still remain close enough in controls compare to copepod tanks. The only differences in parameters promoting aggregation between the two tanks being related to copepod presence (i.e., swimming and grazing and possible

TABLE 1 | Initial conditions in incubations using freely suspended diatoms as prey (Experiments 1–3).

Experiment	Diatom species	Copepod species	Number of replicates	Copepod abundance (ind L ⁻¹)	Cell concentration (10 ⁵ cell mL ⁻¹)	POC (μmol C L ⁻¹)	PON (μmol N L ⁻¹)	bSiO ₂ (μmol Si L ⁻¹)	TEP (mg X _{eq} L ⁻¹)	C:N (mol:mol)	Si:C (mol:mol)
1	<i>S. marinoi</i>	<i>E. acutifrons</i>	3	28.2 ± 0.0	5.3 ± 0.8	710 ± 124	45 ± 1	81 ± 2	5.2 ± 0.6	16 ± 3	0.11 ± 0.02
		<i>C. helgolandicus</i>	3	10.9 ± 0.6							
2	<i>S. marinoi</i>	<i>E. acutifrons</i>	3	33.9 ± 1.8	2.4 ± 0.2	414 ± 87	35 ± 0	74 ± 0	4.4 ± 1.7	12 ± 2	0.18 ± 0.04
3	<i>C. neogracile</i>	<i>E. acutifrons</i>	3	35.3 ± 0.0	2.3 ± 0.2	253 ± 11	30 ± 1	70 ± 1	3.5 ± 0.1	9 ± 0	0.28 ± 0.02
		<i>A. clausi</i>	3	14.9 ± 2.3							

Results are means ± SE.

change in mucus production, Malej and Harris, 1993). In the remaining four experiments (Table 2, Experiments 4–7), diatom aggregates were used as exclusive prey type. The incubation was initiated using 10–20 aggregates per roller tank (Guidi et al., 2008). Since the initial aggregate abundance varied during the first hours of the experiment as aggregation/disaggregation processes occurred before reaching an “equilibrium,” the latter was chosen as the time set for estimating copepod effects (T₀). “Copepod tanks” received a known number of reared copepods as detailed in Tables 1, 2. In order to obtain a significant grazing signal, copepod abundance in rolling tanks was set high, i.e., being 2–4 times higher for calanoids and 10 times higher for *E. acutifrons* than those commonly measured *in situ* during the decline of phytoplankton blooms in the North Atlantic Ocean (typically 4 ind L⁻¹ for calanoid copepods such as *T. longicornis*, *A. clausi*, and *C. helgolandicus* and 0.2 ind L⁻¹ for harpacticoida (Schultes et al., 2013). However such high copepod abundances are totally congruent with those recorded over a 3-year survey in the eutrophic system of Long Island (Capriulo et al., 2002) with 30–50 ind L⁻¹ for *T. longicornis* and >35 ind L⁻¹ for *Acartia hudsonica*. These chosen abundance remained also highly comparable to values used in most experimental studies ranging from 8 to >15 ind L⁻¹ (Sautour and Castel, 1993; Vincent and Hartmann, 2001; Sarthou et al., 2008). For all experiments, dead and injured individuals were discarded and living ones were individually pipetted to 1 L rolling tanks containing prey assemblages. Rolling tanks were then filled to the rim with FSW, avoiding air bubbles introduction and placed on the rolling table at 3 rpm. Tank rotation allowed prey homogenization and mimicked continuous settling of aggregates in the water column. Incubation was carried out at 18°C under natural photoperiod regime. Preliminary experiments permitted to set optimal incubation duration between 24 and 48 h (T_f end of incubation) so as to measure adequate growth and grazing rates and limit bottle effects (Roman and Rublee, 1980).

During Experiment 8, the large *Melosira* sp. aggregate (26–34 mm) was incubated with wild copepods (*C. hyperboreus*) by adding 18 living individuals to a 4-L roller tank. The grazing experiment was undertaken at 4°C. *Melosira* sp. aggregates were shown to have strong negative buoyancy under light regime due to bubble formation induced by photosynthesis (Fernández-Méndez et al., 2014). Therefore, to keep aggregates suspended in the rolling tank during the experiment, the incubation with *C. hyperboreus* was undertaken in the dark and during 72 h to follow the temporal dynamic of the fragmentation and potential changes in copepod behavior.

Aggregates Enumeration, Size, and Sinking Velocity

Aggregate morphological characteristics were measured at T₀ and T_f in rolling tanks before aggregate sampling. Image analyses were based on pictures and videos taken using a digital camera (Canon EOS 600D). Video recordings allowed to avoid aggregate manipulation and bias due to sampling. Aggregates were enumerated in each tank using image of the whole tank. Diameter (*d*, mm) and height (*h*, mm) of each aggregate (with *d* > *h*) were

TABLE 2 | Initial conditions in incubations using aggregates as prey (Experiments 4–8).

Experiment	Diatom species	Copepod species	Number of replicates	Copepod abundance (ind L ⁻¹)	POC (μmol C L ⁻¹)	PON (μmol N L ⁻¹)	bSiO ₂ (μmol Si L ⁻¹)	C:N (mol:mol)	Si:C (mol:mol)
4	<i>C. neogracile</i>	Control	4	–	64 ± 2	8.5 ± 0.2	2.6 ± 0.1	7.6 ± 0.2	0.04 ± 0.00
		<i>E. acutifrons</i>	4	34.3 ± 1.5					
5	<i>C. neogracile</i>	Control	4	–	na	na	na	na	na
		<i>A. Clausi</i>	4	16.6 ± 1.0					
6	<i>S. marinoi</i>	Control	4	–	128 ± 7	18 ± 1	13 ± 1	7 ± 0	0.10 ± 0.01
		<i>T. longicornis</i>	5	12.4 ± 2.0					
7	<i>S. marinoi</i>	Control	3	–	32 ± 2	2.8 ± 0.1	1.7 ± 0.1	11.5 ± 0.4	0.05 ± 0.01
		<i>E. acutifrons</i>	3	33.9 ± 1.8					
		<i>C. helgolandicus</i>	3	11.3 ± 0.6					
8	<i>Melosira</i> sp.	Control	2	–	33 ± 0	2.0 ± 0.1	2.8 ± 0.4	16.5 ± 0.6	0.08 ± 0.01
		<i>C. hyperboreus</i>	1	4.5					

Results are means ± SE; na stands for data not available.

derived from the pictures and estimated using an image system analysis software (Inkscape®) calibrated with the rolling tank characteristics (e.g., front diameter, back diameter, and width), measurement precision was 0.3 mm. A minimum of six images was used for each tank, all aggregates were individually measured on each picture unless aggregate concentration was >20 agg L⁻¹. In this case a minimum of 20 aggregates were analyzed in each picture (aggregate volume and ESD computations are presented in Table 3).

Aggregate sinking velocities (U_{agg} , m d⁻¹) were measured directly in the tank, using the method of Ploug et al. (2010). Sinking velocities of all aggregates were directly measured in the rolling tanks having aggregate concentrations <20 agg L⁻¹. In the tank where aggregate concentrations were higher, a minimum of 20 sinking velocities were independently measured. At steady state, aggregates follow a circular trajectory. For each aggregate, the rotation center of the aggregate was located using small video recordings and the software Inkscape®. Sinking velocities were deduced from the rotation of the tank and from the distance between the rotation center of the aggregate and the center of the tank, using Eq. 1.

$$U_{agg} = \frac{X_a}{T} \times 2\pi \quad (1)$$

where T is the tank rotation period (in d), and X_a the distance between the rotation center of the aggregate and the center of the tank (in m). As such, the error linked to sinking velocity computations is directly related to the minimum X_a measurable (0.3 mm) using image analysis, and the associated uncertainty is 0.7 m d⁻¹. Diatom aggregates are fractal particles, their sinking velocities increase with size according to a power law curve defined in Eq. 2 (Alldredge and Gotschalk, 1988; Iversen et al., 2010). The relation between sinking velocity (U_{agg}) and aggregate size (ESD) was computed for *S. marinoi* and *C. neogracile* aggregates, using a non-linear relation function nls() function; R software® (R Core Team, 2017).

$$U_{agg} = A(\text{ESD})^B \quad (2)$$

where A and B are the unidimensional parameters of the regression.

Final Sampling (T_f)

Aggregates were carefully removed from the rolling tank using a large aperture plastic pipette (10 mL) and isolated inside 50 mL falcon tubes containing FSW (one to four tubes were used depending on the amount of material). After being homogenized by vigorous shaking, subsamples were taken for chemical analyses. Once aggregates were removed, copepods were carefully retrieved from each rolling tank by sieving seawater through an immersed 200 μm mesh sieve. For Experiments 1–3 and 8, copepods were sorted and preserved in formalin solution (4% final concentration) for stage analyses and size estimations (length and width of the prosome and urosome). For Experiments 4–7, copepods were placed in 2 mL cryotubes (one per tank), flash frozen in liquid nitrogen in order to estimate aggregate ingestion via the gut content fluorescence method of Mackas and Bohrer (1976). Size measurements were made concurrently from 75 *A. clausi*, 79 *C. helgolandicus*, 100 *T. longicornis*, and 173 *E. acutifrons*, randomly sieved from the copepod culture over a 200 μm mesh sieve and preserved in formalin. Copepod size measurements were performed under a dissecting microscope and measurement precision was 10 μm.

Calanus helgolandicus fecal pellets from Experiments 1 (free cells) and 7 (aggregate) were recovered after the 24 h incubation by filtering the remaining seawater of each rolling tank onto a 40 μm mesh sieve. Fecal pellets retained on the mesh sieve were resuspended in FSW in a plankton counting chamber (Dolfuss cuvette, 6 mL volume), pipetted, and pooled into a 50 mL falcon tubes for size measurements and counting (see below).

Chemical Analyses

Biogenic Silica (bSiO₂)

Ten milliliters of the free cells or aggregate suspension were filtered through 0.4 μm polycarbonate filters (Millipore). For fecal pellet measurements, 100–200 fecal pellets of

TABLE 3 | Equations used to calculate volume (μm^3 and mm^3) and equivalent spherical diameter (ESD; μm and mm) for aggregates, fecal pellets, and copepods.

Description	Shape	Equation	Parameters	References
Aggregate volume (V_{agg} , μm^3)	Prolate spheroid shape	$V_{\text{agg}} = \frac{\pi}{6} \times d^2 \times h$	d = Aggregate diameter (μm) h = Aggregate height (μm)	Hillebrand et al., 1999
Fecal pellet volume (V_{PF} , μm^3)	Cylinder with two half spheres	$V_{\text{PF}} = \pi \times d^2 \times \left(\frac{L}{4} + \frac{d}{6}\right)$	L = Fecal pellet length (μm) d = Fecal pellet diameter (μm)	Hillebrand et al., 1999
Aggregate and fecal pellet equivalent spherical diameter (ESD, μm)		$\text{ESD} = \sqrt[3]{\frac{6 \times V}{\pi}}$		Hillebrand et al., 1999
<i>T. longicornis</i> volume (V_{cop} , μm^3)	Prolate spheroid shape (total volume)	$V_{\text{cop}} = \frac{4}{3} \times \pi \eta^2 \times \left(\frac{a}{2}\right)^3$	a = Prosome length (μm) η = Aspect ratio derived	Conway, 2006; Jiang and Kiorboe, 2011b
<i>A. clausi</i> , <i>C. helgolandicus</i> , and <i>C. hyperboreus</i> volume (V_{cop} , μm^3)	Ellipsoid shape (Prosome)	$V_{\text{p}} = \frac{\pi}{6} \times a \times b \times c$	a = Prosome length (μm) b = Prosome width (μm) c = Prosome height (μm)	Hillebrand et al., 1999
	Cylindrical shape (Urosome)	$V_{\text{u}} = r^2 \times \pi \times l$	l = Urosome length (μm) r = Urosome diameter (μm)	Hillebrand et al., 1999
<i>E. acutifrons</i> volume (V_{cop} , μm^3)	Body shape-dependent conversion factors C	$V_{\text{cop}} = V_{\text{p}} + V_{\text{u}}$ $V_{\text{cop}} = L \times W^2 \times C$	L = Total body length (μm) W = Total body width (μm) C = 485 for fusiform harpacticoid copepods	Warwick and Gee, 1984; Veit-Köhler, 2005
Copepod equivalent spherical diameter (ESD, μm)		$\text{ESD}_{\text{cop}} = \left(\frac{V_{\text{cop}}}{0.5233}\right)^{1/3}$		Hansen et al., 1994

C. helgolandicus were directly placed on the filter. All filters were individually placed in petri dishes and dried at 55°C for 24 h. They were then kept at room temperature until bSiO₂ analysis following Moriceau et al. (2007). Briefly, filters were digested in 8 mL of sodium hydroxide (NaOH 0.2 M) during 4 h at 90°C under constant agitation. Digestion was stopped by cooling the solution to 4°C and neutralized with 2 mL of chloride acid (HCl 1 M). Digestates containing the dissolved silica (dSi) were analyzed using an AutoAnalyzer (Bran and Luebbe Technicon Autoanalyzer 0.1% precision).

Particulate Organic Carbon and Nitrogen

Ten milliliters of the free cell or aggregate suspensions were filtered through pre-combusted (4 h 450°C) glass fiber filters (Whatman GF/F). For fecal pellets measurements, 100–200 fecal pellets of *C. helgolandicus* were directly placed on the filter. All filters were then rinsed with 10 mL of FSW. The filters were placed inside aluminum foil, dried at 55°C for 24 h, and analyzed for elemental C and N using a Carlo Erba NA-1500 elemental analyzer (Aminot and Kérouel, 2004).

Transparent Exopolymeric Particles

Transparent exopolymeric particles were measured following the method of Passow and Alldredge (1995a) for Experiments 1–3. Sub-samples of 10 mL were pipetted from the cell suspension, and filtered onto $0.4 \mu\text{m}$ polycarbonate filters (Whatman) under low vacuum pressure ($<60 \text{ mm Hg}$) in order to prevent TEP forcing through the filter pores. Filters were stained with 0.5 mL of Alcian blue solution for 2 s (0.02% in aqueous solution, 0.06% acetic acid, pH 2.5, filtered through $0.2 \mu\text{m}$ before use) and kept frozen (-20°C) until analysis. Filters were then soaked for 2 h

in 6 mL of 80% H₂SO₄ solution under constant agitation. The absorption of the obtained solution was measured at 787 nm (spectrophotometer prim'Light SECOMAM) in a 1 cm cuvette and was converted into mg of Gum Xanthan equivalent per liter ($\text{mg X}_{\text{eq}} \text{L}^{-1}$) using a calibration curve valid for our working solution of Alcian blue and made onto $0.2 \mu\text{m}$ polycarbonate filters. TEP concentrations were expressed in $\text{g X}_{\text{eq}} \text{L}^{-1}$ and $\text{ng X}_{\text{eq}} \text{cell}^{-1}$, the latter taking into account the growth of the cells during the incubation. TEP production ($\text{ng X}_{\text{eq}} \text{cell}^{-1} \text{d}^{-1}$) was calculated from the difference between TEP concentrations over the course of the incubation normalized by cell concentration at T_{init} and T_{f} .

Copepod ESD Computation

Copepod ESD was computed for each species from copepod volumes using shapes and equations from the literature (Table 3).

Specific Growth Rate and Grazing Parameters

Phytoplankton growth rates (k , d^{-1}), copepod grazing rates (g , d^{-1}), clearance rates (F , $\text{mL ind}^{-1} \text{d}^{-1}$), and ingestion rates were calculated from cell counts in Experiments 1–3 according to Frost (1972). At the beginning (T_{init}) and the end of incubation (T_{f}), 5 mL sub-samples of seawater from each tank were pipetted and preserved in acid Lugol solution (2% final concentration). Phytoplankton cell concentration was estimated using a Malassez cell counting chamber. Depending on cell density in the roller tanks, 3–12 sub-samples were counted corresponding to the enumeration of 120–300 cells per sample. When cell concentrations at T_{f}

were not significantly different between controls and copepod tanks, grazing was considered under the detection limit (i.e., <dl in **Table 4**). Ingestion rates were converted to ng Chl a ind⁻¹ d⁻¹ using a literature-based mean value of 0.10 pg Chl a cell⁻¹ for *S. marinoi* (Norici et al., 2011; Chandrasekaran et al., 2014; Orefice et al., 2016; Smerilli et al., 2019) and 0.35 pg Chl a cell⁻¹ for *C. neogracile* (unpublished data from González-Fernández et al., 2019).

Copepod Gut Content

For gut content analyses (Experiments 4–7), copepods were individually sorted from freshly thawed samples under a cool light stereomicroscope. Individuals were rinsed with 0.2 μm FSW to eliminate phytoplankton cells and aggregates stuck to feeding appendages, and were then transferred into 4 mL acetone (90%). Individuals ($N = 6$ –27 copepods per replicate) were grinded and chlorophyllian pigments (Chlorophyll a and pheopigments) were extracted in the dark at 4°C overnight. Fluorescence of the extract was measured before and after acidification with 10% HCl (Parsons et al., 1984) using a Fluorometer (Turner design). Copepod gut content (G_{cop} , ng Chl a_{eq} ind⁻¹) was obtained by addition of Chlorophyll a and pheopigments concentrations and values were not corrected for pigment degradation on the recommendation of Durbin and Campbell (2007). Ingestion rates (ng Chl a_{eq} ind⁻¹ h⁻¹) were derived from gut content (G_{cop}) using Eq. 3:

$$I = 60 \times G_{cop} \times k \quad (3)$$

where k is the gut evacuation rate (min⁻¹), computed following the model of Dam and Peterson (1988) which accounts for the temperature of incubation.

Fecal Pellet Production, Size, and Sinking Velocities

Fecal pellets production (FP ind⁻¹ d⁻¹) was estimated in experiments with *C. helgolandicus* (Experiments 1–7). Up to six sub-samples of the total fecal pellet suspension were counted. Each fecal pellet was measured (length and width in μm) with 10 μm precision (see **Table 3** for shape and volume computations).

Fecal pellet sinking velocities (U_{FP} , m d⁻¹) follow Stokes' law and were computed following Eq. 4 (Komar et al., 1981).

$$U_{FP} = 0.0790 \times \frac{1}{\mu} \times (\rho_{SW} - \rho_{PF}) \times g \times L^2 \left(\frac{L}{d}\right)^{-1.604} \quad (4)$$

where μ is the kinetic viscosity of seawater (0.0123 g cm⁻¹ s⁻¹), ρ_{SW} and ρ_{PF} are the density of seawater (1.071 g cm⁻³ at 18°C) and of *C. helgolandicus* fecal pellets (1.26 g cm⁻³; Cole et al., 2016), respectively, L and d the fecal pellet length (cm) and width (cm), respectively, and g is the acceleration due to gravity (981 cm s⁻²).

Statistical Analyses

Results are expressed in mean ± standard error (SE), or ±cumulative error when manipulations or analysis involved error propagation (e.g., aggregates abundances, TEP production, Si:C ratios, and C:N ratios). Statistics were performed using Sigmaplot® 14.0 software. As data distribution matched the parametric assumption of normality (using Shapiro–Wilk test, $p < 0.05$), the effects of copepod grazing on the mean size, aggregate abundance, and stoichiometric ratios during the incubation were tested by one-way ANOVA. Tukey's *post hoc* tests were used to determine specific copepod influence on measured parameters. Covariance between ESD and sinking velocity was analyzed on logarithmic transformed data using an ANCOVA. Linear correlation between two variables was analyzed using Pearson correlation test under assumption of normality, and using Spearman rank correlation test when otherwise.

RESULTS

First Set of Experiments: Effects of Copepod Grazing/Swimming on Diatom Aggregation

Copepod Ingestion Rates

During the incubations, copepods actively grazed on *S. marinoi* (Experiments 1 and 2) but no grazing was measurable on *C. neogracile* (Experiment 3), i.e., phytoplankton growth exceeded grazing rates as evidenced by similar cell abundance

TABLE 4 | Final cell concentration (10⁵ cell mL⁻¹) and copepod clearance (mL ind⁻¹ d⁻¹) and ingestion rates (ng Chl a ind⁻¹ d⁻¹) for Experiments 1–3.

Experiment	Diatom species	Copepod species	Final cell concentration (10 ⁵ cell mL ⁻¹)	Clearance rate (mL ind ⁻¹ d ⁻¹)	Ingestion rate (ng Chl a ind ⁻¹ d ⁻¹)
1	<i>S. marinoi</i>	Control	5.8 ± 0.8	–	–
		<i>E. acutifrons</i>	5.9 ± 1.0	3 ± 3	157 ± 155
		<i>C. helgolandicus</i>	4.4 ± 0.3	24 ± 6	1159 ± 248
2	<i>S. marinoi</i>	Control	3.6 ± 0.1	–	–
		<i>E. acutifrons</i>	2.63 ± 0.03	9.6 ± 0.3	225 ± 6
3	<i>C. neogracile</i>	Control	2.8 ± 0.2	–	–
		<i>E. acutifrons</i>	3.0 ± 0.1	<dl	<dl
		<i>A. clausi</i>	3.07 ± 0.04	<dl	<dl

Results are means ± SE; <dl, under the detection limit.

in controls and copepod tanks at T_f (Table 4). *E. acutifrons* ingestion rates ranged from 157 ± 155 to 225 ± 6 ng Chl a $\text{ind}^{-1} \text{d}^{-1}$ (Table 4). *C. helgolandicus* ingestion rates were five to eight times higher, reaching 1159 ± 248 ng Chl a $\text{ind}^{-1} \text{d}^{-1}$ (Table 4). During the incubation with *S. marinoi*, *C. helgolandicus* egestion averaged 64 ± 55 fecal pellets $\text{ind}^{-1} \text{d}^{-1}$ (Experiment 1). Their average ESD was 173 ± 24 μm , with a carbon content of 30 ± 7 nmol C PF^{-1} and a sinking velocity of 122 ± 32 m d^{-1} . The majority of fecal pellets recovered at the end of the incubation were intact.

Aggregation of Free Diatom Cells

Sizes and sinking velocities of the *S. marinoi* aggregates formed in the presence of *E. acutifrons* and *C. helgolandicus* were not significantly different from the controls with respective mean values of 1.6 ± 0.0 mm ESD and 230 ± 1 m d^{-1} (Table 5 and Figure 2A). At lower cell density, *S. marinoi* formed less but bigger aggregates than during Experiment 1, with a mean ESD of 3.1 ± 0.6 mm (Table 5 and Figure 2C) and an average sinking velocity of 320 ± 10 m d^{-1} (Table 5). However, mean aggregate abundance was significantly higher (p -value < 0.05) in Experiment 1 in the presence of *E. acutifrons* (288 ± 80 agg L^{-1}) compared to controls (145 ± 25 agg L^{-1}) and *C. helgolandicus* (113 ± 35 agg L^{-1}) (Table 5 and Figure 2B). At lower initial cell concentration (Experiment 2), aggregate abundance was also slightly higher (but not significantly) in *E. acutifrons* tanks, with a mean of 60 ± 9 agg L^{-1} compared to 46 ± 9 agg L^{-1} in controls (Table 5 and Figure 2D). A non-significant but systematic increase in the TEP concentration or production by *S. marinoi* was measured in the presence of *E. acutifrons* and *C. helgolandicus* (Table 5). Concerning Experiment 3 with *C. neogracile*, aggregates were formed in two out of the six copepod tanks (Table 5). In the rolling tanks containing *A. clausi* (Experiment 3), TEP production was significantly higher than in controls (4 ± 2 versus 10 ± 3 $\text{pg X}_{\text{eq}} \text{cell}^{-1} \text{d}^{-1}$, $p = 0.045$). *C. neogracile* formed larger aggregates than *S. marinoi* with average ESD of 4.5 ± 0.5 and 4.3 ± 1.5 mm in the presence of *E. acutifrons* and *A. clausi*, respectively. In this experiment, *C. neogracile* aggregates were too numerous and had too low contrast in pictures and videos to measure their sinking velocity, probably due to their low cell content. Indeed, the percentage of aggregated cells was only $0.3 \pm 0.3\%$ (Table 5).

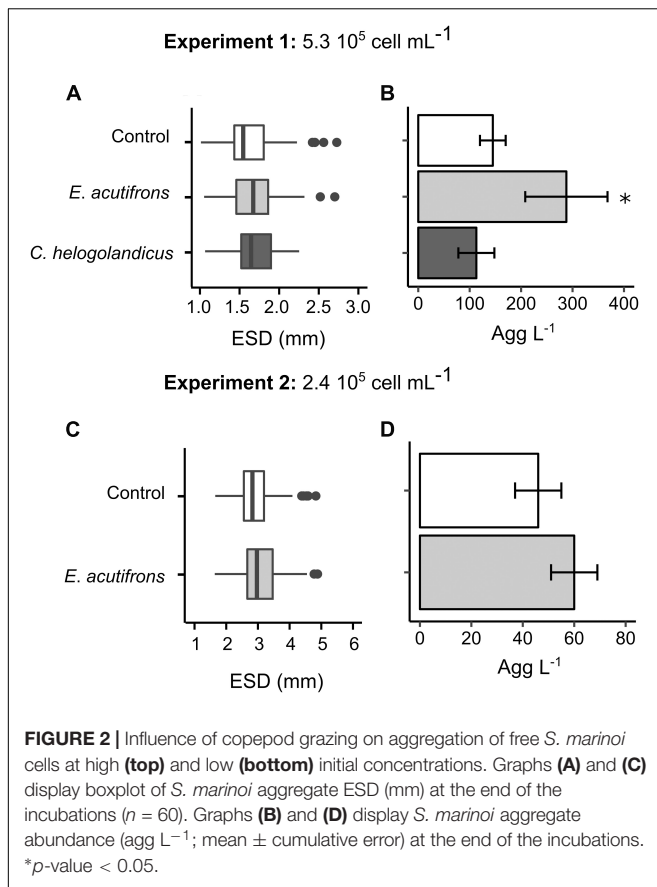
Elemental Cell Composition

Si:C ratios of *S. marinoi* significantly increased from 0.14 ± 0.04 to 0.21 ± 0.04 ($p = 0.018$) in the presence of *E. acutifrons* (Experiment 1), whereas *C. helgolandicus* grazing did not influence Si:C nor C:N ratios (Experiment 1). In general *S. marinoi* C:N ratios decreased similarly in all rolling tanks ($p < 0.05$), except for Experiment 1 where *E. acutifrons* grazing led to a stronger decrease of *S. marinoi* C:N ratio. *C. neogracile* elementary ratios were not modified during incubation in the presence or absence of copepods (controls), as shown by the marked stability in mean values of Si:C and C:N ratios (Table 5).

TABLE 5 | Final conditions in incubations (Experiments 1–3) using free diatom cells as prey.

Experiment	Diatom species	Copepod species	Aggregate abundance (agg L^{-1})	ESD (mm)	Sinking velocity (m d^{-1})	Aggregated cells (% of total cells)	Final TEP concentration ($\text{mg X}_{\text{eq}} \text{L}^{-1}$)	TEP production ($\text{pg X}_{\text{eq}} \text{cell}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Final C:N (mol:mol)	Final Si:C (mol:mol)
1	<i>S. marinoi</i>	Control	145 ± 25	1.6 ± 0.1	230 ± 65	29 ± 12	5.9 ± 0.8	1 ± 2	10.2 ± 2.4	0.14 ± 0.04
		<i>E. acutifrons</i>	$288 \pm 80^*$	1.6 ± 0.0	228 ± 54	39 ± 6	6.7 ± 0.6	3 ± 1	6.4 ± 0.6	$0.21 \pm 0.04^*$
		<i>C. helgolandicus</i>	113 ± 35	1.6 ± 0.1	232 ± 64	29	6.4 ± 0.9	2 ± 2	8.0 ± 2.5	0.16 ± 0.06
2	<i>S. marinoi</i>	Control	46 ± 9	3.0 ± 0.3	310 ± 16	32 ± 10	5.1 ± 0.5	2 ± 2	8.6 ± 0.3	0.21 ± 0.01
		<i>E. acutifrons</i>	60 ± 9	3.1 ± 0.2	330 ± 12	13 ± 2	6.0 ± 0.5	7 ± 2	7.7 ± 0.4	0.19 ± 0.02
3	<i>C. neogracile</i>	Control	No agg.	No agg.	No agg.	0	4.4 ± 0.7	4 ± 2	7.8 ± 0.7	0.26 ± 0.05
		<i>E. acutifrons</i>	47 ± 47	4.5 ± 0.5	<dl	23 ± 23	5.7 ± 1.3	9 ± 5	10.1 ± 1.2	0.21 ± 0.03
		<i>A. clausi</i>	2 ± 2	4.3 ± 1.5	<dl	0.3 ± 0.3	$6.2 \pm 0.9^*$	$10 \pm 3^*$	7.5 ± 0.8	0.26 ± 0.03

Results are means \pm SE, except for aggregate abundance, TEP production, and C:N and Si:C ratios where means \pm cumulative error are indicated. * p -value < 0.05 ; <dl, under the detection limit; No agg., no aggregation.



Second Set of Experiments: Effects of Copepod Grazing/Swimming on Aggregate Dynamics

Copepod Grazing on *C. neogracile* Aggregates

Chaetoceros neogracile aggregates were grazed by both *E. acutifrons* and *A. clausi* as proven by copepod mean gut contents values reaching 0.08 ± 0.03 and 0.12 ± 0.04 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ for *E. acutifrons* and *A. clausi*, respectively (Table 6). Derived ingestion rates ranged from 4 ± 1 to 6 ± 2 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ d⁻¹ for *E. acutifrons* and *A. clausi*, respectively (Table 6).

C. neogracile Aggregate Distribution and Sinking Velocity

In Experiment 4, no significant changes in *C. neogracile* aggregate abundance, ESD, and sinking velocity were observed in the presence of *E. acutifrons* (Table 7 and Figures 3A,B). During Experiment 5, re-aggregation was observed in all rolling tanks causing a shift in aggregate abundance (from 18 ± 6 to 3 ± 1 agg L⁻¹ in controls and from 15 ± 3 to 1.7 ± 0.6 agg L⁻¹ with *A. clausi*), size (from 1.8 ± 0.1 to 5 ± 1 mm in controls and from 1.9 ± 0.1 to 5 ± 1 mm with *A. clausi*), and sinking velocity (from 141 ± 27 to 439 ± 153 m d⁻¹ in controls and from 145 ± 26 to 501 ± 106 m d⁻¹ with *A. clausi*), between T_0 and T_f (Table 7 and Figures 3C,D). This pattern was similar in copepod

TABLE 6 | Copepod gut contents (ng Chl a_{eq} ind⁻¹) and ingestion rates (ng Chl a_{eq} ind⁻¹ d⁻¹) while grazing on aggregates (Experiments 4–7).

Experiment	Diatom species	Copepod species	Gut content (ng Chl a_{eq} ind ⁻¹)	Ingestion rate (ng Chl a_{eq} ind ⁻¹ d ⁻¹)
4	<i>C. neogracile</i>	<i>E. acutifrons</i>	0.08 ± 0.03	4 ± 1
5	<i>C. neogracile</i>	<i>A. clausi</i>	0.12 ± 0.04	6 ± 2
6	<i>S. marinoi</i>	<i>T. longicornis</i>	0.5 ± 0.3	23 ± 14
7	<i>S. marinoi</i>	<i>E. acutifrons</i>	0.05 ± 0.02	2.6 ± 0.9
		<i>C. helgolandicus</i>	0.3 ± 0.2	14 ± 9

Results are means \pm SE.

and control tanks suggesting that grazing by *A. clausi* had no influence on aggregation dynamics (Table 7 and Figures 3C,D).

Elemental Composition of the *C. neogracile* Aggregates

Euterpina acutifrons grazing on *C. neogracile* aggregates did not influence the particulate organic matter elemental composition and mean values remained stable, with final C:N ratios of 7.9 ± 0.3 , and final Si:C ratios of 0.04 ± 0.02 (Table 7). Due to technical problems, no data were available for Experiment 5.

Copepod Grazing on *S. marinoi* Aggregates

All copepods studied fed on *S. marinoi* aggregates (Experiments 6 and 7). This resulted in mean gut content values of 0.5 ± 0.3 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ for *T. longicornis* and 0.3 ± 0.2 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ for *C. helgolandicus*. The smallest copepod *E. acutifrons* exhibited the lowest values with an average of 0.05 ± 0.02 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ (Table 6). Derived ingestion rates reached 23 ± 14 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ d⁻¹ for *T. longicornis*, 14 ± 9 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ d⁻¹ for *C. helgolandicus*, and 2.6 ± 0.9 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ d⁻¹ for *E. acutifrons* (Table 6).

Calanus helgolandicus fecal pellets collected were intact, and fecal pellet mean production rate was 25 ± 3 FP ind⁻¹ d⁻¹, which is a twofold lower value than what was observed when grazing on free *S. marinoi* (Experiment 1). Fecal pellets produced were smaller when aggregates were the only prey, averaging 145 ± 25 μ m in ESD. Corresponding carbon content (33 ± 7 nmol C PF⁻¹) and sinking velocity (97 ± 31 m d⁻¹) were also lower.

S. marinoi Aggregates Distribution and Sinking Velocity

The presence of *T. longicornis* induced a fragmentation of aggregates evidenced by a significant increase in aggregate abundance (from 3 ± 1 to 14 ± 8 agg L⁻¹; $p = 0.039$) and a significant decrease in their mean ESD (from 9 ± 3 to 4.1 ± 0.7 mm; $p = 0.013$). As a consequence, corresponding sinking velocities were twofold higher in controls at T_f compared to copepod tanks (Table 7 and Figures 4A,B). During Experiment 7, re-aggregation processes were observed in all incubations suggesting no influence of copepod presence (Table 7 and Figures 4C–E).

TABLE 7 | Initial and final aggregate abundances (agg L⁻¹), ESD (mm), and associated sinking velocities (m d⁻¹) in incubations using aggregates as copepod prey (Experiments 4–8).

Experiment	Diatom species	Copepod species	Initial aggregate abundance (agg L ⁻¹)	Final aggregate abundance (agg L ⁻¹)	Initial ESD (mm)	Final ESD (mm)	Initial sinking velocity (m d ⁻¹)	Final sinking velocity (m d ⁻¹)	Final C:N (mol:mol)	Final Si:C (mol:mol)
4	<i>C. neogracile</i>	Control	3 ± 1	1.8 ± 0.9	7 ± 2	9 ± 2	265 ± 105	384 ± 78	7.9 ± 0.2	0.04 ± 0.02
		<i>E. acutifrons</i>	6 ± 1	4 ± 2	4.5 ± 0.4	10 ± 5	191 ± 28	423 ± 199	8 ± 0.2	0.04 ± 0.02
5	<i>C. neogracile</i>	Control	18 ± 6	3 ± 1	1.8 ± 0.1	5 ± 1	141 ± 27	439 ± 153	NA	NA
		<i>A. clausi</i>	15 ± 3	1.7 ± 0.6	1.9 ± 0.1	5 ± 1	145 ± 26	501 ± 106	NA	NA
6	<i>S. marinoi</i>	Control	3 ± 2	4 ± 3	13 ± 7	10 ± 4	967 ± 755	809 ± 378	6.8 ± 0.1	0.12 ± 0.05
		<i>T. longicornis</i>	3 ± 1	14 ± 8*	9 ± 3	4.1 ± 0.7*	840 ± 505	367 ± 70	6.8 ± 0.2	0.14 ± 0.08
7	<i>S. marinoi</i>	Control	7 ± 1	1.9 ± 0.6	2.00 ± 0.02	4 ± 1	401 ± 30	457 ± 179	7 ± 2	0.10 ± 0.06
		<i>E. acutifrons</i>	6 ± 2	2.4 ± 0.8	2.3 ± 0.1	4.2 ± 0.7	474 ± 7	482 ± 131	4 ± 2	0.2 ± 0.1
8	<i>Melosira</i> sp.	<i>C. helgolandicus</i>	11 ± 4	1.4 ± 0.4	1.9 ± 0.1	4.5 ± 0.7	382 ± 15	498 ± 143	6 ± 1	0.18 ± 0.06
		Control	0.25	0.3 ± 0	26.75 ± 0.05	30 ± 4	1540 ± 70	1633 ± 422	11 ± 2	0.18 ± 0.03
		<i>C. hyperboreus</i>	0.25	13 ± 1	34	10 ± 4	1779	740 ± 351	10 ± 1	0.14 ± 0.03

Results are means ± SE, except for C:N and Si:C ratios where means ± cumulative error are indicated. * *p*-value < 0.05.

Elemental Composition of *S. marinoi* Aggregates

We did not observe any significant variation of Si:C and C:N ratios over time and between tanks. Ratios remained stable reaching respective mean ratios of 0.13 ± 0.07 and 6.8 ± 0.2 for Si:C and C:N, respectively, in Experiment 6 and mean ratios of 0.14 ± 0.11 and 6 ± 3 for Si:C and C:N, respectively, in Experiment 7 (Table 7).

In situ Experiment: Effects of *C. hyperboreus* Grazing/Swimming on *Melosira* sp. Aggregate Characteristics and Elemental Composition

The *Melosira* sp. aggregates formed at T_{init} were stable in size and sinking rates over the 72 h incubation in controls (Table 7). By contrast, after 24 h incubation with *C. hyperboreus* the fragmentation of this large aggregate into seven smaller ones (1.75 agg L^{-1}) of $14.3 \pm 7.0 \text{ mm ESD}$ and associated mean sinking velocity of $1017 \pm 257 \text{ m d}^{-1}$ was evidenced. Fragmentation processes were ongoing over time and after 48 h resulted in an aggregate abundance of 4.8 agg L^{-1} (with respective ESD of $9.8 \pm 2.7 \text{ mm}$ and average sinking velocity of $740 \pm 351 \text{ m d}^{-1}$, Table 7 and Figure 5). After 72 h, incubation with copepods resulted in 50 ± 12 aggregates ($12.5 \pm 1.2 \text{ agg L}^{-1}$). Due to the huge amount of small particles and the low quality of the video recordings, size and sinking velocities measurements could not be done at 72 h.

While it was not possible to measure ingestion, analyses of videos showed active interactions between copepods and aggregates. Copepods were ripping aggregates or swimming through aggregates. We observed a switch in *C. hyperboreus* swimming behavior between T_0 and T_f . In fact, during the first hours of incubation while only one large aggregate was present, copepods were passively swept within the rolling tank rotation and only exhibited few jumps. After 48 h of incubation, copepods were more active and we observed several jumps, and changes in swimming trajectories to avoid collision with aggregates (Figure 6 and Supplementary Videos S2, S3).

When *C. hyperboreus* were incubated during 72 h with *Melosira* sp. aggregates, we did not observe any changes in Si:C and C:N ratios, compared to the controls and mean values were 0.16 ± 0.02 and 11 ± 1 , respectively (Table 7).

DISCUSSION

Methodological Considerations

The main purpose of this study was to investigate the influence of copepod grazing/swimming on aggregate formation and dynamics. Aggregate formation depends on coagulation processes regulated by particle stickiness and collision rate inside the tank, the latter being directly linked to particle concentration (Jackson, 1990, 2015; Riebesell, 1991). Our experimental set up allowed to study if copepod activity favored or prevented aggregate formation, independently from particle concentration variations due to grazing and swimming. Despite the high cell concentrations needed to promote aggregation in 24 h, grazing

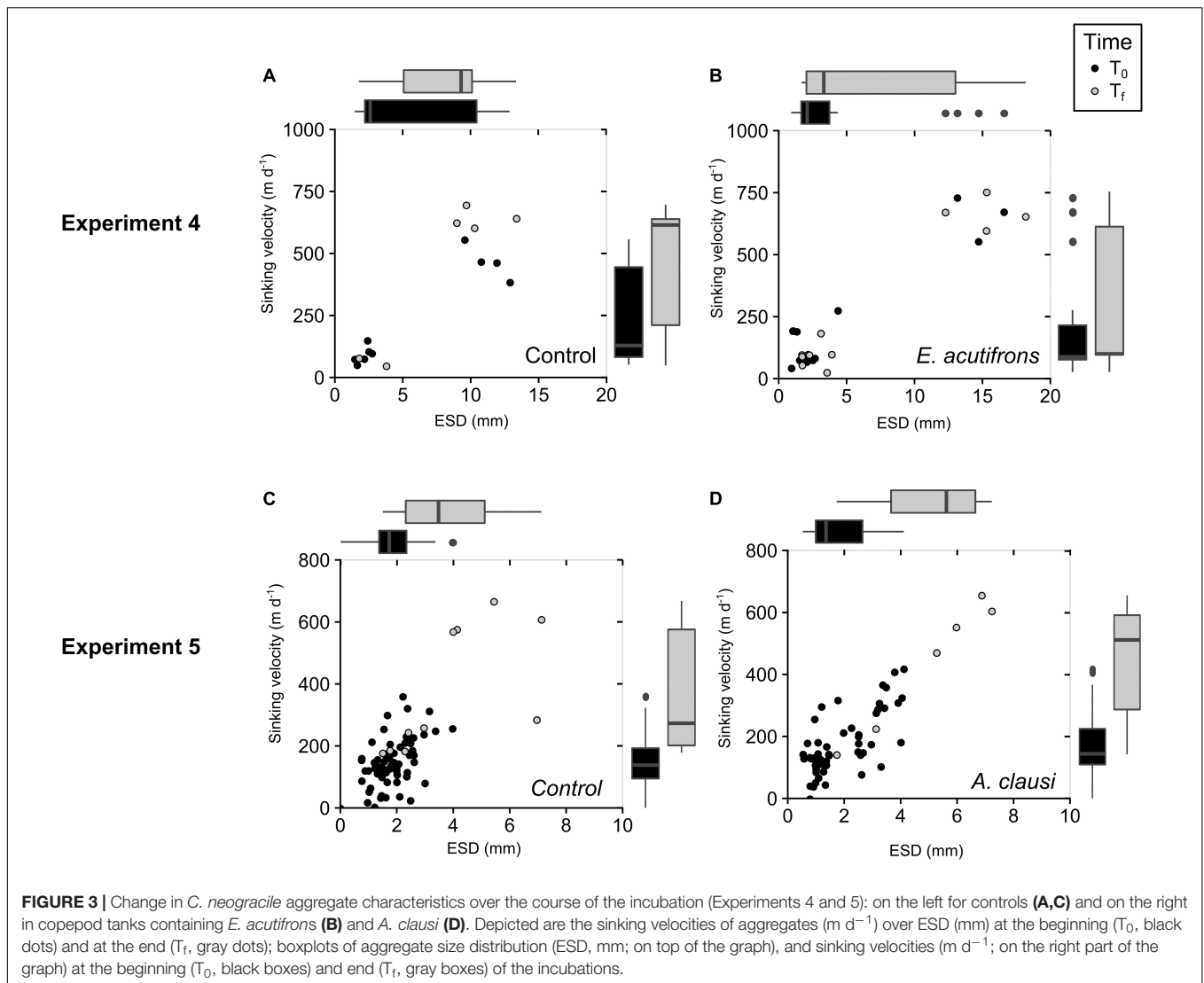


FIGURE 3 | Change in *C. neogracile* aggregate characteristics over the course of the incubation (Experiments 4 and 5): on the left for controls (A,C) and on the right in copepod tanks containing *E. acutifrons* (B) and *A. clausi* (D). Depicted are the sinking velocities of aggregates (m d^{-1}) over ESD (mm) at the beginning (T_0 , black dots) and at the end (T_f , gray dots); boxplots of aggregate size distribution (ESD, mm; on top of the graph), and sinking velocities (m d^{-1} ; on the right part of the graph) at the beginning (T_0 , black boxes) and end (T_f , gray boxes) of the incubations.

activity was still measurable in all experiments except Experiment 3. Clearance rates of $3\text{--}9.6 \text{ mL ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ for *E. acutifrons* and of $24 \pm 6 \text{ mL ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ for *C. helgolandicus* were congruent with literature values for the same species, e.g., from 2.8 to $31 \text{ mL ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ for *E. acutifrons* (Sautour and Castel, 1993; de Melo Júnior et al., 2013), and from 36 to $126 \text{ mL ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ for *C. helgolandicus* (Fileman et al., 2007). The same holds for ingestion rates, our values for *E. acutifrons* are highly comparable with values recorded during laboratory experiments ($157\text{--}225 \text{ ng Chl a ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$, this study vs. $360\text{--}408 \text{ ng Chl a ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$ in Sautour and Castel, 1993). By contrast, *C. helgolandicus* exhibited ingestion rates twofold higher ($1159 \pm 248 \text{ ng Chl a ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$) than the value found in Irigoien et al. (2000) ($600 \text{ ng Chl a ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$) and rates commonly range between 30 and $300 \text{ ng Chl a ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$, depending on food concentration (Mauchline, 1998; Fileman et al., 2007). In our study, this discrepancy could be explained by the combined effects of high prey concentration, the absence of stress due to predation, and the 24 h starvation phase prior to the beginning of the experiment, all these factors

being acknowledged to maximize ingestion (Bollens and Frost, 1989a,b, 1991; Bollens and Stearns, 1992; Mauchline, 1998).

In the second set of experiments (Experiments 4–7), it was impossible to use the Frost (1972) method to compute grazing rates. Firstly because aggregates are complex cell assemblages preventing the measurement of the exponential phytoplankton growth. Secondly, the high heterogeneity of aggregates does not allow to rely precisely on the same initial Chl a concentration in each tank, and may thus introduce biases in rate computations. As an alternative, ingestion rates were estimated from the gut fluorescent content method (Mackas and Bohrer, 1976) which is often performed at laboratory or *in situ* to estimate zooplankton herbivory. It constitutes a fast and easy method to set up that could be carried out on a variety of planktonic (copepods, salps, and krill; Pakhomov et al., 1996; Perissinotto and Pakhomov, 1998; López et al., 2007), pelagic (herring larvae, Denis et al., 2018), and benthic organisms (Díaz et al., 2012; Gaonkar and Anil, 2012). Although potential issues exist regarding gut pigments destruction (Conover et al., 1986;

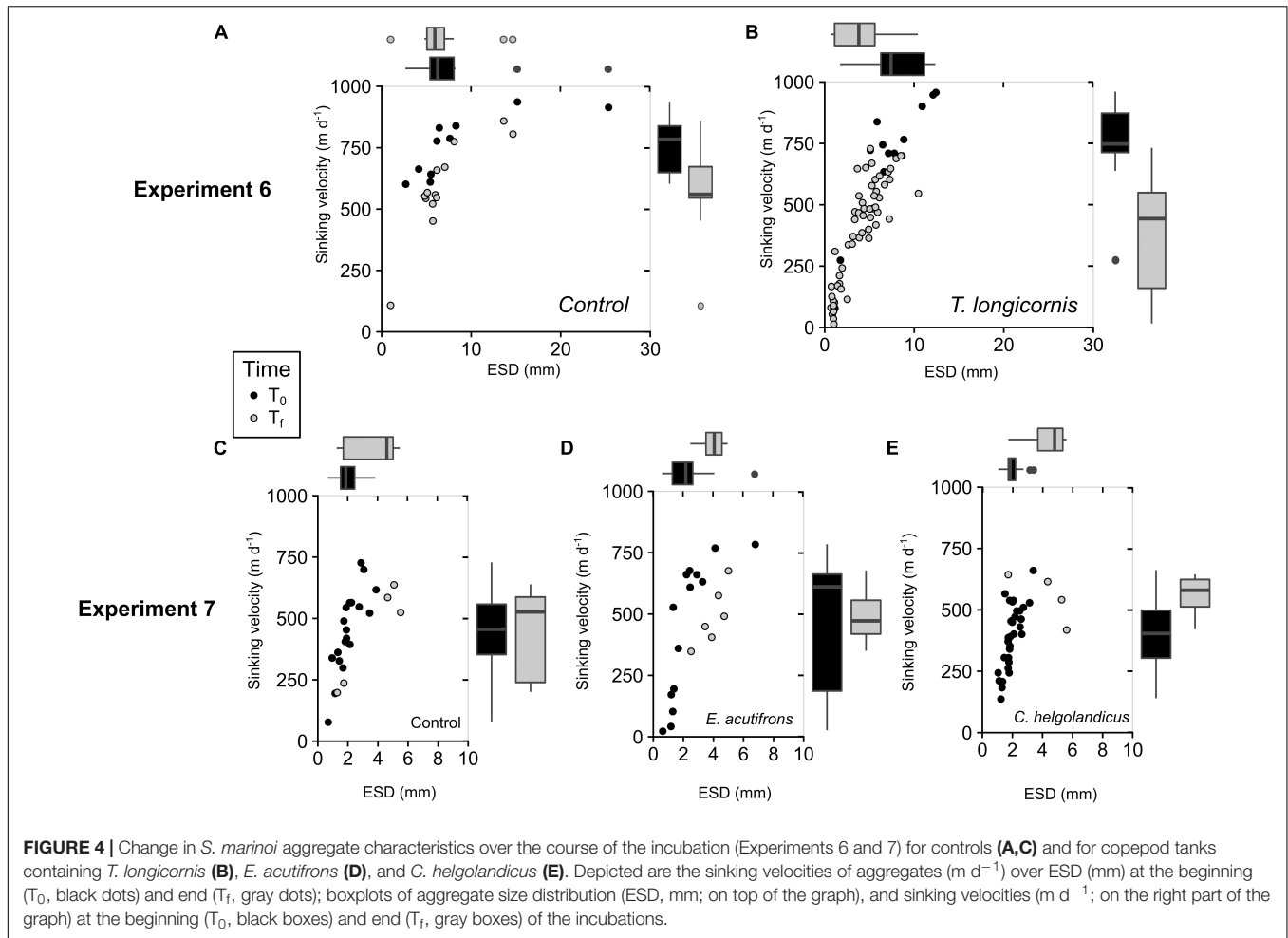


FIGURE 4 | Change in *S. marinoi* aggregate characteristics over the course of the incubation (Experiments 6 and 7) for controls (A,C) and for copepod tanks containing *T. longicornis* (B), *E. acutifrons* (D), and *C. helgolandicus* (E). Depicted are the sinking velocities of aggregates (m d⁻¹) over ESD (mm) at the beginning (T₀, black dots) and end (T_f, gray dots); boxplots of aggregate size distribution (ESD, mm; on top of the graph), and sinking velocities (m d⁻¹; on the right part of the graph) at the beginning (T₀, black boxes) and end (T_f, gray boxes) of the incubations.

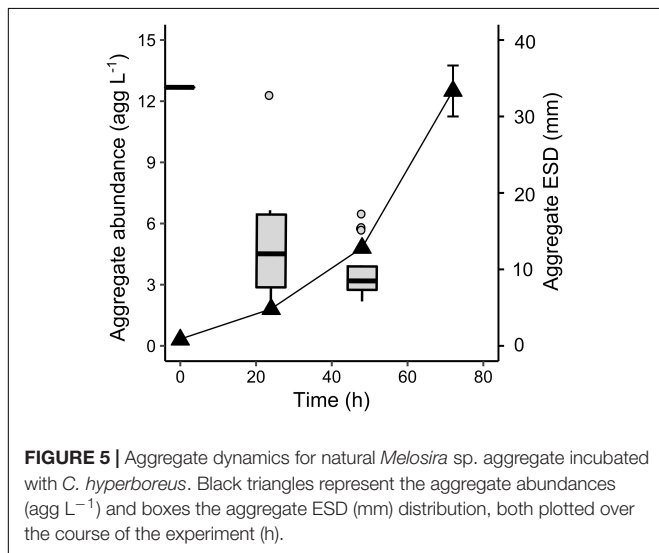


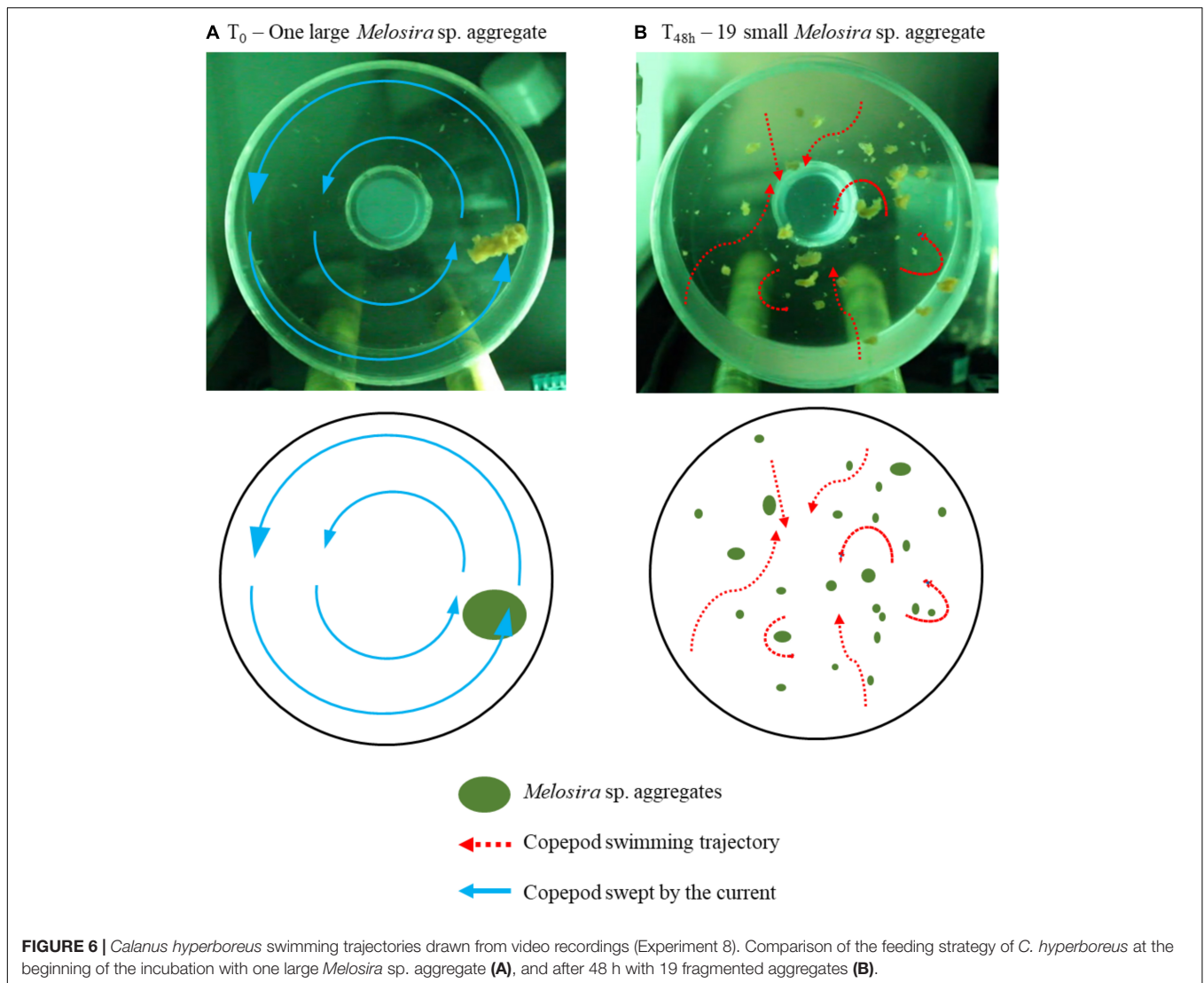
FIGURE 5 | Aggregate dynamics for natural *Melosira* sp. aggregate incubated with *C. hyperboreus*. Black triangles represent the aggregate abundances (agg L⁻¹) and boxes the aggregate ESD (mm) distribution, both plotted over the course of the experiment (h).

total chlorophyllian pigments as a proxy of prey biomass. The ingestion rates obtained *via* gut content are, however, not directly comparable to those estimated from cell decrease (e.g., Frost, 1972) and rather correspond to a snapshot of the amount of aggregates ingested at the time of sampling. In any case, our results highlighting significant ingestion of most copepod species while offered aggregate as prey, revealed copepod ability to deal with larger and more complex preys (i.e., containing a mix of cell and mucus assemblage) such as whole or fragmented aggregates as shown by Iversen and Poulsen (2007), when copepods were offered fecal pellets as food. If copepod preferences for fragmented aggregates could not be inferred from our study, direct feeding on large aggregates was observed for *E. acutifrons* and *C. hyperboreus*, and individuals seemed to hang on aggregates while feeding (Supplementary Video S1 for *E. acutifrons*).

First Set of Experiments: Copepod Grazing/Swimming Effects on Diatom Aggregation

Different processes could explain how copepod presence have modified cell aggregation dynamic in our study.

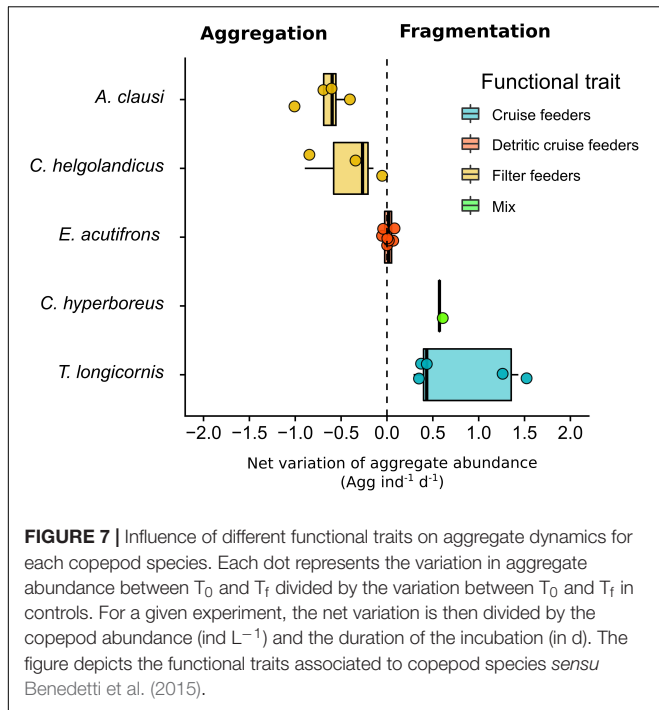
Durbin and Campbell, 2007) and gut evacuation rate estimates (Perissinotto and Pakhomov, 1996), the method appeared well suited to quantify aggregate ingestion by copepods, using



Cell stickiness may be enhanced when TEP production is boosted. Exudation of organic compounds and polymers by zooplankton is well known (Alldredge and Silver, 1988; Schuster and Herndl, 1995). In general, copepod cues may also induce physiological responses in marine phytoplankton. For instance, copepodamides are compounds that may induce defensive traits such as increase in toxin production by dinoflagellates (Selander et al., 2011, 2015), change in *S. marinoi* chain size (Bergkvist et al., 2012, 2018; Amato et al., 2018; Grebner et al., 2018) and increase the silica content of *T. weissflogii* (Pondaven et al., 2007). In line with the study of Malej and Harris (1993) who measured an inhibition of copepod feeding rate due to high molecular weight polysaccharides produced by phytoplankton, we hypothesized in our experiments that copepod activities may promote mucus production as observed for nutrient limitation stress (Engel, 2000; Passow, 2002). Indeed TEP production in Experiment 3 was higher when *A. clausi* grazed on *C. neogracile* and slightly higher (though not significantly) in the presence of *E. acutifrons* (Experiment 1) than in controls. However, while more

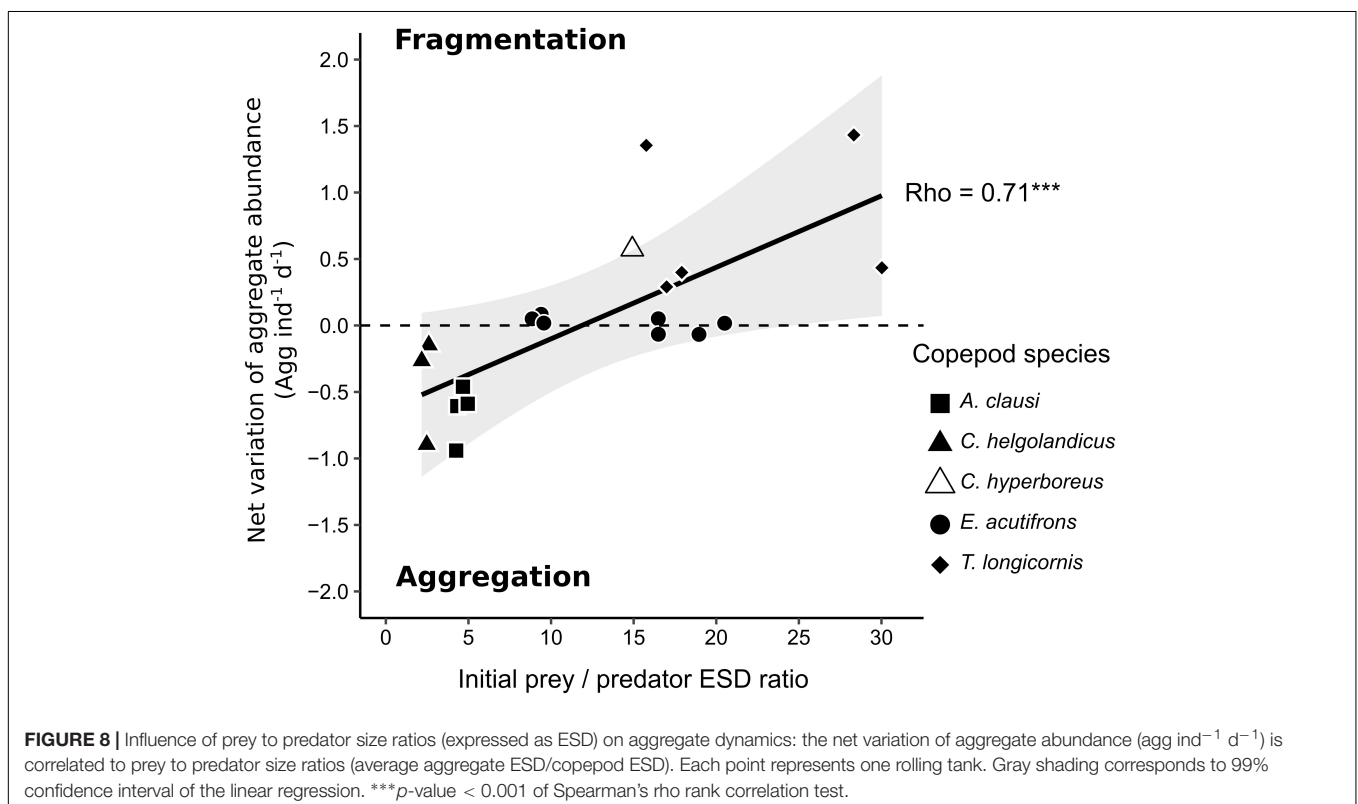
aggregates were produced with *E. acutifrons*, we did not observe an increase in aggregate formation with *A. clausi*. Conversely to the general postulate stating that aggregation is positively correlated to TEP concentrations, in our study, higher TEP production did not always result in higher aggregation rate, at least during the 24 h of incubation. Moreover, no significant correlation was found between TEP production or concentration and aggregate abundance or size. While TEP are important to trigger aggregation, TEP concentrations and production alone are not sufficient to explain our aggregation patterns.

The collision rates may be modified by two parameters: micro-turbulences created when copepods swim around and particle abundances associated to differential sinking due to egestion of fast sinking fecal pellets and manipulation of TEP by copepods. To aggregate, the particles must collide and then stick together. However, if the collision is too violent (high energy dissipation rates see Alldredge et al., 1990), no coagulation follows and disaggregation processes may even occur (Alldredge et al., 1990). In rolling tanks without copepods, collision is promoted through



of turbulence. When filtering, copepods generate double shear field (Strickler, 1982) and thus induce micro circulation on the order of 1 to 18 mm s^{-1} (Kjørboe, 1997; Jiang and Kjørboe, 2011b). Moreover, copepod swimming behavior when foraging such as jump and swimming phases of ambush feeders create wake vortex with velocity of 240 mm s^{-1} (Kjørboe, 1997; Jiang and Kjørboe, 2011a,b). In our study the two suspension feeders (*A. clausi* and *C. helgolandicus*) we used did not promote aggregation. By comparison, in Experiments 1 and 2, activity of the small cruise feeder *E. acutifrons* induced aggregation. This suggests that turbulences created by filtering activity only were not enough to promote collisions whereas turbulence induced by small cruise feeder behavior (Strickler, 1982; Kjørboe, 1997; Jiang and Kjørboe, 2011b) seemed to favor cell collisions without disrupting coagulation. Possibly, turbulences created by larger cruise feeder such as *C. helgolandicus* may be too strong and prevent the coagulation of the cells by providing too much energy. Future studies focusing on microfluidic disturbance generated by copepod feeding and foraging are required to highlight the effects on coagulation process, and therefore confirm this statement. Collision rates are additionally related to the amount of particles in the tank (Jackson, 2015). In comparison to *E. acutifrons*, the lower aggregate abundance formed in the presence of *C. helgolandicus* could be related to its higher ingestion rates (Table 4). By increasing particle abundance and the differential sinking velocity, we expected that the fecal pellets produced would have increased collision rates (Burd and Jackson, 2009). This was much anticipated as fecal pellets sink much faster than free cells (100–200 vs. 1–5 m d^{-1} for fecal

differential sinking only whereas *in situ* collision is due to both differential sinking and turbulence (Alldredge et al., 1990; Riebesell, 1991; Jiang and Osborn, 2004; Jackson, 2015). Different feeding behavior of copepods may create at least two types



pellets and free cells, respectively; Yoon et al., 2001; Bienfang, 1981; Turner, 2015). Our set up did not allow to directly observe if fecal pellets got trapped into the aggregates formed but despite *C. helgolandicus* producing large ($145 \pm 25 \mu\text{m}$) and abundant fecal pellets (190–1528 per tank) no significant change in aggregate formation was evidenced. Therefore, the increase in particle abundance related to fecal pellet production did not compensate aggregate fragmentation linked to copepod grazing (i.e., increase in turbulence and decrease in cell concentration). Another process possibly affecting the collision rate is a modification of the size of the TEP. In fact, copepods do not actively feed on TEP, but could passively influence TEP size spectra by increasing the coagulation of small TEP into larger ones (Prieto et al., 2001). Turbulences due to swimming might induce TEP formation (Schuster and Herndl, 1995). Additionally, TEP size might be increased when TEP are caught into the feeding current, compacted by feeding appendages and rejected after capture (Young et al., 1997). In our study, we can hypothesize that by manipulating TEP with their feeding appendages, copepods may have contributed to increase the likelihood of collision between TEP, diatoms, and fecal pellets. However, to verify such a hypothesis required to use the microscopic TEP assay method to quantify TEP (Passow and Alldredge, 1995a; Mari et al., 2005).

Overall, our results are consistent with what was observed in a mesocosm study conducted in Norway (Moriceau et al., 2018). During this study, phytoplankton aggregation increased with copepod abundance when cyanobacteria were the dominant species. However, when diatoms constituted the bulk of the phytoplankton community, the net impact of copepods on carbon export was negative, suggesting that in this particular case, the balance between aggregation and fragmentation was in favor of particle fragmentation.

Second Set of Experiments: Implications of Grazing and Swimming of Copepods on Aggregate Characteristics

The influence of copepod grazing on aggregate size and abundance after 24 h incubation could be the result of either their direct grazing on aggregates or of their swimming activity while foraging. Similar studies were carried out with zooplankton and marine snow inside rolling tanks (Bochdansky and Herndl, 1992; Bochdansky et al., 1995). For instance, Bochdansky and Herndl (1992) showed that *A. clausi* does not significantly feed on marine snow, and concluded that the major fraction of free-living filter feeders are unable to use phytoplankton when embedded in a mucoid matrix. On the contrary, quantitative ingestion rates measured here on the four copepod species (including *A. clausi*) clearly evidenced an active grazing on diatoms even when embedded in aggregates. Direct feeding on aggregates was observed for *E. acutifrons* (see **Supplementary Video S1**) increase in gut content could not exclude feeding on both aggregate fragments and disaggregated diatoms. However, we assume the latter negligible since free diatoms were not visible when checking the incubation media *via* microscopy. Trophic interactions between zooplankton and phytoplankton aggregates were also demonstrated for protists (Artolozaga et al.,

2002), euphausiids (Dilling and Brzezinski, 2004), copepods, appendicularians, and doliolids (Taucher et al., 2018), but the process involved remain unknown.

Changes in aggregate structure were explored as a possible pathway for copepods to influence the particle flux. We hypothesized that zooplankton may change the aggregate density by repackaging or increasing Si:C ratios of the cells constituting the aggregates. First of all, in our experiments, Si:C ratios were not affected by the 24 h of grazing. Another test was through the parameters obtained from the fit of the ESD and sinking velocities data for *C. neogracile* and *S. marinoi* aggregates. Power law regressions between aggregates ESD and sinking velocity are characterized by *A* and *B* constant parameters that are comparable to those described in literature for *in situ* marine snow (Shanks, 2002; Iversen et al., 2010), with *B* values ranging from 0.4 to 1.3, corresponding to fractal dimensions between 1.4 and 2.3 (calculated using equation 6 from Xiao et al., 2012). In every situation where copepods fragmented the large aggregates or re-aggregated the small aggregates, the regression linking aggregate ESD and sinking velocities remained the same with unchanged *A* and *B* and so the fractal dimension *D* that may be derived from *B* (Long et al., 2015). These results suggested that copepod activities did not alter the aggregate porosity and excess density.

Particle dynamics was affected by our distinct experimental conditions regarding prey and predator types. We distinguished three different patterns: (1) fragmentation, (2) no change in the particle dynamic, and (3) re-aggregation in larger aggregates. **Figures 7, 8** summarize re-aggregation and fragmentation patterns induced by copepods, using the variation in aggregate abundance between T_0 and T_f divided by the variation between T_0 and T_f in controls. For a given experiment, the net variation was then divided by the copepods abundance (ind L^{-1}) and the duration of the incubation (in d). **Figure 7** relates copepod functional traits to fragmentation/aggregation predominance. In **Figure 8**, we tested the impact of prey to predator size ratios onto aggregation/fragmentation balance.

Aggregate fragmentation was evidenced when a significant increase in particle abundance was associated to a decrease in their size spectra and sinking velocity. This pattern was observed for prey to predator size ratios higher than 15 (**Figure 8**) in the experiment with *T. longicornis* and *C. hyperboreus* feeding on *S. marinoi* and *Melosira* aggregates, respectively (**Table 7** and **Figures 4, 5, 7, 8**). The cruise feeder *T. longicornis* was actively feeding on aggregates as also evidenced in previous experiments demonstrating the ability of *T. longicornis* to eat on sinking organic materials (Kjørboe, 2011; Lombard et al., 2013b). To our knowledge, no studies have quantified copepod ingestion while grazing on aggregates. However, our gut content values are comparable to experimental studies using phytoplankton cells as prey. We measured similar but smaller ingestion rates for *T. longicornis* in our rolling tank incubations ($0.5 \pm 0.3 \text{ ng Chl } a_{\text{eq}} \text{ ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$) compared to measurements done during batch laboratory experiments ($117\text{--}217 \text{ ng Chl } a_{\text{eq}} \text{ ind}^{-1} \text{ d}^{-1}$, Wang and Conover, 1986). In the experiment with *C. hyperboreus* and the natural *Melosira* sp. aggregate, videos showed that different types of interactions were at play and may explain the observed

decrease in the aggregate size. In fact, the videos evidenced that large pieces of aggregate were broken up by copepod jumping through the aggregate. Copepod swimming velocities range between 0.1 and 100 mm s⁻¹ (Yamazaki and Squires, 1996) and they jump at velocities reaching up to 400 mm s⁻¹ creating wake vortex with velocity of 240 mm s⁻¹ (Jiang and Kiørboe, 2011a,b), which in the vicinity of fragile aggregates could be sufficient to break them. We even observed copepods hanging on aggregate before jumping, thus triggering the fragmentation of the aggregate into pieces. Interestingly when the particles were smaller and more abundant (as a result of the fragmentation), copepods swam more actively around aggregates (**Figure 6** and **Supplementary Videos S2, S3**). *C. hyperboreus* is generally considered as a passive filter feeder (Conover, 1966; Huntley, 1981; Greene, 1988). However, we observed a switch of swimming behavior from passive swept into the current when copepods were incubated with one large aggregate to active cruising when the aggregates became smaller and more numerous (as described in Strickler, 1982; Kiørboe et al., 2018). This change in their feeding foraging strategy may explain why fragmentation accelerated after 48 h (**Figure 5**). Overall, the more aggregates are fragmented, the more small aggregate abundance increases and the more copepods increase fragmentation, as can be seen from the exponential increase in aggregate abundance over time (**Figure 5**). *C. hyperboreus* seemed to be more active when aggregates ESD decreased during this experiment, suggesting that they may feed more on fragments than on whole aggregates.

Active feeding evidenced by ingestion rates in the range of 2.6 ± 0.9 to 4 ± 1 ng Chl a_{eq} ind⁻¹ d⁻¹ is congruent with the direct feeding on whole aggregates evidenced *via* video recording (**Supplementary Video S1**). However, no changes in the *S. marinoi* and *C. neogracile* aggregate size or abundance have been observed with *E. acutifrons* (**Table 7** and **Figures 3, 4, 7, 8**). Cruise feeders detritivores (such as *E. acutifrons*) feeding on marine snow has already been demonstrated (Koski et al., 2005, 2007, 2017) and is often associated to particle flux attenuation. However in our study, *E. acutifrons* with prey to predator size ratios ranging from 7 to 20 did not significantly change the particle spectra neither in size nor in abundance or sinking rates (**Figure 8**). These results suggest that measuring grazing on aggregates is not sufficient on its own to conclude on flux attenuation.

Re-aggregation implies a decrease of aggregate abundance and an increase of the aggregate size compared to controls. This was observed for the experiments with *A. clausi* and *C. helgolandicus* feeding on *C. neogracile* and *S. marinoi* aggregates (**Figures 7, 8**). **Figures 7, 8** tend to suggest that aggregation processes prevailed over disaggregation for prey to predator size ratios lower than 6 and/or when filter feeders are predators. We believe that this pattern may be explained by the small sizes of the aggregates tested (Initial ESD = 1.9 mm in incubation with *A. clausi* and *C. helgolandicus* vs. 9 mm for the incubations with *T. longicornis* and 34 mm for *C. hyperboreus*). Small aggregates are more resistant to shear than large aggregates (Jackson, 1990), at a given shear (as induced by copepod swimming) aggregation may be facilitated between small aggregates. Reversely bigger and more fragile aggregates may be broken by the same shear

(Jackson, 1990). Unfortunately due to the impossibility to stabilize aggregate at a given size we couldn't test this hypothesis by incubating large aggregates with filter feeders and small aggregates with cruise feeders.

CONCLUSION

Our work suggested that the ability to predict the consequences of copepod activity on particle dynamic could necessitate better understanding of copepod functional traits. The general trend emerging from our study was that in the surface layer aggregation of freely suspended cells or small aggregates may be facilitated by the turbulence resulting from active swimming of small copepods. However, aggregates are fragile and their formation may be prevented by stronger turbulences as those created by larger cruise feeder copepods. As they grow in size, aggregates become more vulnerable to breakage and the same shear that was favoring aggregation of freely suspended cells (swimming of cruise feeders) or even of small aggregates preferentially fragment bigger aggregates. The main difficulty in testing this hypothesis is to stabilize aggregate at a given size in rolling tanks. While we also observed a slight increase in the diatom TEP production, our experimental set up, both in duration and in chemical analysis did not permitted to conclude on this matter. Indeed, we only measured the total pool of >0.4 μm TEP, and not the chemical composition, such as the proportion of sulfate half ester groups that may be responsible for most chemical bridges leading to aggregation (Mopper et al., 1995; Passow, 2002). We could not link either zooplankton activity to TEP size spectra which would only have been possible *via* microscopical measurements of the Alcian blue-stained TEP.

Our work may help to better understand the mechanisms driving the biological pump of carbon. Considering that carbon is efficiently isolated from the atmosphere at a depth approaching 1000 m, many recent studies start differentiating between the export efficiency and the transfer efficiency (Henson et al., 2012; Maiti et al., 2013; Cavan et al., 2017). The first is the amount of carbon produced in surface reaching the export depth (100–200 m) while the second is the proportion of the exported carbon reaching the sequestration depth. Large-scale observations suggested that ecosystems with high export efficiency such as high latitude ecosystems dominated by diatoms have a low transfer efficiency (Maiti et al., 2013). Reversely ecosystems with low export efficiency have high transfer efficiency (Henson et al., 2012; Guidi et al., 2015). Considering that aggregation of freely suspended cells and small aggregates are favored by copepod feeding activity while big aggregates are preferentially fragmented, this mechanisms may partly explained the discrepancy observed between diatoms dominated ecosystems and low productive ecosystem. Diatoms ecosystems tend to form bigger aggregates that may be exported very fast (Alldredge and Gotschalk, 1989; Cisternas-Novoa et al., 2015) but are more vulnerable to breakage by the turbulences created when copepods are feeding. Reversely, ecosystems dominated by cyanobacteria tend to form smaller aggregates (Cisternas-Novoa et al., 2015) that sink more slowly and may thus lead to smaller

export (Henson et al., 2012) but believing our results may be more resistant to copepods swimming activities.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The raw data supporting the conclusions of this article will be made available by the authors, without undue reservation, to any qualified researcher.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

JT: writing the manuscript, performing laboratory experiments, sample analyses, and data treatment. DV: copepod collection and rearing, support during laboratory experiments, writing the manuscript, and supervision. LF: support in lab experiments. PM: diatom cultures and support in lab experiments. ML: nutrients and bSiO₂ analysis. JD: POC and PON measurements. BM: support in laboratory experiments and *in situ* experiment, writing the manuscript, supervision, and PI of the BIOPSIS project.

FUNDING

This work was supported by the ANR BIOPSIS project, grant ANR-16-CE-0002-01 of the French Agence Nationale de la Recherche, and the CHIBIDO team of the LEMAR. JT was funded by a French doctoral research grant from LabexMer axe 2 (50%) and the ANR BIOPSIS project (50%). The Green Edge project is funded by the following Canadian and French programs and agencies: the Network of Centres of Excellence ArcticNet, the Canada Foundation for Innovation

REFERENCES

- Agustí, S., González-Gordillo, J. I., Vaqué, D., Estrada, M., Cerezo, M. I., Salazar, G., et al. (2015). Ubiquitous healthy diatoms in the deep sea confirm deep carbon injection by the biological pump. *Nat. Commun.* 6:7608. doi: 10.1038/ncomms8608
- Allredge, A. L., Gorsky, G., Youngbluth, M., and Deibel, D. (2005). "The contribution of discarded appendicularian houses to the flux of particulate organic carbon from oceanic surface waters," in: *Response of Marine Ecosystems to Global Change: Ecological Impact of Appendicularians*, eds G. Gorsky, M. Youngbluth, and D. Deibel (Paris: GB Science Publishers-Editions Scientifiques), 309–326.
- Allredge, A. L., and Gotschalk, C. (1988). In situ settling behavior of marine snow. *Limnol. Oceanogr.* 33, 339–351. doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.09.115
- Allredge, A. L., and Gotschalk, C. (1989). Direct observations of the mass flocculation of diatom blooms: characteristics, settling velocities and formation of diatom aggregates. *Deep Sea Res. Part A. Oceanogr. Res. Pap.* 36, 159–171. doi: 10.1016/0198-0149(89)90131-90133
- Allredge, A. L., Gotschalk, C., Passow, U., and Riebesell, U. (1995). Mass aggregation of diatom blooms: insights from a mesocosm study. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 42, 9–27. doi: 10.1016/0967-0645(95)00002-8
- Allredge, A. L., Granata, T. C., Gotschalk, C., and Dickey, T. D. (1990). The physical strength of marine snow and its implications for particle disaggregation in the ocean. *Limnol. Oceanogr.* 35, 1415–1428. doi: 10.4319/lo.1990.35.7.1415
- (Amundsen Science), Canada's Excellence in Research Chair (CERC) program, ANR (Contract #111112), CNES (Project #131425), French Arctic Initiative, Fondation Total, CSA, LEFE, and IPEV (Project #1164).

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank Ifremer for providing the diatom strains and the Albert-Lucas crew for their help at sea, during zooplankton collection. We thank everyone in LEMAR and particularly the technical staff from PFOM-ARN-Ifremer for assistance during the experiments and copepod feeding and maintenance every week-end. We also thank the two reviewers, especially one of them who gave precious comments and constructive suggestions on a previous version of this manuscript. We are very thankful to the crew of the NGCC Amundsen, for their enthusiastic help and technical support, to Marcel Babin, PI of the project, and to Joannie Ferland, Marie-Hélène Forget, and Flavienne Bruyant who organized the expeditions with so much efficiency.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmars.2019.00751/full#supplementary-material>

VIDEO S1 | Copepod (*E. acutifrons*) eating on diatom aggregate (*C. neogracile*).

VIDEO S2 | *Melosira* sp. aggregate fragmentation due to copepod jump (*C. hyperboreus*).

VIDEO S3 | *Melosira* sp. aggregate fragmentation during the 72 h of incubation.

Allredge, A. L., and Silver, M. W. (1988). Characteristics, dynamics and significance of marine snow. *Prog. Oceanogr.* 20, 41–82. doi: 10.1016/0079-6611(88)90053-90055

Amato, A., Sabatino, V., Nylund, G. M., Bergkvist, J., Basu, S., Andersson, M. X., et al. (2018). Grazer-induced transcriptomic and metabolomic response of the chain-forming diatom *Skeletonema marinoi*. *ISME J.* 12, 1594–1604. doi: 10.1038/s41396-018-0094-0

Aminot, A., and Kérouel, R. (2004). *Hydrologie Des Écosystèmes Marins: Paramètres Et Analyses*. Versailles: Editions Quae.

Andersen, V., Devey, C., Gubanova, A., Picheral, M., Melnikov, V., Tsarin, S., et al. (2004). Vertical distributions of zooplankton across the Almeria–Oran frontal zone (Mediterranean Sea). *J. Plankton Res.* 26, 275–293. doi: 10.1093/plankt/fbh036

Andersen, V., Gubanova, A., Nival, P., and Ruellet, T. (2001). Zooplankton community during the transition from spring bloom to oligotrophy in the open NW mediterranean and effects of wind events. 2. vertical distributions and migrations. *J. Plankton Res.* 23, 243–261. doi: 10.1093/plankt/23.3.243

Artolozaga, I., Valcárcel, M., Ayo, B., Latatu, A., and Iriberrí, J. (2002). Grazing rates of bacterivorous protists inhabiting diverse marine planktonic microenvironments. *Limnol. Oceanogr.* 47, 142–150. doi: 10.4319/lo.2002.47.1.0142

Bach, L. T., Stange, P., Taucher, J., Achterberg, E. P., Algueró-Muñiz, M., Horn, H., et al. (2019). The influence of plankton community structure on sinking velocity and remineralization rate of marine aggregates. *Glob. Biogeochem. Cycles* 33, 971–994. doi: 10.1029/2019GB006256

- Beauvais, S., Pedrotti, M. L., Egge, J., Iversen, K., and Marrasé, C. (2006). Effects of turbulence on TEP dynamics under contrasting nutrient conditions: implications for aggregation and sedimentation processes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 323, 47–57. doi: 10.3354/meps323047
- Benedetti, F., Gasparini, S., and Ayata, S. D. (2015). Identifying copepod functional groups from species functional traits. *J. Plankton Res.* 38, 159–166. doi: 10.1093/plankt/fbv096
- Berggreen, U., Hansen, B., and Kiørboe, T. (1988). Food size spectra, ingestion and growth of the copepod *Acartia tonsa* during development: implications for determination of copepod production. *Mar. Biol.* 99, 341–352. doi: 10.1007/BF02112126
- Bergkvist, J., Klawonn, L., Whitehouse, M. J., Lavik, G., Brüchert, V., and Ploug, H. (2018). Turbulence simultaneously stimulates small- and large-scale CO₂ sequestration by chain-forming diatoms in the sea. *Nat. Commun.* 9:3046. doi: 10.1038/s41467-018-05149-w
- Bergkvist, J., Thor, P., Jakobsen, H. H., Wängberg, S.-A., and Selander, E. (2012). Grazer-induced chain length plasticity reduces grazing risk in a marine diatom. *Limnol. Oceanogr.* 57, 318–324. doi: 10.4319/lo.2012.57.1.0318
- Bienfang, P. K. (1981). Sinking rates of heterogeneous, temperate phytoplankton populations. *J. Plankton Res.* 3, 235–253. doi: 10.1093/plankt/3.2.235
- Bochdansky, A. B., and Herndl, G. J. (1992). Ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the Northern Adriatic Sea. 111. Zooplankton interactions with marine snow. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 87, 135–146. doi: 10.3354/meps087135
- Bochdansky, A. B., Puskaric, S., and Herndl, G. J. (1995). Influence of zooplankton grazing on free dissolved enzymes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 121, 53–63. doi: 10.3354/meps121053
- Bode, M., Koppelman, R., Teuber, L., Hagen, W., and Auel, H. (2018). Carbon budgets of mesozooplankton copepod communities in the Eastern Atlantic Ocean—regional and vertical patterns between 24°N and 21°S. *Glob. Biogeochem. Cycles* 32, 840–857. doi: 10.1029/2017GB005807
- Boersma, M., Wesche, A., and Hirche, H.-J. (2014). Predation of calanoid copepods on their own and other copepods' offspring. *Mar. Biol.* 161, 733–743. doi: 10.1007/s00227-013-2373-2377
- Bollens, S. M., and Frost, B. W. (1989a). Predator-induced diet vertical migration in a planktonic copepod. *J. Plankton Res.* 11, 1047–1065. doi: 10.1093/plankt/11.5.1047
- Bollens, S. M., and Frost, B. W. (1989b). Zooplanktivorous fish and variable diel vertical migration in the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnol. Oceanogr.* 34, 1072–1083. doi: 10.4319/lo.1989.34.6.1072
- Bollens, S. M., and Frost, B. W. (1991). Diel vertical migration in zooplankton: rapid individual response to predators. *J. Plankton Res.* 13, 1359–1365. doi: 10.1093/plankt/13.6.1359
- Bollens, S. M., and Stearns, D. E. (1992). Predator-induced changes in the diel feeding cycle of a planktonic copepod. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 156, 179–186. doi: 10.1016/0022-0981(92)90244-90245
- Bonnet, D., Titelman, J., and Harris, R. (2004). *Calanus* the cannibal. *J. Plankton Res.* 26, 937–948. doi: 10.1093/plankt/fbh087
- Boyd, P. W., and Trull, T. W. (2007). Understanding the export of biogenic particles in oceanic waters: is there consensus? *Prog. Oceanogr.* 72, 276–312. doi: 10.1016/j.pocean.2006.10.007
- Brierley, A. S. (2014). Diel vertical migration. *Curr. Biol.* 24, R1074–R1076. doi: 10.1016/j.cub.2014.08.054
- Burd, A. B., and Jackson, G. A. (2009). Particle aggregation. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 1, 65–90.
- Capriulo, G. M., Smith, G., Troy, R., Wikfors, G. H., Pellet, J., and Yarish, C. (2002). The planktonic food web structure of a temperate zone estuary, and its alteration due to eutrophication. *Nutr. Eutrophicat. Estuar. Coast. Waters* 445, 263–333. doi: 10.1007/978-94-017-2464-7_23
- Cavan, E. L., Giering, S. L. C., Wolff, G. A., Trimmer, M., and Sanders, R. (2018). Alternative particle formation pathways in the eastern tropical north pacific's biological carbon pump. *J. Geophys. Res.* 123, 2198–2211. doi: 10.1029/2018JG004392
- Cavan, E. L., Henson, S. A., Belcher, A., and Sanders, R. (2017). Role of zooplankton in determining the efficiency of the biological carbon pump. *Biogeosciences* 14, 177–186. doi: 10.5194/bg-14-177-2017
- Cavan, E. L., Moigne, F. A. C. L., Poulton, A. J., Tarling, G. A., Ward, P., Daniels, C. J., et al. (2015). Attenuation of particulate organic carbon flux in the Scotia Sea, Southern Ocean, is controlled by zooplankton fecal pellets. *Geophys. Res. Lett.* 42, 821–830. doi: 10.1002/2014GL062744
- Chandrasekaran, R., Barra, L., Carillo, S., Caruso, T., Corsaro, M. M., Dal Piaz, F., et al. (2014). Light modulation of biomass and macromolecular composition of the diatom *Skeletonema marinoi*. *J. Biotechnol.* 192, 114–122. doi: 10.1016/j.jbiotec.2014.10.016
- Cisternas-Novoa, C., Lee, C., and Engel, A. (2015). Transparent exopolymer particles (TEP) and Coomassie stainable particles (CSP): differences between their origin and vertical distributions in the ocean. *Mar. Chem.* 175, 56–71. doi: 10.1016/j.marchem.2015.03.009
- Cisternas-Novoa, C., Lee, C., Tang, T., de Jesus, R., and Engel, A. (2019). Effects of higher CO₂ and temperature on exopolymer particle content and physical properties of marine aggregates. *Front. Mar. Sci.* 5:500. doi: 10.3389/fmars.2018.00500
- Cole, M., Lindeque, P. K., Fileman, E., Clark, J., Lewis, C., Halsband, C., et al. (2016). Microplastics alter the properties and sinking rates of zooplankton faecal pellets. *Environ. Sci. Technol.* 50, 3239–3246. doi: 10.1021/acs.est.5b05905
- Conover, R. J. (1966). Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 11, 338–345. doi: 10.4319/lo.1966.11.3.0338
- Conover, R. J., Durvasula, R., Roy, S., and Wang, R. (1986). Probable loss of chlorophyll-derived pigments during passage through the gut of zooplankton, and some of the consequences. *Limnol. Oceanogr.* 31, 878–886. doi: 10.4319/lo.1986.31.4.0878
- Conway, D. V. P. (2006). *Identification of the Copepodite Developmental Stages of Twenty-Six North Atlantic Copepods*. Plymouth: Marine Biological Association of the United Kingdom.
- Conway, H. L., Harrison, P. J., and Davis, C. O. (1976). Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. II. Transient response of *Skeletonema costatum* to a single addition of the limiting nutrient. *Mar. Biol.* 35, 187–199. doi: 10.1007/bf00390940
- Dagg, M. J. (1993). Sinking particles as a possible source of nutrition for the large calanoid copepod *Neocalanus cristatus* in the subarctic Pacific Ocean. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 40, 1431–1445. doi: 10.1016/0967-0637(93)90121-I
- Dam, H. G., and Peterson, W. T. (1988). The effect of temperature on the gut clearance rate constant of planktonic copepods. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 123, 1–14. doi: 10.1016/0022-0981(88)90105-90100
- Darnis, G., Barber, D. G., and Fortier, L. (2008). Sea ice and the onshore-offshore gradient in pre-winter zooplankton assemblages in southeastern Beaufort Sea. *J. Mar. Syst.* 74, 994–1011. doi: 10.1016/j.jmarsys.2007.09.003
- Darnis, G., Robert, D., Pomerleau, C., Link, H., Archambault, P., Nelson, R. J., et al. (2012). Current state and trends in Canadian Arctic marine ecosystems: II. heterotrophic food web, pelagic-benthic coupling, and biodiversity. *Clim. Chang.* 115, 179–205. doi: 10.1007/s10584-012-0483-488
- de Melo Júnior, M., Miyashita, L. K., Silva, N. J., Gaeta, S. A., and Lopes, R. M. (2013). Reproductive traits of *Euterpina acutifrons* in a coastal area of Southeastern Brazil. *Mar. Ecol.* 34, 363–372. doi: 10.1111/maec.12041
- Denis, J., Vincent, D., Antajan, E., Vallet, C., Mestre, J., Lefebvre, V., et al. (2018). Gut fluorescence technique to quantify pigment feeding in downs herring larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 607, 129–142. doi: 10.3354/meps12775
- Diaz, E. R., Kraufvelin, P., and Erlandsson, J. (2012). Combining gut fluorescence technique and spatial analysis to determine *Littorina littorea* grazing dynamics in nutrient-enriched and nutrient-unenriched littoral mesocosms. *Mar. Biol.* 159, 837–852. doi: 10.1007/s00227-011-1860-y
- Dilling, L., and Alldredge, A. L. (2000). Fragmentation of marine snow by swimming macrozooplankton: a new process impacting carbon cycling in the sea. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 47, 1227–1245. doi: 10.1016/s0967-0637(99)00105-3
- Dilling, L., and Brzezinski, M. A. (2004). Quantifying marine snow as a food choice for zooplankton using stable silicon isotope tracers. *J. Plankton Res.* 26, 1105–1114. doi: 10.1093/plankt/fbh103
- Dilling, L., Wilson, J., Steinberg, D., and Alldredge, A. (1998). Feeding by the euphausiid *Euphausia pacifica* and the copepod *Calanus pacificus* on marine snow. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 170, 189–201. doi: 10.3354/meps170189
- Durbin, E. G., and Campbell, R. G. (2007). Reassessment of the gut pigment method for estimating in situ zooplankton ingestion. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 331, 305–307.

- Engel, A. (2000). The role of transparent exopolymer particles (TEP) in the increase in apparent particle stickiness (α) during the decline of a diatom bloom. *J. Plankton Res.* 22, 485–497. doi: 10.1093/plankt/22.3.485
- Fernández-Méndez, M., Wenzhöfer, F., Peeken, I., Sørensen, H. L., Glud, R. N., and Boetius, A. (2014). Composition, buoyancy regulation and fate of ice algal aggregates in the central Arctic Ocean. *PLoS One* 9:e107452. doi: 10.1371/journal.pone.0107452
- Fileman, E., Smith, T., and Harris, R. (2007). Grazing by *Calanus helgolandicus* and *Para-Pseudocalanus* spp. on phytoplankton and protozooplankton during the spring bloom in the Celtic Sea. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 348, 70–84. doi: 10.1016/j.jembe.2007.04.003
- Frost, B. W. (1972). Effects of size and concentration of food of the particles on the feeding behavior marine planktonic copepod *Calanus Pacificus*. *Limnol. Oceanogr.* 17, 805–815. doi: 10.4319/lo.1972.17.6.0805
- Gaonkar, C. A., and Anil, A. C. (2012). Gut fluorescence analysis of barnacle larvae: an approach to quantify the ingested food. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 111, 147–150. doi: 10.1016/j.ecss.2012.07.005
- Gärdes, A., Iversen, M. H., Grossart, H.-P., Passow, U., and Ullrich, M. S. (2011). Diatom-associated bacteria are required for aggregation of *Thalassiosira weissflogii*. *ISME J.* 5, 436–445. doi: 10.1038/ismej.2010.145
- Giering, S. L. C., Sanders, R., Martin, A. P., Henson, S. A., Riley, J. S., Marsay, C. M., et al. (2017). Particle flux in the oceans: challenging the steady state assumption: challenging the steady state assumption. *Glob. Biogeochem. Cycles* 31, 159–171. doi: 10.1002/2016GB005424
- Goldthwait, S., Yen, J., Brown, J., and Alldredge, A. (2004). Quantification of marine snow fragmentation by swimming euphausiids. *Limnol. Oceanogr.* 49, 940–952. doi: 10.4319/lo.2004.49.4.0940
- Goldthwait, S. A., Carlson, C. A., Henderson, G. K., and Alldredge, A. L. (2005). Effects of physical fragmentation on remineralization of marine snow. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 305, 59–65. doi: 10.3354/meps305059
- González-Fernández, C., Toullec, J., Lambert, C., Le Goïc, N., Seoane, M., Moriceau, B., et al. (2019). Do transparent exopolymeric particles (TEP) affect the toxicity of nanoplastics on *Chaetoceros neogracile*? *Environ. Pollut.* 250, 873–882. doi: 10.1016/j.envpol.2019.04.093
- Gorgues, T., Aumont, O., and Memery, L. (2019). Simulated changes in the particulate carbon export efficiency due to diel vertical migration of zooplankton in the North Atlantic. *Geophys. Res. Lett.* 46, 5387–5395. doi: 10.1029/2018gl081748
- Gorsky, G., Chrétiennot-Dinet, M. J., Blanchot, J., and Palazzoli, I. (1999). Picoplankton and nanoplankton aggregation by appendicularians: fecal pellet contents of *Megalocercus huxleyi* in the equatorial Pacific. *J. Geophys. Res.* 104, 3381–3390. doi: 10.1029/98JC01850
- Grebner, W., Berglund, E. C., Berggren, F., Eklund, J., Harðadóttir, S., Andersson, M. X., et al. (2018). Induction of defensive traits in marine plankton-new copepodamide structures: New copepodamide structures. *Limnol. Oceanogr.* 64, 820–831. doi: 10.1002/lno.11077
- Green, E. P., and Dagg, M. J. (1997). Mesozooplankton associations with medium to large marine snow aggregates in the northern Gulf of Mexico. *J. Plankton Res.* 19, 435–447. doi: 10.1093/plankt/19.4.435
- Greene, C. H. (1988). Foraging tactics and prey-selection patterns of omnivorous and carnivorous calanoid copepods. *Hydrobiologia* 167, 295–302. doi: 10.1007/978-94-009-3103-9_29
- Grossart, H.-P., Czub, G., and Simon, M. (2006). Algae-bacteria interactions and their effects on aggregation and organic matter flux in the sea. *Environ. Microbiol.* 8, 1074–1084. doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.00999.x
- Guidi, L., Gorsky, G., Claustre, H., Miquel, J. C., Picheral, M., and Stemann, L. (2008). Distribution and fluxes of aggregates > 100 μm in the upper kilometer of the South-Eastern Pacific. *Biogeosciences* 5, 1361–1372. doi: 10.5194/bg-5-1361-2008
- Guidi, L., Legendre, L., Reygondeau, G., Uitz, J., Stemann, L., and Henson, S. A. (2015). A new look at ocean carbon remineralization for estimating deepwater sequestration: Ocean remineralization and sequestration. *Glob. Biogeochem. Cycles* 29, 1044–1059. doi: 10.1002/2014GB005063
- Guidi, L., Stemann, L., Legendre, L., Picheral, M., Prieur, L., and Gorsky, G. (2007). Vertical distribution of aggregates (> 110 μm) and mesoscale activity in the northeastern Atlantic: effects on the deep vertical export of surface carbon. *Limnol. Oceanogr.* 52, 7–18. doi: 10.4319/lo.2007.52.1.0007
- Hansen, B., Bjornsen, P. K., and Hansen, P. J. (1994). The size ratio between planktonic predators and their prey. *Limnol. Oceanogr.* 39, 395–403. doi: 10.4319/lo.1994.39.2.0395
- Henson, S. A., Sanders, R., and Madsen, E. (2012). Global patterns in efficiency of particulate organic carbon export and transfer to the deep ocean. *Glob. Biogeochem. Cycles* 26:GB1028. doi: 10.1029/2011GB004099
- Hernández-León, S., Putzeys, S., Almeida, C., Bécognée, P., Marrero-Díaz, A., Aristegui, J., et al. (2019). Carbon export through zooplankton active flux in the Canary Current. *J. Mar. Syst.* 189, 12–21. doi: 10.1016/j.jmarsys.2018.09.002
- Hillebrand, H., Dürselen, C.-D., Kirschtel, D., Pollinger, U., and Zohary, T. (1999). Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *J. Phycol.* 35, 403–424. doi: 10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x
- Huntley, M. (1981). Nonselective, nonsaturated feeding by three calanoid copepod species in the Labrador Sea. *Limnol. Oceanogr.* 26, 831–842. doi: 10.4319/lo.1981.26.5.0831
- Irigoién, X., Head, R. N., Harris, R. P., Cummings, D., Harbour, D., and Meyer-Harms, B. (2000). Feeding selectivity and egg production of *Calanus helgolandicus* in the english channel. *Limnol. Oceanogr.* 45, 44–54. doi: 10.4319/lo.2000.45.1.0044
- Iversen, M. H., Nowald, N., Ploug, H., Jackson, G. A., and Fischer, G. (2010). High resolution profiles of vertical particulate organic matter export off cape blanc, mauritania: degradation processes and ballasting effects. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 57, 771–784. doi: 10.1016/j.dsr.2010.03.007
- Iversen, M. H., and Poulsen, L. K. (2007). Coprophagy, coprophagy, and coprochaly in the copepods *Calanus helgolandicus*, *Pseudocalanus elongatus*, and *Oithona similis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 350, 79–89. doi: 10.1021/acs.est.5b05905
- Jackson, G. A. (1990). A model of the formation of marine algal flocs by physical coagulation processes. *Deep Sea Res. Part A Oceanogr. Res. Pap.* 37, 1197–1211. doi: 10.1016/0198-0149(90)90038-w
- Jackson, G. A. (2015). Coagulation in a rotating cylinder: coagulation in a rotating tank. *Limnol. Oceanogr. Methods* 13:e10018. doi: 10.1002/lom3.10018
- Jiang, H., and Kiørboe, T. (2011a). Propulsion efficiency and imposed flow fields of a copepod jump. *J. Exp. Biol.* 214, 476–486. doi: 10.1242/jeb.049288
- Jiang, H., and Kiørboe, T. (2011b). The fluid dynamics of swimming by jumping in copepods. *J. R. Soc. Inter.* 8, 1090–1103. doi: 10.1098/rsif.2010.0481
- Jiang, H., and Osborn, T. R. (2004). Hydrodynamics of copepods: a review. *Surv. Geophys.* 25, 339–370. doi: 10.1093/icb/icy051
- Jin, X., Gruber, N., Dunne, J. P., Sarmiento, J. L., and Armstrong, R. A. (2006). Diagnosing the contribution of phytoplankton functional groups to the production and export of particulate organic carbon, CaCO_2 , and opal from global nutrient and alkalinity distributions: diagnosing phytoplankton functional groups. *Glob. Biogeochem. Cycles* 20:GB2015.
- Kjørboe, T. (1997). Small-scale turbulence, marine snow formation, and planktivorous feeding. *Sci. Mar.* 61, 141–158.
- Kjørboe, T. (2000). Colonization of marine snow aggregates by invertebrate zooplankton: abundance, scaling, and possible role. *Limnol. Oceanogr.* 45, 479–484. doi: 10.4319/lo.2000.45.2.0479
- Kjørboe, T. (2011). How zooplankton feed: mechanisms, traits and trade-offs. *Biol. Rev.* 86, 311–339. doi: 10.1111/j.1469-185X.2010.00148.x
- Kjørboe, T., Saiz, E., Tiselius, P., and Andersen, K. H. (2018). Adaptive feeding behavior and functional responses in zooplankton. *Limnol. Oceanogr.* 63, 308–321. doi: 10.1002/lno.10632
- Komar, P. D., Morse, A. P., Small, L. F., and Fowler, S. W. (1981). An analysis of sinking rates of natural copepod and euphausiid fecal pellets 1. *Limnol. Oceanogr.* 26, 172–180. doi: 10.4319/lo.1981.26.1.0172
- Koski, M., Boutorh, J., and de la Rocha, C. (2017). Feeding on dispersed vs. aggregated particles: the effect of zooplankton feeding behavior on vertical flux. *PLoS One* 12:e0177958. doi: 10.1371/journal.pone.0177958
- Koski, M., Kiørboe, T., and Takahashi, K. (2005). Benthic life in the pelagic: aggregate encounter and degradation rates by pelagic harpacticoid copepods. *Limnol. Oceanogr.* 50, 1254–1263. doi: 10.4319/lo.2005.50.4.1254
- Koski, M., Møller, E. F., Maar, M., and Visser, A. W. (2007). The fate of discarded appendicularian houses: degradation by the copepod, *Microsetella norvegica*, and other agents. *J. Plankton Res.* 29, 641–654. doi: 10.1093/plankt/fbm046
- Lalande, C., Moriceau, B., Leynaert, A., and Morata, N. (2016). Spatial and temporal variability in export fluxes of biogenic matter in *Kongsfjorden*. *Polar Biol.* 39, 1725–1738. doi: 10.1007/s00300-016-1903-4

- Lampitt, R. S., Salter, I., de Cuevas, B. A., Hartman, S., Larkin, K. E., and Pebody, C. A. (2010). Long-term variability of downward particle flux in the deep northeast Atlantic: causes and trends. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 57, 1346–1361. doi: 10.1016/j.dsr2.2010.01.011
- Lampitt, R. S., Wishner, K. F., Turley, C. M., and Angel, M. V. (1993). Marine snow studies in the Northeast Atlantic Ocean: distribution, composition and role as a food source for migrating plankton. *Mar. Biol.* 116, 689–702. doi: 10.1007/bf00355486
- Laurenceau-Cornec, E., Trull, T. W., Davies, D. M., Bray, S. G., Doran, J., Planchon, F., et al. (2015). The relative importance of phytoplankton aggregates and zooplankton fecal pellets to carbon export: insights from free-drifting sediment trap deployments in naturally iron-fertilised waters near the Kerguelen Plateau. *Biogeosciences* 12, 1007–1027. doi: 10.5194/bg-12-1007-2015
- Lombard, F., Guidi, L., and Kiørboe, T. (2013a). Effect of type and concentration of ballasting particles on sinking rate of marine snow produced by the Appendicularian *Oikopleura dioica*. *PLoS One* 8:e75676. doi: 10.1371/journal.pone.0075676
- Lombard, F., Koski, M., and Kiørboe, T. (2013b). Copepods use chemical trails to find sinking marine snow aggregates. *Limnol. Oceanogr.* 58, 185–192. doi: 10.4319/lo.2013.58.1.0185
- Lombard, F., and Kiørboe, T. (2010). Marine snow originating from appendicularian houses: age-dependent settling characteristics. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 57, 1304–1313. doi: 10.1016/j.dsr.2010.06.008
- Long, M., Moriceau, B., Gallinari, M., Lambert, C., Huvet, A., Raffray, J., and Soudant, P. (2015). Interactions between microplastics and phytoplankton aggregates: impact on their respective fates. *Mar. Chem.* 175, 39–46. doi: 10.1016/j.marchem.2015.04.003
- López, R. M., Dam, H. G., Aquino, N. A., Monteiro-Ribas, W., and Rull, L. (2007). Massive egg production by a salp symbiont, the poecilostomatoid copepod *Sapphirina angusta* Dana, 1849. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 348, 145–153. doi: 10.1016/j.jembe.2007.04.005
- Mackas, D., and Bohrer, R. (1976). Fluorescence analysis of zooplankton gut contents and an investigation of diel feeding patterns. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 25, 77–85. doi: 10.1016/0022-0981(76)90077-0
- Maiti, K., Charette, M. A., Buesseler, K. O., and Kahru, M. (2013). An inverse relationship between production and export efficiency in the Southern Ocean. *Geophys. Res. Lett.* 40, 1557–1561. doi: 10.1002/grl.50219
- Malej, A., and Harris, R. P. (1993). Inhibition of copepod grazing by diatom exudates: a factor in the development of mucus aggregates? *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 96, 33–42. doi: 10.3354/meps096033
- Mari, X., Rassoulzadegan, F., Brussaard, C. P., and Wassmann, P. (2005). Dynamics of transparent exopolymeric particles (TEP) production by *Phaeocystis globosa* under N- or P-limitation: a controlling factor of the retention/export balance. *Harmful algae* 4, 895–914. doi: 10.1016/j.hal.2004.12.014
- Mauchline, J. (1998). “Biology of calanoid copepods,” in *The Advances in Marine Biology*, eds J. Blaxter, B. Douglas, and P. Tyler, (Cambridge, MA: Academic Press).
- Mopper, K., Zhou, J., Sri Ramana, K., Passow, U., Dam, H. G., and Drapeau, D. (1995). The role of surface-active carbohydrates in the flocculation of a diatom bloom in a mesocosm. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 42, 47–73. doi: 10.1016/0967-0645(95)00004-A
- Moriceau, B., Garvey, M., Passow, U., and Ragueneau, O. (2007). Evidence for reduced biogenic silica dissolution rates in diatom aggregates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 333, 129–142. doi: 10.3354/meps333129
- Moriceau, B., Iversen, M. H., Gallinari, M., Evertsen, A.-J. O., Le Goff, M., Beker, B., et al. (2018). Copepods boost the production but reduce the carbon export efficiency by diatoms. *Front. Mar. Sci.* 5:82. doi: 10.3389/fmars.2018.00082
- Norici, A., Bazzoni, A. M., Pugnetti, A., Raven, J. A., and Giordano, M. (2011). Impact of irradiance on the C allocation in the coastal marine diatom *Skeletonema marinoi* sarno and zingone. *Plant Cell Environ.* 34, 1666–1677. doi: 10.1111/j.1365-3040.2011.02362.x
- Nowald, N., Iversen, M. H., Fischer, G., Ratmeyer, V., and Wefer, G. (2015). Time series of in-situ particle properties and sediment trap fluxes in the coastal upwelling filament off Cape Blanc Mauritania. *Prog. Oceanogr.* 137, 1–11. doi: 10.1016/j.pcean.2014.12.015
- Orefice, I., Chandrasekaran, R., Smerilli, A., Corato, F., Caruso, T., Casillo, A., et al. (2016). Light-induced changes in the photosynthetic physiology and biochemistry in the diatom *Skeletonema marinoi*. *Algal Res.* 17, 1–13. doi: 10.1016/j.algal.2016.04.013
- Pakhomov, E. A., Perissinotto, R., and McQuaid, C. D. (1996). Prey composition and daily rations of myctophid fishes in the Southern Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 134, 1–14. doi: 10.3354/meps134001
- Parsons, T. R., Maita, Y., and Lalli, C. M. (1984). “Determination of chlorophylls and total carotenoids: spectrophotometric method,” in *A Manual of Chemical and Biological Methods For Seawater Analysis*, eds T. R. Parsons, Y. Maita, and C. M. Lalli, (Oxford: Pergamon Press), 101–112.
- Passow, U. (2002). Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Prog. Oceanogr.* 55, 287–333. doi: 10.1016/S0079-6611(02)00138-136
- Passow, U., and Alldredge, A. L. (1995a). 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
- Passow, U., and Alldredge, A. L. (1995b). Aggregation of a diatom bloom in a mesocosm: the role of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 42, 99–109. doi: 10.1016/0967-0645(95)00006-C
- Passow, U., and Carlson, C. (2012). The biological pump in a high CO₂ world. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 470, 249–271. doi: 10.3354/meps09985
- Passow, U., and De La Rocha, C. L. (2006). Accumulation of mineral ballast on organic aggregates. *Glob. Biogeochem. Cycles* 20:GB1013. doi: 10.1029/2005GB002579
- Perissinotto, R., and Pakhomov, E. A. (1996). Gut evacuation rates and pigment destruction in the Antarctic krill *Euphausia superba*. *Mar. Biol.* 125, 47–54. doi: 10.1007/BF00350759
- Perissinotto, R., and Pakhomov, E. A. (1998). The trophic role of the tunicate *Salpa thompsoni* in the Antarctic marine ecosystem. *J. Mar. Syst.* 17, 361–374. doi: 10.1016/S0924-7963(98)00049-9
- Ploug, H., Terbrüggen, A., Kaufmann, A., Wolf-Gladrow, D., and Passow, U. (2010). A novel method to measure particle sinking velocity in vitro, and its comparison to three other in vitro methods. *Limnol. Oceanogr. Methods* 8, 386–393. doi: 10.4319/lom.2010.8.386
- Pondaven, P., Gallinari, M., Chollet, S., Bucciarelli, E., Sarthou, G., Schultes, S., et al. (2007). Grazing-induced changes in cell wall silicification in a marine diatom. *Protist* 158, 21–28. doi: 10.1016/j.protis.2006.09.002
- Prairie, J. C., Montgomery, Q. W., Proctor, K. W., and Ghiorso, K. S. (2019). Effects of phytoplankton growth phase on settling properties of marine aggregates. *J. Mar. Sci. Eng.* 7:265. doi: 10.3390/jmse7080265
- Prieto, L., Sommer, F., Stibor, H., and Koeve, W. (2001). Effects of planktonic copepods on transparent exopolymeric particles (tep) abundance and size spectra. *J. Plankton Res.* 23, 515–525. doi: 10.1093/plankt/23.5.515
- R Core Team (2017). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available at: <https://www.R-project.org/>
- Riebesell, U. (1991). Particle aggregation during a diatom bloom. II. Biological aspects. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 69, 281–291. doi: 10.3354/meps069281
- Roman, M. R., and Rublee, P. A. (1980). Containment effects in copepod grazing experiments: a plea to end the black box approach. *Limnol. Oceanogr.* 25, 982–990. doi: 10.4319/lo.1980.25.6.0982
- Sarthou, G., Vincent, D., Christaki, U., Obernosterer, I., Timmermans, K. R., and Brussaard, C. P. (2008). The fate of biogenic iron during a phytoplankton bloom induced by natural fertilisation: impact of copepod grazing. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 55, 734–751. doi: 10.1016/j.dsr2.2007.12.033
- Sautour, B., and Castel, J. (1993). Feeding behaviour of the coastal copepod *Euterpina acutifrons* on small particles. *Cah. Biol. Mar.* 34, 239–251.
- Schultes, S., Sourisseau, M., Le Masson, E., Lunven, M., and Marié, L. (2013). Influence of physical forcing on mesozooplankton communities at the Ushant tidal front. *J. Mar. Syst.* 109–110, S191–S202. doi: 10.1016/j.jmarsys.2011.11.025
- Schuster, S., and Herndl, G. J. (1995). Formation and significance of transparent exopolymeric particles in the northern Adriatic Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 124, 227–236. doi: 10.3354/meps124227
- Selander, E., Jakobsen, H. H., Lombard, F., and Kiørboe, T. (2011). Grazer cues induce stealth behavior in marine dinoflagellates. *PNAS* 108, 4030–4034. doi: 10.1073/pnas.1011870108

- Selander, E., Kubanek, J., Hamberg, M., Andersson, M. X., Cervin, G., and Pavia, H. (2015). Predator lipids induce paralytic shellfish toxins in bloom-forming algae. *PNAS* 112, 6395–6400. doi: 10.1073/pnas.1420154112
- Shanks, A. L. (2002). The abundance, vertical flux, and still-water and apparent sinking rates of marine snow in a shallow coastal water column. *Cont. Shelf Res.* 22, 2045–2064. doi: 10.1016/s0278-4343(02)00015-8
- Shanks, A. L., and Edmondson, E. W. (1989). Laboratory-made artificial marine snow: a biological model of the real thing. *Mar. Biol.* 101, 463–470. doi: 10.1007/bf00541648
- Shanks, A. L., and Walters, K. (1997). Holoplankton, meroplankton, and meiofauna associated with marine snow. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 156, 75–86. doi: 10.3354/meps156075
- Smerilli, A., Balzano, S., Maselli, M., Blasio, M., Orefice, I., Galasso, C., et al. (2019). Antioxidant and photoprotection networking in the coastal diatom *Skeletonema marinoi*. *Antioxidants* 8:154. doi: 10.3390/antiox8060154
- Soudant, D., and Belin, C. (2018). *Trente Années D'observation Des Micro-Algues Et Des Toxines D'algues Sur Le Littoral*. Versailles: Editions Quae.
- Stamieszkin, K., Pershing, A. J., Record, N. R., Pilskaln, C. H., Dam, H. G., and Feinberg, L. R. (2015). Size as the master trait in modeled copepod fecal pellet carbon flux. *Limnol. Oceanogr.* 60, 2090–2107. doi: 10.1002/lno.10156
- Steinberg, D. K. (1995). Diet of copepods (*Scopelatum vorax*) associated with mesopelagic detritus (giant larvacean houses) in monterey bay, California. *Mar. Biol.* 122, 571–584. doi: 10.1007/bf00350679
- Steinberg, D. K., and Landry, M. R. (2017). Zooplankton and the Ocean carbon cycle. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 9, 413–444. doi: 10.1146/annurev-marine-010814-015924
- Stemmann, L., Gorsky, G., Marty, J.-C., Picheral, M., and Miquel, J.-C. (2002). Four-year study of large-particle vertical distribution (0–1000m) in the NW Mediterranean in relation to hydrology, phytoplankton, and vertical flux. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 49, 2143–2162. doi: 10.1016/S0967-0645(02)00032-32
- Stemmann, L., Jackson, G. A., and Ianson, D. (2004). A vertical model of particle size distributions and fluxes in the midwater column that includes biological and physical processes—Part I: model formulation. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 51, 865–884. doi: 10.1016/j.dsr.2004.03.001
- Strickler, J. R. (1982). Calanoid copepods, feeding currents, and the role of gravity. *Science* 218, 158–160. doi: 10.1126/science.218.4568.158
- Svensen, C., Egge, J. K., and Stiansen, J. E. (2001). Can silicate and turbulence regulate the vertical flux of biogenic matter? A mesocosm study. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 217, 67–80. doi: 10.3354/meps217067
- Svensen, C., Nejtgaard, J. C., Egge, J. K., and Wassmann, P. (2002). Pulsing versus constant supply of nutrients (N, P and Si): effect on phytoplankton, mesozooplankton and vertical flux of biogenic matter. *Sci. Mar.* 66, 189–203. doi: 10.3989/scimar.2002.66n3189
- Taucher, J., Stange, P., Algueró-Muñiz, M., Bach, L. T., Nauendorf, A., Kolzenburg, R., et al. (2018). In situ camera observations reveal major role of zooplankton in modulating marine snow formation during an upwelling-induced plankton bloom. *Prog. Oceanogr.* 164, 75–88. doi: 10.1016/j.pocean.2018.01.004
- Tréguer, P., Bowler, C., Moriceau, B., Dutkiewicz, S., Gehlen, M., Aumont, O., et al. (2017). Influence of diatom diversity on the ocean biological carbon pump. *Nat. Geosci.* 11, 27–37. doi: 10.1038/s41561-017-0028-x
- Turner, J. T. (2002). Zooplankton fecal pellets, marine snow and sinking phytoplankton blooms. *Aquat. Microb. Ecol.* 27, 57–102. doi: 10.3354/ame027057
- Turner, J. T. (2015). Zooplankton fecal pellets, marine snow, phytodetritus and the ocean's biological pump. *Prog. Oceanogr.* 130, 205–248. doi: 10.1016/j.pocean.2014.08.005
- Vargas, C. A., Tnnesson, K., Sell, A., Maar, M., Miller, E. F., Zervoudaki, T., et al. (2002). Importance of copepods versus appendicularians in vertical carbon fluxes in a Swedish fjord. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 241, 125–138. doi: 10.3354/meps241125
- Veit-Köhler, G. (2005). Influence of biotic and abiotic sediment factors on abundance and biomass of harpacticoid copepods in a shallow Antarctic bay. *Sci. Mar.* 69, 135–145. doi: 10.3989/scimar.2005.69s2135
- Vincent, D., and Hartmann, H. J. (2001). Contribution of ciliated microprotozoans and dinoflagellates to the diet of three copepod species in the Bay of Biscay. *Hydrobiologia* 443, 193–204.
- Vincent, D., Slawyk, G., L'Helguen, S., Sarthou, G., Gallinari, M., Seuront, L., et al. (2007). Net and gross incorporation of nitrogen by marine copepods fed on 15N-labelled diatoms: methodology and trophic studies. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 352, 295–305. doi: 10.1016/j.jembe.2007.08.006
- Wang, R., and Conover, R. J. (1986). Dynamics of gut pigment in the copepod *Temora longicornis* and the determination of in situ grazing rates. *Limnol. Oceanogr.* 31, 867–877. doi: 10.4319/lno.1986.31.4.0867
- Warwick, R. M., and Gee, J. M. (1984). Community structure of estuarine meiobenthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 18, 97–111. doi: 10.1016/j.marpolbul.2016.06.041
- Wilson, S. E., Steinberg, D. K., and Buesseler, K. O. (2008). Changes in fecal pellet characteristics with depth as indicators of zooplankton repackaging of particles in the mesopelagic zone of the subtropical and subarctic North Pacific Ocean. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 55, 1636–1647. doi: 10.1016/j.dsr2.2008.04.019
- Xiao, F., Li, X., Lam, K., and Wang, D. (2012). Investigation of the hydrodynamic behavior of diatom aggregates using particle image velocimetry. *J. Environ. Sci.* 24, 1157–1164. doi: 10.1016/S1001-0742(11)60960-60961
- Yamazaki, H., and Squires, K. D. (1996). Comparison of oceanic turbulence and copepod swimming. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 144, 299–301. doi: 10.3354/meps144299
- Yoon, W. D., Kim, S. K., and Han, K. N. (2001). Morphology and sinking velocities of fecal pellets of copepod, molluscan, euphausiid, and salp taxa in the northeastern tropical Atlantic. *Mar. Biol.* 139, 923–928. doi: 10.1007/s002270100630
- Young, S., Palm, M., Grover, J. P., and McKee, D. (1997). How Daphnia cope with algae selected for inedibility in long- running microcosms. *J. Plankton Res.* 19, 391–397. doi: 10.1093/plankt/19.3.391

Conflict of Interest: 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.

The handling Editor declared a past co-authorship with one of the authors, BM.

Copyright © 2019 Toullec, Vincent, Frohn, Miner, Le Goff, Devesa and Moriceau. 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) and the copyright owner(s) 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.

Bilan

La **Figure 3.1** résume de manière schématique l'influence des copépodes et plus particulièrement de leurs traits fonctionnels associés (chez *E. acutifrons* et *C. heloglandicus*) sur la formation d'agrégats de diatomées et le potentiel impact sur le flux de particules.

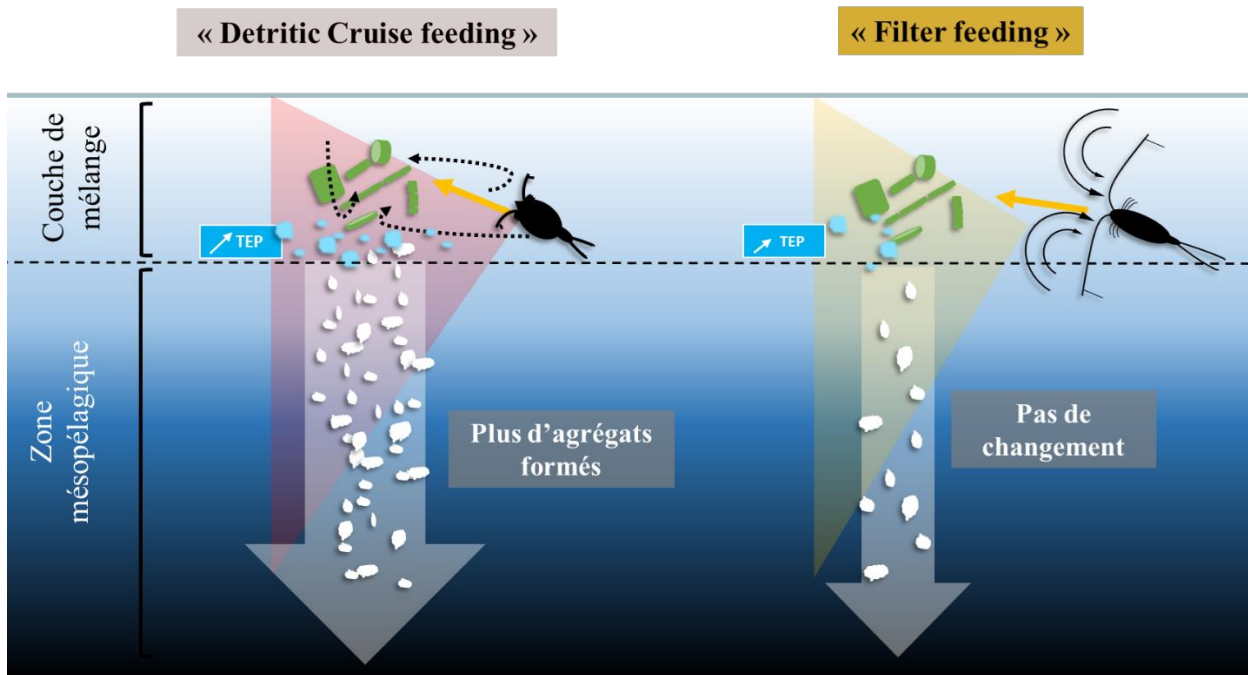


Figure 3.1 : Résumé schématique de l'influence des copépodes sur la formation d'agrégats de diatomées.

La **Figure 3.2** résume de manière schématique l'influence des copépodes et plus particulièrement de leurs traits fonctionnels associés (chez *T. longicornis*, *A. clausi* et *C. heloglandicus*) sur la dynamique des agrégats et le potentiel impact sur le flux de particules.

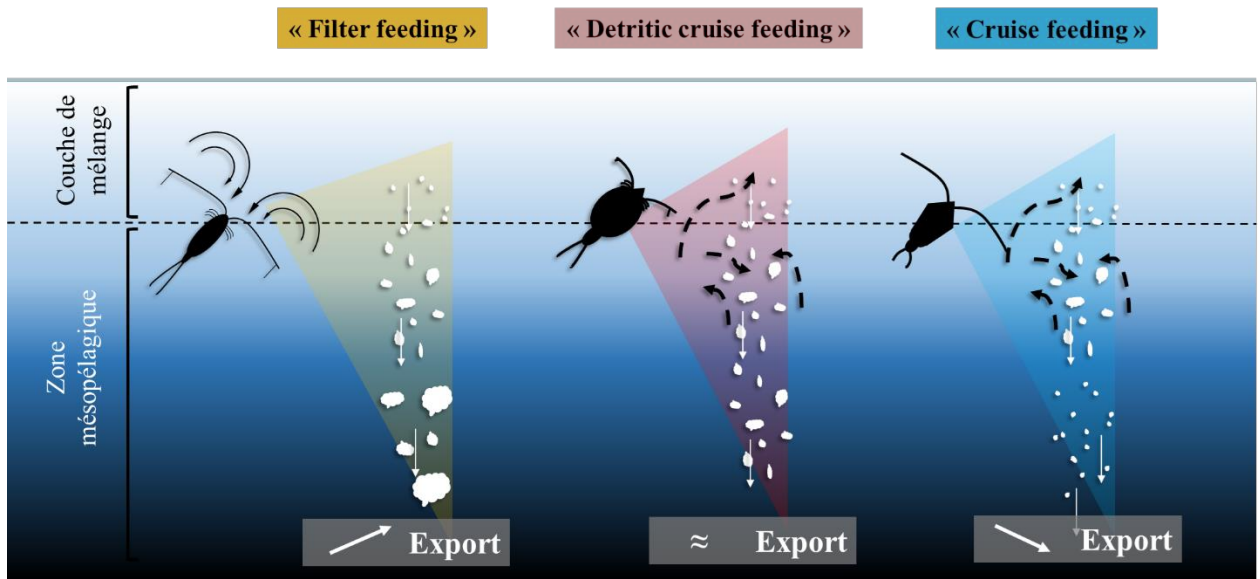
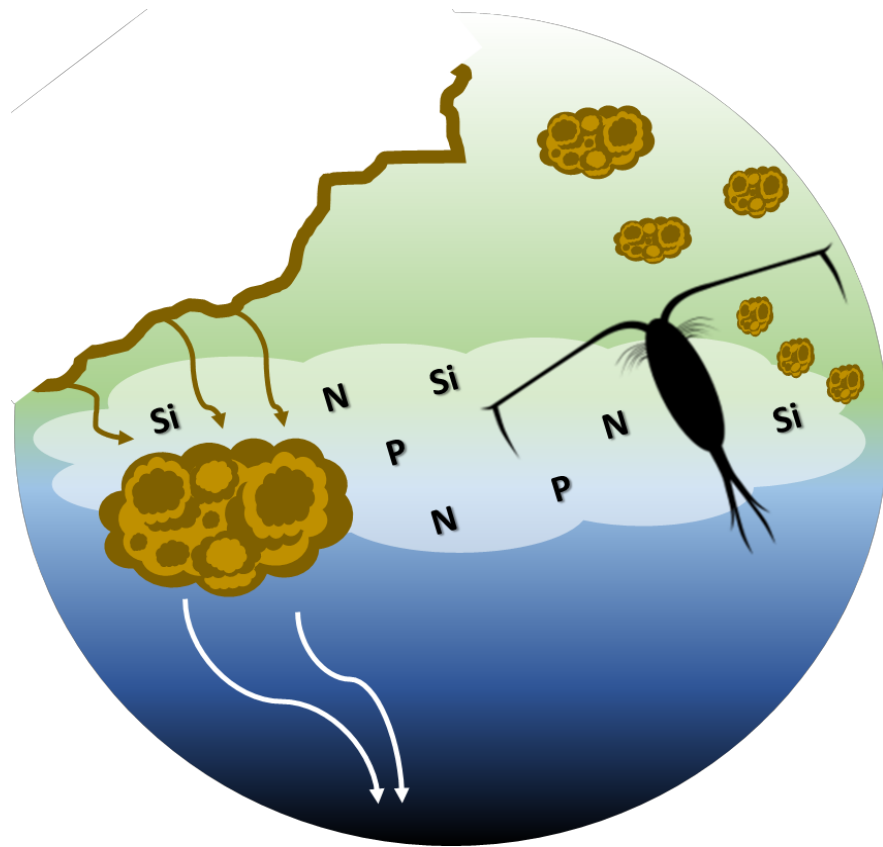


Figure 3.2 : Résumé schématique de l'influence des copépodes sur la dynamique des agrégats de diatomées (fragmentation et réagrégation).

IV. L'export de carbone en Baie de Baffin



1. GreenEdge

L'objectif principal du projet de recherche GreenEdge est de comprendre la dynamique de l'efflorescence printanière du phytoplancton (EPP) et de déterminer son rôle dans l'océan Arctique de demain, incluant également les populations humaines. Les principaux enjeux scientifiques soulevés par GreenEdge sont:

- De comprendre les processus clés physiques, chimiques et biologiques qui contrôlent ou qui sont contrôlés par l'EPP.
- D'identifier les espèces clés du phytoplancton impliqués dans l'EPP et d'en modéliser leurs croissances sous différentes conditions environnementales.
- De prédire le devenir de l'EPP, ainsi que du transfert de carbone à travers le réseau trophique et au sein de la colonne d'eau, jusqu'au sédiment.

Le projet GreenEdge a donné lieu à deux années de suivi en un point fixe en Baie de Baffin (Camp de glace 2015 et 2016, **Figure 4.1**). Et une campagne océanographique en Baie de Baffin à bord du brise-glace canadien NGCC Amundsen, en 2016 (**Figure 4.2**).

Au cours de ce **Chapitre IV**, il sera question de la campagne à bords du NGCC Amundsen en 2016. Plus particulièrement du traitement des données d'imagerie quantitative des particules le long de sept transects réalisés lors du retrait de la glace de mer et de la progression de l'EPP.

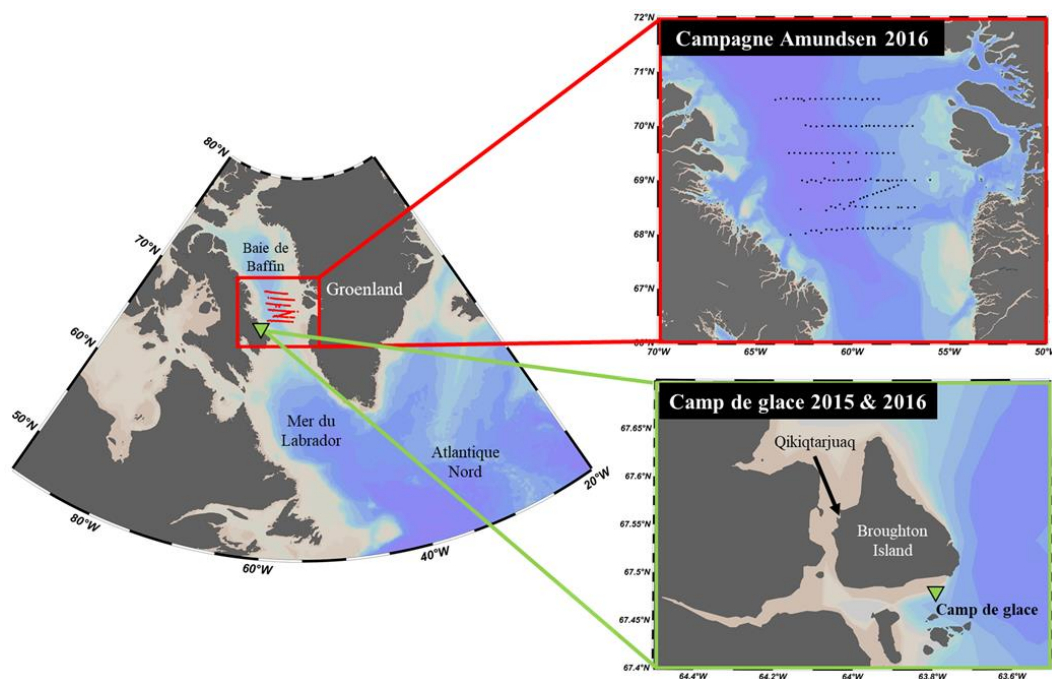


Figure 4.1 : Zone d'échantillonnage du projet GreenEdge en Baie de Baffin.



Figure 4.2 : Brise-glace NGCC Amundsen. Crédit photo: Fisheries and Oceans Canada P. Dionne.

2. L'imagerie quantitative des particules avec L'UVP5 (Underwater Video Profiler) :

L'imagerie quantitative *in situ* des particules et plus particulièrement du zooplancton à connu un essor considérable ces dernières années (Lombard et al., 2019). L'UVP5 est un instrument d'imagerie sous-marine dont les principales fonctions sont de quantifier et de déterminer la taille des particules marines et du zooplancton (Picheral et al., 2010). Il contient un appareil photo de 1.3 Mégapixel (Picheral et al., 2010), un capteur de pression et d'angle et peut être déployé jusqu'à des profondeurs de 6000 m (Figure 4.3). La source de lumière (LED rouge) stroboscopique est synchronisée avec l'appareil photo (Figure 4.3). La durée de flash permet une vitesse de descente de l'instrument dans la colonne d'eau allant jusqu'à $1,5 \text{ m s}^{-1}$ sans détérioration de la qualité des images. Le traitement des images est automatisé et réalisé par le système au cours de la remontée. Les objets dans chaque image sont détectés et énumérés automatiquement par un logiciel embarqué. Les principales fonctions de l'UVP5 sont de quantifier et de déterminer la taille des particules marines $> 600 \mu\text{m}$ (Picheral et al., 2010) et d'identifier et de quantifier le zooplancton $> 600 \mu\text{m}$. Le volume d'échantillon nécessaire à l'obtention d'une image par l'UVP5 est de 1 L, les images sont enregistrées tous les 5 à 20 cm le long du profil vertical. Ainsi 5 m^3 d'eau de mer sont échantillonnés sur un profil de 500 m. Les images acquises sont analysées par le logiciel ZooProcess® (Gorsky et al., 2010).

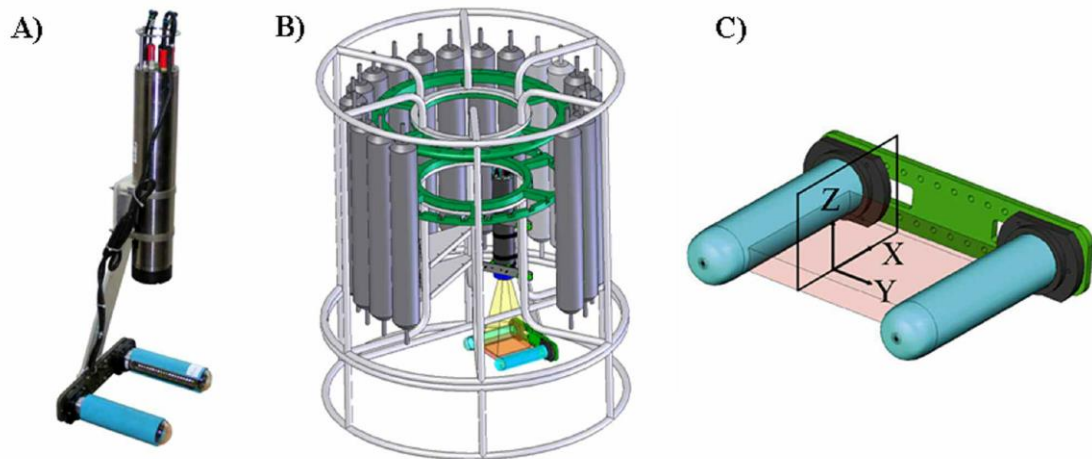


Figure 4.3 : A) UVP5 seul. B) L'UVP5 monté sur une rosette CTD C) Schémat de la source lumineuse à LED rouge (Picheral et al., 2010).

Une fois les données acquises (images et métadonnées associés). L'utilisation du logiciel EcoTaxa 2.0, basé sur un algorithme de tri va permettre de classer les images dans différentes catégories.

3. *EcoTaxa 2.0* :

EcoTaxa est une application web dédiée à l'exploration visuelle et l'annotation taxinomique des images issues d'appareil d'imagerie quantitative et qualitative du plancton (UVP, ZooScan, Flowcam...). Un taxon est défini comme une entité constitutionnelle permettant de classer un organisme ou un ensemble d'organismes vivants dans un groupe bien défini. Les organismes d'un même taxon sont regroupés selon des caractères taxinomiques ou diagnostiques (qui ressemble le plus à qui) bien définis, le plus souvent selon des critères phylogénétiques (qui est le plus proche « parent » de qui).

a. *Obtention des données* :

Les images une fois acquises sont enregistrées sur une banque de données, dans laquelle chaque image est associée à un ensemble de métadonnées sur l'échantillon (Nom de la campagne, projet, longitude, latitude, profondeur, date d'acquisition...) ainsi que des métadonnées sur l'image elle-même (nombre de pixels, aire de l'objet, échelle de pixel, dimensions fractales...). La base de données EcoTaxa, ainsi que le module EcoPart permettent d'explorer les banques d'images de manière libre pour les projets sans accès restreint (eg : Tara Oceans Project 2009-2013,

CASSIOPEE Project 2015, UAF Project 2015, GOA Project 2015, SARGASSO Project 2014...) et d'en exporter les données (**Figure 4.4**).

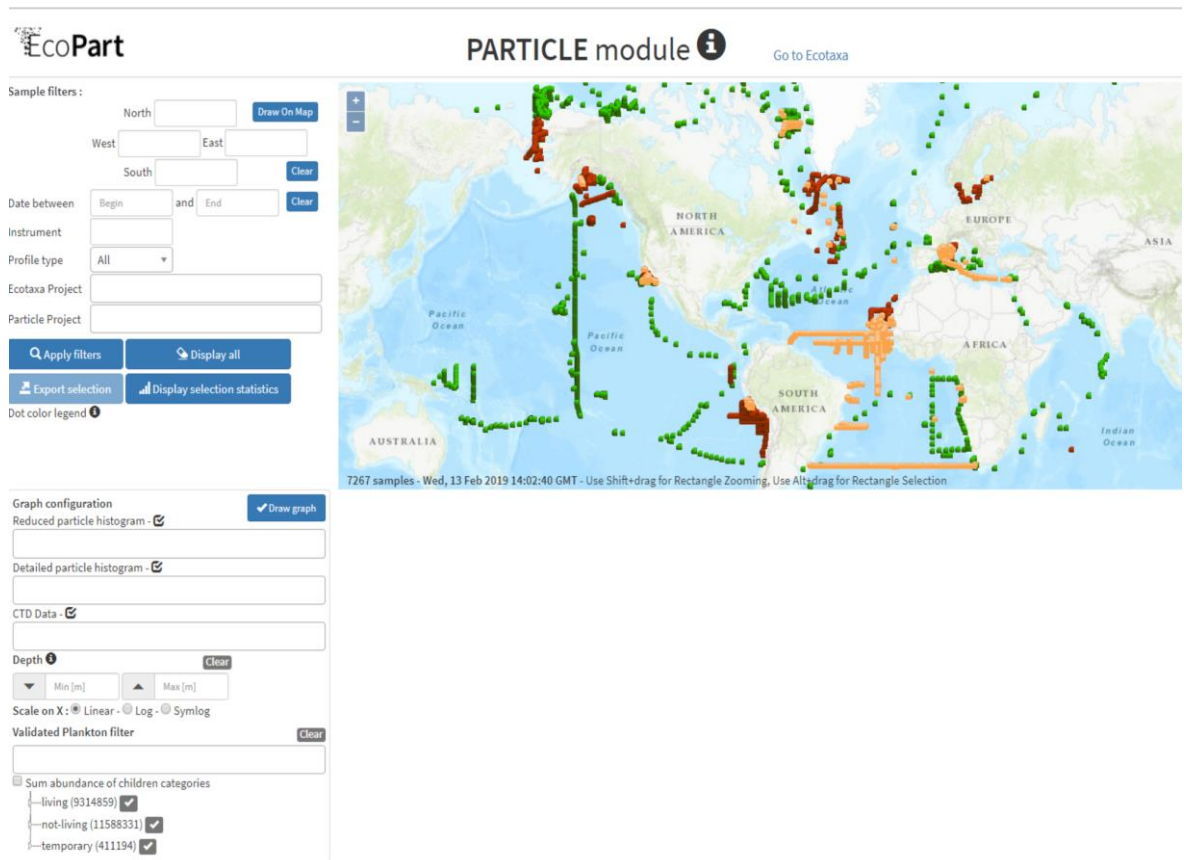


Figure 4.4 : Ensemble des points dans lesquels des prélèvements d'imagerie quantitative de particule ont été réalisés. Les points verts correspondent à des stations dont les fichiers sont librement téléchargeables. Les points oranges correspondent à des stations dont les fichiers contiennent des données manquantes ou cachées. Les points rouges correspondent à des profils dont seules les données hydrographiques (CTD et particules totales exportés) sont disponibles.

b. Taxinomie du zooplancton par apprentissage:

Le “deep learning”, “data learning” ou “machine learning” est défini comme un ensemble de méthodes d'apprentissage automatique pouvant interpréter ou modéliser avec un haut niveau de précision des données. Dans notre cas, un tri dans des catégories de particules basées sur la reconnaissance de la forme des objets, leurs tailles et leurs transparences (niveau de gris). Un travail collaboratif dans l'identification des taxons d'organismes planctoniques par une communauté d'expert contribue à enrichir la reconnaissance automatique des images par le logiciel.

Ainsi, l'identification des objets photographiés par l'UVP5 se fait de manière quasiment automatique sur EcoTaxa, l'ayant droit sur le projet doit alors valider les objets qui ont été classés

dans les bonnes catégories. Plus il y a d'objets assignés à une catégorie, mieux le logiciel reconnaît la forme et arrive donc à la discriminer d'une autre forme (**Figure 4.5**).

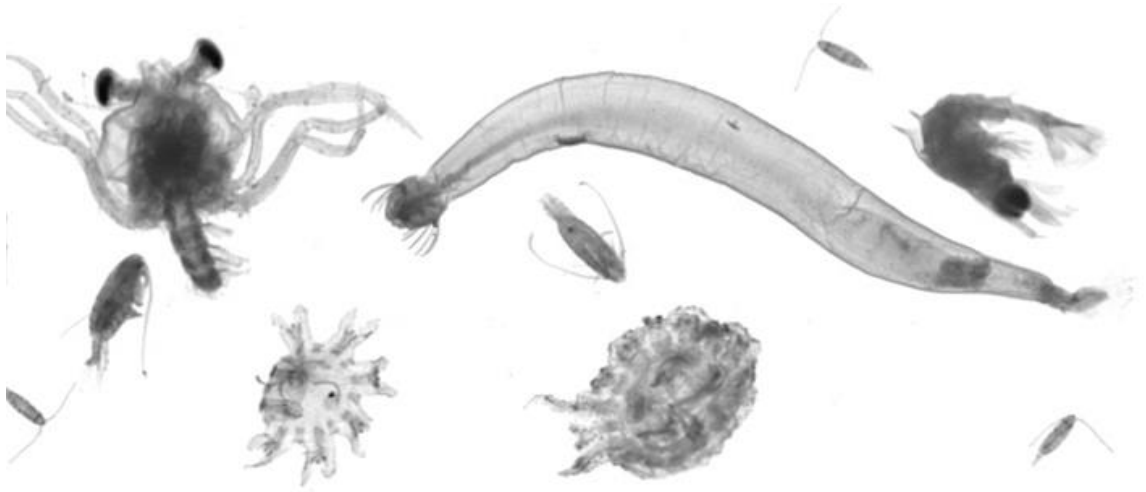


Figure 4.5 : Exemple d'images acquises par l'UVP5.

4. Préambule

Nous avons vu dans le **Chapitre II**, que les limitations en nutriment qui surviennent en fin d'efflorescence, ou bien prédites par le réchauffement global, pouvaient modifier à la fois la physiologie des diatomées, mais également l'activité alimentaire des copépodes. Nous avons également constaté dans le **Chapitre III**, qu'il existait des interactions alimentaires entre les copépodes et les agrégats qui composent la neige marine. L'exploitation des données de la campagne GreenEdge 2016 en Baie de Baffin va nous permettre de comparer les profils de distributions entre les agrégats et les copépodes, lors de la progression temporelle de l'efflorescence printanière phytoplanctonique.

L'objectif de ce quatrième chapitre est de répondre aux questions suivantes:

→ **Quels sont les paramètres hydrologiques et biologiques qui contrôlent la formation d'agrégats lors de l'efflorescence phytoplanctonique en Baie de Baffin ?**

→ **Quel est le « devenir » des agrégats ?**

→ **Les copépodes influencent-ils la distribution de la neige océanique ?**

Dans ce **Chapitre IV**, correspondant à un article en cours de préparation pour soumission dans *Elementa: Science of the Anthropocene*, j'ai exploité des données acquises par imagerie quantitative et qualitative des particules *in situ* (l'UVP5), que j'ai croisé avec les données

hydrologiques (couverture de glace, concentration en bSi, chlorophylle *a*, nutriments...) et biologique (composition de l'assemblage phytoplanctonique).

Toullec, J., Moriceau, B., Vincent, D. & Guidi L. (In Prep). Processes controlling aggregate formation and distribution during diatom spring bloom in the Baffin Bay. (*Elementa: Science of the Anthropocene*)

5. Résumé de la publication

Au cours des dernières décennies, l'océan Arctique a été affecté par le changement climatique et la modification de la couverture de glace de mer, ce qui influence directement l'efflorescence printanière du phytoplancton, le réseau trophique associé ainsi que la séquestration du carbone. Au cours de l'expédition GreenEdge 2016 à bord de l'Amundsen dans la partie centrale de la baie de Baffin, l'efflorescence printanière du phytoplancton pélagique et son développement ont été suivis au cours de sept transects entre la glace de mer et l'eau libre couvrant une large zone de la baie de Baffin. Dans cette étude, nous avons identifié des processus qui contrôlent l'agrégation du phytoplancton, grâce à l'analyse de profils de distribution en agrégats et copépodes, obtenus par l'UVP5 (*Underwater Vision Profiler 5*), déployés le long des transects. Nos résultats ont révélé un schéma séquentiel entre le retrait de la glace de mer, la production du phytoplancton, la formation et la distribution des agrégats. Tout d'abord, sous la glace de mer, l'efflorescence du phytoplancton pélagique commence lorsque l'intensité lumineuse permet la photosynthèse. Ensuite, après la fonte de la glace de mer, le phytoplancton (principalement les diatomées et *Phaeocystis* spp.) bénéficie de la disponibilité en lumière et de l'environnement stable pour croître. Enfin, le phytoplancton épuise le stock de nutriments en augmentant sa biomasse. Lorsque les stations sont limitées par les silicates en premier, les cellules phytoplanctoniques entrent en agrégation. En fin d'efflorescence, les agrégats sont plus nombreux en profondeurs, ce qui suggère une sédimentation massive sous la couche de mélange. Les copépodes semblent suivre les agrégats en profondeur à la fin d'efflorescence.

6. Publication: Processes controlling aggregate formation and distribution during the Arctic phytoplankton spring bloom in the Baffin Bay

Processes controlling aggregate formation and distribution during the Arctic phytoplankton spring bloom in the Baffin Bay

Jordan Toullec¹, Brivaëla Moriceau¹, Dorothée Vincent² & Lionel Guidi³

¹Univ Brest, CNRS, IRD, Ifremer, LEMAR, F-29280 Plouzané, France

²Office Française de la Biodiversité (OFB), Direction Surveillance, Evaluation Données (DSUED), Service Écosystèmes et Usages du Milieu Marin (ECUMM), site de Brest - Espace Giraudeau, Quai Tabarly, 29200, Brest, France.

²Sorbonne Universités, UPMC Université Paris 06, CNRS, Laboratoire d'Océanographie de Villefranche (LOV) UMR7093, Observatoire Océanologique, Villefranche-sur-Mer, France.

Abstract: In the last decades, the Arctic Ocean has been affected by climate change, and sea ice cover alteration that directly influence phytoplankton spring bloom, the associated trophic food web and carbon sequestration. During the GreenEdge 2016 expedition in the Central Baffin Bay, the pelagic phytoplankton spring bloom and its development has been monitored along seven transects between the sea ice and the open water. In this study, we identified some processes driving phytoplankton aggregation, using aggregate and copepod distribution profiles, obtained by underwater video profiler (UVP5) deployed on the transects. Our results revealed a sequential pattern between sea ice retreat, phytoplankton production, aggregates production and distribution. Firstly, under sea ice, ice algae bloom and pelagic phytoplankton started to grow when light intensity allowed photosynthesis. Secondly, after sea ice melting, phytoplankton (e.g diatoms and *Phaeocystis* spp. as dominant groups), benefitted from the light availability and the stable environment to bloom. Thirdly, phytoplankton depleted nutrient stocks by increasing their biomass. At most, silicate limitation start first, driving aggregation of the phytoplankton cells more than nitrate limitation. Aggregates became more numerous with a maximum abundance progressively deepening suggesting massive sinking below the mixing layer. Copepods seems to follow aggregates at depth at the end of the phytoplankton bloom.

Keywords: Marine snow, aggregates, diatoms, *Phaeocystis* spp., copepods, sea ice, Arctic spring bloom, UVP5, Baffin Bay.

a) Introduction

Sea ice is an essential component in global biogeochemical cycles of Polar ecosystems (Vancoppenolle et al., 2013). Indeed, the ice cover supports the polar marine food web. Ice algae are preyed upon by small planktonic crustaceans (e.g: krill and copepods), the latter being themselves preyed by higher trophic levels such as fishes, birds and mammals (Nielsen and Hansen, 1995; Hansen et al., 1996; Darnis et al., 2008, 2012, 2017). Reversely, unconsumed or partially consumed organic matter produced under the ice, sinks through the water column as senescent algae, aggregated algae, appendicularian houses or faecal pellets. This organic matter can either be consumed by benthic feeders, be buried in sediment, or be sequestered for more or less large time scale in deep waters (Leu et al., 2011; Wassmann et al., 2011; Forest et al., 2018). Open water phytoplankton bloom in the water column generally occurs after ice melts (Søreide et al., 2010; Randelhoff et al., 2019). The timing for the succession of the first bloom in the ice and the second in the open water, determines the reproduction and the growth of the grazer (Søreide et al., 2010). Sea ice bloom is limited by light which are controlled by the sea ice thickness, the snow cover (Tedesco et al., 2019) and terminate when the ice melt. The second bloom starts while light intensity, and its intensity depends on nutrients (Tremblay et al., 2006). The resulting produced biomass is controlled by additional factors such as the timing of the bloom (Søreide et al., 2010; Leu et al., 2011) and the surface ocean temperature (Feng et al., 2016).

The sea ice cover of the Arctic Ocean has dramatically changed during the last decades, and the consequences for the ecosystem remain difficult to predict. The Arctic Ocean and more specifically the sea ice cover and thickness is expected to be strongly affected by global warming (Comiso, 2002; Stroeve et al., 2007; Comiso et al., 2008; Kwok and Rothrock, 2009; Screen and Simmonds, 2010; Vihma, 2014). Moreover, in that context the Arctic Ocean, and more widely the polar seas exert an unexpected feedback on global climate change (IPCC, Masson-Delmotte et al., 2019). With sea ice declining over the last decades, a decrease of the total amount of organic matter produced under sea ice is envisaged with a possible collapse of the whole trophic food web and related biogeochemical processes (Arrigo and Dijken, 2011; Arrigo, 2014). The decrease of sea ice will affect the timing of summer plankton bloom, by mismatching between ice algae and pelagic blooms (Janout et al., 2016), and the following pelagic bloom occurring after the sea ice retreat, with consequences on the whole food web (Tedesco et al., 2019).

Baffin Bay is located at the Arctic Ocean's doorstep, and is a heterogeneous environment where different currents flow in opposite direction: a warm and salty northwards current, and cold and relatively fresh southward flowing along the West coast of the bay (Tang et al., 2004). The circulation affects both stratification regime and biogeochemical environment in both sides of the bay (Tang et al., 2004). This contrasted environment drives both phytoplanktonic community structure and production, which control the carbon transfer through the planktonic food web (Saint-Béat et al., 2020). The Bay is totally ice covered from December to March. During the Arctic spring, due to ice retreat, light gets through the water column, and rich nutrient waters inflow in the bay. Rich nutrient Atlantic water from the Greenland current, (Torres-Valdés et al., 2013), from Canadian archipelago (Coachman and Aagaard, 1974; Newton et al., 1974) and from depth thank to remineralization and vertical mixing (Tremblay et al., 2002; 2006). The combination of light, nutrients and the increase of stratification create a stable environment for pelagic phytoplankton growth in the water column (Massicotte et al., 2018, 2019; Oziel et al., 2019; Randelhoff et al., 2019). Pelagic phytoplankton spring bloom generally occurs at the ice edge but may start in the water column below the ice pack, and under sea ice cover as well (Arrigo et al., 2012, 2014; Assmy et al., 2017). Diatoms and *Phaeocystis* spp. constitute dominant components of pelagic phytoplankton assemblage in turbulent and rich nutrient content water, more particularly in the Arctic ecosystem (Smith et al., 1991; Rousseaux and Gregg, 2013; Ben Mustapha et al., 2014). Moreover, the frequency and phenology of *Phaeocystis* spp. blooms is expected to increase with global change as nutrient limitations may be enhanced as well as the input of Atlantic waters (Marchant and Thomsen, 1994; Schoemann et al., 2005; Gabric et al., 2003).

Considering the balance between particle sinking and remineralization, only large and fast sinking particles formed in the mixed layer can reach the sequestration depth (Moriceau et al., 2007), i.e. 1000 m depth considering that an efficient carbon sequestration is longer than a thousand year (Passow and Carlson, 2012). Phytoplankton carbon export is mostly supported by fast sinking aggregates settling through the water column (Turner, 2015), which typically occurs at the end of the bloom (Prairie et al., 2019; Henson et al., 2019; Cavan et al., 2019). Both diatoms and *Phaeocystis* spp. are known to form large and fast sinking aggregates (Smith et al., 1991; Riebesell, 1993; Riebesell et al., 1995; Mari et al., 2005) and thus represent key features of the carbon export in polar ecosystems (Smith et al., 1991). The succession of the ice bloom (ice-algae and within the water column), pelagic bloom (open water) and their fate through trophic or vertical transfer remains poorly understood. The understanding of what triggers the aggregation of the Arctic spring phytoplankton bloom needs to be improved. The GreenEdge project was developed

to investigate the processes controlling the timing and development of the Arctic spring phytoplankton bloom and the fate of the produced organic matter, to understand its role in the ecosystem, and improve our comprehension of the polar ecosystem under a climate change context.

This study benefited from the huge data set collected during the GreenEdge expedition to highlight the importance of hydrobiological dynamic on macroaggregates (marine snow) formation and distribution in the Baffin Bay during the spring 2016. To reach this purpose, profiling of particle abundance was undertaken using an Underwater Video Profiler (UVP5) that also allowed to investigate zooplankton groups, distribution, and their potential implications in modulating particle size spectra.

b) Methods

Sampling area: The GreenEdge cruise expedition onboard the icebreaker NGCC Amundsen was conducted from June 9 to July 10 2016 in the Baffin Bay. A total of 7 transects with 146 stations crossing an area from 55°W to 64°W and from 67°N to 71°N was undertaken (**Figure 1**).

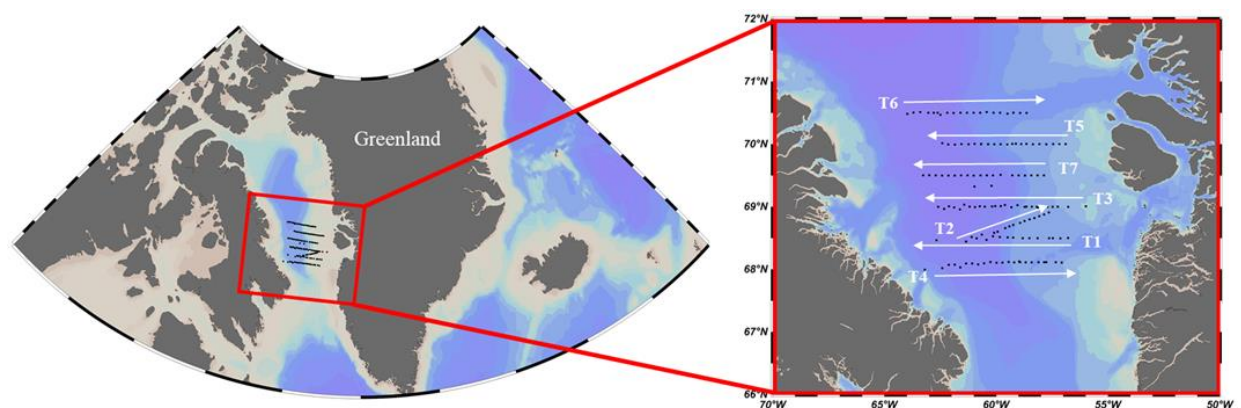


Figure 1: Study area and location of sampled stations along transects during the GreenEdge cruise. Each dots correspond to the 146 hydrologic sampled stations. White arrows represent the 7 transects, and the ship's direction.

Sea ice satellite data and open water day: Sea ice concentrations (SIC) is an index that ranges from 0 (for complete open water) to 1 (for complete ice cover). SIC data was extracted from AMSR2 radiometer daily data on a 3.125 km grid (Beitsch et al., 2014). At each station, the SIC was extracted from the closest pixel using the Euclidean distance between the ship position and the center of each pixel. For each sampling station and at each sampling time, the number of open water days (OWD) was computed. It corresponds to the number of days during which the site has

been ice free (positive values) or before the ice melt (negative values) i.e. SIC values < 0.5 (corresponding to 50% of sea ice cover).

Water sampling: Seawater was collected along CTD-frame rosette with Niskin bottles, at 7 to 14 different depths and the analyses were conducted as follows. In accordance with Randelhoff et al. (2019), the euphotic zone (Ze) was defined as the depth with a daily irradiance of photosynthetically available radiation (PAR) of $0.415 \text{ Einstein m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Randelhoff et al., 2019; Lafond et al., 2019; Massicotte et al., 2019).

Dissolved nutrients: Nutrient (NO_3^- , HPO_4^{3-} , H_4SiO_4) analyses from 44 stations covering seven transects (**Appendix 1**). Samples were taken between 0 and 350 to 2000 m depth. Samples were performed onboard on a Bran + Luebbe Autoanalyzer 3 using standard colorimetric methods (Grasshoff et al., 2009). Analytical detection limits were $0.03 \mu\text{M}$ for NO_3^- , $0.05 \mu\text{M}$ for PO_4^{3-} and $0.1 \mu\text{M}$ for H_4SiO_4 .

Biogenic silica: Biogenic silica (bSi) concentrations were measured at 28 stations covering seven transects (**Appendix 2**). Samples were taken between 0 and 350 m with one deep profile going down to 1650 m depth. For each sample, 1 L of seawater was filtered onto $0.4 \mu\text{m}$ Nucleopore polycarbonate filters. Filters were then stored in Eppendorf vials, and dried during 24 h at 60°C before being stored at room temperature. Back to the laboratory, bSi was measured by the hot NaOH digestion method of Paasche (1973) modified by Nelson et al. (1989). bSi analytical detection limits was $0.005 \mu\text{M}$.

Phytoplankton identification and counting: Identification and quantitative assessment of phytoplankton communities were carried out on 43 samples of surface (0 - 2 m depth) and SCM (the subsurface chlorophyll maximum: 15 - 44 m depth) samples from 25 stations covering seven transects (**Appendix 3**). SCM has been identified using a Seapont SCF Fluorometer for detection of chlorophyll *a*. Aliquots of 25 to 50 mL were preserved with 0.8 mL acid Lugol iodine solution in dark glass bottles, and then stored in the dark at 4°C until analyses. For each sample, counting and identification were achieved at the laboratory following the Utermöhl settling method (1931). Each sample was allowed to settle for at least 24 h and phytoplankton counts were performed by inverted microscopy (Nikon Eclipse TS100 (Utermöhl, 1958). A minimum of 400 phytoplankton cells per sample were counted at 400 magnification (see Lafond et al., 2019 for further details). As they constitute the major components of arctic ecosystem, in our data analyses the specific contributions of diatom (Baccilariophyceae) and *Phaeocystis* spp. (Prymnesiophyceae) and their carbon biomass ($\mu\text{g C L}^{-1}$) were estimated following the method provided by Lafond et al. (2019;

their supplementary materials Table S3). Concerning *Phaeocystis* spp. abundance (cell L⁻¹) were converted to biomass (µg C L⁻¹) using the carbon cell content of 14.2 pg C cell⁻¹ (Rousseaux et al., 1990).

Pigments: 521 samples were analyzed from 53 stations covering seven transects (Extended data **Appendix 4**). About 2.7 L seawater samples were filtered onto 0.7 µm pore size Whatman GF/F filters and stored in liquid nitrogen prior analysis. Then, filters were extracted in 100 % methanol, disrupted by sonication, and clarified by filtration (GF/F Whatman). Samples were analyzed the same day using high-performance liquid chromatography with an Agilent Technologies HPLC 1200 system with diode array and fluorescence detection (Ras et al., 2008).

Particle and zooplankton distribution: The vertical distribution of Large Particulate Matter (LPM > 600 µm to 2 cm) was studied using a non-destructive imaging system, the Underwater Video Profiler 5 (UVP5), designed in the Laboratoire d'Océanographie de Villefranche sur mer (LOV), France. The UVP5 is a digital camera system with columnar LED illumination at 625 nm, 100 µs flash pulses, and recording images at 6 Hz during the instrument vertical immersion (Picheral et al., 2010). The UVP5 sampling volume varied from 0.5 to 1 L and images were recorded every 5 to 20 cm along the profiles. The UVP5 device is mounted on the CTD rosette frame, and positioned at the lowest location, in order to sample minimally disturbed water upon descent profiling. The UVP5 deployments were conducted on the 146 hydrologic stations, and a total of 196 vertical profiles covering seven transects were performed during the cruise (**Appendix 5**)

Images produced by the UVP5 were recorded digitally at a rate of 12 images per second (Gorsky et al., 2000), processed with custom made image analysis software and extracted using ZooProcess® software (Gorsky et al., 2010). For all images, the major and minor axes of each object were measured and converted into biovolume (mm³) assuming that the particle-projected shape was ellipsoid. A computer-assisted method was used to classify all organisms in groups of vignettes using the Random Forest algorithm. Machine learning classification were subsequently verified manually. Vertical deployments were conducted from the surface to the bottom depth, at a decent speed of 1 m s⁻¹. In this study, marine snow aggregates and copepods distribution were analyzed along the 196 profiles. Resulting aggregate and copepod abundances were integrated over 5 m intervals, and considering the volume sampled over the intervals and the distance of the intervals, results can be expressed in number of objects m⁻³. The number of pixels represents object sizes in a 2D plan. Size and volume calibrations were conducted in a seawater tank using natural particles of different types to estimate pixels to metric unit's conversion factors (Stemmann et al., 2002; Picheral et al., 2010). Images were recorded digitally at a rate of 12 images per second and

processed with custom-made image analysis software (Gorsky and Picheral, 2000; Gorsky et al., 2000).

Marine snow aggregate image analyses: Marine snow (detritus vignettes excluding fiber sub-vignettes) were identified and characterized by irregular shape, their grainy appearance and their heterogeneity of shade. In this study, we only considered spherical aggregates, and excluded long stick shape aggregates that could be confused with fecal pellets.

Copepod image analyses: Copepod images (Copepod vignettes including copepod-like sub-vignettes) were validated by taxonomic expertise considering that the prosome shape (lengthy ovoid) is about twice longer than urosome, and the presence of 2 long and thin antennas that at least represent the double of prosome length, could be affiliated to copepods vignette.

Equivalent mixing layer consideration: In the Baffin Bay during GreenEdge 2016 expedition, equivalent mixing layer depth was not very deep (between 17 and 30 m depth) and was shown to depend on freshwater inputs due to ice melting (Randelhoff et al., 2019). This variation was neglected in our analysis and most data were averaged over a fixed equivalent mixing layer (EML) of 30 m depth (Maximum mixing layer depth in Randelhoff et al., 2019).

d) Results

Ice cover: Between June 5th and July 11th the ice cover in the Baffin Bay strongly decreased and the ice edge (SIC \approx 0.5) along 58°W of longitude on June 6th was clearly identified. It drifted between 61 and 63°W on July 11th (see Lafond et al., 2019; Randelhoff et al., 2019).

Nutrient concentrations: Sea surface nutrient concentrations (between the surface and 25-50 m depth) were characterized by strong gradients that matched SIC contours at 0.5. Two areas (59°W - 63°W; 68°N - 69°N and 63°W - 64°W; 69.5°N - 71°N) characterized by a SIC > 0.8 (totally ice covered) displayed higher nitrates concentration (from 3 to 6 μ M) than in open water regions (where nitrate concentrations were below 2 μ M). The same pattern was observed for silicate and phosphate surface concentrations, with values higher than 5 μ M for silicate and reaching 1 μ M for phosphates when the SIC > 0.8 and being less than 1 μ M for silicates and 0.2 μ M for phosphates in open water, after ice melting (**Appendix 6**). In open water, (ice-free) nutrient concentrations at the surface were low, nutrient being almost depleted (particularly silicates and nitrates).

Biogenic silica concentrations: Two spots of high bSi concentrations were observed at the surface at stations G512, G507 and G204, with values ranging from 1.55 to 1.64 μ M (**Figures 2 and 3**).

At station G204, with SIC > 0.5, we observed a decrease of bSi concentrations with depth, from 1.64 μM at the surface to 0.56 μM at 20 m depth. We observed a maximum bSi concentration at 12 m depth at station G507, with a value of 2.15 μM . At station G309, the maximum was at 20 m depth with 2.01 μM of bSi, (Black arrows on **Figures 2 and 3**). Along the transects T5 (70°N) and T3 (69°N), the higher concentrations of bSi (> 1 μM) were located in the 0-50 m and 0-25 m layers respectively. These maximum bSi concentration were associated to the low concentrations of nutrients (nitrates, silicates and phosphates) (**Figures 2 and 3; Appendix 7 and 8**). Moreover along transect T3, a deep bSi concentration maximum (> 0.5 μM) was observed below 100 m at station G300, whilst nutrient concentrations at 100 m were > 10 μM for nitrates, > 10 μM of silicates and about 1 μM of phosphates (**Figures 2 and 3; Appendix 7 and 8**).

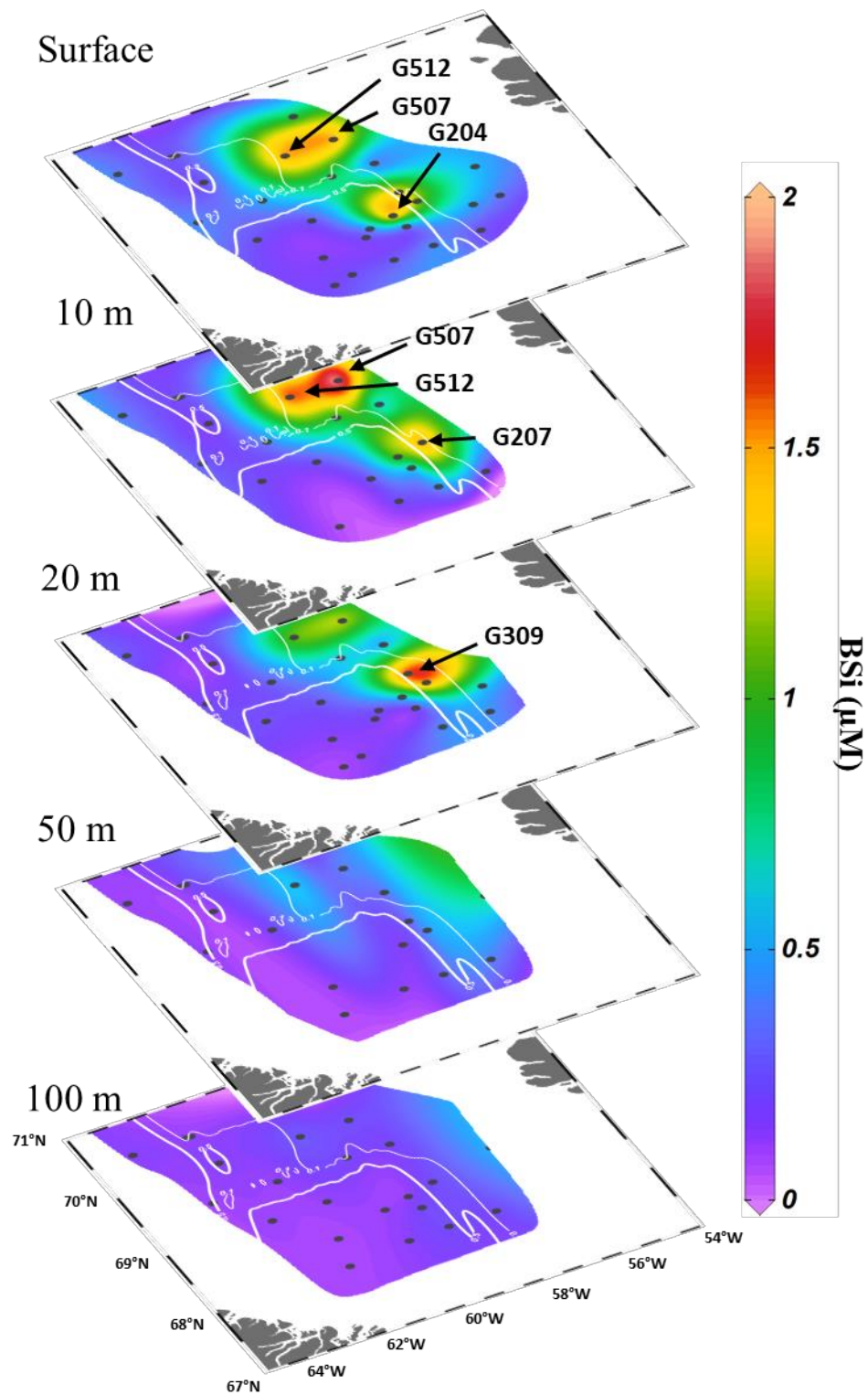


Figure 2: bSi concentrations (μM) at the sea surface (0 – 2 m depth), 10 (9 – 12 m depth), 20 (19 – 25 m depth), 50 (49 – 55 m depth) and 100 m depth. The white contour lines represent the sea ice concentration index (UA) at the surface. The stations sampled are depicted with black dots.

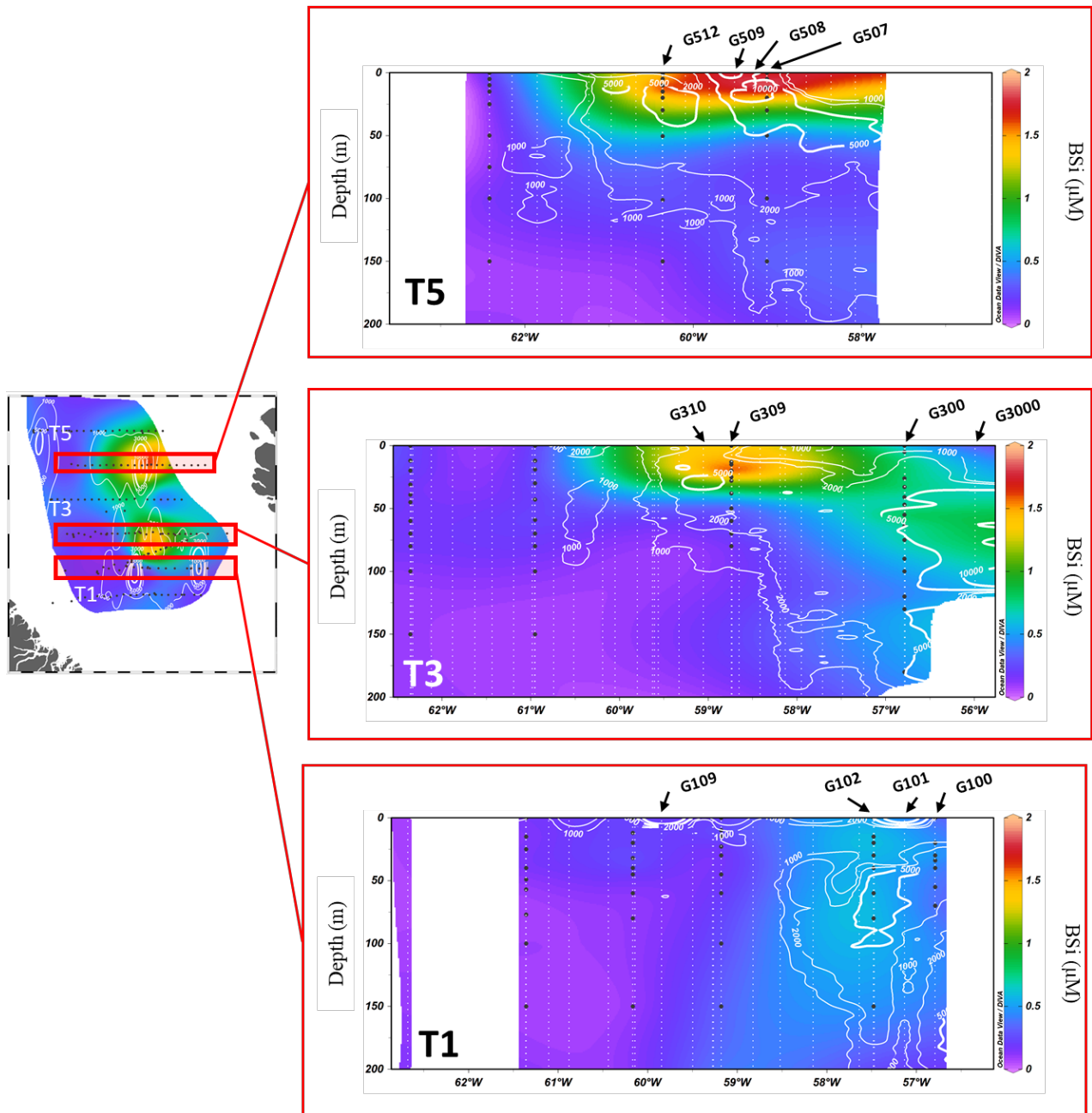


Figure 3: Vertical profiles of bSi concentrations (μM) along transect T5, T3 and T1. The black dots correspond to bSi samples, the white small dots correspond to UVP5 Integrated samples. The white contour lines correspond to aggregate abundance (agg m^{-3}).

Aggregate sizes and abundance distribution: The aggregate ESD (equivalent spheric diameter) varied from 1.05 to 5.32 mm, with a mean value of 1.28 ± 0.21 mm and a corresponding biovolume ranging between 0.60 to 78.9 mm^3 , with a mean value of $1.04 \pm 0.01 \text{ mm}^3$. The aggregate size spectra did not varied among the transects all along the cruise duration. Three stations (G509, G101 and G109) presented a maximum in aggregate abundance in the surface layer (between 0 and 5 m depth), with concentrations higher than $10\,000 \text{ agg m}^{-3}$: the open water station

G509 with 13 577 agg m^{-3} , station G101 with 13 478 agg m^{-3} and the station G109, is covered by the sea ice with 20 713 agg m^{-3} (**Figures 4 and 5**). Along transect T1, aggregate abundances were still higher than 1 000 agg m^{-3} below 50 m depth from 56.8°W to 58.5°W (**Figures 3 and 5; T1**). Maximum abundance of 11 103 agg m^{-3} at 62.5 m depth and 12 045 agg m^{-3} at 97.5 m were measured in station G102 (**Figures 3 and 5; T1**). Along the transect T3, maximum aggregate abundances were measured at 32.5 m at station G310 (7 242 agg m^{-3}), and at 102.5 m at station G3000 (11 335 agg m^{-3}) (**Figures 3 and 5; T3**). Along the transect T5, the maximum aggregate abundances were observed at 22.5 m at station G512 (11 105 agg m^{-3}), and at 17.5 m for station G508 (29 823 agg m^{-3}) (**Figures 3 and 5; T5**).

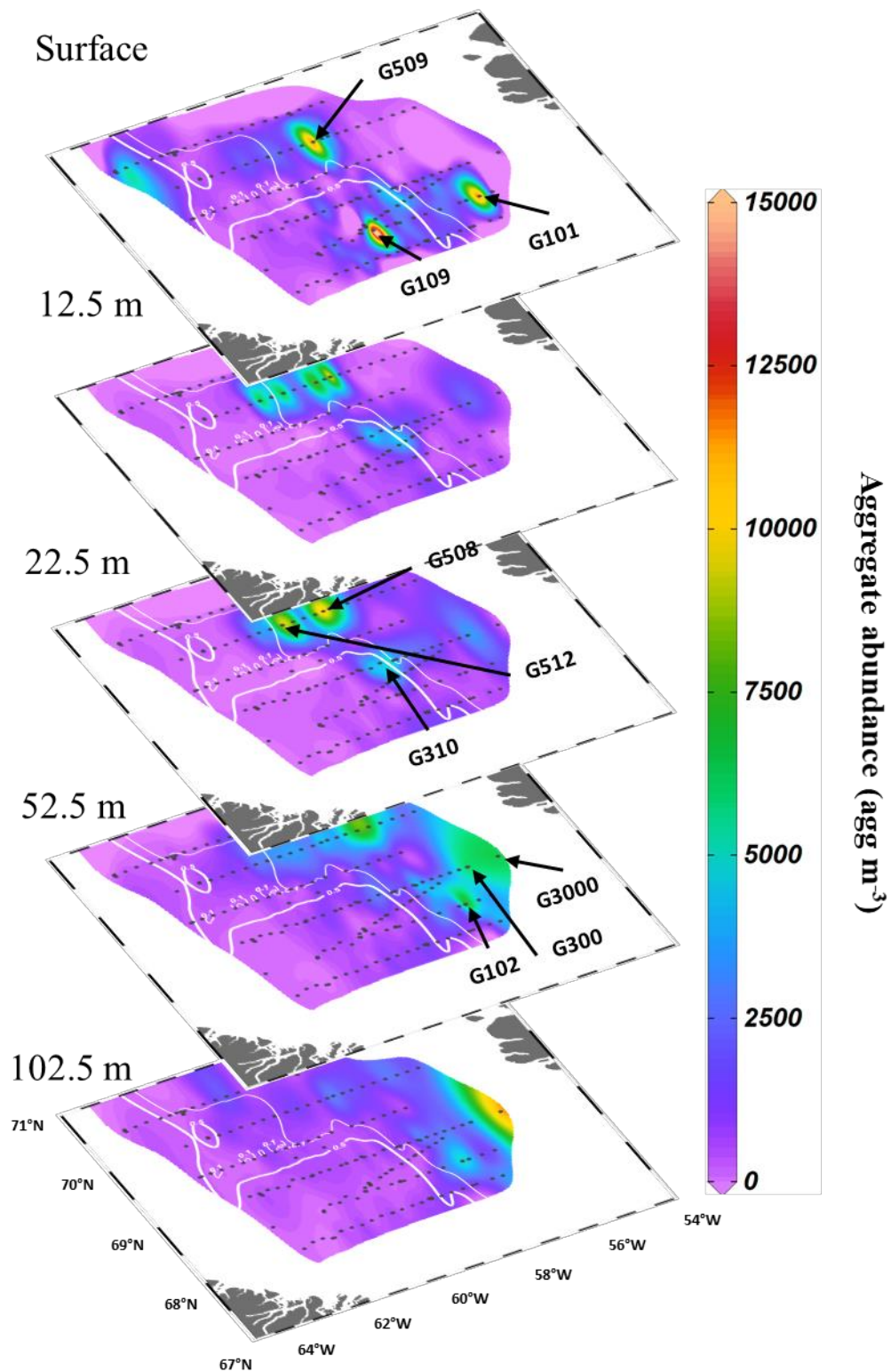


Figure 4: Aggregate abundance (agg m⁻³) integrated at the sea surface (2.5 m depth, between 0 – 5 m depth), 12.5 (10 – 15 m depth), 22.5 (20 – 25 m depth), 52.5 (50 – 55 m depth) and 102.5 (100 – 105 m depth). The white contour lines represent the sea ice concentration index (UA) at the surface. The black dots correspond to stations where UVP5 was deployed.

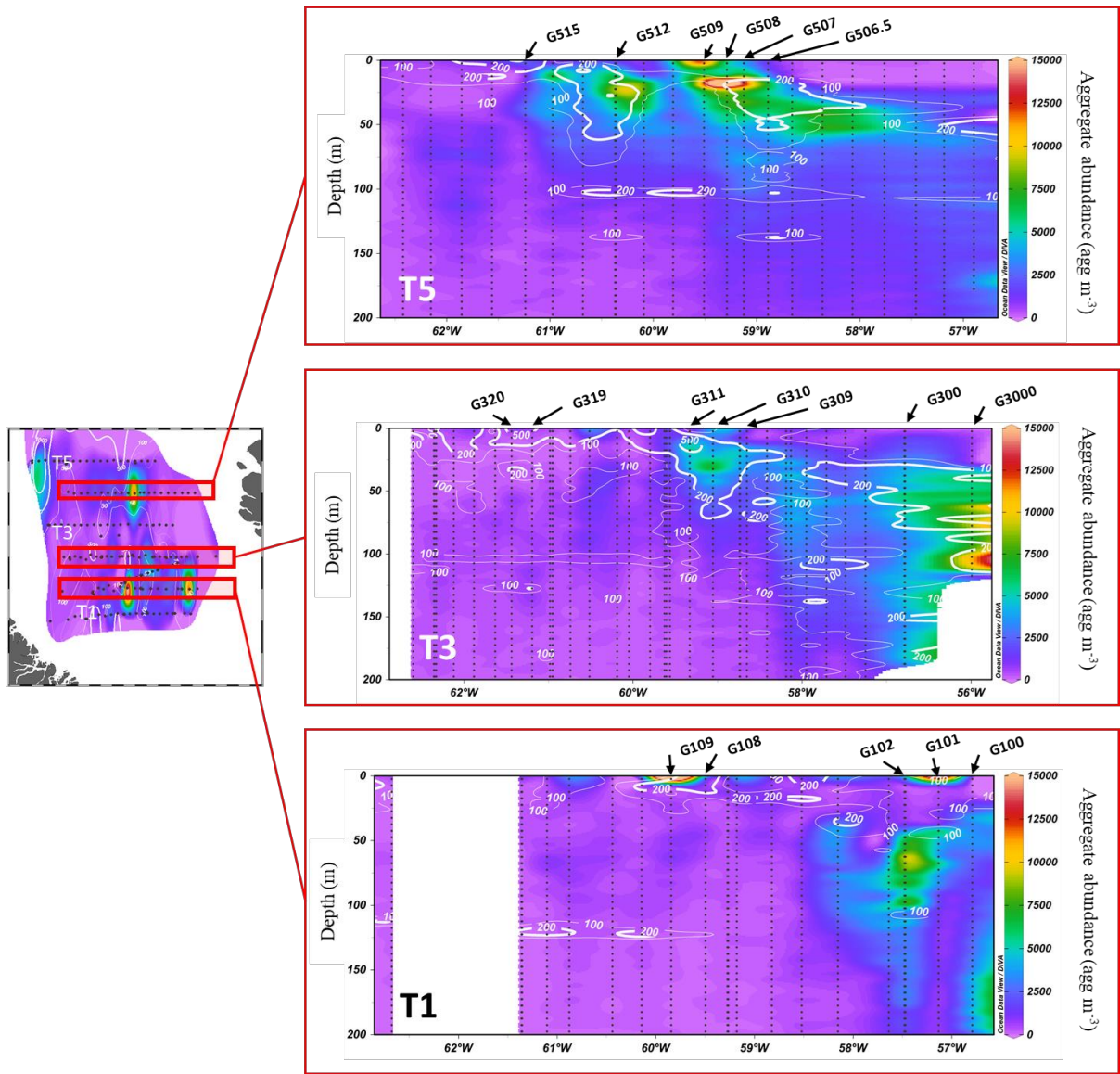


Figure 5: Vertical profiles of aggregate abundance (agg m^{-3}) along the transects T5, T3 and T1. The black dots correspond to UVP5 Integrated depth sample for both aggregate and copepod abundance. The white contour lines represent the copepod abundance (ind m^{-3}).

Pigments concentration: At the surface (0 - 2 m), Chlorophyll *a* concentrations varied from 0.01 to 4.11 $\mu\text{g L}^{-1}$, whereas phaeopigment concentrations varied from 0.001 to 0.15 $\mu\text{g L}^{-1}$ (**Figure 6**). When mean concentrations were averaged over a 30 m layer, chlorophyll *a* concentration varied between 0.06 and 3.28 $\mu\text{g L}^{-1}$, whereas phaeopigments varied from 0 (under detection limit) to 0.098 $\mu\text{g L}^{-1}$ (**Figure 6**). Surface chlorophyll maximum concentration spots are congruent with surface bSi concentration maximum (**Figures 2, 3, and 6**). We observe a gradient of phaeopigments from West to East, in both surface concentrations and mean 30 m layer concentrations.

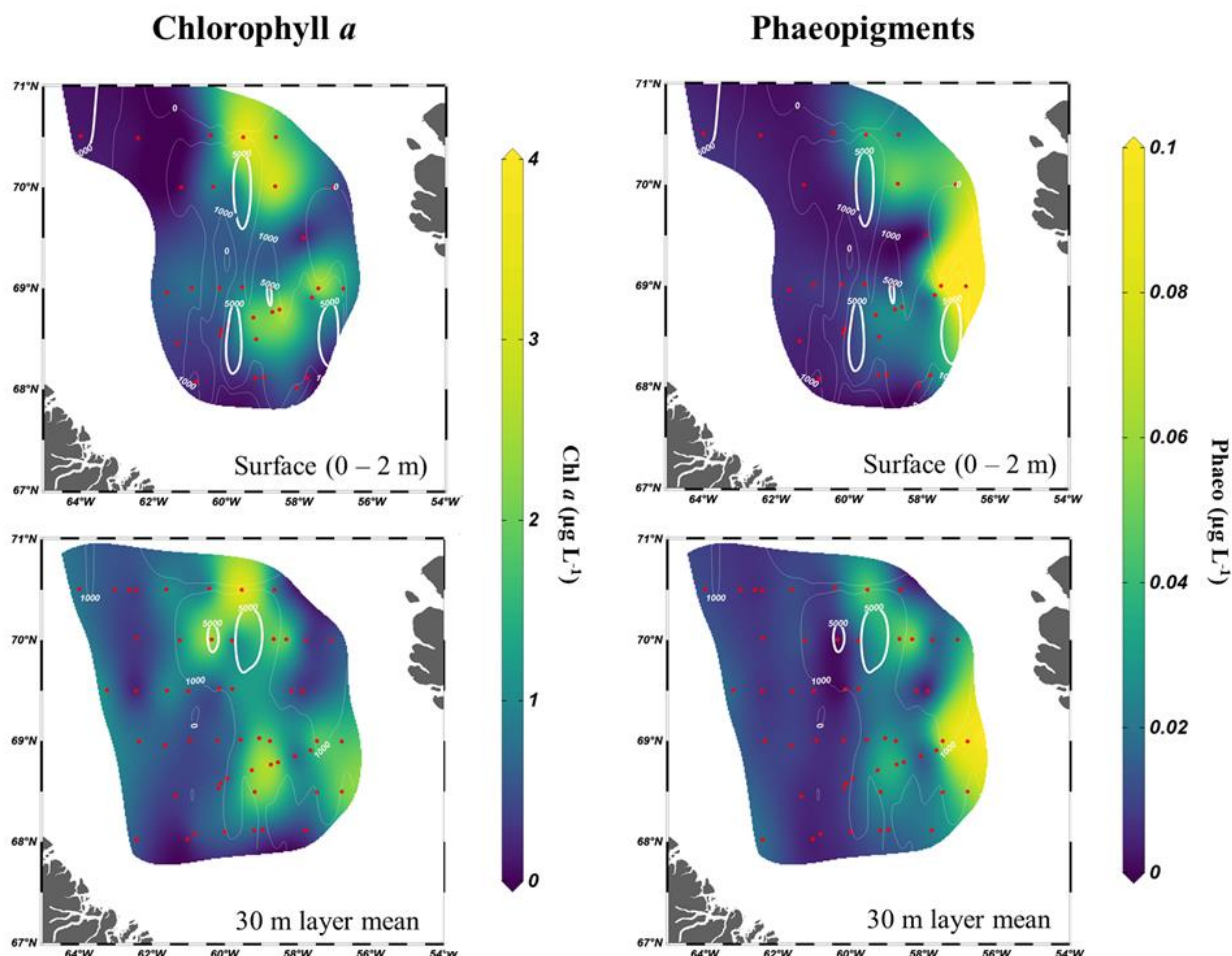


Figure 6: On the left Chlorophyll *a* concentrations ($\mu\text{g L}^{-1}$) at the sea surface (between 0 – 2 m depth) and in the 30 m layer (mean concentration). On the right Phaeopigment concentrations ($\mu\text{g L}^{-1}$) at the sea surface (between 0 – 2 m depth) and in the 30 m layer (mean concentration). The white contour lines correspond to aggregates abundance (agg m^{-3}).

Phytoplankton abundance and biomass: *Phaeocystis* spp. and diatoms constituted the bulk of phytoplankton stocks in both abundance and biomass (**Table 1; Figure 7**). Only two different depth has been sampled during the cruise: at the surface (0 - 2 m depth) and at the SCM. SCM depth varied from 12 to 44 m, and the euphotic depth varied from 15.8 to 52 m (**Table 1**). *Phaeocystis* spp. cell concentration varied from 2,772 to 11,520,432 cell L⁻¹ (with variation of biomass from 0.04 to 163 $\mu\text{g C L}^{-1}$) whereas diatom cell concentrations averaged from 1,008 to 915,594 cell L⁻¹ (with variation of biomass from 0.1 to 210 $\mu\text{g C L}^{-1}$). *Phaeocystis* spp. cell abundance at the surface were higher than diatom, with respective mean values of $1.24 \cdot 10^6 \pm 1.51 \cdot 10^6$ cell L⁻¹ and $0.14 \cdot 10^6 \pm 0.16 \cdot 10^6$ cell L⁻¹ but, due to their small size, they represented lower biomass ($18 \pm 21 \mu\text{g C L}^{-1}$ for *Phaeocystis* spp versus $30 \pm 36 \mu\text{g C L}^{-1}$ for diatoms). The mean value of *Phaeocystis* spp. biomass was higher at SCM than at the surface, with respective mean values of 30 ± 32 and $5 \pm 6 \mu\text{g C L}^{-1}$ (**Table 1; Figure 7**). This observation also held for diatoms,

with mean values of 36 ± 45 and $25 \pm 28 \mu\text{g C L}^{-1}$ respectively, for SCM and surface (Table 1; Figure 7). Maximum bSi surface concentrations spot are congruent with both maximum chlorophyll maximum concentration spots and maximum diatom carbon biomass spots (Figures 2, 3, 6 and 7).

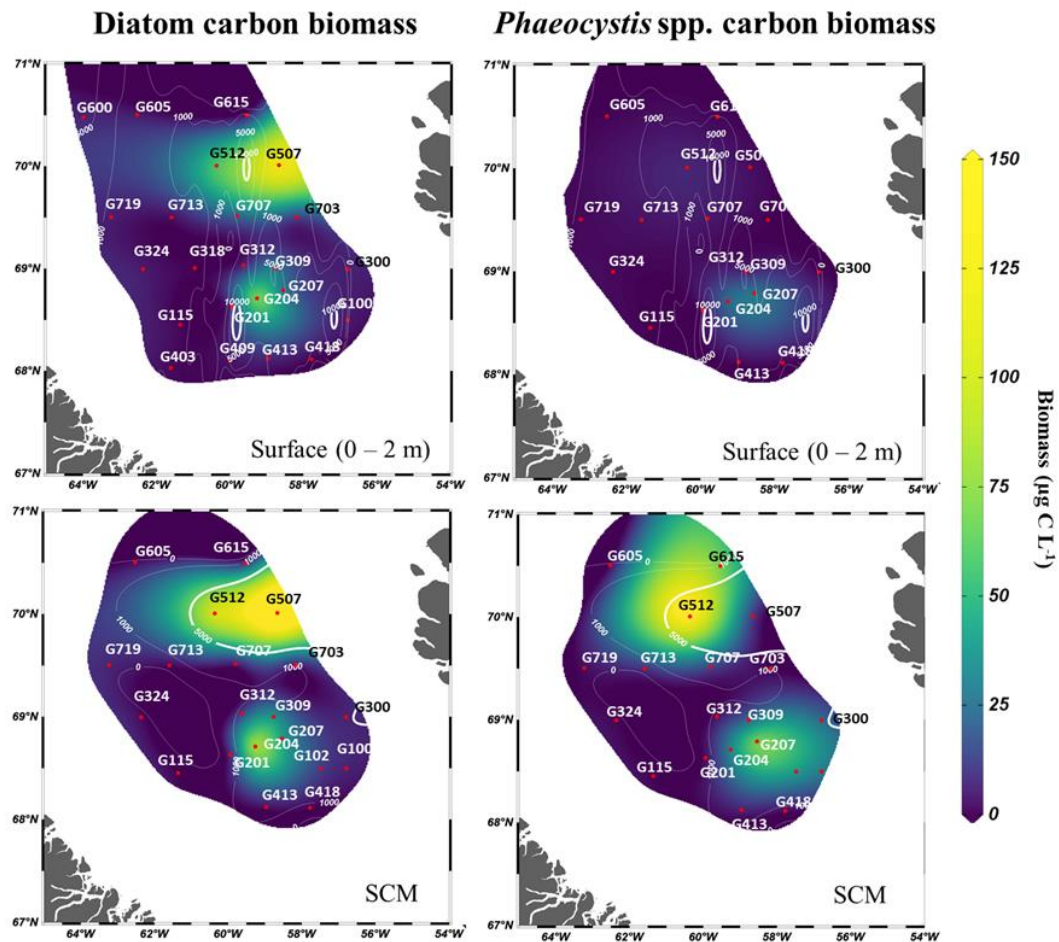


Figure 7: On the left diatom biomass ($\mu\text{g C L}^{-1}$) at the sea surface (between 0 – 2 m depth) and at the SCM (see Table 5 for each station SCM depth). On the right *Phaeocystis* spp. biomass ($\mu\text{g C L}^{-1}$) at the sea surface (between 0 – 2 m depth) and at the SCM (see Table 5 for each station SCM depth). The white contour lines correspond to aggregates abundance (agg m^{-3}).

Table 1: Major phytoplankton group counts and biomass.

Station	SCM depth (m)	Euphotic depth (m)	(Sample)	<i>Phaeocystis</i> spp.		Diatom	
				(cell L ⁻¹)	(µg C L ⁻¹)	(cell L ⁻¹)	(µg C L ⁻¹)
G100	40	41	Surface	n.a	n.a	33,800	5.4
			SCM	n.a	n.a	34,480	9.4
G102	40	33	Surface	n.a	n.a	n.a	n.a
			SCM	n.a	n.a	47,960	16.7
G115	30	31	Surface	2,772	0.04	24,696	1.4
			SCM	14,364	0.20	1,764	0.5
G201	40	31	Surface	11,340	0.16	19,656	3.7
			SCM	19,404	0.28	13,356	1.5
G204	15	22.5	Surface	2,063,628	29.30	915,594	93.6
			SCM	3,060,792	43.46	463,680	122.7
G207	15	22.5	Surface	2,351,916	33.40	78,627	26.5
			SCM	6,959,232	98.82	119,448	55.5
G300	44	n.a	Surface	29,232	0.42	16,128	6.8
			SCM	2,396,520	34.03	34,776	9.3
G309	15	29.5	Surface	400,428	5.69	256,536	36.2
			SCM	2,104,200	29.88	429,015	56.5
G312	15	15.8	Surface	78,372	1.11	18,900	3.4
			SCM	1,176,840	16.71	86,436	16.5
G318	n.a	27.5	Surface	n.a	n.a	8,920	1.2
			SCM	n.a	n.a	n.a	n.a
G324	20	21.5	Surface	85,932	1.22	48,132	5.7
			SCM	83,412	1.18	27,468	2.9
G403	n.a	40.5	Surface	n.a	n.a	18,680	1.2
			SCM	n.a	n.a	n.a	n.a
G409	n.a	27	Surface	n.a	n.a	30,000	4.2
			SCM	n.a	n.a	n.a	n.a
G413	30	n.a	Surface	75,852	1.08	21,672	7.1
			SCM	577,332	8.20	18,900	2.5
G418	30	43	Surface	24,444	0.35	1,008	0.1
			SCM	41,832	0.59	1,764	0.1
G507	12	20	Surface	172368	2.45	623,952	149
			SCM	1,050,840	14.92	610,344	210
G512	15	21	Surface	568,008	8.07	204,624	70.3
			SCM	11,520,432	163.59	483,840	135.7
G600	n.a	28	Surface	n.a	n.a	204,624	70.3
			SCM	n.a	n.a	482,840	135.7
G605	20	41.5	Surface	5,544	0.08	30,492	5.9
			SCM	58,464	0.83	43,848	2.4
G615	30	30.5	Surface	27,216	0.39	8,064	2.4
			SCM	6,636,672	94.24	30,744	10.3
G703	35	52	Surface	19404	0.28	18,396	10.5
			SCM	64,764	0.92	10,584	1.3
G707	35	32.5	Surface	336,168	4.77	184,968	25.3
			SCM	1,260,000	17.89	39312	2.6
G713	20	30.5	Surface	243,936	3.46	13,608	1.6
			SCM	859,068	12.20	7,812	0.4
G719	21	26	Surface	57,960	0.82	27,216	5.7
			SCM	181,440	2.58	105,840	9.5

Copepod abundance distribution: Maximum copepod abundances ($> 500 \text{ ind m}^{-3}$) was most often recorded above 50 m depth. Within transect T1, the maximum copepod abundance was measured at station G108 with a maximum of 407 ind m^{-3} at 2.5 m depth (**Figure 5**; T1). Within transect T3, three stations were characterized by high copepod abundance ($> 500 \text{ ind m}^{-3}$) at distinct depths : 2.5 m for stations G320 and G310, 12.5 m depth for station G311 and 37.5 m depth for station G3000 (**Figure 5**; T3). Within transect T5, the maximum copepod abundance got deeper further from the ice edge, with maximum values at 2.5 m at station G515 (507 ind m^{-3}), at 27.5 m depth, at station G512 (869 ind m^{-3}), and at 37.5 m depth for station G506.5 with 1071 ind m^{-3} (**Figure 5**; T5).

c) Discussion

Aggregation is an important event driving carbon export due to the fast sinking rate of the large particles (Turner, 2015), which are thus able to transfer the carbon toward higher trophic level (Leu et al., 2011, 2015; Wassmann et al., 2011; Forest et al., 2018). As such, aggregation controls the termination of the bloom (ice associated and pelagic). Aggregation and following massive sinking may be a very fast and punctual process (Alldredge et Gotschalk, 1989; Kiørboe et al., 1996; Prairie et al., 2019) hard to observe and predict. Aggregates are formed when two particles stick together after collision. Stickiness is a key parameter for aggregation process, generally associated to the senescence of a bloom with the presence of sticky molecules such as EPS, CSP and TEP at the cell or particle surface (Waite et al., 1995; Passow, 2000, 2002a, Cisternas-Novoa et al., 2015, 2019a, 2019b) and particle collision rate (Jackson, 1990; Riebesell, 1991, 1993).

In the Arctic both sea ice algae and pelagic algae tend to form aggregates: Large patch of phytoplankton aggregates are commonly observed under the sea ice (Assmy et al., 2013, 2017; Fernández-Méndez et al., 2014), due to exopolymeric biofilm production, the algae could get stuck under the sea ice (Lim et al., 2019). Once the ice melt, due to lipids photo-oxidation and salinity-induced bacterial stress, mass settling of this organic matter contributed to export an very large amount of carbone (Rontani et al., 2016; Amiraux et al., 2017). When ice free, organic matter produced in water column by pelagic phytoplankton communities, is also expected to form aggregates before being exported. In the water column under sea ice ($\text{SIC} > 0.5$), Randelhoff et al. (2019) measured a deep-integrated total chlorophyll *a* concentration (0 - 80 m depth) of $20 \text{ mg Chl } a \text{ m}^{-2}$, concentration peaking to $75 \text{ mg Chl } a \text{ m}^{-2}$ after 10 days of ice retreat ($\text{SIC} = 0$). This delay demonstrates the importance of ice retreat for constraining the Arctic marine primary production dynamics, and the mismatch between phytoplankton production balance under sea ice and in open waters.

We attempted to identify the drivers of the aggregate formation and distribution in the Baffin Bay during the phytoplankton spring bloom. To address this issue, we assessed the following critical points thought to be strongly linked to marine snow formation and distribution:

- 1) Hydrological parameters and aggregates distribution pattern.
- 2) Phytoplankton phenology and aggregates distribution pattern.
- 3) Spring bloom dynamic on the fate of organic matter.

i. Hydrological parameters and aggregates distribution pattern

Following our knowledge of the Arctic spring bloom dynamic comprehension, the open water days (OWD) in our study has been considered as an indicator of the temporal development of the phytoplankton bloom. The OWD of 0 represents the ice melting which is supposed to trigger the start of the most productive phase of the pelagic bloom (Arrigo et Dijken, 2011; Randelhoff et al., 2019). Positive values indicate the number of day after ice melting whereas negative values, the number of days before ice melting. However, while this parameter correctly represents the date when the available light reaches the sea surface, it cannot account for the seasonal trend in light intensity nor for the day duration or the seasonal decoupling between phytoplankton growth and grazer development. The principal component analysis (PCA, **Figure 8**) represent the environmental parameters characterizing the different sampling stations hydrological context. We distinguish two main groups: A pool of stations under sea ice (SIC > 0.5), with high nutrients concentration. A pool of stations under sea ice melting and open water (SIC < 0.5), where the euphotic layer depth increase in water column, the temperature increased, and the salinity decreased due to ice melting. When sea ice melt, pelagic phytoplankton benefits from the incoming light to growth and use the available nutrients.

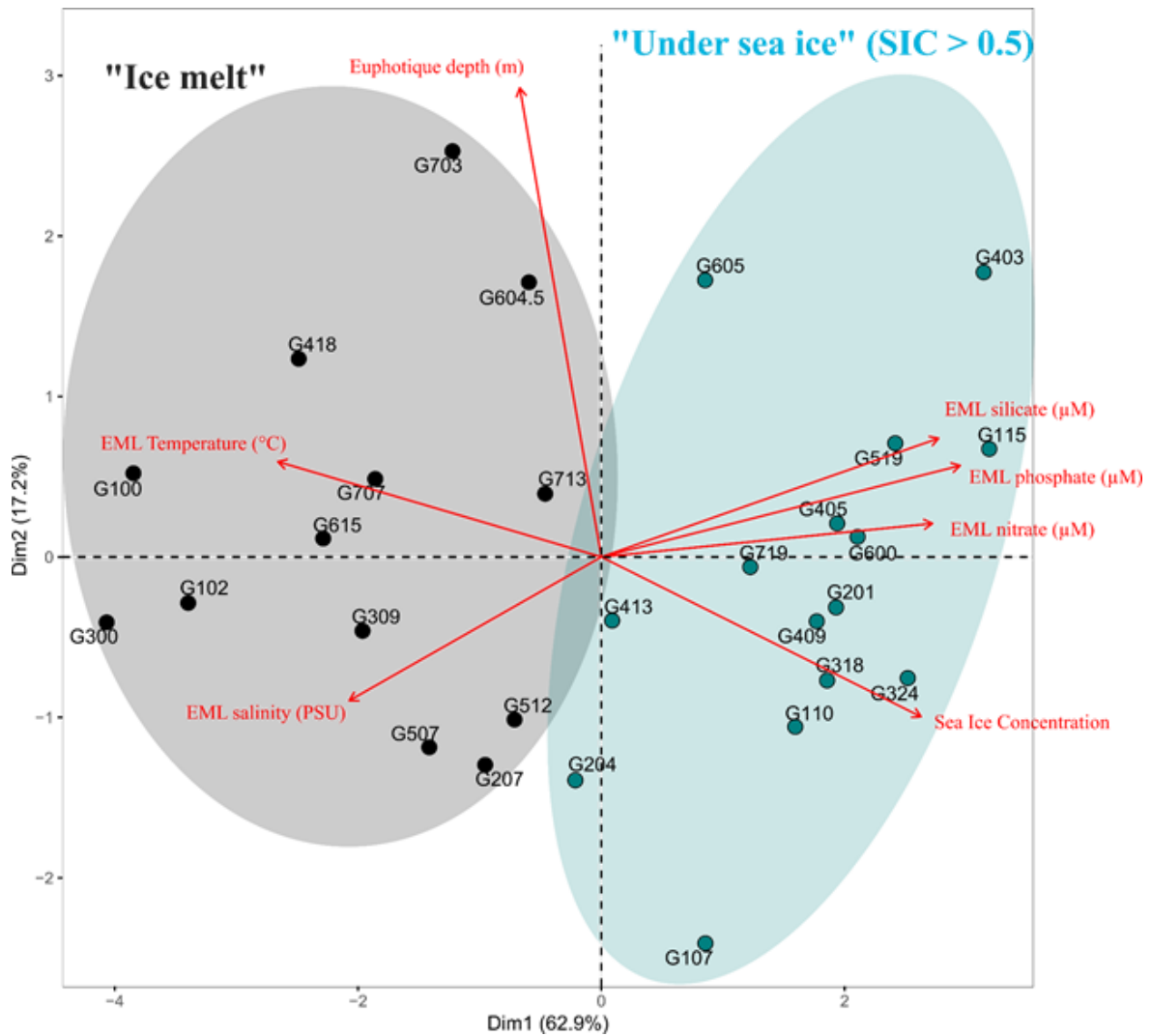


Figure 8: PCA score plot of samples (stations) and variables. Red arrows represent the following explicative variables (**Table 7**). The first dimension axis: Dim1 (x-axis) represents 62.9% of the variance. The second dimension axis: Dim2 (y-axis) represents 17.2% of the variance. EML correspond to equivalent mixing layer (presented in Randelhoff et al., 2019).

Regarding the OWD as an indicator of the temporal development of the phytoplankton bloom, we observed a rapid removal of nitrates, silicates and phosphate concentrations in surface water (mean concentration value from the surface to 30 m depth) when the SIC was below 0.5 UA (**Figure 9**).

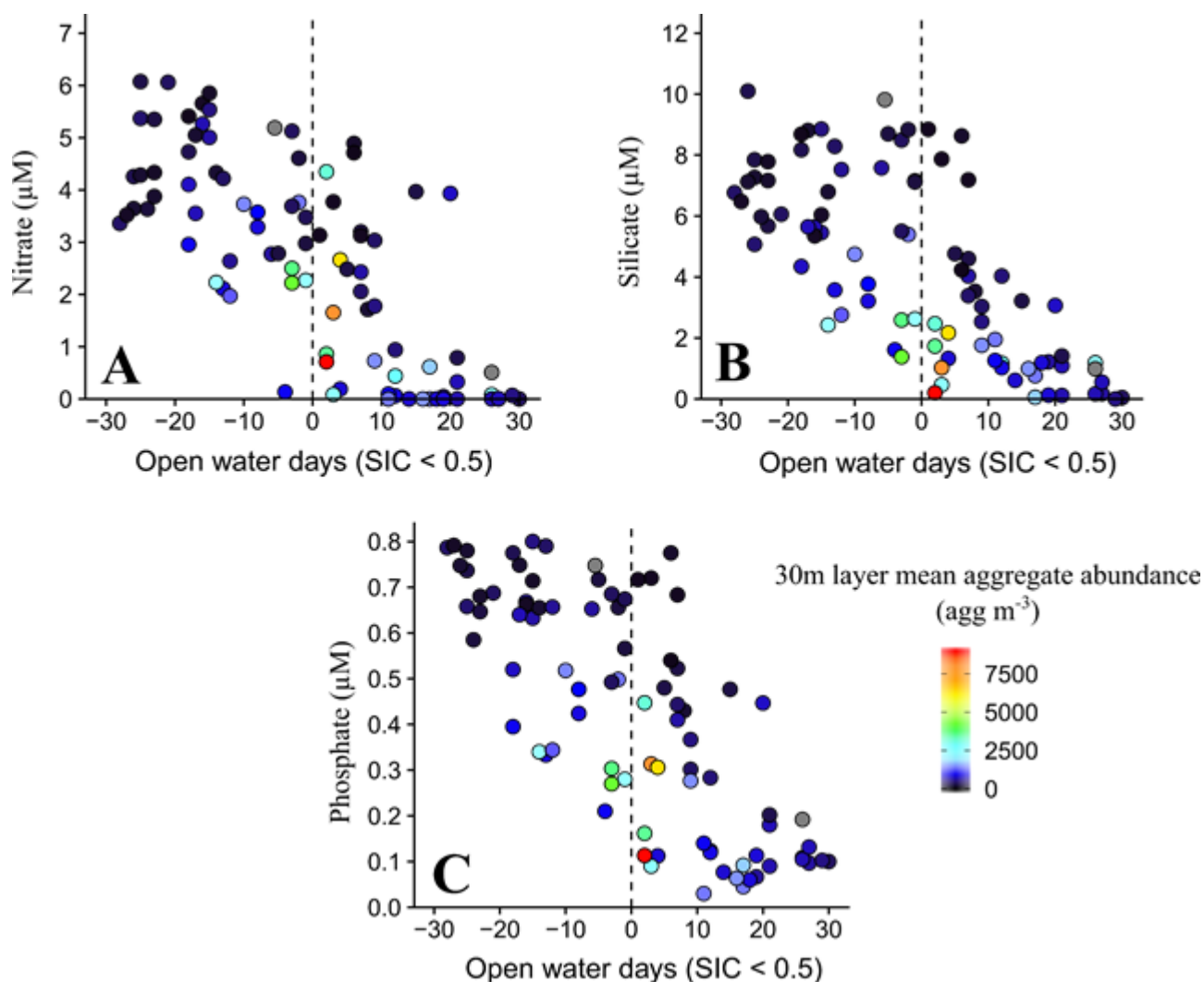


Figure 9: cross-ice melt transect. Depicted on the y-axis: the first 30 m layer mean nutrient concentrations (μM) and on the x-axis, the open water days (day) since the sea ice concentration decreased below 0.5 UA (see details in method part). **A)** The nitrate concentration: **B)** The silicate concentration and **C)** The Phosphate concentration. Each point correspond to dissolved nutrients sampled stations. Color represent the 30 m layer mean aggregate abundance (in agg m^{-3}).

Figure 9 showed the progressive nutrient depletion from stations under the sea ice ($\text{OWD} < 0$) to open water stations ($\text{OWD} > 0$), confirming that nutrient uptake by phytoplankton community strongly deplete nutrient stocks in surface waters. The consumption of silicates over the OWD also highlighted the important contribution of diatom species to phytoplankton. Limitation may start as soon as nutrient concentrations dropped below the half saturation constant K_s or when the ratios between nutrients deviated from Redfield and Brzezinski ratios (Redfield, 1934; Brzezinski, 1985). These constants represent the concentrations at which phytoplankton growth start to be limiting. A literature review for diatoms can be found in Sarthou et al. (2005), with mean K_s values for silicates of $0.2 - 22 \mu\text{M}$, $0.02 \pm 10.2 \mu\text{M}$ for nitrates and $0.01 \pm 8.9 \mu\text{M}$ for phosphates. The high variations may result from the diversity of the diatom species (related to the size) considered and the variety of environmental factor such as temperature, in the many sites

studied (Sarthou et al., 2005). However, none of the species was from the Arctic Ocean. Krause et al. (2018) measured lower K_s constants for silicates in the European part of the Arctic Ocean, with a minimum of 0.8 ± 0.3 at the Polar Front (about 77°N) and between 2.1 and 2.5 μM among the other studied station in Svalbard region (above 77°N). In modelling approach studies, K_s used for arctic planktonic ecosystem is lower than 2 μM for silicates (1.15 μM in Zhang et al., 2010) or even less (e.g 0.5 μM for nitrates and silicates for the Barents Sea in Slagstad and Støle-Hansen, 1991). Silicate concentrations below 2 μM and/or nitrate concentrations below 1.5 μM may be expected to limit diatom growth. Using these K_s values, except for few stations, nitrate was the first limiting nutrient ($< 1.5 \mu\text{M}$) globally starting to be limiting 2 to 10 days after the ice melting (**Figure 9**) and being almost depleted after 10 days. During these 10 days, silicates dropped from 8 to 1 μM , starting to be limiting from 1 to 10 days after the ice melt (**Figure 9**). This is congruent with *Phaeocystis* spp. bloom simultaneously with diatom bloom. Indeed both *Phaeocystis* spp. and diatoms require nitrates, but only diatoms require silicates. From this perspective, the highest abundance of aggregates in the mixing layer were all located at the ice edge, long before the total nutrient depletion (**Figure 9**). The stations with the highest aggregate abundance in the mixing layer, all had concentrations higher than the estimated K_s for nitrates (about 0.5 to 4.5 μM) but were all around the value of the K_s measured for silicates in the Arctic by Krause et al. (2018) (about 2 μM , **Figure 9**). Both nitrogen and silicon limitations could lead to trigger aggregate formation in the EML, as they increase mucus production that enhanced the stickiness (e.g: ESP, TEP, see references mentioned above). In our dataset, nutrient depletion occurred after aggregate formation. Silicon limitation as defined by K_s values seems to be more related to high aggregate abundance in the EML than nitrate limitations.

Figure 10 displays the main potential nutrient limitations at each station in relation to aggregate formation in the EML, using the N:P and Si:N ratios (Redfield, 1934; Brzezinski, 1985). No station seemed to be phosphorus limited and globally, most of the stations were firstly nitrogen limited (**Figure 10**).

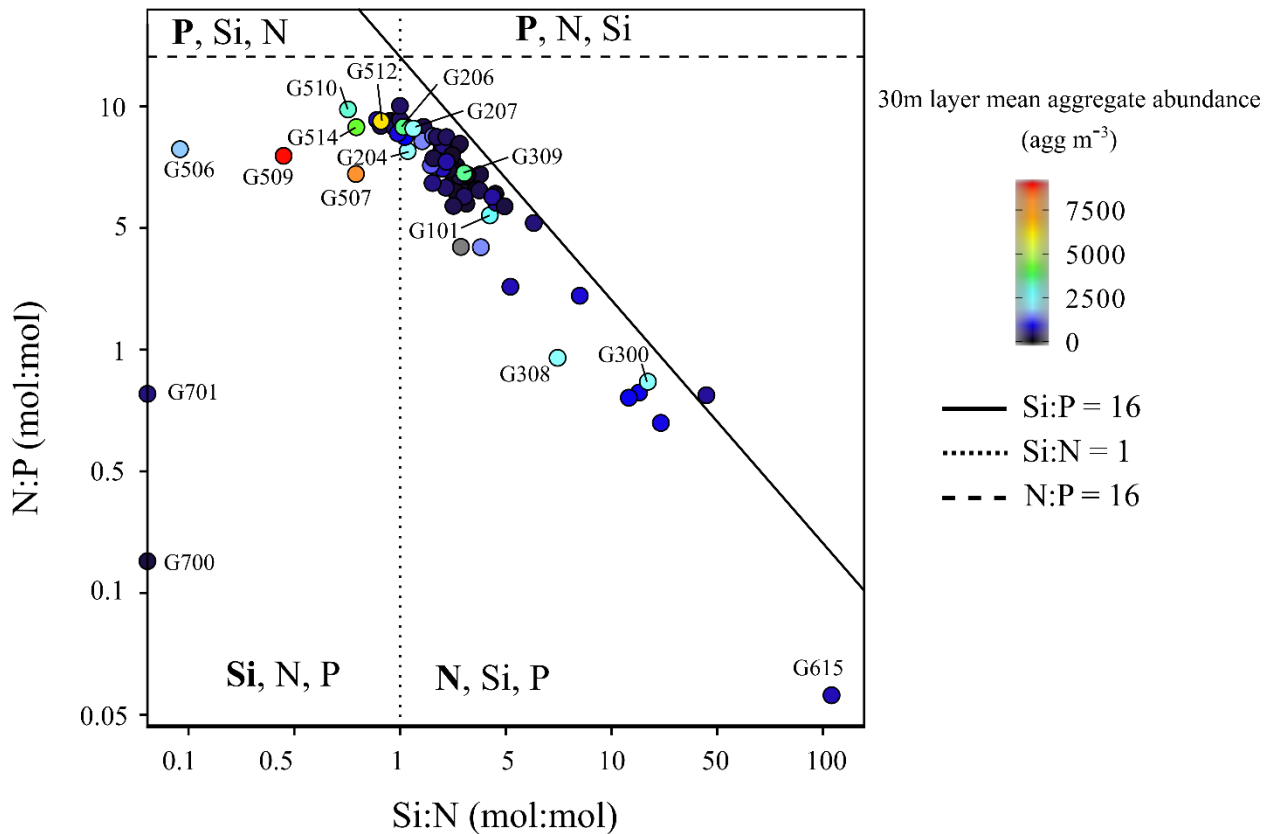


Figure 10: Mean N:P and Si:N ratios over 30 m layer during the GreenEdge cruise. Color scale represents the 30 m layer aggregate abundance (agg m^{-3}) for each station. The axes are expressed in logarithmic scale. Area were delimited using the Redfield (1934) ratios N:P, and Brzezinski (1985) ratios for Si:N and Si:P. The potential limiting nutrients are reported in order of priority.

Only several stations firstly limited by nitrogen considering Brzezinsky Si:N ratio, presented high aggregate abundance (stations G101, G206, G207, G300, G308 and G309; **Figure 10**). Almost all station firstly limited by silicon (stations G204, G506, G507, G509, G510 and G512) presented high aggregate abundance in the EML with aggregate concentrations reaching up to 8900 agg m^{-3} in the EML. At the two stations (G700 and G701) where silicon was limiting, observations showed relatively low aggregate abundances in the EML. These stations were sampled 30 days after ice melting, the formed aggregates had plenty of time to settling and were most probably removed from the EML. At stations with the highest aggregate abundance, silicon was the first limiting nutrient, and hence constituted the first diatom stress and might had contributed to aggregates formation process in the EML.

bSi concentration is a diatom indicator (Brzezinski et Nelson, 1995; Nelson et al., 2002; Quéguiner et al., 1997; Tréguer et al., 1991). Our data confirm this statement regarding the match between maximal bSi concentration, diatom biomass and chlorophyll *a* concentration spots (**Figures 2, 3, 6 and 7**). The depletion of silicon in station represented by the highest aggregate

abundance (Figures 9 and 10). Considering bSi as a diatom proxy, the Figure 11 confirmed the implication of diatom in aggregate formation processes. Diatom aggregate formation has been often linked to nutrient limitations (Jackson & Lochmann, 1992; Alldredge & Gotschalk, 1989; Waite et al., 1995). Moreover, comparing distribution patterns of nutrient and bSi concentrations with OWD, we globally allowed to validate this index tool (OWD, see method) describe the temporal evolution of the phytoplankton bloom (Figure 11).

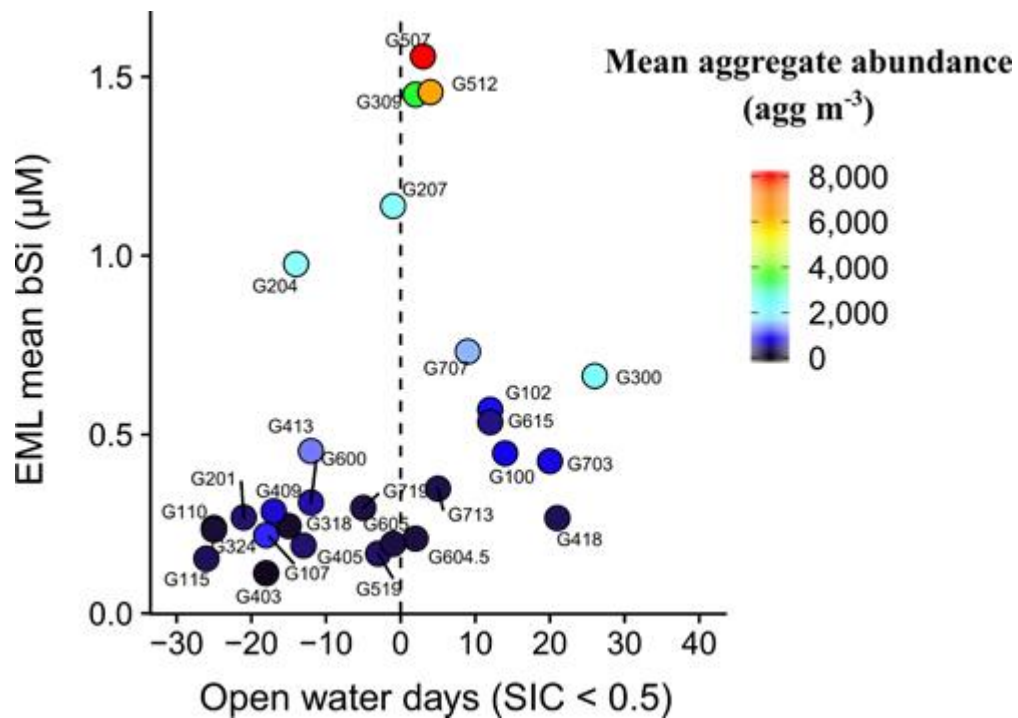


Figure 11: Cross ice melt transect. [1] [2] 30 m layer mean bSi concentration (μM) at 30 m depth versus open water days (days) since the sea ice concentration decreased below 0.5 UA (see details in the method section). The colour scale correspond to the 30 m layer mean aggregates abundance (agg m^{-3}).

ii. *Phytoplankton phenology and aggregate distribution pattern*

Other organisms than diatom can produce a skeleton made of bSi, such as diatoms, silicoflagellates, bolidophyceae (Kuwata et al., 2018) and rhizarians (Biard et al., 2016). At these high latitudes, diatoms often dominate the phytoplankton community (Tremblay et al., 2006), that is why bSi is commonly used as a marker of diatom distribution (Brzezinski et Nelson, 1995; Nelson et al., 2002; Quéguiner et al., 1997; Tréguer et al., 1991). The mean bSi concentration of $0.98 \pm 0.43 \mu\text{M}$ at station G204, measured 12 days before the ice melt, corresponded to both pelagic and sea ice diatom bloom (Figure 11). Hence, 25 % the centric diatoms *Chaetoceros gelidus* (*Chaetoceros socialis*), 9 % of the centric diatom *Thalassiosira gravida* (*Thalassiosira*

antarctica) and 14% of the pennate ice diatom *Fragilariopsis oceanica* (**Extended data** of Lafond et al., 2019). In most of the transects, bSi concentrations increase in the water column up to 1,6 μM (**Figure 11**) started when the ice melt. This evidences the presence of an early bloom under sea ice, as demonstrated in previous studies (Arrigo et al., 2012, 2014; Assmy et al., 2017). In station G300, bSi concentration remained high (0.66 μM) even 26 days after the ice melting (**Figure 11**). The concomitant dominance of the phytoplankton community by centric diatoms such as *Chaetoceros* spp., *Pseudo-nitzschia* spp. and *Thalassiosira* spp., is congruent with their seasonality, these species being reported to be the first genus to grow during Arctic spring blooms (**Extended data** of Lafond et al., 2019; Wassman et al., 1999; Tremblay et al., 2006; Lovejoy et al., 2002). Pennate diatoms which are often negligible in early bloom phase (Lovejoy et al., 2002), commonly appear and dominate at the end of the phytoplankton bloom in Arctic ocean, after centric diatom bloom (Von Quillfeldt, 2000). However, in the Baffin Bay, pennate species such as *Fragilariopsis* spp. and *Fossula arctica* were shown to dominate during the growing phase of the diatom bloom (Lafond et al., 2019). Pennate diatoms in early pelagic bloom phase could be explained by ice associated algae which grow under the ice pack and can constitute a significant part of diatom communities as they are disseminated in the water column during ice melting. Lafond et al (2019) recently demonstrated that the early pelagic bloom phase in the water column could be initiated by pennate ice-algae diatoms such as *Pseudo-nitzschia* spp., *Ceratoneis closterium*, *Fragilariopsis* spp., *Fossula arctica* or *Melosira* spp. (**Extended data** of Lafond et al., 2019).

Moreover, in Arctic early phytoplankton blooms could be dominated by *Phaeocystis* spp. (Smith et al. 1991), although the classical phytoplankton succession in the area reveals that *Phaeocystis* blooms often follows diatom, thriving when silicates concentration are less than 2 μM (Smith et al., 1991; Smith, 1994; Smetacek, 1999; Wassmann et al., 1999; Reigstad and Wassmann, 2007). Our results demonstrated the co-occurrence of *Phaeocystis* spp. and diatoms before ice melting, *Phaeocystis* spp. biomass being much higher than diatoms at several stations (G115, G201, G204, G324 and G719, see **Table 1**). The frequency and phenology of *Phaeocystis* spp. blooms is thought to increase with global change (Marchant and Thomsen, 1994; Schoemann et al., 2005; Gabric et al., 2003). Co-occurrence of both diatoms and *Phaeocystis* spp. is becoming more and more common. Moreover, in eastern central Arctic basin, *Phaeocystis* spp. being able to grow under high silicates concentrations ($>2 \mu\text{M}$) (Smetacek, 1999; Wassmann et al., 1999; Gieskes et al., 2007; Degerlund and Eilertsen, 2010). Diatoms and *Phaeocystis* spp. are both known to form large aggregates (Riebesell, 1993; Prairie et al., 2019; Kiørboe et al., 1996; Passow et al., 1994; Alldredge et Gotsschalk, 1989) and distribution patterns of both phytoplankton

components matched the aggregate distributions we observed along transects 1, 3 and 5, the maximum aggregate abundance systematically observed just below both the diatom and *Phaeocystis* spp. bloom (**Figures 3 to 7**). To summarize, the resulting formed aggregates in the mixed layer observed with UVP5 could be specifically composed of diatoms, *Phaeocystis* spp. or both. However, specific observation and analyses of aggregate composition are needed to related phytoplankton species to aggregate formation.

Direct observation during the cruise (**Figure 12**) highlighted the presence of floating aggregates between ice packs, which is congruent with aggregate vertical distribution patterns observed during the cruise in surface waters (e.g. **Figures 4 and 5**). These aggregate were large (few centimeters) and their analyses revealed they were almost mono specifically composed of *Melosira* spp. (**Figure 12**). Their distribution matched phytoplankton community distribution, *Melosira arctica* being recorded on stations G115, G507 and G512, the water column under the sea ice could be constituted of early pelagic bloom aggregated phytoplankton cells. Such floating aggregates have already been observed in Eurasian Basin (Krause et al., 2018). Their abundances ranged between 1 and 17 aggregates m^{-3} , maintaining an estimated net primary production from 0.4 to 40 $\text{mg C m}^{-2} \text{d}^{-1}$, and accounted for 3 to 80 % of total phototrophic biomass and up to 94 % of local net primary production. Buoyancy of these aggregates is intimately linked to light intensity, regulating photosynthetic oxygen production and the amount of gas bubbles stuck in the mucous aggregate matrix (Assmy et al., 2013, 2017; Fernández-Méndez et al., 2014). The distribution of those floating aggregates seems to be patchy and regulated by the topography of the ice underside structure (Katlein et al., 2015). Floating aggregates have been shown to sink very fast, particularly in the dark and may have been caught at some station by the UVP5 profiler. In fact, aggregate patches recorded at stations G507 and G512 may include a non-negligible part of these floating aggregates. Such biomass may also be considered in the future if we want to characterize carbon export by aggregates, and night sampling should be considered in the future.

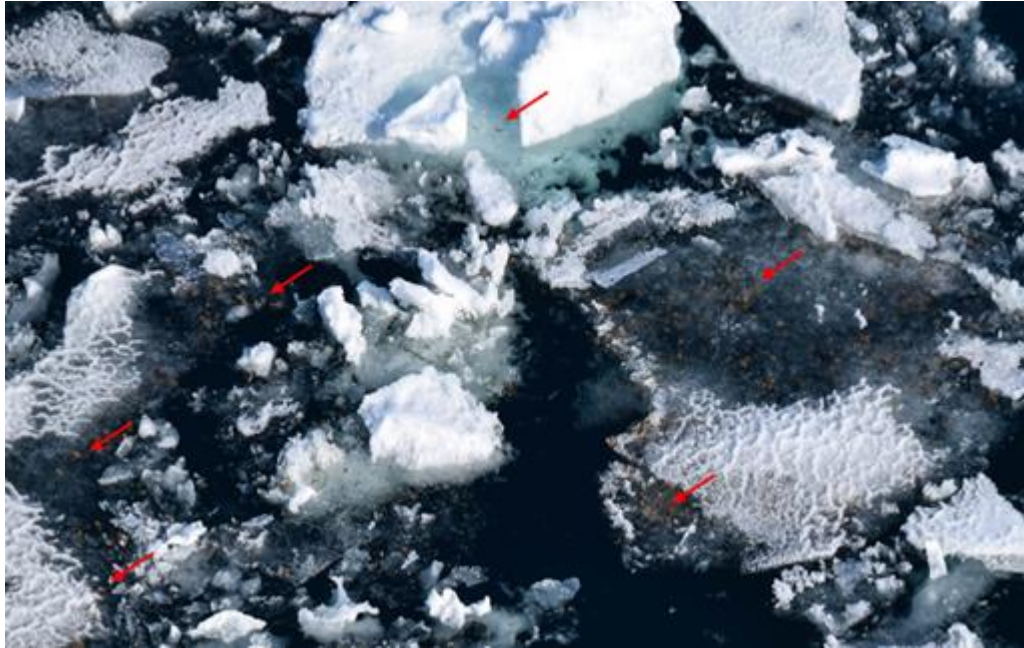


Figure 12: *In situ* floating *Melosira* spp. aggregates between the ice packs picture, taken from the deck of the NGCC Amundsen at about 15 m distance.

iii. *Spring bloom dynamic on the fate of organic matter*

Considering the OWD in our study as a temporal bloom progression indicator. In **Figure 13**, we observed a deepening aggregates abundance over the OWD, suggesting an export of organic matter under the EML, about 20 days after the ice melt.

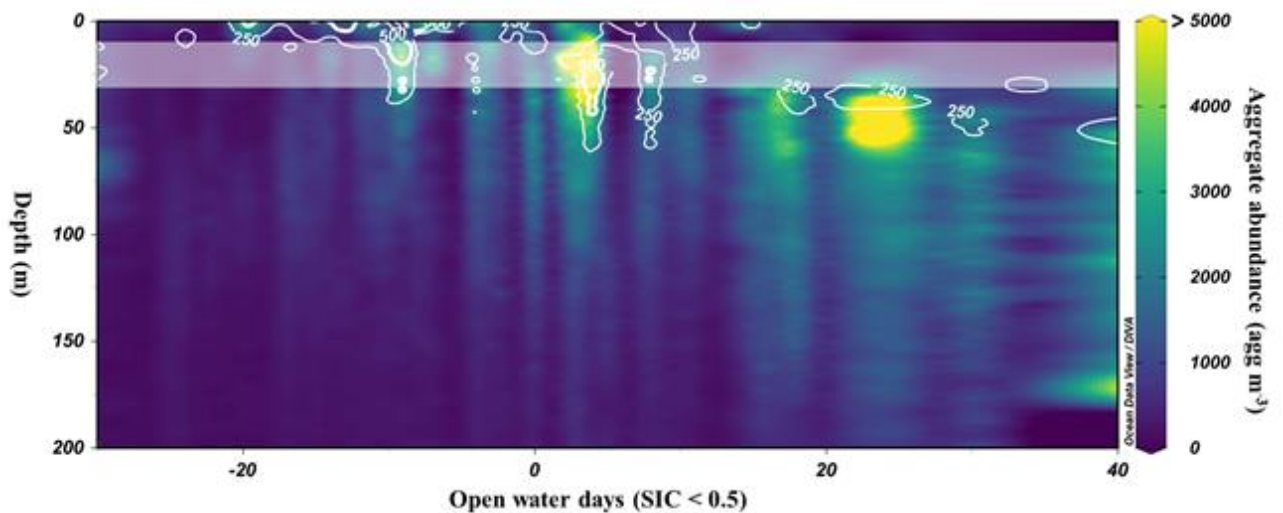


Figure 13: Vertical profiles of aggregates abundance (agg m^{-3}) along the cross ice melted transect (the open water days since the sea ice concentration decreased below 0.5 UA, see details in the method section). The white contour lines represent the copepod abundance (ind m^{-3}). Grey shaded area represents the upper and lower limits of equivalent mixing layer depth (EMLD) estimated by Randelhoff et al. (2019), during the Amundsen cruise.

PCA summaries the implication of the both hydrological and biological variables causing the differences between stations (**Figure 14**). All stations are represented in three different groups:

Pre-pelagic bloom stations characterized by high nutrient concentrations and SIC close to 1, low bSi and Chl *a* concentrations, and low aggregate abundance.

Pelagic bloom stations are characterized by high bSi, Chl *a* concentrations and both *Phaeocystis* spp. and diatom contributing to the phytoplankton community in the EML.

Post-bloom stations where we observed high phaeopigment concentrations in the EML and high OWD. Phaeopigment concentrations in the EML could be associated with declining phytoplankton bloom and altered pigments (Tremblay et al., 1989; Riebesell, 1991; Barlow et al., 1993).

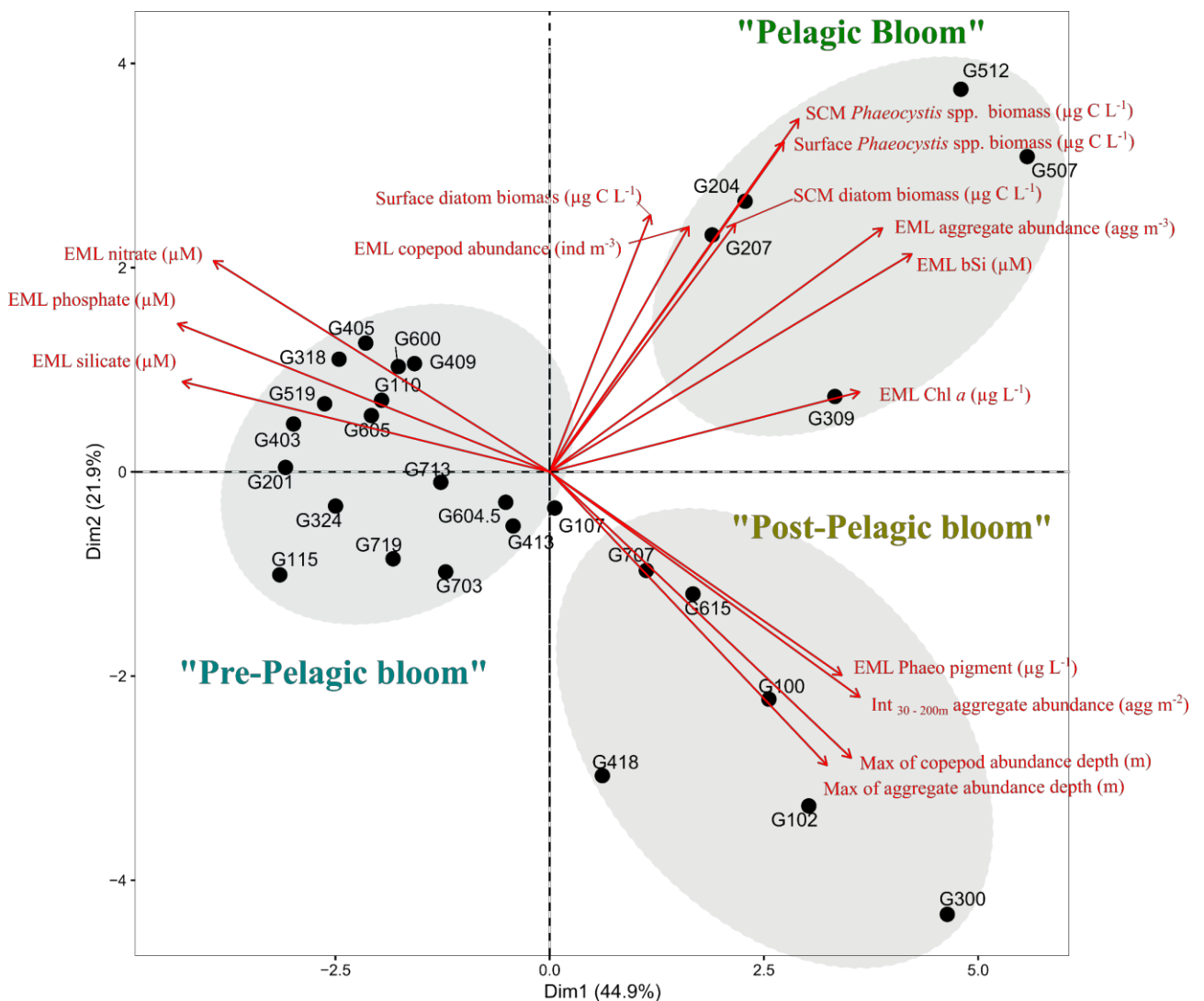


Figure 14: PCA score plot of samples (stations) and variables. Red arrows represent the following explicative variables. The first dimension axis: Dim1 (x-axis) represents 44.9% of the variance. The second dimension axis: Dim2 (y-axis) represents 21.9% of the variance.

At pre-bloom stations low aggregate abundance in the EML or below are correlated to high nutrient concentrations and low bSi and Chl *a* concentrations confirms that the low phytoplankton growth rates promote cells to aggregate. As presented on **Figure 9**, the decrease of all nutrient concentrations (μM) in the EML (nitrates, silicates and phosphates) is correlated to the increase of the OWD (day) which corresponds to the progressive utilization of nutrients during the phytoplankton bloom development. At the pelagic-bloom stations, bSi, Chl *a* concentration and both *Phaeocystis* spp. and diatom in the total pelagic phytoplankton contribution in the EML are linked to aggregate abundance in the EML. Diatoms and *Phaeocystis* spp. are known to form aggregates (Riebesell, 1993; Prairie et al., 2019; Kiørboe et al., 1996; Passow et al., 1994; Alldredge et Gotschalk, 1989) when cell concentrations and/or mucus production (e.g: EPS and TEP) increase. The PCA displays a strong covariance between bSi concentrations and aggregate abundances in the EML (see the red arrows) suggesting that diatoms may be more efficient to aggregate although diatom and *Phaeocystis* spp. biomass are not discriminated in the PCA (**Figure 14**).

As we observed the high values of integrated aggregate abundance $_{30-200\text{m}}$, maximum aggregate abundance depth, are congruent with phaeopigment concentrations in the EML. The progressive sinking of aggregates below the EML may be linked to the degradation of the phytoplankton. Hence, phaeopigments concentration in the EML could be associated with declining phytoplankton bloom and altered pigments in the EML (Tremblay et al., 1989; Riebesell, 1991; Barlow et al., 1993). As also observed in **Figure 13**, the depth of the maximum aggregate abundance increased with the OWD. Interestingly, the same pattern was seen with the depth of the maximum copepod abundance. Copepods tend to migrate under the EML when the phytoplankton start to be degraded and may follow aggregates as food source. Diatom cells are able to stay viable for a long period of time inside the aggregates (Garvey et al., 2007, Agustí et al. 2015). Sinking aggregates could be a better food source than degraded surface phytoplankton containing many phaeopigments. Copepods in the post bloom condition could thus forage food deeper, and switch their feeding behaviour as suggested in other studies (Dagg, 1993; Lampitt et al., 1993; Steinberg, 1995; Dilling et al., 1998; Kiørboe, 2000; Dilling and Brzezinski, 2004; Koski et al., 2017). Phaeopigments could also be a food quality signal for copepods (Helling and Baars, 1985; Barlow et al., 1993), and thus explain the copepod maximum decrease in depth when phaeopigments in the EML is high. Copepods are dominant component of the zooplankton communities, that may actively participate to the particle dynamic by breaking the aggregates, as previously suggested in laboratory experiments (Toullec et al., 2019), mesocosm experiments (Moriceau et al., 2018; Taucher et al., 2018) and *in situ* studies (Dilling and Alldredge, 2000) or by favouring aggregation

process of free phytoplankton cells (Toullec et al 2019; Taucher et al., 2018). In this *in situ* study, the average aggregate ESD only varied slightly between 1.2 and 1.4 mm not showing any relation with copepod abundances. Regarding the distribution pattern, high copepod abundances have been observed at locations where aggregate abundances were also high (**Figures 5 and 11**). Moreover, the deepening of the aggregate abundance occurring after the ice debacle is congruent with the deepening of the maximum copepod abundance (**Figure 13**). These observations display a strong relationship between copepod and marine snow. Under the ice, in many stations, copepods are located below the productive layer and below the aggregates. At the ice edge, maximum copepod and aggregates abundances were found at similar depth within the EML. Moreover, further from the ice edge copepod abundances were maximum when the maximum aggregate abundances remained above 30 m depth. We could not exclude that copepods go deeper at the end of the bloom in order to escape predation from fishes and seabirds (Lampert, 1989; Fortier et al., 2001; Karnovsky et al., 2003; Schmid and Fortier, 2019).

d) Conclusion

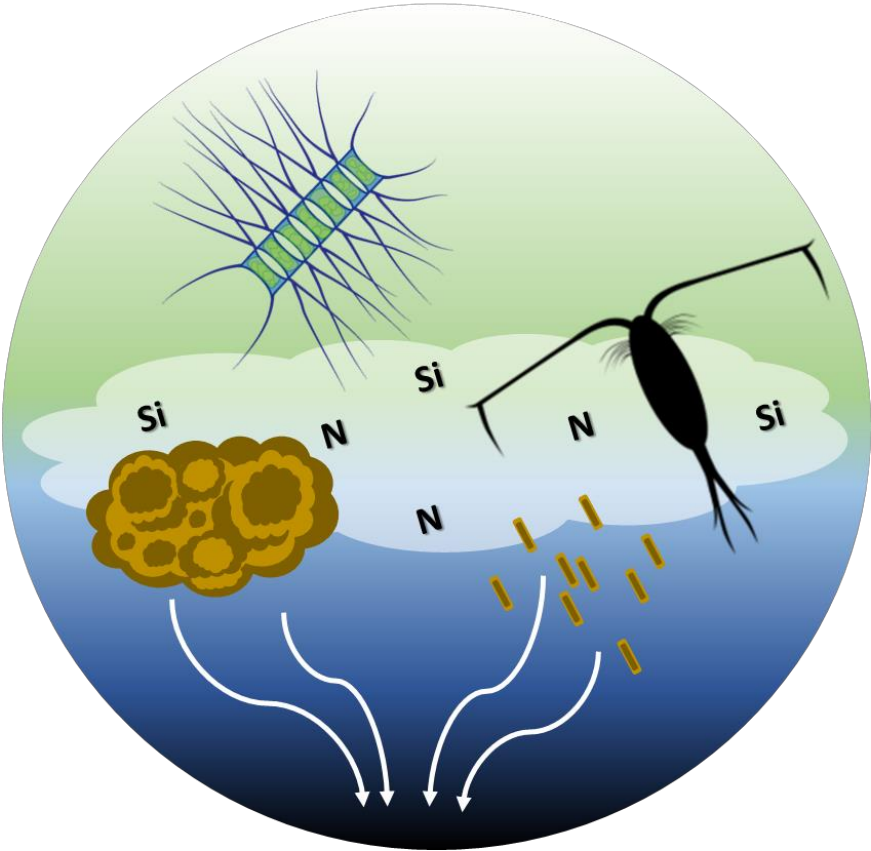
We present in this paper, an integrative study designed to explain the marine snow formation processes and distribution during the spring phytoplankton bloom progression in the Baffin Bay. We combined classical oceanographic observation data (hydrological parameters sampled with CTD-rosette frame), and advanced optical particles analysis (UVP5 deployment and particles quality based on automatic determination). The combination of both hydrological parameter and high-resolution particles data allowed us to describe the 3D structure of the first essential trophic level of an Arctic ecosystem.

Ice melting drives the hydrological context, and so the phytoplankton phenology. However, in the Baffin Bay, we observed a simultaneous occurrence of diatoms and *Phaeocystis* spp. bloom at the ice edge. Global change is identified as the driver of this phenological pattern, and is expected to be more and more common (Marchant and Thomsen, 1994; Schoemann et al., 2005; Gabric et al., 2003). Indeed, the hydrodynamic context would be affected by the global change, mainly by reducing the mixing layer, leading to decrease the vertical nutrient input (Tremblay et al., 2002; 2015), this inflow modification will tend to increase nutrient limitation in the Baffin Bay. We demonstrated that silicon limitation is a stronger driver of aggregate formation, than nitrogen limitation, suggesting a higher implication of diatoms than *Phaeocystis* spp. in aggregate formation. Maximum of biogenic silica are congruent with the maximum of aggregates abundance as well. Nevertheless, considering aggregate formation processes and particle collision knowledge, we could not excluded that the observed aggregates are composed of both diatoms and *Phaeocystis*

spp. Moreover, large patches of *Melosira* spp. floating aggregates observed at the surface between ice pack also strengthen the importance of ice melting in marine snow formation processes, and so carbone export.

Once the aggregates are formed at the surface and between the ice pack, they sink through the water column and are exported under the mixing layer at the end of the phytoplankton bloom. We describe a co-occurrence of copepod and aggregates abundance, congruent with the depth. We hypothesized that at the end of the phytoplankton bloom, copepod go deeper and switch their feeding target to marine snow, considering the decrease of food quality in the mixed layer. This behaviour could explain the strong association pattern between aggregates and copepod abundance in the profils. However, we did not observed modification of aggregate size spectra resulting of fragmentation due to feeding (Toullec et al., 2019). Probably due to the respective aggregates and copepod abundances (10 to 1000 times more aggregates than copepods), their contribution to carbon export thank to marine snow is difficult to predict.

V. Discussion générale



*L'objectif de la thèse visait à évaluer l'influence des limitations en sels nutritifs, sur les interactions copépodes/diatomées et les conséquences sur l'export de carbone. Au cours de cette thèse, je me suis focalisé sur trois conséquences des limitations: 1- les changements physiologiques des diatomées 2- l'influence des limitations sur le broutage par les copépodes et 3- la formation d'agrégats généralement associée à l'établissement des limitations nutritives en fin de bloom. J'ai utilisé deux approches pour évaluer les processus impliqués dans les interactions copépodes/diatomées en cas de limitations et pour mieux comprendre la dynamique des agrégats de diatomées : L'approche expérimentale en laboratoire, grâce à l'utilisation de rolling tank (**Chapitres II et III**); Et l'imagerie in situ, au travers de l'exploration de données collectées par l'UVP5 au cours de la campagne Arctique GreenEdge 2016 en Baie de Baffin (**Chapitre IV**). Dans une première partie de discussion, je résumerai l'influence des copépodes sur le flux d'export de particules (agrégats de phytoplancton et pelotes fécales). Dans une deuxième partie, je discuterai l'implication des limitations en sels nutritifs sur la dynamique du flux de particules.*

1. Influence des copépodes sur l'export de carbone :

a) La contribution des pelotes fécales

Les diatomées constituent une part significative du régime alimentaire des copépodes, avec des pressions de broutage allant de 10 à 40 % de la production primaire (Calbet, 2001). En sédimentant, les pelotes fécales émises par les copépodes transfèrent la matière assimilée vers les couches plus profondes de l'océan, ce qui contribue à exporter le carbone (Turner, 2002, 2015). Dans le **Chapitre IV**, j'ai observé que les copépodes migraient sous la couche de mélange en fin d'efflorescence et que leur distribution sur la verticale coïncidait avec celle des agrégats (**Figure 13**, Toullec et al. (In prep) *Elementa : Science of the Anthropocene*). Ces résultats *in situ* sont cohérents avec les approches en labo démontrant un broutage significatif sur ce type de particule. Cette alimentation des copépodes sur des particules détritiques a déjà été démontrée dans la littérature (**Chapitre III**, référence dans Toullec et al., 2019, *Frontiers in Marine Science*). Dans le cas des copépodes arctiques, elle pourrait représenter pour le zooplancton un moyen d'échapper à la prédation par les échelons trophiques supérieurs (Lampert, 1989; Fortier et al., 2001; Karnovsky et al., 2008; Schmid & Fortier, 2019), tout en exploitant un pool nutritif localisé en profondeur (**Chapitre IV**). En effet, il a été décrit dans la littérature que les diatomées peuvent rester viables sur de longues périodes au sein des agrégats (Garvey et al., 2007; Agusti et al., 2015).

Ainsi, les agrégats qui sédimentent pourraient constituer une source alimentaire complémentaire pour les copépodes, lors des phases de déclin des efflorescences à la surface, leur permettant de survivre dans des environnements où les conditions trophiques sont très variables (à l'échelle saisonnière) et diluées. Il en résulte un export de matière à partir de profondeur en dessous de la couche de mélange, par rapport à une exploitation des ressources trophiques (efflorescences) de surface ce qui augmenterait l'efficacité d'export par les pelotes fécales. De plus, les copépodes en respirant dans les couches plus profondes contribuent également à augmenter le transport actif de carbone dissous excrété (Steinberg et al., 2002; Steinberg & Landry, 2017; Gorgues et al., 2019).

b) Modification du flux d'agrégats

J'ai abordé dans le **Chapitre III** de quelles manières les copépodes *cruise feeders* pouvaient augmenter l'export en favorisant la formation d'agrégats à partir de cellules libres, via les microturbulences produites pendant la nage, associée à leur activité alimentaire et/ou en influençant la production de TEP. Ces travaux expérimentaux sont en partie confortés par les données *in situ* de GreenEdge dès lors que la formation des agrégats en surface coïncide avec la présence de fortes abondances de copépodes, ces derniers pouvant faciliter la formation d'agrégats de diatomées en surface au cours d'une efflorescence printanière (**Chapitre IV**). Cependant, les limitations en éléments nutritifs (en particulier silicates) semblent elles aussi, jouer un rôle non-négligeable et soulignant que l'agrégation est un processus complexe dépendant d'une combinaison de facteurs, difficilement discriminés *in situ*. Au cours du **Chapitre III**, J'ai démontré que les copépodes pouvaient se nourrir sur les agrégats et qu'ils adaptaient leurs comportements alimentaires à la qualité nutritive des cellules (**Chapitre II**). Lorsque les copépodes se nourrissent sur les agrégats, j'ai observé deux conséquences opposées selon leurs traits fonctionnels : 1) La fragmentation des agrégats chez les *cruise feeders* et 2) la réagrégation des particules chez les *filter feeders*. Au regard d'observations *in situ*, les processus de fragmentation des agrégats par les copépodes en profondeur pourraient donc, en théorie, être à l'origine de la diminution du spectre de taille des particules observée en mer Méditerranée (Stemmann et al., 2002, 2004). En baie de Baffin, le spectre de taille des agrégats restait inchangé sur la profondeur. Deux hypothèses peuvent être proposées pour expliquer ce phénomène : 1) La taille des agrégats *in situ* en profondeur résulte d'un équilibre entre processus d'agrégation/fragmentation qui, au final, ne modifie pas le spectre de taille des particules. Cela est d'autant plus probable *in situ*, puisque les agrégats constituent la nourriture potentielle de la communauté de copépodes, intégrant des traits fonctionnels divers (filtreurs suspensivores, prédateurs). 2) Le rapport entre nombre de prédateurs et de proies potentielles est insuffisant pour

induire une fragmentation des agrégats. Ce rapport était effectivement de 1:1000 entre les copépodes et les agrégats *in situ* (**Chapitre IV**) alors qu'au laboratoire, le rapport était de 1:1 (**Chapitre III**). Peu d'études ont jusqu'à présent considéré la mesure simultanée des abondances d'agrégats et de copépodes *in situ*. Taucher et al. (2018), ont déjà eu l'idée d'utiliser l'UVP5 pour analyser le rôle du zooplancton dans la dynamique de formation d'agrégats (Taucher et al., 2018). Leur étude renforce notre interprétation des résultats sur la tendance des *filter feeders* à ré-agréger les particules. Les auteurs n'ont par contre, pas observé de relation cohérente entre les flux de carbone estimés à partir du spectre de taille des particules et les flux mesurés directement à partir des trappes à sédiments (Taucher et al., 2018). Il sera nécessaire dans de futurs travaux de confirmer cette tendance et cette limite (1:1000) comme facteur déterminant et explicatif de la dynamique des agrégats. Lampitt et al. (1993) ont observés des abondances estivales d'agrégats (0,6 - 9,8 mm) en dessous de la couche de mélange comprises entre 50 000 et 100 000 agg m^{-3} dans l'Atlantique Nord-Est. Toujours dans l'Atlantique Nord-Est, les abondances verticales de copépodes ont été mesurées en moyenne autour de 600 ind m^{-3} dans la couche de mélange (0 - 100 m) et 50 ind m^{-3} en dessous de la couche de mélange (100 - 500 m) (Gaard et al., 2008). On peut ainsi considérer, en dessous de la couche de mélange des rapports copépodes: agrégats de l'ordre de 1:1000 dans l'Atlantique Nord-Est pendant la période estivale, il est ainsi difficilement envisageable que les copépodes puissent modifier le flux de carbone par les agrégats. En mer de Baffin tout comme en Atlantique Nord-Est, l'impact sur la dynamique peut alors être totalement négligeable. De plus, l'UVP peut également sous-estimer la quantité de copépodes observés (phénomène de fuite...).

c) Conclusion sur le rôle des copépodes dans l'export de carbone

J'ai démontré au cours de cette thèse que les copépodes ont une influence sur le flux de particules via la modification du flux d'agrégats de phytoplancton (formation et fragmentation). La profondeur dans la colonne d'eau où ont lieu les processus d'agrégation/fragmentation est déterminante vis-à-vis de l'export de carbone, c'est-à-dire l'endroit où les copépodes interagissent avec la neige marine et influencent la dynamique de fragmentation/réagrégation, l'émission profonde de pelotes fécales (transport passif) ainsi que la respiration (transport actif). Afin d'améliorer notre compréhension actuelle des processus clés entre agrégats/copépodes et export, des études en mésocosmes, reproduisant les conditions *in situ*, permettraient de répondre aux question suivante: Quelles sont les incidences du changement de comportement alimentaire des copépodes sur l'export de matière particulaire en termes, de flux (quantité) et de composition de la matière exportée (pelotes fécales et/ou d'agrégats) ? Une approche en mécoscosme en condition

d'efflorescence permettrait de considérer les conditions de croissance optimale du phytoplancton et de maximiser la probabilité de formation d'agrégats. Un système d'imagerie couplé à un piège à particules (trappes à sédiment et/ou *gel traps*) permettrait de suivre la dynamique des particules au cours du développement du bloom. De telles expériences ont récemment été menées (Moriceau et al., 2018; Taucher et al., 2018; Bach et al., 2019), mais sans prise en considération du type de matière exporté (agrégats phytoplanctoniques, loge d'appendiculaire, pelotes fécales, mues d'arthropodes...), ni de la diversité fonctionnelle de la communauté zooplanctonique présente. Dans l'expérience que je propose, il faudrait différencier les communautés zooplanctoniques de chaque mésocosme en fonction des traits fonctionnels. Ce type d'expériences viserait à mieux comprendre les liens entre diversité fonctionnelle et export de particules suggérés dans mon **Chapitre III**. En ce qui concerne l'apport de l'imagerie qualitative des particules, la dernière version de l'UVP (UVP6) est une version miniaturisée de l'UVP5 (présenté dans le **Chapitre IV**, pages 99-100). L'UVP6 a été conçu pour être fixé sur des appareils de mesure mobiles (bouées ARGOS, *Gliders*, sous-marins autonomes...), sur des supports fixes (comme des bouées d'amarrage) et s'adapterait parfaitement à l'expérience en mésocosme que je suggère. Il serait alors possible de suivre avec le temps et à haute résolution la dynamique d'agrégation, l'évolution du spectre de tailles et les vitesses de sédimentation associées, ce qui reste l'un des plus grands verrous à notre compréhension de la pompe biologique de carbone.

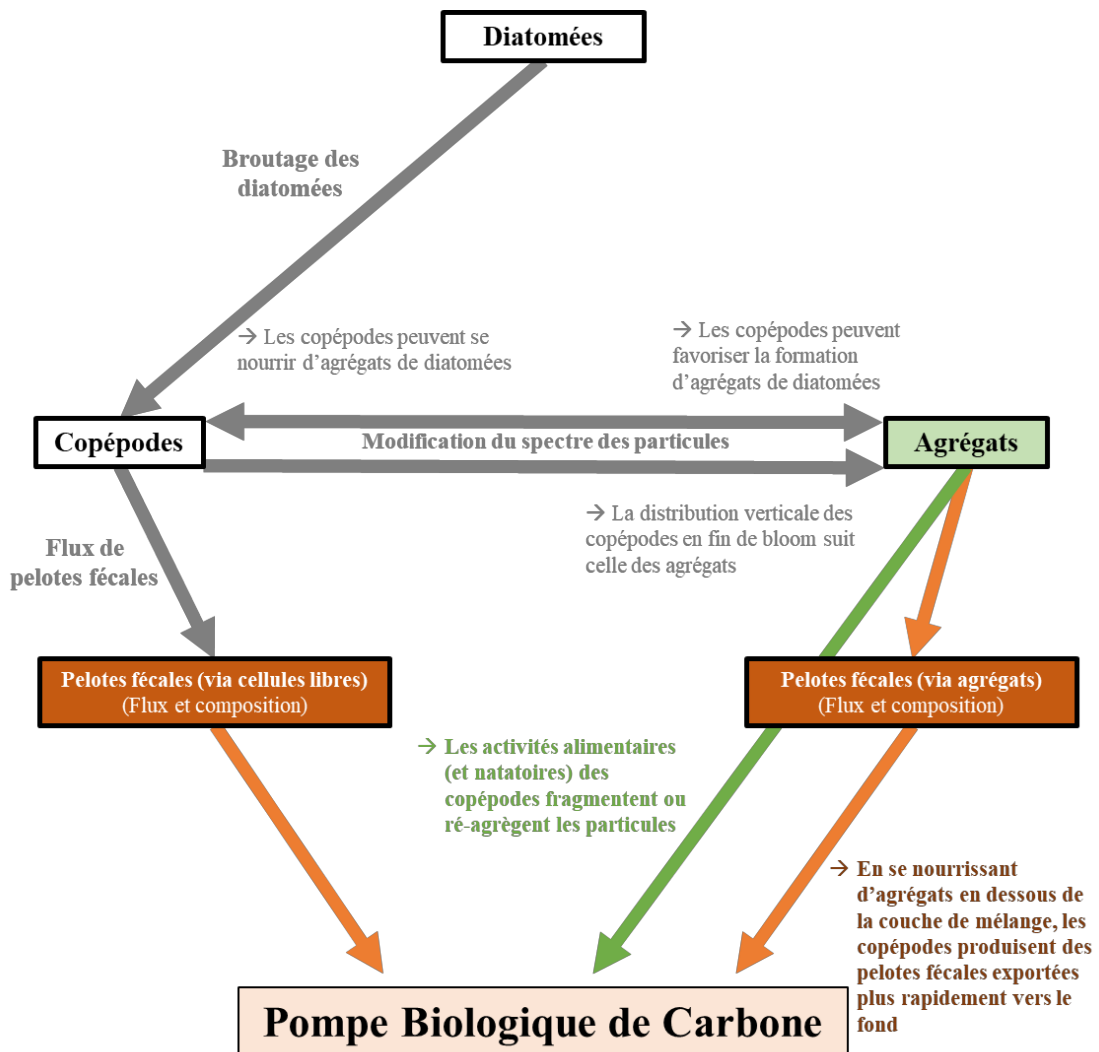


Figure 5.1 : Représentation synthétique des relations entre les diatomées, les copépodes et les agrégats décrits au cours de la thèse. Dans ce schéma, la pompe biologique de carbone est influencée par la sédimentation 1) des agrégats produits par les diatomées, 2) des pelotes fécales émises par les copépodes suite au broutage des diatomées et/ou des agrégats.

2. Influences des limitations en sels nutritifs sur l'export de carbone :

a) Impact des limitations en sels nutritifs sur le broutage, la production de pelotes fécales et l'export de matière

J'ai montré que les limitations potentielles du phytoplancton en sels nutritifs pouvaient entraîner des réponses variables d'export de matière sous forme de pelotes fécales (de 26 à 147 PF.ind⁻¹.j⁻¹ avec *Calanus helgolandicus*; **Figure 5.2.A**). Ainsi, les limitations en silicium peuvent

diminuer l'activité alimentaire de *Calanus helgolandicus* et impacter la production de pelotes fécales. Cependant, cela n'a pas forcément impacté l'intensité des flux de carbone ou d'azote associés à leur sédimentation (**Chapitre II ; figure 5.2.B et C**). Au contraire, la consommation de diatomées limitées en silicium et en azote a potentiellement augmenté l'efficacité de l'export via l'augmentation du volume de pelotes fécales produites (**Chapitre II**). De plus, dans le cas de limitation en azote, l'effet ballast correspondant à une accumulation de silice dans les pelotes a été amplifié (**Chapitre II ; Figure 5.2.D**). Le flux des éléments majeurs (carbone, azote et silice biogénique) peut être estimé à partir des taux d'émissions de pelotes fécales, de leurs vitesses de sédimentation, elles-mêmes estimées à partir de leurs tailles et de leurs contenus en carbone, azote et silice biogénique. Les taux d'émission de pelotes fécales de *C. helgolandicus* (FP.ind⁻¹.j⁻¹) ont été estimés en utilisant le nombre total de pelotes fécales retrouvées en fin d'incubation, normalisé par le nombre de copépodes et la durée d'incubation. Les vitesses de sédimentation des pelotes fécales (U_{FP} , m.j⁻¹) suivent la loi de Stokes et peuvent être calculées, selon l'équation 8 (adaptée par Komar et al., 1981).

$$U_{FP} = 0.079 \frac{1}{\mu} \times [(\rho_{sw} - \rho_{FP})gL^2] \times \left(\frac{L}{W}\right)^{-1.664} \quad (8)$$

Où μ est la viscosité dynamique de l'eau de mer (0,0123 g.cm⁻¹.s⁻¹), ρ_{sw} et ρ_{FP} sont respectivement la densité de l'eau de mer (1,071 g cm⁻³ à 18°C) et celle des pelotes fécales de *C. helgolandicus* (1,26 g.cm⁻³ ; Cole et al., 2016). L (μm) et W (μm) la longueur et la largeur des pelotes fécales, respectivement. g est l'accélération due à la gravité (981 cm⁻²). La densité des pelotes fécales est fixe, elle ne tient malheureusement pas compte de l'effet ballaste de la bSi.

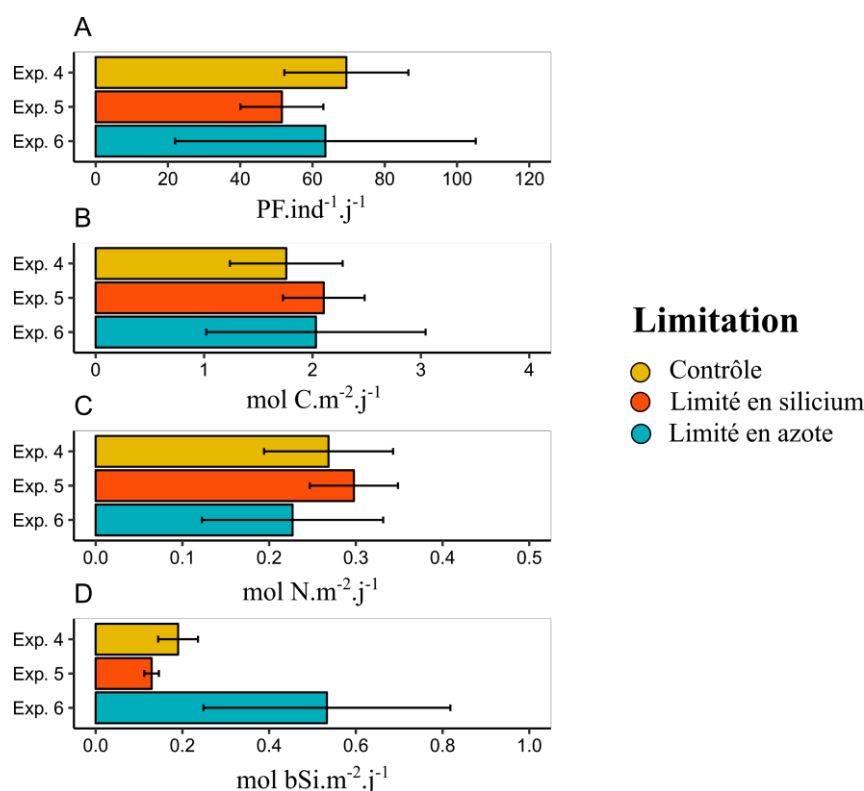


Figure 5.2 : **A :** Taux d'émission de *C. helgolandicus* (PF.ind⁻¹.j⁻¹) **B :** Flux d'export de carbone par les pelotes fécales (mol C.m⁻².j⁻¹). **C :** Flux d'export d'azote par les pelotes fécales (mol N.m⁻².j⁻¹). **D :** Flux d'export de silice biogénique par les pelotes fécales (mol bSi.m⁻².j⁻¹). Les couleurs correspondent aux limitations (Jaune pour condition non limitée; Orange pour la limitation en silicium et bleue pour la limitation en azote). Les barres d'erreurs correspondent aux erreurs standards entre les répliques (N = 3 rolling tank).

Au vu de nos résultats, le broutage par les copépodes sur des diatomées limitées en azote qui est la limitation la plus fréquente dans l'océan global (Moore et al., 2013), conduirait à découpler fortement les cycles du silicium et du carbone, en exportant plus de silicium par rapport au carbone. L'effet ballast (Feinberg et Dam, 1998; Ploug et al., 2008) pourrait accentuer cette tendance en augmentant la densité des pelotes fécales et donc directement leur vitesse de sédimentation.

b) Des limitations impliquées dans le processus d'agrégation

J'ai démontré dans le **Chapitre II** que les limitations en sels nutritifs modifient la physiologie et la composition biochimique des diatomées, ces observations sont soutenues par de nombreuses références (Claquin et al., 2002; Hildebrand, 2002; Suroy et al., 2015). Comme décrit dans l'introduction de ce manuscrit (**Chapitre I**), les limitations ont souvent été liées à la formation de précurseurs de molécules collantes comme les TEP, pouvant mener à la formation d'agrégats (Mopper et al., 1995; Passow, 2000, 2002a, 2002b). Les résultats de l'étude *in situ* en baie de

Baffin réalisée dans le **Chapitre IV** suggèrent en particulier, que la limitation en silicates des diatomées favorise l'agrégation. La production de matière organique (EPS dissous, particuliers) par les diatomées les rendant plus collantes, en lien avec une limitation en silicates déjà suggérée dans une étude expérimentale (Kjørboe & Hansen, 1993). Lorsque les diatomées sont limitées, leur rapport C:N est plus élevé et le stress induit par le broutage des copépodes contribue à augmenter la production de TEP (**Chapitre II**).

Les limitations semblent donc globalement augmenter l'efficacité d'export, principalement par l'augmentation de l'excrétion de TEP, ce qui favorise la formation d'agrégats. De plus, certaines études suggèrent que les agrégats transportent des cellules en meilleur état physiologique, c'est-à-dire moins susceptibles d'être reminéralisées rapidement (Garvey et al. 2007; Agusti et al. 2015). Les réponses physiologiques des diatomées en réponse aux limitations, ont diminué les taux de filtration de certains copépodes, suggérant une diminution de la qualité nutritive ou de la « palatabilité » des diatomées suite aux limitations (augmentation de la taille des spicules siliceux, ou bien modification de la composition biochimique). Dans ce cas, les **Chapitres III** et **IV** suggèrent que les copépodes modifient leur régime alimentaire en se nourrissant d'agrégats et en suivant la distribution verticale de leurs proies en profondeur (**Figure 5.3; chapitre IV**). Ces observations soutiennent l'hypothèse que l'état des cellules au sein des agrégats, serait d'une meilleure qualité nutritive pour les copépodes, mais cela reste cependant à vérifier (par l'analyse de la composition lipidique par notamment). Ainsi, la distribution des agrégats semble conditionner la répartition sur la verticale de ces prédateurs principaux, favorisant ainsi la PBC par le transport actif. Est-il possible que les agrégats constituent un moyen de “survivre” pour les cellules en cas de limitations ? Il semble que le micro-environnement formé par l'agrégat phytoplanctonique permette en effet aux diatomées de rester viables plus longtemps (Garvey et al. 2007) et expliquant ainsi l'observation de diatomées viables à des profondeurs de plus de 2000 m (Agusti et al. 2015). L'explication pourrait provenir de la matrice des agrégats majoritairement formées de TEP qui joueraient un rôle protecteur et « nutritif », car les concentrations en sels nutritifs y sont plus élevées (Brzezinski et al. 1997, Moriceau et al. 2007, 2014; Lim et al., 2019). L'excrétion d'EPS et TEP par les diatomées pourraient être un avantage en cas de stress nutritifs et serait alors une réponse aux limitations comme cela a été suggéré dans une de mes études (Toullec & Moriceau, 2018).

c) Conclusion sur l'influence des limitations sur le flux de particules

Les différents éléments apportés au cours de la thèse sont résumés dans la **Figure 5.3**. Je suggère que les limitations en sels nutritifs conjointement à l'activité alimentaire des copépodes

peuvent conduire à une augmentation globale du flux de carbone par les agrégats et par les pelotes fécales (émission plus profonde dans la colonne d'eau et effet ballast). Cependant, au regard des rapports de concentration observés *in situ* en copépodes et agrégats, il est difficile d'envisager une modulation directe du flux d'agrégats par la fragmentation ou la réaggrégation, sous l'action des copépodes. Ainsi, la part des pelotes fécales au flux de particules jouerait un rôle dominant dans le flux de particules en cas de limitations nutritives.

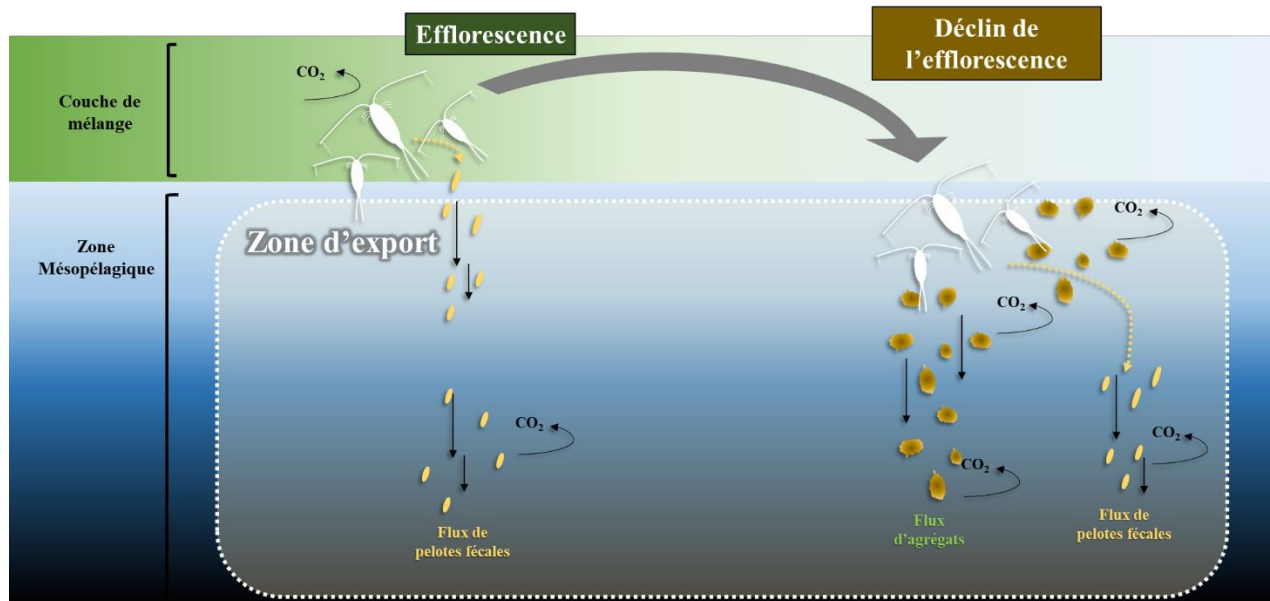


Figure 5.3 : Représentation schématique des relations de la dynamique entre les agrégats, les copépodes, les pelotes fécales émises par les copépodes et les limitations (Déclin de l'efflorescence). Dans ce schéma la pompe biologique de carbone est influencée par la sédimentation des agrégats de diatomées, les pelotes fécales émises suite au broutage des diatomées et des agrégats.

VI. Références de l'introduction, du Chapitre II, IV et de la discussion

- Agustí, S., González-Gordillo, J. I., Vaqué, D., Estrada, M., Cerezo, M. I., Salazar, G., et al. (2015). Ubiquitous healthy diatoms in the deep sea confirm deep carbon injection by the biological pump. *Nature communications* 6, 7608.
- Akagi, T. (2013). Rare earth element (REE)–silicic acid complexes in seawater to explain the incorporation of REEs in opal and the “leftover” REEs in surface water: New interpretation of dissolved REE distribution profiles. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 113, 174–192. doi:10.1016/j.gca.2013.03.014.
- Akagi, T., Yasuda, S., Asahara, Y., Emoto, M., and Takahashi, K. (2014). Diatoms spread a high ϵ_{Nd} signature in the North Pacific Ocean. *Geochemical Journal* 48, 121–131. doi:10.2343/geochemj.2.0292.
- Allredge, A. (1998). The carbon, nitrogen and mass content of marine snow as a function of aggregate size. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 45, 529–541.
- Allredge, A. L., and Gotschalk, C. (1988). *In situ* settling behavior of marine snow. *Limnology and Oceanography* 33, 339–351.
- Allredge, A. L., and Gotschalk, C. (1989). Direct observations of the mass flocculation of diatom blooms: characteristics, settling velocities and formation of diatom aggregates. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 36, 159–171. doi:10.1016/0198-0149(89)90131-3.
- Allredge, A. L., Granata, T. C., Gotschalk, C., and Dickey, T. D. (1990). The physical strength of marine snow and its implications for particle disaggregation in the ocean. *Limnology and Oceanography* 35, 1415–1428. doi:10.4319/lo.1990.35.7.1415.
- Allredge, A. L., Passow, U., and Logan, B. E. (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, 1131–1140. doi:10.1016/0967-0637(93)90129-Q.
- Alvain, S., Moulin, C., Dandonneau, Y., and Loisel, H. (2008). Seasonal distribution and succession of dominant phytoplankton groups in the global ocean: A satellite view. *Global Biogeochemical Cycles* 22. doi:10.1029/2007GB003154.
- Amato, A., Sabatino, V., Nylund, G. M., Bergkvist, J., Basu, S., Andersson, M. X., et al. (2018). Grazer-induced transcriptomic and metabolomic response of the chain-forming diatom *Skeletonema marinoi*. *The ISME Journal*, 1.
- Aminot, A., and Kérouel, R. (2004). *Hydrologie des écosystèmes marins: paramètres et analyses*. Editions Quae.

- Amiriaux, R., Belt, S. T., Vaultier, F., Galindo, V., Gosselin, M., Bonin, P., et al. (2017). Monitoring photo-oxidative and salinity-induced bacterial stress in the Canadian Arctic using specific lipid tracers. *Marine Chemistry* 194, 89–99. doi:10.1016/j.marchem.2017.05.006.
- Andersen, V., Devey, C., Gubanova, A., Picheral, M., Melnikov, V., Tsarin, S., et al. (2004). Vertical distributions of zooplankton across the Almeria–Oran frontal zone (Mediterranean Sea). *J Plankton Res* 26, 275–293. doi:10.1093/plankt/fbh036.
- Andersen, V., Gubanova, A., Nival, P., and Ruellet, T. (2001). Zooplankton Community During the Transition from Spring Bloom to Oligotrophy in the Open NW Mediterranean and Effects of Wind Events. 2. Vertical Distributions and Migrations. *J Plankton Res* 23, 243–261. doi:10.1093/plankt/23.3.243.
- Anderson, T. R. (1994). Relating C: N ratios in zooplankton food and faecal pellets using a biochemical model. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 184, 183–199.
- Archer, D., and Pierrehumbert, R. (2011). *The Warming Papers*. John Wiley & Sons.
- Arrigo, K. R. (2014). Sea ice ecosystems. *Annual review of marine science* 6, 439–467.
- Arrigo, K. R., and Dijken, G. L. van (2011). Secular trends in Arctic Ocean net primary production. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 116. doi:10.1029/2011JC007151.
- Arrigo, K. R., Perovich, D. K., Pickart, R. S., Brown, Z. W., Dijken, G. L. van, Lowry, K. E., et al. (2012). Massive Phytoplankton Blooms Under Arctic Sea Ice. *Science* 336, 1408–1408. doi:10.1126/science.1215065.
- Asper, V. L. (1987). Measuring the flux and sinking speed of marine snow aggregates. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 34, 1–17. doi:10.1016/0198-0149(87)90117-8.
- Assmy, P., Ehn, J. K., Fernández-Méndez, M., Hop, H., Katlein, C., Sundfjord, A., et al. (2013). Floating Ice-Algal Aggregates below Melting Arctic Sea Ice. *PLoS ONE* 8, e76599. doi:10.1371/journal.pone.0076599.
- Assmy, P., Fernández-Méndez, M., Duarte, P., Meyer, A., Randelhoff, A., Mundy, C. J., et al. (2017). Leads in Arctic pack ice enable early phytoplankton blooms below snow-covered sea ice. *Scientific Reports* 7. doi:10.1038/srep40850.
- Augustin, C. B., and Boersma, M. (2006). Effects of nitrogen stressed algae on different *Acartia* species. *J Plankton Res* 28, 429–436. doi:10.1093/plankt/fbi131.
- Bach, L. T., Stange, P., Taucher, J., Achterberg, E. P., Algueró-Muñiz, M., Horn, H., et al. (2019). The Influence of Plankton Community Structure on Sinking Velocity and Remineralization Rate of Marine Aggregates. *Global Biogeochemical Cycles* 33, 971–994. doi:10.1029/2019GB006256.
- Barlow, R. G., Mantoura, R. F. C., Gough, M. A., and Fileman, T. W. (1993). Phaeopigment distribution during the 1990 spring bloom in the northeastern Atlantic. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 40, 2229–2242.

- Beitsch, A., Kaleschke, L., and Kern, S. (2014). Investigating High-Resolution AMSR2 Sea Ice Concentrations during the February 2013 Fracture Event in the Beaufort Sea. *Remote Sensing* 6, 3841–3856. doi:10.3390/rs6053841.
- Belcher, A., Iversen, M., Manno, C., Henson, S. A., Tarling, G. A., and Sanders, R. (2016). The role of particle associated microbes in remineralization of fecal pellets in the upper mesopelagic of the Scotia Sea, Antarctica. *Limnol. Oceanogr.* 61, 1049–1064. doi:10.1002/lno.10269.
- Belcher, A., Manno, C., Ward, P., Henson, S. A., Sanders, R., and Tarling, G. A. (2017). Copepod faecal pellet transfer through the meso- and bathypelagic layers in the Southern Ocean in spring. *Biogeosciences* 14, 1511–1525. doi:10.5194/bg-14-1511-2017.
- Ben Mustapha, Z., Alvain, S., Jamet, C., Loisel, H., and Dessailly, D. (2014). Automatic classification of water-leaving radiance anomalies from global SeaWiFS imagery: Application to the detection of phytoplankton groups in open ocean waters. *Remote Sensing of Environment* 146, 97–112. doi:10.1016/j.rse.2013.08.046.
- Benedetti, F., Gasparini, S., and Ayata, S.-D. (2016). Identifying copepod functional groups from species functional traits. *Journal of Plankton Research* 38, 159–166. doi:10.1093/plankt/fbv096.
- Berggreen, U., Hansen, B., and Kiørboe, T. (1988). Food size spectra, ingestion and growth of the copepod *Acartia tonsa* during development: Implications for determination of copepod production. *Mar. Biol.* 99, 341–352. doi:10.1007/BF02112126.
- Bergkvist, J., Thor, P., Jakobsen, H. H., Wängberg, S.-Å., and Selander, E. (2012). Grazer-induced chain length plasticity reduces grazing risk in a marine diatom. *Limnology and Oceanography* 57, 318–324. doi:10.4319/lo.2012.57.1.0318.
- Besiktepe, S., and Dam, H. G. (2002). Coupling of ingestion and defecation as a function of diet in the calanoid copepod *Acartia tonsa*. *Marine Ecology Progress Series* 229, 151–164.
- Biard, T., Stemmann, L., Picheral, M., Mayot, N., Vandromme, P., Hauss, H., et al. (2016). *In situ* imaging reveals the biomass of giant protists in the global ocean. *Nature* 532, 504.
- Bidle, K. D., and Azam, F. (1999). Accelerated dissolution of diatom silica by marine bacterial assemblages. *Nature* 397, 508. doi:10.1038/17351.
- Bienfang, P. K. (1981). Sinking rates of heterogeneous, temperate phytoplankton populations. *J Plankton Res* 3, 235–253. doi:10.1093/plankt/3.2.235.
- Bjærke, O., Jonsson, P. R., Alam, A., and Selander, E. (2015). Is chain length in phytoplankton regulated to evade predation? *J Plankton Res* 37, 1110–1119. doi:10.1093/plankt/fbv076.
- Bochdansky, A. B., and Herndl, G. J. (1992). Ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the Northern Adriatic Sea. 111. Zooplankton interactions with marine snow. *Mar Ecol Prog Ser* 87, 135–146.
- Bochdansky, A. B., Puskaric, S., and Herndl, G. J. (1995). Influence of zooplankton grazing on free dissolved enzymes in the sea. *Marine Ecology Progress Series* 121, 53–63.

- Bonnet, D., Titelman, J., and Harris, R. (2004). *Calanus* the cannibal. *J Plankton Res* 26, 937–948. doi:10.1093/plankt/fbh087.
- Bopp, L., Monfray, P., Aumont, O., Dufresne, J.-L., Treut, H. L., Madec, G., et al. (2001). Potential impact of climate change on marine export production. *Global Biogeochemical Cycles* 15, 81–99. doi:10.1029/1999GB001256.
- Boutorh, J., Moriceau, B., Gallinari, M., Ragueneau, O., and Bucciarelli, E. (2016). Effect of trace metal-limited growth on the postmortem dissolution of the marine diatom *Pseudo-nitzschia delicatissima*: Micronutrient limited diatom dissolution. *Global Biogeochemical Cycles* 30, 57–69. doi:10.1002/2015GB005088.
- Bressac, M., Guieu, C., Doxaran, D., Bourrin, F., Obolensky, G., and Grisoni, J.-M. (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, 153–164.
- Breteler, W. K., Schogt, N., and Rampen, S. (2005). Effect of diatom nutrient limitation on copepod development: role of essential lipids. *Marine Ecology Progress Series* 291, 125–133.
- Broecker, W. S., and Peng, T.-H. (1974). Gas exchange rates between air and sea. *Tellus* 26, 21–35. doi:10.3402/tellusa.v26i1-2.9733.
- Broecker, W. S., Takahashi, T., Simpson, H. J., and Peng, T.-H. (1979). Fate of Fossil Fuel Carbon Dioxide and the Global Carbon Budget. *Science* 206, 409–418. doi:10.1126/science.206.4417.409.
- Brun, P., Stamieszkin, K., Visser, A. W., Licandro, P., Payne, M. R., and Kjørboe, T. (2019). Climate change has altered zooplankton-fuelled carbon export in the North Atlantic. *Nature Ecology & Evolution*. doi:10.1038/s41559-018-0780-3.
- Brzezinski, M. A. (1985). The Si:C Ratio of Marine Diatoms : Interspecific Variability and The Effect of some Environmental Variables. *Journal of Phycology* 21, 347–357. doi:10.1111/j.0022-3646.1985.00347.x.
- Brzezinski, M. A., Alldredge, A. L., and O’Bryan, L. M. (1997). Silica cycling within marine snow. *Limnology and Oceanography* 42, 1706–1713.
- Brzezinski, M. A., and Nelson, D. M. (1995). The annual silica cycle in the Sargasso Sea near Bermuda. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 42, 1215–1237. doi:10.1016/0967-0637(95)93592-3.
- Buck, K. R., and Chavez, F. P. (1994). Diatom aggregates from the open ocean. *J Plankton Res* 16, 1449–1457. doi:10.1093/plankt/16.10.1449.
- Buesseler, K. O., Antia, A. N., Chen, M., Fowler, S. W., Gardner, W. D., Gustafsson, O., et al. (2007a). An assessment of the use of sediment traps for estimating upper ocean particle fluxes. *Journal of Marine Research* 65, 345–416. doi:info:doi/10.1357/002224007781567621.
- Buesseler, K. O., Lamborg, C. H., Boyd, P. W., Lam, P. J., Trull, T. W., Bidigare, R. R., et al. (2007b). Revisiting carbon flux through the ocean’s twilight zone. *science* 316, 567–570.

- Burd, A. B., and Jackson, G. A. (2009). Particle aggregation. *Annual Review of Marine Science* 1, 65–90.
- Butler, M., and Dam, H. (1994). Production rates and characteristics of fecal pellets of the copepod *Acartia tonsa* under simulated phytoplankton bloom conditions: implications for vertical fluxes. *Marine Ecology Progress Series* 114, 81–91. doi:10.3354/meps114081.
- Calbet, A. (2001). Mesozooplankton grazing effect on primary production: A global comparative analysis in marine ecosystems. *Limnology and Oceanography* 46, 1824–1830. doi:10.4319/lo.2001.46.7.1824.
- Capriulo, G. M., Smith, G., Troy, R., Wikfors, G. H., Pellet, J., and Yarish, C. (2002). The planktonic food web structure of a temperate zone estuary, and its alteration due to eutrophication. *Nutrients and eutrophication in estuaries and coastal waters*, 263–333.
- Cataletto, B., Feoli, E., Umani, S. F., Monti, M., and Pecchiar, I. (1996). Analyses of the relationship between mucous aggregates and phytoplankton communities in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic Sea) by multivariate techniques. *Marine ecology* 17, 291–307.
- Cavan, E. L., Laurenceau-Cornec, E. C., Bressac, M., and Boyd, P. W. (2019). Exploring the ecology of the mesopelagic biological pump. *Progress in Oceanography*, 102125.
- Cavan, E. L., Trimmer, M., Shelley, F., and Sanders, R. (2017). Remineralization of particulate organic carbon in an ocean oxygen minimum zone. *Nature communications* 8, 14847.
- Cisternas-Novoa, C., Lee, C., and Engel, A. (2014). A semi-quantitative spectrophotometric, dye-binding assay for determination of Coomassie Blue stainable particles. *Limnology and Oceanography: Methods* 12, 604–616. doi:10.4319/lom.2014.12.604.
- Cisternas-Novoa, C., Lee, C., and Engel, A. (2015). Transparent exopolymer particles (TEP) and Coomassie stainable particles (CSP): Differences between their origin and vertical distributions in the ocean. *Marine Chemistry* 175, 56–71. doi:10.1016/j.marchem.2015.03.009.
- Cisternas-Novoa, C., Lee, C., Tang, T., de Jesus, R., and Engel, A. (2019a). Effects of higher CO₂ and temperature on exopolymer particle content and physical properties of marine aggregates. *Frontiers in Marine Science* 5, Art. Nr. 500.
- Cisternas-Novoa, C., Moigne, F. A. C. L., and Engel, A. (2019b). Composition and vertical flux of particulate organic matter to the oxygen minimum zone of the central Baltic Sea: impact of a sporadic North Sea inflow. *Biogeosciences* 16, 927–947. doi:https://doi.org/10.5194/bg-16-927-2019.
- Claquin, P., and Martin-Jézéquel, V. (2005). Regulation of the Si and C uptake and of the soluble free-silicon pool in a synchronised culture of *Cylindrotheca fusiformis* (Bacillariophyceae): effects on the Si/C ratio. *Marine Biology* 146, 877–886. doi:10.1007/s00227-004-1493-5.
- Claquin, P., Martin-Jézéquel, V., Kromkamp, J. C., Veldhuis, M. J., and Kraay, G. W. (2002). Uncoupling of silicon and nitrogen metabolisms and the role of the cell cycle in continuous cultures of *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae) under light, nitrogen and phosphorus control. *Journal of Phycology* 38, 922–930.

- Coachman, L. K., and Aagaard, K. (1974). “Physical oceanography of Arctic and subarctic seas,” in *Marine geology and oceanography of the Arctic seas* (Springer), 1–72.
- Cole, M., Lindeque, P. K., Fileman, E., Clark, J., Lewis, C., Halsband, C., et al. (2016). Microplastics Alter the Properties and Sinking Rates of Zooplankton Faecal Pellets. *Environmental Science & Technology* 50, 3239–3246. doi:10.1021/acs.est.5b05905.
- Comiso, J. C. (2002). A rapidly declining perennial sea ice cover in the Arctic. *Geophysical Research Letters* 29, 17-1-17–4.
- Comiso, J. C., Parkinson, C. L., Gersten, R., and Stock, L. (2008). Accelerated decline in the Arctic sea ice cover. *Geophysical Research Letters* 35. doi:10.1029/2007GL031972.
- Corzo, A., Morillo, J. A., and Rodríguez, S. (2000). Production of transparent exopolymer particles (TEP) in cultures of *Chaetoceros calcitrans* under nitrogen limitation. *Aquatic Microbial Ecology* 23, 63–72.
- Cowie, G. L., and Hedges, J. I. (1996). Digestion and alteration of the biochemical constituents of a diatom (*Thalassiosira weissflogii*) ingested by an herbivorous zooplankton (*Calanus pacificus*). *Limnology and Oceanography* 41, 581–594.
- Dagg, M. J. (1993). Sinking particles as a possible source of nutrition for the large calanoid copepod *Neocalanus cristatus* in the subarctic Pacific Ocean. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 40, 1431–1445. doi:10.1016/0967-0637(93)90121-I.
- Dagg, M. J., and Walser Jr, W. E. (1987). Ingestion, gut passage, and egestion by the copepod *Neocalanus plumchrus* in the laboratory and in the subarctic Pacific Ocean 1 2. *Limnology and Oceanography* 32, 178–188.
- Dahms, H.-U. (1995). Dormancy in the Copepoda—an overview. *Hydrobiologia* 306, 199–211.
- Dall’Olmo, G., Dingle, J., Polimene, L., Brewin, R. J., and Claustre, H. (2016). Substantial energy input to the mesopelagic ecosystem from the seasonal mixed-layer pump. *Nature geoscience* 9, 820.
- Darnis, G., Barber, D. G., and Fortier, L. (2008). Sea ice and the onshore–offshore gradient in pre-winter zooplankton assemblages in southeastern Beaufort Sea. *Journal of Marine Systems* 74, 994–1011.
- Darnis, G., Hobbs, L., Geoffroy, M., Grenvald, J. C., Renaud, P. E., Berge, J., et al. (2017). From polar night to midnight sun: Diel vertical migration, metabolism and biogeochemical role of zooplankton in a high Arctic fjord (Kongsfjorden, Svalbard). *Limnology and Oceanography* 62, 1586–1605. doi:10.1002/lno.10519.
- Darnis, G., Robert, D., Pomerleau, C., Link, H., Archambault, P., Nelson, R. J., et al. (2012). Current state and trends in Canadian Arctic marine ecosystems: II. Heterotrophic food web, pelagic-benthic coupling, and biodiversity. *Climatic Change* 115, 179–205. doi:10.1007/s10584-012-0483-8.
- Davis, S. J., Caldeira, K., and Matthews, H. D. (2010). Future CO₂ Emissions and Climate Change from Existing Energy Infrastructure. *Science* 329, 1330–1333. doi:10.1126/science.1188566.

- Davison, P. C., Checkley Jr, D. M., Koslow, J. A., and Barlow, J. (2013). Carbon export mediated by mesopelagic fishes in the northeast Pacific Ocean. *Progress in Oceanography* 116, 14–30.
- de Melo Júnior, M., Miyashita, L. K., Silva, N. J., Gaeta, S. A., and Lopes, R. M. (2013). Reproductive traits of *Euterpina acutifrons* in a coastal area of Southeastern Brazil. *Marine Ecology* 34, 363–372. doi:10.1111/maec.12041.
- Degerlund, M., and Eilertsen, H. C. (2010). Main Species Characteristics of Phytoplankton Spring Blooms in NE Atlantic and Arctic Waters (68–80° N). *Estuaries and Coasts* 33, 242–269. doi:10.1007/s12237-009-9167-7.
- DeJong, H. B., Dunbar, R. B., Koweek, D. A., Mucciarone, D. A., Bercovici, S. K., and Hansell, D. A. (2017). Net community production and carbon export during the late summer in the Ross Sea, Antarctica. *Global Biogeochemical Cycles* 31, 473–491. doi:10.1002/2016GB005417.
- Diercks, A.-R., and Asper, V. L. (1997). *In situ* settling speeds of marine snow aggregates below the mixed layer: Black Sea and Gulf of Mexico. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 44, 385–398. doi:10.1016/S0967-0637(96)00104-5.
- Dilling, L., and Alldredge, A. L. (2000). Fragmentation of marine snow by swimming macrozooplankton: A new process impacting carbon cycling in the sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 47, 1227–1245.
- Dilling, L., and Brzezinski, M. A. (2004). Quantifying marine snow as a food choice for zooplankton using stable silicon isotope tracers. *J Plankton Res* 26, 1105–1114. doi:10.1093/plankt/fbh103.
- Dilling, L., Wilson, J., Steinberg, D., and Alldredge, A. (1998). Feeding by the euphausiid *Euphausia pacifica* and the copepod *Calanus pacificus* on marine snow. *Marine Ecology Progress Series* 170, 189–201.
- Doney, S. C. (2006). Plankton in a warmer world: Oceanography. *Nature* 444, 695–696. doi:10.1038/444695a.
- Doney, S. C., Ruckelshaus, M., Emmett Duffy, J., Barry, J. P., Chan, F., English, C. A., et al. (2012). Climate Change Impacts on Marine Ecosystems. *Annual Review of Marine Science* 4, 11–37. doi:10.1146/annurev-marine-041911-111611.
- Dutz, J., Breteler, W. K., and Kramer, G. (2005). Inhibition of copepod feeding by exudates and transparent exopolymer particles (TEP) derived from a *Phaeocystis globosa* dominated phytoplankton community. *Harmful algae* 4, 929–940.
- Engel, A., and Passow, U. (2001). Carbon and nitrogen content of transparent exopolymer particles (TEP) in relation to their Alcian Blue adsorption. *Marine Ecology Progress Series* 219, 1–10. doi:Engel, Anja and Passow, U. (2001) Carbon and nitrogen content of transparent exopolymer particles (TEP) in relation to their Alcian Blue adsorption *Marine Ecology Progress Series*, 219 . pp. 1-10. DOI 10.3354/meps219001 <http://dx.doi.org/10.3354/meps219001>.

- Eppley, R. W., Holmes, R. W., and Strickland, J. D. (1967). Sinking rates of marine phytoplankton measured with a fluorometer. *Journal of experimental marine biology and ecology* 1, 191–208.
- Estapa, M. L., and Buesseler, K. O. (2018). Sediment trap gel images of settled particles that were collected from the Sargasso Sea between 2013 and 2014. doi:10.1575/1912/bco-dmo.734359.
- Feinberg, L. R., and Dam, H. G. (1998). Effects of diet on dimensions, density and sinking rates of fecal pellets of the copepod *Acartia tonsa*. *Marine Ecology Progress Series*, 87–96.
- Feng, Z., Ji, R., Campbell, R. G., Ashjian, C. J., and Zhang, J. (2016). Early ice retreat and ocean warming may induce copepod biogeographic boundary shifts in the Arctic Ocean. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 121, 6137–6158.
- Fernández-Méndez, M., Wenzhöfer, F., Peeken, I., Sørensen, H. L., Glud, R. N., and Boetius, A. (2014). Composition, buoyancy regulation and fate of ice algal aggregates in the Central Arctic Ocean. *PloS one* 9, e107452.
- Fileman, E., Smith, T., and Harris, R. (2007). Grazing by *Calanus helgolandicus* and *Parapseudocalanus* spp. on phytoplankton and protozooplankton during the spring bloom in the Celtic Sea. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 348, 70–84. doi:10.1016/j.jembe.2007.04.003.
- Forest, A., Sampei, M., Makabe, R., Sasaki, H., Barber, D. G., Gratton, Y., et al. (2018). The annual cycle of particulate organic carbon export in Franklin Bay (Canadian Arctic): Environmental control and food web implications. *Journal of Geophysical Research: Oceans*. doi:10.1029/2007JC004262@10.1002/(ISSN)2169-9291.CASES1.
- Fortier, M., Fortier, L., Hattori, H., Saito, H., and Legendre, L. (2001). Visual predators and the diel vertical migration of copepods under Arctic sea ice during the midnight sun. *J Plankton Res* 23, 1263–1278. doi:10.1093/plankt/23.11.1263.
- Frost, B. W. (1972). Effects of Size and Concentration of Food of the Particles on the Feeding Behavior Marine Planktonic Copepod *Calanus Pacificus*. *Limnology and Oceanography* 17, 805–815.
- Gaard, E., Gislason, A., Falkenhaus, T., Søiland, H., Musaeva, E., Vereshchaka, A., et al. (2008). Horizontal and vertical copepod distribution and abundance on the Mid-Atlantic Ridge in June 2004. *Deep Sea Research Part II: topical studies in oceanography* 55, 59–71.
- Gabric, A. J., Cropp, R., Hirst, T., and Marchant, H. (2003). The sensitivity of dimethyl sulfide production to simulated climate change in the Eastern Antarctic Southern Ocean. *Tellus B* 55, 966–981.
- Garvey, M., Moriceau, B., and Passow, U. (2007). Applicability of the FDA assay to determine the viability of marine phytoplankton under different environmental conditions. *Marine Ecology Progress Series* 352, 17–26.
- Geider, R. J., and La Roche, J. (1994). The role of iron in phytoplankton photosynthesis, and the potential for iron-limitation of primary productivity in the sea. *Photosynth Res* 39, 275–301. doi:10.1007/BF00014588.

- Gieskes, W. W. C., Leterme, S. C., Peletier, H., Edwards, M., and Reid, P. C. (2007). “*Phaeocystis* colony distribution in the North Atlantic Ocean since 1948, and interpretation of long-term changes in the *Phaeocystis* hotspot in the North Sea,” in *Phaeocystis, major link in the biogeochemical cycling of climate-relevant elements*, eds. M. A. van Leeuwe, J. Stefels, S. Belviso, C. Lancelot, P. G. Verity, and W. W. C. Gieskes (Dordrecht: Springer Netherlands), 49–60. doi:10.1007/978-1-4020-6214-8_5.
- Goldthwait, S. A., Carlson, C. A., Henderson, G. K., and Alldredge, A. L. (2005). Effects of physical fragmentation on remineralization of marine snow. *Marine Ecology Progress Series* 305, 59–65. doi:10.3354/meps305059.
- Goldthwait, S., Yen, J., Brown, J., and Alldredge, A. (2004). Quantification of marine snow fragmentation by swimming euphausiids. *Limnology and Oceanography* 49, 940–952.
- Gorgues, T., Aumont, O., and Memery, L. (2019). Simulated changes in the particulate carbon export efficiency due to diel vertical migration of zooplankton in the North Atlantic. *Geophysical Research Letters* 46, 5387–5395.
- Gorsky, G., Chrétiennot-Dinet, M. J., Blanchot, J., and Palazzoli, I. (1999). Picoplankton and nanoplankton aggregation by appendicularians: Fecal pellet contents of *Megalocercus huxleyi* in the equatorial Pacific. *J. Geophys. Res.* 104, 3381–3390. doi:10.1029/98JC01850.
- Gorsky, G., Ohman, M. D., Picheral, M., Gasparini, S., Stemmann, L., Romagnan, J.-B., et al. (2010). Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system. *J Plankton Res* 32, 285–303. doi:10.1093/plankt/fbp124.
- Gorsky, G., and Picheral, M. (2000). Use of the Underwater Video Profiler for the Study of Aggregate Dynamics in the North Mediterranean. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 50, 121–128. doi:10.1006/ecss.1999.0539.
- Gorsky, G., Picheral, M., and Stemmann, L. (2000). Use of the Underwater Video Profiler for the study of aggregate dynamics in the North Mediterranean. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 50, 121–128.
- Grebner, W., Berglund, E. C., Berggren, F., Eklund, J., Harðadóttir, S., Andersson, M. X., et al. (2018). Induction of defensive traits in marine plankton-new copepodamide structures: *New copepodamide structures*. *Limnology and Oceanography*. doi:10.1002/lno.11077.
- Green, E. P., and Dagg, M. J. (1997). Mesozooplankton associations with medium to large marine snow aggregates in the northern Gulf of Mexico. *J Plankton Res* 19, 435–447. doi:10.1093/plankt/19.4.435.
- Guidi, L., Gorsky, G., Claustre, H., Miquel, J. C., Picheral, M., and Stemmann, L. (2008). Distribution and fluxes of aggregates > 100 µm in the upper kilometer of the South-Eastern Pacific. *Biogeosciences* 5, 1361–1372.
- Guidi, L., Legendre, L., Reygondeau, G., Uitz, J., Stemmann, L., and Henson, S. A. (2015). A new look at ocean carbon remineralization for estimating deepwater sequestration: Ocean remineralization and sequestration. *Global Biogeochemical Cycles* 29, 1044–1059. doi:10.1002/2014GB005063.

- Guidi, L., Stemmann, L., Legendre, L., Picheral, M., Prieur, L., and Gorsky, G. (2007). Vertical distribution of aggregates ($> 110 \mu\text{m}$) and mesoscale activity in the northeastern Atlantic: Effects on the deep vertical export of surface carbon. *Limnology and Oceanography* 52, 7–18.
- Guillard, R. R. L., and Ryther, J. H. (1962). Studies of Marine Planktonic Diatoms: I. *Cyclotella* Nana Hustedt, and *Detonula* Confervacea (cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8, 229–239. doi:10.1139/m62-029.
- Hale, M. S., and Mitchell, J. G. (2001). Functional morphology of diatom frustule microstructures: hydrodynamic control of Brownian particle diffusion and advection. *Aquatic Microbial Ecology* 24, 287–295.
- Hamm, C. E., Merkel, R., Springer, O., Jurkojc, P., Maier, C., Prechtel, K., et al. (2003). Architecture and material properties of diatom shells provide effective mechanical protection. *Nature* 421, 841.
- Hansen, B., Christiansen, S., and Pedersen, G. (1996). Plankton dynamics in the marginal ice zone of the central Barents Sea during spring: carbon flow and structure of the grazer food chain. *Polar Biol* 16, 115–128. doi:10.1007/BF02390432.
- Harðardóttir, S., Wohlrab, S., Hjort, D. M., Krock, B., Nielsen, T. G., John, U., et al. (2019). Transcriptomic responses to grazing reveal the metabolic pathway leading to the biosynthesis of domoic acid and highlight different defense strategies in diatoms. *BMC Molecular Biol* 20, 1–14. doi:10.1186/s12867-019-0124-0.
- Harrison, P. J., Conway, H. L., Holmes, R. W., and Davis, C. O. (1977). Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. III. Cellular chemical composition and morphology of *Chaetoceros debilis*, *Skeletonema costatum*, and *Thalassiosira gravida*. *Marine Biology* 43, 19–31. doi:10.1007/BF00392568.
- Head, E. J. H. (1992). Comparison of the chemical composition of particulate material and copepod faecal pellets at stations off the coast of Labrador and in the Gulf of St. Lawrence. *Marine Biology* 112, 593–600. doi:10.1007/BF00346177.
- Helling, G. R., and Baars, M. A. (1985). Changes of the concentrations of chlorophyll and phaeopigment in grazing experiments. *Hydrobiological Bulletin* 19, 41–48.
- Henson, S., Moigne, F. L., and Giering, S. (2019). Drivers of Carbon Export Efficiency in the Global Ocean. *Global Biogeochemical Cycles* 33. doi:10.1029/2018GB006158.
- Herstoff, E. M., Baines, S. B., Boersma, M., and Meunier, C. L. (2019). Does prey elemental stoichiometry influence copepod movement over ontogeny? *Limnology and Oceanography*.
- Hildebrand, M. (2002). Lack of Coupling Between Silicon and Other Elemental Metabolisms in Diatoms. *Journal of Phycology* 38, 841–843. doi:10.1046/j.1529-8817.2002.t01-1-01232.x.
- Hillebrand, H., Dürselen, C.-D., Kirschtel, D., Pollinger, U., and Zohary, T. (1999). Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology* 35, 403–424. doi:10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x.

- Hirche, H.-J., and Kattner, G. (1993). Egg production and lipid content of *Calanus glacialis* in spring: indication of a food-dependent and food-independent reproductive mode. *Marine Biology* 117, 615–622. doi:10.1007/BF00349773.
- Humes, A. G. (1994). “How many copepods?,” in *Ecology and morphology of copepods* (Springer), 1–7.
- Hutchins, D. A., and Bruland, K. W. (1998). Iron-limited diatom growth and Si:N uptake ratios in a coastal upwelling regime. *Nature* 393, 561–564. doi:10.1038/31203.
- Hutchins, D. A., DiTullio, G. R., Zhang, Y., and Bruland, K. W. (1998). An iron limitation mosaic in the California upwelling regime. *Limnology and Oceanography* 43, 1037–1054. doi:10.4319/lo.1998.43.6.1037.
- Irigoién, X., Flynn, K. J., and Harris, R. P. (2005). Phytoplankton blooms: a ‘loophole’ in microzooplankton grazing impact? *J Plankton Res* 27, 313–321. doi:10.1093/plankt/fbi011.
- Irigoién, X., Harris, R. P., Verheye, H. M., Joly, P., Runge, J., Starr, M., et al. (2002). Copepod hatching success in marine ecosystems with high diatom concentrations. *Nature* 419, 387–389. doi:10.1038/nature01055.
- Isari, S., Antó, M., and Saiz, E. (2013). Copepod Foraging on the Basis of Food Nutritional Quality: Can Copepods Really Choose? *PLoS ONE* 8. doi:10.1371/journal.pone.0084742.
- Iversen, M. H., and Ploug, H. (2010). Ballast minerals and the sinking carbon flux in the ocean: carbon-specific respiration rates and sinking velocity of marine snow aggregates. *Biogeosciences* 7, 2613–2624. doi:10.5194/bg-7-2613-2010.
- Jackson, G. A. (1990). A model of the formation of marine algal flocs by physical coagulation processes. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 37, 1197–1211.
- Jackson, G. A. (2015). Coagulation in a rotating cylinder: Coagulation in a rotating tank. *Limnology and Oceanography: Methods* 13, e10018. doi:10.1002/lom3.10018.
- Jackson, G. A., and Lochmann, S. E. (1992). Effect of coagulation on nutrient and light limitation of an algal bloom. *Limnology and Oceanography* 37, 77–89. doi:10.4319/lo.1992.37.1.0077.
- Janout, M. A., Hölemann, J., Waite, A. M., Krumpen, T., Appen, W.-J. von, and Martynov, F. (2016). Sea-ice retreat controls timing of summer plankton blooms in the Eastern Arctic Ocean. *Geophysical Research Letters* 43, 12,493–12,501. doi:10.1002/2016GL071232.
- Jónasdóttir, S. H., Visser, A. W., Richardson, K., and Heath, M. R. (2015). Seasonal copepod lipid pump promotes carbon sequestration in the deep North Atlantic. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112, 12122–12126.
- Karnovsky, N. J., Kwaśniewski, S., Węśławski, J. M., Walkusz, W., and Beszczyńska-Möller, A. (2003). Foraging behavior of little auks in a heterogeneous environment. *Marine Ecology Progress Series* 253, 289–303.

- Katlein, C., Fernández-Méndez, M., Wenzhöfer, F., and Nicolaus, M. (2015). Distribution of algal aggregates under summer sea ice in the Central Arctic. *Polar biology* 38, 719–731.
- Kjørboe, T. (2000). Colonization of marine snow aggregates by invertebrate zooplankton: abundance, scaling, and possible role. *Limnology and Oceanography* 45, 479–484.
- Kjørboe, T., and Hansen, J. L. S. (1993). Phytoplankton aggregate formation: observations of patterns and mechanisms of cell sticking and the significance of exopolymeric material. *J Plankton Res* 15, 993–1018. doi:10.1093/plankt/15.9.993.
- Kjørboe, T., Hansen, J. L. S., Alldredge, A. L., Jackson, G. A., Passow, U., Dam, H. G., et al. (1996). Sedimentation of phytoplankton during a diatom bloom: Rates and mechanisms. *Journal of Marine Research* 54, 1123–1148. doi:10.1357/0022240963213754.
- Kjørboe, T., Møhlenberg, F., and Hamburger, K. (1985). Bioenergetics of the planktonic copepod *Acartia tonsa*: relation between feeding, egg production and respiration, and composition of specific dynamic action. *Mar Ecol Prog Ser* 26, 85–97.
- Klein, P., and Lapeyre, G. (2009). The oceanic vertical pump induced by mesoscale and submesoscale turbulence. *Annual review of marine science* 1, 351–375.
- Komar, P. D., Morse, A. P., Small, L. F., and Fowler, S. W. (1981). An analysis of sinking rates of natural copepod and euphausiid fecal pellets 1. *Limnology and Oceanography* 26, 172–180.
- Koski, M., Boutorh, J., and de la Rocha, C. (2017). Feeding on dispersed vs. aggregated particles: The effect of zooplankton feeding behavior on vertical flux. *PLOS ONE* 12, e0177958. doi:10.1371/journal.pone.0177958.
- Krause, J. W., Duarte, C. M., Marquez, I. A., Assmy, P., Fernández-Méndez, M., Wiedmann, I., et al. (2018). Biogenic silica production and diatom dynamics in the Svalbard region during spring. *Biogeosciences* 15, 6503–6517.
- Kuwata, A., Yamada, K., Ichinomiya, M., Yoshikawa, S., Tragin, M., Vaultot, D., et al. (2018). Bolidophyceae, a Sister Picoplanktonic Group of Diatoms—A Review. *Frontiers in Marine Science* 5, 370.
- Kwok, R., and Rothrock, D. A. (2009). Decline in Arctic sea ice thickness from submarine and ICESat records: 1958–2008. *Geophysical Research Letters* 36.
- Lafond, A., Leblanc, K., Queguiner, B., Moriceau, B., Leynaert, A., Cornet, V., et al. (2019). Late spring bloom development of pelagic diatoms in Baffin Bay Plankton image gallery View project SILICAMICS View project. *Elementa: Science of the Anthropocene*. doi:10.1525/elementa.382.
- Lampert, W. (1989). The adaptive significance of diel vertical migration of zooplankton. *Functional Ecology* 3, 21–27.
- Lampitt, R. S., and Antia, A. N. (1997). Particle flux in deep seas: regional characteristics and temporal variability. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 44, 1377–1403.

- Lampitt, R. S., Wishner, K. F., Turley, C. M., and Angel, M. V. (1993). Marine snow studies in the Northeast Atlantic Ocean: distribution, composition and role as a food source for migrating plankton. *Marine Biology* 116, 689–702.
- Laurenceau-Cornec, E. C., Moigne, F. A. C. L., Gallinari, M., Moriceau, B., Toullec, J., Iversen, M. H., et al. (2019). New guidelines for the application of Stokes' models to the sinking velocity of marine aggregates. *Limnology and Oceanography* 9999, 1–22. doi:10.1002/lno.11388.
- Le Moigne, F. A. (2019). Pathways of organic carbon downward transport by the oceanic biological carbon pump. *Front. Mar. Sci.* 6. doi:10.3389/fmars.2019.00634.
- Lee, R. F., Hagen, W., and Kattner, G. (2006). Lipid storage in marine zooplankton. *Marine Ecology Progress Series* 307, 273–306.
- Lee, R. F., Nevenzel, J. C., and Lewis, A. G. (1974). Lipid changes during life cycle of marine copepod, *Euchaeta japonica marukawa*. *Lipids* 9, 891–898. doi:10.1007/BF02532615.
- Leiknes, Ø., Etter, S. A., Tokle, N. E., Bergvik, M., Vadstein, O., and Olsen, Y. (2016). The Effect of Essential Fatty Acids for the Somatic Growth in Nauplii of *Calanus finmarchicus*. *Front. Mar. Sci.* 3. doi:10.3389/fmars.2016.00033.
- Leu, E., Mundy, C. J., Assmy, P., Campbell, K., Gabrielsen, T., Gosselin, M., et al. (2015). Arctic spring awakening – Steering principles behind the phenology of vernal ice algal blooms. *Progress in Oceanography* 139, 151–170. doi:10.1016/j.pocean.2015.07.012.
- Leu, E., Søreide, J. E., Hessen, D. O., Falk-Petersen, S., and Berge, J. (2011). Consequences of changing sea-ice cover for primary and secondary producers in the European Arctic shelf seas: timing, quantity, and quality. *Progress in Oceanography* 90, 18–32.
- Lévy, M., Bopp, L., Karleskind, P., Resplandy, L., Éthé, C., and Pinsard, F. (2013a). Physical pathways for carbon transfers between the surface mixed layer and the ocean interior. *Global Biogeochemical Cycles* 27, 1001–1012.
- Lévy, M., Bopp, L., Karleskind, P., Resplandy, L., Éthé, C., and Pinsard, F. (2013b). Physical pathways for carbon transfers between the surface mixed layer and the ocean interior. *Global Biogeochemical Cycles* 27, 1001–1012.
- Leynaert, A., Tréguer, P., Lancelot, C., and Rodier, M. (2001). Silicon limitation of biogenic silica production in the Equatorial Pacific. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 48, 639–660. doi:10.1016/S0967-0637(00)00044-3.
- Lim, S. M., Moreau, S., Vancoppenolle, M., Deman, F., Roukaerts, A., Meiners, K. M., et al. (2019). Field Observations and Physical-Biogeochemical Modeling Suggest Low Silicon Affinity for Antarctic Fast Ice Diatoms. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 124, 7837–7853. doi:10.1029/2018JC014458.
- Ling, S. C., and Alldredge, A. L. (2003). Does the marine copepod *Calanus pacificus* consume transparent exopolymer particles (TEP)? *Journal of plankton research* 25, 507–515.
- Liu, H., Chen, M., Zhu, F., and Harrison, P. J. (2016). Effect of Diatom Silica Content on Copepod Grazing, Growth and Reproduction. *Front. Mar. Sci.* 3. doi:10.3389/fmars.2016.00089.

- Lombard, F., Boss, E., Waite, A. M., Uitz, J., Stemmann, L., Sosik, H. M., et al. (2019). Globally consistent quantitative observations of planktonic ecosystems. *Frontiers in Marine Science* 6, 196.
- Lombard, F., Guidi, L., and Kiørboe, T. (2013a). Effect of Type and Concentration of Ballasting Particles on Sinking Rate of Marine Snow Produced by the Appendicularian *Oikopleura dioica*. *PLoS ONE* 8, e75676. doi:10.1371/journal.pone.0075676.
- Lombard, F., Koski, M., and Kiørboe, T. (2013b). Copepods use chemical trails to find sinking marine snow aggregates. *Limnology and Oceanography* 58, 185–192. doi:10.4319/lo.2013.58.1.0185.
- Long, M., Moriceau, B., Gallinari, M., Lambert, C., Huvet, A., Raffray, J., et al. (2015). Interactions between microplastics and phytoplankton aggregates: Impact on their respective fates. *Marine Chemistry* 175, 39–46. doi:10.1016/j.marchem.2015.04.003.
- Longhurst, A. R. (1985). The structure and evolution of plankton communities. *Progress in Oceanography* 15, 1–35.
- Lovejoy, C., Legendre, L., Martineau, M.-J., Bâcle, J., and Von Quillfeldt, C. H. (2002). Distribution of phytoplankton and other protists in the North Water. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 49, 5027–5047.
- Lüthi, D., Le Floch, M., Bereiter, B., Blunier, T., Barnola, J.-M., Siegenthaler, U., et al. (2008). High-resolution carbon dioxide concentration record 650,000–800,000 years before present. *Nature* 453, 379.
- Lynn, S. G., Kilham, S. S., Kreeger, D. A., and Interlandi, S. J. (2000). Effect of Nutrient Availability on the Biochemical and Elemental Stoichiometry in the Freshwater Diatom *Stephanodiscus Minutulus* (bacillariophyceae)*. *Journal of Phycology* 36, 510–522. doi:10.1046/j.1529-8817.2000.98251.x.
- Magaletti, E., Urbani, R., Sist, P., Ferrari, C. R., and Cicero, A. M. (2004). Abundance and chemical characterization of extracellular carbohydrates released by the marine diatom *Cylindrotheca fusiformis* under N- and P-limitation. *European Journal of Phycology* 39, 133–142. doi:10.1080/0967026042000202118.
- Malej, A., and Harris, R. P. (1993). Inhibition of copepod grazing by diatom exudates: a factor in the development of mucus aggregates? *Marine Ecology Progress Series* 96, 33–42.
- Mann, D. G., and Droop, S. J. M. (1996). “Biodiversity, biogeography and conservation of diatoms,” in *Biogeography of Freshwater Algae* Developments in Hydrobiology., ed. J. Kristiansen (Springer Netherlands), 19–32. doi:10.1007/978-94-017-0908-8_2.
- Marchant, H. J., and Thomsen, H. A. (1994). Haptophytes in polar waters. *SYSTEMATICS ASSOCIATION SPECIAL VOLUME* 51, 209–209.
- Marchetti, A., and Cassar, N. (2009). Diatom elemental and morphological changes in response to iron limitation: a brief review with potential paleoceanographic applications. *Geobiology* 7, 419–431. doi:10.1111/j.1472-4669.2009.00207.x.

- Mari, X., and Burd, A. (1998). Seasonal size spectra of transparent exopolymeric particles (TEP) in a coastal sea and comparison with those predicted using coagulation theory. *Mar Ecol Prog Ser* 163, 63–76. doi:10.3354/meps163063.
- Mari, X., and Kiørboe, T. (1996). Abundance, size distribution and bacterial colonization of transparent exopolymeric particles (TEP) during spring in the Kattegat. *J Plankton Res* 18, 969–986. doi:10.1093/plankt/18.6.969.
- Mari, X., Rassoulzadegan, F., Brussaard, C. P. D., and Wassmann, P. (2005). Dynamics of transparent exopolymeric particles (TEP) production by *Phaeocystis globosa* under N- or P-limitation: a controlling factor of the retention/export balance. *Harmful Algae* 4, 895–914. doi:10.1016/j.hal.2004.12.014.
- Martin-Jézéquel, V., Hildebrand, M., and Brzezinski, M. A. (2000). Silicon Metabolism in Diatoms: Implications for Growth. *Journal of Phycology* 36, 821–840. doi:10.1046/j.1529-8817.2000.00019.x.
- Massicotte, P., Amiraux, R., Amyot, M.-P., Archambault, P., Ardyna, M., Arnaud, L., et al. (2019). Green Edge ice camp campaigns: understanding the processes controlling the under-ice Arctic phytoplankton spring bloom. *Earth System Science Data Discussions*, 1–42. doi:https://doi.org/10.5194/essd-2019-160.
- Massicotte, P., Bécu, G., Lambert-Girard, S., Leymarie, E., and Babin, M. (2018). Estimating underwater light regime under spatially heterogeneous sea ice in the Arctic. *Applied Sciences* 8, 2693.
- Masson-Delmotte, V., Zhai, P., Pörtner, H.-O., Roberts, D., Skea, J., Shukla, P. R., et al. (2019). IPCC, 2018: Global Warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC).
- McDonnell, A. M. P., Lam, P. J., Lamborg, C. H., Buesseler, K. O., Sanders, R., Riley, J. S., et al. (2015). The oceanographic toolbox for the collection of sinking and suspended marine particles. *Progress in Oceanography* 133, 17–31. doi:10.1016/j.pocean.2015.01.007.
- Meunier, C. L., Boersma, M., Wiltshire, K. H., and Malzahn, A. M. (2016). Zooplankton eat what they need: copepod selective feeding and potential consequences for marine systems. *Oikos* 125, 50–58. doi:10.1111/oik.02072.
- Miklasz, K. A., and Denny, M. W. (2010). Diatom sinkings speeds: Improved predictions and insight from a modified Stokes' law. *Limnology and Oceanography* 55, 2513–2525.
- Milligan, A. J. (2002). A Proton Buffering Role for Silica in Diatoms. *Science* 297, 1848–1850. doi:10.1126/science.1074958.
- Møller, E. F. (2007). Production of dissolved organic carbon by sloppy feeding in the copepods *Acartia tonsa*, *Centropages typicus*, and *Temora longicornis*. *Limnology and Oceanography* 52, 79–84.

- Møller, E. F., Thor, P., and Nielsen, T. G. (2003). Production of DOC by *Calanus finmarchicus*, *C. glacialis* and *C. hyperboreus* through sloppy feeding and leakage from fecal pellets. *Marine Ecology Progress Series* 262, 185–191. doi:10.3354/meps262185.
- Moore, C. M., Mills, M. M., Arrigo, K. R., Berman-Frank, I., Bopp, L., Boyd, P. W., et al. (2013). Processes and patterns of oceanic nutrient limitation. *Nature Geoscience* 6, 701–710. doi:10.1038/ngeo1765.
- Moore, J. K., Doney, S. C., Glover, D. M., and Fung, I. Y. (2002). Iron cycling and nutrient-limitation patterns in surface waters of the World Ocean. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 49, 463–507. doi:10.1016/S0967-0645(01)00109-6.
- Mopper, K., Zhou, J., Sri Ramana, K., Passow, U., Dam, H. G., and Drapeau, D. T. (1995). The role of surface-active carbohydrates in the flocculation of a diatom bloom in a mesocosm. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 42, 47–73. doi:10.1016/0967-0645(95)00004-A.
- Morales, C. E. (1987). Carbon and nitrogen content of copepod faecal pellets: effect of food concentration and feeding behavior. *Mar. Ecol. Prog. Ser* 36, 107–114.
- Moriceau, B., Gallinari, M., Soetaert, K., and Ragueneau, O. (2007a). Importance of particle formation to reconstructed water column biogenic silica fluxes: From particle dissolution rates to BSiO₂ fluxes. *Global Biogeochemical Cycles* 21, n/a-n/a. doi:10.1029/2006GB002814.
- Moriceau, B., Garvey, M., Passow, U., and Ragueneau, O. (2007b). Evidence for reduced biogenic silica dissolution rates in diatom aggregates. *Marine Ecology Progress Series* 333, 129–142. doi:10.3354/meps333129.
- Moriceau, B., Iversen, M. H., Gallinari, M., Everts, A.-J. O., Le Goff, M., Beker, B., et al. (2018). Copepods Boost the Production but Reduce the Carbon Export Efficiency by Diatoms. *Frontiers in Marine Science* 5. doi:10.3389/fmars.2018.00082.
- Moriceau, B., Laruelle, G. G., Passow, U., Van Cappellen, P., and Ragueneau, O. (2014). Biogenic silica dissolution in diatom aggregates: insights from reactive transport modelling. *Marine Ecology Progress Series* 517, 35–49.
- Myklestad, S. (1977). Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. II. Influence of the NP ratio in the growth medium on the assimilation ratio, growth rate, and production of cellular and extracellular carbohydrates by *Chaetoceros affinis* var. *willei* (Gran) Hustedt and *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 29, 161–179. doi:10.1016/0022-0981(77)90046-6.
- Myklestad, S., Holm-Hansen, O., Vaarum, K. M., and Volcani, B. E. (1989). Rate of release of extracellular amino acids and carbohydrates from the marine diatom *Chaetoceros affinis*. *Journal of Plankton Research* 11, 763–773.
- Nelson, D. M., Anderson, R. F., Barber, R. T., Brzezinski, M. A., Buesseler, K. O., Chase, Z., et al. (2002). Vertical budgets for organic carbon and biogenic silica in the Pacific sector of the Southern Ocean, 1996–1998. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 49, 1645–1674. doi:10.1016/S0967-0645(02)00005-X.

- Nelson, D. M., Smith Jr, W. O., Muench, R. D., Gordon, L. I., Sullivan, C. W., and Husby, D. M. (1989). Particulate matter and nutrient distributions in the ice-edge zone of the Weddell Sea: relationship to hydrography during late summer. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers* 36, 191–209. doi:10.1016/0198-0149(89)90133-7.
- Nelson, D. M., Tréguer, P., Brzezinski, M. A., Leynaert, A., and Quéguiner, B. (1995). Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: Revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Global Biogeochemical Cycles* 9, 359–372. doi:10.1029/95GB01070.
- Newton, J. L., Aagaard, K., and Coachman, L. K. (1974). Baroclinic eddies in the Arctic Ocean. in *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* (Elsevier), 707–719.
- Nielsen, T. G., and Hansen, B. (1995). Plankton community structure and carbon cycling on the western coast of Greenland during and after the sedimentation of a diatom bloom. *Mar Ecol Prog Ser* 125, 239–257. doi:10.3354/meps125239.
- Nott, J. A., Corner, E. D. S., Marvin, L. J., and O’Hara, S. C. M. (1985). Cyclical contributions of the digestive epithelium to faecal pellet formation by the copepod *Calanus helgolandicus*. *Mar. Biol.* 89, 271–279. doi:10.1007/BF00393661.
- Nowald, N., Iversen, M. H., Fischer, G., Ratmeyer, V., and Wefer, G. (2015). Time series of in-situ particle properties and sediment trap fluxes in the coastal upwelling filament off Cape Blanc, Mauritania. *Progress in Oceanography* 137, 1–11. doi:10.1016/j.pocean.2014.12.015.
- Ohman, M. D., and Hirche, H.-J. (2001). Density-dependent mortality in an oceanic copepod population. *Nature* 412, 638–641. doi:10.1038/35088068.
- Ohman, M. D., Powell, J. R., Picheral, M., and Jensen, D. W. (2012). Mesozooplankton and particulate matter responses to a deep-water frontal system in the southern California Current System. *J Plankton Res* 34, 815–827. doi:10.1093/plankt/fbs028.
- Omand, M. M., D’Asaro, E. A., Lee, C. M., Perry, M. J., Briggs, N., Cetinić, I., et al. (2015). Eddy-driven subduction exports particulate organic carbon from the spring bloom. *Science* 348, 222–225.
- Ortega-Retuerta, E., Reche, I., Pulido-Villena, E., Agustí, S., and Duarte, C. M. (2009). Uncoupled distributions of transparent exopolymer particles (TEP) and dissolved carbohydrates in the Southern Ocean. *Marine Chemistry* 115, 59–65. doi:10.1016/j.marchem.2009.06.004.
- Oziel, L., Massicotte, P., Randelhoff, A., Ferland, J., Vladioiu, A., Lacour, L., et al. (2019). Environmental factors influencing the seasonal dynamics of spring algal blooms in and beneath sea ice in western Baffin Bay.
- Paasche, E. (1973). Silicon and the ecology of marine plankton diatoms. I. *Thalassiosira pseudonana* (*Cyclotella nana*) grown in a chemostat with silicate as limiting nutrient. *Marine Biology* 19, 117–126. doi:10.1007/BF00353582.
- Pachauri, R. K., Reisinger, A., Groupe d’experts intergouvernemental sur l’évolution du climat, Organisation météorologique mondiale, and Programme des Nations Unies pour

- l'environnement (2008). *Bilan 2007 des changements climatiques rapport de synthèse*. Geneve: GIEC.
- Paffenhoefer, G. A., and Knowles, S. C. (1979). Ecological implications of fecal pellet size, production and consumption by copepods. *J. Mar. Res.; (United States)* 37:1. Available at: <https://www.osti.gov/biblio/5683774> [Accessed November 6, 2019].
- Paffenhöfer, G.-A., and Köster, M. (2005). Digestion of diatoms by planktonic copepods and doliolids. *Marine Ecology Progress Series* 297, 303–310.
- Parekh, P., Dutkiewicz, S., Follows, M. J., and Ito, T. (2006). Atmospheric carbon dioxide in a less dusty world. *Geophys. Res. Lett.* 33, L03610. doi:10.1029/2005GL025098.
- Passow, U. (2000). Formation of transparent exopolymer particles, TEP, from dissolved precursor material. *Marine Ecology Progress Series* 192, 1–11.
- Passow, U. (2002a). Production of transparent exopolymer particles (TEP) by phyto- and bacterioplankton. *Mar Ecol Prog Ser* 236, 1–12. doi:10.3354/meps236001.
- Passow, U. (2002b). Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Progress in Oceanography* 55, 287–333. doi:10.1016/S0079-6611(02)00138-6.
- Passow, U., and Alldredge, A. L. (1995). Aggregation of a diatom bloom in a mesocosm: The role of transparent exopolymer particles (TEP). *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 42, 99–109. doi:10.1016/0967-0645(95)00006-C.
- Passow, U., Alldredge, A. L., and Logan, B. E. (1994). The role of particulate carbohydrate exudates in the flocculation of diatom blooms. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 41, 335–357. doi:10.1016/0967-0637(94)90007-8.
- Passow, U., and Carlson, C. (2012). The biological pump in a high CO₂ world. *Marine Ecology Progress Series* 470, 249–271. doi:10.3354/meps09985.
- Picheral, M., Guidi, L., Stemmann, L., Karl, D. M., Iddaoud, G., and Gorsky, G. (2010). The Underwater Vision Profiler 5: An advanced instrument for high spatial resolution studies of particle size spectra and zooplankton. *Limnology and Oceanography: Methods* 8, 462–473. doi:10.4319/lom.2010.8.462.
- Ploug, H., Iversen, M. H., and Fischer, G. (2008). Ballast, sinking velocity, and apparent diffusivity within marine snow and zooplankton fecal pellets: Implications for substrate turnover by attached bacteria. *Limnology and Oceanography* 53, 1878–1886. doi:10.4319/lo.2008.53.5.1878.
- Ploug, H., Terbrüggen, A., Kaufmann, A., Wolf-Gladrow, D., and Passow, U. (2010). A novel method to measure particle sinking velocity in vitro, and its comparison to three other in vitro methods. *Limnology and Oceanography: Methods* 8, 386–393. doi:10.4319/lom.2010.8.386.
- Pondaven, P., Gallinari, M., Chollet, S., Bucciarelli, E., Sarthou, G., Schultes, S., et al. (2007). Grazing-induced Changes in Cell Wall Silicification in a Marine Diatom. *Protist* 158, 21–28. doi:10.1016/j.protis.2006.09.002.

- Poulsen, L. K., and Kiørboe, T. (2006). Vertical flux and degradation rates of copepod fecal pellets in a zooplankton community dominated by small copepods. *Marine Ecology Progress Series* 323, 195–204.
- Prairie, J. C., Montgomery, Q. W., Proctor, K. W., and Ghiorso, K. S. (2019). Effects of Phytoplankton Growth Phase on Settling Properties of Marine Aggregates. *Journal of Marine Science and Engineering* 7, 265. doi:10.3390/jmse7080265.
- Prieto, L., Sommer, F., Stibor, H., and Koeve, W. (2001). Effects of Planktonic Copepods on Transparent Exopolymeric Particles (TEP) Abundance and Size Spectra. *J Plankton Res* 23, 515–525. doi:10.1093/plankt/23.5.515.
- Quéguiner, B., Tréguer, P., Peeken, I., and Scharek, R. (1997). Biogeochemical dynamics and the silicon cycle in the Atlantic sector of the Southern Ocean during austral spring 1992. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 44, 69–89. doi:10.1016/S0967-0645(96)00066-5.
- Quevedo, M., and Anadon, R. (2000). Spring microzooplankton composition, biomass and potential grazing in the central Cantabrian coast (southern Bay of Biscay). *Oceanologica Acta* 23, 297–310.
- Randelhoff, A., Oziel, L., Massicotte, P., Bécu, G., Galí, M., Lacour, L., et al. (2019). The evolution of light and vertical mixing across a phytoplankton ice-edge bloom. *Elementia Science of the Anthropocene* 7.
- Ras, J., Claustre, H., and Uitz, J. (2008). Spatial variability of phytoplankton pigment distributions in the Subtropical South Pacific Ocean: comparison between *in situ* and predicted data. *Biogeosciences* 5, 353–369.
- Raven, J. A., and Waite, A. M. (2004). The evolution of silicification in diatoms: inescapable sinking and sinking as escape? *New Phytologist* 162, 45–61. doi:10.1111/j.1469-8137.2004.01022.x.
- Redfield, A. C. (1934). On the proportions of organic derivatives in sea water and their relation to the composition of plankton. *James Johnstone Memorial Volume*, 176–192.
- Reigstad, M., and Wassmann, P. (2007). Does *Phaeocystis* spp. contribute significantly to vertical export of organic carbon? *Biogeochemistry* 83, 217–234.
- Reitan, K. I., Rainuzzo, J. R., and Olsen, Y. (1994). Effect of nutrient limitation on fatty acid and lipid content of marine microalgae. *Journal of Phycology* 30, 972–979.
- Rey, C., Harris, R., Irigoien, X., Head, R., and Carlotti, F. (2001). Influence of algal diet on growth and ingestion of *Calanus helgolandicus* nauplii. *Marine Ecology Progress Series* 216, 151–165. doi:10.3354/meps216151.
- Ribalet, F., Vidoudez, C., Cassin, D., Pohnert, G., Ianora, A., Miralto, A., et al. (2009). High plasticity in the production of diatom-derived polyunsaturated aldehydes under nutrient limitation: physiological and ecological implications. *Protist* 160, 444–451.

- Ribalet, F., Wichard, T., Pohnert, G., Ianora, A., Miralto, A., and Casotti, R. (2007). Age and nutrient limitation enhance polyunsaturated aldehyde production in marine diatoms. *Phytochemistry* 68, 2059–2067.
- Richardson, T., and Cullen, J. (1995). Changes in buoyancy and chemical composition during growth of a coastal marine diatom: ecological and biogeochemical consequences. *Marine Ecology Progress Series* 128, 77–90. doi:10.3354/meps128077.
- Riebesell, U. (1993). Aggregation of *Phaeocystis* during phytoplankton spring blooms in the southern North Sea. *Marine Ecology Progress Series* 96, 281–289.
- Riebesell, U., Reigstad, M., Wassmann, P., Noji, T., and Passow, U. (1995). On the trophic fate of *Phaeocystis pouchetii* (Hariot): VI. Significance of *Phaeocystis*-derived mucus for vertical flux. *Netherlands Journal of Sea Research* 33, 193–203.
- Riebesell, U., Schloss, I., and Smetacek, V. (1991). Aggregation of algae released from melting sea ice: implications for seeding and sedimentation. *Polar Biol* 11, 239–248. doi:10.1007/BF00238457.
- Riley, J. S., Sanders, R., Marsay, C., Moigne, F. A. C. L., Achterberg, E. P., and Poulton, A. J. (2012). The relative contribution of fast and slow sinking particles to ocean carbon export. *Global Biogeochemical Cycles* 26. doi:10.1029/2011GB004085.
- Rontani, J.-F., Belt, S. T., Brown, T. A., Amiraux, R., Gosselin, M., Vaultier, F., et al. (2016). Monitoring abiotic degradation in sinking versus suspended Arctic sea ice algae during a spring ice melt using specific lipid oxidation tracers. *Organic Geochemistry* 98, 82–97.
- Round, F. E., Crawford, R. M., and Mann, D. G. (1990). *Diatoms: biology and morphology of the genera*. Cambridge university press.
- Rousseau, V., Mathot, S., and Lancelot, C. (1990). Calculating carbon biomass of *Phaeocystis* sp. from microscopic observations. *Mar. Biol.* 107, 305–314. doi:10.1007/BF01319830.
- Rousseaux, C., and Gregg, W. (2013). Interannual Variation in Phytoplankton Primary Production at A Global Scale. *Remote Sensing* 6, 1–19. doi:10.3390/rs6010001.
- Saint-Béat, B., Fath, B. D., Aubry, C., Colombet, J., Dinasquet, J., Fortier, L., et al. (2020). Contrasting pelagic ecosystem functioning in eastern and western Baffin Bay revealed by trophic network modeling. *Elem Sci Anth* 8.
- Sanders, R., Henson, S. A., Koski, M., De La Rocha, C. L., Painter, S. C., Poulton, A. J., et al. (2014). The Biological Carbon Pump in the North Atlantic. *Progress in Oceanography* 129, 200–218. doi:10.1016/j.pocean.2014.05.005.
- Sarthou, G., Timmermans, K. R., Blain, S., and Tréguer, P. (2005). Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: a review. *Journal of Sea Research* 53, 25–42. doi:10.1016/j.seares.2004.01.007.
- Sarthou, G., Vincent, D., Christaki, U., Obernosterer, I., Timmermans, K. R., and Brussaard, C. P. (2008). The fate of biogenic iron during a phytoplankton bloom induced by natural fertilisation: Impact of copepod grazing. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 55, 734–751.

- Sautour, B., and Castel, J. (1993). Feeding behaviour of the coastal copepod *Euterpina acutifrons* on small particles. *Cah. Biol. Mar* 34, 239–251.
- Schmid, M. S., and Fortier, L. (2019). The intriguing co-distribution of the copepods *Calanus hyperboreus* and *Calanus glacialis* in the subsurface chlorophyll maximum of Arctic seas. *Elem Sci Anth* 7.
- Schoemann, V., Becquevort, S., Stefels, J., Rousseau, V., and Lancelot, C. (2005). *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: a review. *Journal of Sea Research* 53, 43–66.
- Schultes, S., Sourisseau, M., Le Masson, E., Lunven, M., and Marié, L. (2013). Influence of physical forcing on mesozooplankton communities at the Ushant tidal front. *Journal of Marine Systems* 109–110, S191–S202. doi:10.1016/j.jmarsys.2011.11.025.
- Schuster, S., and Herndl, G. J. (1995). Formation and significance of transparent exopolymeric particles in the northern Adriatic Sea. *Marine Ecology Progress Series* 124, 227–236.
- Screen, J. A., and Simmonds, I. (2010). The central role of diminishing sea ice in recent Arctic temperature amplification. *Nature* 464, 1334.
- Selander, E., Jakobsen, H. H., Lombard, F., and Kiørboe, T. (2011). Grazer cues induce stealth behavior in marine dinoflagellates. *PNAS* 108, 4030–4034. doi:10.1073/pnas.1011870108.
- Selander, E., Kubanek, J., Hamberg, M., Andersson, M. X., Cervin, G., and Pavia, H. (2015). Predator lipids induce paralytic shellfish toxins in bloom-forming algae. *PNAS* 112, 6395–6400. doi:10.1073/pnas.1420154112.
- Seuront, L., and Vincent, D. (2008). Increased seawater viscosity, *Phaeocystis globosa* spring bloom and *Temora longicornis* feeding and swimming behaviours. *Marine Ecology Progress Series* 363, 131–145. doi:10.3354/meps07373.
- Seuront, L., Vincent, D., and Mitchell, J. G. (2006). Biologically induced modification of seawater viscosity in the Eastern English Channel during a *Phaeocystis globosa* spring bloom. *Journal of Marine Systems* 61, 118–133.
- Shanks, A. L., and Edmondson, E. W. (1989). Laboratory-made artificial marine snow: a biological model of the real thing. *Marine Biology* 101, 463–470.
- Shanks, A. L., and Walters, K. (1997). Holoplankton, meroplankton, and meiofauna associated with marine snow. *Marine Ecology Progress Series* 156, 75–86.
- Sieburth, J. M., Smetacek, V., and Lenz, J. (1978). Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions 1. *Limnology and oceanography* 23, 1256–1263.
- Siegenthaler, U., and Sarmiento, J. L. (1993). Atmospheric carbon dioxide and the ocean. *Nature* 365, 119–125. doi:10.1038/365119a0.
- Silver, M. W., Shanks, A. L., and Trent, J. D. (1978). Marine Snow: Microplankton Habitat and Source of Small-Scale Patchiness in Pelagic Populations. *Science* 201, 371–373. doi:10.1126/science.201.4353.371.

- Slagstad, D., and Støle-Hansen, K. (1991). Dynamics of plankton growth in the Barents Sea: model studies. *Polar Research* 10, 173–186.
- Smayda, T. J. (1970). The suspension and sinking of phytoplankton in the sea. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 8, 353–414.
- Smayda, T. J. (1971). Normal and accelerated sinking of phytoplankton in the sea. *Marine Geology* 11, 105–122.
- Smetacek, V. (1999). Diatoms and the ocean carbon cycle. *Protist* 150, 25–32.
- Smetacek, V., Assmy, P., and Henjes, J. (2004). The role of grazing in structuring Southern Ocean pelagic ecosystems and biogeochemical cycles. *Antarctic Science* 16, 541–558. doi:10.1017/S0954102004002317.
- Smetacek, V. S. (1985). Role of sinking in diatom life-history cycles: ecological, evolutionary and geological significance. *Mar. Biol.* 84, 239–251. doi:10.1007/BF00392493.
- Smith, S. L. (1990). Egg production and feeding by copepods prior to the spring bloom of phytoplankton in Fram Strait, Greenland Sea. *Mar. Biol.* 106, 59–69. doi:10.1007/BF02114675.
- Smith, W. O., Codispoti, L. A., Nelson, D. M., Manley, T., Buskey, E. J., Niebauer, H. J., et al. (1991). Importance of *Phaeocystis* blooms in the high-latitude ocean carbon cycle. *Nature* 352, 514–516. doi:10.1038/352514a0.
- Smith, W. O., Jr. (1994). Primary productivity of a *Phaeocystis* bloom in the Greenland Sea during Spring, 1989. *Washington DC American Geophysical Union Geophysical Monograph Series* 85, 263–272. doi:10.1029/GM085p0263.
- Solomon, S., Intergovernmental Panel on Climate Change, and Intergovernmental Panel on Climate Change eds. (2007). *Climate change 2007: the physical science basis: contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge ; New York: Cambridge University Press.
- Søreide, J. E., Leu, E. V. A., Berge, J., Graeve, M., and Falk-Petersen, S. (2010). Timing of blooms, algal food quality and *Calanus glacialis* reproduction and growth in a changing Arctic. *Global change biology* 16, 3154–3163.
- Soudant, D., and Belin, C. (2018). *Trente années d'observation des micro-algues et des toxines d'algues sur le littoral*. Quae.
- Stamieszkin, K., Pershing, A. J., Record, N. R., Pilskaln, C. H., Dam, H. G., and Feinberg, L. R. (2015). Size as the master trait in modeled copepod fecal pellet carbon flux. *Limnology and Oceanography* 60, 2090–2107. doi:10.1002/lno.10156.
- Steinberg, D. K. (1995). Diet of copepods (*Scopelatum vorax*) associated with mesopelagic detritus (giant larvacean houses) in Monterey Bay, California. *Marine Biology* 122, 571–584.

- Steinberg, D. K., Goldthwait, S. A., and Hansell, D. A. (2002). Zooplankton vertical migration and the active transport of dissolved organic and inorganic nitrogen in the Sargasso Sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 49, 1445–1461.
- Steinberg, D. K., and Landry, M. R. (2017). Zooplankton and the Ocean Carbon Cycle. *Annual Review of Marine Science* 9, 413–444. doi:10.1146/annurev-marine-010814-015924.
- Steinberg, D. K., Van Mooy, B. A., Buesseler, K. O., Boyd, P. W., Kobari, T., and Karl, D. M. (2008). Bacterial vs. zooplankton control of sinking particle flux in the ocean’s twilight zone. *Limnology and Oceanography* 53, 1327–1338.
- Stemmann, L., Gorsky, G., Marty, J.-C., Picheral, M., and Miquel, J.-C. (2002). Four-year study of large-particle vertical distribution (0–1000m) in the NW Mediterranean in relation to hydrology, phytoplankton, and vertical flux. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 49, 2143–2162. doi:10.1016/S0967-0645(02)00032-2.
- Stemmann, L., Jackson, G. A., and Ianson, D. (2004). A vertical model of particle size distributions and fluxes in the midwater column that includes biological and physical processes—Part I: model formulation. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 51, 865–884. doi:10.1016/j.dsr.2004.03.001.
- Stoecker, D. K., Gustafson, D. E., and Verity, P. G. (1996). Micro-and mesoprotozooplankton at 140° W in the equatorial Pacific: heterotrophs and mixotrophs. *Aquatic Microbial Ecology* 10, 273–282.
- Støttrup, J. G., Bell, J. G., and Sargent, J. R. (1999). The fate of lipids during development and cold-storage of eggs in the laboratory-reared calanoid copepod, *Acartia tonsa* Dana, and in response to different algal diets. *Aquaculture* 176, 257–269. doi:10.1016/S0044-8486(99)00062-9.
- Stroeve, J., Holland, M. M., Meier, W., Scambos, T., and Serreze, M. (2007). Arctic sea ice decline: Faster than forecast. *Geophysical research letters* 34.
- Suroy, M., Panagiotopoulos, C., Boutorh, J., Goutx, M., and Moriceau, B. (2015). Degradation of diatom carbohydrates: A case study with N- and Si-stressed *Thalassiosira weissflogii*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 470, 1–11. doi:10.1016/j.jembe.2015.04.018.
- Szyper, J. P. (1989). Nutritional Depletion of the Aquaculture Feed Organisms *Euterpina acutifrons*, *Artemia* sp. and *Brachionus plicatilis* During Starvation. *Journal of the World Aquaculture Society* 20, 162–169. doi:10.1111/j.1749-7345.1989.tb00570.x.
- Tande, K. S., and Slagstad, D. (1985). Assimilation efficiency in herbivorous aquatic organisms—The potential of the ratio method using ¹⁴C and biogenic silica as markers1. *Limnology and Oceanography* 30, 1093–1099. doi:10.4319/lo.1985.30.5.1093.
- Tang, C. C., Ross, C. K., Yao, T., Petrie, B., DeTracey, B. M., and Dunlap, E. (2004). The circulation, water masses and sea-ice of Baffin Bay. *Progress in Oceanography* 63, 183–228.
- Taucher, J., Stange, P., Algueró-Muñiz, M., Bach, L. T., Nauendorf, A., Kolzenburg, R., et al. (2018). *In situ* camera observations reveal major role of zooplankton in modulating marine

- snow formation during an upwelling-induced plankton bloom. *Progress in Oceanography* 164, 75–88. doi:10.1016/j.pocean.2018.01.004.
- Tedesco, L., Vichi, M., and Scoccimarro, E. (2019). Sea-ice algal phenology in a warmer Arctic. *Science Advances* 5, eaav4830. doi:10.1126/sciadv.aav4830.
- Thornton, D. C. O. (2002). Diatom aggregation in the sea: mechanisms and ecological implications. *European Journal of Phycology* 37, 149–161. doi:10.1017/S0967026202003657.
- Thornton, D. C. O. (2018). Coomassie Stainable Particles (CSP): Protein Containing Exopolymer Particles in the Ocean. *Frontiers in Marine Science* 5. doi:10.3389/fmars.2018.00206.
- Torres-Valdés, S., Tsubouchi, T., Bacon, S., Naveira-Garabato, A. C., Sanders, R., McLaughlin, F. A., et al. (2013). Export of nutrients from the Arctic Ocean. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 118, 1625–1644.
- Toster, J., Iyer, K. S., Xiang, W., Rosei, F., Spiccia, L., and Raston, C. L. (2013). Diatom frustules as light traps enhance DSSC efficiency. *Nanoscale* 5, 873–876. doi:10.1039/C2NR32716C.
- Toullec, J., and Moriceau, B. (2018). Transparent Exopolymeric Particles (TEP) Selectively Increase Biogenic Silica Dissolution From Fossil Diatoms as Compared to Fresh Diatoms. *Frontiers in Marine Science* 5. doi:10.3389/fmars.2018.00102.
- Toullec, J., Vincent, D., Frohn, L., Miner, P., Le Goff, M., Devesa, J., et al. (2019). Copepod Grazing Influences Diatom Aggregation and Particle Dynamics. *Front. Mar. Sci.* 6. doi:10.3389/fmars.2019.00751.
- Tréguer, P., Bowler, C., Moriceau, B., Dutkiewicz, S., Gehlen, M., Aumont, O., et al. (2018). Influence of diatom diversity on the ocean biological carbon pump. *Nature Geoscience* 11, 27–37. doi:10.1038/s41561-017-0028-x.
- Tréguer, P., Lindner, L., van Bennekom, A. J., Leynaert, A., Panouse, M., and Jacques, G. (1991). Production of biogenic silica in the Weddell-Scotia Seas measured with ³²Si. *Limnol. Oceanogr.* 36, 1217–1227. doi:10.4319/lo.1991.36.6.1217.
- Tremblay, C., Runge, J. A., and Legendre, L. (1989). Grazing and sedimentation of ice algae during and immediately after a bloom at the ice-water interface. *Marine Ecology Progress Series* 56, 291–300.
- Tremblay, J.-É., Anderson, L. G., Matrai, P., Coupel, P., Bélanger, S., Michel, C., et al. (2015). Global and regional drivers of nutrient supply, primary production and CO₂ drawdown in the changing Arctic Ocean. *Progress in Oceanography* 139, 171–196. doi:10.1016/j.pocean.2015.08.009.
- Tremblay, J.-É., Gratton, Y., Carmack, E. C., Payne, C. D., and Price, N. M. (2002). Impact of the large-scale Arctic circulation and the North Water Polynya on nutrient inventories in Baffin Bay. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 107, 26-1-26–14. doi:10.1029/2000JC000595.

- Tremblay, J.-É., Michel, C., Hobson, K. A., Gosselin, M., and Price, N. M. (2006). Bloom dynamics in early opening waters of the Arctic Ocean. *Limnology and Oceanography* 51, 900–912. doi:10.4319/lo.2006.51.2.0900.
- Tsuda, A. (Tokyo U. (Japan) O. R. I.), and Nemoto, T. (1990). The effect of food concentration on the faecal pellet size of the marine copepod *Pseudocalanus newmani* Frost. *Bulletin of Plankton Society of Japan (Japan)*. Available at: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=JP9505576> [Accessed November 4, 2019].
- Turner, J. T. (2002). Zooplankton fecal pellets, marine snow and sinking phytoplankton blooms. *Aquatic microbial ecology* 27, 57–102.
- Turner, J. T. (2004). The importance of small planktonic copepods and their roles in pelagic marine food webs. *Zoological studies* 43, 255–266.
- Turner, J. T. (2015). Zooplankton fecal pellets, marine snow, phytodetritus and the ocean's biological pump. *Progress in Oceanography* 130, 205–248. doi:10.1016/j.pocean.2014.08.005.
- Urbani, R., Magaletti, E., Sist, P., and Cicero, A. M. (2005). Extracellular carbohydrates released by the marine diatoms *Cylindrotheca closterium*, *Thalassiosira pseudonana* and *Skeletonema costatum*: Effect of P-depletion and growth status. *Science of The Total Environment* 353, 300–306. doi:10.1016/j.scitotenv.2005.09.026.
- Utermöhl, von H. (1931). Neue Wege in der quantitativen Erfassung des Plankton.(Mit besonderer Berücksichtigung des Ultraplanktons.) Mit 4 Abbildungen im Text. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Verhandlungen* 5, 567–596.
- Utermöhl, H. (1958). Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik: Mit 1 Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf 1 Tafel. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Mitteilungen* 9, 1–38.
- Vancoppenolle, M., Meiners, K. M., Michel, C., Bopp, L., Brabant, F., Carnat, G., et al. (2013). Role of sea ice in global biogeochemical cycles: emerging views and challenges. *Quaternary science reviews* 79, 207–230.
- Vihma, T. (2014). Effects of Arctic sea ice decline on weather and climate: A review. *Surveys in Geophysics* 35, 1175–1214.
- Vincent, D., Slawyk, G., L'Helguen, S., Sarthou, G., Gallinari, M., Seuront, L., et al. (2007). Net and gross incorporation of nitrogen by marine copepods fed on ¹⁵N-labelled diatoms: Methodology and trophic studies. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 352, 295–305. doi:10.1016/j.jembe.2007.08.006.
- Visser, A. W., Grønning, J., and Jónasdóttir, S. H. (2017). *Calanus hyperboreus* and the lipid pump: *Calanus hyperboreus* and the lipid pump. *Limnology and Oceanography* 62, 1155–1165. doi:10.1002/lno.10492.
- Waite, A. M., Olson, R. J., Dam, H. G., and Passow, U. (1995). Sugar-Containing Compounds on the Cell Surfaces of Marine Diatoms Measured Using Concanavalin a and Flow Cytometry. *Journal of Phycology* 31, 925–933. doi:10.1111/j.0022-3646.1995.00925.x.

- Wassmann, P., Duarte, C. M., Agusti, S., and Sejr, M. K. (2011). Footprints of climate change in the Arctic marine ecosystem. *Global change biology* 17, 1235–1249.
- Wiedmann, I., Reigstad, M., Marquardt, M., Vader, A., and Gabrielsen, T. M. (2016). Seasonality of vertical flux and sinking particle characteristics in an ice-free high arctic fjord—Different from subarctic fjords? *Journal of Marine Systems* 154, 192–205. doi:10.1016/j.jmarsys.2015.10.003.
- Yamanaka, S., Yano, R., Usami, H., Hayashida, N., Ohguchi, M., Takeda, H., et al. (2008). Optical properties of diatom silica frustule with special reference to blue light. *Journal of Applied Physics* 103, 074701. doi:10.1063/1.2903342.
- Young, S., Palm, M., Grover, J. P., and McKee, D. (1997). How Daphnia cope with algae selected for inedibility in long- running microcosms. *J Plankton Res* 19, 391–397. doi:10.1093/plankt/19.3.391.
- Zhang, J., Spitz, Y. H., Steele, M., Ashjian, C., Campbell, R., Berline, L., et al. (2010). Modeling the impact of declining sea ice on the Arctic marine planktonic ecosystem. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 115.

VII. Annexes du Chapitre II

Les particules exopolymériques transparentes (TEP), stratégie des diatomées pour lutter contre la limitation en Silicium ?

Résumé : La production primaire par les diatomées est principalement soutenue par la dissolution de la silice biogénique ($bSiO_2$) en silice dissoute (H_4SiO_4), qui a lieu dans les 200 1^{er} m de la colonne d'eau. La couche de surface est naturellement enrichie en matière organique dissoutes et colloïdale, comme les exopolysaccharides (EPS) ou les particules exopolymériques transparentes (TEP), produites par la communauté planctonique (phytoplancton et bactérie), plus particulièrement en fin de l'efflorescence phytoplanctonique et lors de son déclin. Dans cette étude, l'influence d'une solution d'excrétion de diatomée enrichie en TEP (condition de fin d'efflorescence phytoplanctonique) a été testé sur la dissolution de la $bSiO_2$. Des expériences de dissolution en milieu fermé contenant, soit des diatomées nettoyées de la matière organique (diatomée fraîches) soit de la diatomite (diatomée fossiles), ont été réalisées avec des concentrations en TEP différentes. Les résultats montrent que la $bSiO_2$ nouvellement formé par les diatomées se dissous plus rapidement que la $bSiO_2$ fossiles. Ce phénomène est probablement lié aux contenues en Aluminium plus élevé chez les diatomées fraîches. Les excréations de diatomées n'ont pas révélé d'effet sur la dissolution de la $bSiO_2$ nouvellement formé chez *C. muelleri*. Cependant, chez les diatomées fossiles, la constante spécifique de dissolution (j^{-1}) ainsi que la solubilité apparentes (μM) est corrélé positivement avec la concentration initiale en TEP, ce qui peut suggérer que les excréations de diatomées peuvent par ce moyen fournir une source de silice dissoutes alternatives, lorsque les limitations surviennent.



Transparent Exopolymeric Particles (TEP) Selectively Increase Biogenic Silica Dissolution From Fossil Diatoms as Compared to Fresh Diatoms

Jordan Toullec* and Brivaëla Moriceau

Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin, UMR 6539 CNRS, Institut Universitaire Européen de la Mer (IUEM), Université de Bretagne Occidentale (UBO), Plouzané, France

OPEN ACCESS

Edited by:

Toshi Nagata,
The University of Tokyo, Japan

Reviewed by:

Marta Plavsic,
Rudjer Boskovic Institute, Croatia
Hiroshi Ogawa,
The University of Tokyo, Japan

*Correspondence:

Jordan Toullec
brivaela.moriceau@univ-brest.fr

Specialty section:

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

Received: 08 September 2017

Accepted: 12 March 2018

Published: 28 March 2018

Citation:

Toullec J and Moriceau B (2018)
Transparent Exopolymeric Particles
(TEP) Selectively Increase Biogenic
Silica Dissolution From Fossil Diatoms
as Compared to Fresh Diatoms.
Front. Mar. Sci. 5:102.
doi: 10.3389/fmars.2018.00102

Diatom production is mainly supported by the dissolution of biogenic silica (bSiO₂) within the first 200 m of the water column. The upper oceanic layer is enriched in dissolved and/or colloidal organic matter, such as exopolymeric polysaccharides (EPS) and transparent exopolymeric particles (TEP) excreted by phytoplankton in large amounts, especially at the end of a bloom. In this study we explored for the first time the direct influence of TEP-enriched diatom excretions on bSiO₂ dissolution. Twelve dissolution experiments on fresh and fossil diatom frustules were carried out on seawater containing different concentrations of TEP extracted from diatom cultures. Fresh diatom frustules were cleaned from the organic matter by low ash temperature, and fossil diatoms were made from diatomite powder. Results confirm that newly formed bSiO₂ dissolved at a faster rate than fossil diatoms due to a lower aluminum (Al) content. Diatom excretions have no effect on the dissolution of the newly formed bSiO₂ from *Chaetoceros muelleri*. Reversely, the diatomite specific dissolution rate constant and solubility of the bSiO₂ were positively correlated to TEP concentrations, suggesting that diatom excretion may provide an alternative source of dSi when limitations arise.

Keywords: exopolysaccharide, diatom excretion, diatomite, *Chaetoceros muelleri*, biogenic silica, bSiO₂ dissolution, TEP

INTRODUCTION

The terrestrial lithosphere is composed of 27% (by weight) silicon. As a nutrient and required element of various marine organisms, silicon has an important part in biogeochemical processes. At a global scale, silica and carbon cycles are coupled by silicifying organisms via photosynthesis. In the marine realm, diatoms (Bacillariophyceae), unicellular phytoplankton with an absolute requirement for silicon to build their frustules composed of amorphous polymerised silica (bSiO₂), are key silicifying organisms that play an important role in the marine biogeochemical cycling of carbon. They are responsible for nearly 40% of the global primary production (Nelson et al., 1995; Rousseaux and Gregg, 2013). This contribution to the carbon cycle varies greatly according to the oceanic region and period of the year. For example, the contribution of diatoms to the global primary production varies between 25% in oligotrophic conditions (Brzezinski et al., 2011) to 75% in eutrophic ocean areas (Nelson et al., 1995). Diatoms are also a major component of the marine

biological carbon pump (Smetacek, 1999; Jin et al., 2006; Sanders et al., 2014) and are the base of some of the most successful food webs (Irigoin et al., 2002).

Approximately 50–60% of diatomaceous biogenic silica (bSiO₂) produced in the euphotic layer is remineralized within the first 100–200 m of the water column (Tréguer et al., 1995; Van Cappellen et al., 2002; Passow et al., 2003). This process of bSiO₂ dissolution provides diatoms with their main source of dissolved silicon, in the form of dissolved silica (dSi), which in turn, supports diatom growth for 50% of the global silicon budget established by Tréguer and De La Rocha (2013). Silica dissolution in the surface ocean of the northwest African upwelling regions was sufficient to supply all silicic acid taken up by phytoplankton (Nelson and Goering, 1977; Nelson et al., 1981). As such, biogenic silica dissolution is an important process that needs to be better understood and quantified, with particular emphasis on its variability in different environmental contexts. The dissolution of bSiO₂ depends on abiotic factors, such as specific surface area, temperature, salinity, pressure, pH, and aluminum concentration (Van Cappellen et al., 2002; Loucaides et al., 2012). Less studied, biotic factors also influence bSiO₂ dissolution. Diatom frustules are surrounded by an organic coating that needs to be removed by prokaryotes before dissolution of the frustule can begin (Bidle and Azam, 2001). In addition, biogenic silica dissolution depends on nutritive growth conditions of the diatoms (Boutorh et al., 2016). The process of silicification is known to be influenced by stressful conditions, such as nutrient limitation (Boyle, 1998; Takeda, 1998; Lasbleiz et al., 2014) and/or the presence of grazers (Pondaven et al., 2007).

Polysaccharides (EPS) are abundant in the surface waters of the global ocean and are typically found in the nutrient limited conditions at the end of a phytoplankton bloom (Passow, 2002a; Claquin et al., 2008). EPS are mainly secreted by diatoms and bacteria, though other types of phytoplankton can also contribute (Passow, 2002a). EPS are sticky and easily aggregate to form transparent exopolymeric particles (TEP), an essential trigger for mass flocculation during a phytoplankton bloom (Mari and Kjørboe, 1996; Passow, 2002b). Their size ranges from colloidal (1 kDa) to 100 μm, and they can reach abundances of 40,000 particles mL⁻¹ or 11 mg X_{eq} L⁻¹ (Mari and Burd, 1998; Passow, 2002b), contributing to ~10–25% of the DOM pool in surface waters (Passow, 2002b; Thornton, 2014). In such conditions, when turbulence favors collisions, TEP promote aggregation with cells included in the TEP matrix. In diatom aggregates bSiO₂ dissolution is slower than in the surrounding seawater (Moriceau et al., 2007b). The decrease of bSiO₂ dissolution rates inside aggregates have, for the first time, been attributed to the longer viability of aggregated diatoms (Garvey et al., 2007) and to higher dSi concentrations in the pore water due to adsorption processes (Moriceau et al., 2007a, 2014). Another hypothesis is that the TEP matrix also protects the bSiO₂ against dissolution. EPS inhibits the dissolution of Al-enriched lithogenic silica (lSiO₂), such as feldspar, kaolinite, and quartz (Welch and Ullman, 1993, 1996; Ullman et al., 1996). Conversely, in some cases, bacterial byproducts such as organic acids promote lSiO₂ dissolution (Welch and Ullman, 1993, 1996; Vandevivere et al., 1994) which is much more resistant to dissolution than bSiO₂. If this is true,

it can be of great importance for the dissolution occurring both in the surface layer and in sediments. Similar to what can be found in the surface layer, TEP are sometimes concentrated at the surface of sediments due to massive sedimentation of aggregates or from the direct activity of benthic organisms (Wotton, 2004). Despite their abundance in the surface waters and sediments, two important components of the water column for bSiO₂ dissolution processes, no study has measured the influence of TEP on the dissolution of diatomaceous bSiO₂. In this context, the goal of the present study is to understand the influence of TEP concentrations on the dissolution of freshly cleaned and fossil diatom bSiO₂.

MATERIALS AND METHODS

In order to understand how diatom excretion products influence bSiO₂ dissolution, we conducted two sets of dissolution experiments under batch conditions. Each set of conditions consisted of amorphous silica dissolution experiments in seawater containing different concentrations of TEP-enriched diatom excretion products. The dissolution of two different types of silica: Fossil diatoms and fresh diatoms, were evaluated. For the first set of experiments we used diatomite (fossil diatoms), for the second set of experiments we used dead diatoms *Chaetoceros muelleri* cleaned from their organic coating.

Samples Preparation

bSiO₂ from diatomite (fossil diatoms) exists as a commercial product, a fine powder that is a chalk-like, soft, friable, earthy, very-fine grained, and siliceous sedimentary rock, usually light in color. The measured Si:Al ratio (moles:moles) of the diatomite was 4.8. Fresh bSiO₂ from diatoms came from a culture of *C. muelleri* (strain CCAP 1010-3) provided by Ifremer's Argenton experimental station (Argenton, France). Fresh algae cultures were grown using a Conway culture medium (Salinity = 35.2 PSU), at 20°C with 100 μmol m⁻² s⁻¹ light on a 24:0 h light:dark cycle. The final cell concentration was 3.9 × 10⁶ cells mL⁻¹ after we isolated diatom byproducts and bSiO₂. Ten liters of this culture solution was centrifuged at 3,000 g for 10 min at 15°C (Thermo Scientific Heraeus® Multifuge® 3SR Plus). Following protocols commonly used for bSiO₂ dissolution experiments, the pellets were rinsed three times with milliQ water to remove salts and residual dSi, centrifuged, and then frozen at -20°C prior lyophilisation during 72 h. Fresh diatom bSiO₂ was cleaned from the external organic membrane by low ash combustion in a plasma oven (Gala intrumente® Plasma—ACE5; Dixit and Van Cappellen, 2003; Loucaides et al., 2008). Despite the 10 L of highly concentrated diatom culture, we were only able to collect 254 μmol of bSiO₂.

TEP Gradient

In order to extract byproducts from diatoms, another 10 L of *C. muelleri* culture at the stationary phase was kept in the dark for several days at 20°C. Diatom by-products were isolated from the diatoms by filtration through a 1 μm polycarbonate filter (*C. muelleri*, single cell size range from 4 to 6 μm). The resulting seawater was strongly enriched in TEP (TEP > 0.4 μm: 4.1 ±

1 mg X_{eq} L⁻¹) and contained no diatoms. Five solutions were prepared from different mixtures of the TEP-enriched medium and natural seawater from the Bay of Brest, pre-filtered using a 0.22 μm polycarbonate filter (Salinity = 33.5 PSU, [SiOH₄] = 8 μmol L⁻¹, [NO₃] = 18.35 μmol L⁻¹, [NO₂] = 0.20 μmol L⁻¹, [PO₄] = 0.45 μmol L⁻¹). We expected an increasing TEP concentration range from the mixing of the two mother solutions. TEP-enriched to seawater vol:vol ratios were 0 for D1, 0.25 for D2, 0.5 for D3, 0.75 for D4, and 1 for D5. The salinity change in our medium from D1 to D5 did not exceed 1.7 PSU.

Batch Preparation

Nine 500 mL polycarbonate batches were used in the diatomite experiment: D1, D2, D3, D4, and D5, with D1 and D5 in triplicate. Each batch contained 15 mg of diatomite. For the second set of experiments with freshly cleaned diatoms, due to the low amount of bSiO₂ collected from the 10 L of *C. muelleri* culture, only three polycarbonate batches of 125 mL were prepared using three dilutions: D1, D2, and D5. The initial bSiO₂ concentrations were ~500 μM in all batches.

Dissolution Experiment

All batches were incubated in the dark, at 16°C, during 30 days on a shaking table for continuous agitation, allowing for a better homogenization of the particles in the batch. Batch cultures were kept ajar during the 30 days, in order to preserve gases exchanges, which have been proven to limit CO₂ surplus and pH changes (Suroy et al., 2014, 2015; Boutorh et al., 2016). The dSi concentrations were measured on a daily basis for 4 days, and every second day until the end of the experiment.

TEP Sampling and Measurement

The method of Passow and Alldredge (1995) was used for TEP measurements. Three to five replicates for each solution were sampled at the beginning of the experiment. Under low-pressure conditions, 15 ml was filtered onto 0.4 μm polycarbonate filters (according to Passow and Alldredge, 1995) and stained with 0.5 mL of a 0.02% aqueous solution of pre-filtered Alcian blue in 0.06% acetic acid (pH 2.5). Filters were kept at -20°C until analysis. Filters were soaked for 2 h in 6 mL of 80% H₂SO₄ under agitation. The absorption measured at 787 nm in a 1 cm cuvette was converted into grams of Gum Xanthan equivalent per liter (g X_{eq} L⁻¹) using a calibration curve done for our working solution of Alcian blue.

Dissolved and Particulate Biogenic Silica Measurements

Samples were filtered through 0.4 μm polycarbonates Millipore filters. Filtrates were preserved at 4°C in 15 mL polycarbonate falcon tubes prior to analysis for dSi. Millipore filters were dried during 24 h at 55°C inside Petri box, and then kept at room temperature before digestion and analysis for bSiO₂. Filters were digested in 8 mL of NaOH (0.2 M) during 4 h at 90°C under constant agitation. Digestion was stopped by cooling the solution and neutralized with 2 mL of chloride acid (1 M). All samples were then centrifuged at 3,000 g at 20°C during 5 min.

Supernatants containing the dissolved silica (dSi), were analyzed by AutoAnalyzer.

Chemistry Analysis

Silicic Acid (dSi) was analyzed using the automated colorimetric method on a Technicon AutoAnalyzer according to the protocol established by Tréguer and Le Corre (1975) and optimized by Aminot and Kérrouel (2007). Samples are guided by a pump in a continuous flux, through a circuit in which dissolved silica (dSi) reacts with ammonium molybdate, at low pH, to produce β-silicomolybdique acid. This acid is then reduced by methylamino-4-phenol sulfite and a sodium sulfite solution, resulting in a final product absorbing at 810 nm.

Kinetic Calculation

In the present study, bSiO₂ dissolution was monitored by following the dSi concentration with time (Equation 1) as described as:

$$dSi(t) = dSi(e) \cdot (1 - e^{-Kt}) \quad (1)$$

The specific dissolution rate constant (K, d⁻¹) was determined using the slope at the origin of the plot of the $\ln\left(\frac{dSi(e) - (dSi(t) - dSi(0))}{dSi(e)}\right)$ vs. time (Equation 2), which corresponds to exponential dissolution phases (Kamatani and Riley, 1979; Greenwood et al., 2001; Truesdale et al., 2005; Roubeix et al., 2008).

$$\frac{d\left[\ln\left(\frac{dSi(e) - (dSi(t) - dSi(0))}{dSi(e)}\right)\right]}{dt} = -K \quad (2)$$

Where $dSi(t)$ is dSi concentration (μmol L⁻¹) measured at time t (day), $dSi(0)$ is initial dSi concentration (μmol L⁻¹), and $dSi(e)$ is the dSi concentration reached at the plateau (μmol L⁻¹). For diatomite dissolution experiments, $dSi(e)$ corresponds to the apparent solubility of the bSiO₂, because the 500 μM bSiO₂ initially added was never totally dissolved in the dissolution batch. For the bSiO₂ dissolution experiments using the freshly cleaned diatoms, $dSi(e)$ is equal to the initial bSiO₂ concentration (μmol L⁻¹).

Statistical Analysis

Correlations between the kinetic parameters of bSiO₂ (specific dissolution rate constant and apparent solubility of the bSiO₂) and TEP concentrations are tested with non-parametric Spearman rank correlation, using R software with function: `cor.test()` method = "Spearman."

RESULTS

TEP concentrations (>0.4 μm) increased from D1 to D5, with values from 2.4 ± 0.2 to 4.7 ± 0.2 mg X_{eq} L⁻¹ (Table 1).

The dissolution of bSiO₂ was clearly visible in the two sets of experiments from the progressive increase of the dSi concentrations with time (Figures 1, 2). This increase was steeper for freshly cleaned diatoms than for fossil diatoms. In the fresh bSiO₂ dissolution experiments, a small plateau of dSi

TABLE 1 | Initial TEP concentrations for each experimental batch condition, calculated specific dissolution rate constant (K), and apparent solubility of the bSiO₂ for fossil diatoms cleaned diatoms.

Batches	TEP > 0.4 μm (mg X _{eq} L ⁻¹)	TEP > 0.2 μm (mg X _{eq} L ⁻¹)	bSiO ₂	Specific dissolution rate constant (d ⁻¹)	Apparent solubility of bSiO ₂ (μmol L ⁻¹)
D1	2.4 (±0.2)	5.7 (±0.8)	Cleaned diatoms	0.3	–
			Fossil diatoms	0.17 (±0.01)	62 (±6)
D2	2.7 (±0.2)	7.0	Cleaned diatoms	0.3	–
			Fossil diatoms	0.19	87
D3	3.7 (± 0.5)	7.3	Fossil diatoms	0.19	1,02
D4	4.7 (±0.2)	9.1	Fossil diatoms	0.29	127
D5	4.1 (±1.6)	7.7 (±0.5)	Cleaned diatoms	0.18	–
			Fossil diatoms	0.24 (±0.07)	163 (±18)

concentration was observed when all the bSiO₂ initially added to the batch was dissolved. In the dissolution batch containing fossil diatoms, the dSi concentrations stabilized after 120 h when they reached a plateau (**Figure 1**) equivalent to the apparent solubility of the bSiO₂. The apparent solubility of the bSiO₂ also increased from D1 to D5, with values from 62 μM in D1, 87 μM in D2, 102 μM in D3, 127 μM in D4, and 163 μM in D5 (**Table 1**, **Figure 1**).

Diatomite specific dissolution rate constants varied from 0.16 to 0.35 d⁻¹ from D1 to D5 (**Table 1**). The specific dissolution rate constants of the freshly cleaned diatoms (*C. muelleri*) varied from 0.18 to 0.31 d⁻¹ (**Table 1**). Our constants are close to the average specific dissolution rate constants of 0.15 ± 0.15 d⁻¹ given for cleaned frustules by Roubeix et al. (2008). For diatomite dissolution, a significant correlation was revealed between specific dissolution rate constants and >0.4 μm TEP concentrations (**Figure 3**; Spearman correlation = 0.7*, *p*-value = 0.022, *N* = 9 experiments). Similarly, a significant correlation was found between apparent solubility of the bSiO₂ and >0.4 μm TEP concentrations (**Figure 3**; Spearman correlation = 0.867**, *p*-value = 0.002, *N* = 9 experiments). By contrast, no correlation between specific dissolution rate constants and TEP concentrations was observed for the freshly cleaned diatoms (**Figure 3**).

DISCUSSION

Specific dissolution rate constant and apparent solubility of bSiO₂ were correlated with TEP concentration. We were able to create a concentration gradient of TEP in the dissolution batches from the different dilutions between the TEP-enriched medium and the natural filtered seawater. TEP concentrations in D1 that contained only 0.22 μm filtered natural seawater were negligible (2.4 ± 0.2 mg X_{eq} L⁻¹). TEP are sticky particles (Passow, 2002b; Mari et al., 2017) that aggregate easily in solution, especially under continuous agitation. The different solutions also contained <0.2 μm TEP. With this fraction, TEP concentrations were on average twice as high (**Table 1**). Our measurement suggests that in the filtered seawater, small TEP particles (lower than 0.2 μm) have aggregated into TEP particles with diameters larger than 0.4 μm. As most of the studies are measuring TEP >0.4 μm, we decided to refer only to these

measurements when talking about TEP concentrations in the following discussion. Finally, we obtained TEP concentrations ranging from 2 to 6 mg X_{eq} L⁻¹ that reflect what can be seen *in situ* according to Passow and Alldredge (1995), who gave natural values in a range of 0.02–11 mg X_{eq} L⁻¹.

Dissolved silica (dSi) concentrations increased with time following the pattern generally seen in similar dissolution experiments. We observed some variability in the dissolution pattern with dSi concentrations data higher or lower than expected from Equation (1). At such high TEP concentrations, as seen *in situ* with high concentrations of phytoplankton, the seawater viscosity is influenced, affecting the swimming behavior of the zooplankton (Seuront, 2006). High viscosity decreases the diffusion of the dSi (Eyring, 1936), which may explain the variability of dSi concentrations as compared to the normal pattern, despite the mixing of the batches.

The bSiO₂ from cleaned frustules dissolved on average five times faster than bSiO₂ still surrounded by an external membrane (0.03 vs. 0.15 d⁻¹, Roubeix et al., 2008). In our study, we measured similar dissolution rates for the cleaned bSiO₂ from fresh *C. muelleri* with an average specific dissolution rate constant of 0.22 d⁻¹. bSiO₂ dissolved at 0.3 d⁻¹ in the two batches containing less TEP, while in the third dissolution experiment the rate constant was 0.18 d⁻¹. One experiment is not sufficient to clearly demonstrate a potential influence of diatom excretion on bSiO₂ dissolution. However, a similar trend was observed in the study by Roubeix et al. (2008), in which they suggested a possible “blockage effect,” due to the physical coating of the bSiO₂ surface that may slow down access to the surface by water molecules.

At similar TEP concentrations, bSiO₂ from freshly cleaned frustules dissolved slightly faster than bSiO₂ from diatomite (0.3 vs. 0.18 d⁻¹, **Table 1**). During its stay in the sediment, “reverse weathering” processes such as Al-Si substitutions progressively decreased the reactivity of the bSiO₂ (Van Bennekom et al., 1991). A partial explanation for the difference in the dissolution rate constant measured between diatomite and fresh bSiO₂ could be a different Al content: The Si:Al ratio of the diatomite used in this study was 4.8 compared to the 20–40 commonly found for fresh diatoms (Ragueneau et al., 2005). In our study, most of the amorphous silica from the diatomite stayed in its particulate phase, with the apparent

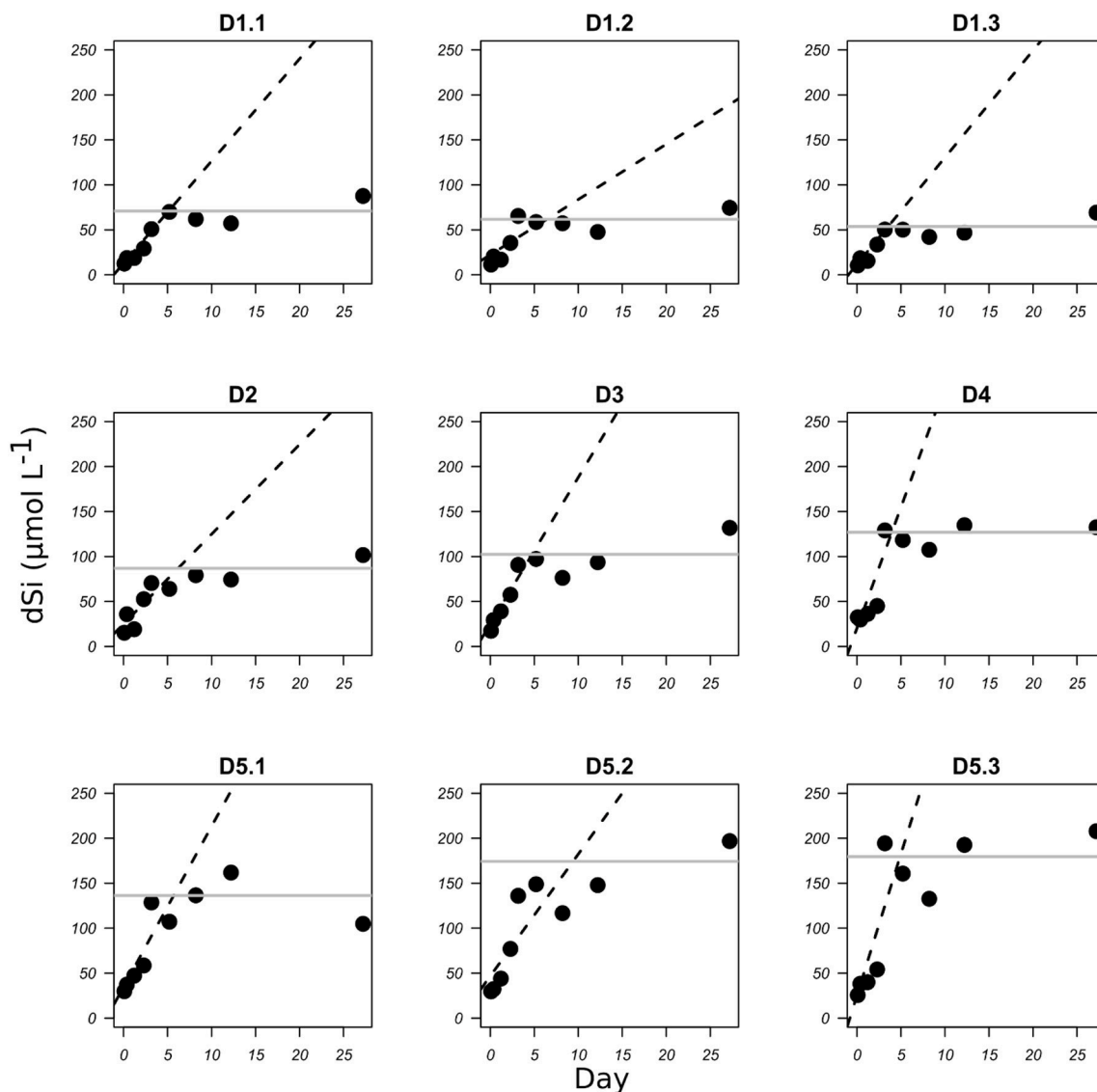
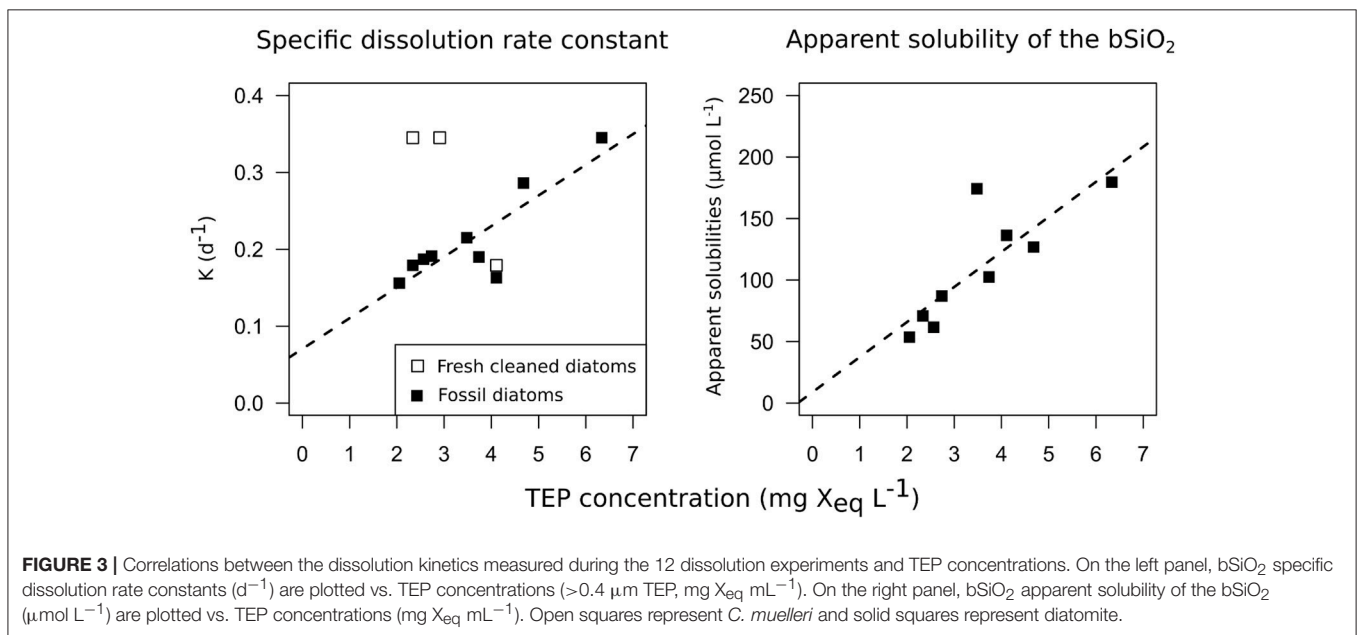
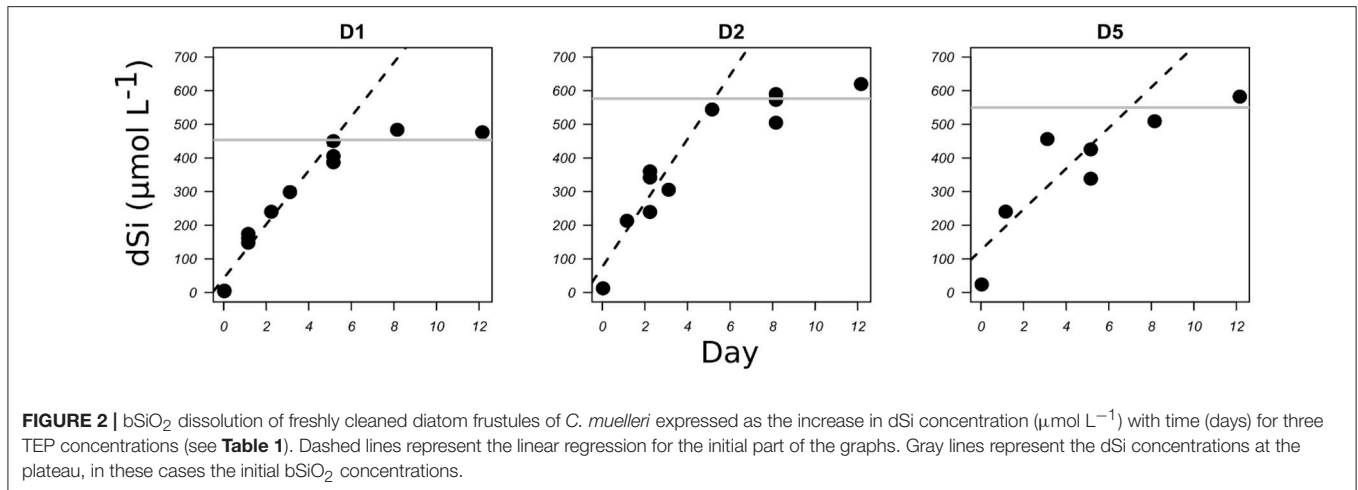


FIGURE 1 | bSiO₂ dissolution of diatomite expressed as the increase in dSi concentration ($\mu\text{mol L}^{-1}$) with time (days) for each TEP concentration D1 to D5 (see **Table 1** for corresponding TEP concentrations). Dashed lines represent the linear regression for the initial part of the graphs. Gray lines represent the mean apparent solubility of the bSiO₂.

solubility of the bSiO₂ going from 62 to 165 $\mu\text{mol L}^{-1}$. By comparison, the solubility measured by Loucaides et al. (2008) for diatomite was 1,150 μM at 25°C and a pH of 8. However, the diatomite used in his study contained a lot less Al, and Al incorporation inside diatom frustules can also change solubility (Van Bennekom et al., 1991). An important result of our study is the correlation between the apparent solubility of the bSiO₂ in the fossil diatoms batch and the TEP concentrations (Spearman correlation = 0.867**, p -value = 0.002). It has been suggested that dSi may adsorb on the TEP (Moriceau et al., 2014), which would explain the high dSi concentrations measured inside aggregates despite sometimes very low dSi concentrations in the surrounding

seawater (Brzezinski et al., 1997). Our correlation between TEP concentrations and solubility of the bSiO₂ tends to strengthen this hypothesis.

In our experiment, the influence of diatom byproducts on bSiO₂ dissolution was monitored using the TEP concentrations because (1) diatoms generally produced EPS and TEP in larger quantities (Myklestad and Haug, 1972; Myklestad, 1974, 1995; Myklestad et al., 1989) and (2) previous experiments already showed an influence of polysaccharides on lithogenic SiO₂ dissolution (Welch and Vandevivere, 1994). The bSiO₂ specific dissolution rate constants of fossil diatoms were also correlated to TEP concentrations. As it was impossible to extract TEP from the rest of the diatom byproducts, and because the



culture was not axenic, we must also have created a gradient of other molecules and bacteria concentration in the other dissolution batch. Analyses of diatom excretions at the end of a phytoplankton bloom or at the stationary phase in the culture showed considerable amounts of amino acids, proteoglycans, and extracellular polysaccharides containing residues of rhamnose, fucose, and galactose, with the carbohydrate contribution sometimes reaching 80–90% of the total extracellular release (Myklestad and Haug, 1972; Myklestad, 1974, 1995; Myklestad et al., 1989). Previous studies evidenced that fresh microbial EPS extracted from bacteria inhibit or promote the dissolution of lSiO₂ (Welch and Vandevivere, 1994; Ullman et al., 1996), and organic acids such as glucuronic acids favor lSiO₂ dissolution (Welch and Ullman, 1993, 1996; Vandevivere et al., 1994). However, the variation of the bSiO₂ specific dissolution rate constants with the concentration of diatom byproducts could

also be due to compounds other than polysaccharides, or to bacteria. To our knowledge no study has directly measured the potential influence of other byproducts such as amino acids. Concerning bacteria, proteolytic activities have little effect on bSiO₂ dissolution, except for the removal of organic matter associated to the frustules occurring in the first days of the dissolution (Bidle and Azam, 2001). In our study we used frustules cleaned from their organic coating and indeed the dissolution of the bSiO₂ from freshly cleaned diatoms was not increased by the bacteria gradient possibly resulting from our protocol. Roubeix et al. (2008) also hypothesized that bacterial colonization increases bSiO₂ dissolution by creating a microenvironment with high ectoproteolytic activity at the diatom surface or by releasing organic compounds that can facilitate diatom bSiO₂ dissolution (Roubeix et al., 2008). Rather, in their experiment they observed (1) no influence of bacterial

activity and (2) a decrease of the dissolution rates when using cleaned frustules. Dissolution of the fossil bSiO₂ was influenced by the gradient of diatom excretion/associated bacteria but had no influence or, possibly, an opposite effect on the bSiO₂ dissolution of freshly cleaned frustules. If true, this would mean that diatoms or associated bacteria from the *C. muelleri* cultures are able to selectively increase the dissolution of bSiO₂ from fossil diatoms but not the bSiO₂ dissolution from the freshly cleaned diatoms.

More recently, other works from Akagi's team showed that by measuring rare earth elements on diatom frustules the dissolution of lithogenic silica in surface water could be an unexpected source of dSi for diatom growth (Akagi et al., 2011, 2014; Akagi, 2013a,b). Our experiment nicely complements their findings by adding a "how." Indeed, as it has been shown in a forest where mycorrhizal symbiosis with the roots of trees promotes the weathering of nutrients by releasing organic molecules (Griffiths et al., 1994), we can propose a similar hypothesis with diatoms. Bacteria associated to diatoms can selectively increase dissolution of silicate minerals (Vandevivere et al., 1994). Diatoms have acquired an ability to exude specific organic molecules that can increase the dissolution of lithogenic silica and not their own biogenic silica. This strategy could be advantageous during silicate limitation episodes, whereby lithogenic silica becomes a source of silicon. This would be possible if diatoms produce organic ligands with a high affinity for Al. Removal of Al in preference to Si in Al enriched silica would increase lithogenic silica and fossil bSiO₂ dissolution without weakening their own frustule.

CONCLUSION

The main goal of this study was to understand the influence of TEP on biogenic silica dissolution. We used two different

types of bSiO₂: fossil diatoms (diatomite) and cleaned frustules of cultured diatoms (*C. muelleri*). Our results evidenced a correlation between TEP concentrations and bSiO₂ dissolution rate constants and solubility of the bSiO₂ for fossil diatoms, however diatom excretions had no influence on bSiO₂ dissolution from freshly cleaned frustules, except for possible protection at the highest TEP concentration.

In the light of the results obtained here, diatom byproducts seem to favor Al-enriched silica dissolution, such as bacterial EPS do for feldspars and aluminosilicates (Welch and Ullman, 1993, 1996; Vandevivere et al., 1994) as compared to fresh bSiO₂. In case of limitations, TEP are produced in greater quantities by diatoms that may provide them with an unexpected source of nutrients through the increase of weathering. This would explain the Rare Earth concentrations sometimes measured on diatom frustules and confirm the theory that diatoms may directly uptake silica on lithogenic particles.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

JT writing paper, laboratory experiment, sample analysis, data treatment; BM writing paper, support in lab experiment, supervisor.

ACKNOWLEDGMENTS

We would like to thank the Argenton Ifremer experiment station for providing us the algae. We thank Jill Naomi Sutton for her help in editing the English language manuscript, Lucie Blondel for the ICP-AES analysis of diatomite, and everyone else in LEMAR for assistance during the experiment. This work was partly supported by the ANR BIOPSIS project, grant ANR-16-CE01-0002-01 of the French Agence Nationale de la Recherche, and by the CHIBIDO team of the LEMAR.

REFERENCES

- Akagi, T. (2013a). Rare earth element (REE)–silicic acid complexes in seawater to explain the incorporation of REEs in opal and the "leftover" REEs in surface water: new interpretation of dissolved REE distribution profiles. *Geochim. Cosmochim. Acta* 113, 174–192. doi: 10.1016/j.gca.2013.03.014
- Akagi, T. (2013b). Revision of the dissolution kinetics of aggregated settling particles. *Mem. Fac. Sci. Kyushu Univ. Ser. Earth Planet Sci.* 33, 1–5. Available online at: <http://hdl.handle.net/2324/1397628>
- Akagi, T., Fu, F., Hongo, Y., and Takahashi, K. (2011). Composition of rare earth elements in settling particles collected in the highly productive North Pacific Ocean and Bering Sea: implications for siliceous-matter dissolution kinetics and formation of two REE-enriched phases. *Geochim. Cosmochim. Acta* 75, 4857–4876. doi: 10.1016/j.gca.2011.06.001
- Akagi, T., Yasuda, S., Asahara, Y., Emoto, M., and Takahashi, K. (2014). Diatoms spread a high epsilon Nd-signature in the North Pacific Ocean. *Geochem. J.* 48, 121–131. doi: 10.2343/geochemj.2.0292
- Aminot, A., and Kérouel, R. (2007). *Dosage Automatique des Nutriments Dans les Eaux Marines: Méthodes en Flux Continu*, ed Quae (Plouzané: Ifremer).
- Bidle, K. D., and Azam, F. (2001). Bacterial control of silicon regeneration from diatom detritus: significance of bacterial ectohydrolases and species identity. *Limnol. Oceanogr.* 46, 1606–1623. doi: 10.4319/lo.2001.46.7.1606
- Boutorh, J., Moriceau, B., Gallinari, M., Ragueneau, O., and Bucciarelli, E. (2016). Effect of trace metal-limited growth on the postmortem dissolution of the marine diatom *Pseudo-nitzschia delicatissima*. *Glob. Biogeochem. Cycles* 30, 57–69. doi: 10.1002/2015GB005088
- Boyle, E. (1998). Oceanography pumping iron makes thinner diatoms. *Nature* 393, 733–734. doi: 10.1038/31585
- Brzezinski, M. A., Baines, S. B., Balch, W. M., Beucher, C. P., Chai, F., Dugdale, R. C., et al. (2011). Co-limitation of diatoms by iron and silicic acid in the equatorial Pacific. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 58, 493–511. doi: 10.1016/j.dsr2.2010.08.005
- Brzezinski, M. A., Phillips, D. R., Chavez, F. P., Friederich, G. E., and Dugdale, R. C. (1997). Silica production in the Monterey, California, upwelling system. *Limnol. Oceanogr.* 42, 1694–1705. doi: 10.4319/lo.1997.42.8.1694
- Claquin, P., Probert, I., Lefebvre, S., and Veron, B. (2008). Effects of temperature on photosynthetic parameters and TEP production in eight species of marine microalgae. *Aquat. Microb. Ecol.* 51, 1–11. doi: 10.3354/ame.01187
- Dixit, S., and Van Cappellen, P. (2003). Predicting benthic fluxes of silicic acid from deep-sea sediments. *J. Geophys. Res. Oceans* 108:3334. doi: 10.1029/2002JC001309
- Eyring, H. (1936). Viscosity, plasticity, and diffusion as examples of absolute reaction rates. *J. Chem. Phys.* 4, 283–291. doi: 10.1063/1.1749836
- Garvey, M., Moriceau, B., and Passow, U. (2007). Applicability of the FDA assay to determine the viability of marine phytoplankton under different environmental conditions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 352, 17–26. doi: 10.3354/meps07134

- Greenwood, J. E., Truesdale, V. W., and Rendell, A. R. (2001). Biogenic silica dissolution in seawater—*in vitro* chemical kinetics. *Prog. Oceanogr.* 48, 1–23. doi: 10.1016/S0079-6611(00)00046-X
- Griffiths, R. P., Baham, J. E., and Caldwell, B. A. (1994). Soil solution chemistry of ectomycorrhizal mats in forest soil. *Soil Biol. Biochem.* 26, 331–337. doi: 10.1016/0038-0717(94)90282-8
- Trigoien, X., Harris, R. P., Verheye, H. M., Joly, P., Runge, J., Starr, M., et al. (2002). Copepod hatching success in marine ecosystems with high diatom concentrations. *Nature* 419, 387–389. doi: 10.1038/nature01055
- Jin, X., Gruber, N., Dunne, J. P., Sarmiento, J. L., and Armstrong, R. A. (2006). Diagnosing the contribution of phytoplankton functional groups to the production and export of particulate organic carbon, CaCO₂, and opal from global nutrient and alkalinity distributions: diagnosing phytoplankton functional groups. *Glob. Biogeochem. Cycles* 20:GB201. doi: 10.1029/2005GB002532
- Kamatani, A., and Riley, J. P. (1979). Rate of dissolution of diatom silica walls in seawater. *Mar. Biol.* 55, 29–35. doi: 10.1007/BF00391714
- Lasbleiz, M., Leblanc, K., Blain, S., Ras, J., Cornet-Barthaux, V., Hélias Nunige, S., et al. (2014). Pigments, elemental composition (C, N, P, and Si), and stoichiometry of particulate matter in the naturally iron fertilized region of Kerguelen in the Southern Ocean. *Biogeosciences* 11, 5931–5955. doi: 10.5194/bg-11-5931-2014
- Loucaides, S., Cappellen, P. V., and Behrends, T. (2008). Dissolution of biogenic silica from land to ocean: role of salinity and pH. *Limnol. Oceanogr.* 53, 1614–1621. doi: 10.4319/lo.2008.53.4.1614
- Loucaides, S., Van Cappellen, P., Roubeix, V., Moriceau, B., and Ragueneau, O. (2012). Controls on the recycling and preservation of biogenic silica from biomineralization to burial. *Silicon* 4, 7–22. doi: 10.1007/s12633-011-9092-9
- Mari, X., and Burd, A. (1998). Seasonal size spectra of transparent exopolymeric particles (TEP) in a coastal sea and comparison with those predicted using coagulation theory. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 163, 63–76. doi: 10.3354/meps163063
- Mari, X., and Kjørboe, T. (1996). Abundance, size distribution and bacterial colonization of transparent exopolymeric particles (TEP) during spring in the Kattegat. *J. Plankton Res.* 18, 969–986. doi: 10.1093/plankt/18.6.969
- Mari, X., Passow, U., Migon, C., Burd, A. B., and Legendre, L. (2017). Transparent exopolymer particles: effects on carbon cycling in the ocean. *Prog. Oceanogr.* 151, 13–37. doi: 10.1016/j.pocan.2016.11.002
- Moriceau, B., Gallinari, M., Soetaert, K., and Ragueneau, O. (2007b). Importance of particle formation to reconstructed water column biogenic silica fluxes. *Glob. Biogeochem. Cycles* 21:GB3012. doi: 10.1029/2006GB002814
- Moriceau, B., Garvey, M., Ragueneau, O., and Passow, U. (2007a). Evidence for reduced biogenic silica dissolution rates in diatom aggregates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 333, 129–142. doi: 10.3354/meps333129
- Moriceau, B., Laruelle, G., Passow, U., Van Cappellen, P., and Ragueneau, O. (2014). Biogenic silica dissolution in diatom aggregates: insights from reactive transport modelling. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 517, 35–49. doi: 10.3354/meps11028
- Mykkestad, S. (1974). Production of carbohydrates by marine planktonic diatoms. I. Comparison of nine different species in culture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 15, 261–274. doi: 10.1016/0022-0981(74)90049-5
- Mykkestad, S., and Haug, A. (1972). Production of carbohydrates by the marine diatom *Chaetoceros affinis* var. *willei* (Gran) Hustedt. I. Effect of the concentration of nutrients in the culture medium. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 9, 125–136. doi: 10.1016/0022-0981(72)90041-X
- Mykkestad, S., Holm-Hansen, O., Vårum, K. M., and Volcani, B. E. (1989). Rate of release of extracellular amino acids and carbohydrates from the marine diatom *Chaetoceros affinis*. *J. Plankton Res.* 11, 763–773. doi: 10.1093/plankt/11.4.763
- Mykkestad, S. M. (1995). Release of extracellular products by phytoplankton with special emphasis on polysaccharides. *Sci. Total Environ.* 165, 155–164. doi: 10.1016/0048-9697(95)04549-G
- Nelson, D. M., and Goering, J. J. (1977). Near-surface silica dissolution in the upwelling region off northwest Africa. *Deep Sea Res.* 24, 65–73.
- Nelson, D. M., Goering, J. J., and Boisseau, D. W. (1981). “Consumption and regeneration of silicic acid in three coastal upwelling systems,” in *Coastal Upwelling*, ed F. A. Richards (Washington, DC: American Geophysical Union), 242–256.
- Nelson, D. M., Tréguer, P., Brzezinski, M. A., Leynaert, A., and Quéguiner, B. (1995). Production and dissolution of biogenic silica in the ocean: revised global estimates, comparison with regional data and relationship to biogenic sedimentation. *Glob. Biogeochem. Cycles* 9, 359–372. doi: 10.1029/95GB01070
- Passow, U. (2002a). Production of transparent exopolymer particles (TEP) by phyto- and bacterioplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 236, 1–12. doi: 10.3354/meps236001
- Passow, U. (2002b). Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Prog. Oceanogr.* 55, 287–333. doi: 10.1016/S0079-6611(02)00138-6
- 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
- Passow, U., Engel, A., and Ploug, H. (2003). The role of aggregation for the dissolution of diatom frustules. *FEMS Microbiol. Ecol.* 46, 247–255. doi: 10.1016/S0168-6496(03)00199-5
- Pondaven, P., Gallinari, M., Chollet, S., Bucciarelli, E., Sarthou, G., Schultes, S., et al. (2007). Grazing-induced changes in cell wall silicification in a marine diatom. *Protist* 158, 21–28. doi: 10.1016/j.protis.2006.09.002
- Ragueneau, O., Savoye, N., Del Amo, Y., Cotten, J., Tardiveau, B., and Leynaert, A. (2005). A new method for the measurement of biogenic silica in suspended matter of coastal waters: using Si:Al ratios to correct for the mineral interference. *Cont. Shelf Res.* 25, 697–710. doi: 10.1016/j.csr.2004.09.017
- Roubeix, V., Becquevort, S., and Lancelot, C. (2008). Influence of bacteria and salinity on diatom biogenic silica dissolution in estuarine systems. *Biogeochemistry* 88, 47–62. doi: 10.1007/s10533-008-9193-8
- Rousseaux, C., and Gregg, W. (2013). Interannual variation in phytoplankton primary production at a global scale. *Remote Sens.* 6, 1–19. doi: 10.3390/rs6010001
- Sanders, R., Henson, S. A., Koski, M., De La Rocha, C. L., Painter, S. C., Poulton, A. J., et al. (2014). The biological carbon pump in the North Atlantic. *Prog. Oceanogr.* 129, 200–218. doi: 10.1016/j.pocan.2014.05.005
- Seuront, L. (2006). Effect of salinity on the swimming behaviour of the estuarine calanoid copepod *Eurytemora affinis*. *J. Plankton Res.* 28, 805–813. doi: 10.1093/plankt/fbl012
- Smetacek, V. (1999). Diatoms and the ocean carbon cycle. *Protist* 150, 25–32. doi: 10.1016/S1434-4610(99)70006-4
- Suroy, M., Moriceau, B., Boutorh, J., and Goutx, M. (2014). Fatty acids associated with the frustules of diatoms and their fate during degradation: a case study in *Thalassiosira weissflogii*. *Deep Sea Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 86, 21–31. doi: 10.1016/j.dsr.2014.01.001
- Suroy, M., Panagiotopoulos, C., Boutorh, J., Goutx, M., and Moriceau, B. (2015). Degradation of diatom carbohydrates: a case study with N- and Si-stressed *Thalassiosira weissflogii*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 470, 1–11. doi: 10.1016/j.jembe.2015.04.018
- Takeda, S. (1998). Influence of iron availability on nutrient consumption ratio of diatoms in oceanic waters. *Nature* 393, 774–777. doi: 10.1038/31674
- Thornton, D. C. O. (2014). Dissolved organic matter (DOM) release by phytoplankton in the contemporary and future ocean. *Eur. J. Phycol.* 49, 20–46. doi: 10.1080/09670262.2013.875596
- Tréguer, P., and Le Corre, P. (1975). *Manuel d'Analyse des sels Nutritifs dans l'eau de Mer (Utilisation de l'autoAnalyseur II)*, Université de Bretagne Occidentale, 2nd Edn. Laboratoire d'Océanographie Chimique, Université de Bretagne Occidentale, Brest.
- Tréguer, P. J., and De La Rocha, C. (2013). The world ocean silica cycle. *Annu. Rev. Mar. Sci.* 5, 477–501. doi: 10.1146/annurev-marine-121211-172346
- Tréguer, P., Nelson, D. M., Van Bennekom, A. J., DeMaster, D. J., Leynaert, A., and Quéguiner, B. (1995). The silica balance in the world ocean: a reestimate. *Science* 268, 375–379. doi: 10.1126/science.268.5209.375
- Truesdale, V. W., Greenwood, J. E., and Rendell, A. (2005). The rate-equation for biogenic silica dissolution in seawater – new hypotheses. *Aquat. Geochem.* 11, 319–343. doi: 10.1007/s10498-004-7921-9
- Ullman, W. J., Kirchman, D. L., Welch, S. A., and Vandevivere, P. (1996). Laboratory evidence for microbially mediated silicate mineral dissolution in nature. *Chem. Geol.* 132, 11–17. doi: 10.1016/S0009-2541(96)00036-8
- Van Bennekom, A. J., Buma, A. G. J., and Nolting, R. F. (1991). Dissolved aluminium in the Weddell-Scotia Confluence and effect of Al on the dissolution kinetics of biogenic silica. *Mar. Chem.* 35, 423–434. doi: 10.1016/S0304-4203(09)00034-2

VIII. Annexes du Chapitre IV

Appendix 1: Sampling stations for dissolved nutrient analysis.

Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G101	10-Jun-2016	07:50:00	68.498	57.133
G103	11-Jun-2016	03:35:00	68.499	57.639
G106	11-Jun-2016	12:31:00	68.501	58.824
G109	12-Jun-2016	03:18:00	68.516	59.845
G112	13-Jun-2016	02:07:00	68.554	60.654
G200	14-Jun-2016	10:25:00	68.584	60.101
G203	15-Jun-2016	08:50:00	68.685	59.417
G206	16-Jun-2016	01:36:00	68.774	58.740
G211	17-Jun-2016	00:08:00	68.908	57.650
G300	17-Jun-2016	13:02:00	69.008	55.991
G302	18-Jun-2016	03:20:00	69.000	57.249
G305	18-Jun-2016	08:14:00	69.000	57.950
G308	19-Jun-2016	00:03:00	69.000	58.652
G313	19-Jun-2016	07:10:00	69.011	59.799
G317	20-Jun-2016	07:10:00	69.007	60.743
G320	21-Jun-2016	03:41:00	69.033	61.439
G323	21-Jun-2016	11:50:00	69.009	62.122
G325	21-Jun-2016	04:04:00	68.999	62.603
G402	25-Jun-2016	06:49:00	68.075	61.860
G405	26-Jun-2016	01:18:00	68.094	61.077
G408	26-Jun-2016	08:48:00	68.118	60.266
G411	27-Jun-2016	02:29:00	68.116	59.452
G412	27-Jun-2016	05:27:00	68.112	59.202
G414	27-Jun-2016	08:47:00	68.112	58.687
G417	29-Jun-2016	n.a.	68.113	57.865
G420	29-Jun-2016	02:55:00	68.110	57.072
G502	30-Jun-2016	00:28:00	70.000	57.458
G505	30-Jun-2016	06:10:00	70.000	58.365
G509	01-Jul-2016	01:52:00	69.997	59.511
G512	01-Jul-2016	07:23:00	70.000	60.362
G514	01-Jul-2016	23:14:00	70.003	60.972
G517	02-Jul-2016	06:08:00	69.993	61.856
G521	03-Jul-2016	03:10:00	69.997	63.018
G602	04-Jul-2016	03:00:00	70.514	63.407
G605	04-Jul-2016	09:45:00	70.504	62.518
G607	06-Jul-2016	21:32:00	70.500	61.913

Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G609	07-Jul-2016	01:22:00	70.500	61.310
G610	06-Jul-2016	07:00:00	70.500	61.016
G613	06-Jul-2016	02:05:00	70.502	60.122
G617	07-Jul-2016	07:11:00	70.500	58.940
G701	08-Jul-2016	05:33:00	69.501	58.154
G705	08-Jul-2016	10:20:00	69.501	58.289
G715	10-Jul-2016	05:42:00	69.500	62.140
G718	10-Jul-2016	10:20:00	69.503	63.000

Appendix 2: Sampling stations for biogenic silica analysis.

Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G100	09-Jun-2016	20:40:00	68.499	56.790
G102	10-Jun-2016	12:10:00	68.497	57.479
G107	11-Jun-2016	17:51:00	68.498	59.179
G110	12-Jun-2016	13:12:00	68.534	60.167
G115	13-Jun-2016	14:20:00	68.456	61.356
G201	14-Jun-2016	20:25:00	68.633	59.947
G204	15-Jun-2016	14:43:00	68.708	59.257
G207	16-Jun-2016	14:37:00	68.794	58.529
G300	17-Jun-2016	18:58:00	68.999	56.789
G309	18-Jun-2016	14:24:00	69.000	58.739
G318	20-Jun-2016	17:33:00	69.007	60.953
G324	21-Jun-2016	19:49:00	68.996	62.358
G403	25-Jun-2016	16:56:00	68.031	61.601
G405	26-Jun-2016	1:23:00	68.094	61.076
G409	26-Jun-2016	18:18:00	68.106	59.994
G413	27-Jun-2016	20:24:00	68.123	58.966
G418	28-Jun-2016	16:09:00	68.114	57.770
G507	30-Jun-2016	16:07:00	70.009	59.124
G512	01-Jul-2016	7:27:00	70.000	60.362
G519	02-Jul-2016	17:29:00	70.017	62.422
G600	03-Jul-2016	17:05:00	70.511	63.988
G604.5	06-Jul-2016	16:09:00	70.502	62.625
G605	04-Jul-2016	16:10:00	70.503	62.517
G615	05-Jul-2016	16:09:00	70.499	59.525
G703	07-Jul-2016	18:23:00	69.500	58.724
G707	08-Jul-2016	17:42:00	69.512	59.805
G713	09-Jul-2016	20:36:00	69.501	61.582
G719	10-Jul-2016	16:45:00	69.501	63.233

Appendix 3: Sampling stations for phytoplankton identification and count.

Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G115	13-Jun-2016	11:00:00	68.458	61.354
G201	14-Jun-2016	17:25:00	68.633	59.948
G204	15-Jun-2016	12:01:00	68.708	59.256
G207	16-Jun-2016	12:01:00	68.795	58.528
G300	17-Jun-2016	16:33:00	68.999	56.789
G309	18-Jun-2016	12:43:00	69.000	58.737
G312	19-Jun-2016	13:15:00	69.012	59.562
G324	21-Jun-2016	17:42:00	68.996	62.359
G413	25-Jun-2016	13:18:00	68.032	61.601
G418	28-Jun-2016	10:52:00	68.114	57.769
G507	30-Jun-2016	10:00:00	70.008	59.123
G512	1-Jul- 2016	11:05:00	70.002	60.365
G605	4-Jul-2016	12:13:00	70.493	62.423
G615	26-août-2016	12:06:00	70.499	59.524
G703	7-Jul- 2016	16:41:00	69.500	58.724
G707	8-Jul- 2016	14:12:00	69.512	59.806
G713	9-Jul- 2016	16:50:00	69.501	61.582
G719	10-Jul- 2016	12:25:00	69.501	63.233

Appendix 4: Sampling stations for pigment analysis.

Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G100	9-Jun-2016	17:11:33	68.497	- 56.793
G102	10-Jun-2016	09:49:06	68.491	- 57.480
G104	10-Jun-2016	00:06:26	68.493	- 58.147
G107	11-Jun-2016	14:44:37	68.496	- 59.178
G110	12-Jun-2016	09:39:57	68.533	- 60.170
G115	13-Jun-2016	10:58:00	68.452	- 61.352
G200	14-Jun-2016	10:25:21	68.582	- 60.117
G201	14-Jun-2016	17:25:59	68.629	- 59.943
G204	15-Jun-2016	12:02:06	68.711	- 59.260
G206	16-Jun-2016	01:37:34	68.767	- 58.739
G207	16-Jun-2016	03:31:10	68.789	- 58.541
G209	16-Jun-2016	21:35:07	68.849	- 58.078
G211	16-Jun-2016	00:09:54	68.909	- 57.646
G300	17-Jun-2016	16:33:42	68.995	- 56.789
G303	18-Jun-2016	05:36:32	69.000	- 57.477
G309	18-Jun-2016	12:44:57	69.001	- 58.760
G310	19-Jun-2016	02:50:39	69.028	- 59.052
G312	19-Jun-2016	13:16:44	69.013	- 59.572
G315	20-Jun-2016	03:45:07	69.006	- 60.196
G318	20-Jun-2016	13:11:01	69.006	- 60.953
G321	21-Jun-2016	07:43:19	68.956	- 61.629
G324	21-Jun-2016	17:42:39	68.997	- 62.359

Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G400	24-Jun-2016	23:34:19	68.020	- 62.419
G403	25-Jun-2016	13:20:15	68.029	- 61.029
G406	5-Jul-2016	04:59:07	68.079	- 60.824
G409	26-Jun-2016	14:21:23	68.102	- 59.992
G412	27-Jun-2016	05:34:51	68.112	- 59.201
G413	27-Jun-2016	07:32:55	68.123	- 58.960
G418	28-Jun-2016	10:52:58	68.114	- 57.772
G500	29-Jun-2016	22:23:41	70.004	- 57.068
G503	30-Jun-2016	02:30:11	70.001	- 57.770
G506	30-Jun-2016	22:05:31	70.010	- 58.659
G507	30-Jun-2016	10:01:46	70.009	- 58.312
G510	1-Jul-2016	04:31:01	69.997	- 59.803
G512	1-Jul-2016	07:23:32	70.006	- 60.359
G515	2-Jul-2016	02:22:54	69.999	- 61.239
G519	2-Jul-2016	14:57:07	70.017	- 62.420
G600	3-Jul-2016	14:28:21	70.508	- 63.994
G603	4-Jul-2016	07:44:10	70.500	- 63.029
G604	6-Jul-2016	08:09:25	70.498	- 62.615
G605	4-Jul-2016	09:45:25	70.489	- 62.426
G608	6-Jul-2016	00:02:34	70.502	- 61.603
G612	6-Jul-2016	04:33:11	70.512	- 60.425
G615	5-Jul-2016	20:47:21	70.496	- 59.535
G618	7-Jul-2016	09:31:29	70.497	- 58.643
G700	8-Jul-2016	04:28:01	69.500	- 57.881
G703	7-Jul-2016	23:26:24	69.500	- 58.176
G707	8-Jul-2016	14:14:23	69.515	- 59.794
G708	9-Jul-2016	02:17:22	69.514	- 60.149
G711	9-Jul-2016	07:46:10	69.497	- 61.001
G713	9-Jul-2016	12:35:21	69.500	- 61.584
G716	10-Jul-2016	07:29:35	69.500	- 62.429
G719	10-Jul-2016	12:26:39	69.503	- 63.228

Appendix 5: UVP5 vertical profile deployment. Location and time.

Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G100	9-Jun-2016	17:11:33	68.499	56.792
G100	9-Jun-2016	20:40:52	68.501	56.793
G101	10-Jun-2016	07:55:06	68.497	57.132
G102	10-Jun-2016	09:49:06	68.496	57.480
G102	10-Jun-2016	12:06:56	68.500	57.470
G104	11-Jun-2016	00:06:26	68.498	58.153
G103	11-Jun-2016	03:37:09	68.499	57.639
G105	11-Jun-2016	08:00:56	68.499	58.522
G106	11-Jun-2016	12:32:40	68.500	58.824
G107	11-Jun-2016	14:44:37	68.498	59.179
G107	11-Jun-2016	17:47:23	68.516	59.265

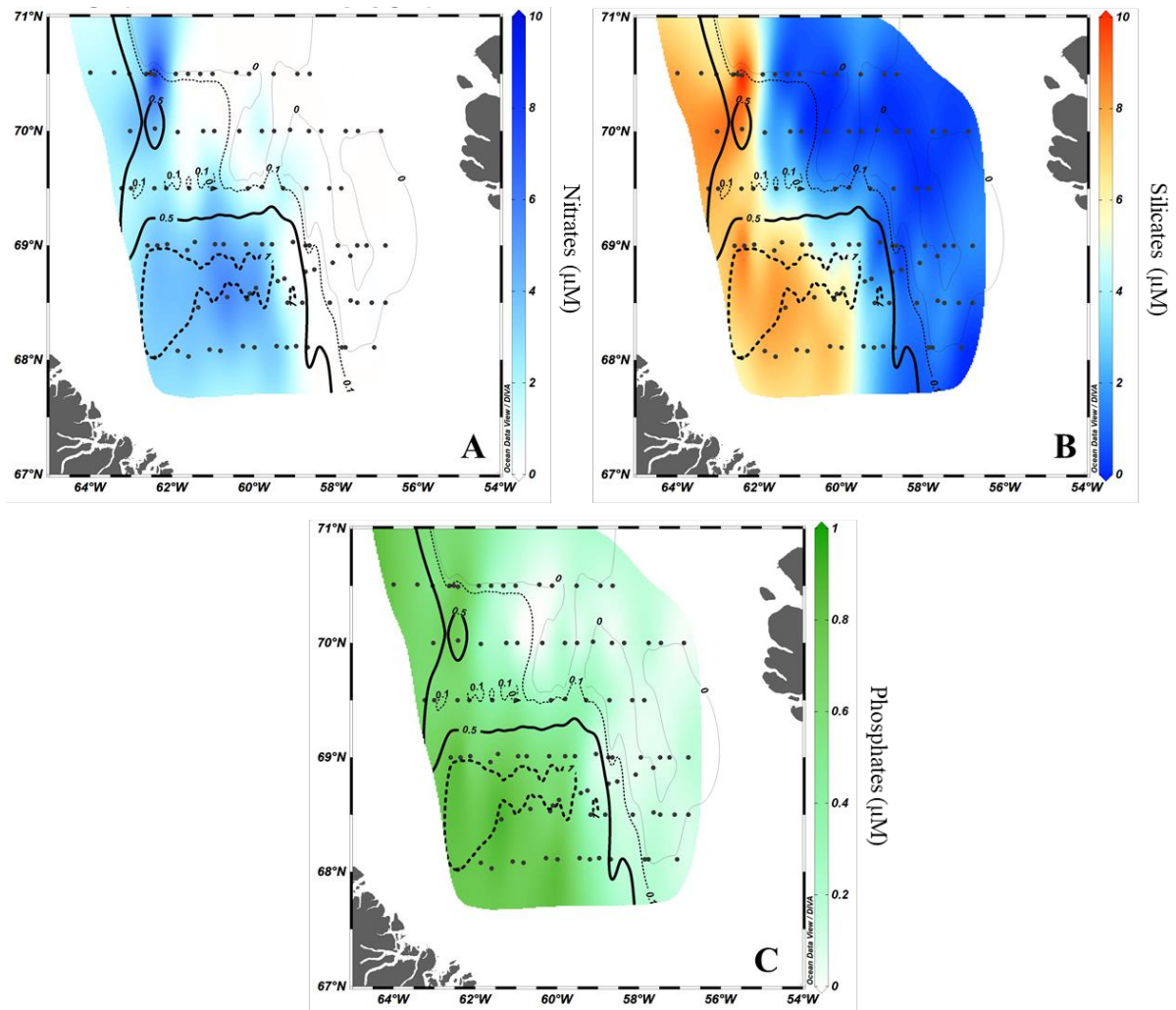
Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G107	11-Jun-2016	21:44:35	68.503	59.275
G108	12-Jun-2016	00:58:48	68.509	59.497
G109	12-Jun-2016	03:19:32	68.516	59.844
G110	12-Jun-2016	09:39:57	68.534	60.167
G110	12-Jun-2016	13:07:39	68.532	60.141
G110	12-Jun-2016	14:57:38	68.526	60.144
G111	13-Jun-2016	00:38:10	68.471	60.440
G112	13-Jun-2016	02:09:26	68.554	60.652
G113	13-Jun-2016	05:18:14	68.497	60.878
G114	13-Jun-2016	06:50:33	68.516	61.104
G115	13-Jun-2016	10:58:00	68.456	61.356
G115	13-Jun-2016	14:16:13	68.439	61.363
G115	13-Jun-2016	17:20:15	68.420	61.316
G200	14-Jun-2016	10:25:21	68.584	60.103
G201	14-Jun-2016	17:25:59	68.633	59.947
G201	14-Jun-2016	20:20:58	68.610	59.932
G201	14-Jun-2016	23:35:14	68.591	59.938
G202	15-Jun-2016	07:37:37	68.659	59.604
G203	15-Jun-2016	08:51:07	68.685	59.420
G204	15-Jun-2016	12:02:06	68.709	59.257
G204	15-Jun-2016	14:39:18	68.712	59.265
G204	15-Jun-2016	18:11:44	68.713	59.222
G205	16-Jun-2016	00:15:49	68.743	58.936
G206	16-Jun-2016	01:37:34	68.773	58.739
G207	16-Jun-2016	03:31:10	68.804	58.492
G207	16-Jun-2016	12:02:10	68.794	58.529
G207	16-Jun-2016	14:32:42	68.802	58.517
G207	16-Jun-2016	18:28:03	68.798	58.519
G208	16-Jun-2016	20:31:33	68.821	58.300
G209	16-Jun-2016	21:35:07	68.850	58.082
G210	16-Jun-2016	23:10:44	68.876	57.862
G211	17-Jun-2016	00:09:54	68.908	57.650
G3000	17-Jun-2016	13:03:31	69.007	55.991
G300	17-Jun-2016	16:33:42	68.999	56.790
G300	17-Jun-2016	18:54:37	69.001	56.780
G300	17-Jun-2016	21:31:17	69.000	56.790
G301	18-Jun-2016	02:28:48	69.001	57.010
G302	18-Jun-2016	03:22:19	69.000	57.249
G303	18-Jun-2016	05:36:32	69.000	57.485
G304	18-Jun-2016	07:20:05	69.000	57.711
G305	18-Jun-2016	08:13:55	69.000	57.949
G306	18-Jun-2016	09:32:28	69.000	58.189
G309	18-Jun-2016	12:44:57	69.000	58.740

Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G309	18-Jun-2016	14:19:54	68.999	58.739
G309	18-Jun-2016	18:56:23	69.000	58.733
G307	18-Jun-2016	23:07:30	69.002	58.416
G308	19-Jun-2016	00:04:53	69.002	58.653
G310	19-Jun-2016	02:50:39	69.026	59.055
G311	19-Jun-2016	04:32:40	68.993	59.329
G313	19-Jun-2016	07:10:51	69.011	59.799
G312	19-Jun-2016	13:16:44	69.012	59.564
G312	19-Jun-2016	16:41:49	69.023	59.606
G312	19-Jun-2016	20:13:52	69.033	59.628
G314	20-Jun-2016	01:30:25	69.010	60.050
G315	20-Jun-2016	03:45:07	69.006	60.190
G316	20-Jun-2016	06:00:05	69.001	60.516
G317	20-Jun-2016	07:15:42	69.007	60.743
G318	20-Jun-2016	13:11:01	69.007	60.953
G318	20-Jun-2016	17:29:15	68.992	60.985
G318	20-Jun-2016	22:33:04	68.993	60.956
G318	20-Jun-2016	21:28:45	68.993	60.956
G319	21-Jun-2016	00:52:57	69.002	61.194
G320	21-Jun-2016	03:42:12	69.033	61.438
G321	21-Jun-2016	07:43:19	68.958	61.632
G322	21-Jun-2016	09:15:18	68.989	61.883
G323	21-Jun-2016	11:51:57	69.009	62.122
G324	21-Jun-2016	17:42:39	68.996	62.358
G324	21-Jun-2016	19:45:24	68.981	62.348
G324	21-Jun-2016	23:49:17	68.956	62.331
G325	22-Jun-2016	04:04:55	68.999	62.603
G400	24-Jun-2016	23:34:19	68.020	62.419
G401	25-Jun-2016	04:54:37	68.072	62.126
G402	25-Jun-2016	06:49:57	68.075	61.860
G403	25-Jun-2016	13:20:15	68.031	61.601
G403	25-Jun-2016	16:52:19	68.033	61.653
G403	25-Jun-2016	19:41:19	68.033	61.609
G404	25-Jun-2016	23:12:48	68.094	61.355
G405	26-Jun-2016	01:19:33	68.094	61.077
G406	26-Jun-2016	04:59:07	68.080	60.816
G407	26-Jun-2016	06:35:36	68.098	60.547
G408	26-Jun-2016	08:47:58	68.118	60.268
G409	26-Jun-2016	14:21:23	68.106	59.994
G409	26-Jun-2016	18:13:45	68.105	59.971
G409	26-Jun-2016	20:55:17	68.105	59.994
G410	27-Jun-2016	00:22:31	68.110	59.729
G411	27-Jun-2016	02:30:47	68.116	59.451

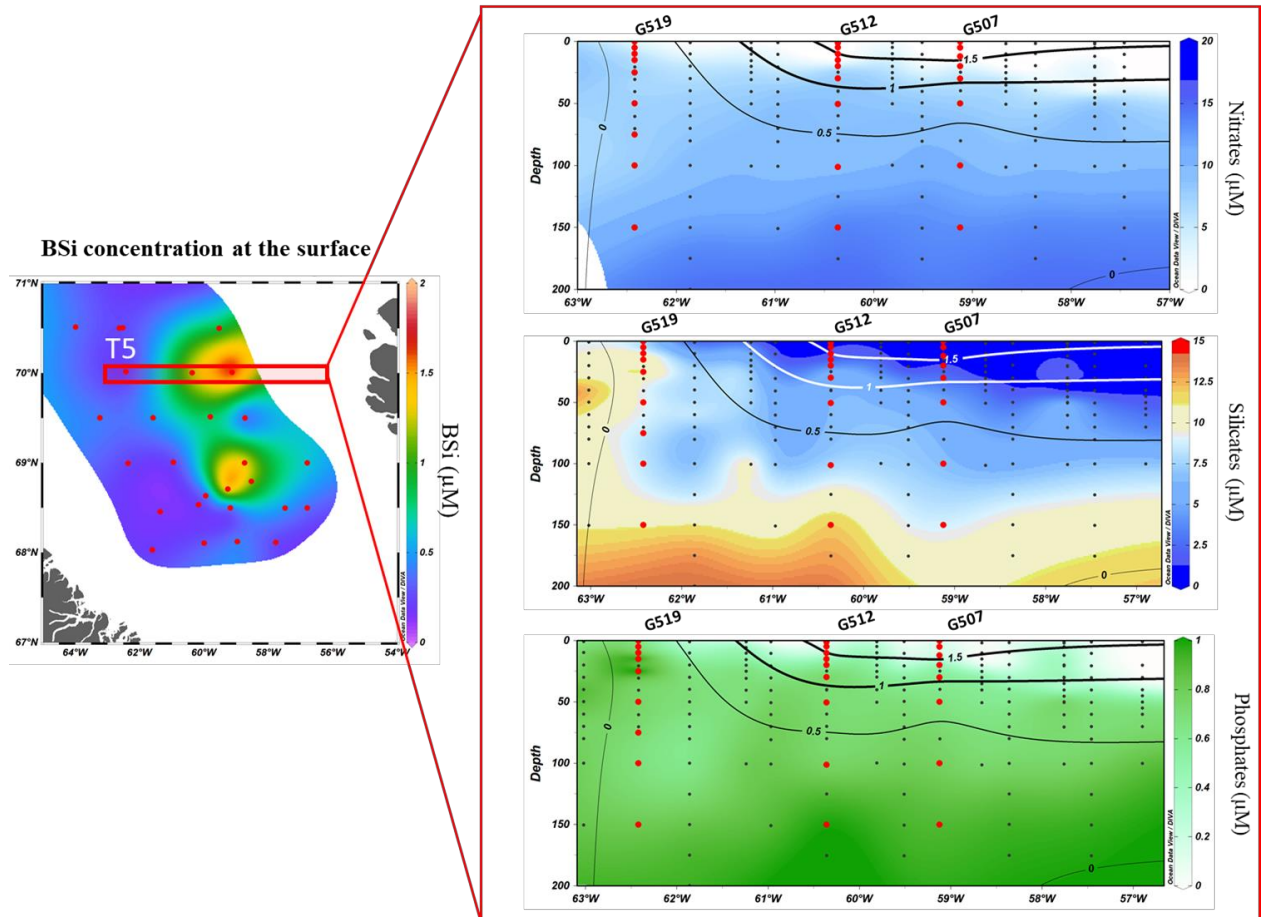
Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G412	27-Jun-2016	05:34:51	68.112	59.201
G413	27-Jun-2016	07:32:55	68.115	58.937
G414	27-Jun-2016	08:48:02	68.112	58.688
G415	27-Jun-2016	10:34:07	68.112	58.421
G413	27-Jun-2016	16:06:29	68.123	58.966
G413	27-Jun-2016	17:40:18	68.123	58.966
G413	27-Jun-2016	20:19:43	68.125	58.978
G413	27-Jun-2016	21:52:08	68.136	58.993
G418	28-Jun-2016	10:52:58	68.114	57.770
G418	28-Jun-2016	16:05:04	68.114	57.765
G418	28-Jun-2016	19:16:14	68.115	57.761
G416	28-Jun-2016	22:57:26	68.115	58.117
G417	29-Jun-2016	00:01:05	68.114	57.864
G419	29-Jun-2016	01:53:25	68.113	57.344
G420	29-Jun-2016	02:56:43	68.109	57.072
G500	29-Jun-2016	22:23:41	70.001	56.898
G501	29-Jun-2016	23:32:41	70.000	57.186
G502	30-Jun-2016	00:29:43	70.000	57.458
G503	30-Jun-2016	02:30:11	70.000	57.765
G504	30-Jun-2016	05:12:21	70.002	58.072
G505	30-Jun-2016	06:10:35	70.000	58.363
G507	30-Jun-2016	10:01:46	70.009	59.125
G507	30-Jun-2016	16:03:46	70.008	59.124
G507	30-Jun-2016	17:47:04	70.008	59.125
G506.5	30-Jun-2016	20:03:08	70.002	58.889
G506	30-Jun-2016	22:05:31	70.004	58.656
G508	1-Jul-2016	00:30:19	70.004	59.287
G509	1-Jul-2016	01:54:38	69.997	59.510
G510	1-Jul-2016	04:31:01	70.000	59.808
G511	1-Jul-2016	06:07:42	70.000	60.092
G512	1-Jul-2016	07:23:32	70.000	60.362
G513	1-Jul-2016	09:20:00	69.997	60.681
G512	1-Jul-2016	11:05:24	70.003	60.365
G512	1-Jul-2016	16:16:53	70.000	60.365
G512	1-Jul-2016	18:26:48	70.000	60.368
G513	1-Jul-2016	21:31:39	70.003	60.681
G514	1-Jul-2016	23:13:54	70.004	60.974
G515	2-Jul-2016	02:22:54	69.997	61.239
G516	2-Jul-2016	04:02:15	70.003	61.561
G517	2-Jul-2016	06:08:58	69.992	61.855
G518	2-Jul-2016	08:57:21	69.997	62.152
G519	2-Jul-2016	14:57:07	70.017	62.422
G521	3-Jul-2016	03:16:56	69.997	63.018

Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G600	3-Jul-2016	14:28:21	70.511	63.988
G600	3-Jul-2016	17:03:27	70.499	64.000
G600	27-Jun-1987	13:20:18	70.477	63.978
G601	27-Jun-1987	18:31:14	70.503	63.703
G602	27-Jun-1987	20:11:22	70.513	63.407
G603	4-Jul-2016	07:44:10	70.501	63.042
G604	4-Jul-2016	08:09:25	70.500	62.802
G605	4-Jul-2016	09:45:25	70.503	62.517
G605	4-Jul-2016	12:15:06	70.493	62.423
G605	4-Jul-2016	16:07:01	70.463	62.504
G605	4-Jul-2016	18:05:48	70.450	62.508
G606	4-Jul-2016	23:29:41	70.500	62.196
G615	5-Jul-2016	12:08:02	70.499	59.525
G615	5-Jul-2016	16:05:09	70.502	59.504
G615	5-Jul-2016	20:47:21	70.468	59.480
G614	6-Jul-2016	00:57:36	70.501	59.832
G613	6-Jul-2016	02:07:09	70.502	60.123
G612	6-Jul-2016	04:33:11	70.513	60.433
G611	6-Jul-2016	05:48:12	70.500	60.719
G610	6-Jul-2016	07:00:44	70.500	61.014
G604.5	6-Jul-2016	12:16:10	70.502	62.625
G604.5	6-Jul-2016	16:06:28	70.500	62.631
G607	6-Jul-2016	21:33:09	70.500	61.912
G608	7-Jul-2016	00:02:34	70.502	61.606
G609	7-Jul-2016	01:25:00	70.501	61.309
G616	7-Jul-2016	06:01:36	70.500	59.236
G617	7-Jul-2016	07:12:18	70.499	58.939
G618	7-Jul-2016	09:31:29	70.500	58.645
G703	7-Jul-2016	16:42:34	69.500	58.724
G703	7-Jul-2016	18:20:18	69.500	58.719
G703	7-Jul-2016	23:26:24	69.499	58.722
G700	8-Jul-2016	04:28:01	69.501	57.870
G701	8-Jul-2016	05:34:00	69.501	58.157
G702	8-Jul-2016	06:43:39	69.502	58.436
G704	8-Jul-2016	08:39:34	69.500	59.001
G705	8-Jul-2016	10:20:20	69.502	59.287
G707	8-Jul-2016	14:14:23	69.512	59.805
G707	8-Jul-2016	17:39:17	69.511	59.807
G707	8-Jul-2016	19:50:34	69.511	59.807
G708	9-Jul-2016	02:17:22	69.503	60.150
G709	9-Jul-2016	04:17:34	69.501	60.427
G710	9-Jul-2016	05:55:25	69.502	60.706
G711	9-Jul-2016	07:46:10	69.500	61.012

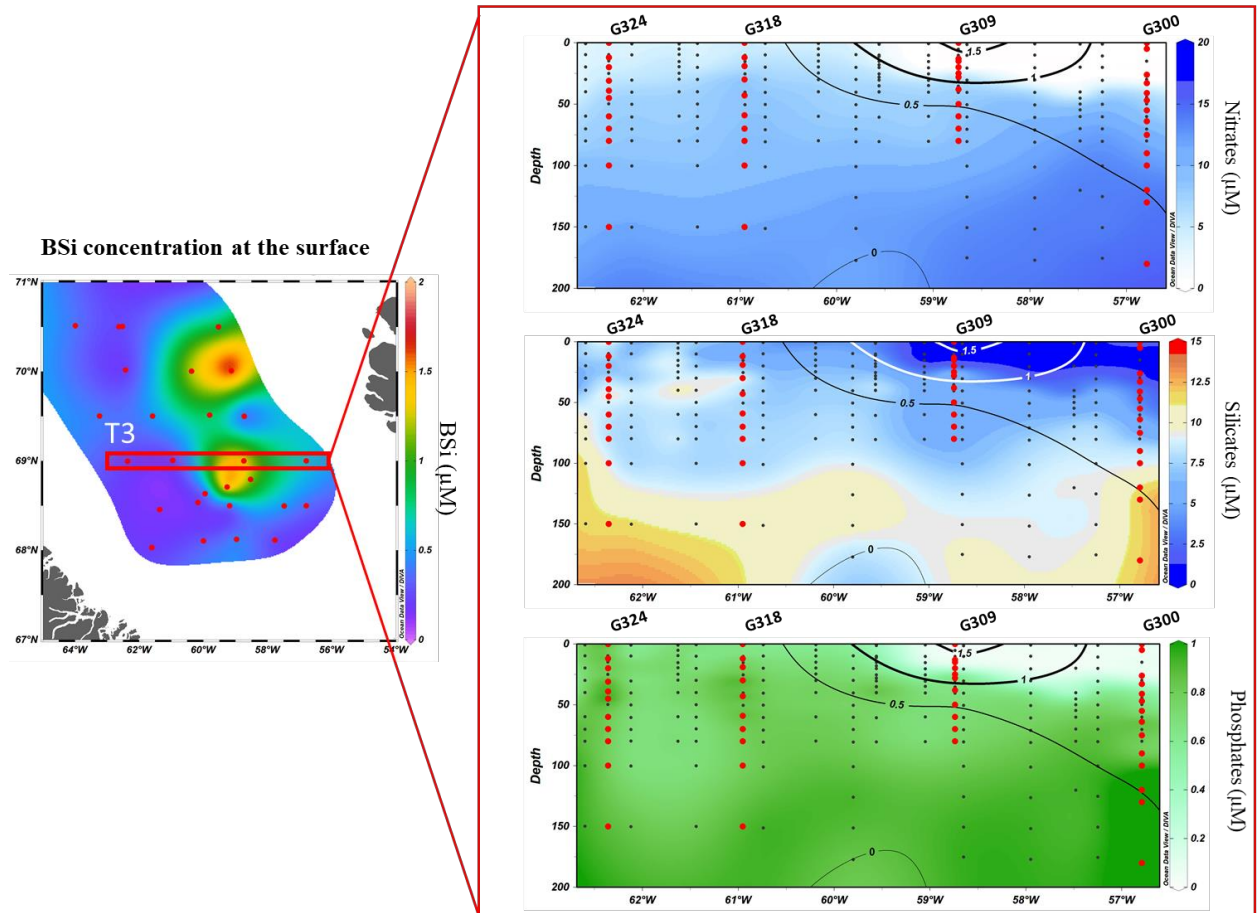
Station	Date (UTC)	Time (UTC)	Lat (deg N)	Lon (deg W)
G712	9-Jul-2016	10:08:35	69.323	60.984
G713	9-Jul-2016	12:35:21	69.336	60.220
G713	9-Jul-2016	16:50:49	69.501	61.582
G713	9-Jul-2016	20:32:00	69.501	61.577
G713	9-Jul-2016	22:10:02	69.501	61.578
G712	10-Jul-2016	02:38:47	69.502	61.287
G714	10-Jul-2016	04:27:31	69.500	61.865
G715	10-Jul-2016	05:43:37	69.500	62.140
G716	10-Jul-2016	07:29:35	69.500	62.427
G717	10-Jul-2016	08:52:31	69.503	62.713
G718	10-Jul-2016	10:21:07	69.503	63.001
G719	10-Jul-2016	12:26:39	69.501	63.233
G719	10-Jul-2016	16:41:50	69.500	63.279
G719	10-Jul-2016	18:28:02	69.500	63.284



Appendix 6: Surface concentrations of **A.** Nitrates (μM). **B.** Silicates (μM). **C.** Phosphates (μM), black contour lines represent the sea ice concentration index (A.U) at the moment of the sampling. The different stations sampled over the transect are depicted with black dots.



Appendix 7: Transect T5: Depicted on the left, the surface bSi concentration at the surface (μM). Depicted on the right, the transects of nitrate, silicate and phosphate vertical profiles (μM) along the T5 (red square). Isolines on the right represent the bSi concentration (μM) along the vertical profiles. Small black dots correspond to dissolved nutrients samples. Big red dots represent the BSi samples.



Appendix 8: Transect T3: Depicted on the left, the surface bSi concentration at the surface (μM). Depicted on the right, the transects of nitrate, silicate and phosphate vertical profiles (μM) along the T3 (red square). Isolines on the right represent the bSi concentration (μM) along the vertical profiles. Small black dots correspond to dissolved nutrients samples. Big red dots represent the BSi samples.

IX. Annexe de la thèse

1. Liste des articles publiés, soumis et préparés au cours de la thèse

Toullec, J., Vincent, D., Frohn, L., Miner, P., Le Goff, M., Devesa, J. & Moriceau, B. (2019). Copepod grazing influences diatom aggregation and particle dynamics. *Frontiers in Marine Science*, 6 :751. Doi : 10.3389/fmars.2019.00751. **Chapitre III**

Mai, T., **Toullec, J.**, Van Wylsberghe, S., Besson, M., Soulet, S., Petek, S., ... & Lecchini, D. (2019). Potential of faspaplysins and palauolide from *Faspaplysina reticulata* to reduce the risk of bacterial infection in fish farming. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 22(1), 1-11. doi:10.1186/s41240-019-0145-0. **(Stage de M2, 2016)**

Toullec, J., Moriceau, B. & Vincent, D. (In Prep). Processes controlling aggregate formation and distribution during diatom spring bloom in the Baffin Bay. (*Elementa: Science of the Anthropocene*) **Chapitre IV**

Laurenceau-Cornec, M., Le Moigne, F. A. C., Gallinari, M., Moriceau, B., **Toullec, J.**, Iversen, M., Engel, A. & De La Rocha, C. (2019). New guidelines for the application of Stokes' models to the sinking velocity of marine aggregates. *Limnology and Oceanography*. <https://doi.org/10.1002/lno.11388>. **(Collaboration)**

González-Fernández, C., **Toullec, J.**, Lambert, C., Le Goïc, N., Soudant, P., Moriceau, B., Huvet, A., Berchel, M., Vincent, D., Courcot, L., Soudant, P. & Paul-Pont, I. (2019). Do transparent exopolymeric particles (TEP) affect the toxicity of nanoplastics on *Chaetoceros neogracile*?. *Environmental pollution* 250, 873-882. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.04.093>. **(Collaboration)**

El-Demerdash, A., Moriou, C., **Toullec, J.**, Besson, M., Soulet, S., Schmitt, N., Petek, S., Lecchini, D., Debitus, C. & Al-Mourabit, A. (2018). Bioactive Bromotyrosine-Derived Alkaloids from the Polynesian Sponge *Suberea ianthelliformis*. *Mar. Drugs* 2018, 16, 146. **(Stage de M2, 2016)**

Toullec, J., & Moriceau, B. (2018). Transparent Exopolymeric Particles (TEP) selectively increase biogenic silica dissolution from fossil diatoms compared to fresh diatoms. *Frontiers in Marine Science*, 5, 102. [Chapitre II \(Suite de travaux réalisés en stage de M1, 2015\)](#)

2. Liste des communications lors de congrès internationaux réalisés au cours de la thèse

Toullec, J., Vincent, D., Miner, P., Le Goff, M., Devesa, J. & Moriceau, B. Nutrient limitation during diatom growth influence the copepod grazing and the carbon export. Oral presentation: IMBeR Future oceans2, Brest, France, 17–21 of June.

Toullec, J., Vincent, D., Frohn, L., Miner, P., Le Goff, M., Devesa, J. & Moriceau, B. Zooplankton, Gatekeepers of the Biological Pump of Carbon?. Oral presentation: ASLO 2019 Aquatic Sciences Meeting, San Juan, Puerto Rico, 25 of Feb – 2nd of march.

Toullec, J., & Moriceau, B. TEP enriched diatoms excretions stimulate fossil biogenic silica dissolution: an unexpected source of silicon for diatoms. Poster presentation: OSM 2018, Portland, OR, 12-16 of Feb.

Titre : Étude des interactions diatomées/copépodes sur l'export de carbone, dans un contexte de changement climatique

Mots clés : Pompe Biologique de Carbone (PBC), Diatomées, Copépodes, Limitations nutritifs, Agrégats, Pelotes fécales

Résumé : La pompe biologique de carbone transfère le CO₂ de l'atmosphère vers l'océan profond sous forme de matière organique particulaire. En formant des agrégats, les diatomées contribuent fortement au flux de particules. Les copépodes, en terme d'abondance et de diversité, dominent

le zooplancton, sont les principaux consommateurs des diatomées et jouent un rôle important dans l'export de carbone via l'émission de pelotes fécales. Les limitations en sels nutritifs surviennent majoritairement en fin d'efflorescence phytoplanktonique, mais sont également une conséquence attendue du réchauffement global. L'objectif de la thèse vise à évaluer le rôle des interactions copépodes/diatomées sur l'export de carbone, dans un contexte de changement climatique.

Les résultats obtenus démontrent que les limitations en affectant la composition biochimique des diatomées, influencent l'activité alimentaire des copépodes, ainsi que l'efficacité d'export par les pelotes fécales. J'ai également démontré que les traits fonctionnels des copépodes peuvent influencer à la fois la formation d'agrégats et leurs dynamiques. Enfin, via l'utilisation de données d'une campagne océanographique réalisée au cours de l'efflorescence printanière phytoplanktonique en Arctique, j'ai observé que la limitation en silicium après le retrait de la glace de mer contribue à la formation d'agrégats. Les copépodes en fin d'efflorescence migrent sous la couche de mélange là où les agrégats sont les plus abondants, ce qui peut suggérer que les agrégats soient utilisés comme source de nourriture.

Title : Study of diatom/copepod interactions on carbon export in a context of climate change

Keywords : Biological carbon pump (BCP), Diatoms, Copepods, Nutrient limitations, Aggregates, Faecal pellets

Abstract : The biological carbon pump transfers CO₂ from the atmosphere to the deep ocean as particulate organic matter. By forming aggregates, diatoms contribute strongly to the particle flux. Copepods, in terms of abundance and diversity, dominate zooplankton assemblages, are the main consumers of diatoms and play a key role in the carbon export via faecal pellets egestion. Nutrient limitations mainly occur at the end of phytoplankton blooms, but are also an expected consequence of global warming. The aim of the thesis is to evaluate the role of copepod/diatom interactions on carbon export in a context of climate change.

The results obtained show that nutrient limitations affecting diatoms biochemical composition, that influences copepods feeding activity and the export efficiency of faecal pellets. I have also shown that the functional traits of copepods can influence both the aggregates formation and their dynamics. Finally, using data from an oceanographic campaign carried out during the Arctic phytoplankton spring bloom, I observed that silicon limitation after sea ice retreat contributes to the aggregates formation. Copepods, at the end of the bloom migrate under the mixing layer where the aggregates are most abundant, which may suggest that the aggregates could be used as a food.